

Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Présentée et soutenue par :

Florian Fort

le vendredi 27 septembre 2013

Titre :

Stratégies d'acquisition des ressources des plantes prairiales sous contraintes hydrique et minérale - Rôle du système racinaire dans la réponse aux facteurs structurant les communautés

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED SEVAB : Agrosystèmes, écosystèmes et environnement

Unité de recherche :

UMR AGIR 1248

Directeur(s) de Thèse :

Dr Pablo Cruz, Chargé de recherche INRA, Toulouse
Dr Claire Jouany, Chargé de recherche INRA, Toulouse

Jury :

Dr Sandra Lavorel, Directrice de recherche CNRS, Grenoble (Rapportrice)
Dr Loïc Pagès, Directeur de recherche INRA, Avignon (Rapporteur)
Dr Michel Duru Directeur de recherche INRA, Toulouse (Président du jury)
Dr Philippe Hinsinger Directeur de recherche INRA, Montpellier (Examinateur)
Dr Catherine Roumet Chargée de recherche CNRS, Montpellier (Examinatrice)
Dr Pablo Cruz, Chargé de recherche INRA, Toulouse (Directeur de thèse)
Dr Claire Jouany, Chargé de recherche INRA, Toulouse (Directrice de thèse)

Remerciements

Je tiens dans cette section à remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu au cours de ma thèse. Je sais par avance que la liste de mes remerciements ne sera pas exhaustive et je prie tous ceux que j'oublierai de bien vouloir m'en excuser. Je pense que la citation suivante s'applique particulièrement bien aux remerciements d'une thèse, car trois ans est un temps trop court... *‘Je ne connais pas la moitié d'entre vous à moitié autant que je le voudrais ; et j'aime moins que la moitié d'entre vous à moitié aussi bien que vous le méritez’* (Tolkien 1954).

Mes premiers remerciements iront à deux enseignantes de biologie, Mme Mirouze et Mme Géry qui durant mes années de collège et de lycée ont fait naître, sûrement sans s'en apercevoir, une réelle passion pour la biologie, mais aussi pour l'enseignement et sans qui, je n'aurais peut être pas rédigé une thèse.

Je remercie aussi les membres de l'école doctorale SEVAB qui en Juillet 2010 m'ont donné, via un contrat doctoral, la possibilité de réaliser ce projet afin de passer trois ans à approfondir un sujet aussi passionnant que l'écologie fonctionnelle des systèmes racinaires de plantes prairiales, si je vous assure c'est passionnant !

Je remercie mes directeurs de thèse Claire Jouany et Pablo Cruz, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser une thèse, pour m'avoir dirigé, conseillé, pour avoir su voir clair dans des idées parfois confuses et avoir su, parfois mieux que moi, ce qu'il devait être fait. Je les remercie aussi pour leur confiance et pour la liberté qu'ils m'ont laissé dans mes recherches, ce qui m'a permis de m'aventurer dans des domaines parfois bien loin de ceux explorés par notre laboratoire.

Je remercie Eric Lecloux pour son enthousiasme communicatif, son inventivité, sa capacité à repousser les limites du faisable et parfois du mobilier. Mon travail de thèse aurait été bien plus pauvre sans son implication et sans son aide. Je le remercie aussi pour le prêt gracieux de scies circulaires indispensables à toutes bonnes expérimentations sur les racines.

Je remercie Ciprian Stroia pour son aide précieuse et pour être venue de si loin à chaque fois que l'on avait besoin de lui.

Je remercie Laurent Hasard pour m'avoir fait découvrir l'agro-écologie, Louvain la Neuve et de m'avoir fait appréhender une autre vision de nos sciences.

Je remercie Marie-Christine Auriac, Olivier Catrice et Ton Timmers, pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire et m'avoir permis d'explorer l'intérieur des racines.

Je remercie les membres de mon comité de thèse, Catherine Picon-Cochard, Catherine Roumet, Eric Tabbachi et Philippe Hinsinger pour avoir partagé leur savoir, m'avoir guidé, encouragé, rassuré, mais aussi pour m'avoir empêché de me lancer dans toujours plus d'expérimentations ayant pour but de terminer, de tester, ou pire "juste pour voir..." et qui n'auraient pas toutes contenues dans trois ans de thèse, ni dans quatre d'ailleurs, réflexion faite.

Je remercie bien évidemment les membres de ma famille pour leur soutien inconditionnel et tout particulièrement mes parents, ma sœur et mes grands-parents. Car, ils ne semblent jamais avoir douté de mes choix et qui m'ont permis d'avancer sereinement tout au long de ces longues années d'études qui m'ont amené à rédiger cette thèse. Merci à mes parents Solange et Marcel, "sans vous je ne serais pas là", c'est une certitude biologique ! Mais il est aussi certain que sans vous, je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci pour tout ce que vous avez pu m'apporter pendant ces trois ans et que vous m'apporterez encore.

Je remercie ma sœur Fanny pour sa joie de vivre, son enthousiasme et sa capacité à me sortir de ma bulle de gré ou de force. Surtout ne change rien.

Je remercie tout particulièrement Maxime pour plus de 5 ans de soutien inconditionnel alors que j'ai traversé bien des phases de doutes. Mais aussi pour son admirable patience durant ces derniers mois de thèse et bien sur pour ses relectures presque volontaires.

Je remercie mes amis, vieux, très vieux et moins vieux pour m'avoir supporté, dans tous les sens du terme. Pour m'avoir permis bien des fois de me changer les idées, voire pendant un certain temps, de ne plus en avoir du tout, merci d'avoir été là quand j'en avais besoin. Un grand merci à Marielle pour ce grain de folie qui a fait que tu as accepté de relire ma thèse...

Merci à Anaïs Gibert d'être si rapidement passée de collègue à amie. Merci pour les bavardages "incessants" (c'est ce que disent les autres...) ainsi que pour son soutien d'écologue dans une contrée d'agronomes.

Je remercie Anne Bernadac, Christophe Laplanche, Elie Maza, George Bertoni et Marie-François Jardinaud pour m'avoir accompagné, au cours de ces trois ans d'enseignements et pour m'avoir permis de découvrir tout le plaisir que l'on peut avoir à tenter de communiquer son savoir à des étudiants, dans des disciplines où l'on en a parfois à peine plus qu'eux.

Merci à toute l'équipe administrative de l'unité AGIR, pour leur patience face à un certain manque de logique de ma part dans le remplissage de formulaires. Un merci tout

particulier à Christel Moder pour sa gentillesse et les fous rires lors de l'organisation plus que précipitée et mouvementée d'un certain événement international.

Merci à tous ceux qui ont rendu plus conviviaux les bureaux B401 et B408 : Céline, Estelle, Eric, Sarah...

Je remercie Michael Corson et son épouse pour leur travail de relecture qui a, je l'espère, rendu les parties en anglais de ce travail un peu plus lisibles.

Enfin, un dernier merci et pas le moindre, loin s'en faut, pour tous les stagiaires qui ont travaillé avec moi au cours de cette thèse par ordre alphabétique : Alice, Antoine, Émile, Lionel, Manuel, Marie, Pauline. Sans vous ce travail de thèse ne serait que l'ombre de ce qu'il est aujourd'hui. Un grand merci pour votre gentillesse, pour ne pas avoir compté vos heures et pour tout le reste.

Sommaire

Contexte	15
Etat de l'art.....	19
I Le lien diversité production dans les prairies.....	21
I.1 La complémentarité dans l'acquisition des ressources.....	21
I.2 L'hypothèse d'assurance	22
I.3 Bilan sur les couverts prairiaux	24
II L'écologie fonctionnelle.....	24
II.1 Les traits fonctionnels.....	26
II.2 Le lien trait-fonction, ou la définition des stratégies des plantes	26
II.2.a Les axes de spécialisation des plantes, selon Westoby	27
II.2.b Le triangle CSR de Grime.....	31
II.2.c Le R* de Tilman.....	33
II.2.d Bilan des trois théories	34
II.3 Et les racines dans tout ça ?.....	35
III Les règles d'assemblages des communautés végétales.....	41
IV Le filtre de dispersion.....	41
IV.1 Les filtres environnementaux.....	43
IV.2 Les filtres biotiques.....	44
V Les principales ressources du sol limitant la production	46
V.1 L'eau.....	46
V.2 L'azote.....	47
V.3 Le phosphore	48
VI Les stratégies pour résister aux stress (Eau, N et P).....	49
VI.1 Les "foraging strategies" ou l'optimisation du volume de sol exploré pour acquérir les ressources.....	49

VI.2	Le “choix” des zones de sol explorées	54
VI.3	La fixation symbiotique pour s’affranchir de l’azote du sol.....	55
VI.4	Les “mining strategies” ou comment acquérir le phosphore peu disponible 56	
VI.5	Quelle stratégie pour quel niveau de stress ?	59
VI.6	Bilan sur les stratégies d’acquisition des ressources.....	62
VII Conclusion.....		62
Objectifs et Stratégies.....		65
I Objectifs.....		65
II Stratégie.....		66
II.1	Le choix des espèces.....	66
II.2	Les conditions de croissance	68
II.3	La mesure de traits fonctionnels	70
II.4	Les interactions.....	71
Chapitres.....		75
Chapitre I : Relations entre syndromes de traits fonctionnels et exigences écologiques de <i>Poaceae</i> et de <i>Fabaceae</i> prairiales.....		77
I Implication des traits racinaires et des relations entre traits racinaires et traits aériens pour la définition des stratégies d’acquisition des ressources chez les <i>Poaceae</i> prairiales.....		79
I.1	Introduction	82
I.2	Materials and Methods	84
I.2.a	Species studied and common garden experiment.....	84
I.2.b	Root collection and washing	85
I.2.c	Measurement of root traits.....	85
I.2.d	Trait calculation.....	86
I.2.e	Leaf trait measurements.....	86
I.2.f	Statistical analysis	88

I.3	Results	88
I.3.a	Root trait syndromes.....	88
I.3.b	Root and leaf trait relations	90
I.4	Discussion.....	91
I.4.a	Relation between morphological and root-system-level traits	91
I.4.b	Leaf and root trait relations	92
I.5	Conclusions	92
I.6	Acknowledgements	93

II Les traits racinaires et les relations entre traits aériens et racinaires homologues sont ils associées aux exigences écologiques chez les *Fabaceae* prairiales ?..... 95

II.1	Introduction	98
II.2	Materials and methods.....	101
II.2.a	Species studied	101
II.2.b	Growth conditions.....	101
II.2.c	Leaf trait measurements	103
II.2.d	Root measurement.....	103
II.2.e	Trait calculation.....	104
II.2.f	Mycorrhization rates measurement.....	104
II.2.g	Statistical analyses	105
II.3	Results	105
II.3.a	Root traits, Ellenberg indicators and lineage.....	105
II.3.b	Effects of ecological preferences on root-leaf trait relations	108
II.4	Discussion.....	111

Chapitre II : Est-ce que les stratégies fonctionnelles racinaires expliquent les capacités de résistance au stress en eau et en phosphore chez 18 espèces de plantes prairiales ?115

I	Introduction	118
---	--------------------	-----

II Materials and methods.....	120
II.1 Experimental design	120
II.1.a Species studied	120
II.1.b Growth conditions	121
II.2 Harvest and measurements	121
II.2.a Root-surface phosphatase activity	122
II.2.b Aerenchyma measurements	122
II.2.c Morphological functional traits	122
II.2.d Traits and index calculation	123
II.3 Data analysis	124
III Results	126
III.1 Species root functional traits	126
III.2 Species trait responses to stress	128
IV Discussion	131
V Conclusion	134

Chapitre III : Liens entre valeurs de traits racinaires et aptitudes à la compétition en conditions de disponibilité variables pour l'eau et le phosphore chez quatre *Poaceae* prairiales.....

I Introduction	139
II Materials and Methods	141
II.1 Plant species	141
II.2 Experimental design	142
II.3 Growth conditions	142
II.4 Harvests and measurements.....	143
II.5 Index calculation.....	144
II.6 Data analysis	145
III Results	146
III.1 Species attributes and abiotic factors	146

III.2	Does hierarchical, absolute or phylogenetic distance correlate with the intensity of interaction?	146
III.3	Effects of growth conditions on relations between trait distance and competition intensity	148
	IV Discussion	150
IV.1	Hierarchical trait attribute distances and growth conditions drive neighbours' competitive effect	150
IV.2	No evidence for the competition-trait similarity hypothesis.....	152
	V Conclusion	152
	VI Acknowledgements	153
	 Discussion.....	 155
	I Le compromis capture-conservation au niveau du système racinaire	157
I.1	Un premier axe de gestion des ressources	157
I.2	Les traits reliés à l'axe de gestion des ressources.....	157
I.3	L'axe de gestion des ressources et la gestion des stress abiotiques.....	159
I.3.a	Relation avec l'indice de continentalité.....	159
I.3.b	La résistance au stress hydrique	160
I.3.c	Résistance au stress en phosphore	162
I.4	Réponses des traits et performances des espèces en condition de manque d'eau et de phosphore.....	163
I.5	L'axe de gestion des ressources et la compétitivité chez les <i>Poaceae</i>	164
	II Le pivot, un élément majeur du système racinaire des <i>Fabaceae</i> ?	167
II.1	Pivot, profondeur d'enracinement et exigences écologiques	167
II.2	La résistance au stress et pivot	168
II.3	Bilan sur l'axe pivot-profondeur de sol	169

III Les relations entre stratégies d'acquisition des ressources aériennes et racinaires comme marqueur de l'adaptation au stress des plantes.....	170
IV Vers un meilleur choix des espèces semées pour une production plus agro-écologique ?.....	172
IV.1 Quel système racinaire pour les sols pauvres en phosphore ?	172
IV.2 Quel système racinaire pour faire face au stress hydrique ?.....	175
IV.3 Quel système racinaire pour valoriser des milieux non stressants ?.....	175
IV.4 Comment valoriser les interactions plante-plante ?	176
Conclusion	179
Bibliographie	181
Table des Figures	199
Table des Tableaux	207
Annexes	211

Contexte

L'actuel défi de la recherche agronomique est d'arriver à nourrir, d'ici 2050, neuf milliards de personnes tout en préservant l'intégrité et les fonctions des écosystèmes (Chaumet *et al.* 2009). Après la seconde guerre mondiale, l'agronomie moderne a réussi à nourrir la population des pays développés grâce à la sélection de génotypes capables de valoriser des niveaux d'apports en fertilisants très importants (Lynch 2007), mais dont la culture a engendré de nombreux problèmes avec notamment des pollutions importantes. Hors la nécessité de protéger les écosystèmes pour des raisons éthiques mais aussi afin de conserver l'ensemble des biens et services qu'ils fournissent, nous sommes amenés à considérer d'autres types de gestions des agro-écosystèmes pour mieux produire. Une des solutions proposée passe par la mise en place de systèmes de cultures qui favorisent et tirent profit de l'utilisation efficace des processus écologiques (Bonny 2011). Cela pourrait aussi, dans les pays en voie de développement où les agriculteurs n'ont pas les moyens de se fournir en intrants, permettre de répondre à une demande croissante en nourriture (Lynch 2007). Ce changement de mode de production passe par une meilleure compréhension des processus écologiques et de leur importance dans le fonctionnement des agro-écosystèmes (Tassin 2011). Cette prise de conscience de la nécessité de mieux produire a en partie conduit à l'émergence de l'agroécologie dans le sens de discipline scientifique caractérisée, entre autres, par l'application des concepts et théories de l'écologie en agronomie.

La prairie est l'un des agro-écosystèmes pour lequel la connexion entre ces disciplines est certainement la plus avancée (Cruz *et al.* 2010; Garnier & Navas 2011). En France, les prairies représentent un tiers de la surface agricole utile et forment des milieux d'un grand intérêt notamment en termes de production de biens et de services écosystémiques (Pellerin *et al.* 2013; Lavorel 2013). Le premier d'entre eux est bien sur la production de fourrage qui est une ressource de qualité pour les élevages. Viennent ensuite les services en liens avec la protection des sols contre l'érosion, l'amélioration de la qualité de l'eau dans les bassins versants, le stockage de carbone ou encore le maintien d'une biodiversité élevée dans les zones agricoles.

Cependant la qualité et le type des biens et services produits sont fortement impactés par le type de gestion appliquée aux prairies. En effet des prairies temporaires généralement composées de très peu d'espèces (voir génotypes), fréquemment labourées et sur lesquelles de fortes quantités d'intrants sont apportées vont fournir des quantités importantes de ressources

fourragères mais vont avoir un impact plus fort sur l'environnement que des prairies permanentes qui, elles, ne sont pas labourées et maintiennent donc un couvert du sol en continu ce qui limite les risques de pertes de nutriments et de pollution. De plus la faible diversité des prairies temporaires les rend tout particulièrement sensibles aux événements climatiques extrêmes avec des difficultés d'implantation et des mauvaises résiliences après des sécheresses rendant les exploitations particulièrement sensibles (Nettier *et al.* 2011).

Pour améliorer la résistance et la résilience des prairies tout en limitant l'utilisation d'intrants et donc les risques de pollution, il faut repenser les modèles de production basés sur des monocultures et proposer de nouveaux types de couverts plus complexes ou composés d'espèces différentes. Ces couverts devraient être plus adaptables aux ressources disponibles dans le milieu (eau, azote, phosphore...), limitant ainsi l'épuisement des réserves de ressources non renouvelables telles que le phosphore.

Cela passe par une meilleure compréhension de l'adaptation des plantes formant ces couverts aux conditions environnementales des milieux dans lesquels elles vont être semées. Il est aussi nécessaire d'améliorer notre compréhension du comportement de ces espèces en mélange et d'identifier des critères pour associer plusieurs d'entre elles en vue d'améliorer la pérennité et la stabilité de leur production en limitant l'usage d'intrants. Pour ce dernier point, on pense évidemment à l'utilisation de Fabaceae pour s'affranchir en partie de la fourniture en azote du sol mais aussi pour mobiliser des sources de phosphore peu disponibles.

Pour ce faire, nous avons choisi de mobiliser l'approche fonctionnelle (Garnier & Navas 2011) qui a permis, grâce à l'étude de traits fonctionnels aériens, de caractériser de grands groupes de végétaux en fonction de leur effet sur le fonctionnement des écosystèmes comme de leur réponse aux différentes contraintes (Lavorel, Díaz, & Cornelissen 2007; Garnier & Navas 2011). Cette approche a permis, par la détermination de groupes fonctionnels comprenant des espèces ayant les mêmes valeurs d'usage, de construire des typologies renseignant sur les possibilités d'utilisation des espèces prairiales et des couverts qu'elles forment dans les systèmes agricoles (Cruz *et al.* 2010). Cependant l'étude des traits aériens présente certaines limites puisqu'elle ne permet pas, par exemple, d'établir les réponses des *Poaceae* prairiales au stress hydrique (Voltaire 2008). Cela est certainement lié au fait que par définition l'étude des parties aériennes ne permet pas de déterminer les stratégies racinaires des plantes et donc leur capacité à acquérir ou stocker les ressources du sol. La prise en compte du fonctionnement du système racinaire est un moyen de répondre à ce manque et de mieux définir les stratégies de développement des plantes et ainsi de mieux comprendre leur adaptation à différents facteurs. Toutefois, relativement aux parties

aériennes, le système racinaire a été très peu étudié du fait notamment de la difficulté d'échantillonnage de racines et d'effectuer des mesures dans le sol.

Enfin les études mettant en évidence des groupes fonctionnels ou plaçant les espèces sur des gradients de fonctionnalité, ne prennent que rarement en compte les interactions entre les espèces alors que la compétition et la facilitation sont considérées comme des interactions primordiales dans l'établissement, la structuration et la pérennité des communautés végétales. Une même espèce de plante peut réaliser l'une ou l'autre de ces interactions en fonction de la communauté végétale environnante et des facteurs abiotiques du milieu (Brooker *et al.* 2008). Comprendre le fonctionnement de ce continuum permettrait d'estimer la variabilité du comportement des groupes fonctionnels selon l'environnement abiotique et biotique et ainsi pourrait aboutir à terme à proposer des assemblages d'espèces capables de valoriser de façon optimales le milieu dans lequel ils seraient implantés.

Ce travail de thèse vise donc à établir les liens entre des syndromes de traits fonctionnels racinaires, de traits aériens et les exigences écologiques d'espèces prairiales ainsi que le type d'interactions qu'elles mettent en place quand on les cultive ensemble. Les traits étudiés intègrent différentes échelles d'observation allant de la coupe histologique à des mesures effectuées sur le système racinaire dans son ensemble. Les exigences écologiques seront évaluées grâce à des indices écologiques mais aussi à l'étude du comportement des espèces cultivées en conditions contrôlées seules ou en association.

État de l'art

Dans cette première partie, qui est une analyse de la littérature, je passerai en revue les connaissances qui m'ont permis de construire cette thèse et qui permettront de mettre en perspective les résultats exposés par la suite. Je commencerais par traiter du fonctionnement de l'écosystème prairial et notamment des liens existants entre productivité et diversité. A la suite de quoi je détaillerai l'approche fonctionnelle comme moyen de caractériser cette diversité, ainsi que les différentes théories portant sur les mécanismes en liens avec la structuration des communautés. Enfin je terminerais par un paragraphe faisant un état des lieux des connaissances sur les caractéristiques racinaires permettant aux plantes de faire face à différents types de stress nutritifs.

I Le lien diversité production dans les prairies

“L’Expérience démontre qu’une prairie polyphyte bien composée, et bien traitée, a une supériorité sur les engazonnements monophyte. [...] Au point de vue du rendement agricole, l’association assure la vitalité et la durée du peuplement. [...] Dans la prairie, si certaines espèces souffrent davantage du climat de l’année, d’autres en éprouvent moins de mal.”

Gain et Brocq-Rousseau, *Traité des Foins*, 1912

I.1 La complémentarité dans l’acquisition des ressources

Gain et Brocq-Rousseau dans le *Traité des Foins* (1912) avaient posé, comme acquis le fait qu’une diversité importante au sein d’un couvert prairial permettait de maintenir une production élevée au cours du temps mais aussi dans le cas d’événements climatiques extrêmes, regrettant même l’appauvrissement de certains mélanges semés à l’époque.

Bien plus récemment il a été montré qu’un lien existait entre la productivité d’une communauté et sa richesse spécifique (Loreau *et al.* 2001; Lüscher *et al.* 2008; Reich *et al.* 2012). La majorité des études observent une relation positive entre la biomasse produite par une communauté et sa richesse spécifique. Cependant une critique souvent faite à l’encontre de ces études (Fridley *et al.* 2012) est l’absence de prise en compte de prairies riches qui en général comptent peu d’espèces et ont une forte productivité (Al-Mufti *et al.* 1977; Loreau *et al.* 2001). C’est pourquoi Loreau *et al.* (2001) ont proposé de représenter le lien entre diversité et productivité sous la forme d’une courbe en cloche (Figure 1A). Cette représentation met en évidence que des sites peu favorables mais qui comportent un grand nombre d’espèces ont des productivités intermédiaires. Le lien productivité diversité est

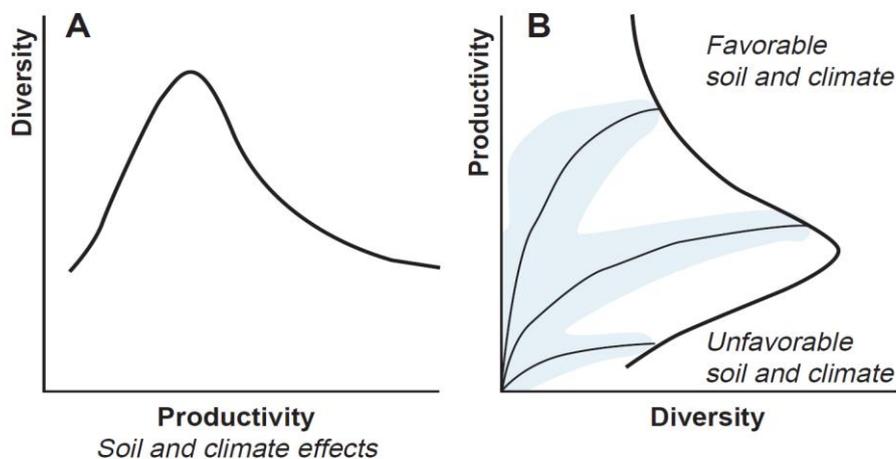


Figure 1 : Hypothèse de relation entre (A) la diversité et la productivité induite par les conditions environnementales dans différents sites, et (B) l’effet local de la diversité spécifique sur la productivité. La surface grise représente la variation de la productivité entre les différents réplicas ayant un même niveau de diversité. Extrait de Loreau *et al.* (2001).

cependant plus évident une fois la courbe pivotée (Figure 1B) on s'aperçoit alors que pour chaque niveau de disponibilité en ressource on a toujours un lien positif entre la productivité et la diversité. Il est aussi à noter que la variabilité de la productivité diminue fortement avec l'augmentation de la diversité. Donc pour un milieu donné il semble que plus la diversité est forte plus la production le sera aussi et moins elle sera variable.

Différents processus peuvent expliquer ce lien entre la biodiversité et la productivité d'un type de communauté. Il y a par exemple : i) l'augmentation de la probabilité d'avoir une ou des espèces qui vont avoir un impact majeur sur son fonctionnement de la communauté quand le nombre d'espèces total augmente ("sampling effect hypothesis" Hector *et al.* 2002). On peut citer comme exemple le cas des *Fabaceae* dont la présence dans une communauté permet une productivité plus importante surtout si le sol est pauvre en azote. Cela est dû à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique via une symbiose racinaire avec les bactéries du genre *Rhizobium*. Elles peuvent même à long terme entraîner un enrichissement en azote du milieu (Spehn *et al.* 2002) ; ii) la différenciation de niche écologique¹ entre les espèces composant la communauté. Toujours dans le cas de l'azote, (Von Felten *et al.* 2008) ont montré que les espèces présentes dans une même communauté n'exploitaient pas les mêmes sources que ce soit en termes de localisation (profondeur) ou de type (forme chimique). Il a aussi été montré que pour la ressource hydrique l'exploitation dépendait en grande partie de la structure du système racinaire (Craine 2006). Donc des espèces ayant des systèmes racinaires superficiels ou profonds n'utiliseraient donc pas les mêmes ressources et seraient donc complémentaires ce qui amènerait les mélanges de ces deux types d'espèces à mieux valoriser les ressources du sol ; iii) l'augmentation de la disponibilité de certaines ressources par certaines espèces qui pourrait profiter à tout le couvert. Dans ce cas, on peut là encore penser aux *Fabaceae* qui ont la capacité d'augmenter la disponibilité en phosphore du sol rhizosphérique via une acidification de ce dernier, phosphore qui peut être ensuite utilisé par d'autres espèces (Betencourt 2012).

I.2 L'hypothèse d'assurance

¹ La niche écologique d'une espèce est l'ensemble des conditions environnementales qui permettent à minima à l'espèce de satisfaire ses besoins de façon à ce que sa natalité compense ou dépasse sa mortalité ainsi que l'ensemble des effets de cette espèce sur les conditions environnementales (Chase & Leibold 2003). Cette définition présente l'avantage de combiner la vision de la niche d'Hutchinson (1957): habitat fournissant les (n) facteurs nécessaires à une espèce pour survivre ; et la vision de MacArthur et Levins (1967): rôle que joue une espèce dans une communauté.

Comme nous le dit le *Traité des foins* (1912), dès le début du XX^{ème} et même bien avant, les agriculteurs avaient mis en évidence qu'une biodiversité importante permettait aux prairies de mieux supporter les aléas climatiques et de maintenir une production plus stable que celles des couverts mono-spécifiques. Cet effet de la biodiversité sur la stabilité de la production et plus largement sur les processus en place dans un écosystème a été formalisé par Yachi et Loreau (1999) et baptisé hypothèse d'assurance. Cette hypothèse d'assurance prédit qu'une biodiversité importante dans un écosystème va avoir un effet tampon qui va donc limiter les variations de production de biomasse (Gain & Brocq-Rousseau 1912; Yachi & Loreau 1999). Dans le cas de la sécheresse, il a été montré que les communautés comportant un grand nombre d'espèces maintenaient une production plus élevée que les

autres (Figure 2). Cet effet d'assurance va être d'autant plus efficace que les espèces présentes dans la communauté vont avoir des stratégies de développement différentes induisant des types, des amplitudes et des rapidités de réponse différentes face aux fluctuations environnementales (Yachi et Loreau 1999). De plus, dans le cas d'une richesse spécifique élevée, plusieurs espèces peuvent avoir la même fonction² dans l'écosystème, donc si l'une est fortement impactée par un changement des fluctuations environnementales, voire même éliminée de l'écosystème, d'autres pourront prendre le relais. Cependant ce phénomène de

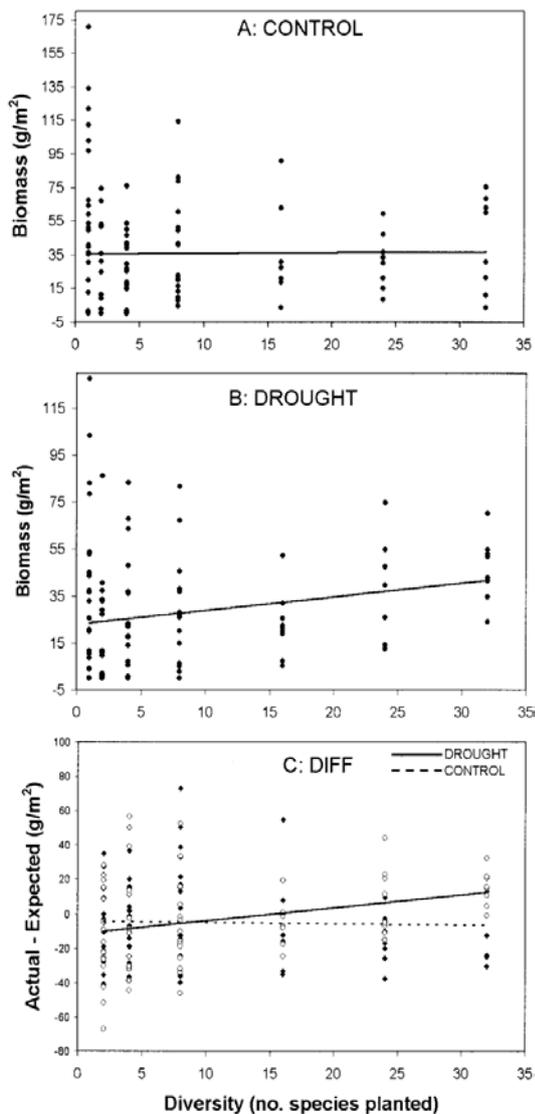


Figure 2 : Relation entre la biomasse vivante par parcelle et la diversité (nombre d'espèces plantées). Chaque point représente un réplica. (A) Biomasse vivante pour le traitement contrôle (non stressé). (B) Biomasse vivante pour le traitement sec. (C) Différence entre la biomasse fraîche et la biomasse attendue sur la base de productions moyennes des monocultures de chaque espèce présente au sein des mélanges. Figure extraite de Mulder, Uliassi, & Doak (2001)

² Activité déterminée dévolue à un élément d'un ensemble ou à un ensemble lui-même (Robert, 1^{ère} éd. 1973). Dans le cas des végétaux on peut donner comme exemple l'interception de la lumière, l'acquisition des nutriments ou encore la dispersion.

redondance ne peut être efficace que si le nombre d'espèces présentes dans l'écosystème reste élevé (Loreau *et al.* 2001).

I.3 Bilan sur les couverts prairiaux

Comme nous venons de le voir, la grande majorité des avantages que présentent les couverts prairiaux dans le cadre d'une production durable, est liée à la diversité des espèces qui les composent, cette diversité leur offrant des capacités de résistance et de résilience aux fluctuations environnementales bien au dessus de celles des couverts mono-spécifiques. Cela avait été mis en évidence dès 1912 (Gain et Brocq-Rousseau 1912), bien avant que le concept de production durable ou encore l'agro-écologie n'aient été largement mis en avant comme moyens de faire face aux changements globaux. Il reste maintenant à définir quelles sont les stratégies permettant aux plantes de faire face aux contraintes environnementales affectant les biens et services produits par les agro-écosystèmes. Il est aussi nécessaire de mieux comprendre quelles sont les stratégies des plantes qu'il faudrait associer pour maximiser les processus de complémentarité mais aussi d'assurance, cela afin de leur permettre l'implantation de communautés plus à même de faire face aux événements climatiques extrêmes à venir.

II L'écologie fonctionnelle

Théophraste avait, dès le 3^{ème} siècle avant J.C., donné une ébauche de ce que pouvait être l'écologie fonctionnelle en regroupant les plantes en trois groupes (arbres, buissons, herbes) en fonction de leur hauteur et du fait qu'elles développent ou non un tronc (rapporté par Weiher et Keddy (1999). L'écologie fonctionnelle est généralement considérée comme le prolongement de l'écophysiologie (Duarte *et al.* 1995). En effet l'écophysiologie a permis de grandes avancées dans la compréhension de la réponse d'une espèce à différentes contraintes environnementales pouvant expliquer la répartition de cette dernière dans son milieu naturel. Cependant les mesures faites en écophysiologie portent généralement sur des cellules ou sur des fragments de plantes mis en culture en conditions contrôlées en laboratoire. Cela a posé un problème en termes de modélisation et de prédiction car la plupart des réponses des plantes aux facteurs du milieu sont des réponses centralisées qui font généralement intervenir les différentes parties de la plante (Chapin III *et al.* 1987). L'écologie fonctionnelle s'est donc construite comme un prolongement de l'écophysiologie faisant des mesures sur les organismes dans leur ensemble. De plus lorsque l'écophysiologie aborde le peuplement végétal ce dernier est dans l'immense majorité des cas mono-spécifique. Pour

pallier à cela l'écologie fonctionnelle a aussi intégré le premier principe de l'écologie comparative, c'est-à-dire l'étude de plusieurs espèces en même temps qui permet de mieux comprendre et de prédire leur comportement dans toute la gamme de milieux dans lesquels elles sont représentées tout en évitant de décrire des phénomènes espèce-dépendants (Keddy 1992; Duarte *et al.* 1995).

Toujours dans l'idée de mieux appréhender la complexité floristique des communautés, les premières classifications fonctionnelles ont été développées. Elles ont permis de s'affranchir de la description des espèces par leurs binômes latins (genre espèce), en les regroupant *a priori* dans des groupes comprenant des espèces ayant une même fonction. Cela étant fait à partir de connaissances empiriques, ou sur la base de caractéristiques morphologiques, physiologiques, démographiques ou phénologiques corrélées aux fonctions considérées (Woodward & Cramer 1996; Craine *et al.* 2003; Cruz *et al.* 2010). Ces caractéristiques ont été par la suite qualifiées de traits fonctionnels.

Ce principe de classification a permis de simplifier l'analyse des inventaires floristiques. En effet, une fois les plantes regroupées en groupes fonctionnels, l'unité de base n'est plus le taxon mais le groupe fonctionnel pouvant regrouper de nombreux taxa. Cela a, par exemple, rendu possible la comparaison d'inventaires floristiques provenant de zones géographiques éloignées et ne comprenant pas les mêmes espèces. On peut citer l'exemple de successions écologiques à la suite de l'abandon de l'activité agricole rapporté par Garnier (2013). Cet exemple se base sur des données obtenues en France (Garnier *et al.* 2004) et aux États-Unis (Pickett 1982; Inouye *et al.* 1987). Les espèces présentes dans ces deux successions sont totalement différentes, il a donc été tenté de conclure à des fonctionnements différents. Cependant, en regroupant les espèces en deux groupes avec d'un côté les annuelles et de l'autre les pérennes, les auteurs ont mis en évidence que, dans les deux cas au cours de la succession, la proportion d'annuelles chutait alors que celle de pérennes augmentait. Ils ont donc malgré des compositions floristiques différentes mis en évidence un même type de fonctionnement ce qui n'aurait pas été possible en comparant uniquement des listes d'espèces. Comme rapporté par Lavorel *et al.* (2007) le développement de l'écologie fonctionnelle a aussi rendu possible la construction de modèles de végétation globaux (Prentice *et al.* 1992; Woodward & Cramer 1996), tout comme le suivi des effets des perturbations climatiques (Díaz *et al.* 2002) et des pratiques agricoles (Cruz *et al.* 2002) sur différentes communautés végétales.

II.1 Les traits fonctionnels

Qu'est ce qu'un trait fonctionnel ? (Violle *et al.* 2007) ont proposé la définition suivante : “ toute caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau de l'individu, de la cellule à l'organisme dans son ensemble, sans référence à l'environnement ou à un autre niveau d'organisation”. Cette définition implique que la mesure de trait se fait sur un individu sans tenir compte de son environnement. On ne peut donc pas, par exemple, considérer des mesures d'activité microbienne ou enzymatique faites sur le sol comme un trait fonctionnel de cette plante. La valeur d'un trait fonctionnel présentée par une population d'une espèce dans une condition de croissance donnée est appelée attribut. Cet attribut peut varier en fonction des conditions de croissance des plantes sur lesquelles il est mesuré, mais aussi de la population considérée. On obtient donc généralement pour une espèce des gradients de valeurs de traits en fonction des gradients environnementaux (Garnier & Navas 2011). Pour être facilement utilisable, un trait doit i) être informatif sur une fonction de la plante (Lavorel *et al.* 2007); ii) être facile et rapide à mesurer avec une procédure standardisée pour permettre d'explorer de larges gammes d'espèces et/ou de conditions de croissance (Hodgson, Wilson, & Hunt 1999; Cornelissen *et al.* 2003); iii) permettre un classement relativement stable des espèces dans le cas où les traits sont mesurés dans des conditions de croissance différentes (Garnier *et al.* 2001a; Cornelissen *et al.* 2003). La Figure 3 met en évidence différents exemples de relations entre traits fonctionnels et fonctions.

II.2 Le lien trait-fonction, ou la définition des stratégies des plantes

Les valeurs de traits fonctionnels sont la résultante de l'adaptation des plantes aux caractéristiques pédoclimatiques mais aussi biotiques de leur environnement (Reich & Wright 2003). Ils marquent généralement des compromis entre les différentes fonctions pouvant être accomplies par une plante (Lavorel *et al.* 2007). Ces compromis sont mis en évidence par la co-variation de différents groupes de traits, plus ou moins indépendants les uns des autres. Chaque groupe de traits met alors en évidence l'un des gradients de stratégie présent chez les plantes. On retrouve ces gradients quels que soient les taxa ou les milieux considérés et ils permettent de mieux comprendre le fonctionnement des couverts (Chapin III, Autumn, & Pugnaire 1993; Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 2004). Nous allons dans ce paragraphe faire un bilan des différentes théories définissant les stratégies des plantes.

II.2.a Les axes de spécialisation des plantes, selon Westoby

Westoby *et al.* (2002) ont mis en évidence l'existence d'au moins quatre axes majeurs de spécialisation des plantes. Ce faisant, les auteurs ont repris et complété les trois principaux axes déjà énoncés par Westoby en 1998 sous l'appellation "leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme". Le premier axe décrit rend compte de la gestion des ressources par les plantes (Chapin III *et al.* 1993; Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 2004; Wright *et al.* 2004). Le second est un axe mettant en évidence un compromis entre la fécondité et la taille des graines (Jakobsson & Eriksson 2000). Le troisième est représenté par la taille potentielle des plantes (Díaz *et al.* 2004; Violle *et al.* 2009). Enfin, le quatrième axe rend compte de la structure de la canopée, *i.e.* variation de la longueur des branches et de la taille des feuilles.

Axe 1 : La gestion des ressources

Cet axe structurant la plupart des communautés végétales à travers le monde (Díaz *et al.* 2004; Wright *et al.* 2004) se caractérise par un fort compromis entre stratégie d'acquisition rapide des ressources liée généralement à une croissance rapide et stratégie de conservation des ressources liée à une croissance plus lente (Chapin III *et al.* 1993; Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 2004; Wright *et al.* 2004).

Au niveau des parties aériennes, cet axe peut être résumé par un trait principal : la surface foliaire spécifique ("specific leaf area" : SLA, ratio entre une unité de surface de feuille et sa masse). La SLA est corrélée positivement avec l'efficacité de la photosynthèse par unité de biomasse, la quantité de nutriments prélevée et le taux de croissance relatif (RGR : relatif growth rate). Par contre elle est corrélée négativement avec la durée de vie des

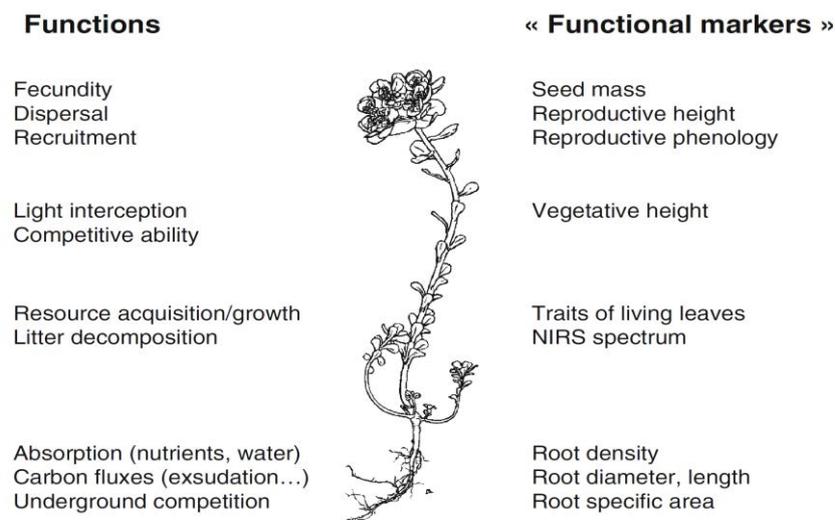


Figure 3 : Exemples de fonctions reliées à des traits fonctionnels, NIRS near-infrared spectroscopy : spectroscopie dans le proche infrarouge. Dessin d'*Euphorbia helioscopia* de Baptiste Testi. Figure extraite de Garnier et Navas (2011)

feuilles (Wright *et al.* 2004). Le “leaf economic spectrum” (Wright *et al.* 2004) représente donc un gradient d’espèces avec à une extrémité les espèces qui i) ont une croissance rapide liée à leur capacité d’acquérir rapidement les ressources (éléments nutritifs et lumière) ; ii) présentent un taux de renouvellement des tissus rapide qui est lié à une durée de vie des organes courte (Wright *et al.* 2004) ; iii) sont soumises à une forte pression des herbivores en lien avec leur forte palatabilité (Cruz *et al.* 2010). Ces espèces perdent donc une part importante des nutriments qu’elles acquièrent à cause de ce renouvellement des tissus. Alors qu’à l’autre extrémité du gradient, on retrouve des plantes ayant une croissance lente, une photosynthèse peu efficace (par unité de biomasse) mais des durées de vie de feuille longues et une bonne résistance à l’herbivorie et donc une capacité importante à conserver les nutriments. Cet axe de gestion des ressources renseigne aussi sur les habitats des plantes (Lavorel *et al.* 2007). En effet, on retrouve généralement les espèces à stratégies d’acquisition des ressources dans les milieux à forte disponibilité en nutriments alors que les espèces à stratégie de conservation se retrouvent généralement dans les milieux à faible disponibilité en nutriments.

Axe 2 : Compromis masse et nombre de graines

La masse des graines et le nombre de graines produites sont des traits qui affectent fortement l’écologie des plantes, ils jouent un rôle majeur non seulement dans la dispersion, l’établissement et la survie des plantules (Westoby 1998; Jakobsson & Eriksson 2000), mais aussi dans la gestion des ressources par les adultes avec un compromis bien connu entre allocation d’énergie à la production de graines ou à la croissance. Si la masse des graines est extrêmement variable en fonction des espèces, il a été montré qu’elle est très peu plastique en fonction des conditions de croissance (Moles *et al.* 2005).

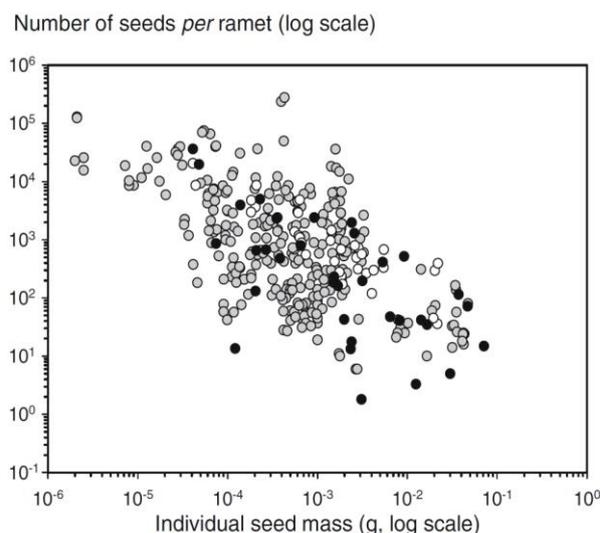


Figure 4 : Relation entre le nombre de graines produites par individu et la masse moyenne d’une graine chez des plantes prairiales. Points gris : mesures effectuées sur 57 espèces provenant de prairies humides, bords de routes, friches et forêts (Shipley et Dion 1992). Points noirs : données mesurées sur 34 espèces de friches méditerranéennes (Vile *et al.* 2006). Points blancs : données de 18 espèces de friches méditerranéennes mais qui ont poussé en jardin expérimental (Fortunel *et al.* 2009). Coefficient de corrélation : $r=-0.61$ ($P<0.001$, $n=347$). Figure extraite de Garnier et Navas (2011).

Le principal compromis présenté par les plantes au niveau des graines est un compromis entre taille et nombre de graines, en effet par unité de biomasse allouée à la production de graines, les plantes ont le “choix” entre faire beaucoup de graines de petite taille ou peu de graines mais de grande taille (Figure 4 ; Westoby 1998; Westoby *et al.* 2002). Le fait de produire beaucoup de petites graines va fournir un avantage en termes de dispersion car de petites graines sont plus susceptibles d’être transportées par le vent sur de longues distances (Weiher *et al.* 1999). Par contre les plantules issues de grosses graines sont généralement plus grosses et ont plus de chance de survivre dans des milieux peu perturbés (Jakobsson et Eriksson 2000). Cela s’explique par le fait que les grosses graines possèdent plus de réserves et peuvent donc supporter plus longtemps un mode de fonctionnement hétérotrophe avant que la plantule ait atteint une taille suffisante pour acquérir assez de lumière pour être complètement autotrophe (Westoby *et al.* 2002). On retrouve donc un compromis similaire à celui exposé par MacArthur et Wilson (1967) entre stratégie r et K, avec les stratégies r produisant beaucoup de petits ayant individuellement peu de chance de survie mais colonisant des milieux divers et souvent perturbés et des stratégies de type K produisant peu de petits ayant de fortes chances de survie et étant compétitifs dans des milieux peu perturbés.

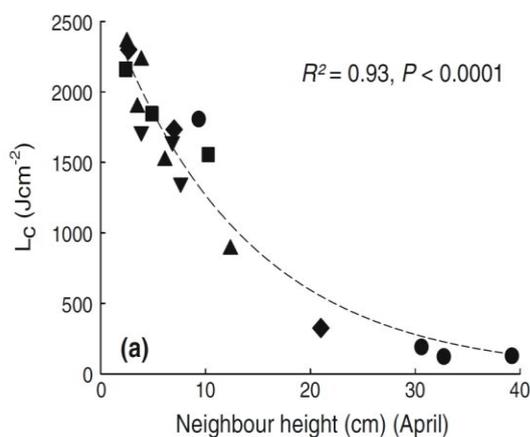


Figure 5 : Relation entre la hauteur du couvert et la lumière transmise au travers de ce dernier (L_c). Carrés : plantes rampantes ; Cercles : plantes en touffes ; Triangles : plantes à feuilles dressées ; Triangles inversés : arbustes nains ; Diamants : plantes en rosettes. Figure extraite de Violle *et al.* (2009).

Axe 3 : la hauteur à l’âge adulte

La taille d’un individu à maturité est bien évidemment très informative sur sa capacité à intercepter la lumière mais aussi sur sa capacité à faire face à des perturbations ou au stress hydrique (Westoby *et al.* 2002; Díaz *et al.* 2004; Violle *et al.* 2009). Violle *et al.* (2009) ont notamment montré chez les plantes prairiales que plus le couvert est haut plus il est capable d’intercepter une quantité importante de lumière (Figure 5). Cependant la taille d’un individu ne peut être considérée qu’à la lumière de la taille de ses voisins, une taille similaire en forêt ou en prairie ne va pas donner le même accès à la lumière (Westoby *et al.* 2002). Donc

pour une même valeur de taille une espèce prairiale peut être très compétitive pour la lumière alors qu'une espèce de forêt ou de friche va être sous le couvert de ses voisins. Un autre problème lié à la mesure de la taille est qu'elle est extrêmement sensible aux conditions de croissance et aux perturbations ; ainsi dans des prairies de fauches ou encore pâturées une même valeur de taille ne va pas impliquer les mêmes effets sur la fitness³ des individus que dans une friche. La hauteur a aussi un rôle important pour la reproduction, elle a notamment un effet sur la pollinisation et la dispersion des graines (Lortie & Aarssen 1999; Soons *et al.* 2004). Dans le cas des arbres, il n'y pas de différence marquée entre les hauteurs végétatives et reproductives ; pour ce qui est des prairies, il peut y avoir un écart très fort entre ces deux hauteurs ce qui amène généralement à mesurer : i) la hauteur végétative renseignant sur la capacité d'une espèce à être compétitive pour la lumière (Violle *et al.* 2009) et ii) la hauteur reproductive qui, elle, donne notamment des informations sur la dispersion (Soons *et al.* 2004).

Axe 4 : Compromis autour de la taille des feuilles et des rameaux

Des quatre axes de compromis, ce dernier est sans aucun doute celui qui reste le plus obscur à l'heure actuelle (Lavorel *et al.* 2007). Il est basé sur le constat que si les plantes ont de grosses tiges elles ont aussi de grosses feuilles, alors que lorsque les tiges sont fines et fortement ramifiées elles portent généralement de petites feuilles. Le fait de produire de grandes ou de petites feuilles va avoir un fort impact sur la régulation de la température des feuilles. Avoir de grandes feuilles implique d'avoir un périmètre faible par unité de surface de feuille donc des capacités de refroidissement par convection plus faibles que dans le cas de petites feuilles (Givnish 1988). Pour des ensoleillements forts, de grandes feuilles vont voir leur température augmenter plus fortement que des petites feuilles. Cela va impliquer une augmentation de la respiration plus forte que celle de la photosynthèse, rendant les grandes feuilles moins efficaces si elles sont placées sous de forts ensoleillements. De plus, la température élevée va entraîner une plus forte transpiration (Givnish 1988). Le fait d'avoir de grandes feuilles est donc désavantageux dans des milieux secs et ensoleillés car cela augmente les effets du stress hydrique sur la croissance des plantes. Par contre, dans des conditions de croissance plutôt humides et/ou ombragées, avoir de grandes feuilles est un avantage pour acquérir la lumière (Givnish 1988). Cela est mis en évidence par les changements morphologiques observés entre les stades juvéniles et adultes de certains arbres de forêt

³ La fitness ou encore la valeur sélective d'un individu d'écrit sa capacité à ce reproduire (transmettre ses gènes à la génération suivante) dans un environnement donné.

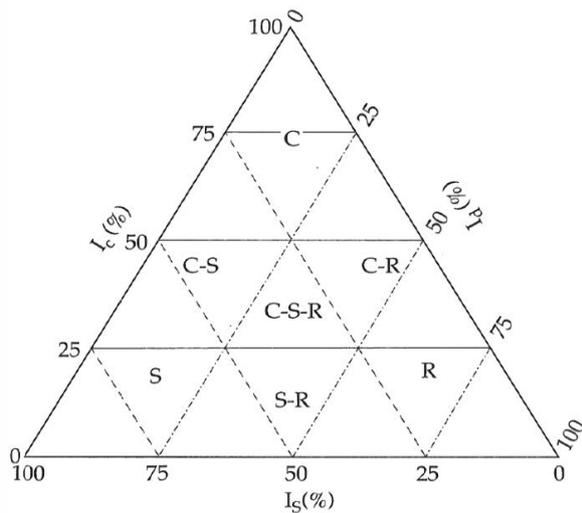


Figure 6 : Triangle CSR de Grime décrivant les différentes stratégies possibles résultant de compromis entre stratégie de compétition (I_c), de tolérance au stress (I_s) et de tolérance aux perturbations (I_d). Figure extraite de Gibson (2009)

tropicale. Le stade juvénile, qui se déroule dans un environnement humide et très ombragé, présente peu de très grandes feuilles par longueur de rameau alors que l'adulte va présenter au niveau de la canopée beaucoup de petites feuilles par longueur de rameau (Rozendaal, Hurtado, & Poorter 2006). Pour ce qui est de la taille et de la longueur des rameaux et de leur branchement, il semblerait qu'ils soient plus influencés par l'espèce que par les conditions de croissance (Ducrey 1992).

II.2.b Le triangle CSR de Grime

Le triangle CSR de Grime (Figure 6) est une représentation des espèces selon deux axes (Grime 1977) sur lesquels elles se positionnent en fonction de leur stratégie de croissance durant leur phase adulte. Le premier axe est l'axe C-S qui sépare les espèces dites compétitrices (C) des espèces tolérantes au stress⁴ (S). Pour Grime, la compétition est *“la tendance des plantes voisines à utiliser les mêmes quantités de lumière, d'ions, de nutriments minéraux, de molécules d'eau ou d'espace”*. Il est important de noter ici que les plantes en compétition sont forcément voisines ce qui *“implique qu'un certain degré d'intimité physique est caractéristique des plantes en compétition”* (Grime 1977). Les espèces compétitrices sont donc selon Grime 1977 des espèces capables de mobiliser plus rapidement les ressources que leurs voisines grâce à une croissance rapide. Ces caractéristiques vont leur permettre d'acquérir les ressources avant leur concurrentes, faisant d'elles des compétitrices efficaces. A l'opposé du gradient C-S, on retrouve les espèces de type S qui, elles, ont une croissance lente qui s'accompagne d'un renforcement des tissus permettant aux plantes de limiter leur renouvellement et donc la perte de nutriments et d'énergie. Ces caractéristiques font de ces espèces de piètres compétitrices quel que soit le milieu dans lequel elles se développent (Grime 1977). Mais ce sont, néanmoins, des espèces capables de supporter des stress

⁴ On parle de stress quand les conditions de croissance limitent la production, e.g. ombrage, pénurie d'eau, de nutriments ou températures de croissance suboptimales (Grime 1977).

importants. Ce qui n'est pas les cas des compétitrices qui, elles, ont besoin de beaucoup de ressources, facilement accessibles pour se développer (Grime 1977). La disparition des plantes compétitrices dans des milieux stressants n'est donc, pour Grime, pas liée au fait que d'autres espèces sont de meilleures compétitrices dans ces milieux mais au fait qu'elles ne supportent pas le stress. Cet axe C-S peut être interprété comme l'homologue de l'axe de gestion des ressources proposé par Westoby *et al.* (2002), sauf que dans ce cas, en plus de fournir des informations sur les stratégies de croissance, Grime *et al.* (1997) ont aussi mis en évidence que cet axe renseigne sur les conditions de croissance des espèces et leurs capacités à interagir en communauté.

Le second axe (R) est un axe allant des espèces ne tolérant pas les perturbations (compétitrices ou stress-tolérantes), aux espèces qui tolèrent efficacement les perturbations⁵, les espèces rudérales (R). Cet axe est lui aussi peut être en partie interprété comme l'équivalent d'un des quatre axes de spécialisation proposé par Westoby *et al.* (2002) ; il s'agit de l'axe de compromis entre taille et nombre de graines. On retrouve, chez les espèces rudérales, les plantes ayant généralement des cycles courts capables de produire beaucoup de petites graines alors qu'à l'opposé les plantes ne tolérant pas la perturbation vont avoir des cycles plus longs et vont produire peu de grosses graines (Grime *et al.* 1997). Là encore, la théorie de Grime permet de mettre en relation les stratégies de développement des plantes et leurs capacités à faire face aux contraintes abiotiques (stress et perturbations) ou biotiques (compétition).

Grime *et al.* (1997) ont montré qu'en utilisant de nombreux traits fonctionnels (67 sur 43 espèces) il était possible de répartir efficacement des espèces prairiales le long de ces deux gradients et que le positionnement des espèces était en accord avec leurs aptitudes à faire face aux stress, aux perturbations et à la compétition. Plus récemment, Pierce *et al.* (2013) ont mis en évidence, au cours d'une étude portant sur 678 espèces de plantes englobant des espèces ligneuses et des herbacées, que l'on pouvait facilement positionner ces espèces sur le triangle de CSR avec seulement trois traits fonctionnels : i) la SLA utilisée comme proxy de la tolérance aux perturbations ; ii) la teneur en matière sèche des feuilles (LDMC) comme proxy de l'aptitude à tolérer les stress ; iii) la surface foliaire (LA) comme proxy de l'aptitude à la compétition. Cette méthode est suffisamment précise pour séparer les différentes stratégies présentes au sein d'une même espèce (Pierce *et al.* 2013).

⁵ Une perturbation est un événement brutal détruisant entièrement ou partiellement la biomasse des plantes que ce soit lié à l'activité d'herbivores, de pathogènes, d'humains (labours, fauches) ou encore de phénomènes tels que le vent, le froid, la dessiccation, l'érosion des sols et le feu (Grime 1977).

Un des points faibles de cette théorie est qu'elle ne considère pas possible l'existence de plantes capables de peupler des environnements perturbés et stressants (Grime 1977). De plus le fait que les espèces typiques des milieux stressants ne soient pas de meilleures compétitrices dans cet environnement que celles de milieux riches ne fait pas l'unanimité. En 1982, David Tilman a donc proposé d'autres mécanismes pour expliquer la compétition entre espèces et à la répartition des espèces le long de gradients de fertilité.

II.2.c Le R* de Tilman

Le modèle de structuration des communautés proposé par David Tilman (1982) dit de "ressources ratio" a été initialement développé à partir d'observations faites sur des communautés de diatomées et a ensuite été élargi aux prairies avec notamment l'expérience de Cedar Creek, Minnesota, USA. Ce modèle se base sur le fait que la compétition pour les ressources (principalement N, eau et lumière) est le facteur prépondérant dans la structuration des communautés. La compétitivité d'une espèce résulte de l'intégration de l'ensemble de son syndrome de traits et est notée R*. Tilman en 1990 propose la définition suivante pour le R* : "niveau auquel est abaissé la concentration de la forme disponible de la ressource limitante par une monoculture d'une espèce, une fois que cette monoculture est arrivée à l'équilibre", en d'autres termes c'est, dans un milieu donné, la concentration minimale de la ressource limitante dont une espèce a besoin pour survivre et croître dans un ce milieu (Tilman 1990). Les espèces les plus compétitives pour une ressource limitante dans un milieu sont donc, pour Tilman, celles qui sont capables d'abaisser plus fortement que leurs voisines la concentration de cette ressource et de continuer de pousser dans ces conditions.

Dans ce modèle, la cohabitation entre plusieurs espèces est rendu possible par le fait que ces espèces vont avoir des exigences différentes en termes de ressources. Chaque espèce ayant une ressource pour laquelle elle est plus compétitive que les espèces avec qui elle cohabite. Donc si l'on prend un modèle simple, où l'on considère la coexistence entre deux espèces, l'une meilleure compétitrice pour la lumière (*Holcus lanatus*) et l'autre pour N (*Agrostis capillaris*) le modèle prédit que la coexistence est possible s'il n'y a pas de déséquilibre de disponibilité entre ces deux ressources (Figure 7 ; Tilman 1982 dans Gibson 2009 p. 125). Selon le modèle R*, si le milieu est riche en azote mais ombragé *H. lanatus* est dominante, alors que si le milieu est pauvre en N mais lumineux c'est *A. capillaris* qui va dominer. Une des faiblesses de ce modèle est le fait qu'il a été très peu testé sur d'autres prairies que celles de Cedar Creek où il a été conçu. Jusqu'en 2005, il n'a été reporté qu'une seule étude testant et validant le modèle R* sur une prairie hors de Cedar Creek alors que

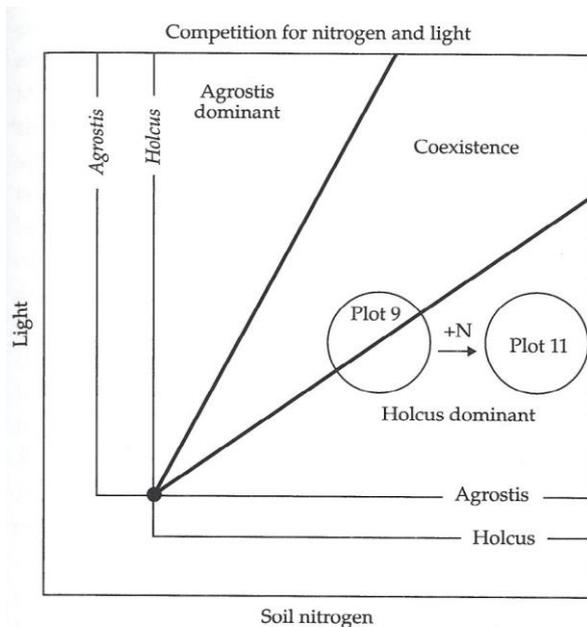


Figure 7 : Représentation schématique de résultats issus de l'expérimentation de Park Green (RU) supportant la théorie R* de Tilman. La figure montre les isoclines des croissances nulles pour *Agrostis capillaris* et *Holcus lanatus* pour des limitations par l'azote ou l'eau. Les axes sont des gradients de disponibilité de ces ressources, avec des disponibilités faibles en bas à gauche et une augmentation de la disponibilité en azote en allant vers la droite et en lumière en allant vers le haut. Les cercles montrent l'effet d'un apport d'azote sur la composition botanique d'une parcelle qui passe d'un mélange *A. capillaris* – *H. lanatus* à dominance forte par la *H. lanatus*. Figure extraite de Gibson 2009.

1333 auteurs l'ont cité (Miller *et al.* 2005). Depuis, une étude sur la capacité de *Bromus tectorum*, une espèce envahissante, à évincer ou non l'espèce native *Hilaria jamesii* en fonction du milieu de croissance a mis en évidence la pertinence du R* (Harpole 2006). La même année Krueger-Mangold *et al.* (2006) ont montré que différents R* ne pouvaient pas permettre de prédire la compétition entre deux espèces natives (*Pseudoroegneria spicata*, *Helianthus annuus*) et une espèce invasive (*Centaurea maculosa*). Une autre des limites de cette approche est le fait que l'on ne peut facilement considérer que deux espèces en compétition pour deux ressources ; or le nombre d'espèces qui interagissent dans une communauté peut être bien plus important même à l'échelle du voisinage.

II.2.d Bilan des trois théories

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, il existe de nombreuses similitudes entre les axes de spécialisation (Westoby *et al.* 2002) et le triangle de stratégie CSR (Grime 1977). L'une des différences majeures entre ces approches est que les axes de spécialisation sont soutenus par un ou deux traits (Westoby 1998; Westoby *et al.* 2002), là où plusieurs dizaines de traits peuvent soutenir les axes du triangle CSR (Grime *et al.* 1997). Cela rend cette approche plus simple que la construction du triangle CSR. Mais Pierce *et al.* (2013) ont montré très récemment que le nombre de traits utilisés pour construire le triangle CSR pouvait être très fortement réduit sans pour autant perdre en précision dans la définition des stratégies. Ce qui met finalement ces approches sur un pied d'égalité en termes de facilité d'utilisation. L'approche LHS garde cependant un avantage : elle n'exclut pas de combinaisons de stratégies (Stress-tolérante et rudérale) comme dans le triangle CSR (Grime 1977). Car

contrairement à ce que prédit le triangle de Grime, des études ont mis en évidence la difficulté d'avoir des sols totalement inoccupés même en croisant des gradients de perturbation et de stress (Campbell et Grime 1992).

Si les théories des axes de spécialisation et CSR semblent construites sur les mêmes bases, on note de fortes divergences entre les notions de disponibilité des ressources et de compétition données par Grime (1977) et par (Tilman 1990). Pour Grime, le niveau de disponibilité des ressources est variable dans le temps et l'espace alors que le second, dans sa théorie R*, considère les ressources comme spatialement homogènes et non variables au cours du temps si ce n'est sous l'influence du prélèvement des végétaux. Ces différences de point de vue sur la ressource ont certainement conditionné la façon dont ces deux auteurs envisagent la compétition. Grime (1977) énonce qu'elle n'est un facteur important de la structuration des communautés que dans les milieux non stressants alors que dans les milieux stressants, c'est plus la capacité des plantes à tolérer le stress qui va permettre le maintien dans le milieu. Alors que, pour Tilman, les espèces que l'on retrouve dans les milieux stressants sont les espèces qui ont été capables d'éliminer par compétition les autres. En d'autres termes, pour Grime, il existe un groupe d'espèces qui sont de fortes compétitrices (quelles que soient les ressources considérées) qui sont éliminées des milieux stressants laissant la place aux espèces stress-tolérantes, alors que pour Tilman, toute plante est une compétitrice efficace pour au moins une ressource ce qui explique sa présence dans les milieux où cette ressource est limitante.

II.3 Et les racines dans tout ça ?

Nous venons de présenter les trois principales théories portant sur les stratégies des plantes et donc sur leurs capacités à s'implanter, survivre et se reproduire dans différents habitats, sans pour autant avoir abordé le compartiment racinaire qui pourtant accomplit des fonctions clefs pour la croissance et le développement des plantes. Que se soit dans son schéma LHS (Westoby 1998) ou dans sa proposition de grands axes de spécialisation des plantes (Westoby *et al.* 2002), Westoby n'aborde pas le fait qu'il existe différents types de stratégies racinaires. Les racines ne sont abordées qu'en termes de coût pour le maintien de la surface foliaire (Westoby *et al.* 2002). Grime traite plus largement le cas des stratégies racinaires, donnant même aux interactions racinaires un rôle déterminant dans la compétition au moment de l'établissement d'un couvert (Grime 1977). Il considère qu'il existait une intégration de la stratégie de la plante au niveau de l'organisme dans son ensemble et par conséquence que les stratégies des systèmes racinaires seraient largement calquées sur celles

Encadré 1 : La morphologie racinaire

Les racines sont les organes des plantes spécialisés dans l'ancrage et dans l'absorption, le stockage et la conduction de l'eau et des nutriments. Les dicotylédones produisent généralement des systèmes racinaires pivotants alors que les monocotylédones sont de type fasciculé (Figure 8).

Comme représenté par la Figure 9 les racines se développent à partir d'un méristème apical qui se trouve à la base de la zone dite de division de l'apex. Au cours de la croissance primaire, ce méristème apical produit trois méristèmes primaires : le protoderme, le méristème fondamental et le procambium.

Ces méristèmes donneront respectivement : l'épiderme, le cylindre cortical (cortex) et le cylindre central (Figure 9 et Figure 10). Le méristème apical produit aussi une coiffe de cellules non adhérentes à la racine qui protègent le méristème et facilitent la pénétration de la racine dans le sol. Au dessus de la zone de division et de la coiffe, on retrouve une zone d'élongation cellulaire, puis une zone de différenciation au niveau de laquelle les cellules vont acquérir leur fonction définitive.

Au moment de la différenciation une partie importante des cellules de l'épiderme se transforme en poils racinaires qui vont permettre d'augmenter fortement la surface de contact entre la racine et le sol, donc le volume de sol exploré. Au niveau du cylindre cortical, on observe la mise en place d'un tissu généralement peu dense avec de nombreux espaces intercellulaires.

Au contraire les cellules de l'endoderme forment grâce à la mise en place de leur cadre de Caspary, une barrière contrôlant le passage de l'eau et des nutriments du cortex vers le cylindre central. On peut aussi observer chez beaucoup d'angiospermes la mise en place d'un exoderme marquant la limite entre cortex et épiderme. Le cylindre central est lui composé des éléments conducteurs, le xylème (conduisant la sève brute) et le phloème (conduisant la sève élaborée) et du péricycle qui donnera les racines secondaires.

La croissance secondaire qui ne s'effectue que chez les dicotylédones est responsable de l'accroissement du diamètre racinaire. Elle se fait à partir de méristèmes secondaires dérivant généralement du péricycle ; elle a pour conséquence la destruction des structures primaires de la racine et la mise en place de nouveaux tissus conducteurs xylème et phloème secondaires ainsi que du périderme (phelloderme et liège). D'après Raven et al. 2007.

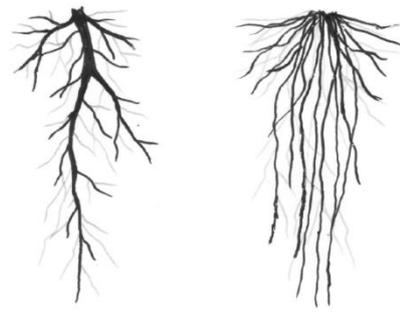


Figure 8 : Représentation schématique de systèmes racinaires de type (a) pivotant et (b) fasciculé.

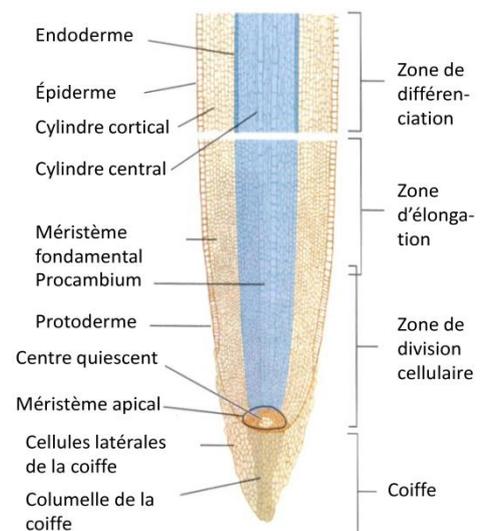


Figure 9 : Représentation d'une coupe longitudinale d'un apex de racine de maïs (monocotylédone, *Zea mays*) adapté de Raven et al. 2010.

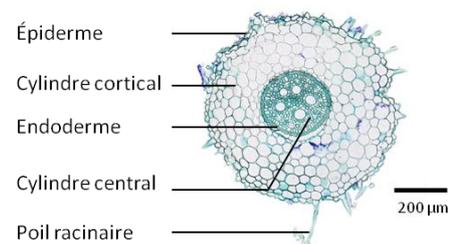


Figure 10 : Coupe transversale d'une racine de dactyle (monocotylédone, *Dactylis glomerata*).

des parties aériennes (Grime 1977). Les systèmes racinaire des plantes les plus compétitrices ont donc selon cette théorie la capacité de coloniser rapidement les patches de ressources et d'acquérir rapidement ces dernières au moment des pulses. Alors que les systèmes des espèces tolérantes aux stress vont être capables de conserver les ressources en limitant leur turn-over (Grime 1977).

Plusieurs études, mettant en évidence des corrélations entre les traits racinaires et aériens, ont par la suite validé l'hypothèse d'intégration des stratégies des plantes (Grime *et al.* 1997; Tjoelker *et al.* 2005; Freschet *et al.* 2010). Cependant, (Liu *et al.* 2010), en montrant que pour une même valeur de SLA, les plantes issues de milieux sec présentaient des longueurs racinaires spécifiques ("specific root length" : SRL) plus élevées que les plantes de milieux plus humide, ont mis en évidence que les relations entre les stratégies des parties aériennes et racinaires pouvaient être modifiées en fonction de l'adaptation des plantes à différentes conditions de croissance. Faire l'hypothèse de l'intégration de la stratégie de la plante dans son ensemble masque donc des différences de stratégie entre compartiment aérien et racinaire et entraîne la perte d'informations sur l'adaptation des plantes à différentes contraintes.

Enfin, la théorie du R^* considère que les racines sont un moyen de faire chuter la concentration en nutriment du sol. Selon cette théorie, les plantes qui ont une forte biomasse racinaire sont capables d'abaisser fortement la concentration en nutriments du sol mais par contre ont une croissance aérienne lente car elles doivent investir une partie importante de leur carbone dans le développement et le maintien de leur système racinaire (Tilman & Cowan 1989). Cependant, comme l'a reporté Craine en 2005, des incohérences ont rapidement étaient mises en évidence ce qui a conduit Tilman à réduire grandement la part du système racinaire dans la théorie du R^* .

En résumé, les racines sont peu considérées dans les travaux d'écologie fonctionnelle portant sur la caractérisation des stratégies des plantes et quand elles le sont c'est généralement par analogie avec les parties aériennes et plus particulièrement avec les feuilles. Or, il est évident que les feuilles et les racines n'assurent pas les mêmes fonctions, là où la feuille intercepte la lumière et fixe le CO_2 pour effectuer la photosynthèse, les racines vont acquérir l'eau et tous les nutriments essentiels aux plantes. En plus de ce rôle d'acquisition des ressources, les racines ont souvent un rôle de stockage des nutriments et parfois de l'eau (Raven *et al.* 2007 p. 743). Enfin elles ont aussi pour fonction l'ancrage de la plante dans le sol et le transport de l'eau et des nutriments du sol vers les tiges, ce qui les rapproche par certains aspect plus des tiges que des feuilles et notamment en terme de structures (Encadré I).

Le plus souvent, quand on étudie un échantillon de système racinaire, on étudie un mélange de racines de différents ordres⁶ qui ont des fonctions différentes (ancrage, transport, acquisition des nutriments...), et des valeurs de traits fonctionnels différentes (Picon-Cochard *et al.* 2011). Enfin, une des dernières différences est la croissance quasi continue des racines qui se fait à partir de leur méristème apical (Encadré I) là où les feuilles une fois déployées ne vont plus grandir.

Toutes ces différences mettent en évidence la nécessité de traiter de façon au moins équivalente les feuilles et les racines dans les études portant sur les stratégies des plantes. Car “il est clair que les syndromes de gestion des ressources qui ont été largement observés au niveau des feuilles ne peuvent être directement extrapolés aux racines, et ne sont pas comparables entre parties racinaires et aériennes” (Mommer et Weemstra 2012). Bien que les racines soient des organes difficiles d'accès, un certain nombre d'études ont déjà mis en évidence des corrélations et des compromis entre différents traits (Tableau 1) et des paramètres tels que la durée de vie des racines, le taux de croissance relatif (RGR, relative growth rate) ou encore les capacités d'acquisition des ressources.

Plusieurs études, portant sur des modèles différents (Comas & Eissenstat 2004; Tjoelker *et al.* 2005; Roumet, Urcelay, & Díaz 2006; Freschet *et al.* 2010; Picon-Cochard *et al.* 2011; McCormack *et al.* 2012), ont posé les bases d'un probable axe de gestion des ressources au niveau du système racinaire qui pourrait se rapprocher d'un “root economic spectrum” (Roumet *et al.* 2012). Bien qu'on ne retrouve pas exactement ce patron dans toutes les études, on peut quand même avancer que cet axe est principalement supporté par l'opposition de deux traits : la SRL et le diamètre moyen des racines. Selon le modèle considéré, on retrouve ou non la densité des tissus racinaires (“Root tissues density” : RTD) corrélée positivement avec le diamètre moyen ou encore la teneur en azote corrélée positivement avec la SRL. Les plantes ayant de fortes SRL et teneurs en azote et de faibles diamètres et RTD auraient des taux de respiration élevés et des durées de vie de racines courtes (Tjoelker *et al.* 2005; Picon-Cochard *et al.* 2011; McCormack *et al.* 2012) et la capacité d'acquies rapidement d'importantes quantités de ressources (Mommer *et al.* 2011). Alors qu'à l'opposé, on retrouverait des plantes ayant des rythmes d'acquisition des ressources plus lents mais avec beaucoup moins de perte d'éléments via le renouvellement des

⁶ Les racines d'ordre 1 apparaissent au niveau du collet de la plante ou du plateau de tallage, elles donnent les racines d'ordre 2 qui donnent-elles les racines d'ordre 3 et ainsi de suite (Picon-Cochard *et al.* 2012).

Tableau 1 : Liste de traits fonctionnels et leur signification présumée ou établie (adapté de Roumet *et al.* 2006).

Traits	Abbreviation (units)	Functional significance	Key references
Topological index	-	Soil exploration and exploitation efficiency (+) Water transport (-)	Fitter (1985)
Proportion of root length with diameter <0.2 mm	Fine roots (% root length)	Rate of nutrient uptake (+) Root longevity (-)	Eissenstat (1992); Ryser (1998)
Specific root length	SRL (m.g ⁻¹)	RGR (+) Root respiration (+) Rate of nutrient and water uptake (+) Root elongation rate (+) Root turnover (+)	Eissenstat (1992); Ryser (1998); McCormack <i>et al.</i> (2012)
Root tissue density	RTD (g.cm ⁻³)	Longevity (+) Resistance to herbivores, drought (+) Root decomposition rate (-)	Eissenstat & Yanai (1997); Ryser (1998) Withington <i>et al.</i> (2006)
Root diameter	D (mm)	Rate of nutrient uptake (-) Longevity (+) Storage (+) Transport of water (+) Penetration force in soil (+)	Eissenstat (1992); Ryser (1998); McCormack <i>et al.</i> (2012); Hernández, Pausas, & Bellot (2010)
Root length density	RLD (cm.cm ⁻³)	Nutrient uptake (+)	Mommer <i>et al.</i> (2011); Craine (2006)
Root nitrogen content	RNC (%)	Root respiration (+) Root growth (+) Root longevity (-) Root decomposition rate (+)	Reich <i>et al.</i> (1998); Reich <i>et al.</i> (2003); Tjoelker <i>et al.</i> (2005)
Mycorrhizal colonization	(% root length colonized)	Nutrient uptake (+) Protection against pathogens (+)	Willis, Rodrigues, & Harris (2013); Jung <i>et al.</i> (2012)

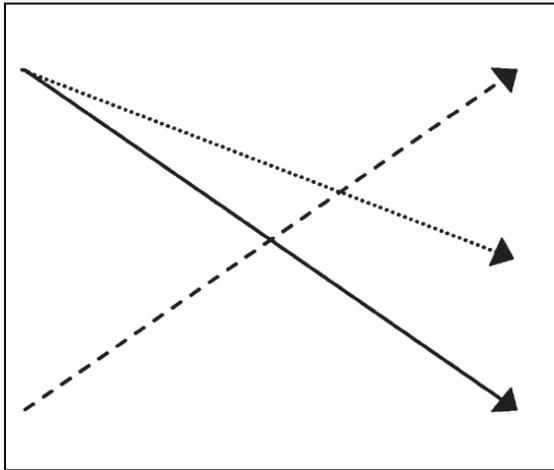


Figure 11 : Modèle conceptuel montrant la direction et la force relative des relations entre le taux de croissance des plantes (ligne pleine), le diamètre racinaire (ligne en tirets), la concentration en azote des racines (pointillés) avec la durée de vie des racines fines. Figure extraite de McCormack *et al.* (2012).

tissus (Figure 11). En d'autres termes, il existerait bien un axe de gestion des ressources, comme nous l'avons décrit pour les parties aériennes, opposant des espèces à croissance rapide à des espèces à croissance lente (Comas & Eissenstat 2004). Cependant, cet axe est loin d'être établi car la plupart des études portent sur des traits et des espèces différents et utilisent des méthodes différentes ; au final ces travaux aboutissent à des résultats parfois contradictoires présentant des relations entre traits et fonctions qui ne sont pas toujours significatives. D'autres axes, opposant par exemple des systèmes racinaires superficiels à des systèmes racinaires

plus profonds ou encore des forts investissements dans des pivots à des systèmes fasciculés, pourraient eux mettre en évidence des stratégies visant à faire face à des niveaux de ressources limitants (eau et nutriments).

Comme cela a été rapporté par Lavorel *et al.* (2007) et Garnier & Navas (2011) il reste encore à : i) identifier les traits reliés aux fonctions d'acquisition des ressources, d'ancrage, de stimulation de l'activité rizosphérique ou encore à la décomposition des racines ; ii) tester les relations entre les traits foliaires et racinaires pour utiliser les traits foliaires comme proxy des traits racinaires et j'ajouterai pour mieux définir les stratégies des plantes ; iii) standardiser les mesures de traits racinaires comme cela a été fait pour les traits foliaires (Cornelissen *et al.* 2003) pour permettre des comparaisons à grandes échelles ce qui aboutirait à faire émerger des liens plus clairs entre traits et fonctions.

III Les règles d'assemblages des communautés végétales

“La composition botanique des foins des prairies naturelles est une résultante des conditions du climat, de l'influence du sol, de la composition de la flore et du mode d'exploitation. [...] Toutes les espèces n'étant pas également bien douées pour une migration et une expansion rapide, la prairie donne un foin dont la composition se complique d'année en année. Après 5 ou 6 ans environ, sa composition représente une association végétale naturelle caractéristique du climat et du sol.”

Gain & Brocq-Rousseau, *Traité des foins*, 1912

Cet extrait du *Traité des foins* (1912) montre que bien avant Diamond (1975) et (Keddy 1992), les agronomes avaient compris le besoin d'identifier et de comprendre les règles pilotant l'assemblage des communautés prairiales pour mettre en place les couverts prairiaux les plus cohérents possibles avec les exigences des milieux d'implantation. Depuis des règles ont été formulées sous la forme de trois types de filtres intervenant l'un après l'autre sur la composition spécifique des communautés (Figure 12 ; Keddy 1992; Lortie, Brooker, & Choler 2004) avec : i) un filtre de dispersion, qui détermine le pool d'espèces qui peuvent potentiellement coloniser une communauté, ce filtre dépend principalement d'événements biogéographiques stochastiques; ii) les filtres environnementaux sont la résultante de l'effet des conditions environnementales sur le développement des plantes, i.e. stress climatiques ou édaphiques, perturbations ; iii) un filtre biotique qui lui est la résultante des interactions positives ou négatives mises en place entre les différents organismes de la communauté.

Comme nous l'avons montré précédemment, les syndromes de traits fonctionnels qu'ils soient aériens ou racinaires permettent d'identifier les stratégies des espèces et donc leur capacité des espèces à passer au travers des différents filtres. Par conséquent, il peut être observé une convergence ou une divergence des valeurs de traits au sein d'une communauté en fonction de l'importance de l'effet des différents filtres (Garnier et Navas 2011).

IV Le filtre de dispersion

Le filtre de dispersion est certainement celui qui paraît le plus aléatoire (Lortie *et al.* 2004). Il détermine le pool régional d'espèces et est donc la conséquence d'événements biogéographiques. Au début de l'implantation d'une communauté, ce filtre prédomine et peut induire des patrons de répartition des espèces semblant aléatoires, car l'arrivée d'une espèce à

pu rapidement coloniser le milieu même si leur population mère se trouve loin de la zone à coloniser. Par la suite si d'autres perturbations ne rajeunissent pas la communauté laissant le temps aux espèces ayant de faibles capacités de dispersion d'arriver dans le milieu, on retrouvera, comme décrit dans le *Traité des foins* (Gain et Brocq-Rousseau, 1912), une communauté résultant des deux autres types de filtres et de processus.

Ceci a conduit McGill (2003) à conclure, contrairement à ce qu'avancait Hubbel (2001), que la structure d'une communauté n'est pas aléatoire mais dépend d'un grand nombre de facteurs et que tous les individus ne sont pas équivalents. Dans ce travail, je ne me suis pas particulièrement intéressé à ce filtre car dans le cas de prairies gérées par l'homme, il est généralement court-circuité par l'apport de semences venant d'autres régions que cela soit volontaire ou non.

IV.1 Les filtres environnementaux

Les filtres environnementaux sont répartis en deux grandes catégories, ceux liés aux stress et ceux liés aux perturbations. Dans un habitat, les espèces sélectionnées par les filtres sont, par définition, adaptées aux mêmes conditions de croissance (Keddy 1992; Lortie *et al.* 2004). Donc en partant du principe que les valeurs de traits présentées par une plante sont caractéristiques de sa capacité à se développer dans un milieu donné, on comprend pourquoi les filtres abiotiques conduisent généralement à une convergence fonctionnelle au sein d'une communauté (De Bello *et al.* 2009; Cornwell & Ackerly 2010). Lorsque ces filtres portent sur des disponibilités en ressources, cette convergence s'observe principalement au niveau de traits liés à la gestion des ressources, mais il peut y avoir divergence pour des traits reliés à d'autres fonctions (Grime 2006). Comme par exemple la reproduction, en effet il est courant de retrouver dans une même communauté des espèces privilégiant la reproduction végétative alors que d'autres ne vont faire que de la reproduction sexuée. L'une des conséquences de cette convergence des traits liés à la gestion des ressources au sein des communautés est la mise en place de gradients de valeurs de traits le long des gradients environnementaux (Lavorel *et al.* 2007; Garnier & Navas 2011).

Les perturbations jouent aussi un rôle important dans la structuration des communautés (Hooper *et al.* 2005). Dans les milieux très perturbés, on trouvera une très grande majorité d'espèces rudérales capables d'accomplir rapidement leurs cycles. Ces espèces ont généralement des syndromes de traits permettant une croissance et une reproduction rapide (Grime 1977). Huston (1979) a mis en évidence, que pour des niveaux de perturbation intermédiaire, il y avait maximisation de la biodiversité. Car, pour des niveaux de

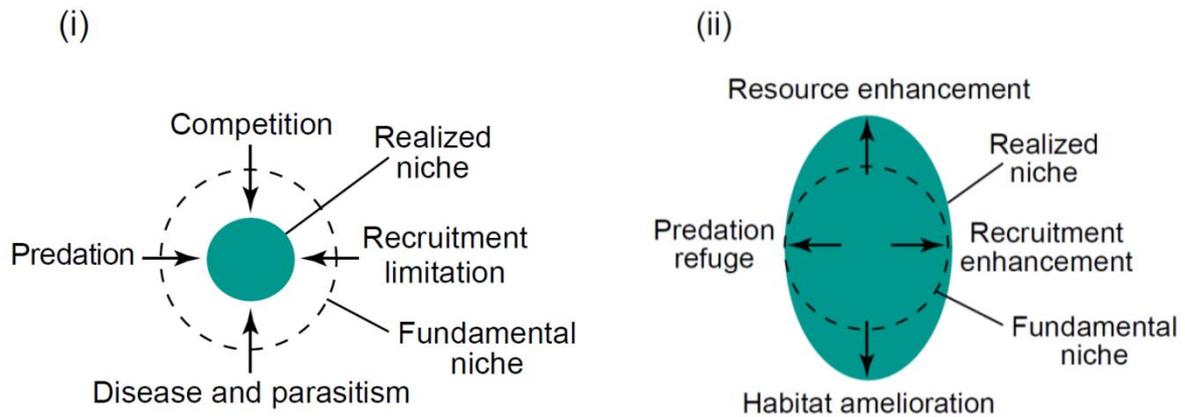


Figure 13 : Passage de la niche fondamentale (en pointillé) à la niche réalisée (en vert) sous l'effet (i) de la compétition (interaction biotique négative) (ii) ou de la facilitation (interaction biotique positive). Figure extraite de (Bruno et al. 2003)

perturbation moyens, les espèces compétitrices seraient affaiblies ce qui permettrait à d'autres espèces de se développer. On peut citer, dans le cas de la prairie, le fait que les espèces de grande taille sont plus fortement impactées par les perturbations (fauche, pâture...) que celles de petite taille ce qui va leur permettre de coexister (Fynn, Morris, & Kirkman 2005).

Ces filtres abiotiques jouent un rôle majeur dans la structuration des communautés car ils imposent les conditions auxquelles les espèces doivent faire face pour s'établir et croître (Lortie *et al.* 2004). Donc les espèces qui vont passer à travers ces filtres sont celles dont au moins une partie de la niche fondamentale⁸ correspond aux conditions de croissance imposées par ces filtres (Figure 13). Dans le cas d'habitats peu stressants ou peu perturbés ces filtres ne vont que peu limiter l'établissement des espèces (Grime 2006). Il est à noter cependant qu'ils excluent certaines espèces, comme celles adaptées à des stress nutritifs sévères pour lesquelles des disponibilités élevées en nutriments sont toxiques (Lambers *et al.* 2008). Dans le cas de milieux peu stressants et perturbé se sont les filtres biotiques qui vont avoir un impact prépondérant dans la composition de la communauté.

IV.2 Les filtres biotiques

Sont regroupés sous le terme de filtres biotiques tous les effets que peuvent avoir les organismes présents dans la communauté sur l'implantation et le développement d'autres individus arrivants dans la communauté. Ces filtres ne sont pas indépendants des filtres abiotiques présentés précédemment, en effet l'action des organismes peut modifier les conditions environnementales (Figure 12). Dans une communauté, ce filtre abiotique est la

⁸ La niche fondamentale d'une espèce correspond aux conditions de croissance qui, en l'absence d'interaction biotique, vont lui permettre de se maintenir indéfiniment (Hutchinson 1957).

résultante des interactions entre plantes allant de la compétition à la facilitation, mais aussi l'herbivorie, le parasitisme et les interactions entre plantes et micro-organismes avec par exemple les symbioses fongiques ou bactériennes. Ces filtres imposent aux espèces le passage de la niche fondamentale à la niche réalisée⁹ (Figure 13, Bruno, Stachowicz, & Bertness 2003), la compétition va, par exemple, limiter leur implantation dans les zones où d'autres seront de meilleures compétitrices. Si ces zones recouvrent toute la niche fondamentale d'une espèce elle sera exclue du milieu. L'absence de symbiote peut aussi conduire à la mort d'une espèce dans un milieu dont les conditions abiotiques correspondent pourtant à une partie de la niche fondamentale. C'est par exemple le cas des espèces du genre *Pinus* qui ne se développent en zone tropicale que si les champignons mycorhiziens qui leurs sont indispensables sont ajoutés au sol dans lequel ils doivent croître.

La facilitation¹⁰ pourrait quant à elle agrandir la niche fondamentale en permettant à une espèce de s'implanter dans des milieux où sans l'intervention d'une autre plante elle ne trouverait pas les conditions nécessaires (Bruno *et al.* 2003; Michalet *et al.* 2006). S'il semble acquis que les filtres abiotiques liés aux stress et aux disponibilités en ressources conduisent vers une convergence fonctionnelle, le patron est moins clair pour les filtres biotiques. En effet, plusieurs théories s'affrontent sur l'effet des interactions biotiques sur la composition des communautés végétales. De nombreuses études ont mis en évidence que la compétition jouait un rôle majeur dans la structuration (phylogénétique ou fonctionnelle) des communautés (Cavender-Bares *et al.* 2004; Kraft & Ackerly 2010). Ces études suivent l'hypothèse de "competition-niche similarity" proposée par MacArthur & Levins (1967) qui considère que les espèces qui sont les plus à même de coexister sont celles qui ont les niches écologiques les plus différentes, car ces espèces n'ont pas les mêmes exigences en termes d'habitat et surtout ne vont pas utiliser exactement les mêmes ressources. Selon cette hypothèse, ce sont donc les espèces ayant les stratégies de développement les plus différentes qui vont coexister le plus facilement au sein d'une communauté. Or, comme nous l'avons développé précédemment, ces stratégies peuvent être décrites efficacement par les valeurs des traits des espèces. Donc si ce sont bien les espèces ayant le plus de différences dans leurs niches écologiques qui sont le plus en mesure de cohabiter, les interactions biotiques, et plus

⁹ La niche réalisée d'une espèce correspond aux conditions de croissance dans lesquelles elle peut se développer en présence d'interaction biotique (Hutchinson 1957).

¹⁰ La facilitation résulte d'interactions positives mises en place entre des organismes, permettant un meilleur développement d'au moins un des organismes en comparaison avec son développement seul dans le milieu. Le couvert des arbres permet par exemple aux espèces d'ombre de se développer en forêt alors que sans ce couvert qui maintient le milieu frais et ombragé elles ne le pourraient pas (Bruno, Stachowicz, & Bertness 2003).

particulièrement la compétition, devraient conduire vers une divergence des valeurs de traits au sein de la communauté. Voire même si les valeurs de traits sont conservées dans la phylogénie des espèces il devrait aussi y avoir divergence phylogénétique. C'est en tout cas ce qui est prédit par la "competition-relatedness hypothesis" (Cahill *et al.* 2008).

Cependant, si la séparation de niche est un concept bien établi chez les animaux, les plantes sont elles des organismes immobiles qui dépendent toutes des mêmes ressources (l'eau, la lumière, le CO₂, et les nutriments minéraux). Il est donc plus compliqué que chez les animaux d'observer chez les plantes des différenciations nettes de niches (Silvertown 2004). Mayfield & Levine (2010) ont donc suggéré que la compétition dans les communautés végétales pouvait être la résultante de différence d'aptitude à la compétition entre les espèces d'une communauté, développant ainsi l'idée de l'existence d'une hiérarchie entre les compétiteurs qui partagent les mêmes niches (Chesson 2000). Selon eux, la compétition peut ainsi éliminer les espèces ayant les aptitudes à la compétition les plus réduites et donc limiter la cohabitation entre des espèces ayant des stratégies de croissance et donc des valeurs de traits liés à la gestion des ressources différentes (Grime 2006; Mayfield & Levine 2010). Dans ce cas, les interactions biotiques aboutiraient à une convergence des valeurs de traits liés à l'aptitude pour la compétition des différentes espèces au sein d'une communauté. Cette hypothèse a été baptisée par Kunstler *et al.* (2012) "competition-traits hierarchy hypothesis".

Une meilleure compréhension des stratégies des plantes capables de cohabiter dans différents environnements pourrait permettre de mieux raisonner les assemblages d'espèces à implanter dans les agrosystèmes fourragers ou cultivés, afin de maximiser les effets positifs de la diversité sans pour autant semer des espèces "incompatibles" dont la cohabitation n'apporterait aucun bénéfice voire conduirait à une plus faible production.

V Les principales ressources du sol limitant la production

Dans ce paragraphe nous rappellerons brièvement le comportement des trois ressources du sol dont la disponibilité joue un rôle majeur pour l'implantation des espèces dans la majorité des écosystèmes terrestres et limite la production dans les agrosystèmes. Cela afin d'introduire le paragraphe VI qui, lui, traitera des différentes adaptations mises en place par les plantes pour croître même quand ces ressources sont peu disponibles.

V.1 L'eau

L'eau est un élément indispensable de la quasi-totalité des fonctions essentielles pour les plantes que ce soit la respiration, la photosynthèse ou encore le transport de la sève (Raven

et al. 2007). Cela explique que ce soient les précipitations couplées à la température qui déterminent la distribution des prairies sur le globe (Gibson 2009). Mais les précipitations ne sont pas le seul facteur modulant sur le niveau de stress hydrique perçu par le couvert. Le sol joue lui aussi un rôle majeur, car c'est de ses caractéristiques que va dépendre la réserve d'eau accessible pour les plantes entre deux épisodes de précipitation. Par exemple, des sols sableux vont être très drainants là où des sols argileux vont retenir des quantités importantes d'eau. On peut aussi penser à l'effet de la profondeur du sol sur la réserve en eau disponible pour les plantes ; les sols profonds vont avoir, de par leur volume plus important, plus de réserve en eau que des sols superficiels et pourront donc fournir de l'eau aux plantes durant des périodes plus longues en cas de sécheresse. Ainsi pour des fréquences et des quantités précipitation identiques des sols sableux et superficiels vont entraîner des niveaux de stress bien plus importants que des sols argileux et profonds.

V.2 L'azote

L'azote est de par son importance dans la constitution des acides aminés et donc des protéines avec notamment la Rubisco¹¹ considéré, parmi les nutriments, comme le premier facteur limitant la productivité des agro-écosystèmes et notamment des prairies (Gibson 2009). Dans le sol, l'azote est principalement sous forme organique (plus de 95% dans les sols de prairie ; Gibson 2009). L'azote inorganique (NO_3^- et NH_4^+) qui est la forme majoritairement prélevée par les plantes représente lui une fraction très faible (<0,5%). Le passage du compartiment organique vers le compartiment minéral se fait principalement sous l'action de micro-organismes qui vont minéraliser la matière organique. Ce flux est fortement impacté par les conditions du milieu et notamment l'humidité, le pH et la température qui vont favoriser ou non l'action des micro-organismes. Des sols trop secs, pas assez oxygénés, trop acides ou trop froids vont limiter grandement l'activité des micro-organismes ce qui peut conduire à l'accumulation d'azote organique dans les sols avec très peu d'azote disponible (*i.e.* les sols acides de haute montagne). Dans les agrosystèmes, où le labour est pratiqué, il a conduit généralement à une minéralisation rapide qui a pour conséquence un appauvrissement du sol en matière organique, limitant ainsi les stocks d'azote potentiellement disponible. En plus l'azote minéral est très mobile dans le sol donc il est rapidement lixivié dans les horizons profonds et n'est donc plus disponible pour les plantes. Il en va d'ailleurs de même pour une partie de l'azote minéral apporté aux cultures et dans une moindre mesure aux prairies.

¹¹ La Rubisco est une enzyme qui catalyse la réaction de fixation du carbone dans le cycle de Calvin.

V.3 Le phosphore

Après l'azote, le phosphore est certainement le nutriment le plus limitant pour la production végétale (Vance 2001) en lien avec une demande importante en phosphore pour la production de protéine et d'ADN et surtout du fait de son utilisation dans tous les mécanismes énergétiques liés à la photosynthèse ou à la respiration (ATP, NADP).

Le phosphore est aussi très limitant car c'est un élément peu mobile dans le sol. Les ions phosphates réagissent avec de nombreux constituants des sols ce qui limite la distance sur laquelle ils peuvent diffuser dans la solution du sol. Ils forment donc de nombreux précipités avec notamment les ions calcium, fer et aluminium et peuvent être adsorbés sur des argiles ou de la matière organique (Hinsinger 2001). Ces formes immobiles renferment la majeure partie du phosphore total d'un sol et sont les principaux régulateurs de la concentration en phosphore de la solution du sol.

La solution du sol ne contient donc qu'une très faible quantité de phosphore en comparaison avec le phosphore total. Pourtant c'est dans cette solution que la majorité des plantes vont prélever le phosphore dont elles ont besoin pour leur croissance, elles l'acquièrent généralement sous forme d'ions phosphates (Hinsinger 2001; Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011). Cela entraîne l'appauvrissement de la solution du sol et la libération d'ions phosphate présents sous des formes précipitées mais labiles. Mais cet appauvrissement de la solution du sol n'est pas le seul paramètre qui modifie l'adsorption ou la désorption des ions phosphates précipités. Les formes labiles ne sont généralement pas majoritaires dans les sols, le phosphore peut aussi être immobilisé dans des formes amorphes d'oxydes et oxy hydroxydes d'aluminium, de fer ou de phosphates de calcium selon le du pH (Hinsinger 2001). Dans des sols très alcalins ou très acides, la fraction de phosphore labile peut être très réduite impliquant des concentrations en ions phosphate de la solution du sol très faibles par rapport au stock total. C'est le cas des nitisols, des andosols acides, ou des sols calcaires et alcalins (Driessen *et al.* 2001). Dans des conditions acide le phosphore va précipiter sous forme de phosphates de fer et d'aluminium, alors qu'en conditions alcalines, le phosphore va précipiter sous forme de phosphates de calcium (Hinsinger 2001). Le phosphore organique peut aussi représenter une part importante du phosphore total et est là encore généralement peu biodisponible de par sa nature chimique. Il est rendu disponible par l'activité microbienne ou la production d'enzymes par les plantes, des processus eux aussi impactés par le pH des sols. Il existe aussi des sols dans lesquels le phosphore est facilement biodisponible mais dont les quantités de phosphore total sont très faibles et donc les quantités

de phosphore disponibles pour les plantes sont très limitées par exemple les acrisols ou les sols sableux (Driessen *et al.* 2001).

De nombreuses espèces de plantes présentent des stratégies leur permettant de faire face efficacement au manque de phosphore. Ces stratégies peuvent être regroupées en deux grands types que nous allons détailler dans les paragraphes suivants. Ce sont d'un côté les stratégies qui vont avoir pour but d'optimiser le volume de sol exploré par la plante ("foraging strategies"; Richardson *et al.* 2011) et celles qui vont permettre à la plante d'avoir accès à ces types de phosphore peu disponibles ("mining strategies" Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011).

VI Les stratégies pour résister aux stress (Eau, N et P)

Dans les paragraphes suivants sont rapportées les différentes stratégies racinaires pour lesquelles il a été mis en évidence qu'elles permettraient aux plantes (généralement de grande culture) de résister aux stress. Plus précisément elles permettent de maintenir une production élevée en conditions non optimales, ce qui est attendu par les agronomes pour améliorer la productivité et limiter l'usage d'intrants.

VI.1 Les "foraging strategies" ou l'optimisation du volume de sol exploré pour acquérir les ressources

Les stratégies les plus répandues dans le règne végétal pour résister aux stress nutritifs ou hydrique sont celles qui permettent aux plantes d'augmenter le volume de sol qu'elles vont explorer. Dans ce paragraphe seront donc détaillées les différentes stratégies aboutissant à cette optimisation.

Un investissement fort dans les racines

La stratégie la plus évidente pour accroître le volume de sol exploré est l'augmentation de la biomasse racinaire ou l'augmentation relative de l'investissement dans le système racinaire (augmentation du ratio : biomasse racinaire/biomasse aérienne). Dans les deux cas cela résulte d'une allocation préférentielle de la biomasse aux racines (Hermans *et al.* 2006). Par exemple, Nielsen, Eshel, & Lynch (2001) ont montré qu'en conditions de faible disponibilité en phosphore, les génotypes de pois, ayant un ratio biomasse racinaire/ biomasse aérienne le plus élevé, étaient les plus productifs. Cet investissement préférentiel dans le système racinaire se traduit généralement par une augmentation de la longueur du système racinaire et donc de la densité de racines par unité de volume de sol (RLD : root length

density). Ainsi Steingrobe, Schmid, & Claassen, en 2001, ont montré que chez *Beta vulgaris* l'investissement des individus dans leur biomasse racinaire est plus fort en condition de faible disponibilité en phosphore ; Cela entraîne un accroissement de la longueur de racine produite ainsi qu'une augmentation de la quantité de phosphore prélevé (25%). Postma & Lynch (2011) et Zhu, Brown, & Lynch (2010) ont mis en évidence que les génotypes de maïs (*Zea mays*) ayant de fortes RLD étaient capables d'acquérir de plus grandes quantités d'azote en cas de stress et donc de développer des biomasses aériennes plus importantes que les génotypes ayant de faible RLD. De même, Craine en 2006 a montré pour des espèces prairiales que les plantes ayant les RLD les plus importantes étaient celles qui exportaient le plus d'azote et d'eau en conditions stressantes et maintenaient ainsi les biomasses les plus élevées. Cependant l'augmentation de l'investissement dans le système racinaire en condition de faible disponibilité en phosphore n'entraîne pas toujours une augmentation de la longueur racinaire. Chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.), elle est par exemple masquée par un taux de renouvellement très fort des racines qui lui permet d'explorer de grands volumes de sol sans maintenir de racines dans les patches épuisés ou appauvris, limitant ainsi le coût d'entretien de son système racinaire (Lambers *et al.* 2006).

La production de racines fines

Craine en 2006 a montré chez les *Poaceae* que plus la biomasse de racines fines mise en place par les espèces prairiales était importante plus elles étaient capable d'exporter d'azote et d'eau et mieux elles se développaient en condition de stress. Un investissement fort dans des racines de diamètre fin peut, sans modifier l'investissement total des plantes dans leur système racinaire, augmenter le volume de sol qu'elles peuvent explorer. En conditions limitantes pour le phosphore ou l'eau, certaines plantes ont tendance à modifier la morphologie et la structure de leurs racines pour aboutir à une augmentation de la SRL, ce phénomène étant couplé avec une diminution du diamètre racinaire moyen (Schroeder & Janos 2004; Padilla *et al.* 2013). Ces adaptations leur permettent de produire plus de longueur de racines par unité de biomasse et donc de maximiser le volume de sol exploré. Ce changement de syndrome de traits semble correspondre à un changement du type de racines dans lequel les plantes investissent. En effet, il a été montré que le Haricot (*Phaseolus vulgaris* L.), en condition de faible disponibilité en phosphore, produit plus de racines adventives. Ce phénomène est particulièrement marqué chez les génotypes capables de maintenir une croissance importante en condition de phosphore limitant (Lynch 2007). L'investissement dans les racines fines permet d'augmenter la capacité d'acquisition des

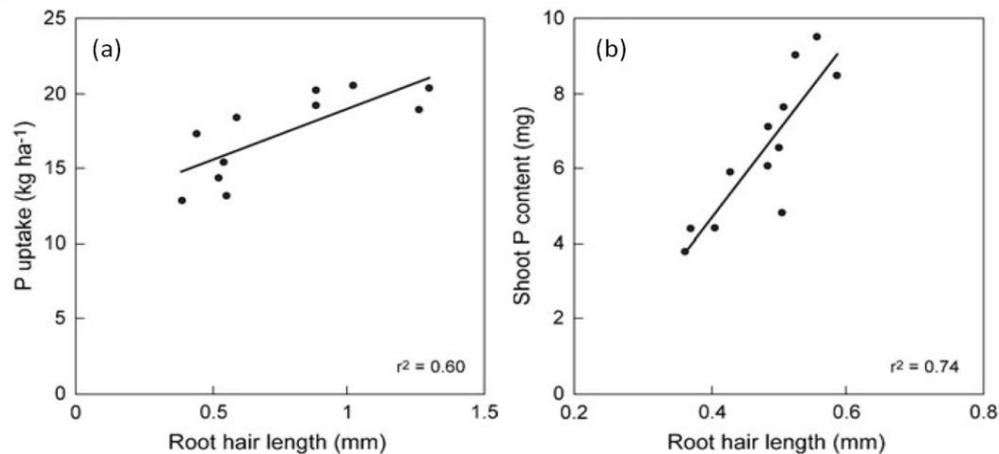


Figure 14 : (a) Corrélacion entre le contenu en phosphore des parties aériennes et la longueur des poils racinaires chez différents génotypes d’orge (*Hordeum vulgare* L.). (b) Corrélacion entre les exportations de culture de haricot (*Phaseolus vulgare* L.) et la longueur des poils absorbants des génotypes. Dans les deux cas, les plantes sont cultivées en conditions de faible disponibilité en phosphore. D’après Richardson *et al.* (2011).

ressources du système racinaire, via un accroissement de la surface de contact avec le sol. Mais aussi grâce à la production de racines fines à l’activité métabolique intense et demandant un coût d’entretien faible (Craine 2006; Lynch 2007; Richardson *et al.* 2011).

De longs poils racinaires

Développer des poils absorbants longs et/ou denses est une autre réponse classique des plantes au manque de phosphore (Lynch 2007). Cet élément étant peu mobile dans le sol cela pourrait permettre à la plante d’accéder à des stocks de phosphore biodisponible qui ne pourraient pas diffuser jusqu’à la racine. Cela semble confirmé par le fait que des génotypes de maïs (*Zea mays* L. ; Bayuelo-Jiménez *et al.* (2011) et de haricot (*Phaseolus vulgaris* L. ; Yan *et al.* (2004) développant des poils racinaires nombreux et longs sont plus efficaces pour l’acquisition du phosphore et répondent moins à la fertilisation que des génotypes ayant des caractéristiques opposées. De plus Gahoonia & Nielsen (2004) ont montré qu’il existe chez l’orge une relation linéaire entre la longueur des poils absorbants et les quantités de phosphore exportées par les cultures au champ (Figure 14). De plus le contenu en phosphore des parties aériennes est lui aussi corrélé à la longueur des poils racinaires (Figure 14 ; Richardson *et al.* 2011). Avoir des poils absorbants longs semble donc être un moyen efficace pour améliorer la nutrition en phosphore des plantes dans des sols pauvres en cet élément. White & Kirkegaard (2010) ont eux montré que de longs poils absorbants permettaient au blé d’avoir un plus grand nombre de points de contact entre la racine et le sol et donc d’exporter plus d’eau en condition de stress hydrique. Cela les a menés à conclure, tout comme Blum (2011), qu’une option pour

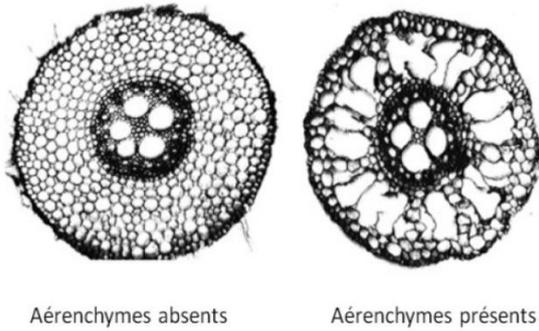


Figure 15 : Illustration de la variabilité du pourcentage d'aérenchyme chez deux lignées de maïs (*Zea mays* L. ; Lynch 2007).

améliorer la résistance à la sécheresse chez le blé serait de sélectionner des génotypes présentant des poils absorbants longs et denses.

La production des aérenchymes

Un autre moyen de diminuer le coût d'entretiens des racines et de pouvoir rapidement remobiliser une partie des nutriments qu'elles contiennent sans diminuer leur surface de contact avec le sol est la mise en place d'aérenchymes au niveau du cortex racinaire (Figure 15; Fan *et al.* 2003). Ces Beaucoup de plantes cultivées incluant l'orge, le riz (*Oryza* L.), le blé (*Triticum* L.), le pois (*Pisum sativum*) et le maïs (Hodge *et al.* 2009; Ramaekers *et al.* 2010) mettent en place des aérenchymes. La fonction primaire des aérenchymes semble être l'oxygénation des racines dans les sols saturés en eau. Car ils vont alors favoriser la circulation de l'air au sein même de la racine (Hodge *et al.* 2009). Ils sont aussi mis en place en condition de phosphore peu disponible (Fan *et al.* 2003) et de stress hydrique (Zhu *et al.* 2010). Chez le maïs, en conditions de stress, les plantes qui produisent des aérenchymes vont aussi développer plus de longueurs de racines que les autres (Figure 16, Richardson *et al.* 2011) et ainsi acquérir de plus grandes quantités de phosphore, d'azote ou de potassium (Postma & Lynch 2011b). Chez le maïs les génotypes produisant beaucoup d'aérenchymes ont aussi des rendements supérieurs en cas de stress hydrique (Figure 17, Zhu *et al.* 2010).

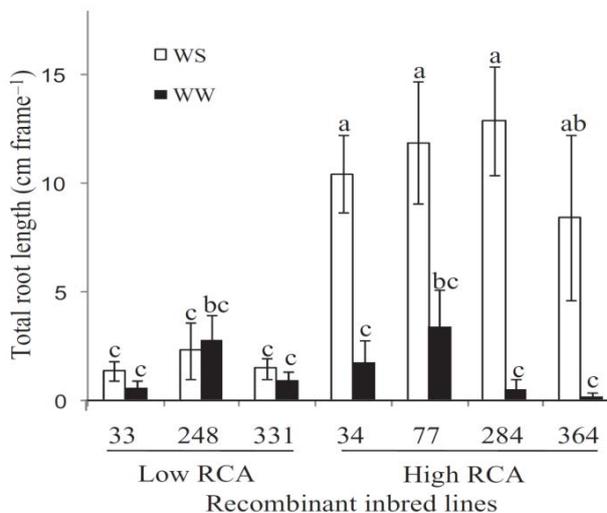


Figure 16 : Longueur totale racinaire mesurée chez des génotypes de maïs (*Zea mays* L.) produisant peu (33, 248, 331) ou beaucoup (34, 77, 284, 364) d'aérenchymes s'étant développés en condition d'irrigation optimale (WW) ou en condition stressante pour l'eau (WS). Moyenne \pm SE (n=4). Les moyennes ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes. RCA : section de racine occupée par des aérenchymes. Extrait de (Zhu *et al.* 2010).

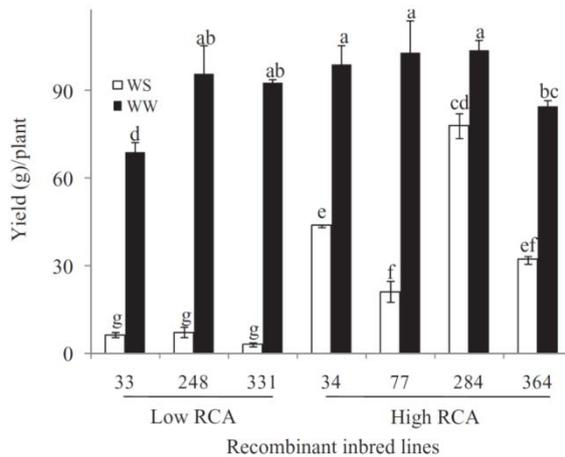


Figure 17 : Rendement grainier mesuré chez des génotypes de maïs (*Zea mays* L.) produisant peu (33, 248, 331) ou beaucoup (34, 77, 284, 364) d'aérenchyme s'étant développés en condition d'irrigation optimale (WW) ou en condition stressante pour l'eau (WS). Moyenne \pm SE (n=4). Les moyennes ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes. RCA : section de racine occupée par des aérenchymes. Extrait de Zhu *et al.* 2010.

La mise en place d'une symbiose mycorhizienne arbusculaire

La mise en place de symbioses mycorhiziennes est aussi un moyen pour la plante d'accéder à des ressources éloignées de ses racines et tout particulièrement au phosphore. Cette symbiose résulte de l'établissement entre le champignon et la racine d'une zone d'échanges où le champignon va fournir des nutriments et de l'eau à la plante en échange de quoi cette dernière lui fournira des sucres (Willis *et al.* 2013). Ces symbioses sont extrêmement répandues dans le règne végétal : 82 % des végétaux supérieurs présentent des symbioses avec des champignons mycorhiziens à arbuscule de la famille des

Gloméromycète (AMF : arbuscular mycorrhizal fungus ; Schüßler, Schwarzott, & Walker 2001). Ce sont ces mêmes champignons que l'on retrouve chez les plantes prairiales sur lesquelles nous travaillons.

Le rôle des AMF dans la nutrition des plantes n'est plus à démontrer, notamment pour les nutriments immobiles tels que le phosphore, le zinc ou le cuivre mais aussi pour l'azote (Jin *et al.* 2005; Lambers *et al.* 2008). En 2011, Lynch a rapporté que pour le haricot et pour l'orge des plantes mutantes ayant des poils absorbants courts, les empêchant de se développer normalement en conditions limitantes pour le phosphore, se développaient normalement si elles étaient mycorrhizées. Les AMF semblent donc jouer un rôle analogue à celui des poils racinaires dans l'acquisition du phosphore mais permettent, en plus, d'agrandir la zone d'acquisition des nutriments d'une plante bien au-delà de ce que pourrait entraîner un allongement des poils absorbants, apportant à la plante des nutriments captés à plus de 25 cm de ses racines (Smith & Read 2008). Par contre les AMF ne sont pas capables de dégrader par hydrolyse la matière organique du sol et ainsi relâcher du phosphore ou de l'azote organique (Lambers *et al.* 2008). Cependant les AMF jouent un rôle prépondérant dans la nutrition en phosphore de la majorité des couverts végétaux et fournissent des avantages non négligeables pour la production dans des conditions de phosphore limitant (Lambers *et al.* 2008;

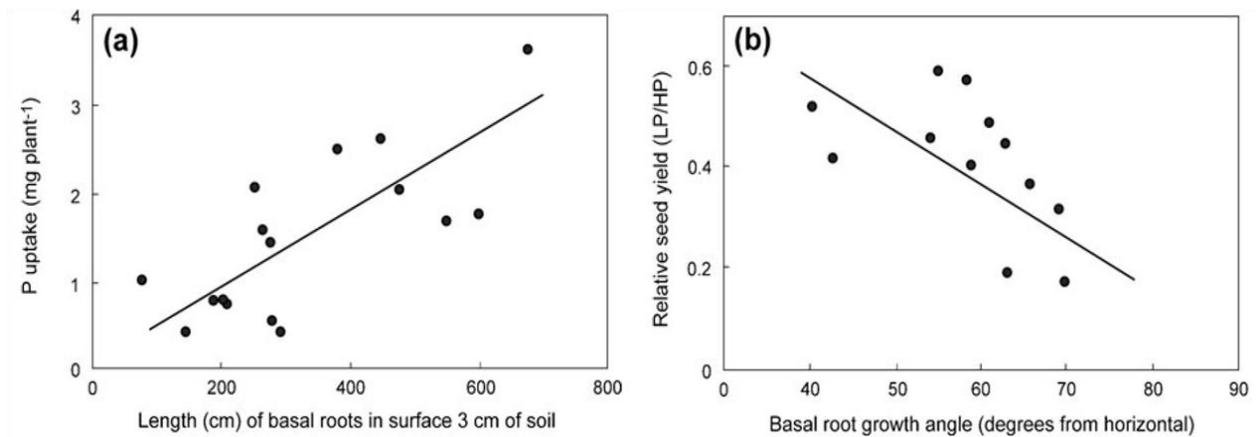


Figure 18 : (a) Corrélation entre le contenu en phosphore des parties aériennes et la longueur des poils racinaires chez différents génotypes d’orge (*Hordeum vulgare* L.). (b) Corrélation entre les exportations de culture de haricot (*Phaseolus vulgare* L.) et la longueur des poils absorbants des génotypes. Dans les deux cas, les plantes sont cultivées en conditions de faible disponibilité en phosphore. D’après Richardson *et al.* (2011).

Richardson *et al.* 2011). Par contre, pour des disponibilités en phosphore élevées, il a été montré que les CAM pouvaient avoir un impact négatif sur le développement des plantes. Car le coût de leur consommation en sucre pourrait dépasser les effets positifs en lien avec les nutriments qu’ils apportent aux plantes (Johnson, Graham, & Smith 1997).

En plus de leur rôle majeur dans la nutrition en phosphore, les AMF jouent aussi un rôle très important dans l’alimentation hydrique. Comme pour le phosphore, ils permettent aux plantes d’accéder à des réserves en eau éloignées de leurs racines augmentant ainsi les quantités d’eau disponible pour son développement (Augé 2001). Cependant ils modifient aussi la balance hormonale des plantes permettant de reculer le point de flétrissement de ces dernières et donc leur permettant de croître encore plus longtemps en conditions de sécheresse, ce qui aboutit dans 80% des cas à une production de biomasse plus importante des plantes mycorhizées en cas de stress hydrique (Augé 2001).

VI.2 Le “choix” des zones de sol explorées

Dans la plupart des sols, les horizons de surface sont ceux qui contiennent la plus forte quantité de phosphore et d’azote biodisponible et cela même dans des milieux pauvres en phosphore (Lynch 2007; Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011). Donc l’optimisation du volume de sol exploré passe aussi par un placement préférentiel des racines dans cet horizon (Lynch & Brown 2001). Liao *et al.* (2001) ont observé chez le haricot que les génotypes ayant de forts angles de croissances (enracinement profond) avaient leur rendement plus diminué que ceux ayant des angles de croissance faible dans des sols pauvres en phosphore biodisponible (enracinement superficiel ; Figure 18). Chez la plupart des dicotylédones,

l'augmentation de la densité de racines en surface se fait par la production de racines à faible coût métabolique ce qui va encore optimiser l'efficacité d'acquisition du phosphore (Miller *et al.* 2003).

Cependant cette modification de la forme du système racinaire va, en contre partie d'une meilleure efficacité d'acquisition du phosphore, entraîner un moins bon accès à l'eau des horizons profonds. Car un système racinaire présent dans les horizons profonds permet aux plantes de mieux supporter les périodes de sécheresse car il leur donne accès à d'importantes réserves en eau (Volaire, Thomas, & Lelièvre 1998; Volaire & Lelièvre 2001; White & Kirkegaard 2010). C'est pourquoi les génotypes sélectionnés pour résister au manque de phosphore sont le plus souvent très sensibles à la sécheresse (Ho *et al.* 2005). Ces modifications peuvent aussi entraîner une diminution de la capacité à accéder à l'azote. En effet Bänzinger *et al.* (1999) ont montré, qu'en plein champs, des génotypes de maïs adaptés à la sécheresse (enracinements profonds) avaient de meilleurs rendements en condition de stress azoté que les autres qui eux avaient un enracinement superficiel. Cela peut être relié à la capacité qu'aurait un système racinaire profond à capter l'azote emporté par lixiviation vers les horizons profonds (Thorup-Kristensen, Cortasa, & Loges 2009). Cependant Trachsel *et al.* (2013) n'ont pas réussi chez le maïs à mettre en évidence un lien entre la profondeur d'enracinement et la capacité à produire plus en condition d'azote limitant.

VI.3 La fixation symbiotique pour s'affranchir de l'azote du sol

Près de 90 genres de micro-organismes ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique en réduisant le N_2 en $2NH_3$ et certains se sont associés avec des végétaux supérieurs leur fournissant ainsi une source importante d'azote (McNeill & Unkovich 2007). Parmi ces végétaux les *Fabaceae* forment l'une des rares familles dont la majorité des espèces (88%) ont réussi, grâce à leur association symbiotique avec des bactéries des genres *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*, à s'affranchir au moins en partie de la fourniture d'azote du sol pour leur croissance (Zahran 1999). Cette symbiose se met en place au niveau des racines de la légumineuse qui après avoir identifié les bactéries comme compatibles va leur permettre de pénétrer dans les cellules du cortex et du péri-cycle de racine via les poils absorbants. Elles vont alors s'y établir sous la forme de bactéroïdes. Ces bactéroïdes vont entraîner la formation sur la racine d'une nodosité vascularisée dans laquelle ils vont pouvoir se développer. Ils commencent alors à fixer activement l'azote atmosphérique. Cet azote assimilable par la plante lui sera transmis en échange de sucres qu'elle va fournir aux bactéroïdes pour assurer leur bon fonctionnement (Raven *et al.* 2007 p. 787). Si cette symbiose rend les *Fabaceae*

quasiment autonomes vis-à-vis de l'azote elle induit généralement une plus forte exigence pour le phosphore mais aussi pour l'alcalinité des sols qui est une des variables clef de la survie des bactéries dans le sol (Zahran 1999). Si cette symbiose est très profitable aux *Fabaceae* en cas de limitation en azote, elle leur est coûteuse dans des milieux riches en cet élément. Dans ce cas, il a été noté qu'elles vont développer une quantité de nodosités plus faible allant jusqu'à ne plus en mettre en place si le sol leur fournit assez d'azote pour assurer leur croissance (McNeill & Unkovich 2007).

VI.4 Les “mining strategies” ou comment acquérir le phosphore peu disponible

Comme nous l'avons dit une partie importante des stocks de phosphore des sols est inaccessible aux plantes. Les “mining strategies” ont pour objectif de rendre accessible des formes de phosphore minéral ou organique peu disponibles via des processus de désorption, solubilisation ou minéralisation (Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011).

La libération d'anions organiques

En condition de faible disponibilité en phosphore la plupart des espèces excrètent dans les sols des anions organiques de type citrate, malate, oxalate (Vance, Uhde-Stone, & Allan 2003; Lambers *et al.* 2006; Richardson *et al.* 2011). Ces anions organiques permettent de libérer des quantités importantes de phosphore dans la solution du sol. Richardson *et al.* (2011) ont donc avancé que la libération de fortes concentrations d'anions au niveau de la rhizosphère permet aux plantes d'accéder à des stocks de phosphore adsorbé sur des particules organiques ou inorganiques (Hinsinger 2001; Khademi *et al.* 2009).

Considérer l'action des anions organiques seuls ne permet pas de rendre compte de l'efficacité de leur excrétion dans le sol comme moyen d'augmenter la disponibilité en phosphore dans la solution du sol. En effet, l'efflux d'anions au niveau d'une cellule ne peut se faire sans un efflux équivalent de cations ou un influx d'anions pour permettre à la cellule de garder son électroneutralité. Il a été montré que chez le lupin cet efflux d'anions était couplé avec un fort efflux de protons, cet efflux ayant pour conséquence une acidification de la rhizosphère (Yan *et al.* 2002). Or, le pH pilote la disponibilité du phosphore, en effet, en milieu acide les phosphates de fer et d'aluminium vont être de plus en plus solubles avec l'augmentation du pH, alors que pour des sols alcalins c'est l'acidification (diminution du pH) qui va permettre la solubilisation des phosphates de calcium, mis à part pour des pH supérieurs à 8 (Hinsinger 2001).

La libération des phosphatases

Le phosphore organique représente entre 30 et 80% des stocks de phosphore des sols (Lambers *et al.* 2006) ; son recyclage et sa mobilisation par les plantes va donc leur permettre d'améliorer leur niveau de nutrition en condition de phosphore limitant (Fujita *et al.* 2010). Pour ce faire, les plantes excrètent des enzymes capables d'hydrolyser les esters de phosphates liés aux molécules organiques (Lambers *et al.* 2006; Richardson *et al.* 2011). La production de phosphatase est extrêmement répandue et semble l'une des stratégies les plus adoptées par les plantes ou par les micro-organismes qui leurs sont associés au niveau de leur rhizosphère¹², Kroehler & Linkins (1988) ont montré que le phosphore libéré grâce à ces enzymes pouvaient représenter jusqu'à 65% du phosphore acquis par les plantes au cours d'une année.

La formation de "cluster roots"

Les "cluster roots" sont la forme d'adaptation à l'acquisition du P en conditions limitantes la plus spectaculaire par leur forme et leur visibilité (Figure 19). Ces formations combinent des structures mais aussi des processus physiologiques spécialisés pour maximiser l'acquisition du phosphore (Lambers *et al.* 2008) dans des sols où il est peu disponible. Les "clusters" sont des structures éphémères portées par des racines ayant généralement des croissances déterminées qui se développent dans des conditions de déficit en phosphore extrêmes (Lambers *et al.* 2006, 2008). Chez les espèces de zones sèches, les "clusters roots" colonisent les horizons de surface, contenant des stocks de phosphore sous forme organique (litière), en période humide et captent le phosphore libéré par la dégradation de la matière organique et ils disparaissent ensuite quand ces horizons s'assèchent (Lambers *et al.* 2006). Pour le reste des espèces, leur production varie en fonction du manque de phosphore mais ils se développent préférentiellement dans les zones contenant relativement plus de phosphore que le reste du sol (Richardson *et al.* 2011).

Un grand nombre d'espèces présentent des "cluster roots", chez les monocotylédones et plus particulièrement les *Cyperaceae*, ils sont de type "dauciforme". Ce type de racine développe, 1 à 3 cm au dessus de l'apex, des zones ayant une très forte densité de longs poils racinaires dont la longueur augmente en s'éloignant de l'apex, cela leur donne leur aspect de carotte (Figure 19, CD). Ces "clusters" peuvent ainsi s'enchaîner, séparés de quelques centimètres, sur l'ensemble du système racinaire (Lambers *et al.* 2008). On trouve, chez les monocotylédones de la famille *Restoniaceae*, des clusters de type "capillaaroid" qui

¹² Volume de sol entourant les racines et qui est affecté par leur activité (Hinsinger 1998).

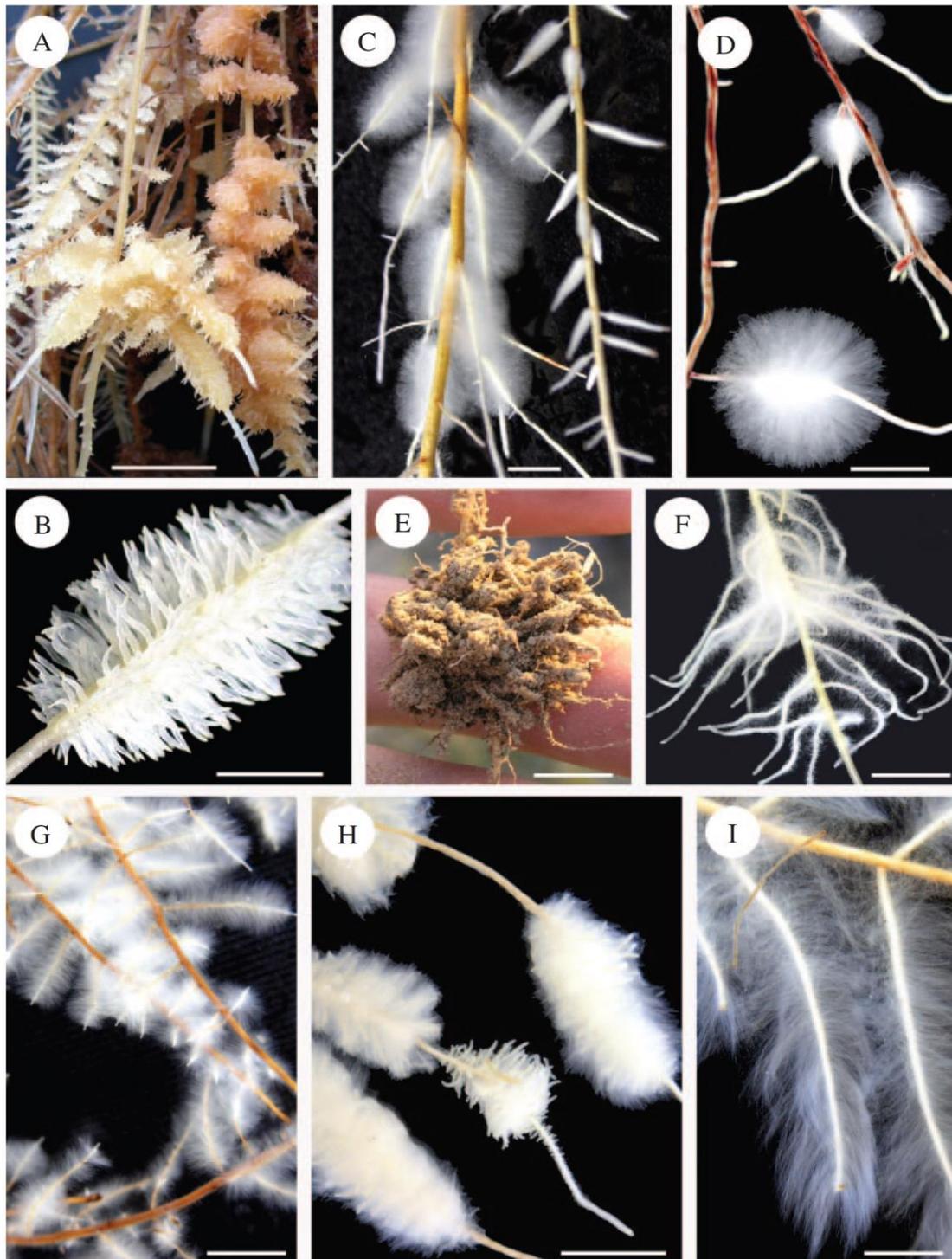


Figure 19 : “Clusters roots” induits chez des espèces de *Proteaceae*, *Restionaceae*, *Cyperaceae* et *Fabaceae* par de faibles apports (ou des conditions limitantes) en P. (A) Racines “proteoides” de type composé (*Proteaceae*); barre d’échelle = 13 mm. (B) Racines “proteoides” de type simple (*Proteaceae*); barre d’échelle = 4 mm. (C) Racines “dauciformes” (*Cyperaceae*); barre d’échelle = 2 mm. (D) Racines “dauciformes” (*Cyperaceae*); barre d’échelle = 2 mm. (E) “Cluster root” provenant de sol (*Fabaceae*); barre d’échelle = 12 mm. (F) Cluster root (*Fabaceae*) ; barre d’échelle = 4 mm. (G) Racines “Capillaroides” (*Restionaceae*); barre d’échelle = 4 mm. (H) Racines “Capillaroides” (*Restionaceae*) barre d’échelle = 6 mm. (I) Racines “Capillaroides” (*Restionaceae*); barre d’échelle = 5 mm. D’après Lambers *et al.* 2006.

consistent en des racines portant des poils racinaires moins denses que dans le cas des “dauciformes”, mais beaucoup plus longs (Figure 19, GHI). Chez les dicotylédones, on retrouve des “clusters” chez les *Proteaceae* et les *Fabaceae*, dits de type “proteoïde” (Figure 19, ABEF). Ils sont constitués par l’émission de nombreuses racines fines à croissance déterminée sur une portion de racines très courte (Lambers *et al.* 2006). Ces racines, nouvellement émises, vont développer des poils racinaires très denses et longs (Lambers *et al.* 2008). Quel que soit le type de “cluster” leur mise en place a pour effet d’augmenter la surface d’absorption de la plante dans des petits volumes de sol. Ce qui est un comportement différent des stratégies discutées précédemment qui, elles, ont au contraire pour but d’explorer de très grands volumes de sol à la recherche de la ressource.

Quel que soit le type de “cluster”, ils excrètent tous de très fortes quantités d’anions organiques couplés à des protons ainsi qu’à des phosphatases. Cette production de composés organiques visant à libérer le phosphore peu disponible est rendue très efficace par la forte densité de racines produites dans les “clusters” (Hinsinger 2001; Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011).

La mise en place de symbioses ectomycorhizienne ou à éricoïde

Ces deux types de symbioses n’impliquent pas des Gloméromycètes comme les AMF mais des Basidiomycètes et des Ascomycètes. Elles sont mises en place par des plantes ligneuses (Lambers *et al.* 2008), dans ce cas le champignon forme un manteau qui entoure complètement la racine et est donc totalement responsable de l’approvisionnement de cette racine en eau et en nutriments. Les champignons impliqués dans ces symbioses, contrairement aux AMF, ont la capacité d’hydrolyser la matière organique (Lambers *et al.* 2008). Donc ces symbioses en plus d’accroître le volume de sol exploré par les plantes vont aussi permettre lui d’accéder à des stocks de phosphore et d’azote provenant de sources organiques qui ne sont pas directement accessibles aux plantes.

VI.5 Quelle stratégie pour quel niveau de stress ?

Nous venons de décrire les principales stratégies qui permettent aux plantes d’arriver à limiter les effets de faibles niveaux de disponibilité en nutriments (particulièrement N et P et eau) sur leur développement. Il est à noter que ces stratégies ne sont pas toutes équivalentes et qu’elles permettent aux plantes de faire face à des niveaux de stress différents.

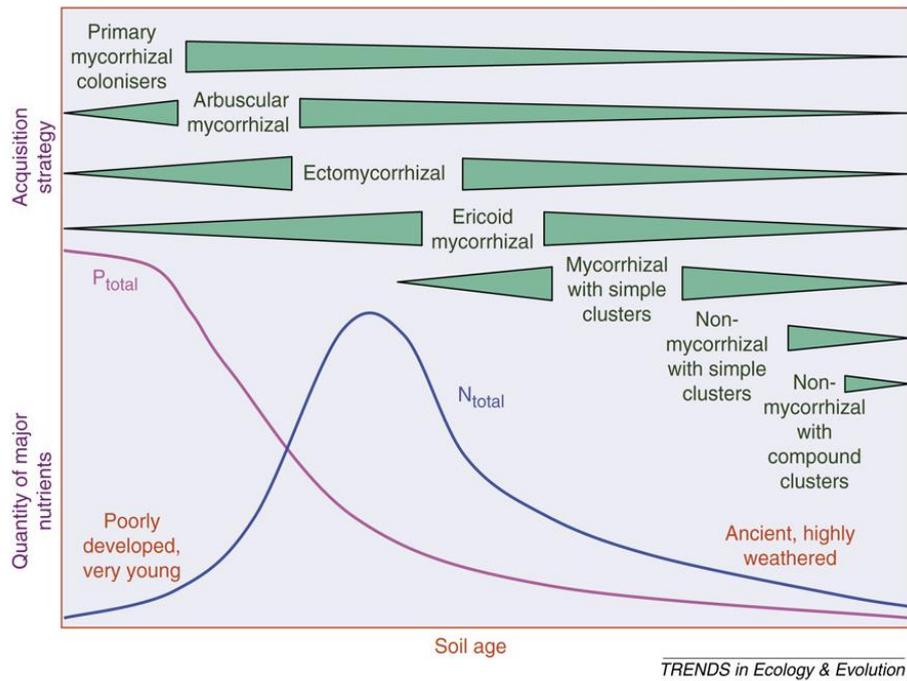


Figure 20 : Représentation schématique de l'évolution des quantités de P (violet) et de N (bleu) total présentes dans les sols en fonction de leurs âges. Allant de sols jeunes de types volcaniques ou rajeunis par des épisodes glaciaires contenant de fortes quantités de P et de faibles quantités de N, vers de sols anciens situés au dessus de la mer et n'ayant pas connu de période glaciaire depuis un million d'années, pauvre en P et en N. La présence et l'épaisseur des triangles représentent respectivement la présence et la fréquence de différents types d'adaptations à de faibles niveaux de disponibilité en P et N (Figure extraite de Lambers *et al.* 2008).

Lambers *et al.* (2008) ont mis en évidence que sur des chronoséquences qui se caractérisent par un appauvrissement progressif en phosphore et un enrichissement passager en azote les stratégies mises en place par les plantes varient fortement en fonction du niveau des stress (Figure 20). Les auteurs ont rapporté que dans les sols présentant des concentrations faibles en phosphore biodisponible, mais des quantités de phosphore total encore importantes, les adaptations présentées par les plantes efficaces sont de type "foraging strategies". Elles leur permettent d'accéder à des stocks de phosphore dilués dans de grands volumes de sols mais encore bien disponibles. Alors que dans des sols plus anciens où la fraction restante est généralement très peu disponible ce sont plutôt les stratégies de type "mining strategies" qui vont dominer car elles permettent de mobiliser du Phosphore très peu biodisponible se trouvant notamment dans les litières (Lambers *et al.* 2006). Cependant il n'est pas rare dans des sols de type intermédiaires de trouver différentes espèces présentant des caractéristiques des deux grands types de stratégies (Lambers *et al.* 2008). Pour ce qui est de l'azote, il apparaît clairement que dans des conditions où elle est possible la mise en place de symbiose fixatrice est l'une des stratégies des plus efficaces pour faire face à des niveaux de

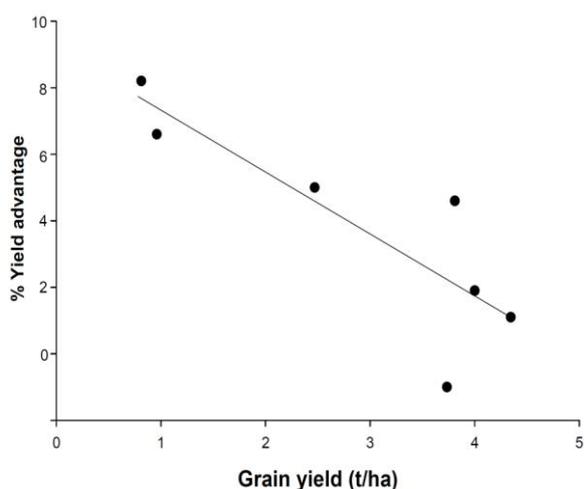


Figure 21 : Pourcentage d'augmentation du rendement obtenu par les lignées ayant des vaisseaux du xylème de petit diamètre par rapport à deux cultivars de blé standard en fonction du rendement moyen de la parcelle qui est utilisé ici comme un proxy du niveau de disponibilité en eau. Adapté de Richards (2006).

disponibilité faible, alors qu'elle est peu représentée dans les milieux riches en azote (Zahran 1999; Lambers *et al.* 2008).

Enfin pour ce qui est du stress hydrique, il apparaît clairement que ce sont les stratégies ayant pour but la valorisation de l'eau présente dans les horizons profonds qui vont permettre aux plantes de mieux y résister.

Cependant les avis divergent sur le type de racines que doivent produire les plantes dans les horizons profonds. Blum (2011) propose que les plantes les plus à même de produire en utilisant les réserves en eau du sol profond sont celles qui vont avoir les résistances hydrauliques¹³ les plus faibles.

C'est-à-dire celles qui vont pouvoir exporter de plus grandes quantités d'eau provenant des horizons profonds en un minimum de temps. Alors qu'en 2006, Richards proposait, lui, de réduire le diamètre des vaisseaux pour limiter le flux d'eau provenant des horizons profonds et ainsi permettre aux plantes de ménager le stock d'eau de ces horizons au début de leur développement. Cela afin qu'il soit disponible en cas de sécheresse importante et puisse fournir de l'eau en fin de cycle de croissance et permettre une meilleure productivité (Figure 21). Selon moi, ces deux stratégies correspondent à des adaptations à des niveaux de sécheresse différents. Une exploitation rapide de l'eau des horizons profonds semble être un moyen efficace pour que les plantes continuent leur croissance en cas de sécheresse de courte durée alors qu'une exploitation plus lente de cette ressource pourrait permettre aux plantes de croître certes moins vite mais plus longtemps en cas de longue sécheresse. Il est intéressant de noter que dans le cas de sécheresse sur des sols superficiels, aucune stratégie racinaire ne semble permettre d'avoir de meilleurs rendements. Mais la protection des méristèmes des dégâts liés à la sécheresse via de forts ajustements osmotiques (notamment accumulations de sucres) par analogie avec ce qui a été montré pour les parties aériennes (Volaire *et al.* 1998)

¹³ La résistance hydraulique dépend des caractéristiques des vaisseaux conducteurs du xylème, plus ils auront des diamètres importants et plus ils seront nombreux moins la résistance au flux d'eau sera forte. Donc les racines avec beaucoup de gros vaisseaux sont celles qui vont pouvoir exporter les quantités d'eau les plus importantes par unité de temps et de longueur (Hernández *et al.* 2010).

pourrait permettre aux plantes de survivre à de forts stress hydrique et ainsi améliorer la résilience¹⁴ de la prairie à la sécheresse. Cependant ce type de stratégie mise en place au niveau des parties aériennes ne semble pas amener les cultures à avoir une meilleure productivité que les autres en cas de fort stress hydrique (Serraj & Sinclair 2002).

VI.6 Bilan sur les stratégies d'acquisition des ressources

Comme nous venons de le voir il n'y a pas chez les plantes un seul et unique type d'adaptation qui leur permettrait d'être efficaces pour acquérir l'eau, l'azote ou le phosphore quel que soit le milieu dans lequel elles se trouvent. Il existe au contraire toute une série de réponses qui, combinées dans des proportions variables, assurent la survie des plantes dans des milieux contraints. Si l'on considère que la majorité des résultats présentés précédemment concernent des plantes annuelles de grandes cultures (mis à part les résultats sur les "cluster root") adaptées par les sélectionneurs à des conditions de croissances optimale (Lynch 2007) on peut faire l'hypothèse qu'une large partie des stratégies des plantes pour faire face au stress reste encore méconnues. En plus de se focaliser sur des plantes annuelles, la majorité des études ne considère que peu de traits à la fois négligeant ainsi des phénomènes de compromis. Il serait donc, pour nous, intéressant de chercher à mieux caractériser les stratégies mises en place par les plantes au niveau du système racinaire dans son ensemble pour prendre en compte les compromis entre les différents traits. Cela dans le but de pouvoir préconiser l'utilisation de variétés ou d'espèces capables de mettre en œuvre les stratégies adaptées au type de stress susceptibles d'intervenir dans le milieu de croissance auquel elles seront destinées.

VII Conclusion

Bien que la diversité apparaisse comme un moyen de maintenir un niveau de production et ou de service élevé même dans des conditions stressantes pour le couvert, il est nécessaire de définir, quelle diversité favoriser ou implanter, pour quel usage et dans quels milieux. L'approche fonctionnelle intégrant l'étude de large gamme d'organismes et leurs réponses à des gradients de ressources semble être l'une des mieux adaptées pour établir les stratégies de plantes et ainsi définir quels types d'espèces sont à favoriser en fonction de l'usage souhaité pour le couvert. Pour ce faire les stratégies racinaires doivent être mieux considérées dans les études visant à déterminer les stratégies des plantes. Car cela permettrait

¹⁴ La résilience est définie ici comme la capacité d'un écosystème à revenir à son état initial après un stress sévère ou une perturbation.

de mieux comprendre l'adaptation des plantes à conditions de croissance variées et ainsi d'affiner nos connaissances des usages possibles pour différentes espèces. Enfin le maintien de la diversité passe par la coexistence de différentes espèces ou groupes fonctionnels et donc une prise en compte des interactions entre plantes dans la construction des assemblages d'espèces à implantes.

Objectifs et stratégies

I Objectifs

L'objectif principal de ce travail de thèse est d'évaluer chez les plantes prairiales les liens existants entre les stratégies de développement racinaire, foliaire et l'adaptation aux variations de facteurs abiotiques et biotiques jouant un rôle majeur dans structuration des communautés végétales. Afin de répondre à cet objectif principal, j'ai donc décidé de tester si les stratégies fonctionnelles mises en place par les plantes au niveau de leur système racinaire et les liens entre stratégies racinaires et foliaires peuvent être reliés à l'aptitude des plantes à se développer dans des milieux contraints pour l'eau et le P en présence ou non de concurrents.

Cet objectif a été décomposé en trois étapes correspondant aux principales questions qui seront successivement traitées dans trois chapitres de ce mémoire :

i) Quelles sont les stratégies de développement racinaire des *Poaceae* et *Fabaceae* prairiales et existe-il un lien entre ces stratégies et les exigences écologiques des espèces?

Pour répondre à cette question j'ai cherché dans un premier temps à définir les syndromes de traits fonctionnels racinaires présents chez ces deux familles de plantes particulièrement représentées au sein de l'écosystème prairial et à mettre en évidence les liens existants entre traits foliaires et traits racinaires. Puis dans un second temps j'ai testé si les syndromes de traits racinaires et les relations traits racinaires-trait foliaires établis pouvaient être reliés aux exigences écologiques des espèces sur la base d'indices écologiques (Ellenberg *et al.* 1991; Pervanchon 2004).

ii) Existe-t-il des liens entre les stratégies de développement racinaire des espèces et leur capacité à résister au stress hydrique ou au stress phosphorique ?

J'ai, dans cette partie, cherché à établir un lien entre l'aptitude des espèces à résister aux stress hydrique ou phosphorique et leurs syndromes de traits racinaires. J'ai aussi voulu identifier et mettre en évidence les variations de valeurs de traits induites par les stress qui permettent aux plantes de mieux résister au stress et de maintenir une production élevée en conditions stressantes.

iii) Comment la réponse des traits fonctionnels racinaires aux disponibilités en eau et en phosphore influencent les interactions entre espèces de *Poaceae*?

Pour répondre à cette dernière question j'ai testé si les valeurs de traits fonctionnels de quatre espèces de *Poaceae* en interaction (deux à deux) ont un effet sur le type et la force des interactions mises en place par ces espèces. L'expérimentation a été conduite dans des conditions de croissances différentes pour tester l'effet de facteurs abiotiques tels que le stress hydrique et le manque de phosphore sur les interactions biotiques.

II Stratégie

II.1 Le choix des espèces

Le choix des espèces est crucial dans ce type d'approche car prendre en compte trop peu d'espèces ou des espèces trop proches (en termes de stratégies et/ou de phylogénie) entrainerait des résultats peu généralisables (Duarte *et al.* 1995). Nous avons donc choisi de travailler sur des espèces venant de deux familles, les *Poaceae* et les *Fabaceae*, ayant un rôle majeur dans le fonctionnement des prairies et une forte importance économique dans la majorité des agrosystèmes. Mais "pourquoi la prairie ?" Nous avons déjà parlé de l'intérêt agronomique de cet agro-écosystème en termes de services et notamment de production. Mais pour moi l'intérêt principal de travailler sur des plantes de prairies est qu'elles comprennent une large gamme de stratégies de croissance liées au fait que l'on retrouve des prairies sur une très large gamme de conditions pédoclimatiques et qu'une large majorité de ces espèces n'a pas été sélectionné. Sachant que les valeurs de traits fonctionnels des espèces sont en grande partie la résultante de leur adaptation à leur milieu d'origine (Garnier & Navas 2011), j'ai donc fait l'hypothèse qu'en choisissant des espèces caractéristiques d'habitats contrastés je m'assurais d'avoir des valeurs de traits fonctionnels elles aussi contrastées. Ce qui est évidemment nécessaire pour que les relations mises en évidence soient le plus généralisables possibles.

Au sein de ces deux familles nous avons donc choisi des espèces de façon à représenter les principaux genres retrouvés dans les prairies. Mais le choix a été aussi fait de façon à couvrir une gamme d'exigences écologiques la plus large possible (en restant dans le cadre d'espèces de prairie). Pour ce faire nous avons utilisé les indicateurs écologiques (Encadré II) d'Ellenberg pour He, K... (Ellenberg *et al.* 1991) et de Pervanchon pour le P (Pervanchon 2004). Pour les *Poaceae* nous avons utilisé la typologie fonctionnelle proposée

Tableau 2 : Liste des espèces étudiées, leur histoire de vie et leurs exigences écologiques d'Ellenberg (Ellenberg et al. 1991) pour l'eau (HE), la continentalité (K), et le pH du sol (pH) et pour le phosphore (P ; Pervanchon 2004). Les indices HE, K et pH vont de 1 (faible besoin en ressources) à 9 (fort besoin). L'indice P varie de 0 (pas d'exigences particulières pour le phosphore) à 10 (espèce exigeante pour le phosphore).

Espèces	Histoire de vie	HE	K	pH	P
<i>Fabaceae</i>					
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	Pérenne	3	3	7	2,9
<i>Lotus corniculatus</i> L.	Pérenne	7	3	7	0
<i>Medicago lupulina</i> L.	Annuelle ^a	4	-	8	3,8
<i>Medicago sativa</i> L.	Pérenne	3	7	9	10
<i>Melilotus albus</i> Medik.	Biannuel	3	6	7	NA
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	Pérenne	3	6	8	4
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	Pérenne	4	5	9	NA
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	Annuelle ^a	4	3	6	4,6
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	Pérenne	7	5	8	8,2
<i>Trifolium pratense</i> L.	Pérenne	5	3	6	0
<i>Trifolium repens</i> L.	Pérenne	5	-	6	0
<i>Vicia cracca</i> L.	Pérenne	6	-	-	3,8
<i>Vicia sepium</i> L.	Pérenne	5	5	6	0
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	Pérenne	3	6	8	8,3
<i>Poaceae</i>					
<i>Agrostis capillaris</i> L.	Pérenne	-	4	4	0
<i>Brachypodium pinnatum</i> Font Quer [non (L.) P. Beauv.]	Pérenne	4	5	7	1
<i>Brachypodium sylvaticum</i> (Huds.) P. Beauv.	Pérenne	5	5	6	1
<i>Bromus erectus</i> Huds.	Pérenne	3	5	8	4
<i>Dactylis glomerata</i> L.	Pérenne	5	5	5	0
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.	Pérenne	7	5	5	5,5
<i>Festuca rubra</i> L.	Pérenne	-	5	4	0
<i>Holcus lanatus</i> L.	Pérenne	6	5	4	0
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	Pérenne	7	5	7	4,6
<i>Lolium perenne</i> L.	Pérenne	5	5	6	0
<i>Phleum pratense</i> L.	Pérenne	6	5	5	5

Encadré II : Les indices écologiques

Les indices écologiques ont pour objectif de décrire les exigences des espèces pour différents paramètres des habitats dans lesquels elles se retrouvent naturellement, par exemple : l'ensoleillement, la disponibilité en eau, la disponibilité en phosphore, le pH... Ils sont donc le reflet de la niche écologique d'une espèce. Nous avons choisis de travailler avec les indices proposés par Ellenberg *et al.* (1991). Ces indices, ont été construits à partir de connaissances d'experts sur les exigences écologiques des espèces et sont de loin les plus utilisés dans la littérature.

Nous avons aussi choisis d'enrichir notre étude avec l'indice spécifique de fertilité phosphorique proposé par Franck Pervanchon en 2004 qui est un indice permettant d'évaluer l'exigence des espèces en terme de niveau de phosphore disponible dans leur habitat. Cet indice a été calculé sur la base de teneurs en phosphore du sol, mesurées selon trois méthodes (Dyer, Joret-Hébert et Olsen) combinées avec des inventaires floristiques exhaustifs sur 433 prairies permanentes du Nord-Est de la France (Pervanchon 2004). L'indice est compris entre 0 et 10, avec 0 pour des espèces indifférentes pour les teneurs en phosphore du sol et 10 pour des espèces ayant besoin de fortes teneurs en phosphore pour se développer.

par Cruz *et al* (2010) qui permet de classer les espèces de graminées prairiales en fonction de leur stratégies d'acquisition des ressources mais aussi de leur phénologie et de leur usage potentiel dans les prairies anthropisées. Cependant nous avons dû limiter le nombre d'espèces choisies car l'une des principales difficultés des études portant sur les systèmes racinaires est sans aucun doute leur aspect chronophage : le prélèvement des racines est bien plus complexe à réaliser que celui des parties aériennes, de plus quand les plantes sont cultivées dans un sol la phase de lavage qui suit les prélèvements peut être longue. Pour nous assurer un bon compromis entre faisabilité des expérimentations et représentativité des résultats nous avons donc travaillé sur 11 espèces de *Poaceae* et 14 espèces de *Fabaceae* (Tableau 2).

II.2 Les conditions de croissance

Pour caractériser les *Poaceae* nous avons pu utiliser une collection mise en place en jardin commun en 2004 sur le site INRA de Auzerville-Tolosane, nous avons donc travaillé sur des cultures pures comprenant des plantes adultes bien établies. Nous avons effectué les prélèvements en fin d'hiver à une période où les plantes n'avaient pas encore commencé leur développement aérien pour éviter au maximum les décalages de phénologie entre les espèces. Car ce décalage aurait pu induire des différences de traits fonctionnels et donc un biais sur la mesure de l'effet espèce sur les valeurs de traits fonctionnel. Ce problème ne s'est pas présenté pour la caractérisation des *Fabaceae* que nous avons choisie de faire sur des plantes ayant poussé dans des mésocosmes (pots, Encadré III). Bien que le fait de faire croître des

Encadré III : Les expérimentations en serre

Les deux expérimentations en serre qui ont été mises en place au cours de ce travail de thèse ont nécessité des moyens logistiques importants (10 m³ de sol, 1300 m de tube en PVC...) et la création de structures capables de soutenir des pots d'un mètre de hauteur (Figure 22). Ces structures ont été recouvertes de toile blanche pour éviter que les pots ne se réchauffent au soleil et ainsi fournir aux plantes des conditions de croissance optimales (Figure 23).



Figure 23 : Expérimentation menée sur quatre *Poaceae* pour l'étude des interactions entre plantes (après quatre semaines de croissance).



Figure 22 : Pots et structures mises en place pour les expérimentations en serre.

L'un des principaux avantages de cultiver les plantes en serre est que cela permet de contrôler les paramètres jouant sur la croissance des plantes (température, humidité, lumière, alimentation hydrique et minérale...). Ce qui nous a permis de faire pousser des plantes en hiver et surtout d'imposer les niveaux d'alimentation hydrique que nous souhaitons.

La culture en pots a aussi permis d'obtenir deux niveaux de disponibilité en phosphore très contrastés ce qui aurait été difficile en plein champ. Enfin le dernier avantage qui n'est pas le moindre est que ce mode de culture permet d'avoir un sol moins compact qu'en plein champ, ce qui facilite les prélèvements de racines qui se font sans entrainer de dommages importants sur leur structure. La principale limite de ces dispositifs est le manque de représentativité de la réalité de la prairie.

Pour l'expérimentation menée sur les *Fabaceae* (Figure 24) nous avons été obligés de contenir les parties aériennes des plantes dans des structures en plastique pour éviter qu'elles se recouvrent les unes les autres et ainsi éviter tout risque de compétition pour la lumière entre les différents individus.

Figure 24 : Exemple de structures mises en place pour contenir et accompagner la croissance aérienne de *Fabaceae* prairiales en serre.

plantes en serre implique des conditions de croissances moins réalistes que le plein champ, cela permet de mieux les contrôler surtout quand il s'agit, comme nous l'avons fait, d'appliquer des stress aux plantes. Enfin, cela nous a permis de gagner du temps sur l'établissement des plantes (beaucoup plus long en jardin commun) et surtout de mesurer les traits fonctionnels sur des individus en pleine croissance sans avoir de décalage net entre la phénologie des différentes espèces.

Nous avons travaillé avec un sol argilo-calcaire non cultivé depuis plus de 40 ans, c'est-à-dire n'ayant pas reçu d'amendements ni de traitements phytosanitaires. Afin de nous assurer d'avoir des conditions de croissance suffisamment stressantes pour l'eau nous avons fait le choix de mélanger ce sol avec du sable afin d'abaisser sa capacité et au champ. Cela a entraîné une réduction du stock d'eau disponible contenu dans les pots et donc a permis d'arriver plus rapidement à une situation de stress après la différenciation entre modalité stressée et non stressées pour l'eau. Le fait d'ajouter du sable a aussi permis d'avoir un sol très drainant limitant ainsi les risques d'hydromorphie dans la modalité fortement irriguée. Par ailleurs, cette "dilution" du sol a aussi permis de diminuer de moitié la teneur en P disponible du substrat (le sable étant inerte) créant ainsi la modalité P peu disponible. La forte teneur en calcaire du sol d'origine limitant la disponibilité du P nous avons fait le choix d'en apporter dans la modalité non limitante là encore pour s'assurer d'un écart maximal entre les deux conditions de croissance limitantes et non limitantes.

II.3 La mesure de traits fonctionnels

Comme je l'ai énoncé précédemment les principaux freins au niveau de l'étude des systèmes racinaires sont d'ordre technique. En effet il est très difficile de caractériser les espèces à partir de communauté comme on peut aisément le faire pour les parties aériennes, car dans le sol l'échantillonnage se fait quasiment en aveugle. Nous avons donc été contraints de faire les mesures de traits sur des racines prélevées soit en culture pure soit dans des mésocosmes ne contenant qu'un individu d'une seule espèce, cela pour éviter de récolter des racines provenant d'autres espèces.

De plus si pour les parties aériennes, la feuille est l'organe sur lequel mesurer les traits est évident là encore c'est beaucoup moins clair au niveau des racines. Comme je l'ai évoqué précédemment les racines remplissent un grand nombre de fonctions ce qui implique des valeurs de traits différentes (Picon-Cochard *et al.* 2011). Il nous a donc fallu définir préalablement aux mesures définir sur quels types de racines nous voulions mesurer les traits. Pour les *Poaceae* nous avons fait le choix de mesurer les traits fonctionnels sur un sous

échantillon du système racinaire pour lequel la partition entre les différents ordres de racines serait représentative du système dans son ensemble. Car le but de notre travail n'est pas de détailler le fonctionnement des racines de différents ordres au sein d'un système racinaire, mais bien d'évaluer les stratégies des systèmes racinaires dans leur ensemble. De plus chez cette famille de plantes l'absence de croissance secondaire limite non seulement les différences entre racines mais aussi le diamètre des racines mises en place les rangeant toutes dans la classe des racines fines (diamètre inférieur à 2mm) qui est généralement considéré comme la limite supérieure de la classe des racines fines sur lesquelles peuvent être mesurés des traits (Cornelissen *et al.* 2003). Par contre les *Fabaceae* elles présentent une croissance secondaire qui conduit à un épaississement de certaines racines et souvent à la mise en place d'un pivot de diamètre variable pouvant aller jusqu'à plusieurs centimètres. Pour cette famille, avant de faire les mesures de traits, nous avons donc choisis de séparer la fraction de racines fines¹⁵ du pivot. Cela nous a permis de réaliser des mesures de traits sur des structures homologues chez les *Poaceae* et les *Fabaceae*, c'est-à-dire sur des racines n'ayant pas mis en place de croissance secondaire et dont les fonctions principales restent l'absorption de l'eau et des nutriments ainsi que leur transport. Cependant ce n'est pas pour autant que nous n'avons pas fait de mesures sur les parties pivot. Nous avons mesuré leurs biomasses, longueurs et volumes. Cela nous a par exemple permis de calculer l'investissement total de chaque espèce dans son système racinaire.

II.4 Les interactions

Afin d'évaluer le type et l'intensité des interactions mises en place entre des plantes ayant des syndromes de traits fonctionnels différents j'ai choisi d'utiliser un dispositif additif de type "Target-neighbour" (Gibson *et al.* 1999). Pour évaluer l'effet des interactions sur la croissance des plantes, dans ce type de dispositif, les performances en associations sont comparées à celles mesurées en monoculture (Brooker *et al.* 2005). Dans ce type de dispositif les associations ont des densités deux fois plus importantes que les monocultures. En effet, chacune des deux espèces de l'association est plantée dans l'association à la même densité que dans sa monoculture. Cela permet d'évaluer si le fait d'avoir un voisin entraîne un changement de production chez la plante cible (en comparaison avec la monoculture). J'ai choisi dans ce travail de ne planter qu'un individu dans les monocultures et donc deux dans les associations pour limiter l'effet des interactions intraspécifique sur l'intensité des

¹⁵ Pour les *Fabaceae* nous avons défini les racines fines comme celles n'ayant pas mis en place de croissance secondaire.

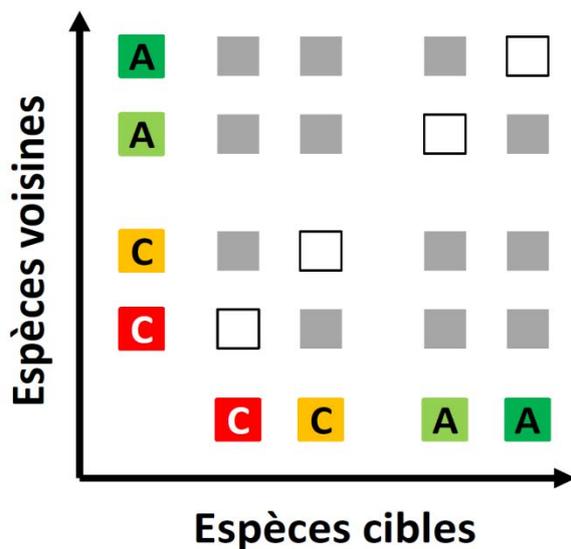


Figure 25 : Design de l'expérimentation de d'interaction comprenant deux espèces à stratégie de conservation des ressources (carrés rouge et orange) et deux espèces à capture des ressources (carrés vert clair et vert). Les carrés gris représentent les des couples d'individus (une espèce cible et une voisine). Les carrés blancs représentent les monocultures comprenant un seul individu d'une seule espèce

interactions mesurées. Afin de ne pas baser les calculs d'intensité d'interaction uniquement sur la productivité en fin d'expérimentation j'ai choisi de faire trois récoltes (sur des pots différents) pour suivre l'évolution des interactions au cours du temps.

Mon objectif, dans cette partie du travail de thèse qui traite des interactions entre plantes, est de mettre en relation l'intensité des interactions établies entre des couples de plantes et leurs différences de valeurs de traits fonctionnels. J'ai donc, aux vues des caractérisations fonctionnelles précédemment réalisées, choisi quatre espèces deux à stratégie de capture des ressources et deux à stratégie de conservation. Cela de façon à avoir deux couples avec des distances de valeurs de traits faibles et quatre avec des distances plus ou moins grandes. En considérant tour à tour chaque plante d'une association comme cible ou voisin (ce qui change le signe de la distance de trait entre les plantes) on obtient donc douze couples cible-voisin (Figure 25). Ces quatre espèces sont toutes des *Poaceae* cela afin d'éviter de mettre en interaction des espèces ayant des type de reproduction végétative, des ports trop différents et bien sur des modes de nutrition pour l'azote très différents. En effet le fait de mettre en compétition une plante capable de taller avec une qui ne fait pas de reproduction végétative va forcément entraîner une modification de la densité de l'association en faveur de la plante capable de taller sans que cela ne soit imputable à son syndrome de traits fonctionnels racinaire.

Enfin j'ai décidé de faire varier les conditions de croissance des plantes en interactions en imposant deux niveaux de disponibilité en eau et en phosphore. Cela afin de tester si les conditions de croissance modifiaient le type de relation entre distance de traits et intensité d'interaction ; ce qui revient à vérifier si l'aptitude à la compétition des espèces varie en fonction de leur milieu de croissance.

CHAPITRES

Cette partie de mon manuscrit est composée trois chapitres qui incluent quatre articles, dont un publié. Le **Chapitre I** regroupe deux articles qui ont pour objectifs la caractérisation fonctionnelle d'espèces prairiales. Le premier concerne la famille des *Poaceae* (**Chapitre I.I**), le second celle des *Fabaceae* (**Chapitre I.II**) ; pour ces deux familles j'analyse les liens entre les syndromes de traits, les relations traits aériens vs traits racinaires et les exigences écologiques des espèces.

L'article présenté dans le **Chapitre II** a pour objectifs de vérifier s'il existe des liens forts entre les traits racinaires et l'aptitude des plantes à faire face aux stress hydrique et phosphorique. Cette question sera traitée pour un sous ensemble des espèces caractérisées dans le **Chapitre I**.

Enfin dans le **Chapitre III** nous avons testé l'effet couplé de la présence et du type de voisin et de la disponibilité en eau et en phosphore sur le développement de *Poaceae* aux stratégies racinaires contrastées.

Chaque article, rédigé en anglais, sera introduit par un court résumé en français récapitulant les principaux résultats et faisant le lien entre les différents chapitres.

Chapitre I

Relations entre syndromes de traits fonctionnels et exigences écologiques de *Poaceae* et de *Fabaceae* prairiales

I Implication des traits racinaires et des relations entre traits racinaires et traits aériens pour la définition des stratégies d'acquisition des ressources chez les *Poaceae* prairiales

Le système racinaire joue un rôle essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes en assurant l'acquisition mais aussi le stockage des ressources. Cependant l'analyse de la bibliographie montre que, les traits fonctionnels racinaires n'ont pas reçu beaucoup d'attention en comparaison des traits foliaires et les relations entre ces deux types de traits restent aussi à construire. Dans ce paragraphe nos objectifs sont donc : i) de tester si les traits racinaires, morphologiques et structurels, permettent de différencier des stratégies différentes au sein des *Poaceae* prairiales et ii) de déterminer s'il existe des relations entre traits racinaire et foliaire et, si elles existent, d'évaluer dans quelle mesure ces relations permettent elles aussi de mieux caractériser les plantes.

Au cours de ce travail, nous avons mesuré sur onze espèces de *Poaceae* pérennes de zones tempérées : i) des traits fonctionnels morphologiques (SRL, diamètre racinaire moyen, RTD), ii) des traits structurels (masse de racine, RLD, pourcentage de racine dans les horizons profonds, pourcentage de racines fines) et iii) deux traits foliaires reconnus pour leur pertinence dans la description des stratégies des plantes la SLA et la LDMC (leaf dry matter content : teneur en matière sèche des feuilles).

L'Axe 1 d'une analyse canonique de correspondance faite sur l'ensemble de ces traits a mis en évidence l'existence d'un gradient d'espèces allant de celles qui possèdent des systèmes racinaire profonds, denses, de grosses racines et des biomasses importantes, à celles développant des systèmes racinaires superficiels, des racines fines ayant des SRL très fortes. Ces résultats suggèrent qu'il existe un fort lien entre les traits morphologiques et structurels. Les ANCOVAs ont mis en évidence qu'il existait bien des relations entre les traits foliaires et les traits racinaires, mais que ces dernières étaient impactées par la capacité des espèces à tolérer le stress hydrique.

En conclusion, on peut dire que les syndromes de traits racinaires permettent de ranger les espèces de *Poaceae* le long de gradients, allant d'espèces à stratégies de conservation qui sont plus représentées dans les milieux stressants, avec des systèmes racinaires profonds et denses, à celles présentant des stratégies de capture des ressources que l'on retrouve plutôt dans les milieux riches et peu stressants et qui elles présentent des systèmes racinaires superficiels et des racines fines. Bien que les plantes sensibles ou tolérantes au stress hydrique

ne présentent pas des gammes de variation des traits aériens différentes, pour une même valeur de SLA, les plantes capables de tolérer le stress hydrique vont avoir des SRL plus faibles et vont développer des biomasses racinaires plus importantes. Leurs traits racinaires marquent donc une stratégie de conservation plus forte que celles que soient les stratégies aériennes des espèces.

Mots clés : écologie des racines, groupes fonctionnels, *Poaceae*, stratégies souterraine, traits fonctionnels racinaire

Titre de l'article : **Root and leaf functional trait relations in *Poaceae* species: implications of differing resource acquisition strategies**

Florian Fort*, Claire Jouany, Pablo Cruz

Journal of plant ecology 6(3) 211-219

Doi : 10.1093/jpe/rts034

Abstract:

Root systems play an essential role in grassland functioning in both acquisition and storage of resources. Nevertheless, root functional traits have not yet received as much attention as those measured on above-ground organs, and little is known about their relations. Our objectives were to test if morphological and root system traits allowed identification of grass species' functional strategies and to determine if a relation exists between above- and below-ground traits. Functional traits of root tissues (specific root length, diameter, tissue density, nitrogen concentration), whole root systems (root mass, root length density, root mass percentage below 20 cm depth, fine root %) and two major leaf traits (specific leaf area and leaf dry matter content) were determined under field conditions and their relations analysed in eleven perennial temperate *Poaceae* species. Canonical correspondence analysis axis 1 revealed a gradient of species, from those with deep, dense and coarse root systems with a large root mass to those with shallow root systems, thin roots and high specific root length; this suggests strong correlations among root traits. ANCOVAs between specific root length and specific leaf area reveal two groups of species, which probably indicate different drought tolerance capacity. Root trait syndromes enable ranking grasses along a gradient from conservative-strategy species (from stressful habitats), which display a deep and coarse root system, to acquisitive species (from rich and moist meadows), which display a shallow and thin root system. Although both types display similar above-ground strategies, drought-tolerant species have lower specific root lengths than drought-sensitive species, revealing more conservative root strategies.

Keywords: root functional trait, functional group, grasses, root ecology, below-ground strategies

I.1 Introduction

Grasslands provide many services to humans such as producing forage to feed livestock, improving soil structure (McCallum *et al.* 2004), controlling runoff and pollution (Dorioz *et al.* 2006) and maintaining high biodiversity (Ockinger & Smith 2007). A better understanding of grassland functioning is needed to improve these services and to conserve grasslands in the context of global change (Vitousek *et al.* 1997). Regarding their proportion (as biomass) in grasslands (Gibson 2009), a sound knowledge of *Poaceae* species functioning is necessary to understand the functioning of the whole grassland community properly.

The advantages of the functional approach to qualify plant strategies of resource use (i.e. using functional groups or ranking species along functional spectra) has been frequently demonstrated (Grime 1979; Garnier 1992; Díaz *et al.* 1999; Craine *et al.* 2002a; Reich & Wright 2003; Lavorel *et al.* 2007). Ecological theories (Grime 1977; Chapin III 1980; Westoby 1998) as well as empirical works (Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 2004; Freschet *et al.* 2010) have dealt with the determination of plant functional strategies. They establish the existence of a fundamental trade-off between plant features allowing resource capture (fast-growing species) and those allowing resource conservation (slow-growing species).

Species' functional-trait syndromes are the outcome of their evolutionary response to characteristics of their habitats (Reich *et al.* 2003). Assuming that these characteristics result from their adaptation to edaphic and climatic conditions, it was hypothesised that plants develop similar strategies at above- and below-ground levels (Wahl & Ryser 2000; Craine & Lee 2003; Tjoelker *et al.* 2005; Kembel *et al.* 2008; Kembel & Cahill 2011). Nevertheless, the adaptation of one of the two compartments may affect the functional syndrome of the other. Recently Liu *et al.* (2010) demonstrated at the community level that there was no unique relation between above- and below-ground traits; different relations were observed according to the aridity index of the community. Consequently, we hypothesised that such relations could be used to characterise the plant's ability to endure drought. However, lack of knowledge still exists regarding the functional significance of the relations among above- and below-ground traits.

Recent studies have observed correlations between morphological and biochemical root traits and plant strategies for resource acquisition. For example, high specific root lengths (SRL), high percentage of fine roots and high root nitrogen concentrations (RNC, mg g⁻¹) were found in fast-growing species, which suggests a substantial capacity for nutrient uptake and assimilation (Tjoelker *et al.* 2005), low water transport capacity per root length unit (Hernández *et al.* 2010a) and fast root turnover (Eissenstat 1992). This resource-acquisitive

trait syndrome may be attributable to species living in a nutrient- and water-rich habitat, which provides conditions necessary for supporting fast organ turnover and rapid growth. Moreover, in this kind of habitat plants need to be efficient competitors to resources acquisition (Grime *et al.* 1997). In contrast, high root tissue density and large diameter were characteristic of plants exhibiting a long root lifespan and low growth rate (Ryser 1998; Eissenstat 2000; Craine, Froehle, & Tilman 2001). The resource-conservative trait syndrome may be attributable to species living in a resource-poor habitat, which does not provide adequate conditions for supporting fast organ turnover and rapid growth. Furthermore, physiological drought-tolerant species display higher root tissue density due to their small-diameter sclerified vessels (Hacke *et al.* 2001; Sperry, Stiller, & Hacke 2003), high investment in cell walls (Cunningham *et al.* 1999) and large diameters associated with high water transport capacity (Hernández *et al.* 2010). When this feature is associated with depth root systems it may allow species to compete in drought-prone habitats better using deep water resources, as reported for *Lolium arundinaceum* (Simorte *et al.* 1997).

Root-system level traits such as root length density (RLD, root length per unit of soil volume) or root mass, which are indicators of root distribution through the soil depth seem to provide valuable data about plant strategies for resource acquisition and use. For example, RLD is the main trait influencing N acquisition efficiency in N-limited conditions (Craine 2006; Fargione & Tilman 2006). Total root mass provides information about plant storage capacities, whereas substantial root depth may help a species to grow in dry conditions by allowing it to exploit deep water. Studying relations among morphological, root-system level and above-ground functional traits may greatly improve our understanding of resource acquisition/use strategies and habitat preferences of plants.

Eight root traits and two key leaf traits were measured in long-established pure stands of 11 perennial Poaceae species common in temperate regions and chosen for their contrasting habitat preferences (i.e., nutrient and water availabilities) and their above-ground growth strategies. Species were grown with low levels of available nitrogen. We hypothesise that these conditions allowed species to express their different capacities for soil foraging and nutrient uptake by roots. Under limiting soil resources below-ground strategies take precedence over above-ground ones. Our objectives were to: (i) test whether morphological and root-system traits allowed the identification of functional strategies of grass species from different habitats and (ii) discover whether a relation exists between above- and below-ground traits that could be used as an indicator of a species' drought tolerance capacity.

I.2 Materials and Methods

I.2.a Species studied and common garden experiment

The 11 common *Poaceae* species (Table 1) were chosen to include a wide range of habitat preferences and growth strategies (Ellenberg *et al.* 1991; Cruz *et al.* 2010). These species may be separated into two groups regarding their contrasting drought-tolerance capacity. The first group comprised drought-sensitive species: *Agrostis capillaris*, *Deschampsia cespitosa*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne* and *Phleum pratense*. The second group comprised drought-tolerant species: *Bromus erectus*, *Brachypodium pinnatum*, *Brachypodium sylvaticum* and *Lolium arundinaceum* (Ellenberg *et al.* 1991; Gibson & Newman 2001; Rameau, Mansion, & Dumé 2006). *L. arundinaceum* was in the drought-tolerant group, as reported by Gibson et Newman 2(001), despite its high Ellenberg value of H (Table 3).

Seeds of each species were collected from natural populations in Ercé, a central Pyrenean valley (42°50'N, 1°17'E; altitude 500-800 m) in France. Plants were grown in a common garden (a 20-m² monoculture stand per species) at Auzeville, southwest France (43°31'N; 1°30'E) from autumn 2004.

Table 3: Species studied (authorities according to the Euro+Med Plant Base <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/results.asp>), their above-ground growth strategies (S) according to Cruz *et al.* (2010) (A for acquisitive and C for conservative), Ellenberg indices for water (H), variation in the soil water content (var H), nutrients (N) and their habitat preferences (Ellenberg *et al.* 1991; Rameau *et al.* 2006). The H and N indices are expressed on a scale from 1 (low requirement of the resource) to 9 (high requirement). Var H indicates whether the species is tolerant (1) or not (0) to large variations in soil water availability.

Species	S	H	N	Var H	Habitat
<i>Agrostis capillaris</i> L.	A	0	4	0	Wet hay meadows
<i>Brachypodium pinnatum</i> Font Quer [non (L.) P. Beauv.]	C	4	3	0	Dry meadows
<i>Brachypodium sylvaticum</i> (Huds.) P. Beauv.	C	5	6	0	Dry and shaded meadows
<i>Bromus erectus</i> Huds.	C	3	3	0	Dry meadows
<i>Dactylis glomerata</i> L.	A	5	7	-	Wet hay meadows
<i>Deschampsia cespitosa</i> (L.) P. Beauv.	C	7	3	1	Lowland wet meadows
<i>Festuca rubra</i> L.	C	0	5	0	Ubiquitous
<i>Holcus lanatus</i> L.	A	6	7	0	Wet hay meadows
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	A	7	6	1	Hay meadows
<i>Lolium perenne</i> L.	A	5	8	0	Wet hay meadows
<i>Phleum pratense</i> L.	A	6	7	0	Wet hay meadows

The garden soil, developed on alluvium, has a minimum depth of 120 cm. Soil physical and chemical properties were uniform over the entire field. On average, soil contained $375 \pm 50 \text{ g kg}^{-1}$ (mean \pm standard deviation) clay, $430 \pm 60 \text{ g kg}^{-1}$ silt and $200 \pm 90 \text{ g kg}^{-1}$ sand; the pH was alkaline (8.1 ± 0.2). Phosphorus concentrations in the soil solution (Stroia, Morel, & Jouany 2007) were: $0.30 \pm 0.1 \text{ mg dm}^{-3}$ for the top layer (0-30 cm); $0.044 \pm 0.02 \text{ mg dm}^{-3}$ for the intermediate layer (30-60 cm) and close to zero below 60 cm. In view of these values, we consider that phosphorus was not limiting for plant growth (Morel *et al.* 2000). In spring 2010, the N nutrition index (Lemaire, Jeuffroy, & Gastal 2008), which indicates the N nutrition level of stands, was measured for all 11 species. For a given biomass, it was calculated as the ratio (expressed as a percentage) of measured N concentration in the above-ground biomass to its corresponding optimum value obtained for identical biomass from the critical N curve (Lemaire *et al.* 2008). Its values varied from 30-45, indicating relatively severe N limitation for growth (Lemaire *et al.* 2008). These values were in agreement with the low values of N% ($0.99 \pm 0.08 \%$) and organic matter content ($1.7 \pm 0.2 \%$) in the soil.

I.2.b Root collection and washing

Four soil cores (diameter 5 cm, length 80 cm) were removed from the centre of each plot in early spring (the first week of March 2010). This period was chosen to avoid different growth stages among the species. Each soil core was divided into six layers (0-5, 5-10, 10-20, 20-40, 40-60, 60-80 cm deep). Afterwards, soil samples were frozen at -18°C to preserve them until the roots were washed. An elutriation process derived from the method developed by (Smucker, McBurney, & Srivastava 1982) was used to wash roots. Soil samples were defrosted for at least 15 minutes in warm water, then soil particles on the roots were washed off over a 1-mm mesh sieve (Craine *et al.* 2001) in a bath agitated by compressed air. When roots were totally free of soil and organic matter fragments they were put in water and kept for no more than 24 hours in the dark at 4°C before analysis.

I.2.c Measurement of root traits

Roots were suspended in 1 cm of water in a 21×29.7 cm clear acrylic tray (Craine *et al.* 2002b; a) and then scanned at 400 dots per inch (Bouma, Nielsen, & Koutstaal 2000) with a scanner (Perfection 4990 Photo, Epson). For each scan the RLD on the tray did not exceed the threshold of 0.5 mm root per mm^2 surface. WinRHIZO[®] Pro 2007 software (Regent Instruments, Quebec, Canada) was used to analyse scanned images; it quantifies the total root

length of each segment with a constant diameter. This method gives the total length, surface area and volume of each root sample and also the total length in ten root-diameter classes (0.1 mm each, the uppermost for diameters > 0.9 mm). The entire root mass of each soil sample was scanned because roots collected in this study had a diameter of less than 2mm, the upper boundary of the root class on which the functional traits should be measured (Cornelissen *et al.* 2003). After scanning, each root sample was drained, dried for 48h at 80°C and weighed. RNC was determined using a CHN analyser (LECO Corporation, St Joseph, Michigan, USA).

I.2.d Trait calculation

Mean root diameter was calculated as the mean of the median value of each diameter root class weighted by the root length in each class. The fine root percentage was calculated as the percentage of root length with a diameter < 0.1 mm. SRL was calculated by dividing the sample root length by its dry mass. Root tissue density was the ratio of root dry mass to root volume (Cornelissen *et al.* 2003).

The RLD (cm cm^{-3}) was calculated as the ratio of the total root length down the soil profile within one core to the volume of the soil core expressed in cm and cm^3 , respectively. The root mass measured within a soil core was extrapolated to a square meter to estimate the root mass per square meter. To analyse the root distribution down the profile we chose to use the percentage of root mass below 20 cm as an indicator.

I.2.e Leaf trait measurements

Twenty youngest mature leaves of the 11 species were collected on vegetative tillers of the pure stand plots (Cornelissen *et al.* 2003). They were stored for 24 h at 4°C in plastic boxes containing water to allow water saturation, because leaf dry matter content (LDMC) must be measured on fully rehydrated leaves (Cornelissen *et al.* 2003). Each leaf was then cut from the stem and gently dried with paper tissue before measurement. Water-saturated leaf mass was weighed and its projected area scanned with a scanner (Scanjet 3770, Hewlett-Packard) and measured with surface-area measurement software (A.P.I. electronic Toulouse); leaves were then dried for 48 h at 60°C and weighed. LDMC was calculated as the ratio between the leaf dry mass and its water-saturated mass. Specific leaf area (SLA) was calculated as the ratio between leaf area and leaf dry mass

Table 4: Mean \pm standard deviation of root and leaf functional traits for species studied. In each column, different letters indicate significantly different means of species' parameters (n = 44, p < 0.05, ANOVA and TukeyHSD post-hoc test).

Species	Fine root percentage (0- 0.1 mm diameter)	Mean root diameter (mm)	Root tissue density (g cm ⁻³)	Root nitrogen concentration (mg g ⁻¹)	Specific root length (m g ⁻¹)	Root length density (cm cm ⁻³)	Root mass (g m ⁻²)
<i>Agrostis capillaris</i>	58.7 \pm 1.1 e	0.13 \pm 0.00 b	0.23 \pm 0.03 a	9.4 \pm 0.7 cd	259 \pm 31.4 d	6.15 \pm 0.8 bcd	328 \pm 84 ab
<i>Brachypodium pinnatum</i>	38.9 \pm 2.6 c	0.15 \pm 0.01 e	0.29 \pm 0.02 de	6.0 \pm 1.1 a	131 \pm 12 ab	6.45 \pm 0.9 cd	634 \pm 116 cd
<i>Brachypodium sylvaticum</i>	47.0 \pm 3.1 d	0.13 \pm 0.01abc	0.31 \pm 0.01 e	8.5 \pm 1.0 bc	161 \pm 16.9 bc	4.34 \pm 0.7 ab	468 \pm 149 bc
<i>Bromus erectus</i>	19.0 \pm 1.2 a	0.18 \pm 0.01 f	0.26 \pm 0.03 bc	6.0 \pm 0.2 a	100 \pm 13.9 a	5.58 \pm 0.6 bc	846 \pm 108 de
<i>Dactylis glomerata</i>	57.9 \pm 2.1 e	0.12 \pm 0.00 ab	0.25 \pm 0.03 abc	10.2 \pm 1.1 b	252 \pm 8.1 d	3.97 \pm 0.3 a	231 \pm 14 a
<i>Deschampsia cespitosa</i>	36 \pm 3.7 bc	0.18 \pm 0.01 f	0.24 \pm 0.01 ab	8.6 \pm 0.7 cd	128 \pm 6.26 ab	6.38 \pm 1.5 bcd	663 \pm 142 cd
<i>Festuca rubra</i>	47.8 \pm 1.1 d	0.14 \pm 0.01 cd	0.30 \pm 0.03 cde	8.9 \pm 1.5 bcd	187 \pm 40.1 c	5.84 \pm 1.1 abcd	565 \pm 193 bcd
<i>Holcus lanatus</i>	60.0 \pm 2.2 e	0.13 \pm 0.01 abc	0.22 \pm 0.02 a	10.5 \pm 1.1 d	275 \pm 26 d	4.95 \pm 0.3 bc	230 \pm 15 a
<i>Lolium arundinaceum</i>	32.2 \pm 1.5 b	0.20 \pm 0.01 g	0.24 \pm 0.01 ab	7.2 \pm 0.5 b	99 \pm 6.32 a	7.49 \pm 0.6 d	947 \pm 107 e
<i>Lolium perenne</i>	50.1 \pm 1.6 d	0.15 \pm 0.01 de	0.22 \pm 0.02 a	9.4 \pm 1.2 cd	195 \pm 26.4 c	6.20 \pm 1.4 bcd	443 \pm 109 bc
<i>Phleum pratense</i>	59.4 \pm 2.0 e	0.11 \pm 0.01 a	0.29 \pm 0.02 cde	9.6 \pm 0.9 cd	199 \pm 21.4 c	3.96 \pm 1.1 ab	249 \pm 72.9 ab

Species	Deep root percentage (root mass percentage below 20 cm)	Leaf dry matter content (LDMC, mg g ⁻¹)	Specific leaf area (SLA, m ² kg ⁻¹)
<i>Agrostis capillaris</i>	23.33 \pm 3.4 bc	296 \pm 13 ef	23.0 \pm 1.0 e
<i>Brachypodium pinnatum</i>	41.71 \pm 7.1 d	347 \pm 17 g	21.7 \pm 1.9 de
<i>Brachypodium sylvaticum</i>	23.30 \pm 11.1 bc	298 \pm 14 ef	35.5 \pm 2.0 g
<i>Bromus erectus</i>	23.75 \pm 4.2 bc	299 \pm 24 f	17.9 \pm 2.2 c
<i>Dactylis glomerata</i>	14.69 \pm 5.8 ab	256 \pm 18 bc	23.4 \pm 2.5 e
<i>Deschampsia cespitosa</i>	31.88 \pm 8.1 dc	307 \pm 19 f	12.1 \pm 1.7 a
<i>Festuca rubra</i>	11.97 \pm 5.2 ab	315 \pm 37 f	15.5 \pm 1.9 b
<i>Holcus lanatus</i>	17.35 \pm 6.1 bc	223 \pm 15 a	26.8 \pm 2.8 f
<i>Lolium arundinaceum</i>	30.00 \pm 2.4 dc	274 \pm 29 cd	15.4 \pm 1.6 b
<i>Lolium perenne</i>	21.43 \pm 0.6 bc	251 \pm 14 b	20.3 \pm 2.1 d
<i>Phleum pratense</i>	18.69 \pm 12.2 bc	282 \pm 20 de	23.1 \pm 2.1 e

I.2.f Statistical analysis

All statistical analyses were carried out with R 2.10.1 software ($\alpha = 0.05$). A canonical correspondence analysis (CCA) was performed to determine the relations among the eight functional root traits for the 11 species (four replicates per species, $n = 44$) and to determine the species' trait syndromes. CCA was chosen because it allows description of the root trait syndrome without any influence of the above-ground trait, but allows the above-ground traits to be superimposed on this syndrome. For this purpose it was decided to centre and normalise all variables using their standard deviations because all the variables differed in size. The RLD was not included in the CCA because it was calculated with variables used in the CCA. Analyses of covariance (ANCOVA) were performed using the drought-tolerance capacity as a co-variable to test whether drought tolerance had a significant effect on the relation between above- and below-ground traits.

I.3 Results

I.3.a Root trait syndromes

There were large differences among species in nearly all the functional traits (Table 4). The first two axes of the CCA explained 88% of the variability (axis 1: 71%, axis 2: 17%). Six functional traits made a strong contribution to axis 1: root mass, mean diameter, fine root percentage, percentage of deep roots, RNC and SRL; their absolute correlation coefficients

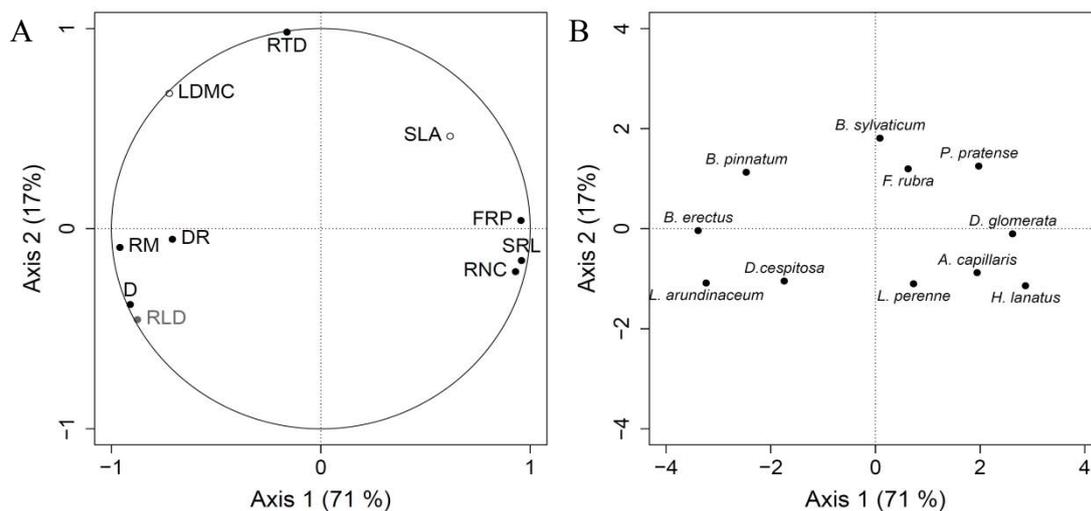


Figure 26: Canonical correspondence analysis (CCA) for functional traits measured in 11 grass species (A) Correlation circle between variables and CCA axis; (B) species coordinate on the CCA axis. Black circle: root traits used to construct the CCA axes. D: root mean diameter; DR: deep root percentage; FRP: fine root percentage; RM: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circle: leaf traits used to construct the CCA axes; LDMC: leaf dry matter content; SLA: specific leaf area. Grey circle: root trait not used in the CCA axes but added to show its correlation with the axes; RLD: root length density.

Table 5: Correlation coefficients between root and leaf trait and canonical correspondence axis.

Root traits	Correlation coefficients	
	Axis 1	Axis 2
Fine root percentage (FRP, % root length)	0.95	0.04
Deep root percentage (DR, % root mass)	-0.71	-0.05
Root mean diameter (D, mm)	-0.91	-0.38
Root length density* (RLD, cm cm ⁻³)	-0.87	-0.45
Root mass (TM, g m ⁻²)	-0.96	-0.09
Root nitrogen concentration (RNC, %)	0.93	-0.21
Root tissue density (RTD, g cm ⁻³)	-0.16	0.98
Specific root length (SRL, m g ⁻¹)	0.96	-0.16
Leaf traits	Axis 1	Axis 2
Specific leaf area (SLA, m ² kg ⁻¹)	0.62	0.46
Leaf dry matter content (LDMC, mg g ⁻¹)	-0.72	0.67

* Root length density (RLD) eigenvalues are only illustrative because RLD values were not used to construct the CCA.

were greater than 0.70 (Figure 26A; Table 5). These traits were divided into two highly but negatively correlated groups. The first group, negatively correlated with the axis 1, was composed of root mass, mean diameter and percentage of deep roots. The second, positively correlated with the axis 1, included fine root percentage, RNC and SRL (Figure 26A).

The negative correlation of the deep root percentage on axis 1 showed that species with negative coordinates on this axis had more roots in deeper layers than species with positive coordinates. RLD also had a strong negative score on axis 1 and was more highly correlated with root mass than with SRL, both of which are components of RLD. Thus, axis 1 represents a gradient of species from those with deep, dense and coarse root systems with a large root mass coming from nutrient limited and/or water stressful habitats to those with shallow root systems, thin roots and high SRL coming from a wet and nutrient-rich habitat (Figure 26B).

The main trait contributing to axis 2 was root tissue density, with a correlation coefficient value of 0.98. Hence, this axis represents a gradient from species with low root tissue density (negative values) to those with high root tissue density (positive values). Root tissue density was independent of all other root functional traits (Figure 26A).

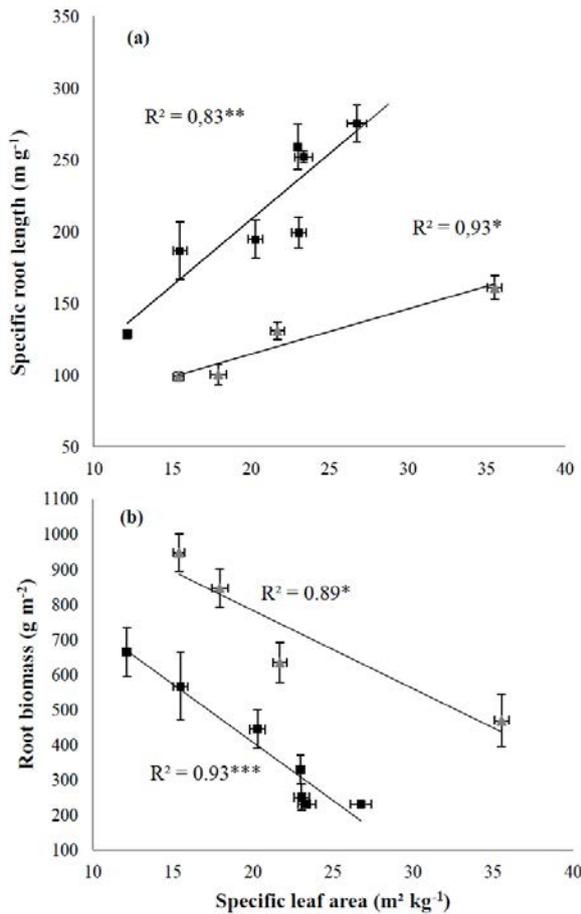


Figure 27: Linear regressions of (A) specific root length or (B) root mass to specific leaf area. Black square drought sensitive species: *A. capillaris*, *D. glomerata*, *D. cespitosa*, *F. rubra*, *H. lanatus*, *L. perenne*, *P. pratense*. Grey triangle drought tolerant species: *B. pinnatum*, *B. sylvaticum*, *B. erectus*, *L. arundinaceum*. Mean \pm standard error, ANCOVA.

for drought-sensitive and drought-tolerant species. Slopes and intercepts of linear regressions between SLA and SRL differed for both groups (ANCOVA, $p < 0.05$), *i.e.* within the range of SLA values considered in our study, for a given SLA, drought-tolerant species had a lower SRL than drought-sensitive species. Moreover this difference increased with the SLA value. The same pattern appeared in the regression of fine root percentage and RNC against SLA, but relations were not significant due to the small number of drought-sensitive species. For the regression of root mass against SLA (Figure 27B), both groups differed in their intercepts (ANCOVA, $p < 0.001$) but not in their slopes; therefore, for the same SLA, drought-tolerant species had higher root mass.

1.3.b Root and leaf trait relations

Regarding all species as a single group, relations existed between root and leaf traits. Mean root diameter and RLD were both negatively correlated with SLA ($R^2 = 0.40$ and 0.41 respectively, $p < 0.05$), *i.e.* species with high SLA had few roots with small diameters. The LDMC was negatively correlated with RNC but positively correlated with root tissue density ($R^2 = 0.46$ and 0.38 respectively, $p < 0.05$), *i.e.* species with high LDMC had higher RNC and lower root tissue density than species with lower LDMC.

There were clearly different relations between SLA and SRL (Figure 27A) and SLA and root mass (Figure 27B) for drought-sensitive and drought-tolerant species. Slopes and intercepts of linear regressions between SLA and SRL differed for both groups (ANCOVA, $p < 0.05$), *i.e.* within the range of SLA values considered in our study, for a given SLA, drought-tolerant species had a lower SRL than drought-sensitive species. Moreover this difference increased with the SLA value. The same pattern appeared in the regression of fine root percentage and RNC against SLA, but relations were not significant due to the small number of drought-sensitive species. For the regression of root mass against SLA (Figure 27B), both groups differed in their intercepts (ANCOVA, $p < 0.001$) but not in their slopes; therefore, for the same SLA, drought-tolerant species had higher root mass.

I.4 Discussion

I.4.a Relation between morphological and root-system-level traits

Root-system-level traits, root mass, RLD and deep root percentage were negatively correlated with fine root percentage, SRL and RNC, showing a trade-off between a plant's capacity to develop and maintain a large root system and its resource-acquisition ability in a nitrogen poor habitat. Moreover, we confirmed the existence in the *Poaceae* family of a negative correlation between SRL, RNC and fine root percentage and mean root diameter, which was previously observed for other grassland species (Craine *et al.* 2002b; Tjoelker *et al.* 2005; Roumet *et al.* 2006) or more generally in trees and crops (Eissenstat 2000; Comas, Bouma, & Eissenstat 2002; Comas & Eissenstat 2009). Species coming from nutrient-poor habitats (*B. erectus*, *B. pinnatum*, *D. cespitosa*,) with their large, dense and deep root systems had high mean root diameters and low SRL, RNC and fine root percentages, which are associated with a long root lifespan and a low rate of nutrient uptake and are characteristic of a conservative strategy (see Eissenstat (2000) and Gill & Jackson (2000) for mean root diameter; Craine *et al.* (2002a) and Tjoelker *et al.* (2005) for RNC and fine root percentage). Moreover, for grass species, high RLD is associated with uncompetitive species in N-rich habitats (Venterink & Güsewell 2010), considered nutrient-conservative species. The resource-conservative trait syndrome was also associated with a high percentage of root mass in deep soil layers, which could confer a high tolerance for water stress since it allows plants to tap into deeper water. Deeper root systems (Schenk & Jackson 2005) and large root diameters (Hernández *et al.* 2010a) increase a plant's ability to reach a large quantity of water from deep soil layers. On the other side of the axis, species coming from nutrient- and water-rich habitats (*D. glomerata*, *H. lanatus*, *P. pratense*) with their shallow root systems and high SRL and RNC display a root trait syndrome characteristic of a resource-acquisitive strategy.

Root tissue density was used mainly to characterise plant functional strategies, like leaf tissue density and its proxy, LDMC (Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 1999; Al Haj Khaled *et al.* 2005; Cruz *et al.* 2010). High values of these traits were characteristic of nutrient resource-conservative species and water stress tolerance (Weaver 1958; Grime *et al.* 1997; Aert & Chapin III 2000; Holdaway *et al.* 2011). However, RTD is the only trait which is not related to the capture-conservation axis 1. This syndrome seems common in a wide range of plants, from grassland *Poaceae* (Picon-Cochard *et al.* 2011) to trees from different families (Comas & Eissenstat 2009). A possible explanation of this lack of relation is that RTD may be related more to the plants' physiological stress tolerance than to their nutrient management

strategies. Additionally, within the drought-tolerant group, species with the highest RTD (*B. pinnatum*, *B. sylvaticum*) come from dry habitats and can survive with low soil moisture, while *L. arundinaceum* is able to avoid drought by accessing deep water, as confirmed by its deep root system. *P. pratense*, another species which displays high RTD, is reported to endure low temperatures and frost (Ellenberg *et al.* 1991; Rameau *et al.* 2006). Since frost and water deficit induce similar cellular damage in plants and similar physiological responses (Sierra-Almeida, Cavieres, & Bravo 2010), we suggest the higher root tissue density is due to cell-wall strengthening. As a consequence, this trait may indicate a plant's physiological tolerance to physical stresses.

I.4.b Leaf and root trait relations

The general pattern of correlations between the above- and below-ground functional traits (Figure 26A) confirms that the strategy observed on above-ground organs can be extrapolated to below-ground organs (Wahl & Ryser 2000; Craine & Lee 2003; Tjoelker *et al.* 2005; Kembel *et al.* 2008; Liu *et al.* 2010; Holdaway *et al.* 2011). However, correlations between SLA and morphological traits, such as SRL or root-system-level traits, such as root mass, do not lie on a single regression line. For the same SLA, drought-tolerant species *B. pinnatum*, *B. sylvaticum*, *B. erectus* and *L. arundinaceum* have higher root mass and lower SRL than the other species (Figure 27). For the same level of investment for a leaf area unit, these species produce and maintain a coarser and deeper root system. This shift observed (Figure 27) could be explained by adaptation of these species to drought stress. Drought-tolerant species may allocate more biomass and invest more in vessel sclerification to ensure water acquisition and transport in dry conditions. As a consequence, these species obtain enough water for above-ground organ survival, maintain growth during droughts and are more competitive in dry environments. However, the success of these strategies may depend highly on the presence of deep water resources and be highly sensitive to water deficit in shallow soils, as was demonstrated for *L. arundinaceum* (Volaire & Lelievre 2001).

I.5 Conclusions

This work demonstrates that diverse strategies exist within *Poaceae* grasslands. Root trait syndromes clearly enabled the ranking of species along a gradient from conservative-strategy species (from stressful habitats) which display a deep and coarse root system to acquisitive-strategy species (from rich and moist habitats) which display a shallow and thin root system. Correlations between leaf and root traits reveal similar plant strategies above and

below ground, despite the existence of different relations according to the drought-tolerance capacity of the species. For the same above-ground strategy, drought-tolerant grass species displayed more conservative root strategies than drought-sensitive species. Hence, root-trait study seems a promising tool for determining plants' drought sensitivity. However, trait syndromes found within the *Poaceae* family need to be compared with those in other plant families and biomes before they can be generalised.

I.6 Acknowledgements

The French Research National Agency (O2LA project ANR-09-STRA-09) supported this work. We are grateful to E. Lecloux for technical assistance with field experiments and trait measurement. Thanks to Dr C. Roumet for advising and sharing her expertise on root functional-trait studies and to Pr S. Lek for advising on statistical analysis.

II Les traits racinaires et les relations entre traits aériens et racinaires homologues sont ils associées aux exigences écologiques chez les *Fabaceae* prairiales ?

Les *Fabaceae* jouent un rôle clefs dans le fonctionnement des écosystèmes, mais aussi dans les agrosystèmes, car grâce à leur capacité à fixer l'azote atmosphérique, via leur symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium*, elles permettent de s'affranchir de l'apport d'azote tout en maintenant une qualité de production élevée. Cependant leur utilisation, notamment dans les prairies, est encore trop limitée, en partie à cause d'un manque de connaissances sur leurs performances agronomiques. Ainsi, améliorer notre compréhension des liens existants entre les exigences écologiques des *Fabaceae* et leurs stratégies de croissance, tout particulièrement racinaire, devrait amener à mieux choisir les espèces en fonction des conditions pédoclimatiques de la prairie dans laquelle elles seront implantées.

Nous avons donc mesuré 11 traits fonctionnels racinaires (morphologiques, structurels et symbiotiques i.e. taux de mycorhization et production de nodules) parmi 14 espèces de *Fabaceae* prairiales. Les espèces ont été choisies de façon à maximiser la gamme d'exigences écologiques explorées. Nous avons aussi mesuré la surface foliaire spécifique (SLA) pour pouvoir tester si sa relation avec la longueur racinaire spécifique (SRL) changeait en fonction de l'adaptation des espèces aux stress et notamment au stress hydrique comme nous l'avons montré dans le paragraphe précédent pour les *Poaceae*.

Une analyse en composante principale a permis de résumer les informations fournies par les traits fonctionnels racinaires le long de trois axes expliquant 74% de la variabilité totale. Le premier axe (39%) représente un gradient de stratégies de gestion des ressources. Il oppose les espèces ayant des stratégies de capture des ressources (forte SRL, faible diamètre racinaire moyen, faible densité des tissus, fort taux de mycorhization) adaptées aux climats océaniques, aux espèces ayant des stratégies de conservation des ressources (faible SRL, fort diamètre racinaire moyen, forte densité des tissus, faible taux de mycorhization) adaptées à des climats continentaux. Le second axe (21%) oppose les espèces qui mettent en place des systèmes racinaires superficiels avec une proportion de pivot faible et des biomasse faibles adaptées aux climats océaniques humides et capables de supporter des disponibilité en phosphore limitées, aux espèces à enracinement profond ayant une proportion de pivot et des biomasses importantes qui, elles, apparaissent comme adaptées aux milieux continentaux secs mais nécessitent des disponibilités importantes en phosphore pour se développer. Le troisième

axe (14%) est surtout soutenu par les traits symbiotiques, il fait ressortir que les espèces mettant en place beaucoup de nodosités et ayant des taux de mycorhization importants sont plus représentées dans les milieux humides.

Nous avons aussi montré que les relations entre la SRL et la SLA étaient impactées par les exigences écologiques des espèces et notamment l'adaptation à la continentalité et à la disponibilité en phosphore. Pour des valeurs de SLA identiques les espèces adaptées à des milieux continentaux vont avoir des SRL plus faibles que celles adaptées à des milieux océaniques. Pour la disponibilité en phosphore, nous avons observé le phénomène inverse, les espèces adaptées à des milieux contraints pour la disponibilité en phosphore ont des SRL plus fortes que les autres pour des SLA équivalents.

Nos résultats montrent bien qu'étudier les stratégies des développements racinaires des plantes et les relations entre traits aériens et racinaires homologues pourrait amener à de meilleurs choix d'espèces ou de géotypes à implanter dans les prairies semées. On peut par exemple penser que les espèces ayant des systèmes racinaires profonds présentant des stratégies de conservation des ressources pourraient être tout particulièrement adaptées pour des milieux où les stress hydriques sont fréquents et où les sols présentent une disponibilité en phosphore satisfaisante. A l'inverse, des espèces à enracinement superficiel seraient bien plus adaptées aux prairies pour lesquelles le phosphore est limitant mais pas par la disponibilité en eau. Enfin un mélange de ces différents types d'espèces pourrait conduire à des productions plus stables au cours d'années climatiques contrastées. Cependant pour en arriver là il reste encore améliorer nos connaissances sur le maintien de la stabilité des mélanges d'espèces au cours du temps.

Mots clés : indicateurs d'Ellenberg, longueur racinaire spécifique, nodules, profondeur d'enracinement, taux de mycorhization, traits fonctionnels

Titre de l'article : **Are root trait attributes and relations between homologous below- and above-ground traits associated with ecological preferences of grassland *Fabaceae* species?**

Soumis à Annals of Botany

F. Fort, C. Jouany, A. Delbrut, P. Cruz

Abstract

Fabaceae play a key role in ecosystem and agro-ecosystem functioning through their capacity to fix atmospheric nitrogen via their symbiosis with *Rhizobium* bacteria. Enhancing understanding of links between plant ecological requirements and their growth strategies, particularly root strategies, may help decide which species to sow according to habitat characteristics. We measured 11 root functional traits (morphological, structural and symbiotic i.e. mycorrhizal rates and nodule production) among 14 grassland *Fabaceae* species to determine species' root strategies. The species were chosen to maximise the range of ecological requirements explored. We also measured the specific leaf area (SLA) to test whether its relation with the homologous root trait, i.e. specific root length (SRL), changes with species' ecological requirements. Root traits are summarised along principal component axes. The first represents a resource-management axis comparing species with acquisitive root strategies adapted to an oceanic climate to species with conservative root strategies more common in a continental climate. The second axis compares species with shallow root systems adapted to a moist oceanic climate and able to withstand low phosphorus (P) availability to species able to tolerate a dry continental climate but which need high soil-P availability in return. Species with high values for symbiotic traits seem to need a moister and more alkaline environment. The relation between SRL and SLA showed that species from a continental climate maintained a conservative root system regardless of their aerial strategies, while species able to grow in low available soil P display similar above-ground and below-ground strategies. Our results showed that considering plants' root growth strategies and the relation between above-ground and below-ground traits may lead to better choice of species or genotype when grasslands are sown, e.g. conservative deep-rooted species are more adapted for sowing in high P and low water availability environments while acquisitive and shallow-rooted species are more adapted to low P and high water availability conditions. We conclude that a mixture of both types of species should lead to higher production stability throughout contrasting climatic years.

Key word: Ellenberg indicator, mycorrhizal rate, nodule biomass, root depth, root functional trait, specific root length

II.1 Introduction

Fabaceae is the third largest family of angiosperms and the second after *Poaceae* in agricultural and economic importance (Wojciechowski, Lavin, & Sanderson 2004). This family, represented mainly throughout temperate and tropical regions, includes many species harvested as crops or forage. *Fabaceae* play an important role in the terrestrial nitrogen (N) cycle because of their N-fixing root nodules, in which symbiotic bacteria from the genus *Rhizobium* fix atmospheric N and guarantee the N nutrition of their host (Graham & Vance 2003). This characteristic is the base of *Fabaceae*'s significance in agricultural systems since increasing *Fabaceae* may reduce use of N fertiliser while maintaining acceptable production in livestock systems.

The association of root-nodulating symbiotic bacteria is not the only partnership allowing legumes to acquire nutrients. They also develop mycorrhizal associations, particularly with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which increase their access to nutrients with low mobility (particularly P and zinc) and water (Smith, Grace, & Smith 2009). AMF are obligate plant root symbionts which form associations with 80% of terrestrial plants (Schüßler *et al.* 2001). Their association with plants can range from mutualism to parasitism (Jones & Smith 2004). Other beneficial effects are reported besides facilitation of nutrient acquisition: increased pathogen resistance, drought tolerance and protection against insect herbivores (Jung *et al.* 2012). These characteristics have prompted scientists to propose management of mycorrhizal associations as one way to increase sustainability of food-production systems in P and water-limiting environments (Richardson *et al.* 2011; Jung *et al.* 2012). To optimise the benefits of *Fabaceae* and their associated symbioses for forage systems, it is necessary to improve knowledge of links between plant growth strategies and their ability to grow in various environments, including stressful ones.

We chose to use the functional-trait approach to explore these relations. The usefulness of this approach to link plant growth strategies and ecological preferences has been widely reported (Garnier 1992; Grime *et al.* 1997; Díaz *et al.* 2004). Ecological theories (Grime 1977; Chapin III 1980; Westoby *et al.* 2002) and empirical work have examined and determined a fundamental trade-off between plant features related to resource capture or conservation within well-protected tissues (Díaz *et al.* 2004). These trade-offs have been documented by studies focusing mainly on the above-ground compartment, as an example thus establishing a worldwide leaf economic spectrum (Wright *et al.* 2004), while few have addressed the below-ground compartment.

Root systems represent a large part of plant biomass (Mokany, Raison, & Prokushkin 2006; Poorter *et al.* 2012) and are in charge of nutrient and water uptake and storage. They are likely to play a major role in mitigating nutritive stress perceived by plants. As a consequence, root resource-management must be considered in more detail because it may explain species' adaptations to different environments. With this purpose, studies investigating grassland species (Tjoelker *et al.* 2005), forbs (Hernández *et al.* 2010b) and trees (Eissenstat 1992) have observed correlations between morphological and biochemical root traits and plant strategies for resource acquisition. For example, fast-growing species generally have high specific root lengths (SRL), high percentage of fine roots and high root N concentrations, suggesting that they have a substantial capacity for nutrient uptake and assimilation (Tjoelker *et al.* 2005), fast root turnover (Eissenstat 1992) and low water-transport capacity per unit root length (Hernández *et al.* 2010b). In contrast, high root-tissue density and large root diameter are characteristic of plants exhibiting long root lifespans and low growth rates (Ryser 1998; Eissenstat *et al.* 2000; Craine *et al.* 2001). Root-system-level traits such as root length density (RLD, root length per unit of soil volume) and the depth of 95% of root length provide valuable data about plant strategies for resource acquisition and use. RLD of *Poaceae* is the main trait influencing N acquisition efficiency in N-limited conditions (Craine 2006; Fargione & Tilman 2006) and explains their competitive ability (Mommer *et al.* 2011), whereas deep roots, i.e. high depth of 95% of root length, may help species grow in dry conditions by allowing deep water exploitation. The interaction between below- and above-ground functional traits may also provide information on species' ecological requirements. Fort *et al.* (2012) highlighted that the relation between homologous below- and above-ground functional traits, such as SRL and specific leaf area (SLA), measured on grassland *Poaceae* may explain and predict species' ecological preferences.

Until now, studies based on root functional traits focused largely on species from the *Poaceae* family (Craine & Lee 2003; Picon-Cochard *et al.* 2011; Fort *et al.* 2012). Chmelíková & Hejčman (2012) highlighted that grassland *Fabaceae* have a wide range of root morphological types. Moreover, despite their importance for plant nutrition, symbioses with AMF or N-fixing bacteria have also generally not been addressed in functional approaches. We hypothesise that grassland *Fabaceae* adapted to habitats with high water and nutrient availability may display resource-capture strategies associated with high symbiotic investment (high nodule biomass, high hyphal root colonisation), which allow them to acquire resources rapidly and be efficient competitors. Conversely, species adapted to stressful habitats may display conservation strategies associated with low symbiotic investment to save

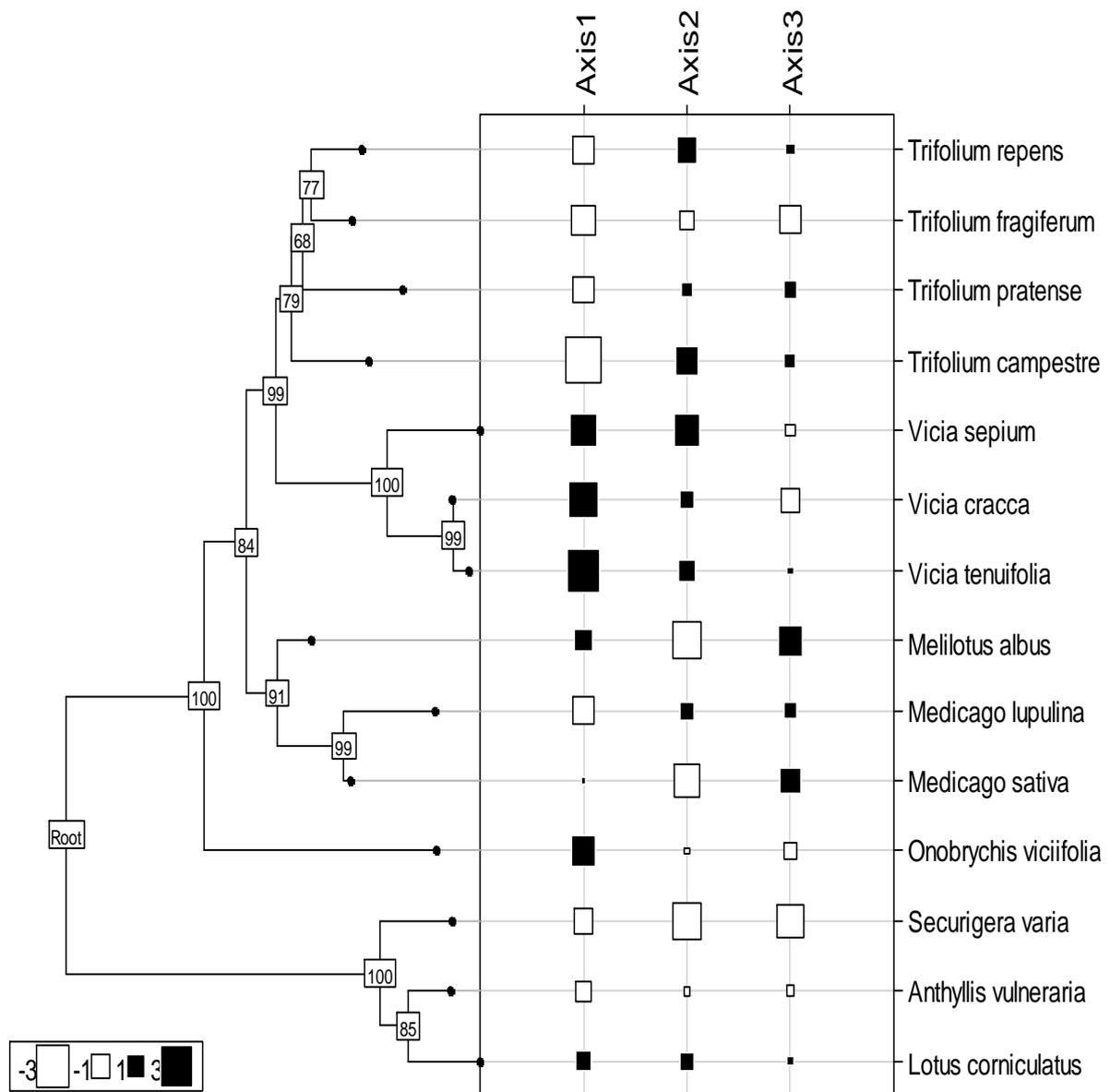


Figure 28 : Phylogeny of grassland *Fabaceae* species based on published sequences of the *matK* gene. Values of three principal component analysis axes based on functional trait measurements are represented at the tips of the phylogeny (centre, standardised format). Axis 1 is the only one with a significant phylogenetic signal. Values on axis nodes represent bootstrap results.

energy and resources (Roumet *et al.* 2006). Analogous to *Poaceae*, we also hypothesise that species' adaptation to water stressful habitats changes the relation between below- and above-ground traits (Fort *et al.* 2012).

To test these hypotheses, we defined three objectives of this study. The first was to describe root functional trait syndromes of grassland *Fabaceae* species using traits that include symbiotic associations (nodule biomass per root biomass and mycorrhization rates) and morphological and structural functional traits. The second was to test whether links exist between species' root functional trait syndromes and their ecological preferences and/or phylogeny. For this purpose we used species' ecological indicators (Ellenberg *et al.* 1991; Pervanchon 2004) to define species' ecological preferences and a phylogeny tree based on the *matK* gene (Wojciechowski *et al.* 2004). The third objective was to investigate whether relations between below- and above-ground functional traits change the function of species' ecological preferences.

II.2 Materials and methods

II.2.a Species studied

We selected 14 *Fabaceae* species (Table 6) according to their preferences for habitats with contrasting nutrient availabilities and climates (Ellenberg *et al.* 1991; Pervanchon 2004), leading us to choose species with contrasting life histories (Table 6). All species chosen are common on temperate grasslands and represent the most frequent genera of *Fabaceae* (Figure 28) in forage production systems. Seeds of all species were collected in species' wild populations in south-western France in locations representative of their habitat preferences.

II.2.b Growth conditions

Seeds were sown in pots 10 cm diameter x 1 m deep with drainage holes, containing 10 kg (dry weight basis) of soil each. The substrate used was a 1:1 volume mixture of sand and calcareous clay soil with basic pH (8.5) and a high level of carbonates (52.2 g.kg⁻¹). The total N concentration measured in the substrate was low (0.46 g N kg soil⁻¹). At the beginning of the experiment, all pots were modified with commercial triple-super phosphate (45% P₂O₅) to provide high phosphorus (P) availability to the plants (2 g of P per pot). To control watering, soil humidity was monitored using 15 sensors (EC-5 DECAGON) placed at a depth of 20 cm within randomly chosen pots. To ensure adequate plant implantation, the water content of all pots was maintained close to field capacity by applying at least 15 ml of water

Table 6 : Species studied (Euro+Med Plant Base <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/>), their life histories and their Ellenberg indicators for soil water availability (HE), climate continentality (K), soil pH (Ellenberg *et al.* 1991) and soil available phosphorus (P index) (Pervanchon 2004). HE, K and pH indices are expressed on a scale from 1 (low requirements for water, continentality, soil pH) to 9 (high requirements). The P index is expressed on a scale from 0 (no particular P requirement) to 10 (high P requirement).

Species	Life historie	HE	K	pH	P
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	Perennial	3	3	7	2.9
<i>Lotus corniculatus</i> L.	Perennial	7	3	7	0
<i>Medicago lupulina</i> L.	Annual ^a	4	NA	8	3.8
<i>Medicago sativa</i> L.	Perennial	3	7	9	10
<i>Melilotus albus</i> Medik.	Biennial	3	6	7	NA
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	Perennial	3	6	8	4
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	Perennial	4	5	9	NA
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	Annual ^a	4	3	6	4.6
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	Perennial	7	5	8	8.2
<i>Trifolium pratense</i> L.	Perennial	5	3	6	0
<i>Trifolium repens</i> L.	Perennial	5	NA	6	0
<i>Vicia cracca</i> L.	Perennial	6	NA	NA	3.8
<i>Vicia sepium</i> L.	Perennial	5	5	6	0
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	Perennial	3	6	8	8.3

^a Annual species are also often described as biennial. NA indicates species for that did not have indicator values.

twice a day during the first five weeks of the experiment. After the implantation period, pots were watered twice a day by micro-diffusers placed on soil surfaces to ensure that soil moisture remained close to field capacity. The amount of water supplied was gradually increased to correspond to plant growth needs; it reached 170 ml per day per pot by the end of the experiment. Pots were arranged in a greenhouse to form 6 blocks, with one individual of each species randomly placed within each block. Consequently, we grew 84 individuals over 130 days from 12 October 2011 to 20 February 2012. During the growing time, all pots were maintained at 20°C during the day and 17°C during the night, with a day:night ratio of 16/8 hours.

Plant cultivation

Initially, three to five seeds (as a function of their size) were sown in the middle of the pots, keeping only one individual per pot once seedlings were well established. Plants were harvested 130 days after sowing, during their first growth cycle. At harvest, the shoots of all plants were clipped at the root base. To extract roots, pots were opened lengthwise and roots were carefully washed of soil particles under water. Afterward, roots were frozen (-18°C) to conserve them until trait measurements were performed.

II.2.c Leaf trait measurements

During harvest, the above-ground vegetative portion of each individual was collected (Cornelissen *et al.* 2003) and stored for 6 h at 4°C in plastic boxes containing water to saturate plants. From one to 6 young mature leaves of each individual were collected, respectively, for species with large and small leaves. Each leaf was cut from the stem and gently dried with paper tissue before measurement. Leaves of each individual were scanned with a scanner (Scanjet 3770, Hewlett-Packard) and their surface area measured with surface area measurement software (A.P.I. electronic Toulouse); leaves were then dried for 48h at 60°C and weighed. SLA was calculated as the ratio between leaf area and leaf dry mass (Cornelissen *et al.* 2003).

II.2.d Root measurement

Individual root systems were defrosted in cold water, spread on a lab bench, and cut into five segments starting at the top of the root system; each segment represented roots from a 20-cm soil layer. Afterward, within each segment coarse roots (with secondary growth) were separated from thin roots (diameter < 2 mm) that were considered appropriate for measuring functional traits (Cornelissen *et al.* 2003). The coarse root fraction and half of the thin root fraction of each segment (fresh weight based) were dried at least 48h at 60°C and weighed to estimate the distribution of coarse and total root biomass with depth.

The other halves of thin root fractions of segments for each plant were pooled in water, homogenised by agitation and half (i.e., 25% of each plant's total thin root biomass) was sampled, re-frozen and kept for mycorrhizal rate measurement. All nodules of the remaining half of thin root fraction were removed, dried at least 48h at 60°C and weighed. The thin roots free of nodules were stained for at least 12h with methylene blue (1%) to improve contrast before scanning. For scanning, roots were spread in no more than 1 cm of water in a 21x29.7 cm clear acrylic tray (Craine *et al.* 2002a) and then scanned at 400 dots per inch (Bouma *et al.* 2000) with a scanner (Perfection 4990 Photo, Epson). For each scan, RLD on the tray did not exceed the threshold of 0.5 mm.mm⁻² surface. Winrhizo™ Pro 2007 software (Regent Instrument Inc., Sainte-Foy, Quebec, Canada) was used to analyse scanned images; it quantifies the total root length of each root segment with a constant diameter. This method provides the total length, surface area and volume of each root sample, as well as the total length in 15 root-diameter classes (0.1 mm each, the highest class for diameters > 1.5 mm). After scanning, each root sample was drained, dried at least 48h at 60°C and weighed.

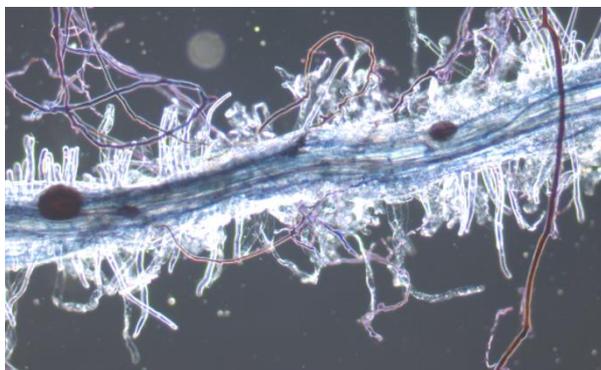
II.2.e Trait calculation

Mean root diameter, root tissues density (RTD) and SRL were measured on the nodule-free thin root sample. Mean root diameter was calculated as the mean of the median diameter of each root-diameter class weighted by the root length in each class. Fine root percentage was calculated as the percentage of root length with a diameter < 0.2 mm (Roumet *et al.* 2006). SRL was calculated by dividing the sample root length by the sample dry mass. RTD was the ratio of the sample root dry mass to its volume (Cornelissen *et al.* 2003). The investment in nodules was calculated as the ratio of the nodule dry mass of a scanned root sample to its root mass.

The percentage of coarse root was calculated as the coarse root weight divided by the total root system weight. RLD (cm cm^{-3}) was calculated as the ratio of the total thin root length (thin root dry mass divided by SRL) within the pot to the total volume of the pots. The specific root system length (SRSL) was calculated as the ratio of the total thin root system length ($\text{SRL} \times \text{thin root length}$) to the total biomass of root systems. To analyse root distribution along the profile, we chose to use the depth of 95% of the thin root length, calculated using a linear regression of cumulative thin root length with depth.

II.2.f Mycorrhization rates measurement

To stain the AMF within roots we used methods proposed by Vierheilig *et al.* (1998). Roots were cleared in 10% (wt/vol) KOH at 90°C for 10 minutes for thin roots and 20 minutes for thick roots, rinsed several times with deionised water, then stained for 10 minutes with 5% black ink-acetic acid solution (Figure 28Figure 29). Afterward, they were de-stained by rinsing in tap water (acidified) for at least 12h. Mycorrhization rates were quantified using the grid-lines intersect method (Giovannetti & Mosse 1980). Stained roots were spread in a



Petri dish marked with a grid on the bottom. At each root-gridline intersect, the presence or absence of AMF was noted and the mycorrhization rate was calculated as the ratio of the number of intersects with AFM to the total number of intersects counted.

Figure 29 : Vésicule et hyphe de champignons mycoriziens à arbuscule dans une racine d'*Anthyllis vulneraria*

II.2.g Statistical analyses

All statistical analyses were performed with R 2.15.1 software ($\alpha = 0.05$). A principal component analysis (PCA) was performed to determine relations among the ten functional root traits measured or calculated for the 14 species (six replicates per species, $n = 84$) and to determine the species' trait syndromes. For this analysis we decided to centre and normalise all variables using their standard deviations because all had different units. RLD and SRSL were not included in the PCA because they were calculated with other variables used in these PCA. The significance of their correlations with PCA axes were tested using Pearson' correlations test.

To determine the influence of phylogeny on species trait syndromes, variance analysis of species coordinates on the PCA axes was performed using eigenvectors associated with the phylogenetic tree (Diniz-Filho, De Sant'Ana, & Bini 1998) of the 14 species built from their plastid matK gene (Wojciechowski *et al.* 2004). To assess the correlation between root functional trait syndromes and ecological preferences of species, i.e. Ellenberg' indicators, Pearson correlation coefficients were calculated between plant PCA coordinates and their Ellenberg's indicators. We performed ANCOVA of SRL and SRSL with SLA, using ecological indicators as co-variables, to estimate the effect of ecological preferences on the relation between below- and above-ground traits related to resource acquisition strategies. To have more than one species represented within each group we chose to transform ecological indicators into binomial variables. For the climate continentality (K) and soil water availability (HE), Ellenberg indicator species were separated into two groups: those with an indicator value greater or lower than 4.5 (median value of the range of Ellenberg indicators), respectively. For the P indicator, we did the same but used a threshold value of 5 (median value of the range of this indicator). The pH indicator ranged from 6-9 due to *Fabaceae's* strong preference for soil alkalinity. Therefore, we separated species into two groups at a pH of 7.5. For all ANCOVAs, residual normality and homoscedasticity were tested using, respectively, Kolmogorov-Smirnov and Levenne tests.

II.3 Results

II.3.a Root traits, Ellenberg indicators and lineage

Root functional traits displayed strong variability among species (Table 7). Their variation traits were summarised by three independent sets of correlations represented by the

Table 7 : Root and leaf functional trait attributes of 14 grassland *Fabaceae* species (mean \pm SE; n= 6).

Species	Coarse root percentage (%)	Dept of 95% of the root length (cm)	Fine root percentage (0-0.2 mm diameter)	Mycorrhizal rates (root length %)	Nodule biomass proportion (g.g ⁻¹)	Root length density (cm.cm ⁻³)
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	28.0 \pm 5.8	88.6 \pm 5.0a	56 \pm 8.8	7.3 \pm 1.7	0.22 \pm 0.11	4.8 \pm 1.2
<i>Lotus corniculatus</i> L.	29.4 \pm 7.9	85.5 \pm 4.4	39 \pm 9.1	8.5 \pm 5.0	0.06 \pm 0.05	4.5 \pm 1.0
<i>Medicago lupulina</i> L.	22.9 \pm 4.1	86.7 \pm 5.6	75 \pm 3.5	0.9 \pm 0.5	0.17 \pm 0.12	4.3 \pm 2.5
<i>Medicago sativa</i> L.	87.6 \pm 3.9	95.1 \pm 5.2	44 \pm 7.9	5.2 \pm 2.2	0.08 \pm 0.03	3.7 \pm 1.7
<i>Melilotus albus</i> Medik.	91.8 \pm 2.3	88.3 \pm 6.9	37 \pm 2.4	0.8 \pm 1.4	0.16 \pm 0.13	2.9 \pm 1.6
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	24.6 \pm 9.5	87.4 \pm 4.6	17 \pm 1.5	5.5 \pm 4.3	0.22 \pm 0.09	3.1 \pm 1.0
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	77.3 \pm 3.8	99.7 \pm 0.7	63 \pm 7.1	23.4 \pm 8.7	0.34 \pm 0.17	2.7 \pm 1.1
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	17.7 \pm 3.0	83.4 \pm 9.0	91 \pm 2.6	17.9 \pm 6.9	0.02 \pm 0.01	9.9 \pm 4.3
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	74.1 \pm 9.8	89.5 \pm 6.4	70 \pm 4.8	26.0 \pm 7.5	0.12 \pm 0.04	1.2 \pm 0.4
<i>Trifolium pratense</i> L.	40.2 \pm 11.2	87.0 \pm 3.9	68 \pm 2.7	8.7 \pm 2.7	0.03 \pm 0.02	4.8 \pm 1.9
<i>Trifolium repens</i> L.	20.4 \pm 2.5	91.8 \pm 5.6	73 \pm 3.6	11.2 \pm 9.0	0.05 \pm 0.02	5.4 \pm 1.5
<i>Vicia cracca</i> L.	12.5 \pm 4.3	88.9 \pm 4.9	15 \pm 0.05	14.4 \pm 12.4	0.12 \pm 0.07	2.8 \pm 1.6
<i>Vicia sepium</i> L.	15.9 \pm 10.7	73.9 \pm 11	13 \pm 2.4	5.0 \pm 2.1	0.15 \pm 0.06	0.7 \pm 0.5
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	7.4 \pm 1.8	86.9 \pm 3.2	19 \pm 0.05	5.8 \pm 4	0.07 \pm 0.03	5.1 \pm 1.1

Species	Root system mass (g)	Root mean diameter (mm)	Root tissue density (g.cm ⁻³)	Specific root length (m.g ⁻¹)	Specific root system length (m.g ⁻¹)	Specific leaf area (m ² .kg ⁻¹)	Above-ground biomass (g)
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	2.2 \pm 0.63	0.25 \pm 0.02	0.05 \pm 0.00	248 \pm 42	176.8 \pm 8.3	21.0 \pm 1.0	17.3 \pm 1.6
<i>Lotus corniculatus</i> L.	4.7 \pm 1.26	0.27 \pm 0.04	0.11 \pm 0.01	110 \pm 18	78.0 \pm 7.0	23.6 \pm 1.1	11.9 \pm 1.0
<i>Medicago lupulina</i> L.	1.4 \pm 0.85	0.18 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	307 \pm 24	233.2 \pm 8.6	25.6 \pm 1.5	19.1 \pm 2.0
<i>Medicago sativa</i> L.	10.8 \pm 1.34	0.25 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01	210 \pm 20	26.2 \pm 3.7	29.9 \pm 1.4	11.1 \pm 0.7
<i>Melilotus albus</i> Medik.	14.8 \pm 3.18	0.28 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	171 \pm 29	14.7 \pm 2.3	21.3 \pm 0.9	9.0 \pm 1.6
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	3.9 \pm 1.18	0.35 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	80 \pm 7	60.5 \pm 3.6	19.6 \pm 0.9	15.3 \pm 0.3
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	4.4 \pm 1.46	0.21 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	211 \pm 53	46.6 \pm 2.6	30.6 \pm 2.1	4.0 \pm 0.7
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	1.4 \pm 0.40	0.13 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	596 \pm 23	486.4 \pm 25	32.2 \pm 2.0	10.4 \pm 0.9
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	1.7 \pm 0.36	0.20 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	228 \pm 58	58.3 \pm 8.8	23.4 \pm 1.2	12.1 \pm 0.9
<i>Trifolium pratense</i> L.	2.5 \pm 0.91	0.21 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	252 \pm 43	148.6 \pm 11.2	19.9 \pm 0.8	13.9 \pm 0.9
<i>Trifolium repens</i> L.	2.2 \pm 0.54	0.19 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	248 \pm 33	195.9 \pm 10.4	22.9 \pm 0.9	17.0 \pm 1.0
<i>Vicia cracca</i> L.	5.5 \pm 3.35	0.37 \pm 0.01	0.15 \pm 0.04	51 \pm 16	43.7 \pm 5.2	19.2 \pm 1.4	14.6 \pm 2.6
<i>Vicia sepium</i> L.	1.1 \pm 0.78	0.32 \pm 0.02	0.05 \pm 0.02	61 \pm 15	54.2 \pm 7.7	26.6 \pm 2.6	3.3 \pm 0.1
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	11.5 \pm 0.74	0.34 \pm 0.04	0.21 \pm 0.02	38 \pm 7	35.1 \pm 2.8	26.8 \pm 0.5	16.3 \pm 1.4

first three PCA axes, which had eigenvalues greater than 1. These axes explained 74% of the variability (Axis 1: 39%, Axis 2: 21.1%, Axis 3: 14%).

Fine root percentage, mycorrhizal rates, root system biomass, root mean diameter, RTD, and SRL contributed significantly to Axis 1 (Table 8), and plant coordinates along this axis significantly correlated with two other root traits: RLD and SRSL. Consequently, Axis 1 represented a gradient, from species with high percentage of fine roots, SRL, RLD, SRSL and mycorrhizal rates to species with low values for these traits but high values for diameters, RTD and root biomass (Figure 30a). Plant coordinates on Axis 1 positively correlated with K ecological indicators (Table 8).

Consequently, we affirm that species with high SRL, low RTD and low root biomass prefer an oceanic climate and alkaline soil, while conversely, species with low SRL, high RTD and high root biomass preferred a more continental climate and neutral soil. Axis 1 separated the four *Trifolium* species, *Anthyllis vulneraria*, *Medicago lupulina* and *Securigera varia*, which had negative coordinates on one side and *Lotus corniculatus*, *Onobrychis viciifolia*, *Melilotus albus* and the three *Vicia* species with positive coordinates on the other side. *Medicago sativa* had an intermediate value on this axis (Figure 30b). Axis 1 was the only one significantly correlated with species phylogeny (Table 9). This result was principally due to a strong separation of *Trifolium* and *Vicia* species groups on Axis 1 (Figure 28). Coarse root percentage, root depth, nodule biomass, root system biomass and RTD contributed significantly to Axis 2 (Table 6Table 8). RLD and SRSL also significantly correlated with this axis, negatively and positively, respectively (Table 8, Figure 30c). Species with negative coordinates on this axis, i.e. with deep and coarse root systems, low SRSL and high investment in nodules, were *M. albus*, *M. sativa* and *S. varia*, while at the opposite, *T. campestre*, *T. repens* and *Vicia sepium* had shallow and thin root systems with low investment in nodules, dense tissues and high SRSL (Figure 30d).

Axis 2 was not correlated with species phylogeny (Table 9 and Figure 28) but significantly correlated with ecological indicators, positively with HE and negatively with P, K, and pH (Table 8). As a result, species with high values on this axis, i.e. with deep root systems, high coarse root percentage and high root system biomass, were exigent for phosphorus but not for water. These species were mainly represented in alkaline soil habitats and continental climate (Table 8).

The Axis 3 was the first one strongly correlated to with symbiotic traits, ranking species from those with high mycorrhizal rates, high nodule biomass, high RLD and low root biomass, i.e. *Trifolium fragiferum*, *S. varia* and *Vicia cracca*, to species with high root

Table 8 : Principal component analysis (PCA) eigenvector scores for a PCA based on root functional trait values measured for 14 grassland *Fabaceae* species. Values in parentheses indicate variance explained by each axis. Root length density, specific root system length and ecological indicators were not used within the PCA, but the significance of their correlations with the axes was tested with the Pearson correlation test. Bold values indicate significant correlations (n=84).

Root functional traits	Axis 1 (39%)	Axis 2 (21%)	Axis 3 (14%)
Coarse root percentage (%)	-0.20	-0.87	0.12
Dept of 95% of the root length (cm)	-0.03	-0.72	-0.22
Fine root percentage (0-0.2 mm diameter)	-0.96	0.05	0.04
Mycorrhizal rates (root length %)	-0.34	-0.03	-0.75
Nodule biomass proportion (g.g ⁻¹)	0.02	-0.45	-0.53
Root system biomass (g)	0.54	-0.50	0.46
Root mean diameter (mm)	0.95	-0.04	-0.08
Root tissue density (g.cm ⁻³)	0.67	0.40	-0.28
Specific root length (m.g ⁻¹)	-0.88	0.12	0.20
Root length density (cm.cm ⁻³) ^a	-0.37	-0.31	-0.37
Specific root system length (m.g ⁻¹) ^a	-0.72	0.46	0.15
Ellenberg' indicators			
K	0.54	-0.50	0.06
HE	-0.11	0.29	-0.33
P	0.10	-0.56	0.01
pH	0.20	-0.63	-0.20

^a Traits not used to build the PCA

biomass and low values of traits related to symbiotic status, e.g. *M. albus* and *M. sativa* (Table 8, Figure 30ef). Ecological indicators HE and pH were significantly correlated with this axis (Table 8), highlighting that species with high investment in symbiosis and low root biomass require higher water availability and prefer alkaline pH.

II.3.b Effects of ecological preferences on root-leaf trait relations

Two pairs of root and leaf traits (SRL-SLA and SRSL-SLA) were significantly correlated, and these correlations were influenced by species' requirements for climate continentality and soil P availability but not for HE or pH (Table 10, Figure 31). The K indicator had a significant influence on the correlations within SRL-SLA and SRSL-SLA. Correlations between below- and above-ground traits were significant only for species from .

Table 9 : Results of variance analysis testing the link between species coordinates among the three first axis of a principal component analysis based on root functional traits and their phylogenetic relatedness (n=14).

Axis	Df	Sum of Square	Mean Square	F value	p
Axis 1	6	11.09	1.85	6.81	0.01
Axis 2	6	7.37	1.23	1.53	0.29
Axis 3	6	9.48	1.58	3.14	0.08

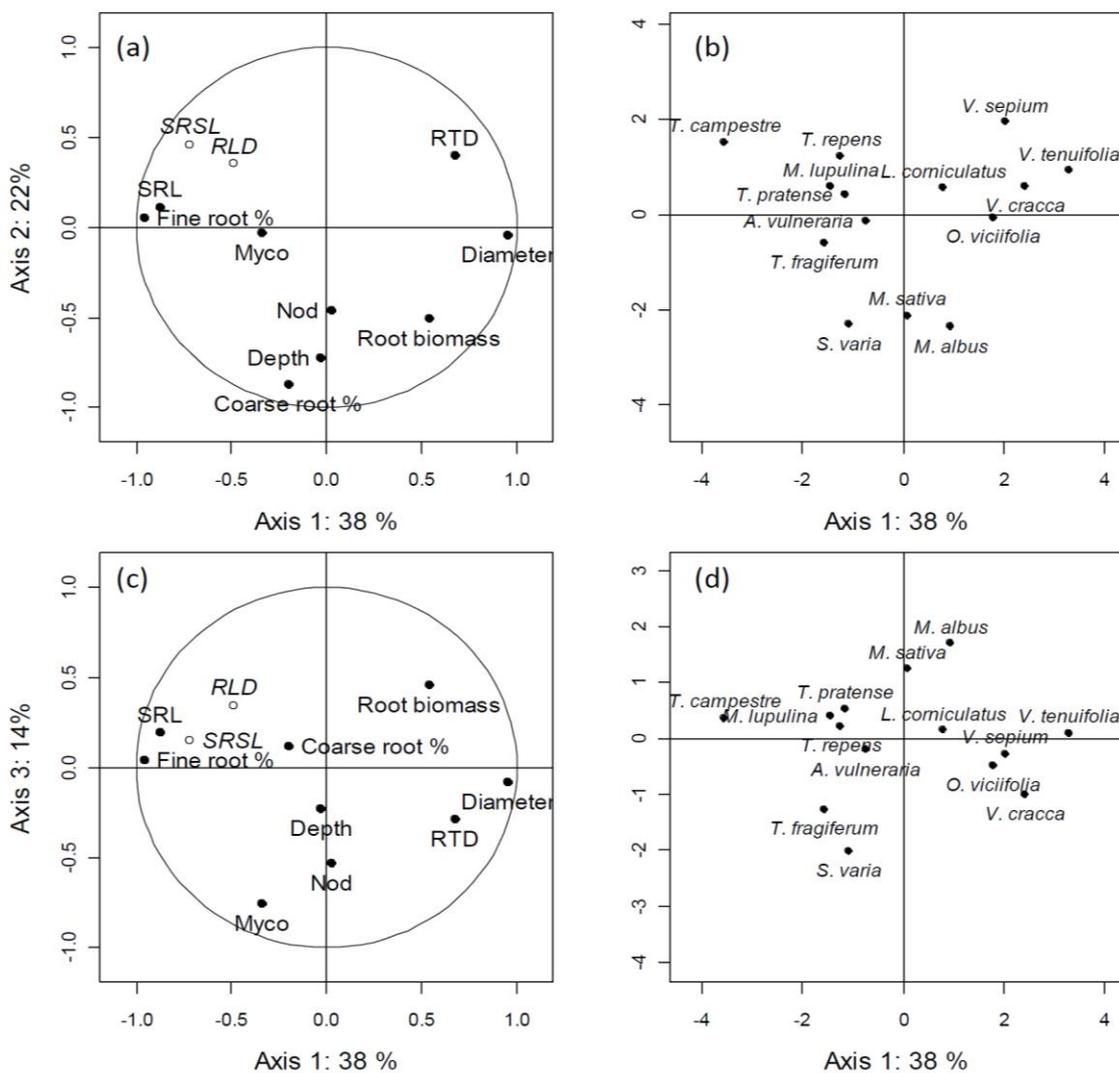


Figure 30 : Principal component analysis (PCA) for nine functional traits measured in 14 grassland *Fabaceae* species (a,c) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct PCA axes; Diameter: root mean diameter; Depth: depth of 95% of the root length; Nod: biomass of nodosity per biomass of root; Myco: mycorrhizal rates; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: root traits not used to construct PCA axes; RLD: root length density; SRSL: specific root system length (b,c) species coordinates on the PCA axes.

Table 10 : Results from ANCOVA performed on two functional traits, (a) specific root length and (b) specific root system length, with specific leaf area and ecological indicators used as covariates. HE: soil water availability; K: climate continentality and pH (Ellenberg *et al.* 1991); P: index for soil available phosphorus (Pervanchon 2004). Bold values indicate statistical significance, (the number of individuals used for each ANCOVA varied as a function of the number of indicator values: HE, n=84; K, n=66; pH, n=78; P, n=72).

	HE	K	pH	P
(a) Specific root length				
Specific leaf area	<0.001	<0.001	<0.01	<0.001
Indicator	0.39	<0.001	<0.01	<0.01
Specific leaf area x Indicator	0.05	<0.001	0.92	0.02
(b) Specific root system length				
Specific leaf area	0.03	<0.001	0.06	<0.001
Indicator	0.71	<0.001	0.01	<0.001
Specific leaf area x Indicator	0.14	<0.001	0.13	<0.01

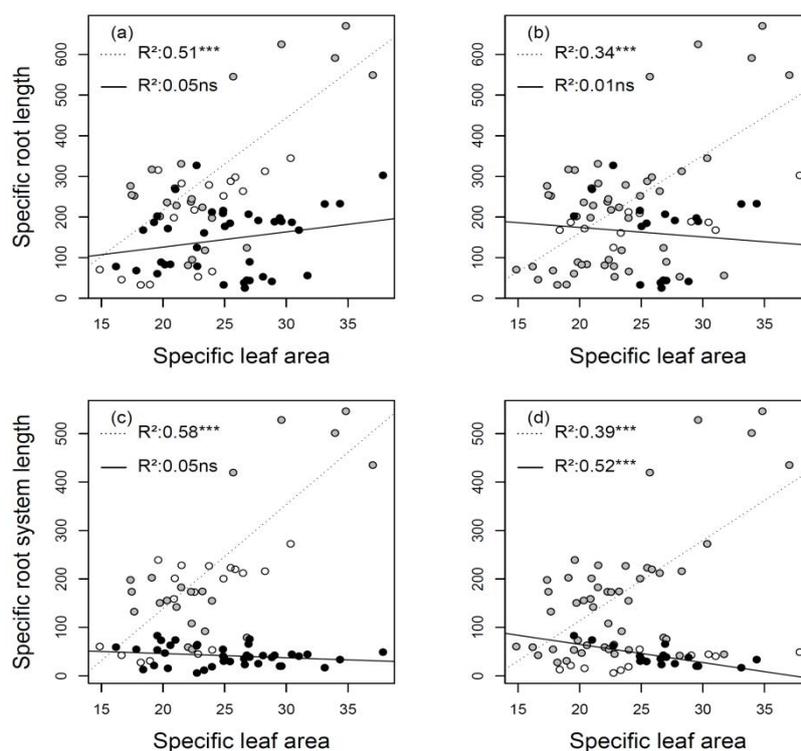


Figure 31 : Specific root length (a,b) and specific root system length (c,d) expressed as function of plant SLA, with K (a,c) or P indicators (b,d) used as a covariate. Black circle and black line: species with higher-than-median ecological indicator values; grey circle and dotted line: plants belonging to species with lower-than-median ecological indicator values; white circle: plants belonging to species with no ecological indicator values. Significance of the regressions was assessed by the Pearson's correlation test.

an oceanic climate (Figure 31ac);, for the same SLA, these species had a higher SRL or SRSL than species from a continental climate. Furthermore, the higher the SLA, the greater the difference in SRL and SRSL between species from continental and oceanic climates (Figure 31ac). The P indicator also influenced the SRL-SLA and SRSL-SLA relations (Table 10, Figure 31bd). showed correlations between their above- and below-ground traits, which was not the case for species with high P requirements. As observed for the K indicator, the difference between the two groups increased with increasing SLA. In comparison to SRL, SRSL, which considers all root system biomass (not only fine root biomass), more efficiently separated species' functions from their requirements for climate continentality and soil P availability.

II.4 Discussion

The main root trait correlation (Axis 1) followed the classical trade-off between SRL and mean root diameter (Craine *et al.* 2002a; Tjoelker *et al.* 2005; Roumet *et al.* 2006; Picon-Cochard *et al.* 2011; Fort *et al.* 2012). This axis opposed acquisitive species from the genera *Trifolium* with root trait syndromes linked to highly efficient resource-acquisition strategies (high fine root percentage, RLD, SRL and mycorrhizal rates) to conservative species from the genera *Vicia* with root trait syndromes linked to lower resource-acquisition efficiency but high resource-conservation capacity (high mean diameter, high root system biomass, low SRL) and low mycorrhizal rates. This relation between mycorrhizal rates and the resource acquisition vs. conservation trade-off was expected on the basis of previous results (Roumet *et al.* 2006) and reinforced the idea that acquisitive species have high mycorrhizal rates. The strong correlations between Axis 1 and the K indicator showed that species' root strategies are linked to their ecological preferences. This correlation highlights that species with acquisitive growth strategies are well-represented in habitats with low stress, characterised by an oceanic climate (steady temperature and precipitation; Ejrnaes & Bruun (2000)). In contrast, conservative species are mainly found in stressful continental climates (characterised by hot and dry summers and cold winters; Ejrnaes & Bruun (2000)). As a result, for grassland *Fabaceae* this study establishes a link between the resource acquisition vs. conservation trade-off at the root system level and species' abilities to compete in non-stressful meadows or to be stress-tolerant. Species with conservative strategies appear stress-tolerant while those with acquisitive strategies are competitive, following the definition of Grime (1977). We also showed that this resource acquisition vs. conservation trade-off was linked to phylogeny. It is interesting to note, however, that *Trifolium* and *Vicia* species differ the most in their

coordinates on PCA Axis 1, while highly related genera (Figure 28), highlighting low inheritance of trait values from the deep node of the phylogeny but strong conservatism between highly related taxa (within genera).

Axis 2 highlights the importance of the influence of root system traits on species' ecological preferences. This axis is the one most linked to ecological indicators and the least linked to species phylogeny. It was supported by traits related to the structure of root systems, such as root depth, percentage of coarse roots, root system biomass and investment in nodules, as opposed to RTD and RLD. Species with deep and coarse root systems appeared able to grow during drought in a continental climate. These characteristics make them particularly interesting when considering agro-ecosystem adaptation to drought periods, which are predicted to increase in number and length (IPCC 2007). This ability to withstand drought and stressful conditions could be linked to high tissue density, which indicates tissue reinforcement (Hacke *et al.* 2001) and deep rooting, which allows water acquisition in deep soil horizons (Ho *et al.* 2005). However, this root trait syndrome was also linked to a high requirement for soil P availability. This trade-off between water acquisition efficiency linked to a deep root system and efficiency in acquiring P was previously observed in maize lineages (Ho *et al.* 2005). This can be explained by drought-tolerant species developing more root biomass in deep soil layers, which generally have low available P (Hinsinger 2001), than in surface horizons, where available P tends to be higher (Richardson *et al.* 2011). Moreover, species requiring more P also develop more nodule biomass per unit of root biomass, which may be responsible for much of their P requirements, because nodule functioning, and as a result N fixation, needs large amounts of P (Cassman, Whitney, & Fox 1981; Zahran 1999; Vitousek, Cassman, & Cleveland 2002). The correlation between Axis 2 and pH agrees with previous results of pH tolerance of grassland legumes. For example, Zahran (1999) reported that *M. sativa* was much more sensitive to soil acidity than a *Lotus* species (*L. tenuis* Waldst. & Kit); similarly, we observed that Axis 2 separated *M. sativa* and *L. corniculatus*. This correlation showed that deep-rooted species preferentially grow in alkaline soils. P mobility is low in dry and alkaline soils (Hinsinger 2001), limiting its availability, which may explain why these species need habitats with high P fertility. These results generalise the trade-off between water and P acquisition to grassland *Fabaceae* which until now has been observed only in maize species (Ho *et al.* 2005).

Mycorrhizal rates and nodule biomass proportion varied along Axis 3 in the same way as HE, highlighting that species with high values for these functional traits under non-limiting water and P supplies were also those adapted to habitats with high water supply. This can be

explained by the behaviour of AMF in dry conditions that increases the efficiency of water extraction: by delaying the closure of stomata, the host plant can extract water at a matrix potential below wilting point (Jung *et al.* 2012). During long dry periods, however, this strategy can be harmful because highly mycorrhized plants may deplete soil water, decreasing their survival without rain or irrigation. This is consistent with the fact that high investment in AMF symbiosis is a disadvantage in dry environments (Zangaro *et al.* 2008). Therefore, we hypothesise that investment in AMF symbiosis to acquire resources is not a relevant strategy in highly stressful conditions, as reported by Lambers *et al.* (2008) for P stress.

Contrary to expectations, mycorrhizal rate was not correlated with the P indicator. We hypothesised that the high P availability in the experiment did not force species to rely on AMF for their P nutrition. Results would be different if species were grown in conditions of low P availability. Along Axes 2 and 3, we highlight that nodule biomass proportion increased with pH due to the sensitivity of most *Rhizobium* spp. to soil acidity, thus decreasing efficiency of N fixation (Zahran 1999). As a result, species adapted to more acid conditions may depend less on nodules for N nutrition. However, the most likely explanation for this difference was that all species grew in an alkaline soil, in which *Rhizobium* strains probably formed nodules easily with species from alkaline soil than species from acid soil. These results, besides providing insight on plant strategies, demonstrate that we need to understand better how to use traits related to symbiosis within the functional approach.

Despite a general trend showing positive correlations between SLA and morphological traits such as SRL or root system level traits and SRSL, these relations were influenced by K and P indicators. Species from an oceanic climate displayed the same above- and below-ground strategies, i.e. when they displayed an acquisitive above-ground strategy such as high SLA, they also displayed an acquisitive root strategy such as high SRL or SRSL. Species from a continental climate displayed strongly conservative root strategies regardless of their above-ground strategies. This shift in above-ground compared to below-ground strategies could be explained by the adaptation of these species to withstand stress in a continental climate, which has a shorter growing period than an oceanic climate. Species with conservative root systems allocate more biomass to roots and invest more in vessel sclerification and root protection (Eissenstat *et al.* 2000; Hacke *et al.* 2001), and having high root diameter (low SRL) increases water transport efficiency (Hernández *et al.* 2010b). This strategy seems to aim to ensure water acquisition and transport in dry conditions so that plants survive and grow during drought and remain well-adapted to a continental climate.

Considering P requirements, species adapted to grow under conditions of high P stress displayed, for the same SLA, a more acquisitive root system. Acquisitive root strategies appeared more efficient than conservative ones for exporting high quantities of P from soil poor in P (Richardson *et al.* 2011). This may explain why, for a similar above-ground resource use strategy, an acquisitive root strategy allowed plants to grow better in conditions of low P availability. These results highlight the importance of identifying species' above- and below-ground in order to define their strategies.

In conclusion, differences in root trait syndromes of grassland *Fabaceae* species that influenced their adaptation to different habitats were sometimes linked to their phylogeny. Conservative species such as *M. sativa* and *M. albus*, investing a substantial amount of biomass in coarse and deep root systems, are adapted to habitats with high water stress but need soil with high P availability. In contrast, acquisitive species such as *T. campestre* and *T. repens*, with high RLD but low root biomass and low depth of 95% of root length, are adapted to be competitive in moist habitats and are less sensitive to low P availability. Regarding the planting of *Fabaceae* in grasslands to reduce N fertiliser use, it would be useful to select species according to their root trait syndromes to maximise their adaptation to growth conditions and ultimately their ability to withstand global climate changes. Sowing a mixture of species with different root trait syndromes may also increase the stability of production over contrasting weather years, using functional diversity as insurance for production capacity (Loreau *et al.* 2001).

Chapitre II

Est-ce que les stratégies fonctionnelles racinaires expliquent les capacités de résistance au stress en eau et en phosphore chez 18 espèces de plantes prairiales ?

Nous venons de voir dans les deux chapitres précédents que les traits fonctionnels racinaires étaient liés aux exigences écologiques déterminées à partir d'indices écologiques. Nous allons dans ce paragraphe nous intéresser à la réponse des plantes prairiales au stress hydrique et au manque de phosphore qui sont parmi les facteurs majeurs qui limitent la production dans les écosystèmes et les agrosystèmes du monde entier. En effet, comprendre quels syndromes de traits permettent aux espèces de faire face au stress peut conduire à de meilleurs choix en termes d'espèces à implanter dans des conditions où le phosphore ou l'eau sont des éléments limitants. Nous avons donc décidé de tester s'il existait des liens entre les stratégies fonctionnelles mises en place au niveau des systèmes racinaire des espèces et leur capacité à résister à un manque d'eau ou de phosphore.

Pour ce faire, nous avons cultivé en serre 18 espèces de plantes prairiales (14 *Fabaceae* et 4 *Poaceae*). Ces espèces ont été soumises à trois traitements : i) le traitement contrôle non stressant pour l'eau et le phosphore ; ii) un traitement stressant pour l'eau ; iii) un traitement stressant pour le phosphore. Pour chaque individu de chaque traitement nous avons mesuré la quantité de biomasse aérienne produite ce qui nous a permis de calculer l'intensité du stress induit par les traitements (écart entre la biomasse des traitements stressants et celle du traitement contrôle). Nous avons aussi mesuré sur chaque individu 8 traits fonctionnels racinaires, choisis pour leur relation (avérée ou supposée), avec l'acquisition de l'eau et du phosphore. Ces traits sont : la proportion de section de racine occupée par des aerenchymes, la profondeur de 95% de la longueur racinaire, la biomasse racinaire, la longueur des poils racinaires, le diamètre moyen racinaire, la densité de tissus racinaire (RTD), l'activité phosphatasique à la surface racinaire et la longueur racinaire spécifique (SRL).

Nous avons ainsi pu mettre en évidence que les valeurs de traits fonctionnels mesurées dans le traitement contrôle ainsi que leurs variations induites par les stress étaient informatives sur les capacités des espèces à résister au stress. Les espèces ayant des stratégies de capture des ressources (forte SRL et faible RTD) ont été moins impactées par les stress en eau et en phosphore que les plantes à stratégies de conservation (faible SRL, forte RTD). Pour ce qui est des variations de traits induites par les stress, nous avons pu voir qu'une augmentation de l'activité des phosphatases de surface et de la biomasse de racines en cas de manque de phosphore semblait permettre aux plantes de mieux résister au stress. Au contraire, une augmentation de la SRL, de la proportion d'aérenchymes et de la longueur des poils absorbants permettait aux espèces de produire de plus fortes biomasses aériennes en cas de manque de phosphore (par rapport aux plantes n'ayant pas ce type de réponses). Dans le cas d'un stress hydrique, il est apparu que la production de biomasse n'était liée à aucune variation de valeurs de traits, mais qu'une diminution de la SRL semblait permettre aux plantes de mieux résister au stress hydrique.

Les espèces à stratégies d'acquisition des ressources sont donc plus à même de résister au stress en eau et en phosphore sur des durées relativement courtes que les espèces à conservation de ressource. De même les espèces qui augmentent leur capacité d'acquisition des nutriments en réponse au stress sont capables de produire plus de biomasse en cas de stress en phosphore mais sont fortement impactées par le stress hydrique. En conclusion, nos résultats montrent que prendre en compte les traits fonctionnels et leurs réponses en conditions de stress pourrait permettre une sélection plus appropriée des espèces ou des génotypes afin qu'ils soient mieux adaptés aux conditions de ressources auxquelles ils seront confrontés pendant leur croissance.

Mots clés : aérenchyme, densité de tissus, *Fabaceae*, longueur racinaire spécifique, *Poaceae*, poils racinaires, sécheresse,

Titre de l'article : **Do root functional strategies explain water and phosphorus stress resistance in 18 grassland species ?**

Soumis à New Phytologist

F. Fort, P. Cruz, O. Catrice, C Stroia, C. Jouany

Abstract

Phosphorus (P) and water stress are two major factors limiting worldwide ecosystem and agro-ecosystem production. Understanding which plants trait syndromes allow them to cope with these stresses may lead to better choices of sown species in areas where P and water are limited. We performed a greenhouse experiment with 14 *Fabaceae* and 4 *Poaceae* species grown under a controlled non-stressful condition or under P or water stress to determine the links between species' root trait syndromes and their response to P and water stress. Above-ground biomass production was measured in all the individuals in each treatment, as were height functional traits chosen because of their relation to P and water acquisition, i.e. aerenchyma cross-sectional area, depth of 95% of root length, root biomass, root hair length, root mean diameter, root tissue density (RTD), root-surface phosphatase activity and specific root length (SRL). Above-ground biomass was used to calculate the intensity of stress on plant growth. We observed that root functional traits measured in a controlled condition and their variations due to stressful conditions indicated a species' ability to withstand P or water stress. Species with acquisitive strategies (high SRL, low RTD) were less impacted by P and water stress than conservative ones (low SRL, high RTD). We also highlight that higher root-surface phosphatase production and below-ground biomass limited effects of P stress. Additionally, higher SRL, aerenchyma production and root hair length allowed species (particularly *Poaceae*) to produce more biomass under conditions of P shortage. Regarding water stress, biomass production was not linked to any particular trait variation, but higher SRL allowed species to resist water stress more efficiently. Acquisitive species appeared better able to resist P or water shortage. However, species that increase their resource-capture capacity while experiencing stress were able to produce more above-ground biomass while under P stress but were strongly impacted by water stress. Finally, our results show that considering species' root functional characteristics in response to stress may lead to a more appropriate choice of species or genotype when sowing grasslands.

Key word: aerenchyma, drought, *Fabaceae*, *Poaceae*, root hair, root tissue density, specific root length.

I Introduction

Besides ensuring their principal function in agrosystems, i.e. forage production, grasslands provide a wide range of services, such as maintaining biodiversity, decreasing pollution and storing carbon (C) (Lavorel 2013). This ecosystem is threatened by changes in precipitation patterns due to global climate change (Vitousek *et al.* 1997) and, consequently, its management must be redesigned to decrease the use of mineral fertilisers, which lead to pollution and high farm costs. Moreover, their species richness is currently decreasing due to intensive management (MEA 2005).

Understanding and maintaining grassland biodiversity, particularly functional biodiversity, is one way to increase grassland sustainability (Tilman & Downing 1994; Fry *et al.* 2013). For example, greater use of *Fabaceae* and their associated *Rhizobium* symbiosis in a grassland mixture could decrease N fertiliser use without decreasing forage yield and quality (Phillips 1980). However, water, not N, is the main factor limiting grassland productivity, and global climate change indicates that droughts will become more common and extreme (Christensen *et al.* 2007). P is an important nutrient that limits production on 30% of agricultural land (Lynch 2007). Sources of P fertiliser are not renewable, and their costs will increase as their stocks decrease and the price of the oil needed to extract them increases (Lynch 2007). To withstand these changes and ensure the effectiveness of grassland services, starting with above-ground biomass production, which is also related to C storage (White, Murray, & Rohweder 2000), it is necessary to better understand which plant growth strategies allow plants to resist stresses effectively. A promising way to explore relations between species' characteristics and species' ability to withstand stress is to use the ecological comparative approach based on measuring functional trait syndromes (Violle *et al.* 2007) and to analyse their links to species' ecological requirements.

Because they represent a large part of plant biomass (Mokany *et al.* 2006; Poorter *et al.* 2012) and are in charge of nutrient and water uptake, plant roots are likely to play a major role in mitigating climate change effects and nutritive stress. Regarding P stress, extensive literature reviews show a link between plants' ability to grow in soil with low P availability and their root functional trait attributes (Lynch 2007; Lambers *et al.* 2008; Richardson *et al.* 2011). Because P is often located in shallow soil layers due to litter and/or fertiliser accumulation, plants with shallow root systems should be well adapted to withstand P shortages (Lynch 2007). Lynch (2007) also reported that thin roots, long root hairs and high aerenchyma production are trait attributes linked with high efficiency of P acquisition in P-

poor soil since these attributes allowed roots to forage in large soil volumes efficiently without high C investment via root length. Consequently, Lynch (2007) and later Richardson *et al.* (2011) hypothesised that plants adapted to withstand P stress would have shallow root systems with thin roots, producing a lot of aerenchyma and long root hairs. Nevertheless, this strategy makes plants highly sensitive to water stress by preventing their access to deep water resources (Lynch 2007; Richardson *et al.* 2011). One limit of these results is that they were obtained for only a few cultivated species (mainly maize, beans and rice) in studies considering few traits and not analysing trade-offs between some of them. Efficient strategies to withstand drought were not clearly identified, but deep root systems (Schenk & Jackson 2005) and root tissues protected against cavitations (Hacke *et al.* 2001) appear as some of the more plausible strategies to avoid drought. Little is known about the relation of a plant's root functional trait attributes to its ability to withstand water stresses effectively.

Above-ground plant trait attributes were known to be plastic as a function of growth conditions (Garnier *et al.* 2001b). It is undoubtedly the same for the root system, because it is known to be plastic to acquire resources heterogeneously distributed within the soil profile (Hodge *et al.* 2009; Cahill *et al.* 2010). However, the links between root response to water or nutrient shortage and plant resistance to stress are rarely studied, probably due to the difficulty in manipulating roots. When these issues have been studied, the trait responses displayed by plants have been considered a beneficial response to cope with stress. This ignores the fact, however, that some plants not adapted to stress may not have the responses necessary to withstand stresses effectively. For example, when considering water stress, Padilla *et al.* (2013) showed that species showed more acquisitive strategies under high water stress, i.e. higher specific root length (SRL; Comas & Eissenstat 2004) and concluded that increasing root acquisitive capacity is a good way to cope with water stress.

Our objectives were: i) to test whether relations exist between root functional traits, measured in 18 common European temperate grassland species grown under optimal growth conditions, and their capacities to resist water or P stresses; ii) to analyse how species respond to water or P stress; iii) to test whether species responses to water or P stress may lead to different capacities to cope with these stresses. To meet these objectives we measured eight root functional traits including morphological, structural, histological and enzymatic traits among the 18 species of *Poaceae* and *Fabaceae*. We placed great emphasis on *Fabaceae* because they are rarely considered in functional-trait-based studies despite the agronomic importance of their ability to fix N.

II Materials and methods

II.1 Experimental design

Data used in this study were collected in two successive greenhouse experiments. During the first, from 15 February to 6 June 2011, we studied four *Poaceae* species, and during the second, from 12 October 2011 to 20 February 2012, we studied 14 *Fabaceae* species. The substrate used to fill pots and growth conditions for the two experiments were the same. One individual of each species was grown in monoculture (one individual per pot). Pots were arranged in blocks (five for the *Poaceae* experiment and six for the *Fabaceae* experiment). Within each block, each species was replicated three times, and each replicate was subject to a different growth condition, resulting in a partial crossed combination of two levels of water and P availability treatments: high water and high P availability (the control), high water and low P availability (to evaluate effects of P shortage) and low water and high P availability (to evaluate effects of water shortage). Consequently, we grew 60 *Poaceae* individuals and 252 *Fabaceae* individuals. During plant growth, all pots were maintained at 20°C during the day and 17°C during the night, with a constant day:night ratio of 16/8 hours. The only difference between the two experiments was that we provided N fertiliser to *Poaceae* to ensure that the P shortage effect was not masked by N shortage.

II.1.a Species studied

We selected 14 *Fabaceae* (*Anthyllis vulneraria* L., *Lotus corniculatus* L., *Medicago lupulina* L., *Medicago sativa* L., *Melilotus albus* Medik., *Onobrychis viciifolia* Scop., *Securigera varia* L. (Lassen), *Trifolium campestre* Schreb., *Trifolium fragiferum* L., *Trifolium pratense* L., *Trifolium repens* L., *Vicia cracca* L., *Vicia sepium* L., *Vicia tenuifolia* Roth.) and four *Poaceae* species (*Bromus erectus* Huds., *Dactylis glomerata* L., *Holcus lanatus* L., *Lolium arundinaceum* (Schreb.) Darbysh) according to their preference for habitats with contrasting nutrient availability and climate (Ellenberg *et al.* 1991; Pervanchon 2004). The four *Poaceae* were chosen to maximise differences in their root trait attributes and ecological requirements (Fort *et al.* 2012). All species chosen are common in temperate grasslands and represent the most frequent genera in grasslands. Seeds of all species were collected in wild populations in south-western France in local environments representative of their habitat preferences.

II.1.b Growth conditions

Fabaceae seeds were sown and tillers of *Poaceae* were implanted in 10cm diameter x 1m deep pots with drainage holes, each containing 10 kg (dry weight basis) of soil. The substrate used is a 1:1 volume mixture of sand and calcareous clay soil with basic pH (8.5) and a high carbonate concentration (52.2 g.kg⁻¹). The total N concentration measured in the substrate was low (0.46 g N.kg soil⁻¹). As a consequence, at the beginning of the *Poaceae* experiment each pot was fertilised with 5 g of N (NH₄NO₃). Later, N was applied monthly (1.24 g N.pot⁻¹) to prevent N shortage. We did not fertilise the pots with N during the *Fabaceae* experiment, to ensure that nitrogen (N) fixation played a major role in the N nutrition of plants. The Olsen P value (Olsen *et al.* 1954) measured in the substrate (7 mg P.kg soil⁻¹) also lies far below the minimum threshold of non-limiting P availability (Morel *et al.* 2000). As a result, pots with the low P-availability treatment did not receive P fertiliser, while pots with the high P-availability treatment were amended with commercial triple super phosphate (45% P₂O₅) to provide high P availability (2 g P.pot⁻¹).

Soil moisture was monitored by 30 sensors (EC-5 DECAGON) randomly placed in 15 pots of each water treatment level (high and low availability). To ensure adequate conditions for plant implantation, the water content of all pots was maintained close to field capacity by applying at least 15 ml of water twice a day for the first three and five weeks of the experiment for *Poaceae* and *Fabaceae*, respectively, the difference being due to the faster initial growth of *Poaceae* plants. After the implantation period, half the pots were still watered twice a day on the soil surface to ensure that soil moisture remained close to field capacity. The amount of water supplied was gradually increased to adjust to plant growth needs; it reached 170 ml per day per pot by the end of the experiment. These pots constituted the high water-availability treatment. The water content of the other half of the pots (the low water-availability treatment) was maintained close to wilting point by applying a mean of 12 ml of water per day. In each water treatment all species received the same amount of water per day.

II.2 Harvest and measurements

At harvest, shoots of all plants were clipped at the root base, dried at least 48 h at 60°C and weighed to determine biomass. The pots were opened lengthwise, and a subsample of fine roots and their most immediate attached soil was removed from the surface horizon (0-20 cm in depth) to measure root-surface phosphatase activity. Afterward, roots were carefully washed of soil particles under water and frozen (-18°C) to conserve them.

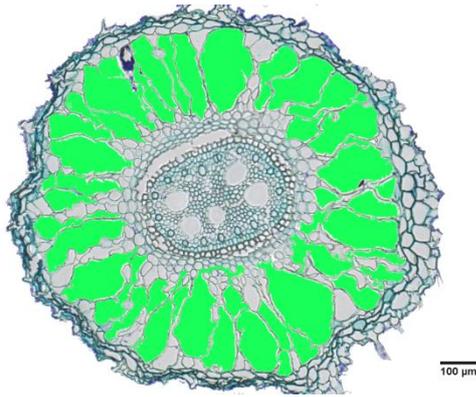


Figure 32: Cross section of a root of *Lolium arundinaceum* with aerenchyma (green).

II.2.a Root-surface phosphatase activity

Soil was separated from the root subsample by immediately washing roots after harvest; thin roots (<2 mm in diameter, Cornelissen *et al.* 2003) were rinsed with water and excess water was removed. Root-surface phosphatase activity of the root subsample (50-100 mg as fresh weight) was determined by measuring the release of *p*-nitrophenol from a solution of the artificial substrate *p*-nitrophenyl phosphate, as described by Sardans,

Peñuelas, & Estiarte (2007). After measurements, roots were rinsed and dried at least 48h at 60°C and weighed. The activity was expressed as μg *p*-nitrophenol released g⁻¹ of dry root h⁻¹.

II.2.b Aerenchyma measurements

Root systems of each individual were defrosted in cold water, spread on a lab bench and four 1-cm root segments were removed from order-1 or -2 roots at least 2 cm above the apex. Root segments were stored in a 70% ethanol solution and embedded in 2-hydroxyethylmethacrylate, also known as GMA. Three to five slices of four micrometre were cut with a microtome. Slices were stained with Toluidine Blue to enhance the contrast between cell walls and the background. A Zeiss Axioplan 2 imaging microscope coupled with AxioVision imaging software was used to take pictures of each cut at 100×. Image analysis was performed with open-source Fiji software (Schindelin *et al.* 2012). We determined the percentage of root cross section occupied by aerenchyma (Figure 32) for each individual as the cross-sectional area occupied by aerenchyma divided by the total root cross-sectional area multiplied by 100.

II.2.c Morphological functional traits

After sampling for anatomical measurement, root systems of each individual were cut every 20 cm of soil depth into five segments, starting at the top of the root system. Next, for the *Fabaceae*, within each segment coarse roots (with secondary growth) were separated from thin roots (< 2 mm in diameter), considered appropriate for functional trait measurement (Cornelissen *et al.* 2003). For the *Poaceae*, this separation was not necessary because all roots were thin. Half of the thin root fraction of each segment (fresh weight basis) for all species

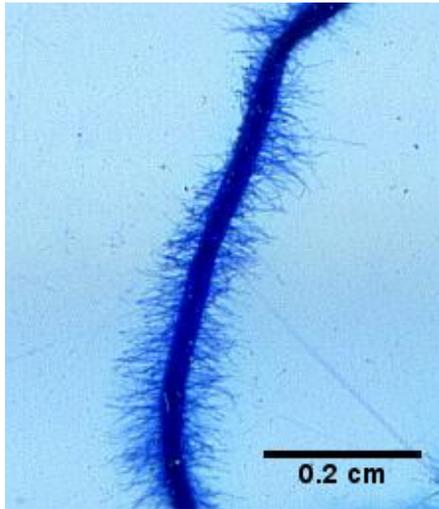


Figure 33 : Root of *Melilotus albus* with root hairs. Stained with methylene blue and scanned at 800dpi.

and the coarse root fraction of *Fabaceae* were dried at least 48h at 60°C and weighed to estimate the distribution of total root dry biomass with depth.

The other halves of the thin root fractions of each segment were pooled in water, homogenised by agitation and at least half (25% of plants' total thin root biomass) were prepared for functional trait measurement. First, for *Fabaceae*, all nodules were removed from the thin roots. Next, fine nodule-free roots (including *Poaceae* roots)

were stained at least 12h by methylene blue (1%) to improve the contrast before scanning. For scanning, roots were spread in no more than 1 cm of water in a 21 x 29.7 cm clear acrylic tray (Craine et al. 2002) and then scanned at 400 dots per inch (Bouma et al. 2000) with a scanner (Perfection 4990 Photo, Epson). For each scan, the root length density on the tray did not exceed the threshold of 0.5 mm.mm⁻² surface. WinrhizoTM Pro 2007 software (Regent Instrument Inc., Sainte-Foy, Quebec, Canada) was used to analyse scanned images; it quantifies the total root length of each root segment with a constant diameter. This method estimates the total length, surface area and volume of each root sample and also the total length in 15 root-diameter classes (0.1 mm each, the last class for diameters > 1.5 mm). We used open-source Fiji software (Schindelin *et al.* 2012) to measure the root hair length on images of root samples used for trait measurement. For each individual, we measured the length (Figure 33) of root hairs on ten randomly distributed points of the root sample, and the mean of these measures was used as the root hair length of each individual. After scanning, each root sample was drained, dried at least 48h at 60°C and weighed.

II.2.d Traits and index calculation

Mean root diameter was calculated as the mean of the median root diameter of each class weighted by the root length of each class. SRL was calculated by dividing the sample root length by its dry mass. Root tissue density (RTD) was the ratio of the sample root dry mass to its volume (Cornelissen *et al.* 2003). Total root biomass was calculated for each individual as the sum of each subsample's dry weight. To analyse root distribution along the profile, we chose to use the depth of 95% of thin root length, calculated using a linear

regression of cumulative root length with depth. Effects of water and P stress on species' trait values were quantified by calculating the traits' distance using the following formula:

$$\text{Trait distance} = (T_S - T_{NS})$$

where, for a given species and trait, T_S is the mean trait value of the plants grown with a shortage of the resource considered and T_{NS} is the mean trait value of plants from the control treatment. Negative values thus indicated decreased trait attributes under stress while positive ones indicated increased trait attributes.

For each water- and P-shortage treatment, we calculated an abiotic stress intensity index based on above-ground biomass production to estimate the effect of stress among species. We used the following formula, derived from the index of competition intensity proposed by Callaway *et al.* (2002):

$$\text{Abiotic stress intensity} = (P_{T-S} - P_{T+S}) / P_{T-S}$$

where, for a given species, P_{T-S} is the shoot biomass of the plant grown without a shortage of the resource considered (control treatment) and P_{T+S} is the mean shoot biomass of plants grown with a shortage of the resource considered. The closer to 1 the value of abiotic stress intensity, the stronger was the effect of the shortage.

II.3 Data analysis

All statistical analyses were performed with R 2.15.1 software ($\alpha = 0.05$). A principal component analysis (PCA) was performed to determine relations among the eight functional root trait attributes for the 18 species grown in high water and P availability and the intensity of P and water stress. Significance of correlations with axis were tested using Pearson's correlation test for above-ground biomass produced in the three growth conditions, Two-way ANOVAs were performed to test whether shortages (water or P) had a significant effect on species' trait values and whether species differed in response to shortage. Two additional PCA were performed to assess relations between intensity of water and P stress, respectively, and species trait responses to it. For these two PCA, the significance of correlations of above-ground biomass, produced in P- or water-shortage conditions, with the first two axes was tested using Pearson's correlation test. For this analysis we centred and normalised all variables with their standard deviations because they had different units. Effects of species family on the relations between PCA axis and biomass production were tested by ANCOVAs.

Table 11: Mean \pm SE of root functional trait attributes of four *Poaceae* (n=5) and 14 *Fabaceae* (n=6) species grown under conditions of high water and phosphorous availability.

Species	Aerenchyma cross-sectional area (%)	Depth of 95% of the root length (cm)	Root surface phosphatase activity ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Root hairs length (mm)	Root mass per plant (g)	Root mean diameter (mm)	Root tissue density ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Specific root length ($\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$)
Poaceae								
<i>Bromus erectus</i> Huds.	13.0 \pm 1.2	86.1 \pm 1.5	22.6 \pm 3.8	0.32 \pm 0.03	6.2 \pm 0.5	0.28 \pm 0.00	0.11 \pm 0.00	145.7 \pm 5.9
<i>Dactylis glomerata</i> L.	11.8 \pm 6.5	76.1 \pm 0.9	19.3 \pm 2.9	0.22 \pm 0.02	9.0 \pm 1.0	0.23 \pm 0.01	0.14 \pm 0.02	176.9 \pm 11.3
<i>Holcus lanatus</i> L.	8.9 \pm 5.5	79.2 \pm 4.6	26.2 \pm 2.4	0.15 \pm 0.01	9.7 \pm 0.5	0.26 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	219.4 \pm 12.1
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	26.9 \pm 4.5	74.6 \pm 1.2	31.0 \pm 5.3	0.35 \pm 0.04	8.0 \pm 0.4	0.32 \pm 0.01	0.10 \pm 0.00	122.3 \pm 7.3
Fabaceae								
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	10.4 \pm 1.9	88.6 \pm 5.0	55.0 \pm 15.2	0.26 \pm 0.02	2.1 \pm 0.63	0.25 \pm 0.02	0.05 \pm 0.00	248 \pm 42
<i>Lotus corniculatus</i> L.	10.4 \pm 0.6	85.5 \pm 4.4	41.7 \pm 4.3	0.19 \pm 0.03	4.7 \pm 1.26	0.27 \pm 0.04	0.11 \pm 0.01	110 \pm 18
<i>Medicago lupulina</i> L.	4.5 \pm 3.7	86.7 \pm 5.6	41.0 \pm 4.7	0.20 \pm 0.03	1.4 \pm 0.85	0.18 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	307 \pm 24
<i>Medicago sativa</i> L.	5.9 \pm 1.1	95.1 \pm 5.2	53.2 \pm 7.0	0.14 \pm 0.02	10.9 \pm 1.34	0.25 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01	210 \pm 20
<i>Melilotus albus</i> Medik.	8.9 \pm 2.6	88.3 \pm 6.9	100.8 \pm 10.2	0.24 \pm 0.04	14.8 \pm 3.18	0.28 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	171 \pm 29
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	5.3 \pm 0.8	87.4 \pm 4.6	45.8 \pm 5.3	0.29 \pm 0.00	3.9 \pm 1.18	0.35 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	80 \pm 7
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	9.2 \pm 1.1	99.7 \pm 0.7	35.1 \pm 4.1	0.12 \pm 0.03	4.4 \pm 1.46	0.21 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	211 \pm 53
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	0.9 \pm 0.9	83.4 \pm 9.0	59.2 \pm 5.9	0.05 \pm 0.01	1.4 \pm 0.40	0.13 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	596 \pm 23
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	10.4 \pm 0.7	89.5 \pm 6.4	56.5 \pm 13.8	0.13 \pm 0.01	1.7 \pm 0.36	0.20 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	228 \pm 58
<i>Trifolium pratense</i> L.	4.1 \pm 2.1	87.0 \pm 3.9	98.6 \pm 7.7	0.17 \pm 0.02	2.5 \pm 0.91	0.21 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	252 \pm 43
<i>Trifolium repens</i> L.	4.4 \pm 4.4	91.8 \pm 5.6	89.7 \pm 10.9	0.18 \pm 0.01	2.2 \pm 0.54	0.19 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	248 \pm 33
<i>Vicia cracca</i> L.	1.6 \pm 1.6	88.9 \pm 4.9	16.5 \pm 1.5	0.39 \pm 0.01	5.5 \pm 3.35	0.37 \pm 0.01	0.15 \pm 0.04	51 \pm 16
<i>Vicia sepium</i> L.	1.3 \pm 0.7	73.9 \pm 11	16.0 \pm 3.2	0.35 \pm 0.03	1.1 \pm 0.78	0.32 \pm 0.02	0.05 \pm 0.02	61 \pm 15
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	4.6 \pm 0.1	86.9 \pm 3.2	15.4 \pm 2.5	0.38 \pm 0.03	11.5 \pm 0.74	0.34 \pm 0.04	0.21 \pm 0.02	38 \pm 7

III Results

III.1 Species root functional traits

Large differences existed among species' attributes in nearly all functional traits (Table 11) and among their productivity and intensity of stress (Table 12). PCA analysis revealed two independent sets of correlations among the functional traits of plants grown in the control treatment. The first set of correlations (Axis 1) explained 45% of the variation. This axis represented a gradient of species from those with low SRL, high root diameter, long root hairs and high RTD (i.e. *Vicia cracca*, *V. tenuifolia*, *V. sepium*, *Lolium arundinaceum*, *Onobrychis viciifolia*) to those with high SRL, low diameter, short root hairs, low RTD and high phosphatase activity (i.e. *Trifolium campestre*, *T. fragiferum*, *T. pratense*, *T. repens*, *Anthyllis vulneraria*, *Medicago lupulina*, *Securigera varia*). Along this axis (Figure 34b), no significant difference existed between coordinates of *Poaceae* and *Fabaceae* species (Mann-Whitney test, $p = 0.20$). The range of coordinates, and thus traits correlated with Axis 1, of *Poaceae* species (-1.9 to -0.7) was much lower than that of *Fabaceae* (-3.9 to 3.1). Axis 1 was also significantly negatively correlated with the intensity of stress induced by water and P shortage. Species whose growth was only slightly reduced by P and water shortage had high SRL, high phosphatase activity, low root diameter, low RTD and short root hairs (Table 13a and Figure 34a).

The second set of correlations (Axis 2) explained 21% of the variation of the PCA. This axis represented a gradient of species from those with shallow root systems, low root biomass and low aerenchyma production (Table 13a) (i.e. *V. sepium*, *T. campestre*, *T. repens*) to those with deep root systems, high biomass and high aerenchyma production (i.e. *L. arundinaceum*, *Melilotus albus*, *Medicago sativa*, *S. varia*) (Figure 34b). Along this axis, no significant difference existed between coordinates of *Poaceae* and *Fabaceae* species (Mann-Whitney test, $p = 0.38$). On this axis, coordinate ranges of *Poaceae* (0.04 to 2.6) and *Fabaceae* (-2.9 to 2.1) species overlapped. Axis 2 was significantly negatively correlated with the intensity of stress induced by P shortage but not that induced by water shortage. The more a species had high root biomass, a deep root system and high aerenchyma production, the less its growth was impacted by P shortage. Interestingly, above-ground biomass was not correlated with these two axes, regardless of the growth condition (Table 13a).

Table 12: Above-ground biomass produced under conditions of high water and high phosphorous (P) availability and P-stress and water-stress intensity for 4 *Poaceae* (n=5) and 14 *Fabaceae* (n=6) species.

Species	Above-ground biomass per plant in high water and P (g)	P-stress intensity	Water-stress intensity
Poaceae			
<i>Bromus erectus</i> Huds.	17.5±1.1	0.40	0.79
<i>Dactylis glomerata</i> L.	48.1±2.5	0.30	0.80
<i>Holcus lanatus</i> L.	48.8±0.7	0.48	0.91
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	38.7±2.2	0.22	0.87
Fabaceae			
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	17.3 ± 1.6	0.13	0.65
<i>Lotus corniculatus</i> L.	11.9 ± 1.0	0.23	0.75
<i>Medicago lupulina</i> L.	19.1 ± 2.0	0.29	0.75
<i>Medicago sativa</i> L.	11.1 ± 0.7	0.30	0.79
<i>Melilotus albus</i> Medik.	9.0 ± 1.6	0.21	0.79
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	15.3 ± 0.3	0.34	0.85
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	4.0 ± 0.7	0.10	0.68
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	10.4 ± 0.9	0.54	0.63
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	12.1 ± 0.9	0.17	0.74
<i>Trifolium pratense</i> L.	13.9 ± 0.9	0.36	0.77
<i>Trifolium repens</i> L.	17.0 ± 1.0	0.42	0.75
<i>Vicia cracca</i> L.	14.6 ± 2.6	0.61	0.84
<i>Vicia sepium</i> L.	3.3 ± 0.1	0.66	0.82
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth.	16.3 ± 1.4	0.51	0.81

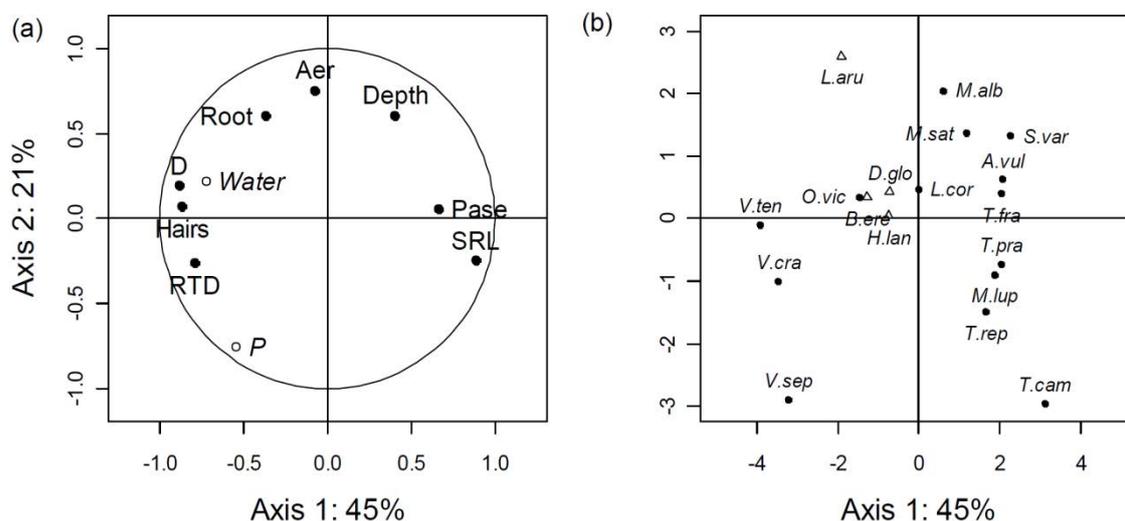


Figure 34: Principal component analysis (PCA) for 8 functional traits measured in 18 grassland species. (a) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct the PCA axes; Aer: root cross section occupied by aerenchyma; D: root mean diameter; Depth: depth of 95% of the root length; Hairs: root hair length; Pase: root-surface phosphatase activity; Root: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: stress intensity used to construct the PCA axes; P: intensity of P stress; Water: intensity of water stress. (b) species' coordinates on the PCA axes for 4 *Poaceae* (white triangles) and 18 *Fabaceae* (black circles).

Table 13 : Principal component analysis (PCA) coefficients for PCAs based on: (a) root functional trait values measured in 18 grassland species and the intensity of phosphorus (P) and water stress; (b) root trait distances and the intensity of stress induced by P shortage; and (c) root trait distances and the intensity of stress induced by water shortage. Above-ground biomass was not used in the PCA, but the significance of its correlation to the axes was tested with Pearson’s correlation test. Bold values indicate significant correlations.

Root traits	(a)		(b)		(c)	
	Axis 1	Axis 2	Axis 1	Axis 2	Axis 1	Axis 2
Aerenchyma cross-sectional area	-0.08	0.75	0.69	0.22	-0.55	0.34
Depth of 95% of the root length	0.40	0.61	0.70	0.48	0.57	-0.16
Root hair length	-0.87	0.07	0.64	-0.34	-0.07	-0.86
Root mass	-0.37	0.61	0.02	-0.77	-0.77	-0.17
Root mean diameter	-0.89	0.19	0.03	-0.15	-0.49	0.41
Root-surface phosphatase activity	0.66	0.05	-0.27	-0.65	-0.73	-0.46
Root tissue density	-0.79	-0.25	-0.75	0.36	-0.09	0.62
Specific root length	0.89	-0.27	0.71	0.01	0.72	-0.45
Index of stress intensity						
P stress	-0.54	-0.75	-0.25	0.64	-	-
Water stress	-0.73	0.21	-	-	0.81	0.43
Above-ground biomass						
High P and high water	-0.21	0.25	-	-	-	-
Low P and high water	-0.11	0.41	0.73	-0.01	-	-
High P and low water	0.12	0.13	-	-	0.12	-0.20

III.2 Species trait responses to stress

P and water shortage had a significant effect on all traits except for mean root diameter, which was not affected by P shortage (Table 14). For most traits, the interaction between species identity and shortage (water or P) was significant, highlighting that species did not respond in the same way to shortages, except for root-surface phosphatase activity, which increased (significantly or not) for all species under P shortage (Tables I and II Annexes).

Phosphorus stress

The PCA summarised differences in trait values induced by P shortage into two independent sets of correlations (Table 13b and Figure 35a), corresponding to two ways that species responded to P shortage. The first set of correlations (Axis 1) explained 29% of the variability and ranged from species that increased RTD and decreased SRL, root system depth, aerenchyma production and root hair length (i.e. *T campestre*, *O. viciifolia* and *V. sepium*) to those that decreased RTD and increased SRL, root system depth, aerenchyma production and root hair length (i.e. *Poaceae* spp. and *L. corniculatus*) (Figure 34b). Along this gradient, *Poaceae* species had higher (Mann-Whitney test, $p < 0.001$) positive

Table 14 : Two-way ANOVA testing the effect of (a) phosphorus (P) and (b) water and their crossed effect with species on eight root functional trait values.

Factors	Df	Aerenchyma cross section area (%)	Depth of 95% of the root length (cm)	Root surface phosphatase activity ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Root hairs length (mm)	Root mass per plant (g)	Root mean diameter (mm)	Root tissue density ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Specific root length ($\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$)
(a)									
P	1	0.17	0.62	<0.001	0.70	<0.001	0.28	0.06	0.02
Species	17	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P x Species	17	0.01	<0.01	0.12	<0.001	0.03	0.47	<0.01	<0.01
(b)									
Water	1	<0.001	<0.001	<0.001	0.24	<0.001	0.57	<0.001	<0.001
Species	17	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Water x Species	17	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	<0.001	0.02	0.02	<0.001

coordinates (2.0 to 3.1) than *Fabaceae* species (-2.7 to 1.8). This axis was not correlated with the intensity of stress induced by P shortage, but significantly and positively correlated (Table 13b and Figure 35a) with the above-ground biomass produced in the P shortage treatment regardless of taxonomic family (ANCOVA, $p = 0.67$).

The second axis explained 22% of the variability in the PCA. This axis ranged from species that increased root biomass and phosphatase activity and decreased rooting depth to those with the opposite response. Along this axis (Figure 35b) no significant difference existed between coordinates of *Poaceae* and *Fabaceae* species (Mann-Whitney test, $p = 0.38$). The range of coordinates of *Poaceae* species (-0.7 to 1.3) was smaller than that of *Fabaceae* species (-2.5 to 2.7). Axis 2 was positively correlated with the intensity of stress induced by P shortage (Table 13b and Figure 35a), highlighting that species that increased root biomass and phosphatase activity and decreased rooting depth in response to P shortage were less impacted by it.

Water stress

Similar to P shortage, trait values were greatly impacted by water shortage (Table 14). Functional trait responses to water were summarised among two PCA axes (Table 13c, Figure 35c). The left side of Axis1 (35% of the variability) shows species little impacted by water shortage: they did not change rooting depth, only slightly decreased root mass and aerenchyma production, strongly decreased SRL and increased root-surface phosphatase activity. The right side shows species with an opposite response to water shortage and which were strongly impacted by it. Along this gradient, *Poaceae* species had higher (Mann-

Whitney test, $p < 0.01$, Figure 34d) positive coordinates (1.1 to 3.5) than *Fabacea* species (-2.9 to 1.3).

Axis 2 explained 23% of the variability in the PCA and represented a gradient of species from those that increased root hair length and did not change RTD under water shortage to those that increased RTD and decreased root hair length. The intensity of stress induced by water shortage was not significantly correlated with this axis, but a strong trend appeared ($p = 0.07$), highlighting that increased root hair length and decreased RTD may reduce the impact of stress on plant growth. No significant difference existed between the coordinates of the *Fabaceae* and *Poaceae* species along this axis (Mann-Whitney test, $p = 0.23$). The above-ground biomass produced by species under low water and high P

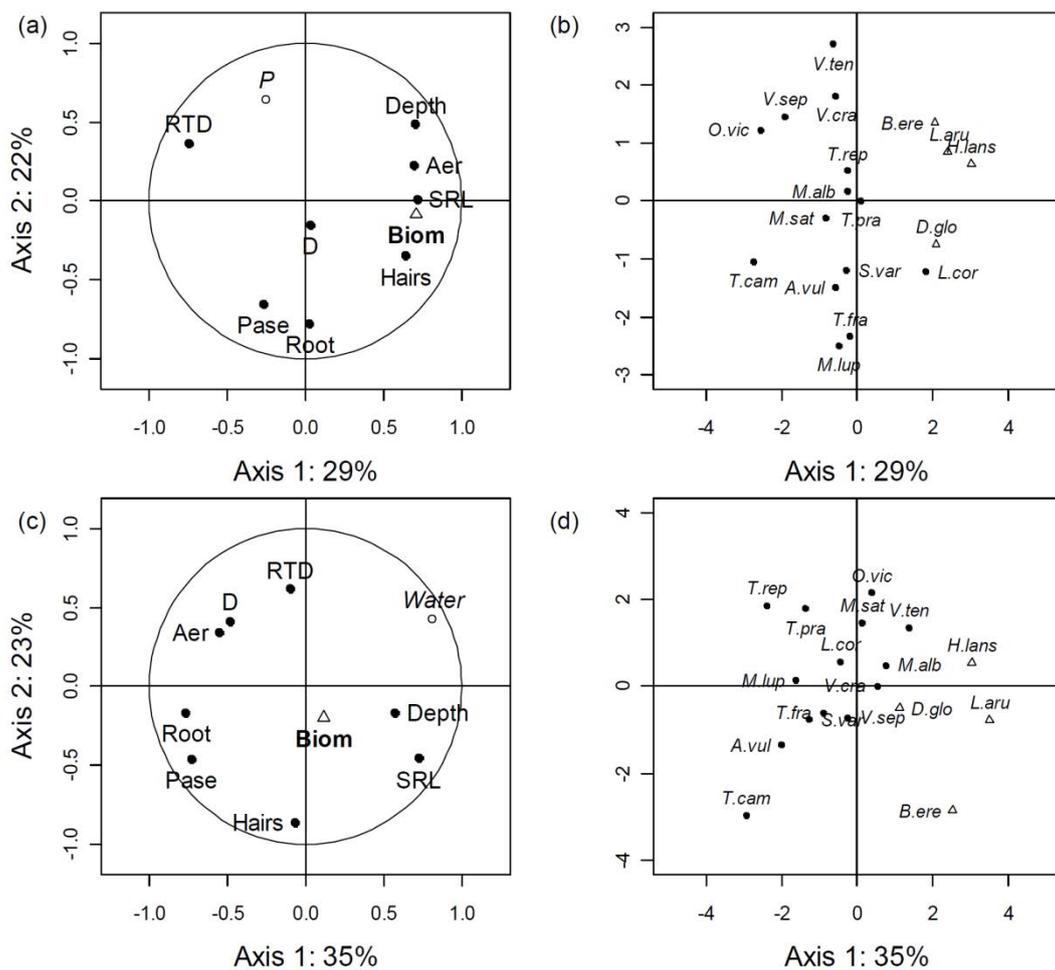


Figure 35: Principal component analysis (PCA) for 8 functional trait responses to stress measured in 18 grassland species. (a,c) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct the PCA axes; Aer: root cross section occupied by aerenchyma; D: root mean diameter; Depth: depth of 95% of the root length; Hairs: root hair length; Pase: root-surface phosphatase activity; Root: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: stress intensity used to construct the PCA axes; P: intensity of P stress; Water: intensity of water stress. White triangle: Above-ground biomass produced in stressful conditions. (b,d) species' coordinates on the PCA axes for 4 *Poaceae* (white triangles) and 18 *Fabaceae* (black circles).

availability was not correlated with the first two axes of the PCA and, therefore, was not explained by changes in traits in response to water shortage.

IV Discussion

IV.1 Root functional trait syndromes and stress intensity

It was interesting to note that *Poaceae* and *Fabaceae* species did not form two different groups along the PCA axes based on trait values in control conditions. This result showed that these families did not have two distinct forms of below-ground resource-management strategies, except for N, as Díaz *et al.* (2004) observed for above-ground strategies. Moreover, growth strategy diversity seemed greater among *Fabaceae* than among *Poaceae* in this study, despite having chosen the four *Poaceae* species for a wide range of growth strategies (Fort *et al.* 2012).

We initially hypothesised that grassland species can have low RTD, thin roots and long root hairs simultaneously (Lynch 2007; Richardson *et al.* 2011). Our results are not consistent with this hypothesis; because of the strong positive correlation among root diameter, RTD and root hair length, no species had thin roots, long root hairs, and low RTD simultaneously (i.e. the trait syndrome of best adapted genotype for P acquisition; Lynch 2007; Richardson *et al.* 2011). However, these traits (root diameter, root hair length, and RTD) plus SRL and root-surface phosphatase activity formed the principal axis of trait variation among the root traits considered. This axis appeared to range from species with acquisitive strategies to species with conservative strategies. The strong correlation of the intensity of water and P stresses along Axis 1 of the PCA based on traits values highlights the essential role played by the root-level acquisitive-conservative trade-off in species' abilities to withstand stress. It appeared that thinner roots and higher SRL, which defines an acquisitive growth strategy (Comas & Eissenstat 2004), limit the effect of stresses on plant growth. This may be explained by higher soil foraging efficiency and nutrient uptake of species with high SRL (Eissenstat 1992; Wright & Westoby 1999; Mommer *et al.* 2011). We hypothesise that species with high SRL could acquire more resources under conditions of shortage than species with low SRL, thus decreasing the effect of stresses on their growth.

Surprisingly, species with high RTD and high mean root diameter were strongly impacted by water shortage, even though high woody-tissue density protects tissues from water-stress damages (Hacke *et al.* 2001). However, even if decreased growth under water shortage is not the expected response for enhanced production services when species will be

sown in grassland, it is a good strategy for surviving drought. Limiting biomass production at the beginning of water shortage may, in the case of a long drought, allow plants to survive more efficiently by limiting their water demand during the drought (Gibert *et al.* 2012). Growing low RTD and low-diameter roots seems to induce a short-term reduction in the effects of shortage on plant growth. However, this acquisitive strategy may have a cost in the long term, since roots with acquisitive characteristics have short lifespans (Eissenstat 2000; McCormack *et al.* 2012) and their turnover may have a high cost for plants and threaten their long-term survival in stressful environments (Grime 1977).

Notably, even in this wide range of species, having long root hairs did not help plants to withstand stresses, particularly P stress, unlike it was reported in other studies (Lynch 2007; Datta *et al.* 2011; Brown *et al.* 2012; Vandamme *et al.* 2013). However, Keyes *et al.* (2013) observed that root hairs are not predominant in P absorption and that roots directly absorbed much of the P acquired by plants. As a result, the lack of correlation between root hair length and ability to withstand stress may be explained by the trade-off between root hair length and root diameter. This trade-off was not considered by Vandamme *et al.* (2013), who used different genotypes of a species whose variation in root diameter was smaller than that of root hair length. Similar results are reported in modelling studies, such as Brown *et al.* (2012), in which root diameter remained constant while root hair length varied. This may explain why results of genotype or modelling-based studies differ from ours, which is based on studying trait relations among species. On the basis of our results we conclude that having long root hairs implies having coarse roots, low efficiency of soil exploration and, as a consequence, low efficiency of P acquisition. This counterbalances the positive effect of long root hairs.

P stress intensity was negatively correlated with investment in the root system (root biomass) and rooting depth (Axis 2 of the trait-based PCA). This result highlights that strong investment in the root system (biomass), which permits foraging within a large soil volume, is an efficient strategy for limiting the effects of shortages of non-mobile and homogeneously distributed resources, such as P. This strategy has limited usefulness, however, for shortages of mobile resources such as water.

As hypothesised, species with high aerenchyma production are less impacted by P shortage. Similarly, in maize and beans, the root cross-sectional area of aerenchyma was positively correlated with the total P exported in soil of low P availability (Lynch 2007). Our results demonstrate that, for the same level of soil P availability, the impact of P shortage decreased with the ability to produce aerenchyma. The negative correlation between root-

surface phosphatase activity and intensity of P stress confirms the hypothesis that high root-surface phosphatase production helps withstand P shortage (Richardson *et al.* 2011).

IV.2 Root trait response to stress and stress intensity

Considering responses to P stress, species separated along two major axes of trait variation. Along Axis 1, species were ranked as a function of changes in soil foraging strategy. Species that increased soil foraging capacity by decreasing investment by root length and increasing rooting depth were equally impacted by stress but produced much more above-ground biomass than others under P-shortage conditions. The separation of *Poaceae* and *Fabaceae* species along Axis 2 may lead one to believe that this correlation of trait value variation with biomass production occurred only because *Poaceae* species, grown with N fertiliser, were able to produce more biomass than *Fabaceae* species, which had to divert some of their C to rhizobium to make N fixation possible (Phillips 1980). This relation was not impacted by family identity, however, and thus the trend did not differ between them. Consequently, our results confirmed the hypothesis that plants that can increase their soil foraging capacity in P-shortage conditions (Richardson *et al.* 2011) can produce more above-ground biomass under this condition. As a result, they appear useful for forage production in P limited environments.

Independent of this first foraging axis, species less impacted by P shortage were those able to strongly increase root-surface phosphatase production under P shortage and, as a result, to use less-available forms of P bound on organic matter (Lambers *et al.* 2008). These species were also able to increase (or at least maintain) their investment in the root system, even in stressful conditions, which improves their chances of acquiring P resources.

Root functional traits did not respond in the same way to water shortage as to P shortage, highlighting different plant strategies for managing this stress. Axis 1 of the PCA based on root trait response to water shortage showed a strong compromise between limiting the decrease in root biomass induced by water shortage and producing deep and thin root systems. Our results highlighted that increased SRL under water shortage did not reduce the effect of water shortage on plant growth. This phenomenon is linked to the previously mentioned cost due to an increase in root turnover (Eissenstat *et al.* 2000; McCormack *et al.* 2012) or lower phenolic-compound concentration resulting in lower root defences (Comas & Eissenstat 2004). Conversely, species little impacted by water shortage are able to limit the decrease in root biomass during water shortage, allowing them to explore a greater soil volume and, as a result, find more water than others. They also increased aerenchyma

production, which may help decrease the cost of root development and maintenance, delay secondary root growth (root etiolation; Richardson *et al.* 2011). Interestingly, above-ground biomass produced under water shortage was not correlated with trait responses, contrary to what was observed in response to P shortage.

V Conclusion

This study shows that root functional strategies play a crucial role in grassland species' response to P or water shortage. Having acquisitive strategies allows species to limit the effects of P or water shortage on growth, but does not lead to greater above-ground biomass production than conservative species. In terms of trait response to stress, it appeared that species which maintained or slowly decreased root biomass production were less impacted by P or water shortage than others. Considering above-ground biomass production, which is the variable of interest for production-oriented ecosystem services, enhancing root acquisitive strategies allowed species to be more productive under conditions of P shortage. Trade-offs between trait values must be explored to propose more realistic plant strategies that increase resource-use efficiency in response to reduced fertilisation. These findings also call for additional long-term research to explore whether root acquisitive strategies have drawbacks under long-term stresses as widely hypothesised, which will become crucial when considering species longevity in grasslands

Chapitre III

Liens entre valeurs de traits racinaires et aptitudes à la compétition en conditions de disponibilité variables pour l'eau et le phosphore chez quatre *Poaceae* prairiales

Dans le paragraphe précédent nous avons analysé l'effet des stress sur le développement des plantes se développant seules, or dans la nature les plantes ne se développent jamais seules et par conséquent sont en permanence soumises aux interactions biotiques dont la force et le type vont varier en fonction du milieu. Les plantes ont donc développé des aptitudes différentes à la compétition qui dépendent de leurs valeurs de traits fonctionnels. Par conséquent les liens entre les traits fonctionnels et l'aptitude des espèces à la compétition apparaissent comme des facteurs majeurs de la structuration des communautés végétales. Cependant deux hypothèses divergentes ont été proposées pour expliquer ces processus. D'une part l'hypothèse dite de "competition-trait similarity" qui pose que plus les valeurs de traits des espèces sont proches plus elles vont avoir des interactions fortes et donc moins elles vont être en mesure de cohabiter. D'autre part l'hypothèse dite de "competition-trait hierarchy", qui énonce que plus les espèces auront des valeurs de traits différentes plus la compétition entre elles sera déséquilibrée ce qui devrait conduire à une élimination des espèces les moins compétitrices.

Afin de tester quelle hypothèse décrit le mieux les interactions durant la phase d'implantation de *Poaceae* nous avons mis en place une expérimentation en serre. Cela nous a permis d'évaluer comment les valeurs de traits des espèces et leur aptitude à la compétition étaient liés. Nous avons choisi de mettre en interactions deux à deux des individus issus de deux espèces ayant une stratégie de capture des nutriments et deux espèces ayant une stratégie de conservation, cela dans quatre conditions de croissance différentes.

Chaque espèce a été plantée seule (un individu par pot) et en mélange avec chacune de trois autres espèces (deux individus par pots), formant ainsi 6 combinaisons et quatre monocultures. Cinq répliques de chacune des associations ont été cultivées dans quatre milieux

résultant de la combinaison de deux niveaux de disponibilité en phosphore et de deux niveaux de disponibilité en eau. Trois traits fonctionnels reliés à la capacité de compétition des plantes ont été mesurés sur toutes les monocultures : la longueur racinaire spécifique (SRL), l'efficacité racinaire d'utilisation du phosphore (RPUE) et la densité de longueur racinaire (RLD). La biomasse aérienne a été mesurée sur les plantes cultivées avec et sans voisin de façon à évaluer l'intensité des interactions mises en place entre les plantes.

Nous avons montré que pour les trois traits, la distance hiérarchique au sein des couples d'espèces pilotait l'intensité des interactions mises en place par les plantes. Par contre, nous n'avons pas mis en évidence de liens entre l'intensité d'interaction et la distance absolue de traits au sein d'un couple d'espèces ni d'ailleurs leur distance phylogénétique. Les conditions de croissance impactent fortement ces relations entre la distance hiérarchique de trait et l'intensité d'interaction. En effet pour la SRL, dans les modalités où l'eau limite fortement le développement des plantes, la relation entre la distance de trait hiérarchique et l'intensité des interactions n'est plus significative. Cela peut s'expliquer par le fait que les espèces qui ont de fortes SRL sont fortement affaiblies par le manque d'eau ce qui doit induire une diminution de leur aptitude à impacter le développement de leurs voisins et donc déstabiliser la hiérarchie d'aptitude à la compétition. Pour ce qui est de la RPUE, il est clair qu'elle permet d'établir une hiérarchie des compétiteurs uniquement dans les conditions où le phosphore est potentiellement limitant. Seule la distance hiérarchique entre les valeurs de RLD des couples d'espèces est corrélée avec l'intensité des interactions dans toutes les conditions de croissance testées.

Nous pouvons donc dire qu'il existe parmi les *Poaceae* prairiales une forte hiérarchie d'aptitude à la compétition dans des conditions de croissance optimales et que cette hiérarchie est directement liée aux stratégies racinaires mises en œuvre pour l'acquisition de ressources. Cela nous permet de dire que les plantes à stratégies de capture des ressources sont des compétitrices efficaces en condition non stressantes et que les espèces tolérant le stress ne le sont pas. Par conséquent, on peut conclure que nos résultats supportent l'hypothèse de "competition-trait hierarchy". La distance hiérarchique des valeurs de traits apparaît donc comme un bon proxy du sens et de la force des interactions mises en place par des couples de plantes. Cependant les relations entre la distance hiérarchique de traits et l'intensité des interactions vont être influencées par les conditions de croissance des associations.

Mots clés : compétition, distance hiérarchique de traits, phosphore, *Poaceae*, traits fonctionnels racinaire, stress hydrique,

Titre de l'article : **Hierarchy of root functional trait values drives early-stage competition for water and phosphorus among grasses**

En révision mineure pour Functional Ecology

Florian Fort*, Pablo Cruz, Claire Jouany

Abstract

The link between species' functional traits and competitive abilities has been described as a major factor structuring plant communities. However, two diverging hypotheses have been proposed to explain this process: competition-trait similarity and competition-trait hierarchy.

We performed a greenhouse experiment to determine whether grasses' root foraging strategies, from acquisitive or conservative functional groups, are linked to plant competitive ability and to test which hypothesis better explains interactions during the early stage of grass implantation under contrasting growth conditions.

Two grass species of each functional group were grown with and without a neighbour under two levels of water and phosphorus supplies. Three functional traits related to plant competitive ability were measured on all plants grown without neighbours: specific root length (SRL), root phosphorus use efficiency and root length density. Above-ground biomass was measured on plants grown with and without neighbours to evaluate the intensity of plant interaction.

We demonstrated that for the three traits the intensity of interaction is driven mainly by hierarchical trait distance, i.e. trait distance between target and neighbour, and not by trait similarity. Growth conditions strongly affected the significance of the relation between hierarchical distance and competition intensity. For the SRL hierarchical distance, this effect may be due to the most competitive species (with high SRL) being strongly impacted by water shortage, which modified the competitive hierarchy.

A strong hierarchy exists among grasses' competitive abilities in non-limiting growth conditions that is linked to their root functional traits and investment in the root system. Consequently, our results support the trait-hierarchy hypothesis in its ability to describe competitive interaction among grasses during early stages of implantation. They also support the idea that competitive species are not adapted to tolerate abiotic stress, while stress-tolerant species are poor competitors.

Our study provides evidence that root functional trait hierarchical distance explains how grasses interact with their neighbours. This distance enables species to be ranked according to their competitive ability; however, this ranking may be influenced by the growth conditions and traits considered.

Keywords : root functional traits, competition, *Poaceae*, phosphorus, water stress, hierarchical traits distance

I Introduction

Understanding the processes that structure natural communities is one of the oldest pursuits in ecological research (Diamond 1975). Among the processes proposed to explain the presence of species within a community are their abilities to migrate into the community (i.e. dispersal ability; Hubbell 2001) and to tolerate abiotic (Weiher & Keddy 1999) and biotic (Kraft & Ackerly 2010) environments. These processes are described as filters that select, from a regional species pool, species that are able to migrate into the community, then select those that can survive in the abiotic environment, and finally select those most resistant to biotic interaction (Lortie *et al.* 2004). Competition for resources is currently recognised as a large part of the filtering effect in plant communities (Grace & Tilman 1990, Keddy & Nielsen 2002, Kraft & Ackerly 2010, Wang *et al.* 2010). Most studies focusing on competition impacts on community structure have been based on a common assumption: species with similar ecological strategies, generally closely related phylogenetically, compete more intensely for resources than species with different strategies (Darwin 1859). Since MacArthur & Levins (1967), it has been assumed that species with similar strategies have similar ecological niches and thus are less likely to coexist (i.e. the “competition-relatedness” hypothesis; Cahill *et al.* 2008).

Functional traits have been commonly used to describe plant strategies (Grime *et al.* 1997, Díaz *et al.* 2004) and to test or develop hypotheses about the impact of competition on community structure (Grime *et al.* 1997; Cahill *et al.* 2008; Mayfield & Levine 2010). As reported by Kunstler *et al.* (2012), combination of the competition-relatedness hypothesis with the functional-trait approach leads to the “competition-trait similarity” hypothesis, which predicts that competitive interaction will increase with increasing trait similarity in interacting plants (Cahill *et al.* 2008). Under this hypothesis, competitive interactions lead to an increase in trait divergence within a community by excluding the less competitive species having equivalent trait values. However, the presence of species with similar trait values in communities (Mayfield & Levine 2010) suggests that when these traits are related to competitive ability (i.e. ability to acquire and use limiting resources; Westoby *et al.* 2002), and in the absence of niche segregation (Chesson 2000), competition is likely to be stronger between species differing in functional traits. In this case, the competitive interaction between species is positively related to the hierarchical difference in their trait attributes (i.e. the trait values they display). Kunstler *et al.* (2012) named this hypothesis the “competition-trait hierarchy” hypothesis. In this case, less competitive species are strongly impacted by other

species to the point that they are ultimately excluded from the environment, leading to trait convergence at the community level (Mayfield & Levine 2010). We hypothesise that better understanding of the link between plant functional traits and competitive ability can help distinguish between the “competition-trait similarity” and “competition-trait hierarchy” hypotheses, which lead to opposite patterns in plant community structuring.

To discuss the validity of these two hypotheses, we propose testing them using root functional traits. Traits commonly used in competition studies are above-ground functional traits (Keddy & Nielsen 2002; Gross *et al.* 2007; Kunstler *et al.* 2012), e.g. leaf functional traits, giving priority to the competition for light in well-established communities. Root functional traits have received less attention, even though roots are in charge of water and nutrient acquisition, which is supposed to be the main process driving competitive interactions, principally during the early implantation period (Belcher, Keddy, & Twolan-Strutt 1995). In the few studies using root characteristics to explain plant interactions, the focus largely rests on selective root placement in the soil (Hodge *et al.* 1999; Mommer *et al.* 2011). However, recent work highlights that root functional traits tell us more about plant competitive ability than root placement does; specific root length (SRL) appears to be the functional trait best related to plant resource-acquisition capacity (Mommer & Weemstra 2012) and respiration rate (Tjoelker *et al.* 2005). Plants with high SRL also have high nutrient acquisition and growth rates (Comas & Eissenstat 2004). As a consequence, they may compete for soil resources better than plants with low SRL (Mommer *et al.* 2011). Root length density (RLD) is a functional trait related to a plant’s ability to explore the soil and locate and acquire resources. Modelling approaches have shown that plants with high RLD can acquire resources at a higher rate, are more competitive and exclude other species from the habitat (Raynaud & Leadley 2005). Fort, Jouany, & Cruz (2012) highlight that well-established European grasses can be ranked along a gradient between two opposing functional groups: an acquisitive one with high SRL and low RLD and a conservative one with low SRL and high RLD. They hypothesised that acquisitive species were competitive species well-adapted to non-stressful habitats, while conservative ones were stress-tolerant species adapted to face stressful habitats but are poor competitors.

Species identity is not the only source of functional trait variability; environment may also influence plant trait attributes and simultaneously influence plant competitive abilities. This is why Kunstler *et al.* (2012) recommend also considering intraspecific variability of traits when analysing the link between plant trait attributes and plant competitive ability, particularly if this variability is linked to growth conditions. Additionally, trait variability may

be responsible for niche differentiation due to plant-strategy differentiation among habitats and, as a result, be responsible for whether species coexist within a habitat or not (Chesson 2000).

To evaluate the extent to which environment changes the link between plant functional traits attributes and the type and intensity of plant interactions, we grew four grass species in a greenhouse under a combination of two levels of P and water availability (four growth conditions). These two factors were chosen because they are, in addition to N, the three main factors limiting plant growth (White & Brown 2010). Moreover, P availability highly depends on soil water content since P has low mobility in soil, and diffusion in soil solution is the major mechanism governing its transfer between soil and roots (Stroia *et al.* 2007).

To distinguish between the competition-trait similarity and competition-trait hierarchy hypotheses, we focused on root functional traits describing the soil colonisation strategy (i.e. RLD) and investment by root length (i.e. SRL). To analyse plant P use in root growth, we propose a trait related to plants' abilities to optimise P use for resource acquisition: root P use efficiency (RPUE), expressed as the root length produced per unit mass of P. To determine which competition hypothesis better describes early-stage interactions between grasses, our objectives were i) to test whether the type and intensity of interaction between grass species is related to their root functional trait distance (absolute and hierarchical) or phylogenetic distance and ii) to evaluate whether growth conditions influence the relation between root trait distance or phylogenetic distance and the intensity of interaction between a pair of grass species.

II Materials and Methods

II.1 Plant species

We chose species from the *Poaceae* family to avoid the effects of greatly differing root tissue structure (dicots vs. monocots) and/or functioning (N-fixing vs. non-fixing species) on functional trait values. Four grass species were selected (*Bromus erectus*, *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, *Lolium arundinaceum*) that belong to two functional groups. *B. erectus* and *L. arundinaceum* are considered conservative species, while *D. glomerata* and *H. lanatus*, with an opposite root trait syndrome, are considered acquisitive species (Fort *et al.* 2012). Seeds of each species were collected from natural populations in Ercé, a French Pyrenean valley (42°50'N, 1°17'E; elevation 500-800 m). Plants were initially grown in a common garden in Auzeville, south-western France (43°31'N; 1°30'E; elevation 150 m),

beginning in autumn 2004. To set up the experiment, tillers of the four species were collected from this common garden.

II.2 Experimental design

The experiment ran from February 15th to June 6th 2011. One individual of each species was grown: i) individually in a monoculture (a single tiller was planted in the centre of each pot; 4 combinations); ii) in an intragroup interaction (two species, both from the same functional group; 2 combinations); iii) in an intergroup interaction (two species, one from each functional group; 4 combinations). For interaction treatments, the two tillers were positioned 2 cm from the centre of pots in opposite directions along the diameter. This design resulted in a set of ten different combinations, which was replicated four times within blocks ($10 \times 4 = 40$ pots). Each set of replicates was subjected to one of four growth conditions resulting from the combination of two water and two P treatment levels: high water and high P availability, high water and low P availability, low water and high P availability and low water and low P availability. To monitor functional traits and the change in plant interactions over time, we harvested five blocks three times at one-month intervals. The first harvest occurred four weeks after differing water treatments began (50 days after planting), the second and third harvests occurred 86 and 113 days after planting, respectively. As a result, the experiment began with 960 plants grown in 600 pots (40 x 5 x 3).

II.3 Growth conditions

Plants were grown in 10-cm diameter x 1-m deep pots, each containing 10 kg (dry weight basis) of soil. The soil used was a 1:1 mixture of sand and calcareous clay soil collected in a field near the common garden. This soil, which had not been fertilised during the previous 40 years, contained low available P and provided little P nutrition to the plants. The Olsen P value (Olsen *et al.* 1954) measured in the soil ($7 \text{ mg P.kg sol}^{-1}$) lay far below the minimum threshold of non-limiting P availability (Morel *et al.* 2000).

All pots were maintained at 20°C during the day and 17°C during the night, and the day:night ratio was 16h:8h. At the start of the experiment each pot was fertilised with 5 g of N (NH_4NO_3). Later, N was applied monthly ($1.24 \text{ g N.pot}^{-1}$) to prevent N shortage. Only pots of the high P-availability treatment were amended with commercial triple super phosphate (45% P_2O_5) to provide high P availability to plants (2 g P.pot^{-1}). To ensure adequate implantation of tillers, the water content of all pots was maintained close to field capacity by applying at least 15 ml of water twice a day during the first three weeks of the experiment. Afterward, half of

the pots were still watered twice a day, but the amount was increased to compensate for water uptake by plants; it reached 110 ml per day by the end of the experiment. These pots constituted the high water-availability treatment. The water content of the other half of the pots was maintained close to the wilting point by applying a mean of 12 ml of water per day. These pots formed the low water-availability treatment. To monitor the watering of all pots, soil moisture was monitored with 30 sensors (EC-5 DECAGON) randomly placed in 15 pots of each water-treatment level.

II.4 Harvests and measurements

The duration of each harvest did not exceed four days to limit differences in growth time between harvested plants. At each harvest, shoots of all plants were clipped at the root base, dried at least 48 h at 60°C and weighed to determine biomass. At the same time, monoculture pots were opened lengthwise and roots were carefully washed of soil particles under water and frozen (-18°C) to conserve them. Before scanning (at 400 dpi with an Epson Perfection 4990 scanner), roots were defrosted in cold water and a representative root subsample of each plant (more than 25% of the total root system) was stained with methylene blue (1%) for at least 12 hours to improve the contrast. Scans were analysed using WinrhizoTM software (Regent Instrument Inc., Sainte-Foy, Quebec, Canada) to measure the total subsample root length. After scanning, the root subsample and the rest of the root system were dried at least 48h at 60°C and weighed. For the second and third harvests, non-stained roots were also dried, then ground to measure root P concentration and calculate root P content (Van Veldhoven & Mannaerts 1987). From these data we calculated SRL (m.g^{-1} = subsample root length / subsample root mass), RPUE (m.mg^{-1} = subsample root length / subsample P content) and RLD (cm.cm^{-3} = $\text{SRL} * 10 * \text{total root mass}$) / total soil volume).

Species pair distances

For each species pair, the hierarchical trait attribute distance was calculated as $Tt - Tn$, where Tt is the trait attribute of the target species in the competition and Tn the trait attribute of its neighbour. Since each plant in the pair could be considered as both target and neighbour, two hierarchical trait attribute distances were calculated per pair, using each plant as the target. This led to the calculation of twelve hierarchical trait attribute distances (two for each interaction treatment). These twelve distances were calculated for the four growth conditions for each of the three harvests to consider trait attribute change with environment and time. Absolute trait attribute distance equalled the absolute value of the hierarchical trait attribute distance of the two plants in interaction, because the hierarchical trait attribute

distance of two interacting plants considered as target only differ by their sign. To calculate the phylogenetic distance, we developed a species-resolved phylogeny for the four species studied by combining published sequence data of the matK gene (Schaefer *et al.* 2011; Bruni *et al.* 2012). On the basis of this phylogenetic tree we summed the branch length separating each species pair to calculate the phylogenetic distance and, as a result, estimate the evolutionary relatedness between species pairs.

II.5 Index calculation

A competition intensity index (C_{Int}) was calculated to express the magnitude of the interactions between plants and their nature (i.e. competition, neutralism or facilitation). It is useful for comparing different pairs of plants experiencing the same growth condition or different growth conditions for the same pair of plants. Nevertheless, this index does not scale the magnitude of plant interaction relative to the effect of abiotic factors on their growth (Kikvidze, Suzuki, & Brooker 2011). We used the index formula proposed by Callaway *et al.* (2002):

$$C_{\text{Int}} = (P_{T-N} - P_{T+N}) / x$$

where, for a given species, growth condition and harvest, P_{T-N} is the shoot biomass of the target plant without neighbours, P_{T+N} is the mean shoot biomass of the target plant with neighbours and x is the maximum of P_{T+N} or P_{T-N} . A positive value indicates competition and a negative one facilitation. Moreover, the closer to 1 the absolute value of C_{Int} , the stronger is the effect of the neighbour on the target plant. All plants with a dead neighbour (24 out of the 740 planted in interactions) were excluded from analysis, since all plant death occurred during the implantation stage and was thus difficult to attribute to neighbour effects.

To assess the effect of abiotic stress among species, we calculated an abiotic stress intensity index on monoculture performance:

$$\text{Abiotic stress intensity} = (P_{T-S} - P_{T+S}) / x$$

where, for a given species and harvest, P_{T-S} is mean shoot biomass of the plant growth without shortage of a given factor, P_{T+S} is mean shoot biomass of the plant growth with shortage of a given factor and x is the maximum of P_{T-S} or P_{T+S} . The closer to 1 the value of abiotic stress intensity, the stronger is the effect of the shortage.

Table 15: (a) Root functional trait values of the four grass species studied for all growth conditions and harvests combined (mean \pm SE); (b) Index of stress intensity of the four grass species for all the harvests combined (mean \pm SE). Different letters indicate significant differences within a column (ANOVA and *post hoc* Tukey's HSD test, n for (a) = 228 , n for (b) = 56).

(a) Root functional traits			
Species	Specific Root Length (m.g ⁻¹)	Root Length	
		Density (cm.cm ⁻³)	Root Phosphorus Use Efficiency (m.mg ⁻¹)
<i>Bromus erectus</i>	189.6 \pm 6.1 b	3.7 \pm 0.5 a	96.3 \pm 6.9 b
<i>Dactylis glomerata</i>	220.9 \pm 9.0 c	7.4 \pm 1.9 c	123.6 \pm 7.1 c
<i>Holcus lanatus</i>	269.7 \pm 9.7 d	10.7 \pm 1.3 d	148.8 \pm 13.6 d
<i>Lolium arundinaceum</i>	155.4 \pm 8.4 a	4.5 \pm 0.6 b	76.6 \pm 5.2 a

(b) Index of stress intensity			
Species	Water stress intensity	Phosphorus stress intensity	Water and Phosphorus stress intensity
<i>Bromus erectus</i>	0.36 \pm 0.13 a	0.46 \pm 0.04 a	0.47 \pm 0.10 a
<i>Dactylis glomerata</i>	0.61 \pm 0.06 b	0.34 \pm 0.03 a	0.65 \pm 0.07 bc
<i>Holcus lanatus</i>	0.66 \pm 0.06 b	0.43 \pm 0.04 a	0.72 \pm 0.05 c
<i>Lolium arundinaceum</i>	0.44 \pm 0.12 a	0.35 \pm 0.03 a	0.58 \pm 0.09 ab

Table 16: Mean above-ground dry biomass at the third harvest of the four grass species studied, under four growth conditions (mean \pm SE). Different letters indicate significant differences within a column (ANOVA and *post hoc* Tukey's HSD test, n = 76)

Above-ground dry biomass (g)				
Species	High water and high P availability	High water and low P availability	Low water and high P availability	Low water and low P availability
<i>Bromus erectus</i>	17.5 \pm 1.1 a	10.4 \pm 1.2 a	3.7 \pm 0.9 a	2.4 \pm 0.7 a
<i>Dactylis glomerata</i>	48.1 \pm 2.5 c	33.7 \pm 1.3 c	9.8 \pm 1.7 b	6.7 \pm 0.7 c
<i>Holcus lanatus</i>	48.8 \pm 0.7 c	25.3 \pm 1.5 b	4.2 \pm 0.8 a	3.5 \pm 0.1 ab
<i>Lolium arundinaceum</i>	38.7 \pm 2.2 b	30.3 \pm 2.2 c	5.1 \pm 1.4 a	4.9 \pm 0.5 b

II.6 Data analysis

Relations between both hierarchical and absolute trait attribute distances and C_{Int} values of species pairs were assessed by ANCOVA. In these ANCOVA, the mean C_{Int} value of the target plant within each species pair were expressed as a function of the trait attribute distance between the two species in the pairs (hierarchical or absolute). Water treatment, P

treatment and harvest were added as co-variables (C_{int} and trait attribute distances were calculated for each growth condition and harvest). We used the same procedure for the phylogenetic distance, the only difference being that this distance did not change with growth conditions or harvest. For each model, the assumptions of normality and homoscedasticity were tested. We used the *post hoc* Tukey-HSD test to identify significant differences between means. Variance analyses of species coordinates on the trait attributes of species were performed to determine the influence of phylogeny on species' trait attributes using eigenvectors associated with the phylogenetic tree of the four species (Diniz-Filho *et al.* 1998). All statistical analyses were performed with R 2.12.1 software.

III Results

III.1 Species attributes and abiotic factors

Analysis of root functional traits confirmed that the species differed in their below-ground resource-acquisition strategies (Table 15a). *H. lanatus* and *D. glomerata* (acquisitive species) had the highest values of the three considered traits, while *B. erectus* and *L. arundinaceum* (conservative species) had the lowest (Table 15a). These differences in root functional strategies were not linked to phylogenetic distance between species (variance analysis results SRL $p = 0.82$, RLD $p = 0.61$, RPUE $p = 0.72$).

Differences in root functional strategies influenced species' above-ground biomass production and their ability to resist abiotic stress. The two species with the highest values of the three traits, i.e. *H. lanatus* and *D. glomerata*, were also the most productive in high water- and P-availability growth conditions and the most impacted by water stress and the combined effect of water and P shortage (Table 15b and Table 16). The four species were equally impacted by P shortage despite their root trait differences (Table 15).

III.2 Does hierarchical, absolute or phylogenetic distance correlate with the intensity of interaction?

Hierarchical trait distance of the three root traits was highly correlated with the C_{int} value of interacting species pairs (Table 17a; Figure 36Figure 37Figure 38). Among the three ANCOVAs, the best-fitting model included the RLD hierarchical distance (total R^2 of the model = 0.65), while the other two models included the RPUE hierarchical distance or the SRL hierarchical distance and had an R^2 of 0.49.

Table 17: Results from four-way-multifactorial ANCOVAs performed for the competition intensity index of species pairs as a function of their (a) hierarchical trait distance, (b) absolute trait distance, and (c) phylogenetic distance. Traits considered are: the specific root length (SRL); the root length density (RLD) and the root phosphorus use efficiency (RPUE). * RPUE was measured only for the last two harvests, making the degrees of freedom for its harvest effect equal to one. Bold values indicate statistical significance ($p < 0.05$), $n = 692$

(a) Hierarchical trait distance	SRL			RLD		RPUE	
	<i>Df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Distance	1	32.74	>0.001	92.46	>0.001	30.19	>0.001
Distance x Water	1	0.57	0.45	29.10	>0.001	0.39	0.53
Distance x Phosphorus	1	2.52	0.11	8.64	>0.01	1.26	0.26
Distance x Harvest	2*	0.06	0.81	0.01	0.91	0.37	0.54
Distance x Water x Phosphorus	1	7.39	>0.01	3.97	0.04	18.58	>0.001

(b) Absolute trait distance	SRL			RLD		RPUE	
	<i>Df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Distance	1	1.16	0.28	1.71	0.19	0.15	0.71
Distance x Water	1	0.01	0.94	0.05	0.81	0.00	0.96
Distance x Phosphorus	1	0.11	0.74	0.02	0.86	0.03	0.85
Distance x Harvest	2*	0.12	0.73	0.23	0.63	0.24	0.62
Distance x Water x Phosphorus	1	0.16	0.69	0.00	0.94	0.05	0.82

(c) Evolutionary distance	Competition intensity		
	<i>Df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Distance	1	1.38	0.24
Distance x Water	1	0.35	0.55
Distance x Phosphorus	1	0.00	0.97
Distance x Harvest	2	0.37	0.54
Distance x Water x Phosphorus	1	0.25	0.62

Regression slopes were negative for all of these models (Figure 36Figure 37Figure 38), indicating that the larger the hierarchical trait distance between two interacting species, the more the neighbour negatively affected growth of the target species. (Figure 36Figure 37Figure 38) also demonstrate that for the three traits, species with similar trait values (hierarchical distance close to zero) have intermediate C_{int} values, indicating no extreme competitive interactions for these species. At the same time, we did not observe significant relations between absolute distances of any traits or between phylogenetic distance and C_{int} values among species pairs (Table 17bc).

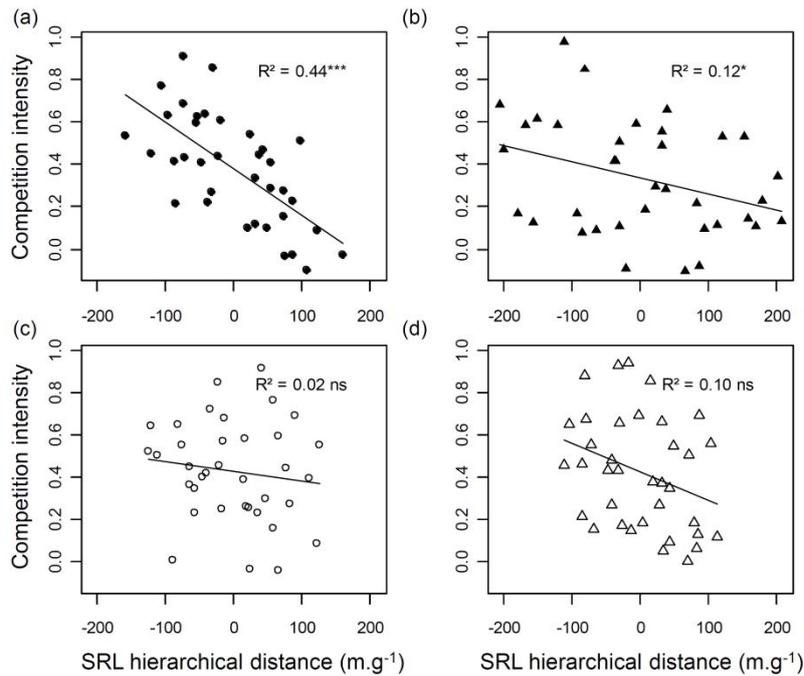


Figure 36: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the specific root length (SRL) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, $n = 36$ (12 species pairs \times three harvests).

III.3 Effects of growth conditions on relations between trait distance and competition intensity

For the three traits, growth conditions significantly influenced relations between hierarchical trait distances and C_{Int} (Table 17a). For example, the interaction between water and P treatments significantly influenced the slope of regressions between SRL hierarchical distance and C_{Int} values of species pairs (Table 17a, Figure 36). In fact, the slope of the relations differed significantly from zero only for the high water-availability treatment (Figure 36). Moreover, within the high water-availability treatment, slope and R^2 were greater in the high P-availability treatment than the low P-availability treatment (Figure 36a, b). As a result, the SRL hierarchical distance of species pairs was a good predictor of interaction outcomes only under conditions of high water- and P-availability.

The relation between RLD and C_{Int} was significantly influenced by growth conditions (Table 17) but remained negative and significant for all treatments (Figure 37). Regression slopes differed significantly between high and low water-availability treatments (-0.18 and -0.68, respectively), indicating that even small RLD distances between interacting plants may have had a stronger effect on interaction outcomes in the low water-availability treatment than the high water-availability treatment. Conversely, within the high water-availability treatment, the P treatment had a significant effect on the regression slope (Table 17a). When P availability was low, the absolute value of the regression slope was lower (Figure 37b, c),

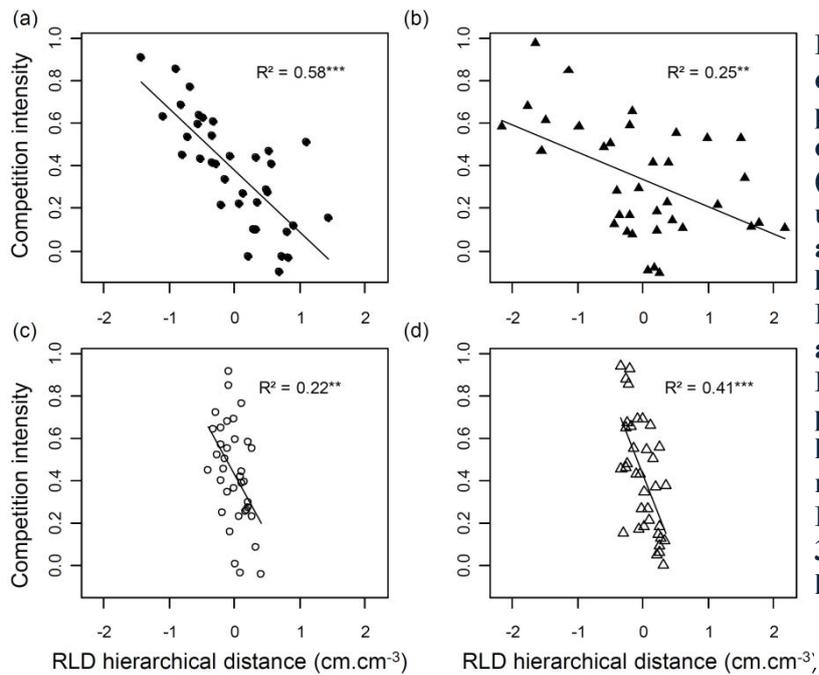


Figure 37: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the root length density (RLD) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, $n = 36$ (12 species pairs x three harvests).

highlighting that in these conditions small RLD distances had little effect on the outcome of interaction.

Interestingly, this effect of low P availability on the relation between RLD distance and competition intensity was not significant ($p = 0.38$) in the low water-availability treatment. Unlike the SRL hierarchical distance, that for RLD appeared to predict well the competition intensity between plants, even under conditions of low water availability.

The relation between RPUE hierarchical distance and C_{Int} was strongly influenced by the combined effect of water- and P-availability treatments (Table 16). Relations between these two parameters were negative and significant in all treatments except for the low water- and low P-availability treatment (Figure 38). These results indicate that RPUE hierarchical distance may explain competitive intensity under conditions in which P availability can strongly influence plant growth.

Regardless of the functional trait considered, the duration of growth in the pots had no effect on the relation between hierarchical trait distance and competition intensity of species pairs (Table 17).

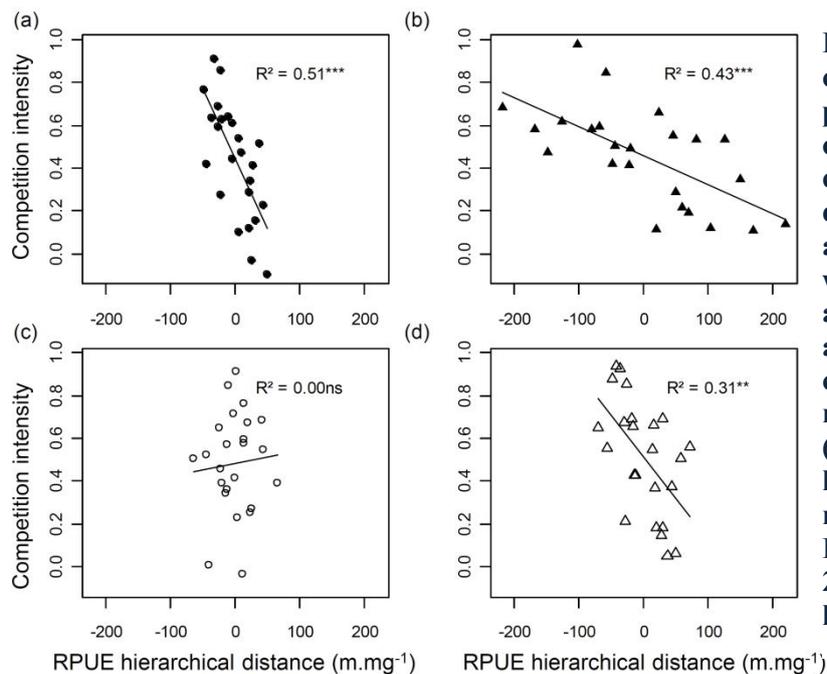


Figure 38: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the root phosphorus use efficiency (RPUE) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, $n = 24$ (12 species pairs x three harvests).

IV Discussion

IV.1 Hierarchical trait attribute distances and growth conditions drive neighbours' competitive effect

Results indicate that competition between pairs of grasses is linked to their hierarchical trait attribute distances but not to their functional similarity or phylogenetic relatedness. Since competition intensity coefficients are linked to the hierarchy of SRL, RLD and RPUE, these three traits are related to species' competitive abilities. Moreover, competition for soil resources appears to be a major driver of early-stage interactions between grasses. These results support the competition-trait hierarchy hypothesis for describing interactions between grasses, as recently suggested for trees (Kunstler *et al.* 2012). However, our results show that relations between hierarchical trait distances and competition intensity were influenced by abiotic treatments, suggesting that growth conditions influence competitor hierarchies.

Species with high SRL are strong competitors under high water- and P-availability conditions, which is consistent with the idea that this trait attribute is displayed by competitive, fast-growing species able to acquire and efficiently use soil resources (Comas & Eissenstat 2004; Mommer *et al.* 2011). These features allow them to be competitive in water- and nutrient-rich environments by acquiring the large amounts of resources necessary to sustain their rapid development of above-ground organs (Mommer & Weemstra 2012).

However, acquisitive fast-growing species appear to be more impacted by water shortage than conservative ones, perhaps explained by their high water demand to sustain high growth rates (Grime 1977). This strong impact of water shortage on the growth of acquisitive species explains the lack of correlation between SRL hierarchical distance and competition intensity of species pairs in the low water-availability treatment. Under these conditions, acquisitive species were unable to tolerate stress and, as a consequence, their growth decreased more than that of conservative species. We hypothesise that this reduction in growth is responsible for decreasing competitive effects of acquisitive plants on their neighbours. This may explain why functionally contrasting species can coexist in Mediterranean grassland habitats with intermediate stress levels, under which acquisitive species can persist without competitively excluding conservative species (Bernard-Verdier *et al.* 2012).

Results show a strong relation between the RPUE and competition intensity of interacting species. Species with high RPUE are stronger competitors than species with lower RPUE, which is consistent with the idea that the more efficiently a species uses resources, the more competitive it becomes (Funk & Vitousek 2007). In this study, this relation depended greatly on growth conditions, specifically which factor(s) limited plant growth. As a result, one can argue that it is not plants' overall resource-use efficiency that drives their competitive ability, but their ability to efficiently use the most limiting resources in a given environment (Westoby *et al.* 2002).

We demonstrated that regardless of the growth condition considered, species with high RLD were more competitive than those with low RLD. This finding supports model predictions of RLD as a main component of competitiveness in grass species (Craine 2006), which may explain some cases of competitive exclusion (Raynaud & Leadley 2005). Compared to the inclusion of SRL and RPUE, the advantage of including RLD in this type of approach is its integrative value. RLD considers not only the kind of root produced (SRL) but also a plant's production capacity (root biomass) in considered habitats, integrating the effects of abiotic conditions on plant growth. Regardless of the growth conditions, plants with higher RLD than their neighbours may be able to acquire more resources (Craine 2006; Mommer *et al.* 2011) and grow larger than their neighbours, thereby becoming more competitive. However, although acquisitive species had higher RLD in this short-term study, they did not when grown for four years (Fort *et al.* 2012). It would be interesting to test in a long-term field study whether RLD is always correlated with plant competitive ability or whether this relation changes with time or with environmental factors other than water or P availability.

IV.2 No evidence for the competition-trait similarity hypothesis

As discussed, when considering SRL, RLD and RPUE, the competition-trait hierarchy hypothesis describes interactions between grasses well under a variety of growth conditions. Moreover, even under growth conditions in which hierarchical trait distances failed to explain competition intensities between species pairs, we found no evidence that the competition-trait similarity or competition relatedness hypotheses explained them better, since absolute trait distance or phylogenetic distance never correlated with the competition intensity index. Similarly, recent studies on trees (Uriarte *et al.* 2010; Kunstler *et al.* 2012), and more generally on vascular plants (Cahill *et al.* 2008), failed to support the competition relatedness hypothesis. Moreover, competition has reduced trait variations and species richness in rich meadows (Grime 2006). These results show the influence of growth condition on the importance of niche similarity in driving plant competition at the neighbourhood scale (Kraft & Ackerly 2010).

In our study, differences in functional trait attributes did not appear to induce spatial niche segregation within pots (Chesson 2000). In optimal growth conditions, i.e. high water and P availability, the competitiveness of interacting species, summarised by trait attributes, was clearly the main factor driving interaction strength. However, application of stress tended to modify the relative competitiveness of species pairs by strongly decreasing the growth of competitive species.

V Conclusion

Our results demonstrate that during early stages of implantation, the competition-trait hierarchy hypothesis better explains interaction strength between grasses than the competition-trait similarity hypothesis. We also showed that species may occupy different niches by having different trait values and tolerances for abiotic stress but interact fiercely when put in competition within the same space. These results show that investment in root production and the type of root produced are important factors defining plant competition ability. This work opens new perspectives in the field of plant-interaction studies by highlighting the importance of root resource-acquisition strategies on plant competition and coexistence.

VI Acknowledgements

This work was funded by the ANR project O2LA (ANR-09-STRA-09). F.F. was supported by a doctoral fellowship from the French Ministry of Education and Research. We are grateful to E. Lecloux for technical assistance and to P. Mouton, M. Rougier and E. Decorsière for their help measuring traits. We also thank C. Roumet and C. Picon-Cochard for advising and sharing their expertise on root functional-trait studies.

Discussion

Cette dernière partie de mon travail de thèse a deux objectifs. Le premier est de synthétiser les résultats que j'ai obtenus et le second est d'en dégager les perspectives. Je vais donc mettre en relation les résultats obtenus dans les trois chapitres pour faire ressortir les principales avancées qui en découlent. Mais avant cela je vais rappeler brièvement les objectifs de ma thèse. L'objectif principal était de tester si les stratégies de gestion des ressources au niveau du système racinaire et les liens entre stratégies racinaires et foliaires étaient reliées à l'aptitude des plantes à se développer dans des milieux contraints pour l'eau et le phosphore en présence ou non de concurrents.

J'ai choisi dans mon travail de détailler cet objectif en trois questions : i) Quelles sont les stratégies de développement racinaire des *Poaceae* et *Fabaceae* prairiales et quels sont les liens qui les relient aux exigences écologiques des espèces? ; ii) Existe-t-il des liens entre les stratégies de développement racinaire des espèces et leur capacité à résister au stress hydrique ou au stress phosphorique ? ; iii) Comment les valeurs de traits fonctionnels racinaires et les disponibilités en eau et en phosphore influencent les interactions entre espèces de *Poaceae*? Les paragraphes I à III répondront aux trois questions posées précédemment. Le paragraphe IV sera quant à lui consacré aux perspectives en termes d'implantation de prairies et d'assemblages d'espèces.

I Le compromis capture-conservation au niveau du système racinaire

I.1 Un premier axe de gestion des ressources

Quelles que soient les conditions de croissance et les espèces considérées nous avons mis en évidence au travers de ce travail de thèse (**Chapitre I**) qu'il existe un axe principal de spécialisation opposant les plantes ayant des stratégies de capture des ressources (forte SRL et faible diamètre) aux plantes ayant des stratégies de conservation des ressources (faible SRL et fort diamètre). Ces résultats confirment l'opposition entre ces deux types de stratégies le long d'un gradient de valeur de traits (Tjoelker *et al.* 2005; Roumet *et al.* 2006; Picon-Cochard *et al.* 2011). Ils mettent aussi l'accent sur le fait que l'appartenance à des familles aussi différentes en termes de développement racinaire que les *Fabaceae* et les *Poaceae*, n'a pas d'effet significatif sur les valeurs de traits reliés à cet axe (Figure 39) et donc sur les stratégies mises en places au niveau des racines fines (**Chapitre II**). Cela appuie l'idée qu'il existe un "root economic spectrum" (Roumet *et al.* 2012) le long duquel les espèces pourraient être rangées en fonction du diamètre et de la SRL de leurs racines fines. En termes d'analyse cet

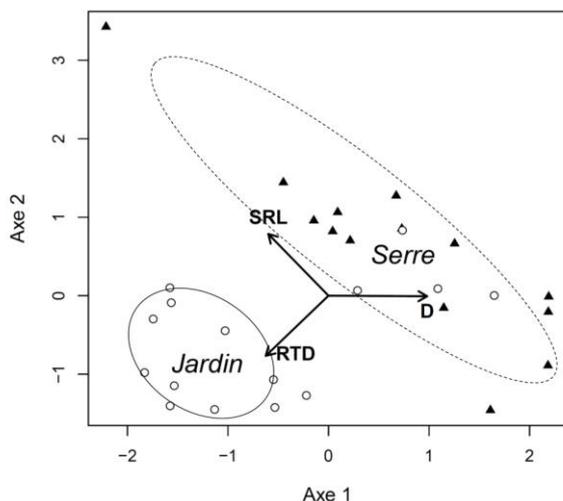


Figure 39 : Analyse en composante principale représentant les espèces étudiées dans cette thèse dans un plan formé à partir de trois principaux traits (SRL, D et RTD) mesurés dans deux conditions de croissance : i) en jardin commun : cercle en trait plein ; ii) en serre : cercle en tiret. Les *Poaceae* sont représentées par des ronds blancs les *Fabaceae* par des triangles noirs.

axe pourrait être le pendant du "leaf economic spectrum" (Wright *et al.* 2004), c'est-à-dire un gradient allant des espèces ayant des racines fines à la durée de vie courte très efficaces pour la capture des ressources à celles ayant des racines de gros diamètre à durée de vie longue avec des vitesses d'acquisition des ressources plus lentes. Cela semble d'ailleurs confirmé par le fait que la SLA qui est une des principales composantes¹⁶ du "leaf economic spectrum" est généralement positivement corrélée à la SRL (Freschet *et al.* 2010; Liu *et al.* 2010; Fort *et al.* 2012).

I.2 Les traits reliés à l'axe de gestion des ressources

¹⁶ C'est en fait l'inverse de la SLA, la "leaf mass area" qui a été utilisé pour par Wright *et al.* (2004) pour la construction du "leaf economic spectrum".

La RTD est généralement associée à la gestion des ressources par les plantes (Eissenstat 2000). En effet Picon-Cochard *et al.* (2011) ont montré que plus la RTD est forte plus les racines ont des taux de respiration importants par unité de biomasse. Ce qui tend à relier ce trait à l'axe de gestion des ressources. En effet comme ce qui a été établi au niveau des feuilles (Wright *et al.* 2004) un taux de respiration élevé serait caractéristique de stratégies de capture des ressources (Eissenstat 2000; Tjoelker *et al.* 2005).

Cependant chez les *Poaceae* implantées dans un sol naturel non remanié pour être mis dans des pots (**Chapitre I.I** et Picon-Cochard *et al.* 2011), il apparaît que la RTD n'est pas corrélée avec l'axe diamètre-SRL alors que c'est le cas pour des *Poaceae* ($r = -0.47$, test de corrélation de Pearson $p < 0.001$) et les *Fabaceae* ($r = -0.64$, test de corrélation de Pearson $p < 0.001$) cultivées en serre, comme nous l'avons montré dans les **Chapitre I.II** et **II**.

On peut donc faire l'hypothèse que les conditions de croissance modifient les relations entre la RTD et l'axe de gestion des ressources par des modifications de la structure des racines qui par contre ne vont pas changer les relations entre SRL et diamètre moyen (Figure 39).

La longueur des poils absorbants est quand à elle bien corrélée à l'axe de gestion des ressources. Les plantes qui possèdent des racines avec des diamètres moyens élevés développent des poils racinaires longs, alors que les plantes qui produisent des racines fines vont avoir des poils racinaires courts (**Chapitre II**). Bien que nous n'ayons pas pu le mesurer il apparaît aussi clairement sur nos observations que les racines de gros diamètres ont des densités de poils plus importantes (Figure 40). Cela marque l'existence d'un compromis entre deux stratégies d'investissement dans les structures d'acquisition des ressources. On peut faire l'hypothèse que les plantes à stratégie de conservation acquièrent une part importante de leurs ressources via les poils absorbants, alors que chez les plantes à capture c'est la racine elle-même qui est responsable de l'acquisition des nutriments. Ce n'est pas sans rappeler le compromis entre investissement dans les mycorhizes ou la mise en place de poils absorbants.

D'ailleurs chez les *Fabaceae* l'axe capture-conservation des ressources est aussi relié

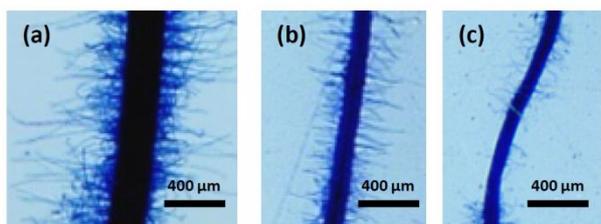


Figure 40 : Photographies de racines de (a) *Vicia cracca*, (b) *Anthyllis vulneraria* et (c) *Trifolium campestre*.

au taux de mycorhization (**Chapitre I.II**) et toujours chez les *Fabaceae* nous avons pu observer une corrélation négative, même faiblement significative ($r = 0.46$, test de corrélation de Pearson $p = 0.10$) entre longueur de poils absorbants et taux de

mycorhization. Ces résultats nous laissent à penser que les plantes à stratégie de capture seraient plus dépendantes de leurs mycorhizes que les plantes à conservation et confirme qu'elles mettent en place des taux de mycorhization importants (Roumet *et al.* 2006). Donc, plus que favoriser l'acquisition de ressources pour faciliter la tolérance au stress, il semble que les AMF permettent aux plantes de milieux riches d'acquérir rapidement des ressources et notamment du phosphore. Cela est confirmé par Lambers *et al.* (2008) qui mettent en évidence que les mycorhizes de types AMF se retrouvent chez des plantes de milieux plutôt riches alors que dans les milieux très pauvres, notamment en phosphore, les plantes présentent des poils racinaires très longs et denses, mais ne dépendent pas de mycorhizes.

Nous avons aussi mis en évidence que la production de phosphatase de surface était bien corrélée à cet axe de gestion des ressources (**Chapitre II**) et que ce sont les plantes à stratégie de capture des ressources qui produisent par unité de biomasse le plus de ces enzymes capables d'hydrolyser le phosphore organique pour le rendre disponible.

Cet axe de gestion des ressources, au niveau des racines fines, rend aussi compte de l'investissement des plantes dans leur système racinaire. En effet les plantes ayant une stratégie de conservation investissent des biomasses plus importantes dans leurs systèmes racinaires que les autres dans leur système racinaire, et cela que ce soit chez les *Fabaceae* ou les *Poaceae* (**Chapitre I.I** et **I.II**). Le phénomène est très marqué chez les *Poaceae* cultivées en jardin commun depuis plusieurs années. On peut faire l'hypothèse que cela est dû à un renouvellement plus lents des racines chez les espèces à stratégie de conservation (Eissenstat 2000 ; McCormack *et al.* 2012) qui aboutirait à l'accumulation de biomasse dans le sol au fil du temps.

I.3 L'axe de gestion des ressources et la gestion des stress abiotiques

I.3.a Relation avec l'indice de continentalité

Que ce soit chez les *Fabaceae* (**Chapitre I.II**) ou chez les *Poaceae* ($r = -0,68$ $p = 0,04$) l'axe de gestion des ressources est corrélé à la continentalité de l'habitat des espèces estimé par l'indicateur de continentalité d'Ellenberg (Ellenberg *et al.* 1991). Nous avons donc mis en évidence que les espèces qui ont des stratégies racinaires de conservation des ressources sont adaptées aux milieux continentaux alors que les espèces à stratégie de capture sont elles adaptées aux milieux océaniques. Ce gradient de continentalité peut être assimilé à un gradient d'intensité de stress. En effet, les habitats continentaux sont, par définition, caractérisés par des écarts de température très marqués, avec des étés très chauds et des hivers

très froids. De plus, Ejrnaes & Bruun (2000) ont montré que les milieux continentaux se caractérisaient également par une faible disponibilité en eau. L'axe capture-conservation établi à partir des traits racinaires, peut donc être interprété comme un axe de tolérance aux stress notamment hydriques et thermiques, avec d'un côté les espèces à stratégie de conservation des ressources tolérantes aux stress et celles à stratégies de capture, rudérales ou compétitrices (Grime 1977). Nos résultats élargissent donc au compartiment racinaire les résultats de (Franzaring, Fangmeier, & Hunt 2007), qui eux sur la base de traits foliaires ont mis en évidence que les espèces de milieux continentaux étaient généralement de type stress-tolérantes.

I.3.b La résistance au stress hydrique

Sur la base du résultat énoncé précédemment nous nous attendions à ce que les espèces à stratégie de conservation soient les plus aptes à résister au stress et notamment au stress hydrique. Cela à d'ailleurs été confirmé par les résultats que nous avons obtenu lorsque nous avons fait pousser en condition stressantes pour l'eau quatre des espèces de *Poaceae*, dont deux étaient à stratégie de capture des ressources et les deux autres à stratégie de conservation. Dans ce cas les deux espèces à stratégie de conservation ont été moins impactées par le stress hydrique (**Chapitre III**). Or les données présentées dans le **Chapitre II** montrent l'inverse. En effet, lorsque les 4 *Poaceae* sont considérées en même temps que 14 *Fabaceae* il apparaît que les plantes ayant des stratégies de conservation des ressources sont plus impactées par le stress hydrique que les plantes à stratégies de capture (**Chapitre II**).

Deux facteurs expliquent ces différences. Le premier, et selon moi le plus important, est le facteur temps. Dans le **Chapitre III** nous avons pris en compte l'évolution au cours du temps du l'effet du stress hydrique sur le développement des plantes. Pour les deux premières récoltes après 50 et 86 jours de développement les plantes à stratégie de conservation étaient moins impactées par le manque d'eau, que les plantes stratégies de capture (avec des indices d'intensité de stress respectifs de 0.25 et 0.55, ANOVA $p < 0.001$). Par contre à la troisième récolte après plus de 100 jours de croissance il n'y avait plus de différences significatives (0.78 et 0.84, ANOVA $p = 0.96$). Nous pouvons faire l'hypothèse qu'à ce stade de développement le stress était tellement fort que même les plantes à stratégie de conservation, pourtant peu exigeantes en ressources, étaient elles aussi très limitées. Or ce sont les données issues de cette récolte que nous avons utilisé dans les analyses du **Chapitre II**, cela afin d'avoir des durées de stress comparables entre *Fabaceae* et *Poaceae*.

Le second facteur expliquant ces différents résultats est l'écart de gamme de variation des traits en lien avec la gestion des ressources entre *Fabaceae* et *Poaceae*. En effet bien que nous ayons choisi les quatre espèces de *Poaceae* de façon à ce qu'elles couvrent une large gamme des traits la plus large possible, leur SRL varie par exemple de 122 à 219 m.g⁻¹ là où les *Fabaceae* vont de 38 à 596 m.g⁻¹. Cela peut expliquer que pour un niveau de stress très fort les quatre *Poaceae* ne disposent pas de stratégies suffisamment contrastées pour montrer des réponses différentes. Alors que chez les *Fabaceae* la gamme de stratégie plus large permet encore de mettre en avant des différences d'impact du stress, même pour des stress très forts. Cette gamme de variation plus forte permet aussi d'avoir des résultats plus facilement généralisables et certainement plus représentatifs. Il aurait cependant été intéressant d'avoir pour les *Fabaceae* comme pour les *Poaceae* plusieurs dates de récoltes, cela afin de tester si sur une gamme de variation de traits plus large l'impact du stress changeait au cours du temps et en fonction des stratégies des plantes.

En conclusion nous avons donc mis en évidence que pour des stress hydriques longs les plantes à stratégie de conservation voient leur croissance plus limitée que celle des plantes à stratégies de capture. Cela peut s'expliquer par le fait que les plantes à stratégie de conservation sont par définition moins efficaces pour l'acquisition des ressources que les plantes à stratégie de capture. Ce qui va, en conditions limitantes, se traduire par des quantités de ressources acquises plus faibles par unité de temps et donc une croissance plus limitée (Mommer *et al.* 2011). D'un point de vue agronomique sur une année cette stratégie n'est pas profitable car elle ne permet pas de maintenir une production importante en condition de stress. Cependant dans le cas d'un stress hydrique, réduire fortement le développement n'est pas forcément une mauvaise stratégie pour survivre (Gibert *et al.* 2012). En effet en limitant leur croissance les plantes à stratégie de conservation réduisent leur consommation d'eau. Ce qui explique que pour un même niveau d'apport en eau, les espèces (*Poaceae* et *Fabaceae* confondues) à stratégie de conservation¹⁷ vont conserver une humidité du sol plus importante que les espèces à stratégie de capture (avec respectivement 6.5 et 5.2% MS d'humidité du sol, pour un point de flétrissement à 4.4% MS, ANOVA $p < 0.01$). Elles maintiennent donc un stock d'eau accessible plus important ce qui leur permet certainement de survivre plus longtemps en cas de sécheresse prolongée.

¹⁷ Partition dans les deux groupes en fonction de la position des espèces sur les ACP des **Chapitre I.I et I.II**. Pour les *Poaceae* les espèces à stratégie de conservation sont *B. erectus* et *L. arundinaceum*, pour les *Fabaceae* ce sont *O. viciifolia*, *V. cracca*, *V. tenuis* et *V. sepium*. Les espèces à capture sont *D. glomerata* et *H. lanatus* pour les *Poaceae* et pour les *Fabaceae* ce sont *M. lupulina*, *T. campestre*, *T. fragiferum*, *T. pratense* et *T. repens*.

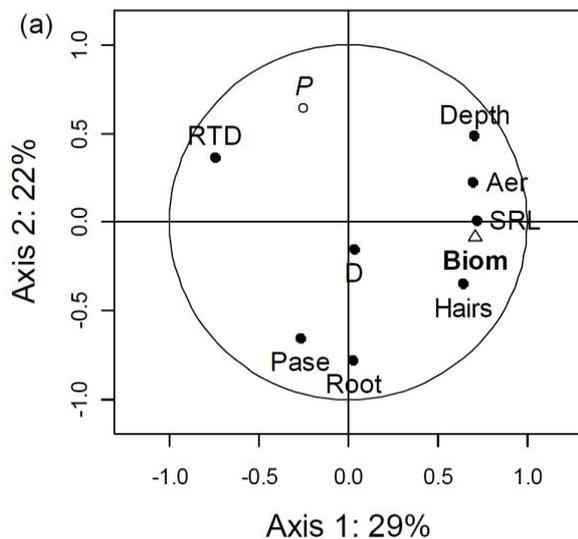


Figure 41 : Cercle de corrélation d'une analyse en composante principale portant sur les réponses de 8 traits fonctionnels au manque de phosphore mesurées sur 18 espèces prairiales. Ronds noirs : traits racinaires : Aer: proportion d'aérenchyme; D: diamètre racinaire; Depth: profondeur de 95% de la longueur racinaire; Hairs: longueur des poils racinaires; Pase: activité des phosphatase de surfa; Root: masse racinaire; RTD: densité de tissus racinaire; SRL: longueur racinaire spécifique. Rond blanc : P: intensité du stress en phosphore. Triangle blanc : Biomasse aérienne produite en condition de manque de phosphore

I.3.c Résistance au stress en phosphore

Bien que l'indice écologique d'exigence en phosphore (Pervanchon 2004) ne soit pas corrélé avec l'axe de gestion des ressources, les plantes à stratégies de conservation ont aussi été plus impactées par le manque de phosphore que les plantes à stratégie de capture (**Chapitre II**). Là encore nous pouvons faire l'hypothèse que cela est lié à un manque d'efficacité pour l'acquisition de ressources en lien avec les caractéristiques du système racinaire (SRL faible, gros diamètres racinaire, forte densité des tissus, faible production d'aérenchymes...). D'ailleurs notre travail permet de généraliser au niveau d'espèces pérennes (englobant des *Fabaceae* et *Poaceae*) certains résultats obtenus sur les espèces annuelles de grande culture (maïs, haricot), i.e. une production de racines fines peu denses comportant des aérenchymes permet de mieux résister au manque de phosphore (Lynch 2007) tout comme une production de phosphatases de surface (Richardson *et al.* 2011). Mais nous avons aussi mis en évidence que des compromis comme celui déjà abordé entre la longueur des poils racinaire et le diamètre moyen des racines fines rendrait compliqué (voire impossible) la sélection de plantes se rapprochant de l'idéotype de plante efficace pour l'acquisition du phosphore proposé par Lynch 2007 et repris par Richardson *et al.* (2011). Enfin nos résultats remettent en question les résultats des modèles traitants de l'acquisition du phosphore où des paramètres comme le diamètre des racines et la longueur des poils racinaires varient indépendamment (Brown *et al.* 2012), alors que dans notre étude ils sont très corrélés.

Cependant notre dispositif expérimental nous limite pour aller plus loin dans l'établissement d'un lien entre les stratégies racinaires et l'adaptation des plantes à des conditions de croissances limitantes ou non pour le phosphore. En effet nous avons travaillé principalement avec des espèces pérennes, donc même si au cours de leur premier cycle les

espèces à stratégies de capture ont été moins impactées par le manque de phosphore rien ne nous dit que ce serait le cas pour le cycle suivant. En effet les plantes à stratégie de conservation peuvent ménager leur utilisation des ressources du sol, comme nous venons de le montrer pour l'eau. Elles peuvent aussi limiter leurs pertes de phosphore dans la litière. En effet le phosphore est un élément mobile dans les plantes elles ont donc la possibilité de le renvoyer vers les racines lors de la sénescence. Comme cela a été mis en évidence pour l'azote (Gastal & Lemaire 2002; Pons & Anten 2004). Elles pourraient ainsi remobiliser ce phosphore au cours du cycle suivant et voir leur croissance moins affectée par la faible disponibilité en phosphore du sol, ce qui ne serait pas le cas des plantes à stratégie de capture qui elles, pourraient perdre une part importante de leur phosphore dans le renouvellement de leurs tissus et donc être plus impactées au cycle suivant. Il serait intéressant de tester ces hypothèses par des expérimentations de plus longue durée prenant en compte plusieurs cycles de croissances et sur des gradients de disponibilité en phosphore.

I.4 Réponses des traits et performances des espèces en condition de manque d'eau et de phosphore

Nous avons mis en évidence (**Chapitre II**) que les espèces répondaient de façons différentes aux stress. Pour un même stress et un même trait les espèces peuvent se répartir en trois groupes : i) celles qui ne changent pas leurs valeurs de trait ; ii) celles qui augmentent cette valeur ; iii) et celles qui la diminuent. Ces variations de valeurs de traits sous l'effet des stress peuvent être reliées soit à l'aptitude des plantes à résister aux stress soit à leur productivité en condition stressante.

Nous avons pu observer que dans le cas du stress en phosphore, les plantes qui augmentaient leur SRL, leur longueur de poils absorbants et la proportion de leur cortex occupée par des aérochymes, étaient les plus productives en condition de stress (Figure 41). Donc les plantes qui augmentent leurs valeurs de traits en liens avec efficacité d'acquisition des ressources en cas de stress en phosphore (indépendamment de leur stratégie en condition non-stressantes) sont capables de produire plus de biomasse que les autres. Alors que nous n'avons pas mis en évidence de lien entre stratégie en condition optimale et production plus forte en condition de stress. Donc étudier les réponses des valeurs de traits des plantes au manque de phosphore est plus informatif sur leur capacité à produire dans des conditions de stress que de mesurer leurs traits en condition optimale.

Par contre toujours dans le cas du stress en phosphore l'intensité du stress subi n'est pas modifiée par une augmentation des capacités d'acquisition des ressources (via des

variations de SRL, diamètre...) mais varie de la même façon que la RTD et de façon opposée à la production de biomasse racinaire et de phosphatase de surface. Donc plus les plantes investissent dans leur système racinaire et produisent des phosphatases de surface, moins en cas de manque de phosphore leur production de biomasse aérienne sera inférieure à leur production en condition optimale. Mais cela, sans garantir qu'elles vont avoir des productivités élevées. En effet, une espèce produisant peu de biomasse, même faiblement impactée par le stress risque d'être toujours moins productive qu'une espèce produisant beaucoup de biomasse fortement impactée par le stress. Par contre l'augmentation de la RTD des tissus n'apparaît pas comme une stratégie intéressante pour limiter l'impact d'un manque de phosphore. Il serait donc intéressant de trouver des espèces productives capables de diminuer leur RTD, d'augmenter leur production de phosphatase de surface et de biomasse racinaire en cas de manque de phosphore. Cela pourrait ainsi leur permettre de maintenir une production plus élevée que les autres en condition de stress.

Pour ce qui est de la réponse au stress hydrique, aucune variation de traits n'est reliée à des meilleures productivités en conditions stressantes. C'est-à-dire que nous n'avons pas mis en évidence de variation de traits qui auraient permis à certaines plantes de produire plus que les autres. Par contre l'augmentation de la SRL et de la profondeur d'enracinement ainsi que la diminution de la surface du cortex occupée par des aerenchyme apparaissent comme les réponses de plantes très impactées par le stress hydrique. Pour la SRL ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Padilla *et al.* (2013). Mais nous montrons bien que l'augmentation des valeurs de SRL ne marque pas un plus faible impact du stress hydrique sur le développement des plantes. Ces augmentations de la SRL, de la profondeur d'enracinement ou diminution de la production d'aerenchymes seraient donc plus des réponses marquant un fort effet du stress sur le développement de la plante que des adaptations mises en place pour permettre aux plantes de mieux supporter le stress hydrique.

Il est à noter qu'alors que la proportion de cortex occupée par des aerenchymes n'était pas corrélée à l'axe de gestion des ressources, ses variations sont elles corrélées aux variations des traits marquant la gestion des ressources. Cela marque l'importance de ce paramètre dans les stratégies d'acquisition des ressources mises en œuvre par les plantes prairiales. *

I.5 L'axe de gestion des ressources et la compétitivité chez les *Poaceae*

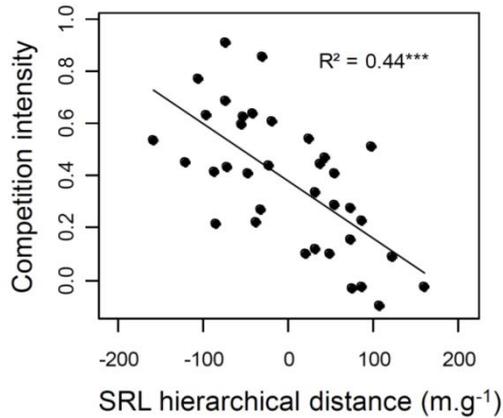


Figure 42 : Relation entre la distance hiérarchique des valeurs de SRL d'un couple d'individu (plante cible et voisin) et l'intensité de la compétition perçue par la plante cible.

Des stress s'accompagnaient d'une plus faible aptitude à la compétition et par conséquent si les espèces à stratégies de capture étaient des compétitrices plus efficaces que les espèces à stratégie de conservation. En d'autres termes nous avons cherché à tester si l'axe de gestion des ressources au niveau du système racinaire pouvait être interprété comme un axe séparant les espèces tolérantes aux stress des compétitrices. Nous avons vérifié cette hypothèse pour quatre *Poaceae* qui présentent des stratégies contrastées le long de cet axe (**Chapitre III**).

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence que la SRL qui est le principal trait supportant l'axe de gestion des ressources permettait de hiérarchiser l'aptitude à la compétition chez 4 *Poaceae* cultivées en condition de croissance non-limitantes pour l'eau, l'azote et le phosphore. En effet, dans ces conditions plus les deux espèces en interaction avaient des valeurs de SRL différentes plus la compétition était déséquilibrée et plus la plante à stratégie de conservation était impactée par la présence de son voisin (Figure 42). L'axe de gestion des ressources peut donc être analysé comme un axe allant des plantes ayant de faibles aptitudes à la compétition à celles qui sont des compétitrices efficaces.

Cependant, comme nous l'avons démontré (**Chapitre II**) la SRL est un trait plastique qui rend compte de la réponse des plantes à leur condition de croissance (Padilla *et al.* 2013). Cette plasticité a pour conséquence de modifier les distances en termes de valeur de traits et de mettre en évidence que les différences de SRL ne rendaient compte des différences de compétitivité au sein de couples d'espèces que pour des conditions de croissances non limitantes pour l'eau. Cela est lié au fait qu'en cas de stress hydrique l'espèce ayant la SRL la plus élevée, *i.e.* *H. lanatus* voit sa biomasse chuter au point de ne plus différer de celle de *B. erectus* et voire même, dans le cas d'un stress hydrique, d'être inférieure à celle de *L.*

Dans le **chapitre I** nous avons mis en évidence que les plantes à stratégie de conservation des ressources pouvaient être qualifiées de tolérantes aux stress. Il est apparu que cette tolérance ne se traduisait pas par le maintien d'une productivité plus importante en conditions de stress (en eau ou en phosphore) ou même un plus faible impact des stress sur leur croissance mais bien par la conservation de niveaux de ressources plus élevés dans leur milieu (**Discussion I.3.b**). Il restait donc à vérifier si cette tolérance au

arundinaceum. Dans ce cas, la hiérarchie des compétiteurs ne suit plus leurs différences de valeurs de SRL, cependant elle n'est pas non plus inversée. En effet les plantes à stratégie de conservation n'apparaissent pas comme de meilleures compétitrices que les plantes à stratégie de capture en condition de stress, comme on pourrait s'y attendre en se basant sur la théorie R* de Tilman. Ce résultat met en évidence que plus les plantes vont présenter des SRL fortes, plus elles vont être des compétitrices efficaces dans des conditions de croissance optimales mais par contre vont être impactées par les stress ce qui correspond à la définition d'espèces compétitrices selon Grime (1977).

La SRL n'est pas le seul trait renseignant sur la gestion des ressources dont nous avons étudié la relation avec l'aptitude des plantes à la compétition. La RLD et la RPUE¹⁸ ("root phosphorus use efficiency") sont deux autres traits permettant d'expliquer l'intensité et le sens de la compétition au sein de paires d'espèces. En effet nous avons mis en évidence que, excepté lorsque l'eau est limitante et le phosphore apporté en grande quantité, la distance hiérarchique des RPUE permettait d'expliquer le type et l'intensité des interactions au sein d'un couple de plantes. L'efficacité d'utilisation d'une ressource au niveau du système racinaire semble donc expliquer la compétitivité d'une espèce dans un milieu où cette ressource est limitante. Par contre l'efficacité pour l'utilisation d'une ressource ne renseigne pas sur l'aptitude des plantes à la compétition dans un milieu où elle n'est pas limitante (**Chapitre III**).

Pour ce qui est du RLD nous avons mis en évidence que, dans les quatre conditions de croissance étudiées, ce sont les plantes capables de produire les RLD les plus importantes qui avaient le plus fort impact sur leurs voisines et que plus la distance en terme de RLD était grande entre ces espèces, plus les interactions étaient déséquilibrées. Le fait que la RLD soit plus efficace que la SRL pour prédire les interactions entre les plantes peut surprendre car, dans notre travail, ce trait apparaît comme très lié à la SRL¹⁹ (**Chapitre I et III**). Cependant, nous pouvons faire l'hypothèse que cela est dû au fait que si la SRL rend bien compte d'un développement potentiel du système racinaire qui permet de prédire le comportement des plantes en conditions optimales, la RLD, elle, rend compte de l'état de la plante quel que soit son stade de développement ou ses conditions de croissance. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Mommer *et al.*, (2011) sur deux autres espèces de graminées et mettent en évidence l'importance de la SRL et de la RLD dans l'étude du comportement souterrain des

¹⁸ La RPUE est l'efficacité d'utilisation du phosphore au niveau des racines exprimée en mètres de racines produits par mg de phosphore.

¹⁹ La RLD est calculée de la façon suivante $(SRL * \text{Biomasse racinaire}) / \text{Volume de sol exploré}$.

Poaceae. Il reste maintenant à tester si ces résultats sont transposables aux autres familles de plantes. Pour ce faire d'autres paramètres devraient être pris en compte, car les dicotylédones présentent des structures du système racinaire plus complexes que les *Poaceae* avec notamment la présence d'un pivot qui peut représenter plus de 90% de la biomasse racinaire chez *M. albus* par exemple (**Chapitre II**).

II Le pivot, un élément majeur du système racinaire des *Fabaceae* ?

La présence d'un pivot est la principale différence morphologique qui existe entre les *Poaceae* et les *Fabaceae*, en plus, bien sur, de la production de nodosités. La proportion de cet élément qui explique la profondeur des systèmes racinaires des espèces de *Fabaceae* est sûrement le trait le plus lié aux indices écologiques de ces espèces ; il varie de façon indépendante de l'axe de gestion des ressources traité précédemment. Ce point nous laisse à penser que la proportion de pivot pourrait être l'un des principaux traits supportant un second axe de spécialisation chez les *Fabaceae*. Cet axe opposerait des plantes ayant un pivot très développé et investissant beaucoup de biomasse dans des systèmes racinaires profonds, aux plantes ayant des pivots peu développés, des enracinements superficiels et qui investissent peu de biomasse dans leur compartiment racinaire.

II.1 Pivot, profondeur d'enracinement et exigences écologiques

Nous avons mis en évidence que les plantes présentant une proportion importante de pivot tendaient à avoir des exigences plus faibles en termes d'humidité du sol (**Chapitre I.I**). Bien que cette relation soit faiblement significative avec un coefficient, elle est renforcée par la relation entre l'indice de continentalité et l'axe proportion de pivot-profondeur du système racinaire. Ce résultat met en évidence que les plantes ayant des proportions de pivot importantes sont mieux adaptées que les autres à des environnements stressants pour l'eau comme nous l'avons discuté précédemment pour l'axe de gestion des ressources (**Discussion I.3.a**). Cela peut facilement s'expliquer par leur importante profondeur d'enracinement qui va leur permettre d'accéder à l'eau contenue dans les horizons profonds, ce que ne pourront pas faire les plantes ayant des enracinements superficiels.

Cet axe est aussi bien corrélé avec les exigences des espèces en phosphore (indice de Pervanchon, 2004) ; ce résultat met en évidence que les espèces ayant des enracinements profonds sont plus exigeantes en termes de disponibilité en phosphore que les espèces ayant un enracinement superficiel. Ce comportement bien connu chez quelques espèces de grandes cultures (Lynch 2007; Richardson *et al.* 2011) semble pouvoir être élargi aux *Fabaceae*

prairiales et donc à une gamme bien plus large d'espèces montrant ainsi son caractère générique. De même ces résultats permettent de généraliser l'opposition entre la capacité à faire face à un stress hydrique ou à un manque de phosphore, comme cela a été préalablement observée chez le maïs (Ho *et al.* 2005).

II.2 La résistance au stress et pivot

Comme nous l'avions supposé, les espèces présentant des proportions de pivot importantes (*M. albus*, *M. sativa*) sont capables d'exploiter de façon plus efficace les horizons profonds (60 à 100 cm de profondeur) que les autres. En effet, en conditions limitantes ces espèces ont abaissé la teneur en eau de ces horizons à 3,8% MS, alors qu'en moyenne les autres espèces l'ont abaissé autour de 5,2% (test de Student, $p < 0.001$). Cependant, cette utilisation de l'eau profonde ne leur a pas permis de mieux résister au stress ni même de produire plus de biomasse que les autres espèces. Ces résultats sont cohérents avec ceux déjà obtenus dans le cas d'expériences de stress hydrique menées sur des *Poaceae* en pots (Voltaire 2008). Durant lesquelles les plantes à enracinement profond n'avaient pas mieux résisté au stress car elles avaient épuisé plus rapidement les ressources en eau du sol. Cela tend à appuyer l'hypothèse de Richards (2006) qui proposait de sélectionner, certes, des espèces ayant des enracinements profonds mais avec des capacités de conduction de l'eau limitées pour éviter qu'elles épuisent les réserves en eau du sol profond avant que cela ne soit vraiment nécessaire ; comme il semblerait que ce fut le cas pour nos deux espèces. Cela marque aussi les limites en termes de généralisation qu'impose le fait de cultiver les plantes en pots lorsque l'on travaille sur le compartiment racinaire et particulièrement sur le stress hydrique. En effet, si en pleine terre la capacité de développer un enracinement profond est préférable pour faire face à un stress hydrique, ce n'est plus un avantage lorsque la culture est faite dans un pot.

De même pour ce qui est de la résistance au stress en phosphore, nous avons mis en évidence que les plantes ayant des enracinements profonds et une proportion de pivot importante voyaient leur croissance plus faiblement impactée que les autres par le manque de phosphore (**Chapitre II**). Ce résultat est en contradiction avec ce que nous attendions suite aux conclusions tirées de la relation entre l'indice P et l'axe pivot-profondeur d'enracinement observée dans le **Chapitre I.II**, mais aussi avec les données de la littérature (Lynch 2007 ; Richardson *et al.* 2011). Deux facteurs peuvent expliquer cela :

i) Le premier est le fait que les plantes aient été cultivées dans un milieu artificiel où le phosphore était réparti de façon homogène sur toute la colonne de sol. Ce qui a eu pour

conséquence de donner un avantage aux plantes à enracinement profond. Car elles ont exploré des volumes de sol plus importants que les autres, le sol étant homogène leur développement de racine dans les horizons profonds n'a pas eu d'effet négatif sur la probabilité de trouver du phosphore. Cela n'est généralement pas le cas dans les sols naturels.

ii) Le second est en lien avec l'alcalinité du sol (pH = 8.3), en effet les plantes présentant des proportions de biomasse racinaire de pivot importantes et des enracinements profonds ont aussi des exigences élevées en termes d'alcalinité du sol (**Chapitre I.II**). On peut donc faire l'hypothèse que ces espèces étaient plus aptes que les autres à se développer dans le sol alcalin que nous avons utilisé dans nos expérimentations et que cette adaptation passe entre autre par des capacités plus fortes d'acquisition du phosphore dans ce type de sol (où il est généralement peu disponible). Cela pourrait en partie expliquer un effet plus faible du stress en phosphore sur leur développement que sur celui des espèces adaptées à des milieux plus neutres.

II.3 Bilan sur l'axe pivot-profondeur de sol

La présence d'un pivot semble être un des facteurs majeurs expliquant l'adaptation des espèces de *Fabaceae* à leurs conditions de croissance. En effet sa présence semble induire contrairement à ce qui a été observé chez les *Poaceae* (**Chapitre I.I**), une absence de corrélation entre l'axe de gestion des ressources et de la profondeur d'enracinement (**Chapitre I.II**). Cela peut présenter un grand intérêt pour leur adaptabilité au stress car elles peuvent, grâce à la présence de ce pivot central, développer des racines ayant des RTD faibles à n'importe quelle profondeur et ne pas les maintenir en vie une fois la zone épuisée ou si la ressource trouvée ne s'avère pas intéressante pour la plante. Ce qui n'est pas le cas des *Poaceae*, ni des vesces qui elles ne mettent en place que très peu de pivots. En effet chez ces plantes la majeure partie des racines que l'on retrouve dans les horizons profonds proviennent directement du plateau de tallage ou du rhizome. On peut faire l'hypothèse que cela limite la rapidité de déploiement des racines dans les patches profonds et doit engendrer des coûts de maintien importants, car de nombreux axes racinaires doivent descendre dans les horizons profonds. Par contre, dans le cas de ressources localisées en surface on peut faire l'hypothèse qu'un système fasciculé soit plus économe car la mise en place de pivot entraîne forcément un coût qui n'est pas dans ce cas compensé par une acquisition des ressources plus efficace.

III Les relations entre stratégies d'acquisition des ressources aériennes et racinaires comme marqueur de l'adaptation au stress des plantes

Dans les paragraphes précédents nous avons détaillé les liens établis entre stratégies racinaires et capacité des plantes à faire face aux stress abiotiques et biotiques. Nous avons vu que, comme au niveau des parties aériennes, plusieurs axes de spécialisation semblaient permettre de séparer les plantes en fonction de leurs stratégies. Or, tout comme les parties aériennes, les parties racinaires ne sont pas à elles seules responsables de l'adaptation des espèces à leur habitat. Nous allons maintenant nous intéresser aux relations qui existent entre les traits aériens et racinaires en lien avec la gestion des ressources. Nous avons mis en évidence dans ce travail (**Chapitre I.I** et **I.II**) qu'il existait une corrélation significative entre la SLA, qui est un trait majeur dans l'établissement du "leaf economic spectrum" (Wright *et al.* 2004) et plus généralement dans l'établissement des stratégies de développement des plantes (Díaz *et al.* 2004) et la SRL qui apparait elle aussi comme un trait permettant de caractériser les stratégies des plantes (Tjoelker *et al.* 2005; Roumet *et al.* 2006; Fort *et al.* 2012).

Cependant cette relation est influencée par les exigences écologiques des espèces. En effet comme l'avaient mis en évidence Liu *et al.* (2010), la pente de la relation entre ces deux traits est modulée par le niveau de stress hydrique du milieu d'origine des plantes. Les *Poaceae* (**Chapitre I.I**) comme les *Fabaceae* (**Chapitre I.II**) présentant des stratégies aériennes dites à stratégie de capture des ressources (forte SLA) que l'on retrouve dans des milieux caractérisés par des périodes fréquentes de stress hydrique (forte continentalité par exemple) ont des SRL plus faibles que celles originaires de milieux plus humides. Cette différence est d'autant plus marquée chez les *Fabaceae* lorsque l'on utilise la SRL de l'ensemble du système racinaire (c'est-à-dire en incluant la masse du pivot dans le calcul ; **Chapitre I.II**). Il existe donc un décalage entre les stratégies aériennes et racinaires qui semble induit par l'adaptation de ces espèces au stress hydrique ; ce décalage est d'autant plus marqué que les plantes présentent des stratégies de capture au niveau des parties aériennes.

Nous pouvons faire l'hypothèse que dans des milieux où la ressource hydrique est fréquemment limitante, mettre en place une stratégie de conservation des ressources au niveau du système racinaire est le moyen qui permet aux plantes de maintenir une stratégie de capture au niveau des parties aériennes. En effet, des SLA fortes sont synonymes de croissance rapide, de renouvellement rapide des tissus (Lavorel *et al.* 2007; Garnier & Navas

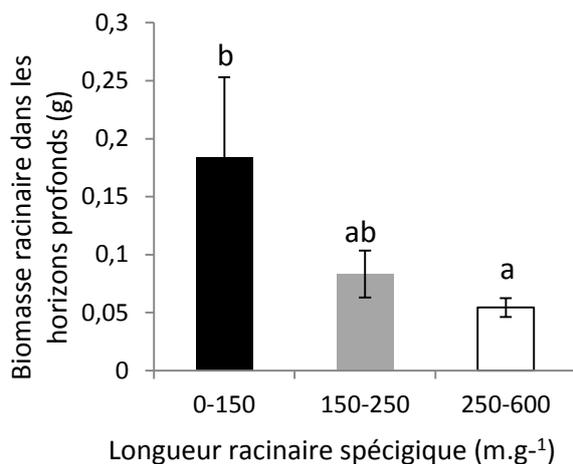


Figure 43 : Biomasse racinaire moyenne dans les horizons profonds (60-100 cm) en fonction de la longueur racinaire spécifique des espèces.

faibles SRL présentent quand même des biomasses de racines plus importantes que les autres dans les horizons profonds (Figure 43) et vont donc avoir accès à leur réserves d'eau via un volume de sol exploré plus important. Nous avons aussi mis en évidence pour les *Fabaceae* que l'exigence des espèces en termes de disponibilité en phosphore dans le sol jouait aussi sur la relation SLA-SRL. Dans ce cas les espèces adaptées à des milieux pauvres en phosphore montrent des SRL plus fortes que les autres (**Chapitre I.II**).

Nous avons vu dans le **Chapitre II** que de fortes SRL et plus largement des stratégies de capture des ressources au niveau du système racinaire permettaient aux plantes d'être plus faiblement impactées par le manque de phosphore. On peut faire l'hypothèse que de fortes SRL permettent aux plantes d'acquérir assez de phosphore pour supporter des stratégies aériennes de capture des ressources et cela même dans des milieux pauvres en phosphore

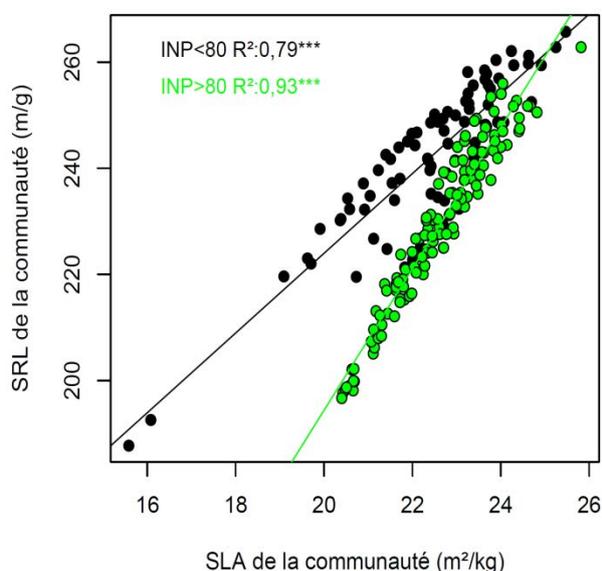


Figure 44 : Longueur racinaire spécifique (SRL) moyenne de 229 communautés prairiales du piedmont pyrénéen exprimées en fonction de la surface foliaire spécifique (SLA) moyen de ces communautés.

Les valeurs de SRL et SLA ont été calculées sur la base de l'abondance des espèces dans la communauté et de leurs valeurs de SRL et SLA mesurées en conditions contrôlées. En vert les communautés ayant des indices de nutrition en phosphore fort (>80) en noir les communautés ayant des indices de nutrition pour le phosphore bas (<80). Données d'abondance issues d'Ansquer (2006).

disponible. Si l'on s'intéresse maintenant à ce qui se passe dans les communautés naturelles (Figure 44) on s'aperçoit que dans les milieux où le phosphore est limitant (indice de nutrition phosphatée < 80), les communautés vont présenter des SRL moyennes plus fortes que dans le cas où le phosphore n'est pas limitant (indice de nutrition phosphatée > 80) et cela pour des valeurs de SLA identiques. Ce résultat conforte notre interprétation de l'impact de l'exigence pour le phosphore sur les relations entre les traits aériens et racinaires. Cela met aussi en évidence qu'une étude à plus large échelle de ces relations pourrait compléter les manques induits par l'étude des parties aériennes ou racinaires seules et conduire à une meilleure compréhension des liens entre syndromes de traits et exigences écologiques des espèces.

IV Vers un meilleur choix des espèces semées pour une production plus agro-écologique ?

L'agronomie de la seconde moitié du vingtième siècle s'est attelée à repousser toujours plus loin la capacité des espèces cultivées à valoriser d'importantes quantités de nutriments apportés par les exploitants (Lynch 2007). La question qui se pose aujourd'hui est celle de comment produire en limitant les apports d'intrants coûteux et souvent responsables de pollutions. Une des principales pistes permettant de limiter leur usage tout en maintenant des niveaux de production acceptables est d'utiliser des espèces mieux adaptées aux milieux dans lesquels elles vont être semées pour ainsi mieux valoriser les interactions biotiques. Pour arriver à cela, nous avons dans un premier temps cherché à caractériser la diversité des stratégies au sein des espèces fourragères sauvages. Ensuite nous avons testé si certaines stratégies permettent aux plantes de mieux se développer que les autres dans des conditions stressantes pour l'eau et le phosphore en présence ou non de voisins.

IV.1 Quel système racinaire pour les sols pauvres en phosphore ?

C'est certainement pour l'adaptation à de faibles disponibilités en phosphore que nous avons eu les relations les plus nettes entre les syndromes de traits et l'indicateur écologique phosphore d'une part et la résistance au manque de phosphore d'autre part. Nous avons aussi mis en évidence quel type de variation de traits permet aux plantes de produire plus de biomasse en condition de manque en phosphore. Sur la base de ces résultats, nous allons donc proposer la description d'un type de système racinaire qui permettrait aux plantes de résister efficacement au manque de phosphore (Figure 45). Donc, pour que la croissance d'une plante

soit peu impactée par le manque de phosphore, il faudrait qu'elle ait les caractéristiques suivantes :

- i) des tissus peu denses donc une RTD faible,
- ii) des proportions importantes de cortex occupées par des aérochymes,
- iii) des racines fines portant des poils plutôt courts,
- iv) une forte biomasse de racine,
- v) la capacité de sécréter des quantités importantes de phosphatase de surface.

Dans le cas des sols comportant des quantités importantes de phosphore dans les horizons de surface (comme c'est généralement le cas des écosystèmes naturels), des systèmes racinaires superficiels se composant d'une faible proportion de pivot semblent les plus aptes pour valoriser la ressource. Pour ce qui est des sols très épuisés en phosphore, même dans les horizons de surface, un système racinaire profond et pivotant (pour les espèces capables de mettre en place des pivots) est un bon moyen pour les plantes de mobiliser du phosphore des horizons profonds qui représente des réserves importantes, même s'il est présent à faibles concentrations (Kautz *et al.* 2013).

Les valeurs de traits mesurées en conditions optimales ne sont pas les seules à pouvoir expliquer les capacités des plantes à faire face aux stress, les réponses des traits apparaissent aussi comme très importantes. En effet, nous avons mis en évidence que les espèces produisant le plus de biomasse en condition de manque de phosphore étaient en mesure en cas de stress de :

- i) diminuer leur RTD et d'augmenter leur proportion de cortex occupée par des aérochymes,
- ii) d'allonger leurs poils racinaires et d'augmenter leur valeur de SRL,
- iii) d'augmenter leur profondeur d'enracinement²⁰.

D'autres réponses permettent aux plantes d'être moins impactées par le stress en phosphore mais sans pour autant amener les espèces qui les présentent à une production de biomasse plus importante que celles qui ne les présentent pas. C'est le cas de l'augmentation de la biomasse racinaire et de la production de phosphatase de surface.

²⁰ Précisons tout de même que dans nos expérimentations le sol était épuisé en phosphore de façon homogène ce qui n'a pas favorisé les plantes à enracinement superficiels.

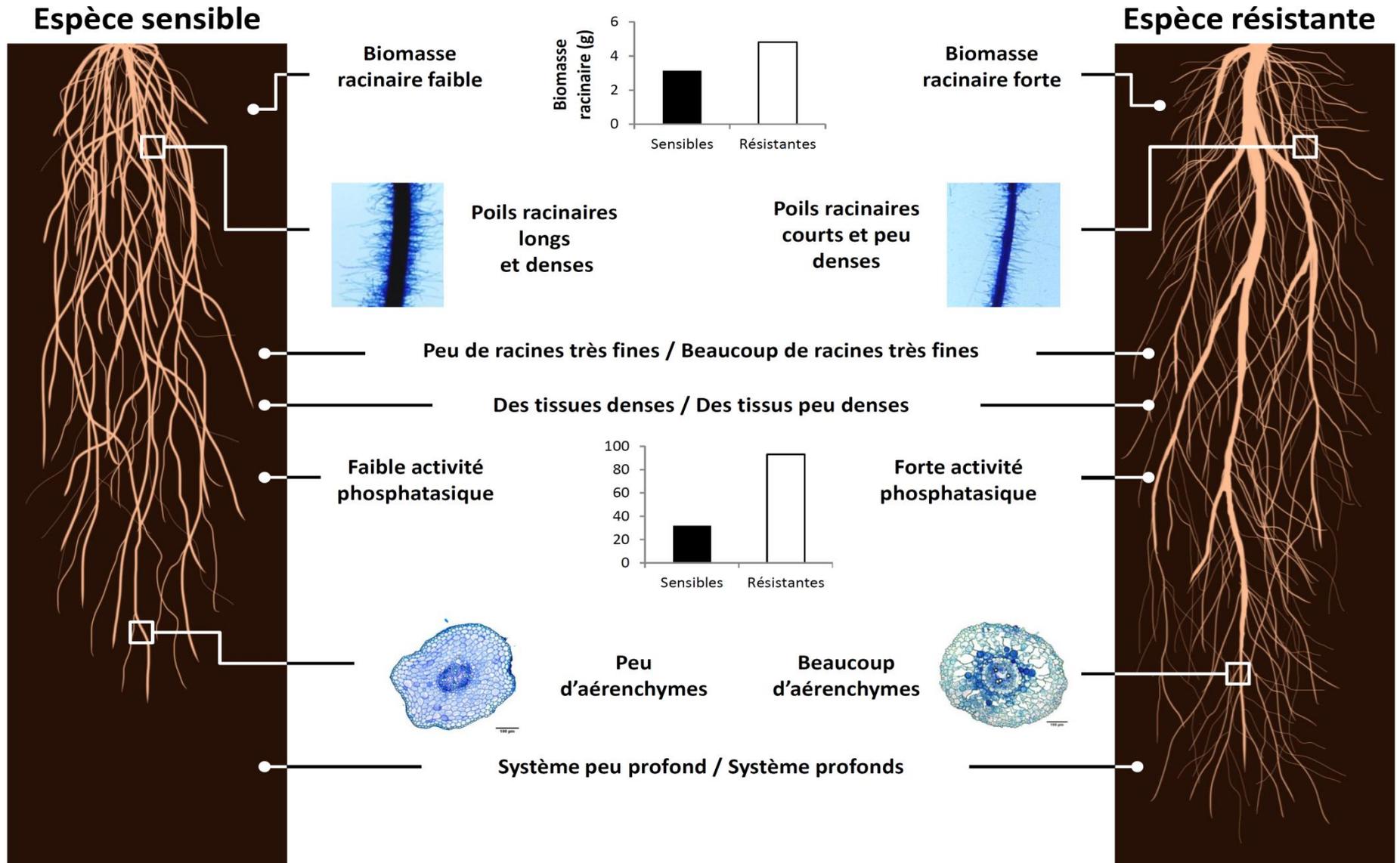


Figure 45 : Représentation schématique des caractéristiques racinaires d'espèces sensibles et d'espèces résistantes aux manques de phosphore

IV.2 Quel système racinaire pour faire face au stress hydrique ?

Pour ce qui est de la capacité à résister au stress hydrique, nous avons mis en évidence, là encore, que les syndromes de traits racinaires jouaient un rôle clef. De fortes SRL permettent aux plantes de mieux résister au stress hydrique alors que des valeurs élevées des diamètres racinaire moyens, de longs poils absorbants et des RTD élevées marquent une sensibilité élevée au stress hydrique.

Pour ce qui est des réponses des traits au stress hydrique, il apparaît que les plantes les moins impactées par ce stress sont celles qui ont la capacité de :

- i) augmenter leur proportion de cortex occupée par des aérochymes ainsi que leur production de phosphatase,
- ii) maintenir relativement élevée leur biomasse racinaire,
- iii) diminuer leur longueur racinaire spécifique,
- iv) conserver leur profondeur d'enracinement.

Cependant nos résultats sont à nuancer notamment ceux portant sur les traits structurels tels que la profondeur d'enracinement, car comme nous l'avons déjà discuté nous avons appliqué un stress hydrique sur des plantes se développant en pot ce qui a, pour certaines espèces, limité leur enracinement en profondeur et empêché l'expansion latérale de leur système racinaire. Ces conditions de croissance peuvent expliquer les résultats obtenus qui montrent que l'augmentation de la profondeur d'enracinement en condition de stress hydrique n'est pas une stratégie efficace pour résister à ce stress.

IV.3 Quel système racinaire pour valoriser des milieux non stressants ?

Nous avons présenté les résultats de ce travail de façon à mettre en évidence les stratégies qui permettent aux plantes de valoriser au mieux des environnements stressants. Nous n'avons donc pas vraiment détaillé quelles sont celles qui permettraient de valoriser au mieux les environnements peu stressants.

Au sein des *Poaceae* considérées, il est clair que dans des conditions non stressantes les plantes à stratégies de capture de ressources sont plus à même de valoriser rapidement les ressources du sol par une production de biomasse aérienne pouvant être plus de deux fois supérieure à celle de la plante à conservation la moins productive (*B. erectus* ; **Chapitre II**). Par contre, parmi les *Fabaceae*, l'opposition est moins nette si les plantes à stratégies de capture se développent plus rapidement (avec des rapidités de germination bien plus élevées pour les trèfles que pour les vesces par exemple). Après plus de 100 jours de végétation, cet

écart n'a plus d'impact sur leur production de biomasse (**Chapitre II**). Donc, contrairement à ce que nous avons pu observer pour les capacités des plantes à résister au stress, il ne semble pas exister de lien entre syndromes de traits racinaires et leur capacité à produire des biomasses plus importantes en conditions de nutrition non limitante. Dans ces conditions, ce sont donc certainement les capacités des plantes à acquérir la lumière et à fixer le carbone qui vont déterminer la capacité des plantes à produire plus ou moins de biomasse. Cependant les résultats dont nous parlons ne portent que sur des individus développés dans des pots. Il est probable que dans la nature, lorsque les plantes sont confrontées aux interactions biotiques, leurs capacités d'acquisition des nutriments jouent un rôle bien plus important dans leurs aptitudes à produire de la biomasse.

IV.4 Comment valoriser les interactions plante-plante ?

Nous avons jusqu'à présent très peu discuté de possibles applications de nos résultats en terme de règles d'assemblage d'espèces. Pourtant, bien que les données écologiques tendent à montrer qu'une diversité plus importante permettrait d'avoir une production plus importante et plus stable au cours du temps, les règles permettant de construire des associations pérennes remplissant ces objectifs restent encore très floues. Nous pouvons quand même, sur la base de nos résultats, faire quelques hypothèses et propositions pour répondre à la question de savoir comment assembler des espèces en fonction de leurs milieux de développement.

Nos résultats ont montré que la hiérarchie en terme de capacité à la compétition était très marquée dans des milieux riches non soumis au stress hydrique (**Chapitre III**), cela nous amène à penser que l'association d'espèces aux stratégies contrastées entraînerait, à plus ou moins long terme, la disparition des espèces à stratégie de conservation favorisant la dominance des espèces plus compétitrices. Dans le cas où il est souhaitable de réduire les besoins des couverts en azote en associant des *Poaceae* et des *Fabaceae*, il semble donc nécessaire de choisir des espèces de *Fabaceae* suffisamment compétitives pour persister dans les mélanges. C'est par exemple ce qui est fait dans les associations ray-grass/trèfle blanc.

Dans des milieux plus stressants, l'association d'espèces ayant des stratégies racinaires variées pourrait être envisagée afin de maintenir une production relativement importante et une bonne résilience même durant les années les moins propices tout en gardant des productions élevées les années favorables. Dans ce cas là, il reste encore beaucoup de travail pour comprendre les mécanismes de persistance des espèces au sein d'un couvert afin que même après une ou deux années favorables au développement des espèces compétitrices il



Figure 46 : Exemple de l'effet couvrant du trèfle jaune (*Trifolium campestre*) semé en mélange avec de la fétuque élevée (*Lolium arundinaceum*). (A) semi de fétuque sans trèfle ; (B) mélange fétuque trèfle.

reste encore suffisamment d'individus des espèces capables de tolérer le stress pour qu'elles se développent au cours d'une mauvaise année. En d'autres termes, on peut dire que les phénomènes permettant de mettre en place des associations pérennes sont encore largement à déterminer.

Les mélanges pourraient avoir un autre intérêt en milieu riche, celui de limiter la pollution par des adventices. Pour ce faire, il serait souhaitable d'introduire des espèces rudérales dans les mélanges semés, ces dernières ayant la capacité de couvrir rapidement le sol avant que les espèces intéressantes pour la production ne se développent. Au sein des espèces que nous avons étudiées, une semble particulièrement convenir à cet usage *T. campestre* ; son développement rapide lui permet de remplir les espaces vides (Figure 46) au sein d'un couvert et de se développer après une fauche. De plus sa capacité à fixer de l'azote peut faire de lui un bon engrais vert.

Enfin, pour ce qui est de valoriser des milieux pauvres en phosphore, la capacité de la plante à utiliser de façon efficace le phosphore au niveau des racines, c'est-à-dire à produire de fortes longueurs de racines par unité de phosphore, semble être un paramètre clef pilotant les interactions entre plantes (**Chapitre III**) et donc certainement leur possibilité de coexister ou non. Il serait donc préférable d'associer des plantes ayant les mêmes efficacités d'utilisation du phosphore si le maintien de l'association dans le temps est souhaité. L'association de deux espèces ayant des capacités différentes d'utilisation du phosphore peu mobile, présentant, par exemple, des capacités contrastées de productions de phosphatase ou de modifications du pH de la rhizosphère, pourrait permettre d'améliorer la nutrition de tout

le couvert et donc de favoriser des espèces dont la présence est souhaitée mais qui n'ont pas la même capacité à mobiliser le phosphore peu biodisponible (Betencourt 2012).

En conclusion de ce paragraphe, nous pouvons dire que ces résultats préliminaires montrent l'importance d'étudier le fonctionnement du système racinaire et de la plante dans son ensemble pour mieux choisir les espèces mieux adaptées aux différents milieux et aux aléas-climatiques. De plus, il est certain que la complémentarité fonctionnelle au sein des prairies temporaires est encore trop peu exploitée et que le développement de son utilisation passera par une meilleure compréhension des mécanismes pilotant les interactions plante-plante. Notre approche offre aussi des pistes pour la sélection d'espèces et de génotypes mieux adaptés à des environnements stressants et aptes à être semés en mélange.

CONCLUSION

Nous avons mis en évidence tout le long de ce travail de thèse la nécessité de prendre en compte le système racinaire dans la caractérisation des stratégies des plantes. Mais aussi l'intérêt de mobiliser l'approche fonctionnelle et la mesure de traits pour caractériser le fonctionnement du système racinaire.

Mes résultats démontrent qu'il existe, au niveau du système racinaire, des axes de spécialisation chez les deux familles de plantes considérées dans cette étude (*Fabaceae* et *Poaceae*). L'axe majeur de structuration des stratégies racinaires semble être, comme pour les parties aériennes, un axe de gestion des ressources séparant d'un côté les espèces à stratégie de capture ayant des capacités d'acquisition et de perte rapide des nutriments et de l'autre les espèces à stratégies de conservation ayant des capacités d'acquisition des nutriments moins efficaces mais qui les perdraient moins rapidement via un renouvellement des racines plus lent. De plus, chez les *Poaceae* les plantes à stratégie de capture sont des compétitrices plus efficaces que les plantes à stratégies de conservation dans les milieux peu stressants. Ce qui nous amène à penser que cet axe de gestion des ressources peut être considéré comme un axe marquant le compromis entre l'aptitude à la compétition et la tolérance aux stress. Cependant les relations entre les traits fonctionnels et les processus tels que l'acquisition des nutriments et le renouvellement des tissus restent encore très largement à consolider.

Pour ce qui est des traits aériens contrairement à ce que nous avons pu penser au début de mon travail de thèse ils n'apparaissent pas comme de bons proxys des traits racinaires, les relations entre ces traits sont fortement impactées par l'adaptation des plantes à des conditions de croissance différentes, ce qui pourrait d'ailleurs faire tout l'intérêt de considérer les relations entre traits aériens et racinaires dans de prochaines études portant sur la définition des stratégies des plantes.

En terme de résistance au manque de phosphore, nous avons montré que la mesure de traits fonctionnels sur une gamme d'espèces plus large et englobant des formes de vie plus diversifiées que ce qui avait été fait jusqu'à présent nous a permis de proposer un syndrome de trait réaliste pour décrire les plantes capables de résister au stress en phosphore. Ainsi nous avons aussi mis en évidence les compromis entre les différents traits et montré les limites de la définition d'un idéotype à partir de mesures de traits effectuées indépendamment sur différents organismes.

Cependant ces résultats nécessitent d'être approfondis avec notamment des essais en plein champs sur de plus larges gradients de disponibilité en ressources de façon à mieux représenter les conditions réelles et limiter les biais associés à l'expérimentation en serre.

Enfin, cette thèse met en avant tout l'intérêt pour traiter des questions d'actualité en agronomie d'utiliser les complémentarités entre l'écologie fonctionnelle et l'agronomie. Même si actuellement on parle de plus en plus d'agro-écologie ces deux disciplines restent encore trop souvent éloignées l'une de l'autre. Pourtant, Garnier & Navas, 2011 ont montré que la mobilisation de l'approche fonctionnelle peut contribuer à répondre à des enjeux majeurs en agronomie, notamment en termes d'adaptation des couverts à différentes conditions environnementales et à la réduction de l'utilisation d'intrants ou encore de conception de mélanges d'espèces ou de cultures associées. Pour ce faire, il faudrait, comme cela semble s'amorcer, que l'approche fonctionnelle ne soit plus circonscrite au champ des prairies permanentes mais qu'elle s'ouvre aux prairies temporaires et aux cultures.

Bibliographie

- Aert, R. & Chapin III, F.S. (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in ecological research*, **30**, 1–67.
- Al-Mufti, M.M., Sydes, C.L., Furness, S.B., Grime, J.P. & Band, S.R. (1977) A Quantitative Analysis of Shoot Phenology and Dominance in Herbaceous Vegetation. *The Journal of Ecology*, **65**, 759.
- Augé, R. (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, **11**, 3–42.
- Bayuelo-Jiménez, J.S., Gallardo-Valdéz, M., Pérez-Decelis, V.A., Magdaleno-Armas, L., Ochoa, I. & Lynch, J.P. (2011) Genotypic variation for root traits of maize (*Zea mays* L.) from the Purhepecha Plateau under contrasting phosphorus availability. *Field Crops Research*, **121**, 350–362.
- Belcher, J., Keddy, P. & Twolan-Strutt, L. (1995) Root and shoot competition intensity along a soil depth gradient. *Journal of Ecology*, **83**, 673–682.
- De Bello, F., Thuiller, W., Lepš, J., Choler, P., Clément, J.-C., Macek, P., Sebastià, M.-T. & Lavorel, S. (2009) Partitioning of functional diversity reveals the scale and extent of trait convergence and divergence. *Journal of Vegetation Science*, **20**, 475–486.
- Bernard-Verdier, M., Navas, M., Vellend, M., Violle, C., Fayolle, A. & Garnier, E. (2012) Community assembly along a soil depth gradient: contrasting patterns of plant trait convergence and divergence in a Mediterranean rangeland. *Journal of Ecology*, **100**, 1422–1433.
- Betencourt, E. (2012) *Interactions Entre Céréale Et Légumineuse En Association Et Acquisition De Phosphore Du Sol: Processus Rhizosphériques Sous-jacents*. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques.
- Blum, A. (2011) Plant water relations, plant stress and plant production. *Plant breeding for water-limited environments environments* Springer New York, New York.
- Bonny, S. (2011) L'agriculture écologiquement intensive. *Cahier de l'agriculture*, **20**, 451–462.
- Bouma, T., Nielsen, K. & Koutstaal, B. (2000) Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and soil*, **218**, 185–196.
- Brooker, R., Kikvidze, Z., Pugnaire, F.I., Callaway, R.M., Choler, P., Lortie, C.J. & Michalet, R. (2005) The importance of importance. *Oikos*, **109**, 63–70.
- Brooker, R.W., Maestre, F.T., Callaway, R.M., Lortie, C.L., Cavieres, L. a., Kunstler, G., Liancourt, P., Tielbörger, K., Travis, J.M.J., Anthelme, F., Armas, C., Coll, L., Corcket, E., Delzon, S., Forey, E., Kikvidze, Z., Olofsson, J., Pugnaire, F., Quiroz, C.L., Saccone, P., Schiffers, K., Seifan, M., Touzard, B. & Michalet, R. (2008) Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology*, **96**, 18–34.
- Brown, L.K., George, T.S., Dupuy, L.X. & White, P.J. (2012) A conceptual model of root hair ideotypes for future agricultural environments: what combination of traits should be targeted to cope with limited P availability? *Annals of botany*.

- Bruni, I., De Mattia, F., Martellos, S., Galimberti, A., Savadori, P., Casiraghi, M., Nimis, P.L. & Labra, M. (2012) DNA barcoding as an effective tool in improving a digital plant identification system: a case study for the area of Mt. Valerio, Trieste (NE Italy). *PLoS one*, **7**, e43256.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 119–125.
- Cahill, J.F., Kembel, S.W., Lamb, E.G. & Keddy, P.A. (2008) Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **10**, 41–50.
- Cahill, J.F., McNickle, G.G., Haag, J.J., Lamb, E.G., Nyanumba, S.M. & St Clair, C.C. (2010) Plants integrate information about nutrients and neighbors. *Science (New York, N.Y.)*, **328**, 1657.
- Callaway, R.M., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Michalet, R., Paolini, L., Pugnaire, F.I., Newingham, B., Aschehoug, E.T., Armas, C., Kikodze, D. & Cook, B.J. (2002) Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature*, **417**, 844–8.
- Campbell, B.D. & Grime, J.P. (1992) An experimental test of plant strategy theory. *Ecology*, **73**, 15–29.
- Cassman, K.G., Whitney, A.S. & Fox, R.L. (1981) Phosphorus Requirements of Soybean and Cowpea as Affected by Mode of N Nutrition1. *Agronomy Journal*, **73**, 17.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D.D., Baum, D.A. & Bazzaz, F.A. (2004) Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *The American naturalist*, **163**, 823–43.
- Chapin III, F.S. (1980) The mineral nutrition of wild plants. *Annual review of ecology and systematics*, **11**, 233–260.
- Chapin III, F.S., Autumn, K. & Pugnaire, F. (1993) Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *American naturalist*, **142**, 78–92.
- Chapin III, F.S., Bloom, A.J., Field, C.B. & Waring, R.H. (1987) Plant responses to multiple environmental factors. *BioScience*, **37**, 49–57.
- Chase, J.M. & Leibold, M.A. (2003) *Ecological Niches Linking Classical and Contemporary Approaches*, Chicago Un. Chicago.
- Chaumet, J.-M., Depleuch, F., Dorin, B., Ghersi, G., Hubert, B., Le Cotty, T., Paillard, S., Petit, M., Rastoin, J.-L., Ronzon, T. & Treyer, S. (2009) *Agrimonde – Agricultures Et Alimentations Du Monde En 2050: Scenarios Et Defies Pour Un Développement Durable*.
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics*, **31**, 343–366.
- Chmelíková, L. & Hejčman, M. (2012) Root system variability in common legumes in Central Europe. *Biologia*, **67**, 116–125.
- Christensen, J., Hewitson, B., Busuioc, A., Chen, A., Gao, X., Held, I., Jones, R., Kolli, R., Kwon, W.-T., Laprise, R., Magaña Rueda, V., Mearns, L., Manéendez, C., Räisänen, J., Rinke, A., Sarr, A. & Whetton, P. (2007) Regional Climate Projections. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.*, Cambridge (eds S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. Averyt, M. Tignor & H. Miller), pp. 847–940. Cambridge.

Comas, L., Bouma, T. & Eissenstat, D.M. (2002) Linking root traits to potential growth rate in six temperate tree species. *Oecologia*, **132**, 34–43.

Comas, L.H. & Eissenstat, D.M. (2004) Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology*, **18**, 388–397.

Comas, L.H. & Eissenstat, D.M. (2009) Patterns in root trait variation among 25 co-existing North American forest species. *The New phytologist*, **182**, 919–28.

Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., Ter Steege, H., Morgan, H.D., Van der Heijden, M.G. a., Pausas, J.G. & Poorter, H. (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, **51**, 335–380.

Cornwell, W.K. & Ackerly, D.D. (2010) A link between plant traits and abundance: evidence from coastal California woody plants. *Journal of Ecology*, **98**, 814–821.

Craine, J.M. (2006) Competition for nutrients and optimal root allocation. *Plant and Soil*, **285**, 171–185.

Craine, J., Froehle, J. & Tilman, D. (2001) The relationships among root and leaf traits of 76 grassland species and relative abundance along fertility and disturbance gradients. *Oikos*, **2**, 274–285.

Craine, J.M. & Lee, W.G. (2003) Covariation in leaf and root traits for native and non-native grasses along an altitudinal gradient in New Zealand. *Oecologia*, **134**, 471–8.

Craine, J.M., Tilman, D., Wedin, D., Reich, P., Tjoelker, M. & Knops, J. (2002a) Functional traits, productivity and effects on nitrogen cycling of 33 grassland species. *Functional Ecology*, **16**, 563–574.

Craine, J.M., Wedin, D., Chapin, F.S. & Reich, P.B. (2002b) Relationship between the structure of root systems and resource use for 11 North American grassland plants. *Plant Ecology*, **165**, 85–100.

Craine, J.M., Wedin, D.A., Chapin, F.S. & Reich, P.B. (2003) The dependence of root system properties on root system biomass of 10 North American grassland species. *Plant and soil*, 39–47.

Cruz, P., Sire, P., Al-Haj Khaled, R., Theau, J.P., Therond, O. & Duru, M. (2002) Plant functional traits related to growth strategies and habitat preference of native grass populations. *Multi-function grasslands: quality forages, animal products and landscapes. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation* (eds J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe & G. Lemaire), pp. 776–777. La Rochelle.

Cruz, P., Theau, J., Lecloux, E., Jouany, C. & Duru, M. (2010) Typologie fonctionnelle de graminées fourragères pérennes: une classification multitraits. *Fourrages*, 11–17.

Darwin, C. (1859) *The Origin of Species* (ed J Murray). London.

Datta, S., Kim, C.M., Pernas, M., Pires, N.D., Proust, H., Tam, T., Vijayakumar, P. & Dolan, L. (2011) Root hairs: development, growth and evolution at the plant-soil interface. *Plant and Soil*, **346**, 1–14.

Diamond, J.M. (1975) Assembly of species communities. *Ecology and Evolution of Communities*, Harvard Un (eds M.L. Cody & J.M. Diamond), pp. 342–444. Cambridge, MA.

Díaz, S., Cabido, M., Zak, M., Carretero, E. & Arabinar, J. (1999) Plant functional traits, ecosystem structure and land-use history along a climatic gradient in central-western Argentina. *Journal of Vegetation Science*, **10**, 651–660.

Díaz, S., Hodgson, J.G., Thompson, K., Cabido, M., Cornelissen, J.H.C., Jalili, A., Montserrat-Martí, G., Grime, J.P., Zarrinkamar, F., Asri, Y., Band, S.R., Basconcelo, S., Castro-Díez, P., Funes, G., Hamzehee, B., Khoshnevi, M., Pérez-Harguindeguy, N., Pérez-Rontomé, M.C., Shirvany, A., Vendramini, F., Yazdani, S., Abbas-Azimi, R., Bogaard, A., Boustani, S., Charles, M., Dehghan, M., De Torres-Espuny, L., Falczuk, V., Guerrero-Campo, J., Hynd, A., Jones, G., Kowsary, E., Kazemi-Saeed, F., Maestro-Martínez, M., Romo-Díez, A., Shaw, S., Siavash, B., Villar-Salvador, P. & Zak, M. (2004) The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science*, **15**, 295.

Díaz, S., McIntyre, S., Lavorel, S. & Pausas, J.G. (2002) Does hairiness matter in Harare? Resolving controversy in global comparisons of plant trait responses to ecosystem disturbance. *New Phytologist*, **154**, 7–9.

Diniz-Filho, J.A.F., De Sant'Ana, C.E.R. & Bini, L.M. (1998) An Eigenvector Method for Estimating Phylogenetic Inertia. *Evolution*, **52**, 1247–1262.

Dorioz, J.M., Wang, D., Poulenard, J. & Trévisan, D. (2006) The effect of grass buffer strips on phosphorus dynamics—A critical review and synthesis as a basis for application in agricultural landscapes in France. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **117**, 4–21.

Driessen, P., Deckers, J., Spaargaren, O. & Nachtergaele, F. (2001) *World Soil Resources Reports*.

Duarte, C.M., Sand-Jensen, K., Nielsen, S.L., Enríquez, S. & Agustí, S. (1995) Comparative functional plant ecology: rationale and potentials. *Trends in ecology & evolution*, **10**, 418–21.

Ducrey. (1992) Variation in leaf morphology and branching pattern of some tropical rain forest species from Guadeloupe (French West Indies) under semi-controlled light conditions. *Annals of forest science*, **49**, 553–570.

Eissenstat, D.M. (1992) Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition*, **15**, 763–782.

Eissenstat, D. (2000) Root structure and function in an ecological context. *New phytologist*, **148**, 353–354.

Eissenstat, D.M., Wells, C.E., Yanai, R.D. & Whitbeck, J.L. (2000) Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, **147**, 33–42.

Eissenstat, D. & Yanai, R. (1997) *The Ecology of Root Lifespan*.

Ejrnaes, R. & Bruun, H.H. (2000) Gradient analysis of dry grassland vegetation in Denmark. *Journal of Vegetation Science*, **11**, 573–584.

Ellenberg, H., Weber, H.E., Düll, R., Wirth, V., Werner, W. & Paulißen, D. (1991) Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica*, **18**, 9–160.

Fan, M.S., Zhu, J., Richards, C., Brown, K.M. & Lynch, J.P. (2003) Physiological roles for aerenchyma in phosphorus-stressed roots. *Functional Plant Biology*, **30**, 493–506.

Fargione, J. & Tilman, D. (2006) Plant species traits and capacity for resource reduction predict yield and abundance under competition in nitrogen-limited grassland. *Functional Ecology*, **20**, 533–540.

Von Felten, S., Hector, A., Buchmann, N., Niklaus, P.A., Schmid, B. & Scherer-Lorenzen, M. (2008) Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. *Ecology*, **90**, 1389–1399.

Fitter, A.H. (1985) Functional significance of root morphology and root system architecture. *Ecological interactions in soil*, Blackwell (eds A.H. Fitter, D. Atkinson, D.J. Read & Usher M B), pp. 87–106. Oxford.

Fort, F., Jouany, C. & Cruz, P. (2012) Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of Plant Ecology*, **6**, 211–219.

Franzaring, J., Fangmeier, A. & Hunt, R. (2007) On the consistencies between CSR plant strategies and Ellenberg ecological indicator values. *Journal of applied botany and ...*, **86**, 86–94.

Freschet, G.T., Cornelissen, J.H.C., Van Logtestijn, R.S.P. & Aerts, R. (2010) Evidence of the “plant economics spectrum” in a subarctic flora. *Journal of Ecology*, **98**, 362–373.

Fridley, J.D., Grime, J.P., Huston, M.A., Pierce, S., Smart, S.M., Thompson, K., Börger, L., Brooker, R.W., Cerabolini, B.E.L., Gross, N., Liancourt, P., Michalet, R. & Le Bagousse-Pinguet, Y. (2012) Comment on “Productivity is a poor predictor of plant species richness”. *Science (New York, N.Y.)*, **335**, 1441; author reply 1441.

Fry, E.L., Manning, P., Allen, D.G.P., Hurst, A., Everwand, G., Rimmler, M. & Power, S.A. (2013) Plant functional group composition modifies the effects of precipitation change on grassland ecosystem function. *PloS one*, **8**, e57027.

Fujita, Y., Robroek, B.J.M., De Ruiter, P.C., Heil, G.W. & Wassen, M.J. (2010) Increased N affects P uptake of eight grassland species: the role of root surface phosphatase activity. *Oikos*, **119**, 1665–1673.

Funk, J.L. & Vitousek, P.M. (2007) Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems. *Nature*, **446**, 1079–81.

Fynn, R.W.S., Morris, C.D. & Kirkman, K.P. (2005) Plant strategies and trait trade-offs influence trends in competitive ability along gradients of soil fertility and disturbance. *Journal of Ecology*, **93**, 384–394.

Gahoonia, T.S. & Nielsen, N.E. (2004) Barley genotypes with long root hairs sustain high grain yields in low-P field. *Plant and Soil*, **262**, 55–62.

Gain, E. & Brocq-Rousseau, D. (1912) *Traité Des Foins*, Librairie . Paris.

Garnier, E. (1992) Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species. *Journal of ecology*, **80**, 665–675.

Garnier, E. (2013) Traits, fonctions et écologie comparative. *Séminaire traits fonctionnels* Montpellier.

Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.-P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.

Garnier, E., Laurent, G., Bellmann, A., Debain, S., Berthelie, P., Ducout, B., Roumet, C. & Navas, M.-L. (2001a) Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *New Phytologist*, **152**, 69–83.

- Garnier, E. & Navas, M.-L. (2011) A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **32**, 365–399.
- Garnier, E., Shipley, B., Roumet, C. & Laurent, G. (2001b) A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology*, **15**, 688–695.
- Gastal, F. & Lemaire, G. (2002) N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*, **53**, 789–799.
- Gibert, A., Volaire, F., Barre, P. & Hazard, L. (2012) A fungal endophyte reinforces population adaptive differentiation in its host grass species. *The New phytologist*, **194**, 561–71.
- Gibson, D.J. (2009) *Grasses and Grassland Ecology*, Oxford Bio.
- Gibson, D.J., Connolly, J., Hartnett, D.C. & Weidenhamer, J.D. (1999) Designs for greenhouse studies of interactions between plants. *Journal of Ecology*, **87**, 1–16.
- Gibson, D.J. & Newman, J.A. (2001) *Festuca arundinacea* Schreber (*F. elatior* L. ssp. *arundinacea* (Schreber) Hackel). *Journal of Ecology*, **89**, 304–324.
- GILL, R.A. & JACKSON, R.B. (2000) Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, **147**, 13–31.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, **84**, 489–500.
- Givnish, T.J. (1988) Adaptation to Sun and Shade: *Australian journal plant physiology*, **15**, 63–92.
- Grace, J.B. & Tilman, D. (1990) Perspectives on Plant Competition: Some Introductory remarks. *Perspectives on Plant competition*, Academic P (eds J.B. Grace & D. Tilman), pp. 3–6. San Diego.
- Graham, P.H. & Vance, C.P. (2003) Update on Legume Utilization Legumes : Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology*, **131**, 872–877.
- Grime, J. (1977) Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American naturalist*, **111**, 1169–1194.
- Grime, J.P. (1979) *Plant Strategies and Vegetation Process.*, Wiley. Chichester, UK.
- Grime, J.P. (2006) Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science*, **17**, 255.
- Grime, J.P., Thompson, K., Hunt, R., Hodgson, J.G., Cornelissen, J.H.. C., Rorison, H.I., Hendry, G.A.F., Ashenden, T.W., Askew, A.P., Band, S.R., Booth, R.E., Bossard, C.C., Campbell, B.D., Cooper, J.E.L., Davison, A.W., Gupta, P.L., Hall, W., Hand, D.W., Hannah, M.A., Hillier, S.H., Hodgkinson, D.J., Jalili, A., Liu, Z., Mackey, J.M.L., Matthews, N., Mowforth, M.A., Neal, A.M., Reader, R.J., Reiling, K., RossFraser, W., Spencer, R.E., Sutton, F., Tasker, D.E., Thorpe, P.C. & Whitehouse, J. (1997) Integrated screening validates primary axes of specialisation in plants. *Oikos*, **79**, 259–281.
- Gross, N., Suding, K.N., Lavorel, S. & Roumet, C. (2007) Complementarity as a mechanism of coexistence between functional groups of grasses. *Journal of Ecology*, **95**, 1296–1305.

- Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D. & McCulloh, K.A. (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia*, **126**, 457–461.
- Al Haj Khaled, R., Duru, M., Theau, J.P., Plantureux, S. & Cruz, P. (2005) Variation in leaf traits through seasons and N-availability levels and its consequences for ranking grassland species. *Journal of Vegetation Science*, **16**, 391–398.
- Harpole, W.S. (2006) Resource-Ratio Theory and the Control of Invasive Plants. *Plant and Soil*, **280**, 23–27.
- Hector, A., Bazeley-White, E., Loreau, M., Otway, S. & Schmid, B. (2002) Overyielding in grassland communities: testing the sampling effect hypothesis with replicated biodiversity experiments. *Ecology Letters*, **5**, 502–511.
- Hermans, C., Hammond, J.P., White, P.J. & Verbruggen, N. (2006) How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in plant science*, **11**, 610–7.
- Hernández, E. V, Pausas, J. & Bellot, J. (2010a) Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, 233–244.
- Hernández, E. V, Pausas, J.G., Bellot, J., Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Pausas, J.G. & Bellot, J. (2010b) Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, **207**, 233–244.
- Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Pausas, J.G. & Bellot, J. (2010) Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, **207**, 233–244.
- Hinsinger, P. (1998) How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy*, **74**, 64–97.
- Hinsinger, P. (2001) Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and soil*, **237**, 173–195.
- Ho, M.D., Rosas, J.C., Brown, K.M. & Lynch, J.P. (2005) Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Functional Plant Biology*, **32**, 737–748.
- Hodge, A., Berta, G., Doussan, C., Merchan, F. & Crespi, M. (2009) Plant root growth, architecture and function. *Plant and Soil*, **321**, 153–187.
- Hodge, A., Robinson, D., Griffiths, B.S. & Fitter, A.H. (1999) Why plants bother: root proliferation results in increased nitrogen capture from an organic patch when two grasses compete. *Plant, Cell and Environment*, **22**, 811–820.
- Hodgson, J., Wilson, P. & Hunt, R. (1999) Allocating CSR plant functional types: a soft approach to a hard problem. *Oikos*, **85**, 282–294.
- Holdaway, R.J., Richardson, S.J., Dickie, I.A., Peltzer, D.A. & Coomes, D.A. (2011) Species- and community-level patterns in fine root traits along a 120 000-year soil chronosequence in temperate rain forest. *Journal of Ecology*, **99**, 954–963.
- 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. & Wardle, D.A. (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs*, **75**, 3–35.
- Hubbell, S.P. (2001) *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*, Princeton . Princeton.

- Huston, M. (1979) A general hypothesis of species diversity. *American naturalist*, **113**, 81–101.
- Hutchinson, G.E. (1957) The multivariate niche. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* pp. 415–421.
- Inouye, R.S., Huntly, N.J., Tilman, D., Tester, J.R., StillInouye, R.S., Stillwell, M. & Zinnel, K.C. (1987) Old-field succession on a Minnesota sand plain. *Ecology*, **68**, 12–26.
- IPCC. (2007) Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability.*, Cambridge (eds M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden & C.E. Hanson), p. 976. Cambridge, UK.
- Jakobsson, A. & Eriksson, O. (2000) A comparative study of seed number, seed size, seedling size and recruitment in grassland plants. *Oikos*, **88**, 494–502.
- Jin, H., Pfeffer, P.E., Douds, D.D., Piotrowski, E., Lammers, P.J. & Shachar-Hill, Y. (2005) The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *The New phytologist*, **168**, 687–96.
- Johnson, N.C., Graham, J.H. & Smith, F.A. (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, **135**, 575–585.
- Jones, M.D. & Smith, S.E. (2004) Exploring functional definitions of mycorrhizas: Are mycorrhizas always mutualisms? *Canadian Journal of Botany*, **82**, 1089–1109.
- Jung, S.C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J.A. & Pozo, M.J. (2012) Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of chemical ecology*, **38**, 651–64.
- Kautz, T., Amelung, W., Ewert, F., Gaiser, T., Horn, R., Jahn, R., Javaux, M.M., Kemna, A., Kuzyakov, Y., Munch, J.-C., Pätzold, S., Peth, S., Scherer, H.W., Schloter, M., Schneider, H., Vanderborght, J., Vetterlein, D., Walter, A., Wiesenberg, G.L.B. & Köpke, U. (2013) Nutrient acquisition from arable subsoils in temperate climates: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, **57**, 1003–1022.
- Keddy, P. a. (1992) Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of Vegetation Science*, **3**, 157–164.
- Keddy, P. & Nielsen, K. (2009) Relative competitive performance of 63 species of terrestrial herbaceous plants. *Journal of Vegetation Science*, 5–16.
- Kembel, S.W. & Cahill, J.F. (2011) Independent evolution of leaf and root traits within and among temperate grassland plant communities. *PloS one*, **6**, e19992.
- Kembel, S.W., De Kroon, H., Cahill, J.F. & Mommer, L. (2008) Improving the scale and precision of hypotheses to explain root foraging ability. *Annals of botany*, **101**, 1295–301.
- Keyes, S.D., Daly, K.R., Gostling, N.J., Jones, D.L., Talboys, P., Pinzer, B.R., Boardman, R., Sinclair, I., Marchant, A. & Roose, T. (2013) High resolution synchrotron imaging of wheat root hairs growing in soil and image based modelling of phosphate uptake. *The New phytologist*, **198**, 1023–9.
- Khademi, Z., Jones, D.L., Malakouti, M.J. & Asadi, F. (2009) Organic acids differ in enhancing phosphorus uptake by *Triticum aestivum* L. effects of rhizosphere concentration and counterion. *Plant and Soil*, **334**, 151–159.
- Kikvidze, Z., Suzuki, M. & Brooker, R. (2011) Importance versus intensity of ecological effects: why context matters. *Trends in ecology & evolution*, **26**, 383–8.

Kraft, N.J.B. & Ackerly, D.D. (2010) Functional trait and phylogenetic tests of community assembly across spatial scales in an Amazonian forest. , **80**, 401–422.

Kroehler, C. & Linkins, A. (1988) The root surface phosphatases of *Eriophorum vaginatum*: Effects of temperature, pH, substrate concentration and inorganic phosphorus. *Plant and Soil*, **10**, 3–10.

Krueger-Mangold, J., Sheley, R. & Engel, R. (2006) Can R*s Predict Invasion in Semi-arid Grasslands? *Biological Invasions*, **8**, 1343–1354.

Kunstler, G., Lavergne, S., Courbaud, B., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., Kattge, J. & Coomes, D.A. (2012) Competitive interactions between forest trees are driven by species' trait hierarchy, not phylogenetic or functional similarity: implications for forest community assembly. *Ecology letters*, **15**, 831–40.

Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R. & Smith, S.E. (2008) Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in ecology & evolution*, **23**, 95–103.

Lambers, H., Shane, M.W., Cramer, M.D., Pearse, S.J. & Veneklaas, E.J. (2006) Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. *Annals of botany*, **98**, 693–713.

Lavorel, S. (2013) Plant functional effects on ecosystem services (ed M Hutchings). *Journal of Ecology*, **101**, 4–8.

Lavorel, S., Díaz, S. & Cornelissen, J. (2007) Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? *Terrestrial ecosystems in a changing world*, Springer-V (eds J.G. Canadell, D. Pataki & Pitelka), pp. 149–164. Berlin Heidelberg.

Lemaire, G., Jeuffroy, M.H. & Gastal, F. (2008) Diagnosis tool for plant and crop N status in vegetative stage: Theory and practices for crop N management. *European Journal of Agronomy*, **28**, 614:624.

Liao, H., Rubio, G., Yan, X., Cao, A., Brown, K.M. & Lynch, J.P. (2001) Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common bean. *Plant and soil*, **232**, 69–79.

Liu, G., Freschet, G.T., Pan, X., Cornelissen, J.H.C., Li, Y. & Dong, M. (2010) Coordinated variation in leaf and root traits across multiple spatial scales in Chinese semi-arid and arid ecosystems. *The New phytologist*, **188**, 543–53.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D. & Wardle, D.A. (2001) Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science (New York, N.Y.)*, **294**, 804–8.

Lortie, C.J. & Aarssen, L.W. (1999) The advantage of being tall: higher flowers receive more pollen in *Verbascum thapsus* L.(Scrophulariaceae). *Ecoscience*, **6**, 68–71.

Lortie, C.J., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Michalet, R., Pugnaire, F.I. & Callaway, R.M. (2004) Rethinking plant community theory. *Oikos*, **107**, 433–438.

Lüscher, A., Finn, J.A., Connolly, J., Sebastià, M.T., Collins, R., Fothergill, M., Porqueddu, C., Brophy, C., Huguenin-Elie, O., Kirwan, L., Nyfeler, D. & Helgadóttir, A. (2008) Benefits of sward diversity for agricultural grasslands. *Biodiversity*, **9**, 29–32.

Lynch, J.P. (2007) Roots of the Second Green Revolution. *Australian Journal of Botany*, **55**, 493–512.

- Lynch, J.P. (2011) Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. *Plant physiology*, **156**, 1041–9.
- Lynch, J.P. & Brown, K.M. (2001) Topsoil foraging – an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. *Plant and Soil*, **237**, 225–237.
- MacArthur, R.H. & Levins, R. (1967) The Limiting Similarity, Convergence, and Divergence of Coexisting Species. *American naturalist*, **101**, 377–385.
- MacArthur, R.H. & Wilson, E.O. (1967) *The Theory of Island Biogeography*, Princeton . Princeton.
- Mayfield, M.M. & Levine, J.M. (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology letters*, **13**, 1085–93.
- McCallum, M.H., Kirkegaard, J.A., Green, T.W., Cresswell, H.P., Davies, S.L., Angus, J.F. & People, M.B. (2004) Improved subsoil macroporosity following perennial pastures. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **44**, 299–307.
- McCormack, L.M., Adams, T.S., Smithwick, E. a H. & Eissenstat, D.M. (2012) Predicting fine root lifespan from plant functional traits in temperate trees. *The New phytologist*, **195**, 823–31.
- McGill, B. (2003) Strong and weak tests of macroecological theory. *Oikos*, **102**, 679–685.
- McNeill, A.M. & Unkovich, M. (2007) The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems. *Nutrient cycling in terrestrial ecosystems*, Springer (eds P. Marschner & Z. Rengel), pp. 37–64. Berlin.
- MEA, Millenium Ecosystem Assessment. (2005) *Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis.*, Island Pre. Washington DC.
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Pugnaire, F.I., Valiente-Banuet, A. & Callaway, R.M. (2006) Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecology Letters*, **9**, 767–773.
- Miller, T.E., Burns, J.H., Munguia, P., Walters, E.L., Kneitel, J.M., Richards, P.M., Mouquet, N. & Buckley, H.L. (2005) A critical review of twenty years’ use of the resource-ratio theory. *The American naturalist*, **165**, 439–48.
- Miller, C.R., Ochoa, I., Nielsen, K.L., Beck, D. & Lynch, J.P. (2003) Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. *Functional Plant Biology*, **30**, 973–985.
- Mokany, K., Raison, R.J. & Prokushkin, A.S. (2006) Critical analysis of root : shoot ratios in terrestrial biomes. *Global Change Biology*, **12**, 84–96.
- Moles, A.T., Ackerly, D.D., Webb, C.O., Tweddle, J.C., Dickie, J.B. & Westoby, M. (2005) A brief history of seed size. *Science (New York, N.Y.)*, **307**, 576–80.
- Mommer, L., Visser, E.J.W., Ruijven, J., Caluwe, H., Pierik, R. & Kroon, H. (2011) Contrasting root behaviour in two grass species: a test of functionality in dynamic heterogeneous conditions. *Plant and Soil*, **344**, 347–360.
- Mommer, L. & Weemstra, M. (2012) Commentary The role of roots in the resource economics spectrum. *New Phytologist*, **195**, 725–727.
- Morel, C., Tunney, H., Plénet, D. & Pellerin, S. (2000) Transfer of Phosphate Ions between Soil and Solution: Perspectives in Soil Testing. *Journal of Environment Quality*, **29**, 50–59.

- Mulder, C.P., Uliassi, D.D. & Doak, D.F. (2001) Physical stress and diversity-productivity relationships: the role of positive interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 6704–8.
- Nettier, B., Dobremez, L., Coussy, J.-L. & Romagny, T. (2011) Attitudes of livestock farmers and sensitivity of livestock systems to drought conditions in the French Alps. *Journal of Alpine Research*, **98**.
- Nielsen, K.L., Eshel, A. & Lynch, J.P. (2001) The effect of phosphorus availability on the carbon economy of contrasting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Journal of Experimental Botany*, **52**, 329–339.
- Ockinger, E. & Smith, H. (2007) Semi-natural grasslands as population sources for pollinating insects in agricultural landscape. *Journal of Applied Ecology*, 50–59.
- Olsen, S.R., Cole, C. V., Watanabe, F.S. & Dean, L.A. (1954) *Estimation of Available Phosphorus in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate*. Washington.
- Padilla, F.M., Aarts, B.H.J., Roijendijk, Y.O.A., Caluwe, H., Mommer, L., Visser, E.J.W. & Kroon, H. (2013) Root plasticity maintains growth of temperate grassland species under pulsed water supply. *Plant and Soil*, 1–10.
- Pellerin, S., Bamière, L., Angers, D., Béline, F., Benoît, M., Butault, J.-P., Chenu, C., Colnenne-David, Caroline de Cara, S., Delame, N., Doreau, M., Dupraz, P., Faverdin, P., Garcia-Launay, F., Hassouna, M., Hénault, C., Jeuffroy, M.-H., Klumpp, K., Metay, A., Moran, D., Recous, S., Samson, E., Savini, I. & Pardon, L. (2013) *Quelle Contribution De L'agriculture Française à La Réduction Des Émissions De Gaz à Effet De Serre ?*
- Pervanchon, F. (2004) *Modélisation De L'effet Des Pratiques Agricoles Sur La Diversité Végétale Et La Valeur Agronomique Des Prairies Permanentes En Vue De L'élaboration d ' Indicateurs Agri-environnementaux*. Institut Polytechnique de Lorraine.
- Phillips, D.A. (1980) Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Annual Review of Plant Physiology*, **31**, 29–49.
- Pickett, S. (1982) Population patterns through twenty years of oldfield succession. *Vegetatio*, **49**, 45–59.
- Picon-Cochard, C., Pilon, R., Tarroux, E., Pagès, L., Robertson, J. & Dawson, L. (2011) Effect of species, root branching order and season on the root traits of 13 perennial grass species. *Plant and Soil*, **353**, 47–57.
- Pierce, S., Brusa, G., Vagge, I. & Cerabolini, B.E.L. (2013) Allocating CSR plant functional types: the use of leaf economics and size traits to classify woody and herbaceous vascular plants (ed K Thompson). *Functional Ecology*, 1–9.
- Pons, T.L. & Anten, N.P.R. (2004) Is plasticity in partitioning of photosynthetic resources between and within leaves important for whole-plant carbon gain in canopies? *Functional Ecology*, **18**, 802–811.
- Poorter, H., Niklas, K.J., Reich, P.B., Oleksyn, J., Poot, P. & Mommer, L. (2012) Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *The New phytologist*, **193**, 30–50.
- Postma, J. a & Lynch, J.P. (2011a) Theoretical evidence for the functional benefit of root cortical aerenchyma in soils with low phosphorus availability. *Annals of botany*, **107**, 829–41.

Postma, J.A. & Lynch, J.P. (2011b) Root cortical aerenchyma enhances the growth of maize on soils with suboptimal availability of nitrogen, phosphorus, and potassium. *Plant physiology*, **156**, 1190–201.

Prentice, C.I., Cramer, W., Harrison, Sandy P. Leemans, R., Monserud, R.A. & Solomon, A.M. (1992) Special Paper: A global biome model based on plant physiology and dominance, soil properties and climate. *Journal of Biogeography*, **19**, 117–134.

Ramaekers, L., Remans, R., Rao, I.M., Blair, M.W. & Vanderleyden, J. (2010) Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants. *Field Crops Research*, **117**, 169–176.

Rameau, J., Mansion, D. & Dumé, G. (2006) *Flore Forestière Française Guide Écologique Illustré* (ed Institut pour le développement forestier).

Raven, P.H., Johnson, G.B., Losos, J. & Singer, S. (2007) *Biologie*, De Boeck U. Bruxelles.

Raynaud, X. & Leadley, P.W. (2005) Symmetry of belowground competition in a spatially explicit model of nutrient competition. *Ecological Modelling*, **189**, 447–453.

Reich, P.B., Buschena, C., Tjoelker, M.G., Wrage, K., Knops, J., Tilman, D. & Machado, J.L. (2003) Variation in growth rate and ecophysiology among 34 grassland and savanna species under contrasting N supply: a test of functional group differences. *New Phytologist*, **157**, 617–631.

Reich, P.B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S.E., Flynn, D.F.B. & Eisenhauer, N. (2012) Impacts of biodiversity loss escalate through time as redundancy fades. *Science (New York, N.Y.)*, **336**, 589–92.

Reich, P.B., Walters, M.B., Tjoelker, M.G., Vanderklein, D.W. & Buschena, C. (1998) Photosynthesis and respiration rates depend on, leaf and root morphology in nine boreal tree species differing in relative growth rate. *Functional Ecology*, **12**, 395–405.

Reich, P. & Wright, I. (2003) The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *Journal of Plant Science*, **164**, 143–164.

Richards, R.A. (2006) Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management*, **80**, 197–211.

Richardson, A.E., Lynch, J.P., Ryan, P.R., Delhaize, E., Smith, F.A., Smith, S.E., Harvey, P.R., Ryan, M.H., Veneklaas, E.J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R.A. & Simpson, R.J. (2011) Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, **349**, 121–156.

Roumet, C., Picon-Cochard, C., Birouste, M., Ghestem, M. & Stokes, A. (2012) Root structure-function relationships: evidence of a “root economics spectrum”? *Root to the future* p. 35. Dundee.

Roumet, C., Urcelay, C. & Díaz, S. (2006) Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *The New phytologist*, **170**, 357–68.

Rozendaal, D.M.A., Hurtado, V.H. & Poorter, L. (2006) Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology*, **20**, 207–216.

Ryser, P. (1998) Intra- and Interspecific variation in root lengths, root turnover and the underlying parameters. *Inherent Variation in Plant Growth Physiological Mechanisms and*

Ecological Consequences. Leiden, N, Backhuys P (eds H. Lambers, H. Poorter & M. van Vuuren), pp. 441–65. Leiden, NL.

Sardans, J., Peñuelas, J. & Estiarte, M. (2007) Seasonal patterns of root-surface phosphatase activities in a Mediterranean shrubland. Responses to experimental warming and drought. *Biology and Fertility of Soils*, **43**, 779–786.

Schaefer, H., Hardy, O.J., Silva, L., Barraclough, T.G. & Savolainen, V. (2011) Testing Darwin's naturalization hypothesis in the Azores. *Ecology letters*, **14**, 389–96.

Schenk, H.J. & Jackson, R.B. (2005) Mapping the global distribution of deep roots in relation to climate and soil characteristics. *Geoderma*, **126**, 129–140.

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P. & Cardona, A. (2012) Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods*, **9**, 676–82.

Schroeder, M. & Janos, D. (2004) Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*, 335–348.

Schüßler, A., Schwarzott, D. & Walker, C. (2001) A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological research*, **105**, 1413–1421.

Serraj, R. & Sinclair, T.R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, cell & environment*, **25**, 333–341.

Sierra-Almeida, A., Cavieres, L. A. & Bravo, L. A. (2010) Freezing resistance of high-elevation plant species is not related to their height or growth-form in the Central Chilean Andes. *Environmental and Experimental Botany*, **69**, 273–278.

Silvertown, J. (2004) Plant coexistence and the niche. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 605–611.

Smith, F.A., Grace, E.J. & Smith, S.E. (2009) More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses. *The New phytologist*, **182**, 347–58.

Smith, S.E. & Read, D.J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic. London.

Smucker, A., McBurney, S. & Srivastava, A. (1982) Quantitative separation of root compacted soil profiles by the hydroponic elutriation system. *gronomy Journal*, **74**, 500–503.

Soons, M.B., Heil, G.W., Nathan, R. & Katul, G.G. (2004) Determinants of long-distance seed dispersal by wind in grassland. *Ecology*, **85**, 3056–3068.

Spehn, E.M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Jumpponen, A., O'Donovan, G., Pereira, J.S., Schulze, E.-D., Troumbis, A.Y. & Körner, C. (2002) The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos*, **98**, 205–218.

Sperry, J., Stiller, V. & Hacke, U. (2003) Xylem hydraulics and the soil-plant-atmosphere continuum: opportunities and unresolved issues. *Agronomy Journal*, **95**, 1362–1370.

Steingrobe, B., Schmid, H. & Claassen, N. (2001) Root production and root mortality of winter barley and its implication with regard to phosphate acquisition. *Plant and soil*, **237**, 239–248.

- Stroia, C., Morel, C. & Jouany, C. (2007) Dynamics of diffusive soil phosphorus in two grassland experiments determined both in field and laboratory conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **119**, 60–74.
- Tassin, J. (2011) Quand l'agro-écologie se propose d'imiter la nature. *Courrier de l'environnement de l'INRA*, **61**, 45–53.
- Thorup-Kristensen, K., Cortasa, S.M. & Loges, R. (2009) Winter wheat roots grow twice as deep as spring wheat roots, is this important for N uptake and N leaching losses? *Plant and Soil*, **322**, 101–114.
- Tilman, D. (1982) *Resource Competition and Community Structure*, Princeton .
- Tilman, D. (1990) Mechanisms of plant competition for nutrients: the elements of a predictive theory of competition. *Perspectives on Plant competition*, Academic P (eds J.B. Grace & D. Tilman), pp. 117–142. San Diego.
- Tilman, D. & Cowan, M.L. (1989) Growth of old field herbs on a nitrogen gradient. *Functional Ecology*, **3**, 425–438.
- Tilman, D. & Downing, J.A. (1994) Biodiversity and stability in grasslands. *Nature*, **367**, 363–365.
- Tjoelker, M.G., Craine, J.M., Wedin, D., Reich, P.B. & Tilman, D. (2005) Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *The New phytologist*, **167**, 493–508.
- Tolkien, J.R.R. (1954) La communauté de l'anneau. *Le seigneur des anneaux l'intégrale*
- Trachsel, S., Kaeppler, S.M., Brown, K.M. & Lynch, J.P. (2013) Maize root growth angles become steeper under low N conditions. *Field Crops Research*, **140**, 18–31.
- Uriarte, M., Swenson, N.G., Chazdon, R.L., Comita, L.S., John Kress, W., Erickson, D., Forero-Montaña, J., Zimmerman, J.K. & Thompson, J. (2010) Trait similarity, shared ancestry and the structure of neighbourhood interactions in a subtropical wet forest: implications for community assembly. *Ecology letters*, **13**, 1503–14.
- Vance, C.P. (2001) Update on the State of Nitrogen and Phosphorus Nutrition Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorus Acquisition . *Plant Nutrition in a World of Declining Renewable Resources*. pp. 390–397.
- Vance, C.P., Uhde-Stone, C. & Allan, D.L. (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, **157**, 423–447.
- Vandamme, E., Renkens, M., Pypers, P., Smolders, E., Vanlauwe, B. & Merckx, R. (2013) Root hairs explain P uptake efficiency of soybean genotypes grown in a P-deficient Ferralsol. *Plant and Soil*, 1–14.
- Van Veldhoven, P.P. & Mannaerts, G.P. (1987) Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. *Analytical Biochemistry*, **161**, 45–48.
- Venterink, H.O. & Güsewell, S. (2010) Competitive interactions between two meadow grasses under nitrogen and phosphorus limitation. *Functional Ecology*, **24**, 877–886.
- Vierheilig, H., Coughlan, A., Wyss, U. & Piche, Y. (1998) Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and environmental microbiology*, **64**, 5004–5007.

- Violle, C., Garnier, E., Lecoq, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A. & Navas, M.-L. (2009) Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia*, **160**, 747–55.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos*, **116**, 882–892.
- Vitousek, P., Cassman, K. & Cleveland, C. (2002) Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry*, **57/58**, 1–45.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J. & Melillo, J.M. (1997) Human Domination of Earth ' s Ecosystems. *Science*, **277**, 494–499.
- Volaire, F. (2008) Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy*, **29**, 116–124.
- Volaire, F. & Lelièvre, F. (2001) Drought survival in *Dactylis glomerata* and *Festuca arundinacea* under similar rooting conditions in tubes. *Plant and soil*, **229**, 225–234.
- Volaire, F., Thomas, H. & Lelièvre, F. (1998) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought. *New Phytologist*, **140**, 439–449.
- Wahl, S. & Ryser, P. (2000) Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist*, **148**, 459–471.
- Wang, P., Stieglitz, T., Zhou, D.W. & Cahill Jr, J.F. (2010) Are competitive effect and response two sides of the same coin, or fundamentally different? *Functional Ecology*, **24**, 196–207.
- Weaver, J. (1958) Classification of root systems of forbs of grassland and a consideration of their significance. *Ecology*, **39**, 393–401.
- Weihner, E. & Keddy, P.A. (1999) Assembly rules as trait-based Assembly, constraints on community composition. *Ecological Rules*, Cambridge (eds E. Weihner & P. Keddy), pp. 251–271. Cambridge, UK.
- Weihner, E., Van der Werf, A., Thompson, K., Roderick, M., Garnier, E. & Eriksson, O. (1999) Challenging Theophrastus: A common core list of plant traits for functional ecology. *Journal of Vegetation Science*, **10**, 609–620.
- Westoby, M. (1998) A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil*, **199**, 213–227.
- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P. a. & Wright, I.J. (2002) Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 125–159.
- White, P.J. & Brown, P.H. (2010) Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of botany*, **105**, 1073–80.
- White, R.G. & Kirkegaard, J.Z. (2010) The distribution and abundance of wheat roots in a dense, structured subsoil--implications for water uptake. *Plant, cell & environment*, **33**, 133–48.
- White, R., Murray, S. & Rohweder, M. (2000) *Pilot Analysis of Global Ecosystems Grassland Ecosystems*. Washington, DC.
- Willis, A., Rodrigues, B.F. & Harris, P.J.C. (2013) The Ecology of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **32**, 1–20.

Withington, J.M., Reich, P.B., Oleksyn, J. & Eissenstat, D.M. (2006) Comparisons of structure and life span in roots and leaves among temperate trees. *Ecological monographs*, **76**, 3081–397.

Wojciechowski, M.F., Lavin, M. & Sanderson, M.J. (2004) A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*, **91**, 1846–1862.

Woodward, F.I. & Cramer, W. (1996) Plant functional types and climatic change: Introduction. *Journal of Vegetation Science*, **7**, 306–308.

Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.-L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J. & Villar, R. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, **428**, 821–7.

Wright, I.J. & Westoby, M. (1999) Differences in seedling growth behaviour among species: trait correlations across species, and trait shifts along nutrient compared to rainfall gradients. *Journal of Ecology*, **87**, 85–97.

Yachi, S. & Loreau, M. (1999) Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **96**, 1463–1468.

Yan, X., Liao, H., Beebe, S.E., Blair, M.W. & Lynch, J.P. (2004) QTL mapping of root hair and acid exudation traits and their relationship to phosphorus uptake in common bean. *Plant and soil*, **265**, 17–29.

Yan, F., Zhu, Y.Y., Müller, C., Zörb, C. & Schubert, S. (2002) Adaptation of H⁺-pumping and plasma membrane H⁺ ATPase activity in proteoid roots of white lupin under phosphorus deficiency. *Plant physiology*, **129**, 50–63.

Zahrán, H.H. (1999) Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiology and molecular biology reviews*, **63**, 968–989.

Zangaro, W., De Assis, R.L., Rostiola, L.V., De Souza, P.B., Gonçalves, M.C., Andrade, G. & Nogueira, M.A. (2008) Changes in arbuscular mycorrhizal associations and fine root traits in sites under different plant successional phases in southern Brazil. *Mycorrhiza*, **19**, 37–45.

Zhu, J., Brown, K.M. & Lynch, J.P. (2010) Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). *Plant, cell & environment*, **33**, 740–9.

Table des figures

Figure 1 : Hypothèse de relation entre (A) la diversité et la productivité induite par les conditions environnementales dans différents sites, et (B) l'effet local de la diversité spécifique sur la productivité. La surface grise représente la variation de la productivité entre les différents réplicas ayant un même niveau de diversité. Extrait de Loreau *et al.* (2001). ... 21

Figure 2 : Relation entre la biomasse vivante par parcelle et la diversité (nombre d'espèces plantées). Chaque point représente un réplica. (A) Biomasse vivante pour le traitement contrôle (non stressé). (B) Biomasse vivante pour le traitement sec. (C) Différence entre la biomasse fraîche et la biomasse attendue sur la base de productions moyennes des monocultures de chaque espèce présente au sein des mélanges. Figure extraite de Mulder, Uliassi, & Doak (2001) 23

Figure 3 : Exemples de fonctions reliées à des traits fonctionnels, NIRS near-infrared spectroscopy : spectroscopie dans le proche infrarouge. Dessin d'*Euphorbia helioscopia* de Baptiste Testi. Figure extraite de Garnier et Navas (2011) 27

Figure 4 : Relation entre le nombre de graines produites par individu et la masse moyenne d'une graine chez des plantes prairiales. *Points gris* : mesures effectuées sur 57 espèces provenant de prairies humides, bords de routes, friches et forêts (Shipley et Dion 1992). *Points noirs* : données mesurées sur 34 espèces de friches méditerranéennes (Vile *et al.* 2006). *Points blancs* : données de 18 espèces de friches méditerranéennes mais qui ont poussé en jardin expérimental (Fortunel *et al.* 2009). Coefficient de corrélation : $r=-0.61$ ($P<0.001$, $n=347$). Figure extraite de Garnier et Navas (2011). 28

Figure 5 : Relation entre la hauteur du couvert et la lumière transmise au travers de ce dernier (Lc). Carrés : plantes rampantes ; Cercles : plantes en touffes ; Triangles : plantes à feuilles dressées ; Triangles inversés : arbustes nains ; Diamants : plantes en rosettes. Figure extraite de Violle *et al.* (2009) 29

Figure 6 : Triangle CSR de Grime décrivant les différentes stratégies possibles résultant de compromis entre stratégie de compétition (Ic), de tolérance au stress (Is) et de tolérance aux perturbations (Id). Figure extraite de Gibson (2009) 31

Figure 7 : Représentation schématique de résultats issus de l'expérimentation de Park Green (RU) supportant la théorie R^* de Tilman. La figure montre les isoclines des croissances nulles pour *Agrostis capillaris* et *Holcus lanatus* pour des limitations par l'azote ou l'eau. Les axes sont des gradients de disponibilité de ces ressources, avec des disponibilités faibles en

bas à gauche et une augmentation de la disponibilité en azote en allant vers la droite et en lumière en allant vers le haut. Les cercles montrent l'effet d'un apport d'azote sur la composition botanique d'une parcelle qui passe d'un mélange *A. capillaris* – *H. lanatus* à dominance forte par la *H. lanatus*. Figure extraite de Gibson 2009. 34

Figure 8 : Représentation schématique de systèmes racinaires de type (a) pivotant et (b) fasciculé. 36

Figure 9 : représentation d'une coupe longitudinale d'un apex de racine de maïs (monocotylédone, *Zea mays*) adapté de Raven *et al.* 2010. 36

Figure 10 : Coupe transversale d'une racine de dactyle (monocotylédone, *Dactylis glomerata*). 36

Figure 11 : Modèle conceptuel montrant la direction et la force relative des relations entre le taux de croissance des plantes (ligne pleine), le diamètre racinaire (ligne en tirets), la concentration en azote des racines (pointillés) avec la durée de vie des racines fines. 40

Figure 12 : Principaux processus ou filtres qui structurent les communautés végétales à partir d'un pool global d'espèces. Chacun de ces processus peut être important pour déterminer la composition d'une communauté dans un milieu, mais leur importance relative peut varier en fonction du milieu, ou de la période de l'année. Les filtres sont représentés par des doubles lignes, les flèches pleines représentent les espèces passant au travers des filtres, les flèches en pointillés mettent en évidence à quel niveau les différents processus peuvent influencer la composition de la communauté. Figure extraite de Lortie *et al.* (2004). 42

Figure 13 : Passage de la niche fondamentale (en pointillé) à la niche réalisée (en vert) sous l'effet (i) de la compétition (interaction biotique négative) (ii) ou de la facilitation (interaction biotique positive). Figure extraite de (Bruno *et al.* 2003). 44

Figure 14 : (a) Corrélation entre le contenu en phosphore des parties aériennes et la longueur des poils racinaires chez différents génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.). (b) Corrélation entre les exportations de culture de haricot (*Phaseolus vulgare* L.) et la longueur des poils absorbants des génotypes. Dans les deux cas, les plantes sont cultivées en conditions de faible disponibilité en phosphore. D'après Richardson *et al.* (2011). 51

Figure 15 : Illustration de la variabilité du pourcentage d'aérenchyme chez deux lignées de maïs (*Zea mays* L. ; Lynch 2007). 52

Figure 16 : Longueur totale racinaire mesurée chez des génotypes de maïs (*Zea mays* L.) produisant peu (33, 248, 331) ou beaucoup (34, 77, 284, 364) d'aérenchymes s'étant développés en condition d'irrigation optimale (WW) ou en condition stressante pour l'eau (WS). Moyenne \pm SE (n=4). Les moyennes ayant des lettres identiques ne sont pas

significativement différentes. RCA : section de racine occupée par des aerenchymes. Extrait de (Zhu *et al.* 2010). 52

Figure 17 : Rendement grainier mesuré chez des génotypes de maïs (*Zhea mays* L.) produisant peu (33, 248, 331) ou beaucoup (34, 77, 284, 364) d'aerenchyme s'étant développés en condition d'irrigation optimale (WW) ou en condition stressante pour l'eau (WS). Moyenne \pm SE (n=4). Les moyennes ayant des lettres identiques ne sont pas significativement différentes. RCA : section de racine occupée par des aerenchymes. Extrait de Zhu *et al.* 2010. 53

Figure 18 : (a) Corrélation entre le contenu en phosphore des parties aériennes et la longueur des poils racinaires chez différents génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.). (b) Corrélation entre les exportations de culture de haricot (*Phaseolus vulgare* L.) et la longueur des poils absorbants des génotypes. Dans les deux cas, les plantes sont cultivées en conditions de faible disponibilité en phosphore. D'après Richardson *et al.* (2011). 54

Figure 19 : "Clusters roots" induits chez des espèces de *Proteaceae*, *Restionaceae*, *Cyperaceae* et *Fabaceae* par de faibles apports (ou des conditions limitantes) en P. (A) Racines "proteoides" de type composé (*Proteaceae*); barre d'échelle = 13 mm. (B) Racines "proteoides" de type simple (*Proteaceae*); barre d'échelle = 4 mm. (C) Racines "dauciformes" (*Cyperaceae*); barre d'échelle = 2 mm. (D) Racines "dauciformes" (*Cyperaceae*); barre d'échelle = 2 mm. (E) "Cluster root" provenant de sol (*Fabaceae*); barre d'échelle = 12 mm. (F) Cluster root (*Fabaceae*); barre d'échelle = 4 mm. (G) Racines "Capillaroides" (*Restionaceae*); barre d'échelle = 4 mm. (H) Racines "Capillaroides" (*Restionaceae*) barre d'échelle = 6 mm. (I) Racines "Capillaroides" (*Restionaceae*); barre d'échelle = 5 mm. D'après Lambers *et al.* 2006. 58

Figure 20 : Représentation schématique de l'évolution des quantités de P (violet) et de N (bleu) total présentes dans les sols en fonction de leurs âges. Allant de sols jeunes de types volcaniques ou rajeunis par des épisodes glaciaires contenant de fortes quantités de P et de faibles quantités de N, vers de sols anciens situés au dessus de la mer et n'ayant pas connu de période glaciaire depuis un million d'années, pauvre en P et en N. La présence et l'épaisseur des triangles représentent respectivement la présence et la fréquence de différents types d'adaptations à de faibles niveaux de disponibilité en P et N (Figure extraite de Lambers *et al.* 2008). 60

Figure 21 : Pourcentage d'augmentation du rendement obtenu par les lignées ayant des vaisseaux du xylème de petit diamètre par rapport à deux cultivars de blé standard en

fonction du rendement moyen de la parcelle qui est utilisé ici comme un proxy du niveau de disponibilité en eau. Adapté de Richards (2006).	61
Figure 22 : Pots et structures mises en place pour les expérimentations en serre.	69
Figure 23 : Plantes de l'expérimentation d'interaction entre quatre Poaceae après quatre semaines de croissance.	69
Figure 24 : Exemple de structures mises en place pour contenir et accompagner le développement aérien de <i>Fabaceae</i> prairiales en serre.	69
Figure 25 : Design de l'expérimentation de d'interaction comprenant deux espèces à stratégie de conservation des ressources (carrés rouge et orange) et deux espèces à capture des ressources (carrés vert clair et vert). Les carrés gris représentent les des couples d'individus (une espèce cible et une voisine). Les carrés blancs représentent les monocultures comprenant un seul individu d'une seule espèce	72
Figure 26: Canonical correspondence analysis (CCA) for functional traits measured in 11 grass species (A) Correlation circle between variables and CCA axis; (B) species coordinate on the CCA axis. Black circle: root traits used to construct the CCA axes. D: root mean diameter; DR: deep root percentage; FRP: fine root percentage; RM: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circle: leaf traits used to construct the CCA axes; LDMC: leaf dry matter content; SLA: specific leaf area. Grey circle: root trait not used in the CCA axes but added to show its correlation with the axes; RLD: root length density.	88
Figure 27: Linear regressions of (A) specific root length or (B) root mass to specific leaf area. Black square drought sensitive species: <i>A. capillaris</i> , <i>D. glomerata</i> , <i>D. cespitosa</i> , <i>F. rubra</i> , <i>H. lanatus</i> , <i>L. perenne</i> <i>P. pratense</i> . Grey triangle drought tolerant species: <i>B. pinnatum</i> , <i>B. sylvaticum</i> , <i>B. erectus</i> , <i>L. arundinaceum</i> . Mean \pm standard error, ANCOVA.	90
Figure 28 : Phylogeny of grassland <i>Fabaceae</i> species based on published sequences of the matK gene. Values of three principal component analysis axes based on functional trait measurements are represented at the tips of the phylogeny (centre, standardised format). Axis 1 is the only one with a significant phylogenetic signal. Values on axis nodes represent bootstrap results.	100
Figure 29 : Vésicule et hyphe de champignons mycoriziens à arbuscule dans une racine d' <i>Anthyllis vulneraria</i>	104
Figure 30 : Principal component analysis (PCA) for nine functional traits measured in 14 grassland <i>Fabaceae</i> species (a,c) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct PCA axes; Diameter: root mean diameter; Depth: depth of	

95% of the root length; Nod: biomass of nodosity per biomass of root; Myco: mycorrhizal rates; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: root traits not used to construct PCA axes; RLD: root length density; SRSL: specific root system length (b,c) species coordinates on the PCA axes. 109

Figure 31 : Specific root length (a,b) and specific root system length (c,d) expressed as function of plant SLA, with K (a,c) or P indicators (b,d) used as a covariate. Black circle and black line: species with higher-than-median ecological indicator values; grey circle and dotted line: plants belonging to species with lower-than-median ecological indicator values; white circle: plants belonging to species with no ecological indicator values. Significance of the regressions was assessed by the Pearson's correlation test. 110

Figure 32: Cross section of a root of *Lolium arundinaceum* with aerenchyma (green). 122

Figure 33 : Root of *Melilotus albus* with root hairs. Stained with methylene blue and scanned at 800dpi. 123

Figure 34: Principal component analysis (PCA) for 8 functional traits measured in 18 grassland species. (a) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct the PCA axes; Aer: root cross section occupied by aerenchyma; D: root mean diameter; Depth: depth of 95% of the root length; Hairs: root hair length; Pase: root-surface phosphatase activity; Root: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: stress intensity used to construct the PCA axes; P: intensity of P stress; Water: intensity of water stress. (b) species' coordinates on the PCA axes for 4 *Poaceae* (white triangles) and 18 *Fabaceae* (black circles)..... 127

Figure 35: Principal component analysis (PCA) for 8 functional trait responses to stress measured in 18 grassland species. (a,c) Correlation circle between variables and PCA axes; black circles: root traits used to construct the PCA axes; Aer: root cross section occupied by aerenchyma; D: root mean diameter; Depth: depth of 95% of the root length; Hairs: root hair length; Pase: root-surface phosphatase activity; Root: root mass; RTD: root tissue density; SRL: specific root length. White circles: stress intensity used to construct the PCA axes; P: intensity of P stress; Water: intensity of water stress. White triangle: Above-ground biomass produced in stressful conditions. (b,d) species' coordinates on the PCA axes for 4 *Poaceae* (white triangles) and 18 *Fabaceae* (black circles)..... 130

Figure 36: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the specific root length (SRL) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability

growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, n = 36 (12 species pairs x three harvests)..... 148

Figure 37: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the root length density (RLD) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, n = 36 (12 species pairs x three harvests)..... 149

Figure 38: Index of competition intensity of target plants expressed as a function of the root phosphorus use efficiency (RPUE) hierarchical distance under (a) high water and P availability, (b) high water and low P, (c) low water and high P, and (d) low water and P availability growth conditions. Each point represents a species pair (target-neighbour) at one harvest. Significance of the regressions was assessed by Pearson's correlation test, n = 24 (12 species pairs x three harvests). 150

Figure 39 : Analyse en composante principale représentant les espèces étudiées dans cette thèse dans un plan formé à partir de trois principaux traits (SRL, D et RTD) mesurés dans deux conditions de croissance : i) en jardin commun : cercle en trait plein ; ii) en serre : cercle en tiret. Les *Poaceae* sont représentées par des ronds blancs les *Fabaceae* par des triangles noirs. 157

Figure 40 : Photographies de racines de (a) *Vicia cracca*, (b) *Anthyllis vulneraria* et (c) *Trifolium campestre*. 158

Figure 41 : Cercle de corrélation d'une analyse en composante principale portant sur les réponses de 8 traits fonctionnels au manque de phosphore mesurées sur 18 espèces prairiales. Ronds noirs : traits racinaires : Aer: proportion d'aérenchyme; D: diameter racinaire; Depth: profondeur de 95% de la longueur racinaire; Hairs: longueur des poils racinaires; Pase: activité des phosphatase de surfa; Root: masse racinaire; RTD: densité de tissus racinaire; SRL: longueur racinaire spécifique. Rond blanc : P: intensité du stress en phosphore. Triangle blanc : Biomasse aérienne produite en condition de manque de phosphore 162

Figure 42 : Relation entre la distance hiérarchique des valeurs de SRL d'un couple d'individu (plante cible et voisin) et l'intensité de la compétition perçue par la plante cible. 165

Figure 43 : Biomasse racinaire moyenne dans les horizons profonds (60-100 cm) en fonction de la longueur racinaire spécifique des espèces. 171

Figure 44 : Longueur racinaire spécifique (SRL) moyenne de 229 communautés prairiales du piedmont pyrénéen exprimées en fonction de la surface foliaire spécifique (SLA) moyen de ces communautés.....	171
Figure 45 : Représentation schématique des caractéristiques racinaires d'espèces sensibles et d'espèces résistantes aux manques de phosphore.....	174
Figure 46 : Exemple de l'effet couvrant du trèfle jaune (<i>Trifolium campestre</i>) semé en mélange avec de la fétuque élevée (<i>Lolium arundinaceum</i>). (A) semi de fétuque sans trèfle ; (B) mélange fétuque trèfle.....	177

Table des tableaux

Tableau 1 : Liste de traits fonctionnels et leur signification présumée ou établie (adapté de Roumet <i>et al.</i> 2006).	39
Tableau 2 : Liste des espèces étudiées, leur histoire de vie et leurs exigences écologiques d'Ellenberg (Ellenberg <i>et al.</i> 1991) pour l'eau (HE), la continentalité (K), et le pH du sol (pH) et pour le phosphore (P ; Pervanchon 2004). Les indices HE, K et pH vont de 1 (faible besoin en ressources) à 9 (fort besoin). L'indice P varie de 0 (pas d'exigences particulières pour le phosphore) à 10 (espèce exigeante pour le phosphore).....	67
Table 3: Species studied (authorities according to the Euro+Med Plant Base http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/results.asp), their above-ground growth strategies (S) according to Cruz <i>et al.</i> (2010) (A for acquisitive and C for conservative), Ellenberg indices for water (H), variation in the soil water content (var H), nutrients (N) and their habitat preferences (Ellenberg <i>et al.</i> 1991; Rameau <i>et al.</i> 2006). The H and N indices are expressed on a scale from 1 (low requirement of the resource) to 9 (high requirement). Var H indicates whether the species is tolerant (1) or not (0) to large variations in soil water availability.	84
Table 4: Mean \pm standard deviation of root and leaf functional traits for species studied. In each column, different letters indicate significantly different means of species' parameters (n = 44, p < 0.05, ANOVA and TukeyHSD post-hoc test).	87
Table 5: Correlation coefficients between root and leaf trait and canonical correspondence axis.	89
Table 6 : Species studied (Euro+Med Plant Base http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/), their life histories and their Ellenberg indicators for soil water availability (HE), climate continentality (K), soil pH (Ellenberg <i>et al.</i> 1991) and soil available phosphorus (P index) (Pervanchon 2004). HE, K and pH indices are expressed on a scale from 1 (low requirements for water, continentality, soil pH) to 9 (high requirements). The P index is expressed on a scale from 0 (no particular P requirement) to 10 (high P requirement).	102
Table 7 : Root and leaf functional trait attributes of 14 grassland <i>Fabaceae</i> species (mean \pm SE; n= 6).	106
Table 8 : Principal component analysis (PCA) eigenvector scores for a PCA based on root functional trait values measured for 14 grassland <i>Fabaceae</i> species. Values in parentheses indicate variance explained by each axis. Root length density, specific root system length and ecological indicators were not used within the PCA, but the significance of	

their correlations with the axes was tested with the Pearson correlation test. Bold values indicate significant correlations (n=84)..... 108

Table 9 : Results of variance analysis testing the link between species coordinates among the three first axis of a principal component analysis based on root functional traits and their phylogenetic relatedness (n=14). 109

Table 10 : Results from ANCOVA performed on two functional traits, (a) specific root length and (b) specific root system length, with specific leaf area and ecological indicators used as covariates. HE: soil water availability; K: climate continentality and pH (Ellenberg *et al.* 1991); P: index for soil available phosphorus (Pervanchon 2004). Bold values indicate statistical significance, (the number of individuals used for each ANCOVA varied as a function of the number of indicator values: HE, n=84; K, n=66; pH, n=78; P, n=72). 110

Table 11: Mean \pm SE of root functional trait attributes of four *Poaceae* (n=5) and 14 *Fabaceae* (n=6) species grown under conditions of high water and phosphorous availability. 125

Table 12: Above-ground biomass produced under conditions of high water and high phosphorous (P) availability and P-stress and water-stress intensity for 4 *Poaceae* (n=5) and 14 *Fabaceae* (n=6) species..... 127

Table 13 : Principal component analysis (PCA) coefficients for PCAs based on: (a) root functional trait values measured in 18 grassland species and the intensity of phosphorus (P) and water stress; (b) root trait distances and the intensity of stress induced by P shortage; and (c) root trait distances and the intensity of stress induced by water shortage. Above-ground biomass was not used in the PCA, but the significance of its correlation to the axes was tested with Pearson's correlation test. Bold values indicate significant correlations. 128

Table 14 : Two-way ANOVA testing the effect of (a) phosphorus (P) and (b) water and their crossed effect with species on eight root functional trait values..... 129

Table 15: (a) Root functional trait values of the four grass species studied for all growth conditions and harvests combined (mean \pm SE); (b) Index of stress intensity of the four grass species for all the harvests combined (mean \pm SE). Different letters indicate significant differences within a column (ANOVA and *post hoc* Tukey's HSD test, n for (a) = 228 , n for (b) = 56). 145

Table 16: Mean aboveground dry biomass at the third harvest of the four grass species studied, under four growth conditions (mean \pm SE). Different letters indicate significant differences within a column (ANOVA and *post hoc* Tukey's HSD test, n = 76)..... 145

Table 17: Results from four-way-multifactorial ANCOVAs performed for the competition intensity index of species pairs as a function of their (a) hierarchical trait distance, (b) absolute trait distance, and (c) phylogenetic distance. Traits considered are: the specific root length (SRL); the root length density (RLD) and the root phosphorus use efficiency (RPUE). * RPUE was measured only for the last two harvests, making the degrees of freedom for its harvest effect equal to one. Bold values indicate statistical significance ($p < 0.05$), $n = 692$ 147

Annexes

Table I. Traits distance values of the 4 *Poaceae* and 14 *Fabaceae* species grown with high and low P availability. Bold values indicate species for which P shortage had a significant effect on root traits value (ANOVA and HSD *post hoc* test). Negative values when species decreased their traits attribute and positives ones when their increase their traits attribute in case of stress.

Species	Aerenchyma cross section area (%)	Depth of 95% of the root length (cm)	Root surface phosphatase activity ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Root hairs length (μm)	Root mass (g)	Root mean diameter (μm)	Root tissue density ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Specific root length ($\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$)
Poaceae								
<i>Bromus erectus</i> Huds.	3.0	16.8	9.8	-46	-1.7	32.6	-26.7	8.1
<i>Dactylis glomerata</i> L.	0.4	0.5	28.7	71	-1.1	5.0	-31.9	59.2
<i>Holcus lanatus</i> L.	7.6	9.2	40.7	164	-1.8	-3.8	-12.5	47.2
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	11.4	11.1	4.4	104	-0.5	-4.5	12.4	-6.9
Fabaceae								
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	-3.8	1.4	22.4	90	0.4	13.5	7.5	-45.2
<i>Lotus corniculatus</i> L.	5.9	1.6	20.3	49	1.2	6.9	-18.4	13.6
<i>Medicago lupulina</i> L.	0.9	-9.6	68.0	7	0.9	9.1	-9.9	3.8
<i>Medicago sativa</i> L.	-4.2	0.2	34.6	40	-2.2	25.0	0.7	-31.8
<i>Melilotus albus</i> Medik.	-0.6	-0.8	17.9	79	-2.4	3.2	9.7	-27.8
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	0.1	0.0	15.7	-175	-0.7	14.3	55.8	-28.1
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	-2.4	-1.0	21.1	9	0.4	-8.1	6.6	-3.9
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	-0.9	-8.8	84.1	6	-0.5	-1.6	23.2	-53.6
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	0.5	-6.1	75.4	-15	0.3	-5.4	-6.2	20.6
<i>Trifolium pratense</i> L.	0.7	5.5	44.7	-20	-0.5	-7.8	4.9	4.2
<i>Trifolium repens</i> L.	1.0	2.8	31.8	-67	-0.7	-5.8	6.9	5.5
<i>Vicia cracca</i> L.	2.2	1.2	18.9	-24	-2.1	-0.7	17.4	-6.6
<i>Vicia sepium</i> L.	-0.5	-5.2	15.1	-154	-1.0	6.4	17.0	-6.7
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth	-0.2	0.6	12.5	-37	-4.4	-26.9	16.2	5.1

Table II. Traits distance values of the 4 *Poaceae* and 14 *Fabaceae* species grown with high and low water availability. Bold values indicate species for which water shortage had a significant effect on root traits value (ANOVA and HSD *post hoc* test). Negative values when species decreased their traits attribute and positives ones when their increase their traits attribute in case of stress.

Species	Aerenchyma cross section area (%)	Depth of 95% of the root length (cm)	Root surface phosphatase activity ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	Root hairs length (μm)	Root mass per plant (g)	Root mean diameter (μm)	Root tissue density ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Specific root length ($\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$)
Poaceae								
<i>Bromus erectus</i> Huds.	-13.0	10.2	-6.6	137	-4.9	-30.7	-5.1	72.3
<i>Dactylis glomerata</i> L.	-11.8	14.0	4.5	30	-6.8	28.3	-15.3	-24.0
<i>Holcus lanatus</i> L.	-9.0	14.1	-10.3	20	-8.1	-29.3	21.8	-1.3
<i>Lolium arundinaceum</i> (Schreb.) Darbysh.	-22.1	11.5	-14.4	28	-6.7	-37.4	18.4	14.0
Fabaceae								
<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	-10.4	5.7	40.7	76	-0.9	23.4	5.3	-54.5
<i>Lotus corniculatus</i> L.	-5.5	7.7	9.2	9	-2.5	8.5	32.1	-28.5
<i>Medicago lupulina</i> L.	-4.5	2.9	35.8	-7	-0.7	12.9	4.9	-58.1
<i>Medicago sativa</i> L.	-5.9	1.8	-9.3	9	-6.5	3.8	32.1	-67.1
<i>Melilotus albus</i> Medik.	-8.9	-6.5	-1.4	29	-10.2	-0.5	13.5	-27.9
<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	0.0	3.9	1.9	-159	-2.4	-4.4	10.6	-4.2
<i>Securigera varia</i> L. (Lassen)	-9.2	1.8	17.9	53	-1.3	12.2	13.3	-30.0
<i>Trifolium campestre</i> Schreb.	-0.9	2.7	100.8	122	-0.7	-40.9	10.0	-50.5
<i>Trifolium fragiferum</i> L.	-10.4	-12.8	6.5	38	-0.7	0.5	5.3	-1.7
<i>Trifolium pratense</i> L.	-4.1	0.8	-7.2	-7	-1.2	16.0	31.6	-94.2
<i>Trifolium repens</i> L.	-4.4	-3.0	31.0	-21	-1.2	19.1	45.7	-99.5
<i>Vicia cracca</i> L.	-1.6	8.2	9.0	20	-3.9	4.6	-1.1	-4.2
<i>Vicia sepium</i> L.	-1.3	2.8	23.9	14	-0.9	-4.3	-14.3	5.7
<i>Vicia tenuifolia</i> Roth	-4.6	8.3	3.2	-28	-8.0	-14.7	45.3	-5.0

Résumé

A l'heure où l'on cherche à optimiser les services éco-systémiques fournis par les prairies, une meilleure compréhension du fonctionnement des systèmes racinaires apparaît comme nécessaire. Nous avons donc décidé de caractériser les stratégies d'espèces issues des familles des *Fabaceae* et *Poaceae* prairiales par la mesure de traits fonctionnels racinaires.

Le principal résultat de ce travail est la mise en évidence de plusieurs axes majeurs de différenciation des stratégies racinaires et de leurs relations avec les exigences écologiques des espèces. Le plus important est le compromis entre stratégies de capture et de conservation des ressources. Les espèces à stratégie de capture sont mieux adaptées aux milieux peu stressants notamment pour l'eau, mais sont peu impactées par le manque de phosphore, ce sont aussi des compétitrices efficaces. Bien que les plantes à stratégie de conservation soient mieux à même de se développer dans des milieux continentaux, elles sont plus impactées que les autres par la présence de compétiteurs et le manque de phosphore. Le type de relations existant entre les stratégies aériennes et racinaires apparaît aussi comme un marqueur de l'adaptation des plantes aux stress.

L'étude du système racinaire est donc un moyen efficace de prédire le comportement des espèces de plantes prairiales face à des contraintes abiotiques et biotiques. Cela ouvre des perspectives particulièrement intéressantes notamment pour la construction de mélanges d'espèces mieux adaptées à leurs environnements.

Mots clés : eau, *Fabaceae*, phosphore, *Poaceae*, prairie, racines, traits fonctionnels

Abstract

In order to optimise grassland ecosystem services we need to improve our understanding of root system functioning. As a result, we decided to characterise strategies of species coming from grassland' *Fabaceae* and *Poaceae* families, by root functional traits measurement.

The main result of this work is the establishment of several axes of root strategies differentiation. The main axis is the trade-off between resources capture and conservation strategies. Species with capture strategies appear to be adapted to non-water stressful habitat and are barely impacted by phosphorus shortage; they also happen to be strong competitors. On the opposite, species with conservation strategies are adapted to water stressful continental climates, but are strongly impacted by phosphorus shortage and happen to be weak competitors. The kind of relation between above-ground and below-ground strategies also appears to be a marker of the plants adaptation to stress.

We showed that the root system study is a good way to predict grassland species compartment to face abiotic and biotic constraints. The present work widens interesting perspectives for the sowing of mixed grassland species better adapted to their environments.

Key words: *Fabaceae*, functional trait, grassland, phosphorus, *Poaceae*, root, water