



HAL
open science

Régénération du chêne sessile en présence de molinie bleue : mécanismes fonctionnels de la compétition pour l'azote du sol

Sirine Roumani

► **To cite this version:**

Sirine Roumani. Régénération du chêne sessile en présence de molinie bleue : mécanismes fonctionnels de la compétition pour l'azote du sol. Sciences de l'environnement. 2018. hal-02608286

HAL Id: hal-02608286

<https://hal.inrae.fr/hal-02608286v1>

Submitted on 16 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

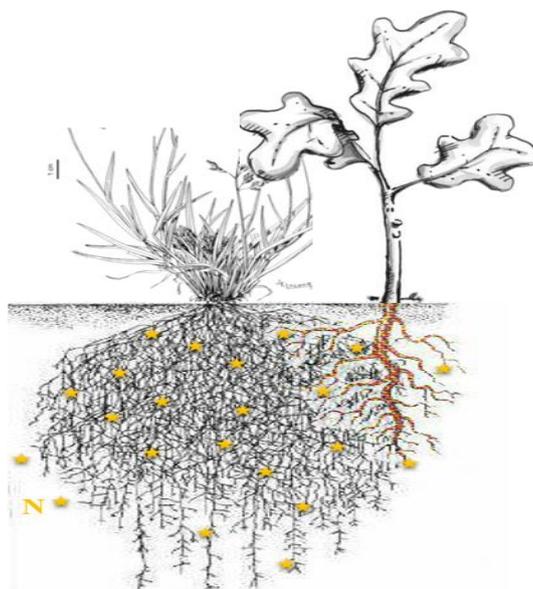
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

2017-2018

MASTER FAGE
Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement

Spécialité
Biologie Intégrative d'Arbres et des plantes cultivées

**REGENERATION DU CHENE SESSILE EN PRESENCE DE MOLINIE BLEUE :
MECANISMES FONCTIONNELS DE LA COMPETITION POUR L'AZOTE DU SOL**



ROUMANI SIRINE

Mémoire de stage, soutenu à Nancy le 04/09/2018

Encadrant : Philippe BALANDIER, Directeur de recherches, IRSTEA Nogent-sur-Vernisson

Co-encadrant : Marine FERNANDEZ, doctorante, INRA Clermont-Ferrand

Référent : Mélanie MOREL-ROUHIER, professeur, faculté des sciences Nancy

Institut national de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et
l'Agriculture.

Domaines des Barres, 45290 Nogent-sur-Vernisson

Présentation générale de la structure d'accueil

Le centre **IRSTEA** – Institut National de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture – Centre de Nogent-sur-Vernisson (figure A), est installé sur le site forestier du Domaine des Barres et composé d'une unique unité de Recherche entièrement dédié aux écosystèmes forestiers (EFNO). Cette unité de recherche est composée de quatre équipes ; BIODIV « BIODIVersité », FONA « interactions Forêt ONgulés Activités humaines », GeeDAAF « Diversité Adaptative des Arbres Forestiers » et **FORHÉT** « FORêts HÉTérogènes ».

Mon stage de 6 mois de Master 2 s'est effectué au sein de l'équipe **FORHÉT**, dirigée par Philippe Balandier et a pour objectif de comprendre et modéliser le renouvellement, la croissance et la dynamique forestière. Depuis plusieurs décennies, les écosystèmes forestiers sont particulièrement soumis au phénomène de changement climatique, d'où la nécessité de faire évoluer les pratiques sylvicoles et d'apporter aux gestionnaires des conseils et des éléments d'aide à la décision pour la gestion des forêts de plaine.

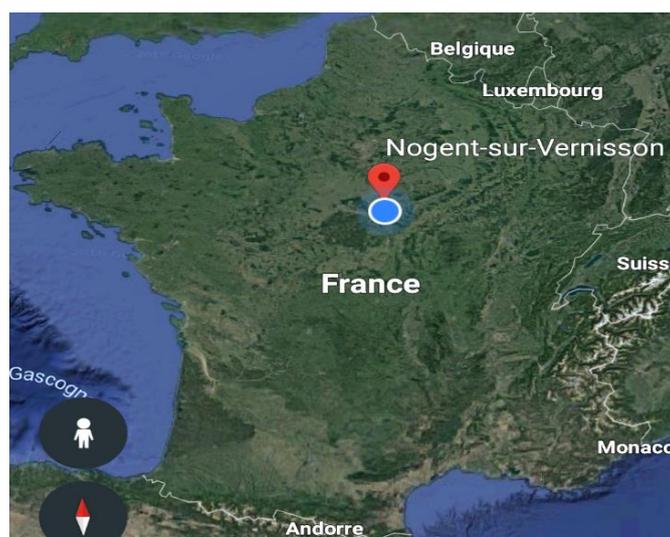


Fig. A : localisation de la structure d'accueil IRSTEA sur la carte

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent à Philippe Balandier, directeur de recherche dans l'équipe FORHET et responsable de mon stage et Marine Fernandez ma co-encadrante qui pendant toute la durée de mon stage m'ont guidé dans mon travail, dans mes analyses et ainsi que dans la réalisation de ce rapport. Ils ont fait preuve de pédagogie, d'enthousiasme, ils ont été disponibles et ont pu répondre à toutes mes interrogations.

Je tiens à remercier toute l'équipe FORHET, de m'avoir accueilli pendant ces 6 mois. Mes remerciements s'adressent à Olivier Chaintreuil qui a été toujours disponible pour mes déplacements sur terrains et qui m'a aidé à faire les mesures

Je remercie toute l'équipe du laboratoire IRSTEA et aussi PIAF INRA de Clermont Ferrand qui m'a également souvent accueilli pour certaines manipulations.

Je remercie tous les autres membres de l'IRSTEA avec qui j'ai pu échanger et qui se sont montrés avenant et chaleureux, mes collègues stagiaires présents dans les meilleurs moments comme dans les plus stressants.

Merci également à l'ONF pour avoir financé ce projet.

Toutes ces expériences ont été pour moi très gratifiantes et épanouissantes, tant au niveau personnel que professionnel en me permettant de gagner en confiance, en autonomie et en rigueur scientifique

Résumé

La régénération forestière, naturelle ou artificielle, est sujette à de nombreux échecs en raison d'une compétition importante entre les jeunes plantules d'arbres et les espèces de sous-bois. La disponibilité en azote minéral dans le sol et sa captation par les espèces en compétition pourraient constituer des éléments importants de l'établissement du rapport de dominance entre les deux espèces étudiées : le chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (*Molinia caerulea* (L.) Moench). L'objectif de cette étude a été de comprendre la capacité d'absorption de l'azote du chêne sessile en compétition avec la molinie. Après l'installation et l'acclimatation des plants de chêne âgés de 2 ans cultivés en pots en présence ou pas de molinie et d'un traitement fongicide, la croissance des parties aériennes et des systèmes racinaires a été déterminée et les capacités d'absorption du nitrate et de l'ammonium à partir de racines excisées ont été caractérisées grâce à l'utilisation de l'isotope lourd ^{15}N . Une étude in situ a été mise en place afin de comparer les résultats obtenus en pots. Des modifications structurales en réponse au type de voisin et au fongicide ont été observées chez les deux espèces notamment une baisse de biomasse aérienne pour le chêne et racinaire surtout pour la molinie. D'un point de vue fonctionnel, il ressort que la capacité d'absorption pour la molinie a été plus altérée par le fongicide, et pour le chêne par la compétition.

Mots clés : Compétition, absorption, ^{15}N , chêne, molinie, mycorrhize

Temperate forest ecosystems are prone to regeneration failures because of strong competition between understorey species and tree seedlings. Availability of mineral nitrogen as well as its capture by competing species may significantly contribute to establishment of dominance between the two species studied, sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and purple moor (*Molinia caerulea* (L.) Moench). This study aimed to improve our understanding of the absorbance capacity of sessile oak nitrogen in competition with molinia. After installation and acclimatization of two year old's oak grown in pots in the presence of purple moor and fungicide treatment, we determinate the growth of the upper part of the plant and the root system. We also incite absorption capacities of nitrate and ammonium from excised roots through the use of heavy isotope ^{15}N . An on-site study was carried out in order to compare results with the potted plants. Structural changes in response to neighbor or f fungicide treatment were observed in both species notably a decrease in the above-ground biomass of oak and mostly the roots of molinia. From a functional viewpoint results showed that the absorption capacity for the moliniq was more altered by the fungicide, however for the oak was altered by competition.

Key words: Competition, absorption, ^{15}N , oak, molinia, mycorrhize

Liste des abréviations

Ai	Abondance isotopique
cm	Centimètre
F	Fongicide
HATS	High affinity transport system
LATS	Low affinity transport system
IGN	Institut national de l'information géographique et forestière
In	Influx massique
mg	Milligramme
MM	Masse moléculaire
Mm	Millimètre
moyDia	Moyenne des deux diamètres Nord et Sud
MS	Matière Sèche (g)
N	Azote
nmoles	Nanomoles
¹⁵N	Azote 15 (isotope)
ONF	Office National des Forêts
PA	Partie aérienne
QN	Quantité d'azote
SE	Erreur standard
SR	Système racinaire
μM	Micro-molaire
%Ntot	Teneur en azote total (%MS)

Sommaire

Présentation générale de la structure d'accueil	
Remerciments.....	
Résumé.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction	1
A. Contexte général de l'étude :	1
B. Synthèse bibliographique	1
I. LA LUMIERE.....	2
II. LES ELEMENTS MINERAUX :	3
III. LES MYCORHIZES.....	5
IV. L'ALLELOPATHIE :	5
MATERIEL ET METHODES	6
A. Espèces végétales étudiées	6
B. Dispositif expérimental.....	6
I. Expérimentation en pot : influence de la molinie sur l'influx d'azote	7
II. Expérimentation en forêt.....	9
C. Calculs et analyses statistiques	10
I. Calcul de la quantité d'azote total, de $15N$ et de l'influx de $15N$	10
II. Analyses statistiques :	11
Résultats	11
A. Croissance des parties aériennes et des systèmes racinaires des plantes in situ et en pot	11
I. Croissance des parties aériennes in situ en fonction de la densité de molinie et de la lumière	11
II. Croissance des parties aériennes (PA) et du système racinaire (SR) des plantes en pot	14
B. Influx racinaire de nitrate (NO_3^-) et d'ammonium (NH_4^+).....	15
I. Influx racinaire en fonction de la forme azotée.....	15
II. Influx de nitrate en fonction de la présence d'un voisin et de fongicide.....	16
Discussion	17
A. Croissance des parties aériennes PA in situ en fonction de la densité de molinie et de la lumière :.....	17
B. Croissance des parties aériennes (PA) et systèmes racinaires (SR) en pot en fonction de présence ou absence d'un voisin ou d'un fongicide.....	17
C. Influx racinaire du nitrate et de l'ammonium.....	19
Conclusion et perspectives	20
Références bibliographiques	21
Annexe	26

Introduction

A. Contexte général de l'étude :

La France métropolitaine dispose d'une richesse forestière de plus de 16 millions d'hectares avec une dominance d'espèces feuillues telles que le chêne sessile (*Quercus petraea*) et pédonculé (*Quercus robur*). Ils représentent 28% de la forêt française (source ONF), faisant de ce pays le premier pays producteur de chênes en Europe et le deuxième dans le monde, après les États-Unis (Forêt Privée Française – la sylviculture du chêne). Cette espèce est une ressource indispensable pour les différents secteurs écologiques, économiques et culturels et notamment au vue de la qualité du bois qu'il est possible de produire avec cette essence.

Néanmoins, les forêts françaises subissent de nombreuses perturbations anthropiques (éclaircie, coupe rase, coupe partielle, pollution, etc.) et naturelles (incendie, tempête, ennoisement des systèmes racinaires, sécheresse, etc.) pénalisant ainsi la production du bois (Douzon G. 2005). Pour faire face à ces contraintes, les écosystèmes forestiers sont capables d'effectuer une forme de résilience écologique : la régénération. Cela permet à ces écosystèmes de se renouveler et de se reconstituer. Cette régénération des peuplements est devenue une technique de gestion forestière qui garantit la diversité biologique, la productivité, la capacité de renouvellement et la vitalité. Le succès de la régénération naturelle dépend de nombreux facteurs (production de graines, germination, prédation) mais aussi de la capacité des jeunes arbres à résister à la compétition de la végétation interférente (Gaudio et al, 2011). De ce fait, essayer de mieux comprendre les interactions entre plantes devient primordial pour la réussite de la régénération.

Des études ont mis l'accent sur l'effet de la lumière sur les interactions entre plantes. En effet, une ouverture de la canopée arborée par réduction du nombre d'arbre sur pied se traduit par une augmentation des ressources (rayonnement, nutriments, eau) dans l'écosystème forestier. Ces ressources additionnelles peuvent profiter à certaines espèces monopolistes, dont les herbacées, et entraîner une colonisation du sous-bois par ces espèces compétitrices pour les ressources du milieu et donc pouvant altérer la régénération des jeunes arbres (Provendier & Balandier, 2008).

Suite à des erreurs sylvicoles telles que des coupes trop intensives non suivies de régénération, le chêne sessile n'échappe pas à ce phénomène de colonisation par des espèces compétitrices (Harmer & Morgan, 2009; Annighöfer *et al.*, 2015). L'une de ces espèces monopolistes qui compromet la croissance des jeunes chênes à cause de leur compétitivité pour la lumière ainsi que l'eau et les nutriments est la molinie bleue (*Molinia caerulea*) (Timbal *et al.*, 1990; Vernay *et al.*, 2016). C'est une espèce dont les propriétés allélopathiques ont déjà été suggérées (Becker & Lévy, 1982), mais les processus clés de sa compétition avec le chêne sont encore mal compris.

La compétition entre les herbacées et les arbres pour la lumière et l'eau a fait le sujet de plusieurs études comme celles de Coll et al, 2003 ; Balandier, 2006 ; Gaudio et al, 2011 ; Vernay 2016, tandis que peu de recherches ont mis l'accent sur la compétition pour les ressources minérales comme l'azote, un élément nutritif essentiel à la croissance et au développement (Morot-Gaudry, 1997).

D'où l'objectif de l'étude durant ce stage qui a consisté à étudier la compétition entre les jeunes plants de chêne sessile (*Quercus petraea*) et la molinie (*Molinia caerulea*), une graminée très compétitive pour l'azote (N) au détriment de la régénération des arbres.

B. Synthèse bibliographique

En forêt, les plantes comme tous les organismes vivant dans un même habitat sont en compétition pour l'accès à des ressources essentielles à leur croissance et survie comme la lumière, l'eau et les macro et micro nutriments. La compétition peut avoir lieu entre différentes espèces, la compétition interspécifique, ou bien entre différents individus de la même espèce, la compétition intra-spécifique. Cette compétition est induite par le fait que les plantes

consommant une même ressource limitée influençant ainsi la performance de l'individu (Begon et al., 1996). La compétition est l'un des mécanismes majeurs expliquant la présence et l'absence d'espèce dans une communauté végétale (Keddy 2001).

Les mécanismes de la compétition sont multiples : au niveau de la partie aérienne, l'ombrage des strates herbacées par les plantes voisines de plus grande taille, et au niveau de la partie souterraine, le développement et la ramification des racines des plantes pour explorer le sol à la recherche d'eau et de nutriments, ainsi que la sécrétion d'exsudats allélochimiques pouvant influencer la croissance, la survie et la reproduction des plantes voisines.

Il existe deux grands types de compétition :

- Par interférence : il s'agit d'un cas d'interactions antagonistes directes entre les compétiteurs (Kennedy, 2010), nous pouvons notamment citer l'allélopathie qui consiste en la production de molécules inhibitrices par une espèce à l'encontre d'une autre pour en réduire l'accès aux ressources (de Kroon et al., 2003 ; Schenk, 2006).
- Par exploitation : il s'agit d'un cas d'interactions indirectes entre les compétiteurs et lorsqu'une espèce consomme les ressources jusqu'à un niveau très faible au détriment des autres, ce qui permet de déterminer la performance des différentes espèces face aux ressources limitées dans le sol. En ce sens on peut alors distinguer l'effet d'un compétiteur sur la quantité de ressources et la réponse des autres espèces à ce changement (Goldberg, 1990, Figure 1).

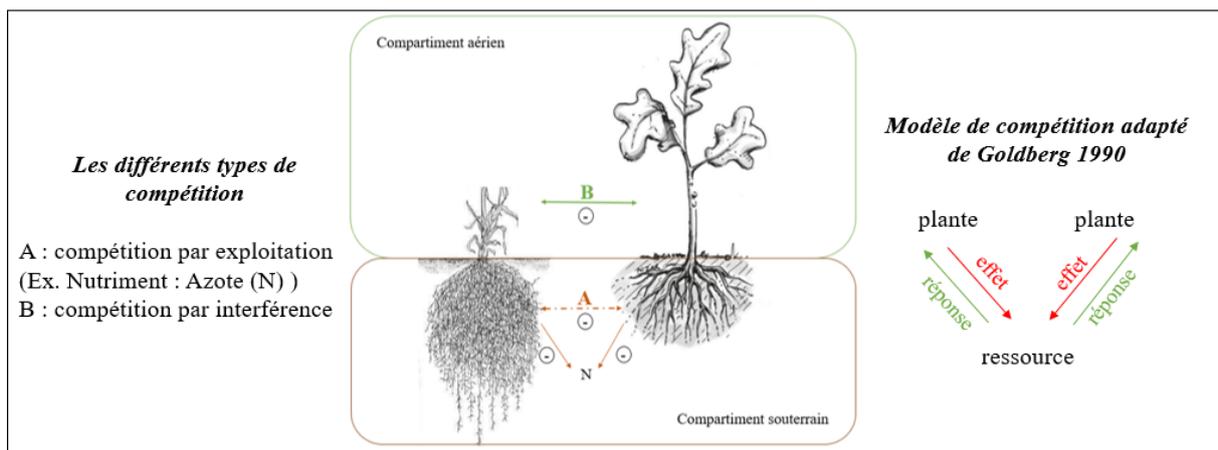


Fig. 1 : Compétition au sein des communautés végétales, différents types de compétition par exploitation ou par interférence (figure à gauche). Effet d'un compétiteur sur la quantité de ressources et la réponse des autres espèces à ce changement (Goldberg, 1990 figure à droite).

Ces types de compétition sont modulés par :

I. LA LUMIERE

La lumière est une ressource primordiale au fonctionnement de toute espèce végétale. Elle est non épuisable, mais non stockable et disponible de façon très inégale au sein d'un couvert plurispécifique. Aussi il est bien établi que la lumière est la ressource la plus limitante dans de nombreuses forêts pour la croissance et la survie des jeunes arbres (Gaudio et al., 2011b). Dans une forêt, l'effet d'ombrage exercé par les espèces les plus hautes et/ou présentant la plus grande surface foliaire limite le passage de la lumière pour les espèces inférieures de sous-bois. Cela se traduit le plus souvent par un effet inhibiteur sur la production de la biomasse de ces dernières (photosynthèse réduite), de sorte que l'interaction entre les espèces associées est plutôt de nature négative que positive. Il s'agit donc de compétition pour la lumière. (Justes et al., 2014).

Pour survivre, les plantes des sous étages doivent adopter des stratégies liées au niveau de luminosité. Par exemple sous forte luminosité elles doivent maximiser la croissance des tiges et feuilles pour étendre rapidement leur surface foliaire au-dessus de leurs voisines (Balandier 2016). En faible luminosité, elles doivent avant tout maintenir un bilan de carbone positif par

l'optimisation de la capture de la lumière à l'ombre (feuilles minces, orientation des feuilles préférentiellement vers les trouées de lumière, architecture de la couronne permettant de réduire l'auto-ombrage et maximiser la capture de la lumière), par la diminution du taux de respiration et par l'allongement de la durée de vie des tissus (faibles coûts de renouvellement) et une faible biomasse totale (Kozlowski et al., 1991).

La Molinie bleue (*Molinia caerulea*) est une graminée très compétitive pour les jeunes arbres, en particulier les chênes. Elle se développe facilement sous une large gamme d'ombre (6% de lumière) à la pleine luminosité (Taylor et al., 2001; Gaudio et al., 2011a). Sa croissance est donc plus importante dans une large gamme de lumière au détriment du chêne, notamment grâce à une plus grande capacité de gain de carbone (Vernay 2016). De ce fait, une trop forte ouverture au niveau de la canopée arborée peut menacer la croissance et la survie des plantules. La lumière n'étant plus limitante, la végétation de sous-étage va alors les concurrencer pour les ressources souterraines qui deviennent un facteur limitant (Harmer et Morgan, 2007; Provendier et Balandier, 2008).

II. LES ELEMENTS MINERAUX :

Les éléments minéraux et notamment l'azote (N) sont essentiels dans le processus de nutrition et de croissance des plantes. L'azote est un composant essentiel des protéines, des enzymes, de la chlorophylle et de bien d'autres composés majeurs comme les vitamines. Il existe sous plusieurs formes : **organique**, il constitue la partie la plus importante de l'azote du sol et n'est en général pas absorbé directement par les racines des plantes et **minérale** (très majoritairement sous forme nitrique NO_3^- et accessoirement sous forme ammoniacale NH_4^+) pour être disponible et prélevé par la plante.

Le nitrate (NO_3^-) est également une molécule-signal qui intervient dans le contrôle de nombreux processus physiologiques de la croissance des plantes (Vidal et al., 2014). Il peut induire l'expression de plusieurs gènes impliqués dans le transport et l'assimilation des nitrates (Bi et al., 2007, Medici et Krouk, 2014). De ce fait, une alimentation azotée insuffisante perturbe profondément le développement et la croissance des plantes et aussi se manifeste par une chlorose due à l'inhibition de la synthèse des chlorophylles.

L'accès à l'azote dépend fortement des conditions du milieu et en particulier de la disponibilité en eau. Dans certaines études, Collet et al. (1996) ont constaté que la diminution du développement des jeunes plants de chêne sessile mélangés à des graminées n'était pas due à la compétition pour l'eau pendant les deux premières années de croissance, mais pouvait résulter de la compétition pour l'azote inorganique du sol. En effet, la disponibilité en eau du sol contrôle la production et la mobilité des nitrates et de l'ammonium par un flux massique vers les racines via la transpiration (Hepworth et al., 2015).

Des études réalisées dans la chaîne des Puys en France sur le pin sylvestre et des graminées, Coll et al (2003) ont mis en évidence que les racines des graminées se diffusaient rapidement dans la partie superficielle du sol au niveau de laquelle se développe le système racinaire des nouveaux plants d'arbre. Ces herbacées croissent rapidement et forment un système racinaire dense au début du printemps (Balandier et al., 2008), bien avant le développement des racines des jeunes arbres, entraînant un épuisement précoce des ressources minérales et de la teneur en eau dans le sol. Les graminées sont donc susceptibles d'induire une compétition souterraine forte vis-à-vis des jeunes arbres.

Au niveau des mécanismes, l'azote absorbé par la plante correspond aux particules azotées exogènes ayant traversé le plasmalemmes racinaire via des transporteurs spécifiques et se trouvant alors dans le cytoplasme des cellules. Le mouvement de ces molécules chargées est influencé par des différences de potentiels électriques de part et d'autre de la membrane. Le passage à l'intérieur de la cellule nécessite de transiter à la fois en surface de la racine puis dans la paroi cellulaire. Cette compartimentation a été mise en évidence par des mesures d'efflux (flux orienté de l'intérieur vers l'extérieur d'un compartiment) de nitrate et d'ammonium en fonction du temps (**Figure 2**) Trois compartiments aux cinétiques distinctes ont donc été

identifiés, représentant l'adsorption de surface, l'espace libre de la paroi cellulaire et le cytoplasme. Seul l'azote ayant pénétré le cytoplasme est considéré comme absorbé par la plante, le reste correspond à de l'adsorption.

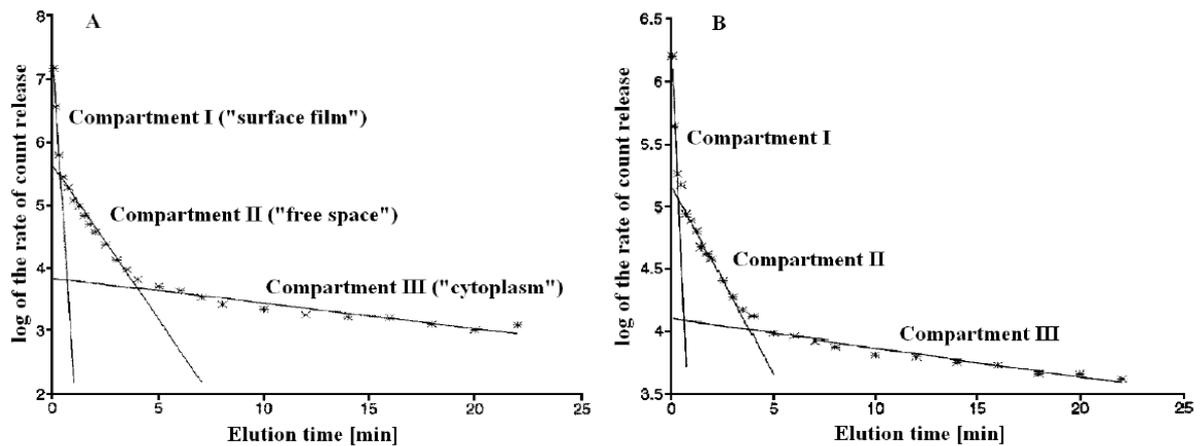


Fig. 2 : Vitesse d'éluion du ^{13}N [$\log(\text{cpm libéré}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$] en fonction du temps d'éluion chez des racines intactes d'épinette blanche (*Picea glauca* [Moench] Voss.) placées dans une concentration de $100 \mu\text{M}$ de $[\text{NO}_3^-]$ (A) ou de $[\text{NH}_4^+]$ (B). Les racines ont été préalablement exposées à du $100 \mu\text{M}$ de $^{13}\text{N}\text{-NO}_3^-$ ou de $^{13}\text{N}\text{-NH}_4^+$ pendant une heure avant d'être transférées dans une solution non marquée. Les quantités de ^{13}N mesurées dans la solution non marquée permettent de suivre l'éluion du ^{13}N à partir des 3 compartiments : la surface racinaire, l'espace libre (l'apoplasme) et le cytoplasme. (Kronzucker *et al.*, 1995a et 1995b).

En tant que nutriment, le nitrate peut être réduit à l'intérieur de la cellule par la nitrate réductase en nitrite, qui est ensuite réduit en ammonium par la nitrite réductase (Meyer et Stitt, 2001). La cinétique d'absorption (ou influx) de NO_3^- ou de NH_4^+ des racines en fonction de la concentration externe présente généralement un profil biphasique (Crawford et Glass 1998). Pour faire face aux concentrations faibles ou élevées de nitrate dans les sols, deux systèmes de transports existent dans les racines des plantes (**Figure 2**): dans la gamme des faibles concentrations, les systèmes de transport de haute affinité (HATS) sont capables de piéger les ions azotés du sol à des concentrations aussi faibles que $1 \mu\text{M}$. Et dans l'intervalle de concentrations élevée (généralement $> 0,5\text{-}1 \text{ mM}$), l'activité des systèmes de transport de faible affinité (LATS) apparaît, superposée à celle du système HATS (Glass et Siddiqi, 1995).

L'absorption de NO_3^- et NH_4^+ via HATS sont tous deux saturables, et leur activité peut être modélisée en utilisant la formule de Michaelis-Menten (Wang *et al.*, 1993) tandis que celle médiée par le LATS n'est pas saturable, mais montre généralement une augmentation linéaire avec une concentration externe croissante (Wang *et al.*, 19).

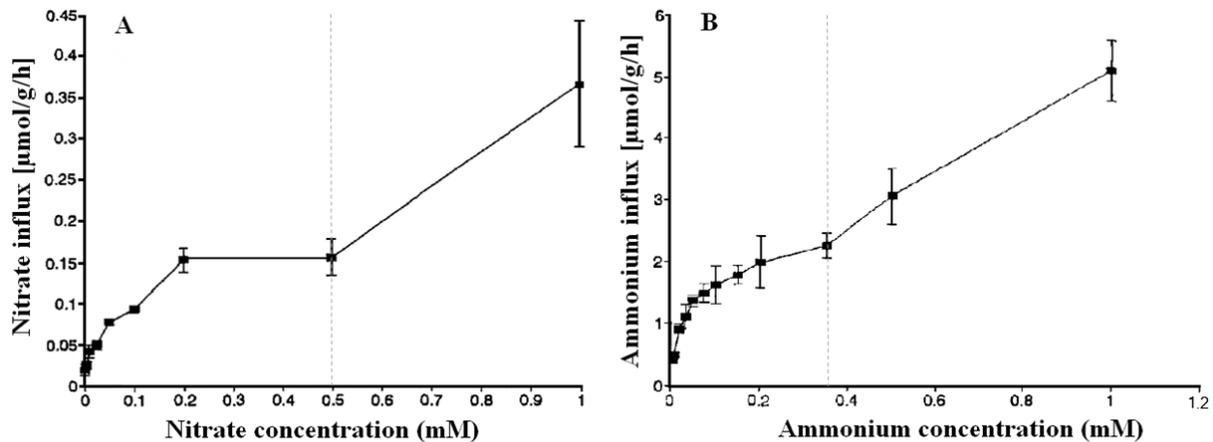


Fig. 3 : Influx massique ($\mu\text{mol. g}^{-1}(\text{MSr}).\text{h}^{-1}$) de nitrate NO_3^- (A) et d'ammonium NH_4^+ (B) en fonction de la concentration (mM) de l'ion azoté chez l'épinette blanche (*Picea glauca* [Moench] Voss.). Les données sont les moyennes \pm SE (erreur standard). La courbe a une allure biphasique représentative du fonctionnement des systèmes de transport HATS et LATS, séparés par le trait pointillé sur les graphiques. (Kronzucker et al., 1995c).

III. LES MYCORHIZES

Le système racinaire forme le lien entre la plante, l'eau du sol et les ressources nutritives (Atkinson, 2000) et le site d'établissement des **mycorhizes**. Ces derniers sont une association entre deux partenaires, une symbiose ancestrale entre les racines des végétaux et les filaments mycéliens souterrains du champignon (hyphes) du sol. Chaque individu optimise son développement grâce à cette symbiose, c'est-à-dire caractérisée par des flux croisés de matières entre les deux partenaires.

Le rôle majeur des mycorhizes est le prélèvement et le transport vers la plante des éléments nutritifs très peu mobiles dans le sol comme P, N, K, Mg, Na, S, B, Br, Cl, Cu, Cr, Cs, Co, Fe, Mo, Mn, Ni, Si, Zn (He & Nara, 2007) et à l'inverse la plante les alimente en molécules carbonées provenant de la photosynthèse.

Il existe deux groupes principaux de champignons mycorhiziens : les endomycorhizes et les ectomycorhizes. Les membres du premier groupe sont invisibles à l'œil nu et leurs filaments mycéliens souterrains pénètrent les cellules de la plante où des échanges métaboliques directs peuvent se produire, tandis que ceux du deuxième groupe, sont visibles à l'œil nu, ils se développent à l'extérieur des cellules racinaires, les filaments mycéliens souterrains du champignon entourent la racine pour former un manteau fongique. Ces champignons forment une symbiose avec la plupart des pins, épinettes et feuillus, incluant hêtres, bouleaux, chênes et saules (mykepro.com/mycorhizes-benefices-application-et-recherche.aspx) et permettent à la plante d'améliorer l'absorption et l'assimilation de l'azote inorganique sous forme d'ammonium et de nitrate (Plassard et al., 2002).

Janos, 1980 et Gobat *et al.*, 2003 ont montré qu'il existe certaines espèces végétales ne pouvant assurer leur croissance qu'avec leur symbiote fongique dont elles sont alors fortement dépendantes et avec qui elles ont co-évolué. Il les rend plus résistantes aux stress hydrique et salin, et aussi aux agents pathogènes racinaires. La stabilité de l'association est un critère très important dans la description de l'état symbiotique entre deux organismes (Garbaye 2013).

IV. L'ALLELOPATHIE :

L'allélopathie correspond à la propriété de certaines plantes de nuire à leurs voisins par un effet négatif, direct ou indirect, via des composés biochimiques toxiques (acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes) qu'elles émettent au niveau des racines (Rice, 1984). Ces substances allélopathiques peuvent influencer la coexistence entre espèces végétales en inhibant leur germination, leur croissance ou leur survie (Vaughn & Berhow, 1999; Ridenour & Callaway, 2001).

La colonisation rapide des plantes invasives est souvent due au mécanisme d'allélopathie ; à terme, elles constituent des communautés monospécifiques (Stinson et al., 2006).

La molinie fait partie des espèces qui ont probablement de fortes propriétés allélopathiques (Becker & Lévy, 1982), en particulier envers le jeune chêne. Cette dernière peut, directement ou indirectement, avoir un impact négatif sur les semis de chêne (Timbal *et al.*, 1990), en altérant différents processus lors de la germination, de la croissance, et du développement.

Dans d'autres études, Nilsson et al. (1994) ont observé les effets allélopathiques d'*Empetrum hermaphroditum* sur le pin sylvestre et ont déduit que plus la concentration en extraits foliaires d'*Empetrum* était importante, plus la croissance diamétrale du champignon mycorhizien *Paxillus involutus* était diminuée.

A. L'hypothèse principale de l'étude et les sous-hypothèses :

D'après ce qui précède, l'hypothèse principale de cette étude est que la présence de molinie a un effet négatif sur la croissance et le développement du chêne.

Sous hypothèses :

- Les mycorhizes facilitent l'absorption de l'azote au niveau des racines des chênes et des molinies ;
- La lumière a un effet positif sur le développement du chêne et de la molinie ;
- La densité de molinie affecte la croissance du chêne ;
- L'absence ou la réduction des mycorhizes impactent la croissance et le développement du chêne et de la molinie via une altération de l'absorption de l'azote.

MATERIEL ET METHODES

A. Espèces végétales étudiées

Le chêne sessile (*Quercus petraea*)

Le choix de travailler sur le chêne sessile (*Quercus petraea*) s'est basé sur l'importance de sa valeur économique en Europe (IGN 2014) mais aussi sur sa tolérance à la sécheresse dans un contexte de changement climatique. C'est une espèce commune des forêts tempérées et notamment des forêts françaises, qui colonise rapidement les milieux ouverts et peut supporter des densités de peuplements élevées tant au niveau aérien que racinaire. Il résiste bien aux milieux oligotrophes. Les racines du chêne pénètrent profondément dans la terre via un système pivotant, au détriment des racines latérales moins développées, et elles peuvent atteindre un rayon de 20 m de la partie superficielle du sol (Drénou, 2006). Dans le contexte global de notre étude, cette essence possède de nombreuses caractéristiques faisant d'elle un candidat potentiel dans les plans de régénération (Timbal and Aussenac, 1996).

La molinie bleue (*Molinia caerulea*)

La molinie, est une poacée commune, très répandue en France et résiste à un ombrage modérée (Gaudio et al., 2011a). Son système racinaire peut atteindre 80 cm de profondeur (Taylor *et al.*, 2001), et se développe en fonction des quantités d'azote et d'eau présentes dans le sol limitant ainsi l'accès de ses concurrents à ces ressources (Balandier et al., 2010).

La molinie présente un caractère d'exclusion (allélopathique) vis-à-vis des autres plantes (Gama et Dumas, 1999). Elle nuit aux autres végétaux notamment par la libération de composés toxiques lors de la décomposition de ses feuilles (Becker, 1984).

Cette espèce a été choisie du fait de son caractère fortement compétitif envers les jeunes arbres particulièrement les chênes et également de son abondance dans les chênaies tempérées (Vernay 2016).

B. Dispositif expérimental

I. Expérimentation en pot : influence de la molinie sur l'influx d'azote

Dans le cadre de la thèse de Marine FERNANDEZ, qui travaille sur les mécanismes fonctionnels de la compétition entre la molinie et le chêne pour l'azote du sol, des plants de chêne âgés d'un an provenant d'une pépinière, et des plants de molinies prélevés en forêt domaniale de Paray-le-Frésil (Allier) et ayant toutes la même taille, ont été placés dans des pots, soit seuls (pot de 5L), soit ensemble (un chêne et une molinie par pot de 10L), à raison de 12 répétitions par modalité « espèces » (**figure 4**). Les pots sont placés en extérieur à l'INRA de Clermont-Ferrand (UMR PIAF), remplis avec du sol forestier provenant de la même forêt d'où sont issues les molinies afin de se rapprocher des conditions naturelles et irrigués à la capacité au champ. Pour comprendre le rôle des mycorhizes dans l'absorption de l'azote, le dispositif est doublé et un fongicide (Cherokee) a été appliqué sur la moitié des pots. D'après la bibliographie, l'une des substances fongicides les plus efficaces sur la totalité des mycorhizes est le propiconazole (Calonne et al., 2011). Ces pots ont été installés en mars 2018 et récoltés au début de l'été (24-29 juin 2018)



Fig. 4 : Expérimentation en pot dans différentes modalités, soit chênes et molinies seuls soit ensemble avec les deux traitements (sans et avec fongicides)

Lors de la période de croissance, des relevés de croissance (longueur et diamètre des parties aériennes) ont été effectués.

Les plants de chêne et molinie ont été extraits des pots disposés à l'extérieur au cours du mois de juin. Les systèmes racinaires ont été tamisés avec un tamis de diamètre 2 mm, afin d'éviter les pertes de matériel végétal, puis lavées sous l'eau. Les racines ont été séparées des parties aériennes, reconnues selon leurs caractéristiques morphologiques (Annexe 1), réparties en trois lots de racines : le premier et le deuxième lots ont été conservés au congélateur jusqu'à l'analyse morphologique du système racinaire et l'observation microscopique des mycorhizes, tandis que le dernier lot a été utilisé pour les mesures d'influx d'azote (voir ci-dessous). La partie aérienne a été placée dans un sac kraft et mise à l'étuve pendant 48 heures pour la mesure de la biomasse sèche et un échantillon du sol tamisé a été placé dans un sac en plastique et mis à la congélation afin de mesurer ultérieurement la teneur native en nitrate et ammonium (**Figure5**).

Pour l'expérimentation sur les influx d'azote, à partir de l'isotope ^{15}N , les échantillons racinaires ont été maintenus vivants dans une atmosphère fraîche et humide le temps du transport jusqu'au laboratoire du PIAF puis ils ont été utilisés l'après-midi même qui a suivi le prélèvement afin de s'assurer que l'activité d'absorption des racines était maintenue lors de l'expérimentation (Lucash *et al.*, 2007).



Fig. 5 : Les différentes étapes réalisées suite à l'extraction des chênes et molinies des pots

Les racines ont été triées, seules les racines fines avec un diamètre inférieur ou égal à 2 mm (i.e. responsables de l'absorption) ont été conservées afin d'avoir des sous-échantillons de racines de 1 g de matière fraîche regroupées par espèces (chêne ou molinie) et type de traitement (fongicide ou non), puis disposées dans des sachets de thé. Pour chacun de ces groupes, l'absorption du nitrate et de l'ammonium a été mesurée.

Pour chaque forme d'azote minéral (NO_3^- et NH_4^+) trois concentrations (6 répétitions) ont été appliquées pour les modalités suivantes : chêne seul sans fongicide, molinie seule sans fongicide, chêne voisin d'une molinie sans fongicide, molinie voisine d'un chêne sans fongicide et la même chose avec fongicide, mettant en jeu les systèmes de transport à forte affinité (HATS) $50 \mu\text{M}$, $500 \mu\text{M}$ et à faible affinité (LATS) $1500 \mu\text{M}$. Le protocole choisi pour déterminer les cinétiques d'absorption du nitrate et de l'ammonium s'appuie sur des travaux antérieurs réalisés chez des plantes cultivées en conditions contrôlées comme *Zea mays* (Kochian *et al.*, 1985) *Quercus petraea* et *Molinia caerulea* (Fernandez 2015 et Papon 2016) ou en conditions naturelles comme *Quercus robur* (Göransson *et al.* ; 2007).

1. Protocole de mesure de l'influx d'azote chez les racines excisées

Un lot de 15 béchers de 700 ml a été placé dans le laboratoire à température ambiante. Des bulleurs ont été mis en place pour oxygéner les solutions au cours de l'expérimentation afin d'aérer et aussi homogénéiser continuellement les différentes solutions (**figure 6**). Le protocole s'est déroulé en cinq étapes :

1.1. Lavage des racines en CaCl_2

Au cours de cette étape, les racines excisées placées dans les sachets de thé sont rincées pendant 30 minutes dans 0,5 mM de CaCl_2 permettant d'enlever les débris résiduels et de maintenir l'intégrité membranaire.

1.2. Acclimatation en azote

Les sachets de thé de racines ont ensuite été transférés dans une solution nutritive à la concentration en nitrate et en ammonium testée (50, 500 et $1500 \mu\text{M}$) pendant 60 minutes. Cette phase permet aux racines de s'acclimater à l'environnement ionique dans lequel la mesure d'influx sera réalisée. Plus précisément cette étape permet (i) l'équilibre entre la composition de l'apoplasme et celle de la solution nutritive et (ii) d'atteindre un état d'équilibre pour lequel l'influx atteint un état stationnaire résultant de l'équilibre entre les concentrations en nitrate ou en ammonium entre l'apoplasme et le cytosol

1.3. Marquage au ^{15}N

Les racines excisées sont ensuite transférées dans un bain contenant une solution nutritive identique à celle utilisée pour l'acclimatation mais contenant du K^{15}NO_3 ou du

($^{15}\text{NH}_4$) SO_4 (Excès isotopique 98%) pendant 5 minutes à 3 concentrations différentes : 50, 500 et 1500 μM . La durée courte de marquage permet de mesurer spécifiquement la valeur d'influx.

1.4. 1^{er} Rinçage

Suite à la période de marquage avec l'isotope lourd ^{15}N , les racines sont plongées dans un bain d'eau distillée pendant 5 secondes afin d'exclure l'azote marqué, adsorbé au niveau de la surface racinaire.

1.5. 2^{ème} Rinçage

Pour éliminer le reste de ^{15}N stocké à l'extérieur du cytosol, qui est adsorbé à la surface racinaire et aux parois dans l'apoplasme, 5 minutes de rinçage ont été réalisées.

La durée de ces étapes est basée sur les demi-vies d'échange de NO_3^- et NH_4^+ de la surface de la racine, l'espace libre et le cytoplasme déterminé par analyse d'efflux (Kronzucker *et al.*, 1995 a, b, c, d).

Après les étapes de mesure d'influx, les racines ont été placées dans du papier d'aluminium et mis à l'étuve 4 jours à 60°C. La matière sèche racinaire de chaque répétition est ensuite pesée.



Fig. 6 : Protocole de mesure de l'influx d'azote chez les racines excisées, trois concentrations d'azote marqué 50, 500 et 1500 μM sur cinq étapes de mesure : lavage CaCl_2 (0.5mM), Acclimatation en Azote, marquage (^{15}N), Rinçage 1 et Rinçage 2 dans l'eau distillée. Chaque étape est oxygénée par des bulleurs.

2. Broyage des racines et dosage du rapport $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$

Les différents échantillons marqués ont ensuite été prédécoupés manuellement puis transférés dans des tubes en plastique de 10 ml. L'utilisation d'un broyeur à bille a permis d'obtenir une quantité de 4 à 5 mg de poudre qui a été prélevée et transférée dans des microcapsules en étain. Les échantillons, disposés dans des microplaques 96 puits, ont été envoyés à l'INRA de Nancy Champenoux pour une analyse de quantité de ^{15}N grâce au spectromètre de masse à ratio isotopique (IRMS). (**Annexe 2**)

II. Expérimentation en forêt

Pour comparer les résultats obtenus en pot avec les conditions naturelles, un dispositif expérimental a été mis en place en forêt domaniale de Vierzon dans une parcelle en cours de régénération (parcelle 173, stade de la coupe d'ensemencement). Cette forêt est située dans la région IFN Grande Sologne. Elle s'étale sur une superficie de 5 200 ha et sur des formations acides sablo-argileuses plus ou moins graveleuses ou caillouteuses (Douzon 2005). Le sol est considéré comme pauvre en ressources minérales et fortement hydromorphe (engorgé d'eau au printemps et sec en été). Cela a été particulièrement observé en 2018 avec une nappe d'eau affleurante jusqu'au mois de juillet succédé d'une période de canicule.

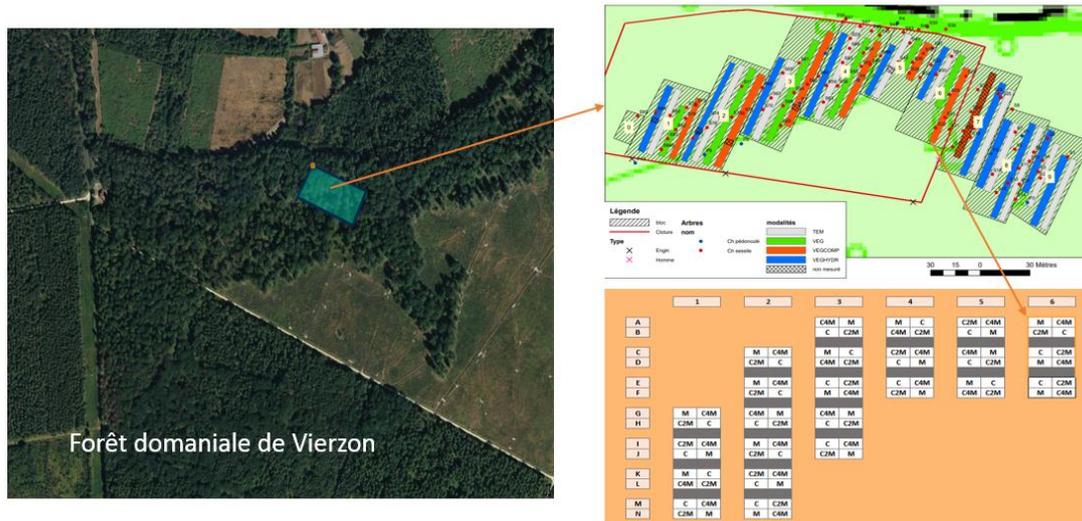


Fig.7 Description du dispositif expérimental de la parcelle 173 de la forêt domaniale de Vierzon, à gauche photographie aérienne de la disposition de la parcelle, à droite l'organisation des placettes (figure en haut) et des placeaux (figure en bas) sur la parcelle

Dans une chênaie composée à très grande majorité de chênes sessiles, nous avons créé des placettes de plants de molinie et de chêne à 4 niveaux de lumière différents (6 répétitions par niveau de lumière) (**figure7 et Annexe3**), la plantation a été réalisée en avril 2018 sur un sol nu. Afin d'analyser les interactions interspécifiques, les niveaux de densité de la molinie autour du chêne ont varié de la manière suivante : **faible** « chêne seul, molinie seule », **moyen** « chêne avec deux molinies (selon une orientation nord et sud) » et **fort** « chêne avec quatre molinies (Nord, Sud, Est et Ouest) ». La plantation était protégée des grands herbivores par une clôture. Une molinie représente un ensemble de thalle. A l'installation, les ensembles de thalle constituant une molinie ont été homogénéisés : 6 cm de partie aérienne, 5 cm de racine et un poids de 10g de matière fraîche.

Des mesures de diamètre et longueur sur les chênes et les molinies ont été réalisées une fois toutes les deux semaines à partir du mois d'avril. Le diamètre a été mesuré dans deux directions (Nord et Est), la moyenne de ces deux directions est utilisée dans les résultats.

Une récolte s'effectuera en octobre, suivie d'une mesure de l'influx d'azote sur les racines excisées, ainsi qu'un broyage puis un dosage du ^{15}N selon le même protocole que celui décrit ci-dessus. Finalement des analyses morphologiques des racines et comptage du taux de mycorhization auront lieu.

C. Calculs et analyses statistiques

I. Calcul de la quantité d'azote total, de ^{15}N et de l'influx de ^{15}N

La quantité d'azote total ($Q_{N_{tot}}$, mg) dans un échantillon racinaire est déterminée par le calcul suivant : $Q_{N_{tot}} = \frac{\%N_{tot} \times MS_{racinaire}}{100} \times 1000$ où $\%N_{tot}$ et $MS_{racinaire}$ correspondent respectivement à la teneur en azote (% MS) et à la matière sèche racinaire (g) de l'échantillon.

La quantité d'azote marqué (^{15}N) est donnée par le rapport suivant :

$Q^{15}\text{N} = \frac{(A_{\text{échantillon}} - A_{\text{naturelle}}) \times Q_{N_{tot}}}{100}$; où $A_{\text{échantillon}}$ et $A_{\text{naturelle}}$ correspondent respectivement à l'abondance isotopique en ^{15}N de l'échantillon marqué ($\%N_{tot}$) et à celle de l'échantillon non marqué. L'abondance isotopique (AI) représente la proportion d'azote ^{15}N par rapport à la quantité d'azote total présent dans l'échantillon, soit : $AI = \frac{Q^{15}\text{N}}{Q_{N_{tot}}} \times 100$.

Les valeurs d'influx (I) de nitrate et d'ammonium (nmol.g(MS)-1.h-1) sont calculé de la façon suivante : $I = Q^{15N} \times \frac{AI_{solution}}{100} \times \frac{1}{MM_{15N}} \times \frac{60}{d} \times \frac{1}{MS_{racinaire}} \times 10^6$; où $AI_{solution}$ est l'abondance isotopique de la solution nutritive enrichie en ^{15}N (AI = 99%), MM_{15N} est la masse molaire du ^{15}N (15 g.mole-1) et d est la durée de la mesure de l'influx (5 minutes).

II. Analyses statistiques :

Dans les expérimentations portant sur la morphologie racinaire, chaque répétition est considérée comme une unité expérimentale. Dans les expériences de mesures d'influx, l'unité expérimentale est l'échantillon contenu dans le sachet de thés. Dans chacune des expérimentations, l'effet des différents facteurs a été testé sur l'ensemble ou une partie du jeu de données par des tests d'analyse de la variance à un ou deux facteurs (ANOVA 1 et 2) (α 5%) et le test non paramétrique de Kruskal Wallis, avec une vérification préalable de l'homoscédasticité grâce au test de Levene, et de la normalité des valeurs grâce au test de Shapiro-Wilk avec le logiciel R Studio (en utilisant le package Rcmdr (Fox, J. (2005))) Les classes statistiques sont établies par ce programme et permettent de mettre en évidence des différences significatives, ainsi que leur degré de variation à l'échelle de toutes les concentrations

Résultats

A. Croissance des parties aériennes et des systèmes racinaires des plantes in situ et en pot

I. Croissance des parties aériennes in situ en fonction de la densité de molinie et de la lumière

La variation de l'accroissement en longueur et en diamètre de la partie aérienne du chêne (**Figures 8A et B**) ne met pas en évidence de différence significative respectivement ($P = 0.6$ et $P = 0.3$) en fonction des différentes densités de la molinie. Entre la dernière mesure et la première, le chêne n'a augmenté que de quelques centimètres, il varie entre 48 et 52 cm pour la longueur. Le diamètre n'a augmenté que de quelques dixièmes de millimètres, pour se rétracter plus tard dans la saison. La densité de molinie ne semble pas avoir d'effet sur la longueur des parties aériennes, mais il semblerait qu'elle ait tendance à impacter le diamètre : plus le nombre de thalle de molinie est élevé, plus la croissance en diamètre des chênes est faible.

En revanche, la molinie (**Figure 8 C**) présente un allongement très significatif ($P = 0.005$) : il est 16 fois plus important entre la première mesure et la dernière mesure cependant cet allongement à une tendance moins faible quand la densité est importante mais reste non significatif ($P > 0.05$)

La disponibilité en lumière influence généralement peu l'allongement des tiges mais beaucoup plus leur diamètre, essentiellement déterminé par la photosynthèse. La moyenne des deux diamètres nord et sud du chêne (**Figure 9 B**) n'a cependant pas beaucoup été influencée par la quantité de lumière arrivant en sous-bois, qu'elle soit très faible ou très forte ($P = 0.1$). L'allongement de la molinie et du chêne (**Figure 9 A et C**) en fonction de la lumière pour chaque date n'est pas significatif ($P > 0.05$)

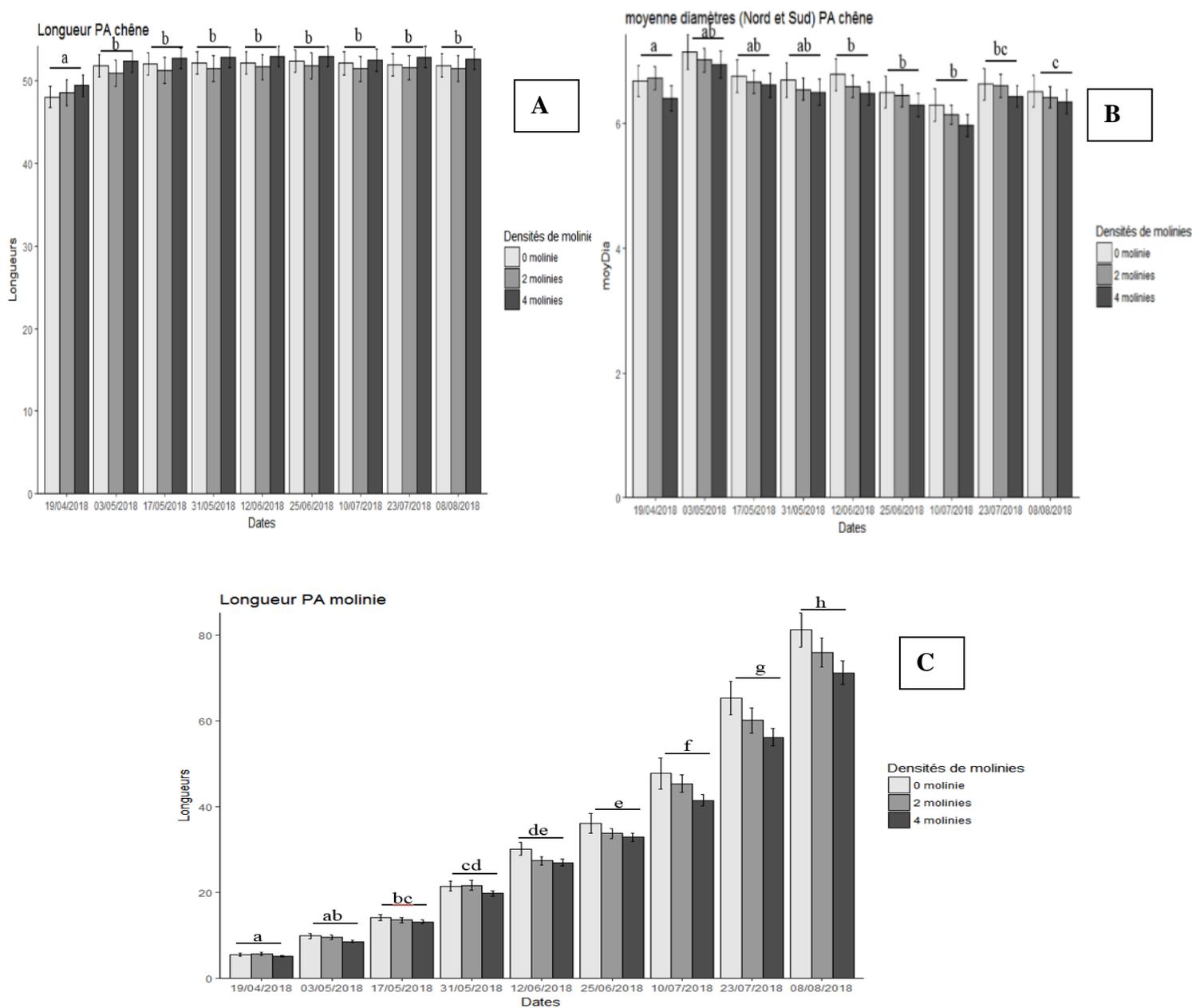


Fig. 8 Mesure de longueur de la partie aérienne (en cm) du chêne (A) et de la molyne (C), et la moyenne des deux diamètres Nord et Sud des tiges du chêne (en mm) (B) en fonction de la date et de la densité des molinies (□ Pas de molyne ; ▒ 2 molinies ; ■ 4 molinies). Pour chaque graphique Les barres représentent l'erreur standard et les lettres différentes au sein d'un même graphique indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$) de la longueur et de la moyenne des deux diamètres entre les dates de mesures,

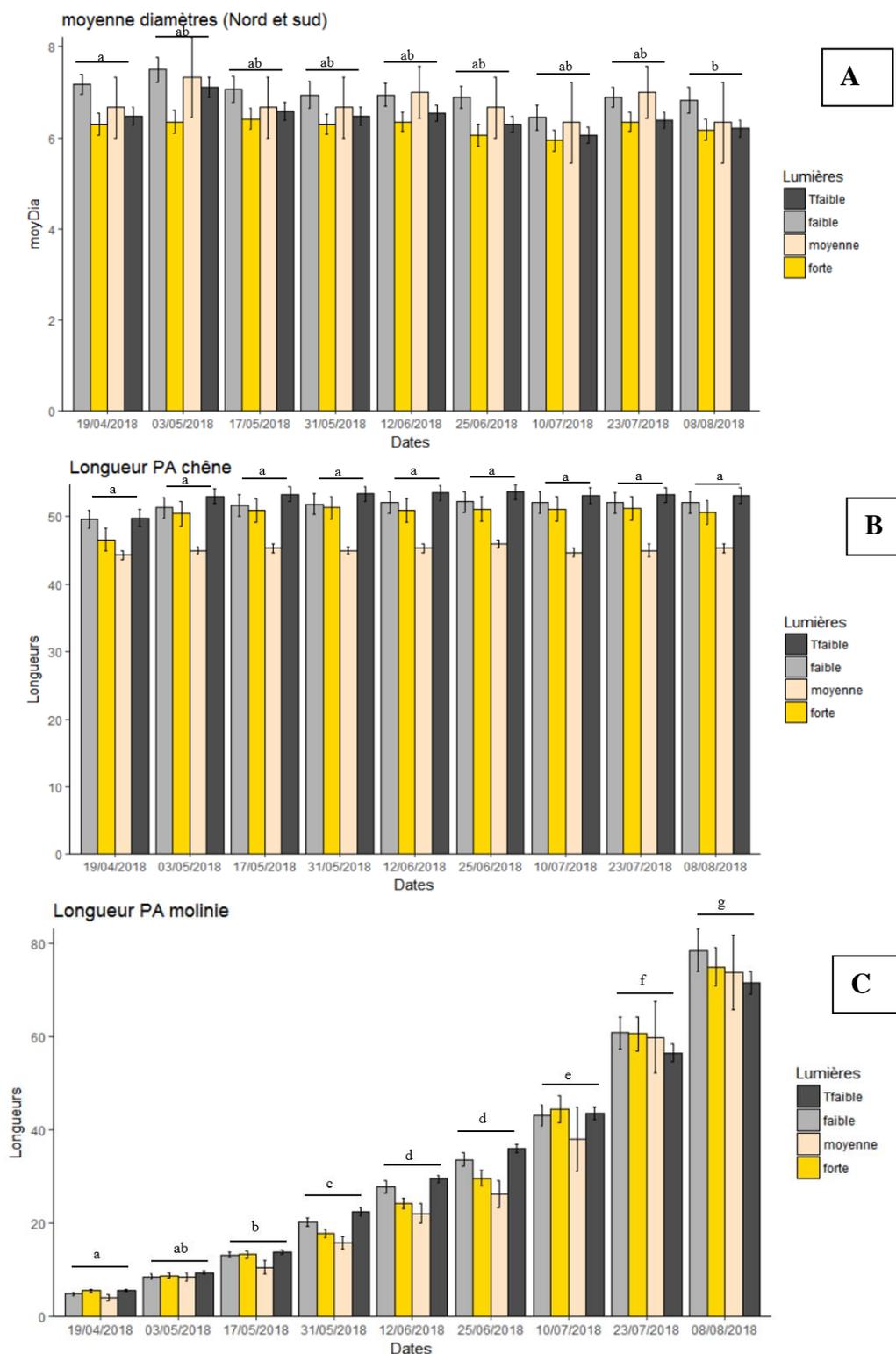


Fig. 9 Mesure des longueur de la partie aérienne (en cm) du chêne (A) et de la molinie (C), et la moyenne des deux diamètres (en mm) Nord et Sud des tiges du chêne (B) en fonction des différentes dates des mesures et de l'intensité lumineuse arrivant sur la placette (de 0 à 20% de lumière : « très faible » ; de 20 à 40% : « faible » ; de 40 à 60% : « moyenne » ;et au-delà de 60% : « forte »). Pour chaque graphique les barres représentent l'erreur standard et les lettres différentes au sein d'un même graphique indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$) de la longueur et de la moyenne des diamètres entre les dates de mesures.

II. Croissance des parties aériennes (PA) et du système racinaire (SR) des plantes en pot

i. Effet de la présence ou d'absence d'un voisin

Biomasse des PA et des SR

L'ensemble des graphiques (**Figure 10**) représente les biomasses aérienne et racinaire des chênes et des molinies placés en pot.

Les analyses statistiques du chêne ont montré une différence significative entre la biomasse aérienne du chêne seul et le chêne mélangé avec une molinie ($P = 0.01$) (**Figure 10 B**). La présence de molinie met en évidence une biomasse plus faible que lorsqu'il est seul. En revanche aucun effet significatif n'est constaté pour la biomasse aérienne de la molinie ($P = 0.06$) (**Figure 10 A**) mais il est à observer qu'elle a tendance à augmenter en présence d'un chêne.

Pour la biomasse racinaire une diminution est observée chez le chêne (**Figure 10 D**) lorsqu'il est mélangé avec une molinie, cette baisse est significative ($P = 0.02$). Concernant la molinie (**Figure 10 C**) une faible augmentation a été observée quand elle est associée à un chêne bien qu'elle soit non significative ($P > 0.05$).

ii. Effet de l'application ou non d'un fongicide

Biomasse des PA et SR

L'application de fongicide entraîne une diminution significative de la biomasse aérienne du chêne ($P=0.02$) et cet effet est plus marqué en présence de molinie ($P=0.003$).

La même observation est faite pour la molinie où le fongicide entraîne une forte baisse de biomasse des parties aériennes ($P = 0.001$ pour la molinie seule et $P=0.0005$ pour la molinie avec un chêne). La présence de fongicide n'a pas d'effet sur la biomasse du système racinaire du chêne ($P=0.7$), excepté en présence de molinie ($P= 0.003$) où l'on observe le même effet négatif que pour les parties aériennes. En revanche, pour la molinie, la partie racinaire est plus affectée par le fongicide que la partie aérienne, son système racinaire est 3 fois inférieur à celui sans traitement fongicide, et cette diminution très significative est observée dans les deux modalités, seule ou associée à un voisin (chêne) (avec des $P \lll 0.05$).

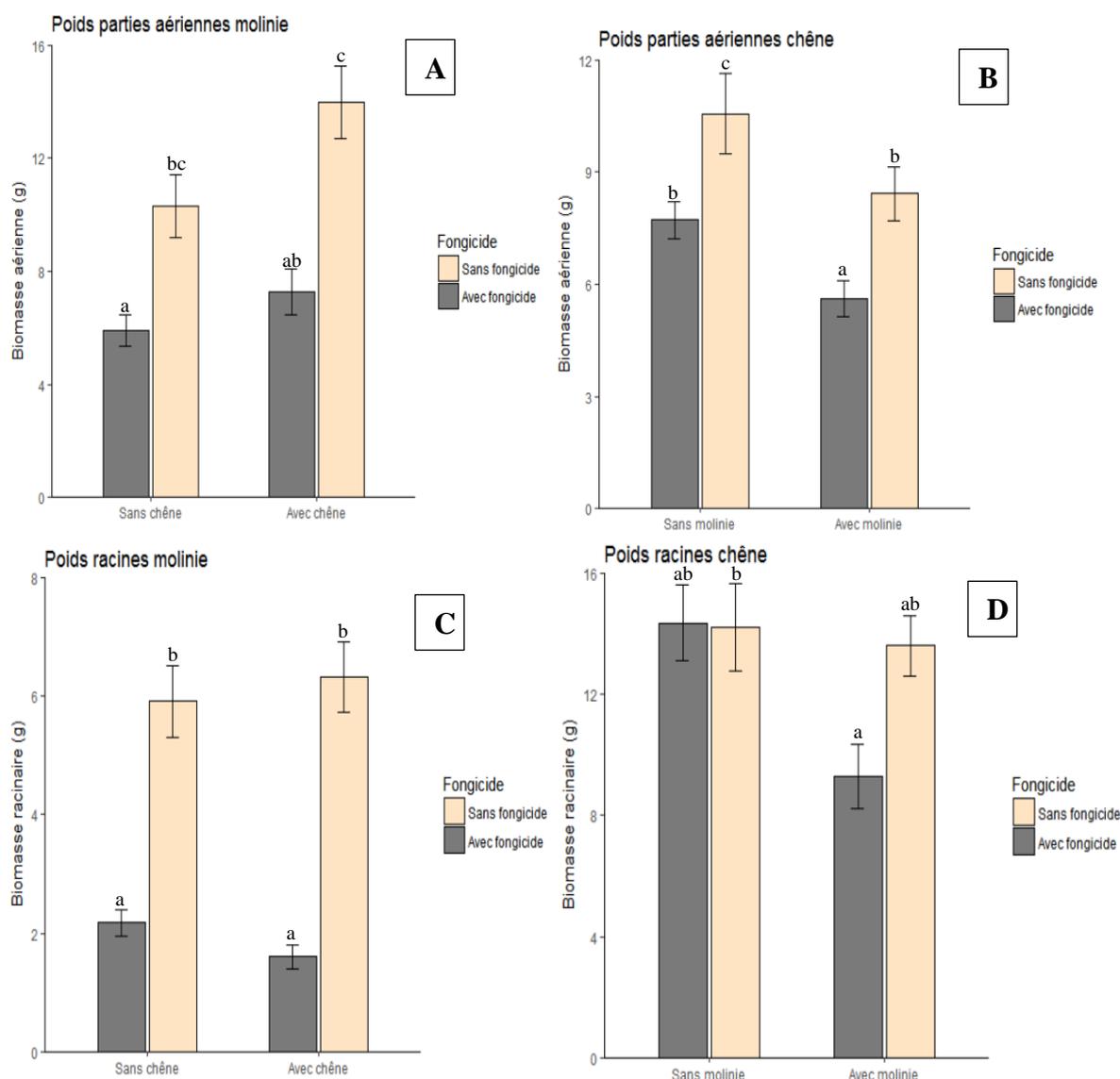


Fig. 10 biomasse aérienne (en g de matière sèche) de la molinie et du chêne (A) et (B) et racinaire (C) et (D) en fonction de la modalité espèce seule (à gauche) ou avec voisin (à droite) et du traitement fongicide avec fongicide (■) et sans fongicide (□). Pour chaque graphique Les barres représentent l'erreur standard et les lettres différentes au sein d'un même graphique indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$) de biomasse entre les deux espèces, $n=12$ pour chaque modalité. Les valeurs manquantes et les valeurs aberrantes ont été préalablement retirées

B. Influx racinaire de nitrate (NO_3^-) et d'ammonium (NH_4^+)

I. Influx racinaire en fonction de la forme azotée

Un effet très significatif ($P=2.2e-16$) de la forme azotée nitrate ou ammonium a été constaté sur l'absorption racinaire, en fonction de la présence ou pas de fongicide et de voisin : l'ammonium est plus absorbé que le nitrate surtout à forte concentration.

La cinétique d'absorption du nitrate observée pour le chêne et la molinie est différente, même si les valeurs d'influx sont très faibles (un maximum de $1.40 \mu\text{moles } 15\text{NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ racinaire pour le chêne et de $3,76 \mu\text{moles } 15\text{NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ racinaire pour la molinie). La molinie absorbe plus de nitrate que le chêne.

Pour l'ammonium les valeurs d'influx sont très importantes par rapport au nitrate : jusqu'à un maximum de $123.29 \mu\text{moles } 15\text{N}^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ racinaire pour le chêne et $89.10 \mu\text{moles } 15\text{N}^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ racinaire pour la molinie.

II. Influx de nitrate en fonction de la présence d'un voisin et de fongicide

Pour le nitrate (**Tableau I**) : à forte concentration (1.5M), les analyses statistiques ont mis en évidence que l'influx est plus important quand le chêne est avec une molinie. Pour les autres concentrations aucun effet significatif n'est montré. En ce qui concerne la molinie les résultats indiquent que l'influx d'azote est supérieur pour la modalité « seule » que pour la modalité « présence d'un voisin (chêne) » mais cette différence reste non significative.

Il n'y a pas d'effet fongicide sur l'influx de nitrate chez le chêne lorsqu'il est seul, en revanche, en présence de molinie, on observe une différence significative pour la concentration 0,5M.

Pour la molinie l'effet fongicide impacte significativement l'influx de manière négative quand elle est seule à une concentration de 0.5M, ou mélangée avec un chêne et à faible concentration (0.05M), dans les autres cas, il n'y a pas d'effet significatif.

L'absorption racinaire de l'ammonium (**Tableau II**) par le chêne n'est pas significativement différente pour les concentrations 0.5 et 1.5M tandis qu'à faible concentration d'ammonium (0.05M), l'absorption du chêne en présence de la molinie diminue.

Pour la molinie, il n'y a pas d'effet significatif de la présence du chêne sur l'absorption d'ammonium mais on peut remarquer que les influx sont plus importants que lorsqu'elle est seule.

Pour le chêne avec un voisin (molinie), on observe une diminution de l'influx d'ammonium en présence du fongicide pour les concentrations de 0.05M et 0.5M. Cependant quand le chêne est seul l'influx a tendance à augmenter avec le fongicide. L'absorption de la molinie quant à elle, diminue significativement avec le fongicide quand elle est seule à une concentration de 0.5M et quand elle est avec un chêne à une concentration de 0.05M. Pour les autres concentrations l'effet est non significatif mais on peut voir une tendance à la diminution de l'absorption d'ammonium avec le fongicide.

Fongicide	Concentration	Chêne		Molinie	
		Seul	Molinie	Seule	Chêne
0	0,05 M	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,59 ± 0,04	0,53 ± 0,06
		a A	a A	a A	a B
	0,5 M	0,36 ± 0,06	0,31 ± 0,03	1,41 ± 0,11	1,17 ± 0,16
		a A	a A	a B	a A
	1,5 M	0,64 ± 0,08	1,09 ± 0,10	2,55 ± 0,14	2,05 ± 0,11
		a A	b A	a A	a A
X	0,05 M	0,25 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,40 ± 0,04	0,33 ± 0,05
		a A	a A	a A	a A
	0,5 M	0,38 ± 0,06	0,45 ± 0,04	0,82 ± 0,08	1,16 ± 0,05
		a A	a B	a A	a A
	1,5 M	1,40 ± 0,20	1,22 ± 0,10	1,89 ± 0,19	3,76 ± 1,01
		a A	a A	a A	a A

Tableau I. Influx de nitrate (nmoles 15NO₃-h-1.g-1 MS racinaire) mesurés pour trois concentrations (0.05, 0,5 et 1.5M de NO₃-) à partir de racines excisées chez le chêne et la molinie avec ou sans voisin et avec (X) ou sans fongicide (0). Chaque valeur correspond à la moyenne ± erreur-standard, n=6. Pour une ligne donnée, les valeurs suivies par une lettre minuscule différente sont significativement différentes (P-value ≤ 0,05). Pour une colonne donnée, les valeurs suivies par une lettre majuscule différente sont significativement

Fongicide	Concentration	Chêne		Molinie		
		Seul	Molinie	Seule	Chêne	
0	0,05 M	4,73 ± 0,08 a A	2,44 ± 0,22 b B	7,06 ± 0,50 a A	3,54 ± 0,53 a B	
		57,35 ± 2,25 a A	59,88 ± 3,57 a B	40,27 ± 4,15 a B	27,52 ± 2,70 a A	
		100,81 ± 5,90 a A	107,91 ± 5,97 a A	89,10 ± 3,69 a A	44,87 ± 1,54 a A	
	X	0,05 M	13,54 ± 6,03 a A	0,31 ± 0,03 a A	5,23 ± 0,42 a A	1,14 ± 0,19 a A
		0,5 M	46,69 ± 5,65 a A	32,43 ± 1,92 a A	27,46 ± 3,06 a A	16,22 ± 1,74 a A
		1,5 M	123,29 ± 8,60 a A	108,67 ± 5,65 a A	53,83 ± 2,55 a A	38,08 ± 2,61 a A

Tableau II. Influx d’ammonium (nmoles 15NH₄⁺.h-1.g-1 MS racinaire) mesurés pour trois concentrations (0.05, 0,5 et 1.5M NH₄⁺) à partir de racines excisées chez le chêne et la molinie en peuplement pur ou en mélange et avec (X) ou sans fongicide (0). Chaque valeur correspond à la moyenne ± erreur-standard, n=6. Pour une ligne donnée, les valeurs suivies par une lettre minuscule différente sont significativement différentes (P-value ≤ 0,05). Pour une colonne donnée, les valeurs suivies par une lettre majuscule différente sont significativement différentes.

Globalement, l’effet fongicide et l’effet voisin sont difficilement mis en évidence dans les mesures d’influx, contrairement aux données de biomasse. Les valeurs d’influx de nitrate sont plus importantes pour la molinie, et à l’inverse, le chêne présente des valeurs d’influx supérieures à la molinie pour l’ammonium.

La molinie semble plus sensible au fongicide que le chêne, notamment dans le cas des analyses d’influx.

Discussion

A. Croissance des parties aériennes PA in situ en fonction de la densité de molinie et de la lumière :

Les résultats n’ont pas montré d’effet significatif de la densité de molinie ou de la lumière sur la croissance aérienne du chêne. Toutefois, une tendance est observée chez les deux espèces : plus la densité de molinie est importante, plus la croissance des parties aériennes est faible. Ceci suggère que la molinie a un effet négatif sur le développement du chêne (compétition interspécifique), mais aussi sur son propre développement (compétition intraspécifique). Ces mêmes résultats ont été obtenus par Vernay en 2017, sur les interactions chêne et canche, une graminée semblable à la molinie. Il avait également mis en avant que l’effet de compétition intraspécifique pouvait contrebalancer l’effet de compétition interspécifique : en exerçant une action négative sur sa propre croissance, la molinie devient moins nocive pour le chêne, permettant à l’arbre de mieux se développer (Vernay 2017). Il s’agit d’un phénomène d’auto-régulation de l’espèce la plus compétitive (Chesson 2000).

Plusieurs sont les difficultés du milieu de la forêt de Vierzon, l’absence de pente dans toute la partie nord de la forêt, l’imperméabilité du sol à faible ou très faible profondeur rendent le drainage très délicat et conduisent à une persistance d’une nappe d’eau même dans la période la plus chaude en été. De ce fait suite à des orages prolongés jusqu’au mois de juin et une canicule en juillet, le chêne rencontre des difficultés à se développer dans un sol engorgé d’eau et pauvres en minéraux. Ajouté à cela, la présence d’un tapis dense de molinie dû à l’acidité du

sol favorisant le développement de l'herbacée entraîne d'importants échec de régénération en forêt de Vierzon.

Concernant la luminosité, ces résultats préliminaires ne permettent pas d'établir un lien entre lumière et croissance des espèces. Des analyses complémentaires seront effectuées à l'automne pour définir de manière plus précise les niveaux de lumière à chaque point. De plus, les plantes seront récoltées pour déterminer leur biomasse et leur taux de mycorhization. En effet, en milieu forestier, Hengodage et al. ont remarqué que la colonisation mycorhizienne des racines de canche augmentait après une récolte d'arbres et ce résultat était positivement corrélé avec la teneur en azote dans les parties aériennes (Hengodage et al. 2016). Ceci suggère un effet positif de la lumière sur la colonisation des racines (Konvalinková and Jansa 2016) et le rôle important des champignons dans l'absorption de nutriments tel que l'azote (Govindarajulu et al. 2005), pouvant être transférés vers la plante.

B. Croissance des parties aériennes (PA) et systèmes racinaires (SR) en pot en fonction de présence ou absence d'un voisin ou d'un fongicide

Dans les écosystèmes forestiers, la régénération et la croissance des arbres sont sous la dépendance de leurs associés fongiques, c'est-à-dire que les arbres croissent moins bien en absence des mycorhizes. En effet les plantes non mycorhizées n'assurent pas une nutrition complète en éléments minéraux comme l'azote, au départ elles se développent difficilement pendant la première année et parfois la deuxième année, et souvent elles meurent (F. LE TACON 1997).

Ce qui précède va nous permettre de tenter d'expliquer comment, dans nos résultats, un traitement fongicide sur le chêne et la molinie peut entraîner un effet dépressif significatif sur le développement de leurs parties aériennes et de leurs systèmes racinaires. Le fongicide, Cherokee, a été utilisé dans le but d'agir sur les mycorhizes du chêne et de la molinie, afin d'observer le rôle de cette symbiose dans la croissance et les interactions entre les deux espèces. Les analyses de biomasses mettent en évidence un effet négatif du fongicide sur la croissance des plantes et ceci est particulièrement marqué chez la molinie. Or, les espèces dont les capacités racinaires sont suffisantes pour leur croissance n'investissent pas d'énergie pour les symbioses mycorhiziennes. Les communautés fongiques et leur fonctionnement dépendent de l'environnement (Zangaro et al. 2012, Holste et al. 2017). La molinie fait partie des espèces ayant de fortes capacités d'absorption (Persson and Näsholm 2001). Il est donc probable que l'effet négatif du fongicide soit lié à une action herbicide plutôt qu'à une diminution significative de la quantité de mycorhizes.

Cet effet toxique de la substance propiconazole a aussi été observé dans les études de Calonne et al. (2011) qui ont déduit que ce fongicide avait des effets secondaires sur les deux partenaires de la symbiose : *Rhizophagus irregularis*, un champignon mycorhizien et les racines de chicorée transformées. Il a provoqué une diminution de la longueur et l'épaisseur du système racinaire de la chicorée. Ces changements morphologiques sont liés à une diminution de la teneur en stérol en affectant sa biosynthèse dans les racines.

Par ailleurs des effets néfastes du propiconazole ont été signalés sur la croissance des plantes et la production de spores par Nemeč en 1985.

En plus de l'effet négatif du fongicide sur la croissance, un effet voisin a été observé: en présence de molinie, la biomasse du chêne a tendance à être moins importante que lorsque le chêne est seul, suggérant un phénomène de compétition de la molinie vers le chêne. A l'inverse, en présence de chêne, la molinie a une biomasse légèrement supérieure à la modalité « sans chêne », suggérant un phénomène de facilitation du chêne vers la molinie (Bruno et al. 2017). En effet la molinie se développe mieux en présence du chêne (Fernandez 2015) et grâce à son système racinaire plus dense et à sa croissance rapide, elle peut bien explorer le sol et avoir un accès aux ressources. En même temps elle intervient dans l'inhibition de la croissance du chêne probablement en libérant des composés toxiques modifiant la mycorhization du chêne

vu que dans nos résultats en absence de fongicide (donc présence de mycorhize) la croissance du chêne été inhibée dans la modalité mélangée avec une molinie.

Ces résultats sont vérifiés par plusieurs études comme celles de Mallik, 2002; Mallik *et al.*, 2016, qui ont suggéré que la défaillance dans la régénération d'arbres forestiers était le résultat de la présence d'espèces du sous-étage dont la densité est importante et qui ont un effet allélopatique sur les racines des arbres voisins.

Jensen *et al.*, 2011 ont aussi confirmé pour des chênes âgés de 2 ans que leur croissance a diminué à cause de la végétation compétitive environnante et de la disponibilité réduite de N. Thiffault *et al.* 2004, ont démontré que les éricacées pouvaient constituer un obstacle au développement des semis en diminuant la disponibilité des ressources dans le sol, en exerçant des effets phytotoxiques sur l'environnement des semis et en influençant la colonisation mycorhizienne. Des analyses du taux de mycorhization seront donc effectuées sur les plants de chêne et de molinie en forêt de Vierzon afin de déterminer l'impact de la présence de molinie sur les mycorhizes du chêne.

C. Influx racinaire du nitrate et de l'ammonium

L'absorption du nitrate (NO_3^-) est très faible par rapport à celle d'ammonium (NH_4^+) pour les deux espèces. Cette différence d'absorption entre les deux formes azotées peut s'expliquer par le gradient électrochimique qui se trouve de part et d'autre de la membrane plasmique des cellules racinaires. Ce gradient est favorable pour l'entrée des cations tel que l'ion ammonium (NH_4^+) tandis qu'il est défavorable pour les anions comme l'ion nitrate (NO_3^-) vu qu'il présente une réaction thermodynamique et nécessite une forte dépense d'énergie par les systèmes d'influx pour lutter contre le gradient électrochimique (le transport d'une mole de nitrate nécessite au moins deux moles d'ATP) (Mata *et al.* ; 1999).

Dans d'autres études, il a été montré que la présence de NH_4^+ altérait la captation de NO_3^- par les plantes non mycorhizées (Kronzucker *et al.*, 1999; Gruffman *et al.*, 2014).

En fonction de la modalité seul ou avec un voisin, dans nos résultats, il est suggéré que le chêne seul et la molinie seule absorbent le nitrate et l'ammonium mieux que quand ils sont mélangés. Le fait qu'il y ait une diminution du taux de capture racinaire de l'azote quand le chêne et en mélange avec la molinie suggère l'existence d'une compétition entre les deux espèces. Cette compétition reste faible vu la densité de la molinie. Papon (2016) sur la compétition chêne-molinie pour l'azote, a montré que pour un faible niveau d'intensité de compétition (chêne avec une molinie), l'absorption diffère peu entre les deux espèces, cependant plus l'intensité de compétition augmente (chêne avec deux molinies ou plus), plus l'absorption diffère entre les deux espèces et la compétition devient plus marquée. On peut noter aussi qu'outre la compétition, la molinie peut avoir aussi un effet allélopathique sur les mycorhizes du chêne influant ainsi sur l'absorption de l'azote. Reigosa (1999) a montré que les composés allélochimiques peuvent produire des changements dans la compétition par exploitation en diminuant l'absorption racinaire en inhibant les mycorhizes associés aux racines de la plante cible.

Mais ceci reste une hypothèse car dans nos résultats les variations ont été très faibles et non significatives.

Suite à l'application de fongicide, une diminution de l'influx racinaire a été observée pour la molinie dans les deux modalités seule et mélangée tandis que pour le chêne seul, l'influx a augmenté. Ceci peut être expliqué par l'effet dépressif du fongicide sur les mycorhizes des racines de molinie (endomycorhizes) aboutissant ainsi à une faible assimilation de l'azote. Par ailleurs cet effet peut être considéré aussi comme toxique pour la molinie, modifiant la morphologie de son système racinaire. Il inhibe son développement (elle devient incapable d'explorer le sol à la recherche de l'azote) et aussi son pouvoir compétitif d'où la meilleure absorption observée pour le chêne.

Dans l'étude des influx sur racines excisées, les résultats reflètent principalement l'activité des systèmes de transports. Les influx d'ammonium du chêne et ceux de nitrate de la molinie ne permettent pas de conclure à un effet net de la présence de fongicide ou d'un voisin. En revanche, les influx de nitrate du chêne à concentration 1,5M sont plus importants en présence de fongicide. Ceci suggère que les systèmes de transports LATS sont plus actifs lorsque les racines ne sont pas mycorhizées. D'après les éléments de la bibliographie, les mycorhizes favorisent l'absorption d'azote, il est donc probable qu'en leur absence, les transporteurs soient plus actifs pour assurer la nutrition de la plante.

Les influx d'ammonium de la molinie sont supérieurs lorsque la molinie est seule, suggérant que les systèmes de transports sont plus actifs que lorsqu'elle est avec un chêne. Or, d'après les résultats de biomasse, la molinie a une croissance supérieure en présence de chêne. Ceci peut être dû au fait que la présence du jeune arbre facilite son accès aux ressources. D'après les premiers résultats de la thèse de Fernandez, il y a un transfert d'azote du chêne vers la molinie. Il est probable que celui-ci agisse comme un fertilisant pour la molinie, expliquant qu'elle mette moins d'énergie dans le fonctionnement des systèmes de transports, et plus dans la croissance.

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude était de s'intéresser à la réponse structurale et fonctionnelle du chêne en compétition avec la molinie pour les ressources naturelles du sol et notamment l'azote minéral (NO_3^- et NH_4^+).

Les résultats acquis montrent pour l'expérimentation in situ que les conditions du milieu de la forêt domaniale de Vierzon sont favorables pour le développement de la molinie, cependant elles dégradent assez fortement la régénération des plantules de chêne en ralentissant leurs croissances en longueur et en diamètre, et ainsi elles empêchent la reconstitution de la forêt.

Pour les résultats en pots, l'ajout d'un fongicide a altéré la morphologie racinaire et aérienne de la molinie et du chêne quand ils sont en modalité seule ou mélangée, et aussi il a modifié la capacité d'absorbance de l'influx de ces deux espèces, ce qui peut être expliqué par une modification des mycorhizes que ce soit endomycorhize (pour la molinie) ou ectomycorhize (pour le chêne) par le traitement fongicide, ou par un effet toxique de ce dernier sur les racines des plantes et surtout sur la molinie en réduisant son pouvoir compétitif, entre elle et le chêne ; d'où la différence des niveaux d'influx observée entre ces deux espèces, ce qui perturbe nos résultats et nous mets dans l'incertitude d'étudier les mycorhizes.

C'est la raison pour laquelle en termes de perspectives, plusieurs pistes peuvent être proposées:

- Réaliser un effet fongicide sur les plantules in situ et mesurer l'influx racinaire de l'azote pour faire une comparaison avec les résultats obtenus en pot.
- Vérifier l'effet toxique ou non du fongicide propiconazole sur les racines du chêne et de la molinie.
- Il serait intéressant de faire un comptage du taux de mycorhization au niveau des racines pour déduire l'origine de la diminution de la croissance et la variation des niveaux d'influx d'azote minéral (NO_3^- et NH_4^+).
- Réaliser l'analyse morphologique de la racine afin de regarder si les longueurs et les diamètres des racines sont aussi victimes du traitement fongicide.
- Prendre en compte d'autres formes azotées disponibles dans le sol : seuls les influx de nitrate et d'ammonium en tant que forme azotée ont été mesurés. Or, dans l'écosystème du sol, d'autres éléments azotés pouvant être absorbés par la plante sont à prendre en compte, tels que les acides aminés

Références bibliographiques

- Annighöfer, P., Beckschäfer, P., Vor, T., Ammer, C., 2015. Regeneration Patterns of European Oak Species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus robur* L.) in Dependence of Environment and Neighborhood. PLOS ONE 10, e0134935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134935>
- Atkinson, D., 2000. Root Characteristics: Why and What to Measure, in: Root Methods. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–32. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04188-8_1
- Balandier, P., Collet, C., Miller, J.H., Reynolds, P.E., Zedaker, S.M., 2006. Designing forest vegetation management strategies based on the mechanisms and dynamics of crop tree competition by neighbouring vegetation. Forestry: An International Journal of Forest Research 79, 3–27. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpi056>
- Balandier, P., Marquier, A., Perret, S., Collet, C., Courbaud, B., 2009. Comment estimer la lumière dans le sous-bois forestier à partir des caractéristiques dendrométriques des peuplements ? Rendez-vous techniques ONF 52–58.
- Balandier, P.P., Allégrini, C.C., Jay, D.D., 2008. Des réactions similaires à l’accompagnement ligneux pour le frêne et le noyer hybride. Forêt entreprise 178, 21–25.
- Becker, M. (Institut N. de la R.A., 1984. Allelopathic potential of *Molinia caerulea* (L.) Moench. and *Carex brizoides* L. Influence on the germination and growth of *Lepidium sativum* L. Presented at the 7. Colloque International sur l’Ecologie, la Biologie et la Systematique des Mauvaises Herbes, Paris (France), 9-11 Oct 1984, COLUMA.
- Becker, M., LéVy, G., 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais Les causes écologiques. Annales des Sciences Forestières 39, 439–444. <https://doi.org/10.1051/forest:19820407>
- Bi, Y.-M., Wang, R.-L., Zhu, T., Rothstein, S.J., 2007. Global transcription profiling reveals differential responses to chronic nitrogen stress and putative nitrogen regulatory components in *Arabidopsis*. BMC Genomics 8, 281. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-281>
- Bruno, J.F., Rand, T.A., Emery, N.C., and Bertness, M.D. 2017. Facilitative and competitive interaction components among New England salt marsh plants. PeerJ 5: e4049. doi:10.7717/peerj.4049.
- Calonne, M., Fontaine, J., Debiante, D., Laruelle, F., Grandmougin-Ferjani, A., Hadj Saharaoui Anissa, L., 2011. Etude de la toxicité d’un fongicide, le propiconazole, sur un organisme non-cible: le champignon mycorhizien arbusculaire *Glomus irregulare*. Presented at the séminaire doctorant UCEIV.
- Chesson, P. 2000. Mechanisms of Maintenance of Species Diversity. Annu. Rev. Ecol. Syst. 31: 343–66. doi:10.1146/annurev.ecolsys.31.1.343.
- Coll, L., Balandier, P., Picon-Cochard, C., Prévosto, B., Curt, T., 2003. Competition for water between beech seedlings and surrounding vegetation in different light and vegetation composition conditions. Annals of Forest Science 60, 593–600. <https://doi.org/10.1051/forest:2003051>
- Collet, C., Frochot, H., Guehl, J.-M., Ferhi, A., 1996. Effect of two forest grasses differing in their growth dynamics on the water relations and the growth of *Quercus petraea* seedlings. Canadian Journal of Botany 74, 1562–1571. <https://doi.org/10.1139/b96-189>
- Crawford, N.M., Glass, A.D.M., 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. Trends in Plant Science 3, 389–395. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01311-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01311-9)
- Daughtridge, A.T., Boese, S.R., Pallardy, S.G., Garrett, H.E., 1986. A rapid staining technique for assessment of ectomycorrhizal infection of oak roots. Can. J. Bot. 64, 1101–1103. <https://doi.org/10.1139/b86-151>
- Douzon, G., Nord-Ouest, D.S.F., 2005. Le point sur les dépérissements des chênes pédonculés

- en forêt de Vierzon. Département de la santé des forêts, Bilan de la santé des forêts en. Drénou, C., 2006. Les racines: face cachée des arbres. Forêt privée française.
- Fernandez, M., 2015. Absorption racinaire de l'azote minéral chez le chêne sessile (*Quercus Petraea* (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (*Molinia caerulea* (L.) Moench) en compétition : caractérisation cinétique et structurale. Absorption racinaire de l'azote minéral chez le chêne sessile (*Quercus Petraea* (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (*Molinia caerulea* (L.) Moench) en compétition : caractérisation cinétique et structurale, Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand 2)(2015).
- Fitter, A., 1987. M. Begon, J. L. Harper & C. R. Townsend 1986. Ecology: individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 876 pages. ISBN 0-632-01337-0 (hardback), 0-632-01339-7 (paperback). Price £29.80 (hardback), £14.50 (paperback). *Journal of Tropical Ecology* 3, 161–162. <https://doi.org/10.1017/S0266467400001917>
- Fox, J., n.d. Getting Started With the R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistical Software* 1–42.
- Garbaye, J., 2013. La symbiose mycorhizienne: Une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae.
- Gaudio, N., n.d. Interactions pour la lumière entre les arbres adultes, les jeunes arbres et la végétation du sous-bois au sein d'un écosystème forestier: application à la régénération du pin sylvestre en peuplement mélangé chêne sessile - pin sylvestre 197.
- Gaudio, N., Balandier, P., Dumas, Y., Ginisty, C., 2011. Growth and morphology of three forest understorey species (*Calluna vulgaris*, *Molinia caerulea* and *Pteridium aquilinum*) according to light availability. *Forest Ecology and Management* 261, 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.10.034>
- GLASS, A.D.M., 1995. Nitrogen absorption in higher plants. *Nitrogen Nutrition in Higher Plants*. 21–55.
- Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W., 2003. Le sol vivant, 2e édition revue et complétée. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne 319.
- Goldberg, D.E., 1990. Components of resource competition in plant communities. *Perspectives on plant competition* 27–49.
- Göransson, H., Fransson, A.-M., Jönsson-Belyazid, U., 2007. Do oaks have different strategies for uptake of N, K and P depending on soil depth? *Plant Soil* 297, 119–125. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9325-2>
- Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bücking, H., Lammers, P.J., and Shachar-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435(7043): 819–823. doi:10.1038/nature03610.
- Grace, J., 2012. *Perspectives on Plant Competition*. Elsevier.
- Gruffman, L., Jämtgård, S., Näsholm, T., 2014. Plant nitrogen status and co-occurrence of organic and inorganic nitrogen sources influence root uptake by Scots pine seedlings. *Tree Physiol* 34, 205–213. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt121>
- Harmer, R., Morgan, G., 2009. Storm damage and the conversion of conifer plantations to native broadleaved woodland. *Forest Ecology and Management* 258, 879–886. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.03.023>
- Harmer, R., Morgan, G., 2007. Development of *Quercus robur* advance regeneration following canopy reduction in an oak woodland. *Forestry (Lond)* 80, 137–149. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpm006>
- He, X., Nara, K., 2007. Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends Plant Sci.* 12, 331–333. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.06.008>
- Hengodage, N.B.W., Ruotsalainen, A.L., Markkola, A., and Häggman, H. 2016. Root fungal colonisations of the understory grass *Deschampsia flexuosa* after top-canopy harvesting. *Plant Soil* 414: 171–180. *Plant and Soil*. doi:10.1007/s11104-016-3108-6.

- Hepworth, C., Doheny-Adams, T., Hunt, L., Cameron, D.D., Gray, J.E., 2015. Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake. *New Phytologist* 208, 336–341. <https://doi.org/10.1111/nph.13598>
- Holste, E.K., Kobe, R.K., and Gehring, C.A. 2017. Plant species differ in early seedling growth and tissue nutrient responses to arbuscular and ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 27(3): 211–223. *Mycorrhiza*. doi:10.1007/s00572-016-0744-x
- IGN, 2014. Le Memento : La forêt en carte et en chiffre. 29 p.
- Jensen, A.M., Löf, M., Gardiner, E.S., 2011. Effects of above- and below-ground competition from shrubs on photosynthesis, transpiration and growth in *Quercus robur* L. seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.005>
- Janos, D.P., 1980. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae Affect Lowland Tropical Rain Forest Plant Growth. *Ecology* 61, 151–162. <https://doi.org/10.2307/1937165>
- Justes, E., Bedoussac, L., Corre - Hellou, G., Fustec, J., Hinsinger, P., Jeuffroy, M.-H., Journet, E.-P., Louarn, G., Naudin, C., Pelzer, E., 2014. Les processus de complémentarité de niche et de facilitation déterminent le fonctionnement des associations végétales et leur efficacité pour l'acquisition des ressources abiotiques. *Innovations Agronomiques* 40, 1–24.
- Keddy 2001 Competition Chapter 1.pdf, n.d.
- Kennedy, P., 2010. Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interactions, community structure, coexistence mechanisms, and future research directions. *New Phytologist* 187, 895–910. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03399.x>
- Kochian, L.V., Xin-Zhi, J., Lucas, W.J., 1985. Potassium Transport in Corn Roots: IV. Characterization of the Linear Component. *Plant Physiology* 79, 771–776. <https://doi.org/10.1104/pp.79.3.771>
- Konvalinková, T., and Jansa, J. 2016. Lights Off for Arbuscular Mycorrhiza: On Its Symbiotic Functioning under Light Deprivation. *Front. Plant Sci.* 7(June): 1–11. doi:10.3389/fpls.2016.00782.
- Kozłowski, S., Takeshita, T., Boehncke, W.-H., Takahashi, H., Boyd, L.F., Germain, R.N., Berzofsky, J.A., Margulies, D.H., 1991. Excess $\beta 2$ microglobulin promoting functional peptide association with purified soluble class I MHC molecules. *Nature* 349, 74–77. <https://doi.org/10.1038/349074a0>
- Kozłowski, T.T., Pallardy, S.G., Kramer, P.J., Kozłowski, Theodore T, 1991. *The physiological ecology of woody plants*. San Diego : Academic Press.
- Kronzucker, Herbert J., Glass, A.D.M., Yaeesh Siddiqi, M., 1995a. Nitrate induction in spruce: an approach using compartmental analysis. *Planta* 196, 683–690. <https://doi.org/10.1007/BF01106761>
- Kronzucker, H. J., Siddiqi, M.Y., Glass, A., 1995b. Kinetics of NO_3^- Influx in Spruce. *Plant Physiology* 109, 319–326. <https://doi.org/10.1104/pp.109.1.319>
- Kronzucker, Herbert J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., 1995d. Compartmentation and flux characteristics of ammonium in spruce. *Planta* 196, 691–698. <https://doi.org/10.1007/BF01106762>
- Kronzucker, Herbert J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., 1995c. Compartmentation and flux characteristics of nitrate in spruce. *Planta* 196, 674–682. <https://doi.org/10.1007/BF00197331>
- Kroon, H. de, Mommer, L., Nishiwaki, A., 2003. Root Competition: Towards a Mechanistic Understanding, in: *Root Ecology, Ecological Studies*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 215–234. https://doi.org/10.1007/978-3-662-09784-7_9
- Lucash, M.S., Eissenstat, D.M., Joslin, J.D., McFarlane, K.J., Yanai, R.D., 2007. Estimating nutrient uptake by mature tree roots under field conditions: challenges and opportunities. *Trees* 21, 593–603. <https://doi.org/10.1007/s00468-007-0160-0>
- Mallik, A., Inderjit, 2002. *Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial*

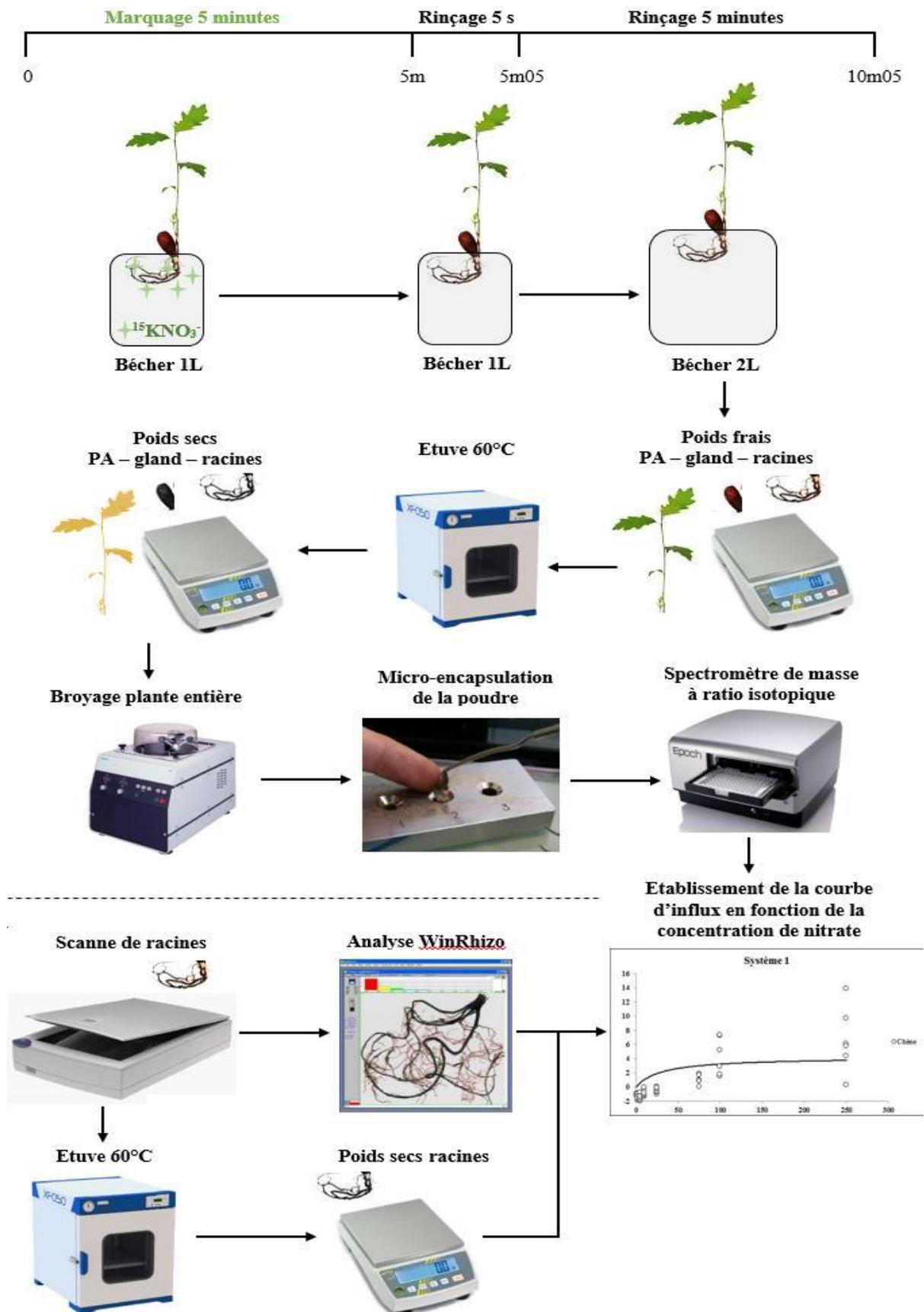
- Ecosystems. Birkhauser-Verlag AG, Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8109-8>
- Mallik, A., Kravchenko, D., 2016. Black spruce (*Picea mariana*) restoration in Kalmia heath by scarification and microsite mulching. *Forest Ecology and Management* 362, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.10.020>
- Mata, C., van Vemde, N., Clarkson, D.T., Martins-Loução, M.A., Lambers, H., n.d. Influx, efflux and net uptake of nitrate in *Quercus suber* seedlings 8.
- Medici, A., Krouk, G., 2014. The Primary Nitrate Response: a multifaceted signalling pathway. *J Exp Bot* 65, 5567–5576. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru245>
- Meyer, C., Stitt, M., 2001. Nitrate Reduction and signalling, in: *Plant Nitrogen*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 37–59. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04064-5_2
- Morot-Gaudry, J-F., 1997. Assimilation de l'azote chez les plantes: Aspects physiologique, biochimique et moléculaire (Mieux comprendre) (French Edition).
- Nemec, S., 1985. Influence of selected pesticides on *Glomus* species and their infection in citrus. *Plant Soil* 84, 133–137. <https://doi.org/10.1007/BF02197875>
- Nilsson, M.-C., 1994. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. *Oecologia* 98, 1–7. <https://doi.org/10.1007/BF00326083>
- Papon N. 2016. Caractérisation cinétique de l'activité des systèmes de transport de l'azote minéral dans les racines de chêne en compétition avec la molinie suite à la reprise de croissance.
- Persson, J., and Näsholm, T. 2001. Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants. *Ecol. Lett.* 4: 434–438.
- Plassard, C., Guérin-Laguette, A., Véry, A.-A., Casarin, V., Thibaud, J.-B., 2002. Local measurements of nitrate and potassium fluxes along roots of maritime pine. Effects of ectomycorrhizal symbiosis. *Plant, Cell & Environment* 25, 75–84. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00810.x>
- Provendier, D., Balandier, P., 2008. Compared effects of competition by grasses (Graminoids) and broom (*Cytisus scoparius*) on growth and functional traits of beech saplings (*Fagus sylvatica*). *Annals of Forest Science* 65, 510–510. <https://doi.org/10.1051/forest:2008028>
- R, H., 1996. Growth of seedling tree root-systems in competition with grasses. *Aspects of Applied Biology*.
- Reigosa, M.J., Sánchez-Moreiras, A., González, L., 1999. Ecophysiological Approach in Allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18, 577–608. <https://doi.org/10.1080/07352689991309405>
- Rice, E., n.d. L., (1984) Allelopathy. Academic I» ress.
- Ridenour, W.M., Callaway, R.M., 2001. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. *Oecologia* 126, 444–450. <https://doi.org/10.1007/s004420000533>
- Rock, K.L., Gamble, S., Rothstein, L., Gramm, C., Benacerraf, B., 1991. Dissociation of β 2-microglobulin leads to the accumulation of a substantial pool of inactive class I MHC heavy chains on the cell surface. *Cell* 65, 611–620. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90093-E](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90093-E)
- Schenk, H.J., 2006. Root competition: beyond resource depletion. *Journal of Ecology* 94, 725–739. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01124.x>
- Stinson, K.A., Campbell, S.A., Powell, J.R., Wolfe, B.E., Callaway, R.M., Thelen, G.C., Hallett, S.G., Prati, D., Klironomos, J.N., 2006. Invasive Plant Suppresses the Growth of Native Tree Seedlings by Disrupting Belowground Mutualisms. *PLOS Biology* 4, e140. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040140>
- Taylor, K., Rowland, A.P., Jones, H.E., 2001. *Molinia caerulea* (L.) Moench. *Journal of Ecology* 89, 126–144. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00534.x>

- Thiffault, N., Cyr, G., Prigent, G., Jobidon, R., Charette, L., 2004. Régénération artificielle des pessières noires à éricacées : effets du scarifiage, de la fertilisation et du type de plants après 10 ans. *The Forestry Chronicle* 80, 141–149. <https://doi.org/10.5558/tfc80141-1>
- Timbal, J., Aussenac, G., 1996. An overview of ecology and silviculture of indigenous oaks in France, in: *Annales Des Sciences Forestières*. EDP Sciences, pp. 649–661.
- Timbal, J., Gelpe, J., Garbaye, J., Courrier, G., 1990. Étude préliminaire sur l'effet dépressif de la molinie (*Molinia caerulea*) sur la croissance et l'état mycorhizien de semis de chêne rouge (*Quercus rubra*). *Annales des Sciences Forestières* 47, 643–649. <https://doi.org/10.1051/forest:19900609>
- Vaughn, S.F., Berhow, M.A., 1999. Allelochemicals Isolated from Tissues of the Invasive Weed Garlic Mustard (*Alliaria petiolata*). *J Chem Ecol* 25, 2495–2504. <https://doi.org/10.1023/A:1020874124645>
- Vernay, A. 2017. De la complexité fonctionnelle et écophysio­logique des ressources lumière, azote et eau dans le réseau précoce d'interactions entre le jeune chêne et deux poacées : conséquences pour la régénération des chênaies tempérées.
- Vernay, A., Balandier, P., Guinard, L., Améglio, T., Malagoli, P., 2016. Photosynthesis capacity of *Quercus petraea* (Matt.) saplings is affected by *Molinia caerulea* (L.) under high irradiance. *Forest Ecology and Management* 376, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.05.045>
- Vidal, E.A., Moyano, T.C., Canales, J., Gutiérrez, R.A., 2014. Nitrogen control of developmental phase transitions in *Arabidopsis thaliana*. *J Exp Bot* 65, 5611–5618. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru326>
- von Wirén, N., Gojon, A., Chaillou, S., and Raper, D. 2001. Mechanisms and Regulation of Ammonium Uptake in Higher Plants. *In Plant Nitrogen. Edited by P.J. Lea and J.-F. Morot-Gaudry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. pp. 61–77. [doi:10.1007/978-3-662-04064-5_3](https://doi.org/10.1007/978-3-662-04064-5_3).
- Wang, M.Y., Siddiqi, M.Y., Ruth, T.J., Glass, A., 1993. Ammonium Uptake by Rice Roots (II. Kinetics of $^{13}\text{NH}_4^+$ Influx across the Plasmalemma). *Plant Physiology* 103, 1259–1267. <https://doi.org/10.1104/pp.103.4.1259>
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A., 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science* 9, 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006>
- Zangaro, W., Alves, R.A., Lescano, L.E., Ansanelo, A.P., and Nogueira, M.A. 2012. Investment in Fine Roots and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Decrease During Succession in Three Brazilian Ecosystems. *Biotropica* 44(2): 141–150. [doi:10.1111/j.1744-7429.2011.00781.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2011.00781.x).

Annexe

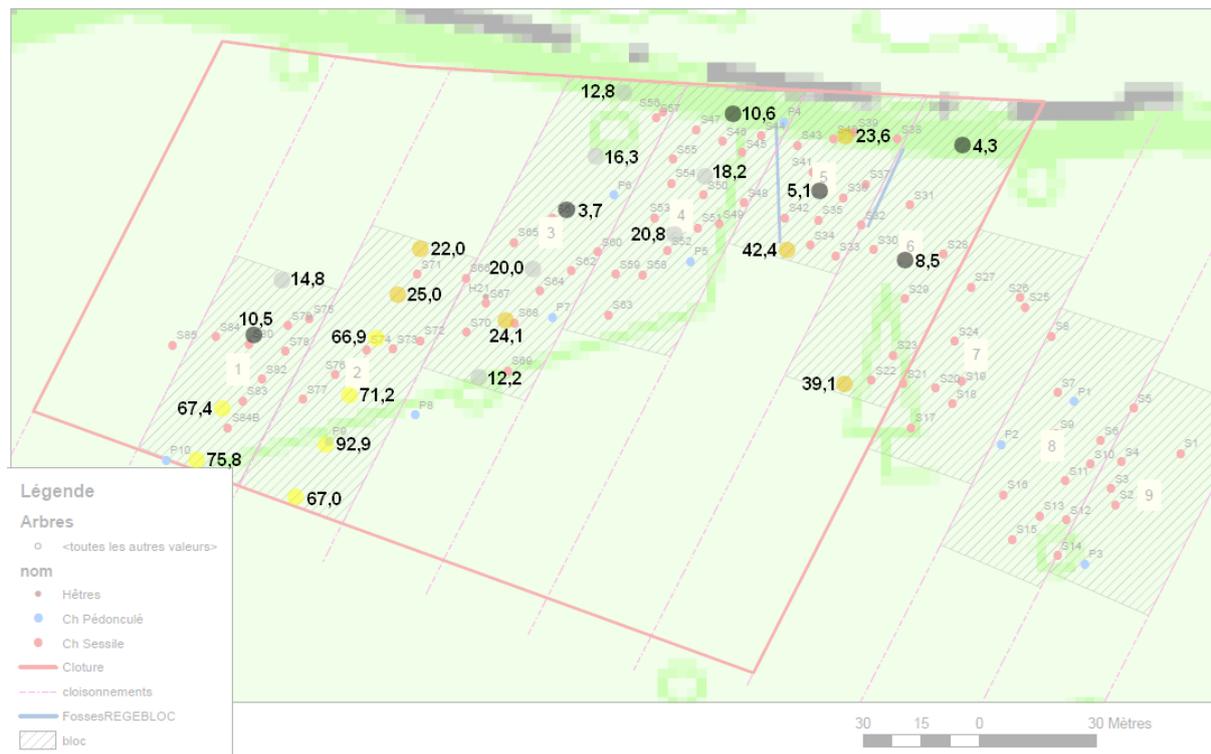


Annexe 1 : Fiche de reconnaissance des racines de chêne et de molinie (Papon 2016)



Annexe 2 : Succession des étapes et dispositif expérimental mis en place pendant et après le marquage. Le trait pointillé sépare les analyses fonctionnelles (en haut) des analyses structurales (en bas). Cette méthodologie a été utilisée pour le chêne et pour la molinie.

REGEBLOC Vierzon - p.173



ANNEXE 3 : Les placettes de plants de molinie et de chêne à 4 niveaux de lumière différents : de 0 à 20°C « lumière très faible », de 20 à 40°C « faibles », de 40 à 60°C « moyenne », de 60 à 90°C « forte »



Annexe4 : Dispositif expérimental en forêt de Vierzon (* chêne, * molinie) et différentes mesures de longueur et diamètres réalisées sur les deux espèces

