

Effet d'une sècheresse extrême sur le fonctionnement de l'ecosystème prairial. Evaluation du rôle tampon de la composition et de la diversité végétale par approche expérimentale

Pauline Hernandez

► To cite this version:

Pauline Hernandez. Effet d'une sècheresse extrême sur le fonctionnement de l'ecosystème prairial. Evaluation du rôle tampon de la composition et de la diversité végétale par approche expérimentale. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand 2), 2016. Français. NNT: . tel-02800719

HAL Id: tel-02800719 https://hal.inrae.fr/tel-02800719

Submitted on 5 Jun2020

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.



Effet d'une sécheresse extrême sur le fonctionnement de l'écosystème prairial : évaluation du rôle tampon de la composition et de la diversité végétale par approche expérimentale

Pauline Hernandez

► To cite this version:

Pauline Hernandez. Effet d'une sécheresse extrême sur le fonctionnement de l'écosystème prairial : évaluation du rôle tampon de la composition et de la diversité végétale par approche expérimentale. Sciences de la Terre. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2016. Français. ; NNT : 2016CLF22752 ¿.

HAL Id: tel-01544591 https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01544591

Submitted on 21 Jun2017

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.





École doctorale SCIENCES DE LA VIE, SANTE, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT N° d'ordre : 703

Thèse présentée pour l'obtention du grade de DOCTEUR D'UNIVERSITÉ Spécialité : Ecologie

Hernandez Pauline

Effet d'une sécheresse extrême sur le fonctionnement de l'écosystème prairial

Évaluation du rôle tampon de la composition et de la diversité végétale par approche expérimentale

Extreme drought effect on grassland ecosystem functioning Assessment of buffering effect of plant composition and diversity by experimental approach

Soutenue publiquement le 29 Novembre 2016

Valérie LEGUÉ Professeure, Université Blaise Pascal	Président
Alexandre BUTTLER Professeur, Université de Lausanne	Rapporteur
Florence VOLAIRE Chargée de recherche, INRA-CNRS Montpellier	Rapporteur
Stéphane HERBETTE Maître de conférences, Université Blaise Pascal	Examinateur
Thomas SPIEGELBERGER Directeur de recherche, IRSTEA de Grenoble	Examinateur
Pascal CARRERE Ingénieur de recherche, INRA	Invité
Catherine PICON-COCHARD Chargée de recherche, INRA	Directrice de recherche

Laboratoire d'accueil : INRA – Unité de Recherche sur l'Ecosystem prairial (UR 874) 5, Chemin de Beaulieu. 63039 CLERMONT FERRAND cedex 2

« Quand vous verrez la lumière au bout du tunnel, priez pour que ce ne soit pas le train. » Damien Lemire

REMERCIEMENTS

Et voilà, toutes les bonnes choses ont une fin... La gestation fut longue et douloureuse, accompagnée je ne le cacherai pas de quelques nausées matinales, mais voilà, 3 ans et 9 mois plus tard, ce manuscrit de thèse voit enfin le jour. Presque déçue de ne pas atteindre les 4 ou 5 ans... mais Pôle emploi a fini par frapper à ma porte. J'en tire les conclusions en me retirant de la vie scientifique, pour me consacrer entièrement à la recherche d'un emploi. Avant de poursuivre ma route pour une durée indéterminée dans le monde de la précarité, je me dois de remercier tous ceux qui m'ont aidée et soutenue pendant ces années de thèse. C'est donc avec plaisir et un réel sentiment de reconnaissance que j'écris la majorité des remerciements qui vont suivre.

Je remercie tout d'abord l'équipe de l'UREP au sein de laquelle j'ai pu évoluer en toute autonomie et qui m'a fait découvrir une facette du monde de la recherche. Merci à tous les membres de l'équipe que j'ai croisés au cours de ces années et qui m'ont accompagnée professionnellement et personnellement. Merci Catherine de m'avoir permis de réaliser cette thèse. Merci Pascal pour ta bienveillance, ton expérience et ton écoute. Merci également pour tes conseils et ton soutien pendant cette dernière année. Merci Juliette et Julien pour m'avoir aidée et accompagnée dans la rédaction de ce manuscrit, merci pour votre disponibilité, votre patience et vos conseils.

Je remercie le projet SIGNAL pour le financement de cette thèse. Merci également à tous les membres de mon comité de thèse pour m'avoir accompagnée dans la réalisation de ce projet, Florence Volaire, Didier Alard et Philippe Choler. Je remercie tous les membres de mon jury de thèse d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de m'avoir permis de finaliser mon projet de thèse. Merci encore une fois à Florence Volaire, merci à Alexandre Buttler, Stéphane Herbette, Valérie Legué et Thomas Spiegelberger.

Merci à tous ceux qui ont transpiré en même temps que mes plantes et moi-même! Et merci à ceux qui m'auront énormément appris tout au long des deux manips. Merci à Alexandre, Robert, Sandrine, Jean-Luc, David. Merci surtout à Patrick qui m'aura accompagnée et aidée pendant de nombreuses journées de relevés et de tris, merci pour ta gentillesse et ton expérience. Je remercie également tous ceux qui ont pu m'apporter leur aide et leurs connaissances, merci Laurence, Isabelle, Frédérique, Olivier. J'en profite pour remercier plus particulièrement Olivier d'avoir supporté ma présence dans le bureau pendant les derniers mois de rédaction. Mais je pense que deux personnes qui insultent régulièrement leur

ordinateur ne peuvent que se comprendre! Merci Laurence pour ton écoute et ton soutien au cours de cette dernière année. Merci en particulier aux nombreux stagiaires et autres mains d'œuvre occasionnelle (#team précaire) qui m'ont aidée pour tous les relevés, les tris d'herbe, les broyages, les centaines de boulettes, les pesées en tout genre, les lavages (oui ici on lave les racines), le traitement d'images (oui on les aime vraiment les racines on les prend aussi en photos) et j'en passe. Merci donc à Marie-Eve, Marie-Elsa, Antoine, Geoffrey (c'était pas une blague, ne fais pas de thèse, fuis tant qu'il est encore temps!). Merci aussi à Mathieu, Mathieu (pas d'erreur il y a bien eu deux Mathieu), Marie et Pierre. Merci pour certains d'avoir supporté des conditions de travail extrêmes, chaleur, pluie, neige, sans parler des horaires. Eh oui, certains stagiaires se sont lever aux aurores et ont quitté le labo bien après l'heure légale pour m'aider, je les en remercie. J'espère que cette première forme d'exploitation ne vous aura pas trop découragé!

Merci aux autres précaires de l'UREP, qui ne m'ont pas aidée officiellement mais qui ont pris de leur temps (j'allais dire précieux mais bon pour certains j'hésite encore!) pour m'aider, me soutenir et m'écouter me plaindre des conditions de travail. On sait bien en signant que l'on va travailler tard le soir, le weekend et que toutes ces heures solitaires ne seront pas valorisées ou rémunérées, mais on le fait pour la Science (...). Je remercie donc tous ces autres précaires de l'ombre qui m'ont épaulée et ont permis de rendre ces heures solitaires moins solitaires. Merci à eux de m'avoir écouté, changé les idées et fait rire (parfois malgré eux) pendant les pauses café, les weekends et les soirées (trop ?) arrosées. Merci aux anciens, happés eux aussi par Pôle emploi ou appelés vers un avenir meilleur, merci à Andrea, Marine, Franck, Rie, Haytem, Damien, Laurianne, Benoît, Louise, Charles, Delphine, Deborah et tous ceux que je ne cite pas! Et merci à ceux qui sont toujours à l'UREP, par envie, dépit et parfois un peu des deux. Merci aux « informaticiens » ou en tous cas aux occupants du bureau du même nom. Merci donc à David, Ludo, Nedjla, Jean-Neuneu, qui se seraient sans doute passé de certaines de mes visites mais qui m'accueillent malgré tout avec le sourire. Merci à la petite Iris, pour ggplot, pour les partie de mini-basket (je sais pas on dit bien mini-golf ?), pour les chaussons licornes et pour toutes les pauses anti-craquage! Merci à Caca pour toutes ses anecdotes croustillantes, qu'on ne demande souvent pas, mais qui arrivent pourtant et qui nous font bien rire. Trop d'infos parfois, mais ne change rien. Enfin si, nous espérons tous que tu te débarrasseras enfin de ton élevage de pandas. Oui vraiment, à un moment on n'ose pas te le dire mais ils deviennent assez encombrants! Pour Iris et Caca je souhaite donc bon courage pour les quelques années restantes (pas de nombre précis, on ne sait jamais). Et faites bien attention quand vous verrez la lumière au bout du tunnel, la délivrance n'est pas toujours celle que l'on attend! Merci aussi aux précaires à mi-temps, Lolo, Gaga. Lolo et ses semaines chargées de deux jours, merci pour les bons moments en pause café et autres pauses imposées dans ton bureau! Gaga et ses interventions sans transition, c'est dur de te suivre mais ne change rien, merci pour les moments de covoiturage et de décompression! Bref, merci à vous tous, cette thèse n'aurait pas été pareille sans vous. Merci pour l'ambiance et la bonne humeur!

Enfin, je tiens particulièrement à remercier tous mes proches, qui n'ont pas forcément participé directement à cette thèse mais qui ont su me faire relativiser, qui ont été là dans les moments de doute et qui m'ont aidé à déconnecter du travail pendant les trop rares « vacances » de ces quatre dernières années (#CET).

Merci tout d'abord à ma famille, merci à mes parents (sans qui je ne serais pas née, on l'oublie souvent), qui m'auront aidée à couper de l'herbe un samedi sous la pluie alors qu'ils avaient prévu un weekend détente dans le massif central. Eh oui, vous devez encore regretter de ne pas avoir investi dans une télé pour la chambre conjugale avant 1989, je vous comprends! Merci à ma sœur et à sa passion pour le Bescherelle, qui a comblé ses journées de travail par des relectures de ma thèse (s'il reste des fautes tu en seras tenu pour seule responsable). Merci à ma grand-mère qui a toujours été là pour moi, qui a su trouver les mots pour me réconforter et me porter depuis mon enfance. Merci à mon grand-père qui nous a quittés il y a quelques mois à peine, merci pour tout ce que tu as fait pour moi et pour ta famille. Tu as toujours été là dans les moments de doute. Tu étais fier que ta petite fille fasse de longues études, tu me demandais quand j'allais finir ma thèse je suis désolée d'avoir mis tant de temps, j'espère ne pas te décevoir. Merci à tous pour votre soutien.

Merci à mes amis, ceux qui ont été là pendant mes études et ceux qui sont encore et toujours là pour moi, même de loin. Merci pour votre aide, votre soutien, les moments de rire en bref merci pour votre amitié. Merci à Laura, qui me supporte depuis quoi dix-huit ans ? Je sais pas comment tu fais, peut-être parce que maintenant on est loin. Mais je sais que si j'ai besoin tu seras toujours là, peut-être pour dix-huit années supplémentaires ? Merci à Piou, Coco, Flopy, on se voit trop peu mais j'espère me rattraper après la soutenance! Merci aux amis de Bordeaux, Marion, Sabine, Tristan, Nastasia, Clarisse et à tous les autres! Merci à Audrey, pour ton aide sur les manips, les relectures de thèse, les soirées dans le sud-ouest et pour tout le reste! N'oublie pas d'amener Cochon à la soutenance. Enfin la dernière et non des

moindres, merci à Solène. Merci d'être là quand ça va, quand ça va pas, et ne nous le cachons pas ces derniers mois c'est souvent que ça n'allait pas! Merci pour ton soutien, ton aide avec les relectures, tu as bien du la lire dix ou quinze fois cette thèse donc je compte sur toi pour répondre aux questions à ma place pendant la soutenance. Merci pour les weekends déconnexion surtout dans le sud-est. Bon tu le sais je préfère les chagasses aux cagoles, les cannelés aux calissons, Bordeaux à Marseille (droit au but, c'est plutôt un sous titre de film pour adultes), mais pour venir te voir je faisais une exception! Merci pour les soirées karaoké (je ne préciserai pas que c'était sur du Rihanna et du Beyoncé, j'ai une réputation à tenir). En bref merci pour tout!

Voilà, les remerciements touchent à leur fin. J'ai dû faire court (l'encre coûte cher et je voudrais faire faire des économies au labo!), je m'excuse donc si j'ai oublié certaines personnes. Donc au cas où, je remercie également les oubliés! Il ne me reste plus qu'à vous souhaiter une bonne lecture.

RÉSUMÉ

Les prairies permanentes représentent l'une des principales formes d'utilisation des terres en Europe. En France, elles représentent près de 40% de la Surface Agricole Utile (SAU) et restent le support de nombreux systèmes d'élevage. Les scénarios actuels de changement climatique prévoient tous un accroissement de la variabilité climatique qui pourrait se traduire par un accroissement des évènements extrêmes, notamment en ce qui concerne les épisodes de sécheresses. Ces événements extrêmes sont de nature à altérer la structure et le fonctionnement des prairies et en conséquence la capacité de ces écosystèmes à rendre des services agricoles, écologiques et environnementaux. Une meilleure compréhension des mécanismes de résistance et de résilience des communautés végétales prairiales face à l'occurrence de sécheresses extrêmes s'avère donc cruciale pour évaluer la stabilité du fonctionnement de l'écosystème prairial et notamment du service de production qu'il supporte.

Cette thèse a pour objectif principal d'évaluer la capacité des prairies permanentes à maintenir leur fonction de production face à un événement de sécheresse extrême. Elle s'appuie sur une démarche expérimentale en mésocosmes sous conditions semi-contrôlées permettant de caractériser le rôle de la composition et de la structure des communautés végétales prairiales dans la résistance et la résilience à la sécheresse des prairies. Pour évaluer l'importance de la composition et de la diversité fonctionnelle dans la réponse des communautés végétales, des monocultures et des mélanges associant graminées et une légumineuse ont été sélectionnés. L'originalité de ce travail réside dans une approche d'écologie fonctionnelle permettant d'appréhender l'importance des interactions entre espèces dans la réponse de la communauté via l'analyse de traits morphologiques et physiologiques mesurés conjointement dans les compartiments aérien et souterrain de la végétation.

Cette étude a mis en évidence le rôle prépondérant du Trèfle blanc (*Trifolium repens*) dans la modulation de l'impact d'un événement de sécheresse extrême sur la production de biomasse de mélanges prairiaux. Si aucun effet tampon de la composition et de la structure de la communauté n'a été mis en évidence durant la sécheresse, la présence et l'abondance de Trèfle blanc a été reliée à une meilleure récupération à long terme de la production de biomasse des mélanges. Après l'extrême, une surproduction des mélanges associant graminée et Trèfle blanc a ainsi été attribuée à des mécanismes de facilitation azotée et de complémentarité verticale de niches au niveau racinaire pour l'acquisition de l'eau. Nous avons ainsi souligné l'importance de la croissance des racines profondes pour la mise en place de complémentarités fonctionnelles entre espèces et donc pour le maintien de la production sous sécheresse extrême. L'événement de sécheresse affecte durablement le comportement des racines et de ce fait les mécanismes sous-jacents de l'effet bénéfique du Trèfle blanc sur la production aérienne. Par ailleurs, notre étude a mis en évidence le rôle majeur des interactions hétérospécifiques dans l'expression de traits intraspécifiques liés aux stratégies d'acquisition des ressources et par conséquent dans la régulation de la performance des espèces sous sécheresse extrême.

Nous montrons que la structure et la composition fonctionnelle de la communauté végétale apparaît essentielle dans la régulation de la réponse à un événement de sécheresse extrême. Dans notre étude, la récupération de la production de biomasse aérienne après sécheresse extrême repose essentiellement sur la présence de Trèfle blanc et la mise en place d'interactions positives entre espèces. La prise en compte de la modulation par les interactions interspécifiques du comportement des espèces en mélanges s'avère nécessaire dans la prévision de la production des prairies sous climat futur. Dans une perspective plus finalisée, la prise en compte de la variabilité intraspécifique de traits, inhérente ou induite par des interactions, apparaît importante pour pouvoir proposer des

mélanges d'espèces ou de variétés permettant de mieux supporter des conditions de sécheresses plus intenses et fréquentes.

Mots clés : Sécheresse ; Prairies ; Extrême climatique ; Overyielding ; Résistance ; Résilience ; Interactions hétérospécifiques; Complémentarité ; Trèfle blanc ; Traits fonctionnels des plantes

ABSTRACT

Permanent grasslands are one of the main forms of land use in Europe. In France, permanent grasslands represent around 40% of Utilised Agricultural Land and support many animalbased farming systems. Current climate change scenarios predict increased climate variability that could result in an increase in extreme events such as drought episodes. These extreme events can significantly alter the structure and functioning of grasslands, with implications for their capacity to provide agricultural, ecological and environmental services. Improved understanding of the resistance and resilience mechanisms of grassland plant communities exposed to extreme drought is therefore critical in order to assess the stability of grassland functions, in particular that of biomass production.

This thesis aims at assessing the capacity of permanent grasslands to sustain their production when exposed to an extreme drought event. The study uses an experimental approach and semi-controlled conditions to investigate the role of community composition and functional diversity for drought resistance and resilience in grassland mixtures. Monocultures and mixtures combining grasses and legumes were selected to test the importance of composition and functional diversity for plant community responses during drought and up to a year after the end of water stress. The originality of this work is the use of a functional ecological approach to assess the impacts of species' interactions via measurements of plant morphological and physiological traits both above- and below-ground.

This study demonstrates the importance of white clover (*Trifolium repens*) in modulating the impact of extreme droughts on biomass production of grassland mixtures. Community composition did not have a buffering effect on biomass production during the drought event but the presence and abundance of white clover in mixtures was linked to higher recovery of biomass production in the long-term. After the extreme drought event, overyielding in mixtures combining grass and white clover could be attributed to mechanisms of nitrogen facilitation and vertical root complementarity for water uptake. Results also show the importance of deep root growth for the establishment of functional complementarity between species and the maintenance of biomass production under extreme drought. Drought had lasting effects on the root system patterns and thus on the underlying mechanisms of the positive effect of white clover on aboveground production. Moreover, this work highlights the key role of heterospecific interactions in the expression of intraspecific traits related to resource acquisition strategies. Heterospecific interactions are thus an important driver of the species performance under extreme drought.

We show that the structure and functional composition of the plant community in simplified mixtures are critical for modulating grassland responses to an extreme drought event. In our study, the recovery of aboveground biomass production is mainly related to the presence of white clover and the establishment of positive interactions between species. Changes of species behaviour in response to heterospecific interactions should be taken into account to better predict grassland biomass production under future climatic conditions. From an applied perspective, accounting for the key role of white clover and the inherent variability or neighbour-induced plasticity of intraspecific traits appears important to adapt mixtures of species or varieties to more intense and frequent drought events.

Key words: Drought; Grasslands; Climate extreme; Overyielding; Resistance; Resilience; Heterospecific plant interactions; Complementarity; White clover; Plant functional traits

SOMMAIRE

Introduct	ion générale1	
Chapitre	1 : État de l'art	
1.	Changement climatique et événements extrêmes	
2.	Écosystème prairial7	
	a. Communautés végétales des prairies permanentes	
	b. Fonctions et services des prairies	
3.	Épisode de sécheresse et réponse de l'écosystème prairial10	0
	a. Sécheresse en milieu prairial10	0
	b. Sécheresse extrême et stabilité de l'écosystème prairial1	1
4.	Effet du changement climatique : approche fonctionnelle1	3
	a. Approche fonctionnelle des communautés végétales1	3
	b. Stratégies fonctionnelles des plantes : acquisition des ressources et	
	résistance à la sécheresse1	5
	c. Structuration des communautés)
5.	Diversité végétale et production de biomasse	3
	a. Stabilité de la production sous sécheresse	7
	b. Production de biomasse sous sécheresse extrême	2
6.	Synthèse	1
7.	Problématique et démarche de travail	5
Chapitre	2 : Matériels et méthodes)
1.	Site et matériel végétal)
2.	Dispositif expérimental)
3.	Mesures	3
Chapitre	3 : Déterminisme de la production aérienne hors stress, composition des mélanges	
et interact	ions hétérospécifiques47	7
Pre	esence of Trifolium repens promotes complementarity of water use and facilitation	
in a	diverse grass mixtures	
Chapitre	4 : Résistance et récupération de la production aérienne des mélanges sous	
sécheresse	extrême)
Со	mbining grass species and white clover in temperate forage mixtures can reduce	

grassland sensitivity to extreme drought events

Chapitre 5 : H	Récupération aérienne des espèces après sécheresse extrême, variation	
intraspécifique de	s traits et effet du voisinage112	
Neighbour	r-induced variation in plant traits mediates species' recovery in grassland	
mixtures a	fter an extreme drought event	
Chapitre 6 : Rép	onse du compartiment racinaire à un événement de sécheresse extrême145	,
Impact of	f an extreme drought event to the growth dynamics of deep roots in	
experimen	tal grassland mixtures	
Chapitre 7 : Syn	thèse et discussion générale169)
1. Synthe)
a.	Biomasse aérienne et overyielding: effet légumineuse et importance des	
	interactions hétérospécifiques en mélanges170)
b.	Dynamique des effets de complémentarité : mécanismes sous-jacents et	
	effet sécheresse	ŀ
с.	Plasticité des traits fonctionnels : effet sécheresse et interactions	
	hétérospécifiques178	;
2. Analys	se critique de la démarche expérimentale	
3. Perspe	ctives ouvertes par nos travaux	2
a.	Suivi long terme de la réponse à une sécheresse extrême	2
b.	Analyse de l'effet temporel des sécheresses (saisonnalité et fréquence)183	;
с.	Mécanismes sous-jacents des interactions hétérospécifiques : identification	
	des racines en mélanges	;
d.	Rôle clé du Trèfle blanc : généralisation à l'ensemble des légumineuses184	ŀ
e.	Interactions hétérospécifiques : importance de la modulation des réponses	
	individuelles des espèces	5
f.	Approche multifonctionnelle des prairies : réponse à une sécheresse	
	extrême des différents services	1
g.	Rôle de la diversité intraspécifique	;
Conclusion géné	rale)
Références bibli	ographiques191	
Annexe 1 : Méth	odologie des mesures réalisées218	3
Annexe 2 : Résu	ltats complémentaires	3
Annexe 3 : Artic	les du projet européen SIGNAL227	7
Annexe 4 : Publi	cation	

TABLE DES FIGURES

Figure 1-1 Evolution des concentrations atmosphériques en dioxyde de carbone et méthane (GES) et des	
températures de surface au cours du dernier millénaire4	ł
Figure 1-2 Représentation conceptuelle des phénomènes climatiques extrêmes5	5
Figure 1-3 Représentation conceptuelle d'un événement climatique extrême	5
Figure 1-4 Cadre théorique permettant d'évaluer les réponses aux phénomènes climatiques extrêmes1	12
Figure 1-5 Cadre conceptuel présentant le rôle médian des traits fonctionnels entre les changements	
environnementaux, leurs effets sur la composition et la structure des communautés végétales et leurs effets sur le	
fonctionnement de l'écosystème1	.4
Figure 1-6 Schéma du flux d'eau dans la plante1	6
Figure 1-7 Description schématique des stratégies de réponses des graminées pérennes à la sécheresse1	7
Figure 1-8 Cadre théorique présentant les processus et filtres principaux structurant une communauté végétale2	20
Figure 1-9 Mécanismes potentiels au sein des expérimentations sur la biodiversité2	25
Figure 1-10 Représentation de la diversité des systèmes racinaires illustrant la différenciation de distribution	
verticale entre espèces prairiales et la potentielle complémentarité d'acquisition des ressources2	27
Figure 1-11 Scénarii possibles représentant les dynamiques de production de deux espèces au sein de la même	
communauté3	30
Figure 1-12 Schéma théorique montrant la variation des interactions entre espèces en fonction d'un gradient de	
stress environnemental	33
Figure 1-13 Schéma général du travail de thèse	38
Figure 2-1 Schéma de la plateforme expérimentale	12
Figure 2-2 Plateforme expérimentale en préparation	13
Figure 2-3 Plateforme expérimentale en cours d'expérimentation	3
Figure 2-4 Variables et principaux traits mesurés dans les compartiments aérien et souterrain au cours de	
l'expérimentation	5
Figure 3-1 Above-ground biomass, evapotranspiration (ET), community-weighted mean of N (N), leaf area	
(L.area), water-use efficiency (WUE) and ratio of Nyield to ET (Nyield/ET) measured in 2013 and 2014, for	
monocultures without (1-) or with Trifolium repens (1+), two-species mixtures without (2-) and with (2+)	
<i>T.repens</i> and five-species mixture with <i>T.repens</i> (5+)	51
Figure 3-2 Maximum root length growth rate measured at 80 cm depth in 2013 and 2014 and root mass	
measured at 20 cm in June 2014, for monocultures without (1-) and with (1+) T. repens, two-species mixtures	
without (2-) and with (2+) T. repens and five-species mixture with T. repens (5+)6	52
Figure 3-3 Temporal dynamics of soil relative extractable water (REW) for monocultures without (1-) and with	
(1+) T. repens, two-species mixtures without (2-) and with (2+) T. repens and five-species mixture with T. repens	
(5+)	52
Figure 3-4 Net diversity effect (A), complementarity effect (B) and proportional deviation of grass and T. repens	
species biomass from its expected value (C) in mixtures with two species: 2-, 2+, for different periods in 2013	
and 2014	6
Figure 3-5 Standardized principal component analysis (PCA) combining 10 traits for the five-species	
monocultures (left) and community-weighted means of trait values (CWM) on 10 functional traits for mixtures	
of two and five species-mixtures (right), averaged over the experimental period6	57
Figure 3-S1 Temporal dynamics of soil water content measured at 15, 30 and 50 cm, for monocultures without	
(1-) or with legume (1+), two-species mixtures without (2-) and with (2+) legume and five-species mixture with	
legume (5+)	30
Figure 3-S2 Standardized principal component analyses (PCAs) combining 6 functional traits for mixtures of	
two and five species: community-weighted means of trait values (CWM, left), functional trait diversity (FD,	
center) and both CWM and FD (right), averaged over the experiment period	36
Figure 4-1 Aboveground biomass in two-species mixtures without (a) or with (b) white clover)9
Figure 4-2 Net mixture effect (a), complementarity effect (b) and selection effect (c) in the control and	
droughted two-species mixtures with or without white clover. Deviation of net mixture effect (d),	
complementarity effect (e) and selection effect (f) in the droughted two-species mixtures from control two-	
species mixtures	.01
Figure 5-1 Species' aboveground biomass in monocultures and two-species mixtures harvested (a) 2 months	
after drought (short-term recovery), and (b) 10 months after drought (long-term recovery)1	.23
Figure 5-2 Species' biomass responses in the presence of neighbours recorded (a) 2 months after drought (short-	
term recovery), and (b) 10 months after drought (long-term recovery)1	.24

Figure 5-S1 Example of outputs for Dactylis species in a Dactylis-Trisetum two-species mixture. (a) Observed	
decrease of soil relative extractable water during the drought event ; (b) Modelled decrease of water balance during	
the drought event as function of soil relative extractable water ; (c) Best-fit model for the observed values of leaf	•
relative water content during the drought event	.144
Figure 6-1 Dynamic of heterospecific neighbour presence effect (mixture), drought treatment effect (drought)	
and their interaction on the growth rate of deep root length	.153
Figure 6-2 Dynamic of heterospecific neighbour presence effect on the growth rate of deep root length in control	
and droughted treatments	.154
Figure 6-3 Dynamic of the growth rate of deep root length	.155
Figure 6-4 Dynamic of species effects on the growth rate of deep root length in two-species mixtures for the	
control and the droughted treatments (top and bottom, respectively)	.156
Figure 6-S1 Dynamic of canopy senescence in the droughted monocultures and two-species mixtures	.168
Figure 7-1 Extreme drought and white clover presence effects on community biomass production: the central	
role of functional traits	.170
Figure 7-2 Dynamics of aboveground biomass production (a), deviation of droughted mixtures biomass from	
control (b) and complementarity effect (c) in the two-species mixtures with or without white clover in the case of	•
extreme drought	.173
Figure A2-1 Proportional deviation of Trifolium repens and grass species biomass from its expected value (D _i) in	
two-species mixtures with or without <i>T. repens</i> for different periods in 2013 and 2014	.223
Figure A2-2 Root mass to a depth of 20 cm during spring year 2, in monocultures and two-species mixtures with	
or without <i>T. repens</i> for the control and droughted treatments	.224
Figure A2-3 Whole experiment dynamic of soil relative extractable water (REW) for the droughted two-species	
mixtures with or without Trifolium repens	.225
v A	

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 Plan général de la thèse et questions associées aux différentes parties	39
Tableau 2-1 Liste des principaux traits et variables mesurés à l'échelle de l'espèce ou de la communauté au	
cours de l'expérimentation	46
Tableau 3-1 List of traits, their potential associated function, link with resource, period of measurement, unit and	
calculation of community-weighted mean (CWM) and functional diversity5	53
Tableau 3-2 Effects of species richness (S, Model 1), Trifolium repens presence in two-species mixtures (Leg,	
Model 2) on above-ground biomass, evapotranspiration (ET), leaf area (L.area), community-weighted mean of N	
(N), plant water-use efficiency (WUE), ratio of Nyield to ET (Nyield/ET), maximum root length growth rate	
measured at 80 cm depth (R.growth), and root mass measured at 20 cm (R.mass)	50
Tableau 3-3 Effects of species richness (S, Model 1) and <i>T.repens</i> presence in two-species mixtures (Leg, Model	
2) on soil relative extractable water (REW)	53
Tableau 3-4 Effects of species richness (S: 1, 2), T. repens presence presence in one and two-species mixtures	
(Leg) and their interaction on above-ground biomass, evapotranspiration (ET), leaf area (L.area), community-	
weighted mean of N (N), plant water-use efficiency (WUE), ratio of Nyield to ET (Nyield/ET), maximum root	
length growth rate measured at 80 cm depth (R.growth), and root mass measured at 20 cm (R.mass)6	53
Tableau 3-5 Above-ground biomass (g pot ⁻¹) and <i>T. repens</i> proportion in the biomass for each cut in 2013 and	
2014 and cumulated for the whole experiment	54
Tableau 3-6 Summary of best statistical models based on 10 community-weighted means of trait values (CWM)	
predictor variables for community biomass, net diversity effect, and complementarity effect	58
Tableau 3-S1 N content (%) measured in grass species present in the two and five-species mixtures either	
without (2-) or with (2+, 5+) the presence of <i>T. Repens</i>	19
Tableau 3-S2A Summary of best statistical models based on different groups of predictor variables (community-	
weighted means of trait values (CWM) and functional trait diversity (FD _Q)) for the whole experiment	
community biomass, net biodiversity effects and complementarity effects	34
Tableau 3-S2B Summary of best statistical models based on different groups of predictor variables (community-	
weighted means of trait values (CWM) and functional trait diversity (FD _Q)) for summer Year 2 community	
biomass, net biodiversity effects and complementarity effects	35
Tableau 4-1 Effects of drought treatment, white clover presence, period and their interaction on different	
variables measured in two-species mixtures: results of ANOVA on mixed effect models9) 8
Tableau 4-2 Summary of statistical linear models with ET, WUE, N _{yield} and NUE as predictor variables for	
complementarity effect in droughted or control two-species mixtures	103
Tableau 5-1 Traits recorded during the study. The period of measurement, associated functions and links with	
resource use are given	122

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abréviation	Signification	Unité
ANPP	Above-ground net primary production	g DM m ⁻²
Biom st1 / Biom _{top}	Above-ground biomass in the "light" layer	%
CE	Complementarity effect	g DM pot⁻¹
CH ₄	Methane	-
CMS merist	Cell membrane stability of leaf meristem	%
CO ₂	Carbon dioxyde	-
CWM	Community weighted mean	-
$\delta^{13}C$	Leaf carbon isotopic composition	‰
dg	Dactylis glomerata	-
Di	Proportional deviation of species i's biomass from its expected value	-
DOY	Day of year	-
ET	Evapotranspiration	kg H₂O pot ⁻¹
fa	Festuca arundinacea	-
FD	Functional diversity	-
FDq	Raò's quadratic entropy	-
GES	Gaz à effet de serre	-
H.growth	Maximum height growth	cm day⁻¹
L.area	Leaf area	m ² pot ⁻¹
LDMC	Leaf dry matter content	g FM g⁻¹ DM
LNC	Leaf nitrogen content per dry matter	g N g ⁻¹ DM
LRWC	Leaf relative water content	%
LRWC 50	Length of time required for leaf relative water content to reach 0.5	dav
N	Leaf nitrogen content	%
N ₂	Diazote	-
NE	Net diversity effect	g DM pot ⁻¹
NUE	Nitrogen use efficiency	g DM g-1 N
Nyield	Nitrogen content of harvested forage	g N pot ⁻¹
N _{vield} / ET	Ratio of nitrogen yield and evapotranspiration	g N kg H ₂ O ⁻¹ pot ⁻¹
PAR	Photosynthetically active radiation	W m ⁻²
рр	Poa pratensis	-
Ψ	Water potential	MPa
RDMC	Root dry matter content	g FM g⁻¹ DM
REW	Soil relative extractable water	-
REW _{wb 0.5}	REW value at half-maximum of foliar water balance	-
R.growth	Maximum growth rate of deep root length	mm cm ⁻² day ⁻¹
R.mass	Root mass	mg cm ⁻³
SLA	Specific leaf area	m² kg⁻¹ DM
SRI	Specific Root Length	m g ⁻¹ DM
SWC	Soil water content	$m^{3} m^{-3} \text{ or } \%$
tf	Trisetum flavescens	-
tr	Trifolium renens	-
	Vanor pressure deficit	Pa
WB	Foliar water halance	-
WC marist	Water content of loaf merictem	-
	Integrated water use officiency	- a DM //a ⁻¹ // O
WUE	integrated water use enciency	g DIVI Kg ⁻ H ₂ O

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les changements environnementaux d'origine anthropique affectent actuellement une proportion considérable des écosystèmes et altèrent rapidement leur capacité à fournir les nombreuses fonctions et services écosystémiques associés nécessaires aux sociétés humaines. Le changement climatique impacte ainsi significativement le fonctionnement des écosystèmes et la biodiversité, cette dernière jouant également un rôle essentiel dans la régulation du fonctionnement de ces écosystèmes (Hooper et al. 2005; Tilman, Isbell & Cowles 2014; Oliver et al. 2015). L'intensification des extrêmes climatiques et notamment des sécheresses extrêmes constitue un axe d'étude émergeant des effets du changement climatique sur le fonctionnement des écosystèmes terrestres (Smith 2011a). L'augmentation de la fréquence des extrêmes climatiques implique un besoin urgent d'améliorer notre compréhension des conséquences écologiques et agronomiques de ces événements à plus ou moins long terme. Concernant l'écosystème prairial, la sécheresse peut fortement limiter la croissance des plantes et ainsi affecter le service associé de production de fourrage (Silvertown et al. 1994). Au-delà de la tolérance et de la capacité d'adaptation des individus, la composition et la structure de la communauté végétale sont d'une importance particulière pour la résilience des fonctions de l'écosystème. Des sécheresses extrêmes plus fréquentes étant prévues en Europe centrale (Meehl & Tebaldi 2004), une meilleure compréhension de la réponse des communautés végétales à des événements de sécheresse sévère apparaît nécessaire. Si une relation positive entre biodiversité et production aérienne est généralement admise au niveau de l'écosystème prairial (Hector et al. 1999), l'effet de l'interaction entre biodiversité et disponibilité en eau sur la production reste à approfondir.

La composition et la structure des communautés végétales pourraient s'avérer cruciales pour la stabilité du fonctionnement de l'écosystème prairial et notamment pour la résilience à long terme des fonctions et des services qu'il supporte. Une problématique majeure associée au changement climatique concerne ainsi le maintien sous climat futur de la production de fourrage associée à l'écosystème prairial en milieu tempéré. L'évaluation du maintien de ce service essentiel passe par une meilleure compréhension des mécanismes de résistance et de résilience des communautés végétales prairiales face à l'occurrence de sécheresses extrêmes. Notre objectif général est ainsi d'évaluer l'effet d'un événement de sécheresse extrême sur la production des prairies permanentes de moyenne montagne. Le rôle de la composition et de la structure de ces communautés végétales prairiales face prairiales dans la

régulation de l'impact de sécheresses extrêmes sur la production de biomasse apparaît ainsi comme une question centrale. Ce travail a donc pour but principal d'étudier l'effet de la composition et de la structure des communautés végétales sur la production aérienne et d'identifier les mécanismes sous-jacents. Le cadre conceptuel de cette thèse repose sur une approche fonctionnelle faisant intervenir différentes échelles spatiales (de la plante à la communauté) et temporelles (de la phase de résistance à la perturbation à la récupération l'année suivante). La partie suivante présente les concepts et connaissances qui constituent la base de ce travail, nous amenant par la suite à développer nos objectifs et hypothèses.

1. Changement climatique et et événements extrêmes

Depuis le 18ème siècle, une augmentation accrue et sans précédent des concentrations atmosphériques de gaz à effet de serre (GES) a été mesurée. Ainsi, le dioxyde de carbone (CO₂) a atteint une concentration de 400 ppm au début du 21ème siècle alors que son niveau ne dépassait pas 280 ppm en période préindustrielle (IPCC, 2014 ; Figure 1-1). Par un phénomène d'effet de serre, ces concentrations atmosphériques élevées en CO₂ ont été identifiées comme responsables d'une modification profonde du climat notamment via une augmentation de 0.6° C (± 0.2° C) de la température moyenne de la surface terrestre depuis 1860. Ces modifications majeures des concentrations atmosphériques liées à la révolution industrielle. Différents scénarii basés sur des modèles climatiques prévoient qu'une limitation de la concentration de CO₂ à 450 ppm à l'horizon 2100 permettrait de maintenir le réchauffement moyen en deçà de 2°C (IPCC, 2014 ; Figure 1-1). Par ailleurs, d'autres scénarii moins optimistes prévoient que sans une limitation suffisante des émissions actuelles, des hausses bien plus importantes des concentrations atmosphériques de GES seraient observées, avec des conséquences extrêmement fortes sur le climat et les écosystèmes.



Figure 1-1 Evolution des concentrations atmosphériques en dioxyde de carbone et méthane (GES) et des températures de surface au cours du dernier millénaire. Les modèles climatiques prévoient pour le 21^{ème} siècle un accroissement de la température compris entre 1.4°C et 5.8°C (zone grise à droite) (Organe consultatif sur les changements climatiques (OcCC), 2003).

Le changement climatique en cours entraîne donc des modifications significatives des moyennes annuelles et saisonnières des facteurs climatiques comme la température et ce sur une période prolongée par rapport à une moyenne de référence d'au moins 30 ans. Ces modifications des niveaux moyens dus aux activités anthropiques, en se conjuguant à la variabilité climatique inhérente, doivent provoquer une augmentation de la variabilité climatique autour de la moyenne, impliquant un risque accru d'occurrence d'extrêmes climatiques (Figure 1-2). Les extrêmes climatiques sont définis de manière statistique comme des anomalies climatiques, c'est-à-dire des valeurs s'écartant des maxima ou minima observés

sur une période de référence d'au moins 30 ans (IPCC, 2014). De nombreux événements peuvent ainsi être qualifiés d'extrêmes climatiques : canicules, crues ou encore sécheresses.



Figure 1-2 Représentation conceptuelle des phénomènes climatiques extrêmes. Ils sont définis statistiquement comme ayant une probabilité d'occurrence $\leq 5\%$ (zones bleu foncé et jaune de la courbe du climat actuel, et zones bleu clair et rouge foncé de la courbe du climat futur). Les événements climatiques extrêmes devraient devenir plus fréquents et plus intenses avec des changements de moyenne et/ou des modifications de la distribution des variables climatiques (zone rouge) (Smith 2011a).

Avec le réchauffement climatique en cours, la fréquence et l'ampleur des phénomènes climatiques extrêmes devraient ainsi augmenter. Par ailleurs, le caractère extrême des réponses écologiques associées à ces phénomènes climatiques extrêmes doit être pris en compte afin de déterminer si un événement climatique extrême a eu lieu (Smith 2011b). Ainsi, des phénomènes climatiques extrêmes n'impliquent pas toujours des réponses écologiques extrêmes (Figure 1-3). La distinction entre phénomènes climatiques extrêmes et événements climatiques extrêmes apparaît essentielle dans la mesure où elle permettrait d'expliquer les différences de sensibilité des écosystèmes face aux phénomènes climatiques extrêmes et peuvent ainsi modifier l'intégrité de ces derniers lorsque le caractère « extrême » des facteurs climatiques dépasse certains seuils (points de basculement et changement de régime) (Scheffer *et al.* 2009; Leadley *et al.* 2010). L'absence de mise en évidence d'une réponse extrême des systèmes est une lacune importante dans de nombreuses études portant sur des événements climatiques extrêmes, le qualificatif « extrême » pouvant potentiellement n'être

attribué qu'au phénomène climatique et non à la réponse écologique associée. Par ailleurs, bien qu'il soit clair que des conditions climatiques statistiquement extrêmes n'impliquent pas toujours des réponses écologiques extrêmes, une lacune demeure dans notre compréhension des types de phénomènes climatiques extrêmes et des échelles de temps entrainant une réponse extrême.



Figure 1-3 Représentation conceptuelle d'un événement climatique extrême. La variabilité climatique peut provoquer une large gamme de réponses écologiques (faible à extrême : distribution de droite). Un changement de la moyenne ou de la variabilité climatique peut entraîner une réponse comprise dans la gamme de variabilité d'un système (flèche noire) ou une réponse extrême (flèche rouge discontinue). De même, les phénomènes climatiques extrêmes (représentés par les extrémités de la distribution de gauche) peuvent (flèche rouge) ou non (flèche noire discontinue) induire une réponse écologique en dehors de la gamme normale de variabilité d'un système. Ici, un «événement climatique extrême» est défini de manière synthétique comme impliquant un caractère extrême du climat et de la réponse écologique (Smith 2011b).

À titre d'exemple, des réductions drastiques des précipitations peuvent entraîner l'occurrence de sécheresses extrêmes. Ces événements constituent d'importantes perturbations pour de nombreux écosystèmes terrestres, notamment pour leurs communautés végétales dont le fonctionnement dépend fortement de la disponibilité en eau (Schulze *et al.* 1987). En Europe, une réduction de la pluviométrie de 10 à 30% en période estivale est ainsi prévue d'ici à 2100. Associées à cette réduction des précipitations estivales moyennes, les sécheresses estivales sévères actuellement observées tous les 100 ans dans le sud de l'Europe pourraient devenir plus intenses et également plus fréquentes, avec une périodicité de 10 à 50 ans d'ici à 2070 (Lehner *et al.* 2006). Les effets de phénomènes climatiques extrêmes tels que la sécheresse sur les fonctions écosystémiques et la biodiversité constituent l'un des aspects les plus importants de la recherche actuelle sur le changement climatique, notamment concernant les écosystèmes prairiaux (Jentsch *et al.* 2011). Les milieux dominés par une végétation herbacée présentant des temps de réponse aux changements environnementaux

relativement courts, ces écosystèmes prairiaux constituent des systèmes modèles pour l'évaluation des modifications structurelles et fonctionnelles induites par les phénomènes climatiques extrêmes.

2. Écosystème prairial

Les prairies constituent un écosystème majeur au regard de l'occupation des terres. En effet, avec environ 52 500 000 km², les écosystèmes prairiaux recouvrent 40.5% des terres émergées en incluant les savanes, les systèmes arbustifs, la toundra ainsi que les prairies non ligneuses (White, Murray & Rohweder 2000). Les prairies sont ainsi définies par le Pilot Assessment of Global Ecosystems comme des « écosystèmes terrestres dominés par une végétation herbacée et arbustive, maintenus par le feu, le pâturage, la sécheresse et/ou de basses températures ». Plus récemment, Barnes & Nelson (2003) définissent les prairies comme « toutes communautés végétales où les Poacées (graminées) et / ou les Fabacées (légumineuses) constituent la végétation dominante ». Généralement, l'ensemble des écosystèmes prairiaux sont dominés par les graminées, ces dernières représentant la cinquième famille la plus riche et la plus répandue à l'échelle du globe avec plus de 7500 espèces.

Néanmoins, les prairies en place ne constituent pas la végétation naturelle dans de nombreuses régions du monde. La majorité de ces prairies, qualifiées de semi-naturelles, se sont développées sur des marais drainés ou des terres déboisées. Soumises à une gestion plus ou moins intensive, les prairies semi-naturelles diffèrent des prairies naturelles qui elles ne subissent pas de modifications directes et délibérées (Gibson 2009). En Europe, les prairies semi-naturelles maintenues par différents modes de gestion recouvrent environ 700000 km² et constituent ainsi le type d'écosystème prairial dominant en région tempérée. Généralement, les pratiques agricoles de pâturage ou de fauche permettent de maintenir la végétation au stade herbacé (Huyghe 2009). Le terme de prairies permanentes est utilisé dans le cas de prairies semi-naturelles composées de plantes pérennes ou annuelles auto-ensemencées gérées par le pâturage ou la fauche chaque année pendant au minimum 10 ans (Barnes & Nelson 2003; Plantureux, Pottier & Carrère 2012). Ainsi les prairies permanentes, constituant des surfaces d'herbage semées depuis plus de 6 ans ou non renouvelées, ne sont pas ou très peu couvertes par des espèces ligneuses (moins de 5%) (AGRESTE 2010). En Europe, ces prairies permanentes occupent 22% du territoire (FAOSTAT data, http://faostat.fao.org). Elles représentent également 30% de la surface agricole utile en France, où elles sont principalement localisées dans les régions de moyenne montagne et de montagne (INA P-G 2003). Malgré la référence au terme générique de prairie, une distinction très ancienne est réalisée entre pré de fauche et pâture, reflétant leur utilisation et leur gestion respective par la fauche et le pâturage (Rackham 1986). Le Forage and Grazing Terminology Committee (1992) définit ainsi les pâtures comme une « unité de gestion consacrée à la production de fourrage principalement exploitée directement par les animaux (pâturage) ». Au-delà des différences terminologiques dues aux modes de gestion, le fourrage apparait comme l'élément essentiel et commun à l'ensemble des prairies permanentes, support des systèmes d'élevage. Le fourrage peut être défini comme « tout matériel végétal, à l'exclusion des concentrés, utilisé comme aliment pour les herbivores domestiques », qu'il soit prélevé par la fauche ou directement par le pâturage (Thomas 1980). En France, 70% des prairies permanentes ont ainsi pour vocation de produire des fourrages pour les herbivores d'exploitations agricoles (Amiaud & Plantureux 2011).

a. Communautés végétales des prairies permanentes

La composition floristique des communautés des prairies permanentes est généralement très riche mais varie en fonction de l'emplacement géographique, du type de sol, du climat et de la gestion. S'il existe une grande variété de plantes fourragères, dont la plupart sont des graminées pérennes et des légumineuses (Moore 2003; Pärtel, Bruun & Sammul 2005), seulement une vingtaine d'espèces de graminées compose principalement les prairies européennes. Ces graminées assurent par ailleurs, de par leur croissance rapide, l'essentiel de la production de biomasse. En Europe, tout comme en Australie ou en Nouvelle-Zélande, les plantes fourragères les plus répandues sont le Ray-grass anglais (Lolium perenne) et le Trèfle blanc (Trifolium repens). Comparées aux autres plantes fourragères, les légumineuses sont riches en protéines et nécessitent peu ou pas de fertilisation, leur association avec une bactérie de type Rhizobium leur permettant l'accès à une source quasi inépuisable d'azote via la fixation de l'azote atmosphérique (Spehn et al. 2002). Cette activité symbiotique explique leur intérêt agronomique et leur sélection. Les légumineuses participent ainsi à une augmentation de l'azote entrant dans le sol, disponible pour les autres espèces, mais contribuent également à accroitre la valeur nutritive des fourrages (taux de matière azoté) (Lüscher et al. 2014). De nombreuses légumineuses sont donc utilisées en association avec d'autres espèces comme alternative à la fertilisation azotée. Elles sont ainsi des composantes importantes des prairies semi-naturelles tempérées pouvant fixer jusqu'à 500 kg N ha⁻¹ an⁻¹ (Whitehead 2000). Hormis le Trèfle blanc, le Trèfle violet (Trifolium pretense), la Vesce commune (*Vicia sativa*) ou encore le Lotier corniculé (*Lotus corniculatus*) sont très répandus dans les zones tempérées (Rumbaugh 1990; Moore 2003). Si les associations entre graminées et légumineuses sont très étudiées pour leur intérêt en termes de production et de qualité du fourrage, d'autres espèces, bien que peu représentées dans les prairies européennes, peuvent également jouer un rôle important dans le fonctionnement de ces écosystèmes. Cela nous amène à nous interroger sur l'importance de la composition floristique des communautés dans le fonctionnement des écosystèmes et les services rendus par les espèces prairiales.

b. Fonctions et services des prairies

Les prairies fournissent de nombreux services à l'Homme, quantifiables dans une certaine mesure, qui constituent la résultante du fonctionnement de ces écosystèmes. De manière générale, les fonctions et les services écosystémiques associés peuvent être classés en quatre groupes: 1) les services de soutien (cycles biogéochimiques, production primaire); 2) les services de régulation (séquestration du CO₂, prévention du lessivage et maintien de la fertilité des sols); 3) les services d'approvisionnement (matières végétales, ou animale dans le cas des systèmes d'élevage); 4) les services culturels (écotourisme, paysage, connaissance et savoir-faire) (Farber et al. 2006). Williams & Diebel (1996) ont également examiné la valeur économique des prairies en différenciant des valeurs d'usage et de non-usage. La valeur d'usage comprend les services obtenus par une interaction directe avec la ressource prairiale, comme le pâturage par le bétail, la récolte du fourrage, la lutte contre l'érosion ou encore l'amélioration de la qualité de l'eau. Par opposition, les valeurs de non-usage sont celles associées à des utilisations non tangibles, comme la signification culturelle et historique, les mécanismes écologiques ou encore la biodiversité. Les biens et services essentiels fournis par les prairies ont été également classés de manière plus restrictive par White, Murray & Rohweder (2000) en quatre grandes catégories: la nourriture et l'élevage, la biodiversité, le stockage du carbone, le tourisme et les loisirs. Si d'autres fonctions importantes des prairies incluent les ressources génétiques, l'habitat pour la faune, ou encore l'élimination des polluants atmosphériques (Sala & Paruelo 1997), la fonction la plus répandue des prairies demeure cependant la production de fourrage pour le bétail. Les prairies constituent par ailleurs un élément majeur de nombreux paysages et contribuent aux identités territoriale et régionale. Habitats diversifiés, elles accueillent une importante diversité d'espèces végétales, animales et de microorganismes, qui présentent un intérêt fonctionnel ou patrimonial. Au-delà de leur fonction de production fourragère, les prairies sont au cœur des débats sur la multifonctionnalité et les usages partagés des territoires. Le regain d'intérêt qu'ont connu les prairies permanentes depuis une dizaine d'années a permis de mettre en avant leur multifonctionnalité et les nombreux autres services qu'elles fournissent (Hopkins & Holz 2005; Amiaud & Carrère 2012). Les prairies permanentes constituent ainsi un agroécosystème associé à des services agricoles (rendement, qualité nutritive) aussi bien qu'à des services écologiques et environnementaux (Bryant & Snow 2008; Carrère *et al.* 2012). Cependant, une modification du fonctionnement de l'écosystème prairial, résultant par exemple d'un changement des conditions climatiques, pourrait affecter la délivrance des services fournis par les prairies et notamment leur capacité de production de fourrage.

3. Épisode de sécheresse et réponse de l'écosystème prairial

a. Sécheresse en milieu prairial

Le déficit en eau est un important facteur limitant les processus et les fonctions portés par les communautés végétales (Schulze et al. 1987). Un stress hydrique subit au niveau individuel par les plantes peut en effet affecter tous les compartiments de l'écosystème et en altérer le fonctionnement. Ce stress peut survenir suite à de faibles précipitations, des pertes en eau élevées dues à un fort déficit de pression de vapeur atmosphérique (VPD) ou un déficit en eau du sol (Gilgen & Buchmann 2009). Une sécheresse résultant d'un manque d'eau disponible pour les plantes peut ainsi fortement limiter la croissance aérienne de ces dernières, avec pour effets directs au niveau des communautés végétales une baisse de la productivité, l'accumulation de litière et l'augmentation du taux de mortalité (Tilman & Haddi 1992; Yurkonis & Meiners 2006). L'occurrence de sécheresse peut donc impacter négativement les niveaux de production de fourrage des prairies (Silvertown et al. 1994; Lambers, Chapin III & Pons 1998; Lane, Coffin & Lauenroth 2000), la quantité et la variabilité des précipitations annuelles étant fortement liées à la productivité des écosystèmes prairiaux (Paruelo et al. 1999; Knapp & Smith 2001). Dans les différents scénarii de changements climatiques, des modifications de la variabilité temporelle des précipitations auraient un effet aussi important que celles des moyennes annuelles dans la détermination de la structure et des fonctions des communautés végétales, bien que ces effets soient encore peu étudiés (Collins et al. 1998). Des recherches actuelles sur les effets des changements climatiques s'intéressent ainsi aux changements concernant la variabilité interannuelle des précipitations au niveau des prairies (Fay et al. 2000, 2003).

Les événements de sécheresse constituent des stress ou des perturbations pour la végétation selon leur intensité et leur fréquence. Les perturbations sont définies comme des

événements ponctuels et de relativement forte intensité limitant la biomasse des plantes en causant sa destruction partielle ou totale (par exemple l'herbivorie). Les stress sont définis comme des contraintes externes qui limitent la production de matière sèche de toute ou partie de la végétation (par exemple un manque d'eau ou d'azote) (Grime 1979). La limite entre ces deux catégories est cependant difficile à définir, notamment pour les épisodes de sécheresse qui, selon leur intensité et leur fréquence, peuvent limiter la croissance (effet stress) ou être la cause d'une forte mortalité (effet perturbation). Bien que la sécheresse puisse être considérée comme un stress courant pour l'écosystème prairial (Illius & O'Connor 1999), des sécheresses sévères ou constituant des phénomènes climatiques extrêmes peuvent avoir des effets dramatiques et de grande envergure sur ces écosystèmes et ainsi entrainer des modifications majeures. Les événements de sécheresse extrême en milieu tempéré peuvent ainsi être considérés comme des perturbations, de par leur intensité et la réponse écologique extrême qu'ils entrainent au niveau de la végétation (Smith 2011a). Au-delà d'un certain seuil, ces phénomènes extrêmes peuvent ainsi affecter les prairies au niveau de leur composition, de leur structure et notamment de leur fonction en altérant la productivité, la qualité fourragère ou encore la capacité de stockage du carbone et ce de manière plus ou moins durable. L'identification de ce seuil demeure une problématique majeure, dont la principale difficulté réside dans la dépendance entre le niveau de réponse et le type de système (son mode de gestion, son histoire).

b. Sécheresse extrême et stabilité de l'écosystème prairial

L'accélération des changements environnementaux, de par l'augmentation de la fréquence des sécheresses extrêmes en Europe centrale, menacent particulièrement les fonctions et les services fournis par les prairies (Meehl & Tebaldi 2004; Christensen *et al* 2007; Seneviratne *et al.* 2012). Les modifications fonctionnelles que peuvent induire ces perturbations au niveau des prairies introduisent les notions de stabilité, de résistance et de résilience (Holling 1973). Ainsi, la stabilité peut être considérée en termes de variabilité temporelle à long terme, mais aussi en termes de résistance à court terme et de résilience aux perturbations environnementales (Pfisterer & Schmid 2002). Dans le cas d'une perturbation, la stabilité d'un système est ainsi définie par l'ampleur/intensité de l'altération qu'il subit (résistance) et le temps nécessaire après perturbation pour un retour à l'état initial (résilience), ce concept pouvant être appliqué à une fonction particulière du système comme la production de biomasse. Lorsqu'un certain seuil d'intensité de perturbation est dépassé, le système peut par ailleurs se réorganiser d'un point de vue structurel et fonctionnel pour atteindre un nouvel état

d'équilibre, divergent de son état initial (Walker & Meyers 2004; Briske, Fuhlendorf & Smeins 2006) (Figure 1-4). Cette capacité de réorganisation du système est appelée résilience écologique (Holling 1996). Le maintien des fonctions et services fournis par les prairies sous climat futur passe par une étude approfondie des capacités de résilience des communautés végétales et des espèces qui les composent, notamment concernant le maintien d'un certain niveau de production de fourrage.



Figure 1-4 Cadre théorique permettant d'évaluer les réponses aux phénomènes climatiques extrêmes. Un extrême climatique qui affecte principalement les réponses au niveau des individus (physiologie, croissance, fitness) aura un effet moins prononcé (positif ou négatif) sur les processus écosystémiques (à savoir la productivité, les cycles biogéochimiques) que celui qui induit d'importants changements dans l'abondance des espèces, des extinctions locales ou des invasions d'espèces. Un «événement climatique extrême» est un épisode pour lequel un phénomène climatique extrême d'un point de vue statistique modifie la structure et / ou la fonction des écosystèmes en dehors des limites considérées comme étant la variabilité normale, en raison du franchissement d'un seuil de réponse extrême (pointillés rouges), pour lequel les effets au niveau individuel induisent à des niveaux hiérarchiques supérieurs des changements importants dans la structure des communautés et donc d'importantes altérations de l'écosystème. Ces modifications peuvent être caractérisées par une période de récupération prolongée, ou peuvent même conduire à des changements d'état persistants (Smith 2011b).

4. Effet du changement climatique : approche fonctionnelle

a. Approche fonctionnelle des communautés végétales

Une approche des communautés végétales basée sur les traits fonctionnels a permis une compréhension mécaniste des liens entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes (Díaz et al. 2004). Le fonctionnement des écosystèmes et des communautés végétales qui les composent peut en effet être appréhendé par des valeurs de traits, ces derniers étant des caractères utilisés pour décrire les fonctions portées par les individus et les espèces. Ces traits ou caractères qualifiés de traits fonctionnels sont des caractéristiques notamment morphologiques et physiologiques mesurables à l'échelle des individus, qui peuvent être reliés aux stratégies des espèces particulièrement concernant l'acquisition et l'utilisation des ressources (Gitay & Noble 1997; Vile 2005). Les propriétés fonctionnelles d'une communauté peuvent ainsi être reliées aux traits des espèces qui la composent. Les traits fonctionnels peuvent être considérés comme des proxi (1) de la réponse des espèces aux variations des conditions environnementales (traits de réponse) et (2) de leurs effets sur le fonctionnement de l'écosystème (traits d'effet) (Díaz & Cabido 1997; Lavorel & Garnier 2002) (Figure 1-5). Pour appréhender le fonctionnement d'une communauté il a été proposé dans un premier temps de se concentrer sur les traits des espèces dominantes concernant la biomasse. Selon cette approche, l'abondance relative des espèces détermine leurs niveaux d'effets respectifs à l'échelle de la communauté. Un indice permet ainsi de déterminer la valeur moyenne d'un trait donné à l'échelle de la communauté, la « Community Weighted Mean » (CWM) (Garnier et al. 2004). La CWM des valeurs de traits est étroitement liée à l'hypothèse de mass-ratio (Grime 1998), qui suppose que les traits fonctionnels des espèces dominantes (identité fonctionnelle) sont les principaux déterminants des processus écosystémiques. D'autre part, une autre approche fonctionnelle peut être menée à travers la diversité des valeurs de traits, définissant le niveau de diversité fonctionnelle de l'ensemble de la communauté (Lavorel et al. 1997). Abordées par ce biais, les fonctions du système sont supposées dépendantes du niveau de divergence de traits à l'échelle d'une communauté. Cette approche se base sur la théorie de compétition pour les ressources (Tilman, Lehman & Thomson 1997), divers mécanismes de différenciation de niches entre espèces pouvant mener à de la complémentarité pour l'acquisition et l'utilisation des ressources. Ainsi, la diversité des valeurs de trait liée à l'hypothèse de différenciation de niches suppose que les divergences de traits fonctionnels entre espèces (diversité fonctionnelle) soient les principaux déterminants des processus écosystémiques. La prise en compte de notions comme les traits dominants et la diversité des traits fonctionnels permet de modéliser la complexité des communautés végétales et de faciliter le lien entre modèles théoriques et données expérimentales (Suding *et al.* 2008; Gross *et al.* 2009). L'utilisation des traits fonctionnels comme traits d'effet apparait ainsi pertinente dans l'étude du fonctionnement des écosystèmes de par leurs liens avec l'acquisition et l'utilisation des ressources à l'échelle des espèces et de la communauté. Cette approche apparaît également adaptée à l'étude des réponses des espèces et de la communauté aux variations de ces ressources (traits de réponse), notamment dans le contexte de changement climatique, pouvant à terme modifier considérablement les fonctions portées par le système.



Figure 1-5 Cadre conceptuel présentant le rôle médian des traits fonctionnels entre les changements environnementaux, leurs effets sur la composition et la structure des communautés végétales et leurs effets sur le fonctionnement de l'écosystème (Lavorel & Garnier 2002).

Bien que les approches basées sur les traits fonctionnels aient amélioré notre compréhension des mécanismes écologiques, le rôle des variations intraspécifiques de traits (variations entre individus au sein d'une espèce) reste à approfondir. Si la variation intraspécifique des traits fonctionnels peut en effet être importante et réguler le fonctionnement des écosystèmes, sa contribution a souvent été ignorée ou sous-estimée (Albert *et al.* 2010a; b). Les changements de valeurs intraspécifiques de traits chez les plantes ont été observés en réponse à un large éventail de conditions environnementales. Cependant,

peu d'études ont examiné l'importance du compartiment biotique dans la modulation des valeurs intraspécifiques de traits. Ainsi, les traits fonctionnels des plantes peuvent présenter une forte plasticité en réponse aux interactions biotiques, cette variabilité induite pouvant dépendre de l'identité de l'espèce voisine (Callaway, Pennings & Richards 2003; Le Bagousse-Pinguet *et al.* 2015). Comme suggéré par de récents travaux, la variabilité intraspécifique de traits peut être un déterminant majeur de la performance des espèces sous sécheresse (Jung *et al.* 2014; Liancourt *et al.* 2015). L'étude du rôle des interactions entre espèces dans la variabilité d'expression des valeurs intraspécifiques de traits et la performance des espèces qui en découle pourrait ainsi permettre de mieux appréhender l'impact d'un changement environnemental comme l'occurrence d'une sécheresse sur la production des communautés végétales.

b. Stratégies fonctionnelles des plantes : acquisition des ressources et résistance à la sécheresse

Mesurés à l'échelle des espèces, les traits fonctionnels permettent de déterminer les stratégies fonctionnelles de ces dernières, reflétant leurs capacités d'adaptation aux facteurs de l'environnement (Reich et al. 2003) ainsi que leurs compromis physiologiques (i.e., allocation des ressources) liés aux contraintes du milieu telles qu'un déficit en eau du sol (Westoby et al. 2002; Maire 2009). Au niveau des prairies permanentes, les principales ressources limitant la croissance des plantes sont l'eau, la lumière et les nutriments du sol (Grime 2001). L'acquisition et l'utilisation de ces ressources par les plantes permettent ainsi de définir différentes stratégies (Westoby et al. 2002; Wright et al. 2006). Certaines espèces possèdent une stratégie caractérisée par une forte capacité à acquérir les ressources et une croissance rapide, avec un renouvellement des tissus importants. Ces espèces qualifiées d'exploitatrices présentent notamment des valeurs élevées de surface spécifique foliaire (SLA), de longueur spécifique des racines (SRL), de teneur en azote foliaire (LNC), de vitesse de croissance, et des tissus foliaires et racinaires peu denses (LDMC, RDMC) (Grime et al. 1997; Wright et al. 2004; Tjoelker et al. 2005; Roumet, Urcelay & Díaz 2006). Les espèces présentant une forte capacité à conserver les ressources (recyclage interne) sont quant à elles qualifiées de conservatrices et présentent des valeurs de traits opposées à celles données précédemment. Les espèces exploitatrices sont généralement dominantes dans les milieux à forte disponibilité en nutriments, alors que les conservatives sont plus abondantes dans les milieux oligotrophes (Grime 2001).

Concernant la ressource en eau, une sécheresse se traduit pour la plante par une dégradation du bilan entre la perte d'eau par transpiration et l'absorption d'eau du sol par les racines (Durand 2007) (Figure 1-6). Les plantes pérennes présentent par ailleurs de nombreux traits morphologiques, anatomiques et physiologiques de réponse à la sécheresse. Dans le cas des prairies, différentes stratégies d'évitement et de tolérance à la déshydratation permettent aux plantes d'atténuer les effets négatifs du déficit hydrique et de mieux résister à des périodes de sécheresse (Levitt 1980). D'un point de vue agronomique, la résistance à la sécheresse des prairies tempérées, et donc des espèces qui les composent, peut être définie comme la capacité à maintenir un certain niveau de croissance et de production aérienne (Jones, Turner & Osmond 1981). Malgré ces stratégies d'évitement ou de tolérance, des sécheresses trop intenses voire extrêmes peuvent fortement impacter la croissance et la survie des plantes. Des études suggèrent que les effets des épisodes de sécheresse varient en fonction de leur intensité et modulent les mécanismes de réponse associés aux stratégies de résistance à la sécheresse présentées par les plantes (Pinheiro & Chaves 2011; Lei et al. 2015) (Figure 1-7). Dans le cas de sécheresses extrêmes, les capacités des plantes à maintenir leurs tissus vivants et leurs capacités de régénération, voire de recolonisation, seraient ainsi les principaux facteurs expliquant la dynamique de végétation après perturbation (Stampfli & Zeiter 2004).



Figure 1-6 Schéma du flux d'eau dans la plante.
Plante entière



Figure 1-7 Description schématique des stratégies de réponses des graminées pérennes à la sécheresse (Volaire, Barkaoui & Norton 2014).

En situation de déficit hydrique, l'évitement permet dans un premier temps aux plantes de maintenir l'hydratation des tissus en limitant la perte en eau et/ou en maintenant l'absorption de l'eau (Carrow 1996a). La partie aérienne déterminant l'absorption de l'eau, des mécanismes de régulation stomatique au niveau foliaire peuvent limiter les pertes. Par la suite, la sénescence foliaire précoce permet le maintien de la turgescence des tissus méristématiques en réduisant les pertes en eau, ce qui constitue une stratégie d'évitement efficiente si elle est associée à une meilleure survie des méristèmes et à une récupération rapide (Chaves et al. 2002; Volaire, Norton & Lelièvre 2009). D'autre part, si la partie aérienne porte l'essentiel des mécanismes de régulation des pertes en eau, le système racinaire est essentiel pour l'accès à la ressource hydrique (Sperry, Stiller & Hacke 2002; Comas et al. 2013) (Figure 1-6). Plus de 60% de la biomasse des prairies se trouve ainsi dans le sol. Au niveau des prairies tempérées la plupart des racines se trouvent dans les couches supérieures du sol (80 à 90% de la biomasse dans les 30 premiers centimètres d'après Schenk & Jackson 2002). La proportion de biomasse allouée au compartiment souterrain et la distribution verticale des racines varie cependant selon les espèces et les conditions environnementales. Concernant la croissance des racines, les 10 premiers centimètres du sol sont les plus dynamiques et sensibles aux conditions environnementales, notamment en réponse à la ressource hydrique (Rice et al. 1998). En général, le turnover racinaire des prairies est plus élevé en condition de sécheresse (Gill & Jackson 2000) et la proportion de la biomasse racinaire augmente avec la diminution de l'humidité du sol (Marshall 1977). Une densité élevée de racines et un enracinement profond ont été proposés comme des traits majeurs d'évitement de la sécheresse, caractérisant l'efficience du système racinaire pour le prélèvement de l'eau (Carrow 1996b; Kulkarni, Borse & Chaphalkar 2008; Su et al. 2008; White & Snow 2012). Les espèces possédant un enracinement dense et profond auraient ainsi un plus grand volume d'eau du sol à exploiter. En effet, la majorité des expérimentations mettent en évidence dans les prairies tempérées une résistance à la sécheresse plus élevée pour les espèces à enracinement profond comme le Trèfle violet ou la Fétuque élevée (Kahmen, Perner & Buchmann 2005; Mikkelsen et al. 2008; Hoekstra et al. 2014). Le maintien de la croissance racinaire pendant le stress a aussi été mis en évidence comme un mécanisme important d'évitement de la sécheresse (Chaves & Pereira 1992; Comas & Eissenstat 2004; Verslues et al. 2006; Lelièvre et al. 2011; Pérez-Ramos et al. 2013).

Lorsque la sévérité du stress augmente, ces mécanismes d'évitement sont rarement suffisants pour protéger les tissus de la déshydratation. Dans un second temps, l'ajustement osmotique est un mécanisme important d'évitement de la déshydratation permettant de prévenir les dommages tissulaires. Des constituants solubles tels que des acides aminés et des sucres sont mobilisés vers la vacuole des cellules, créant ainsi un gradient osmotique qui maintient la turgescence (Zhang, Nguyen & Blum 1999; Verslues *et al.* 2006). Lors d'un stress prolongé, des mécanismes de tolérance à la déshydratation deviennent nécessaires à la survie et visent essentiellement à préserver l'intégrité cellulaire. La stratégie de tolérance se définit donc comme la capacité d'une plante à supporter le déficit hydrique au niveau de ses tissus pour minimiser les lésions tissulaires (Beard 1989). Sous sécheresse sévère, une fois la sénescence foliaire complète atteinte, les réponses liées à la survie ont été principalement mises en évidence au niveau des tissus méristématiques et associées à l'évitement et à la tolérance à la déshydratation de ces derniers. La stabilité de la membrane des méristèmes a ainsi été identifiée comme étant un trait essentiel de la survie de la plante et de la récupération sous stress sévère (Volaire *et al.* 1998a; Volaire, Thomas & Lelièvre 1998b; Verslues *et al.* 2006). La capacité de reprise rapide de la croissance racinaire suivant la ré-humidification du sol (i.e. levée du stress hydrique) pourrait aussi améliorer la récupération et la productivité des plantes en cas de sécheresse épisodique (Comas *et al.* 2013).

Alors que le maintien de la croissance et de l'activité physiologique peuvent être des traits avantageux pour les espèces prairiales lors d'un stress modéré, des traits reliés à une meilleure survie et récupération peuvent promouvoir leur persistance et leur productivité à long terme en cas de sécheresses sévères (Lelièvre *et al.* 2011; Volaire, Barkaoui & Norton 2014). Les mécanismes conférant une résistance aux sécheresses modérées peuvent différer de ceux qui déterminent la persistance sous sécheresse sévère (Milbau *et al.* 2005). L'efficience d'une stratégie de maintien de la croissance et de l'activité physiologique est ainsi fonction de la durée et de l'intensité de la sécheresse (Figure 1-7). L'étude de la résistance à la sécheresse et de la résilience des communautés végétales doit donc être abordée comme fonction de l'ampleur du déficit hydrique (Volaire, Barkaoui & Norton 2014). Face à un événement de sécheresse, la variabilité de réponse des espèces ainsi que l'importance des interactions interspécifiques doivent également être prises en compte pour évaluer la réponse fonctionnelle à l'échelle des communautés végétales.

c. Structuration des communautés

L'écologie des communautés s'intéresse dans une aire donnée à l'évaluation de l'ensemble des espèces et de leurs interactions. La composition, la structure et le fonctionnement des communautés végétales sont étroitement liés et sont en permanence sous l'influence de filtres environnementaux et d'interactions biotiques (Lortie *et al.* 2004) (Figure 1-8). Dans le contexte des changements climatiques, comprendre comment ces filtres environnementaux, notamment des sécheresses extrêmes, peuvent interagir avec les interactions biotiques et impacter la stabilité des communautés végétales apparait indispensable dans l'optique

d'assurer la pérennité des écosystèmes, de leurs fonctions et des services associés (Hector *et al.* 2001; Gunderson *et al.* 2002; Folke *et al.* 2002).



Figure 1-8 Cadre théorique présentant les processus et filtres principaux structurant une communauté végétale. Le concept de communauté intégrée suppose que les processus, ou filtres, sont importants dans la détermination de la communauté végétale d'un site donné, mais que l'importance relative de chaque processus varie dans l'espace et le temps. Chaque processus / filtre est représenté par deux lignes horizontales, la description correspondante étant associée en italique. Les flèches pleines représentent le mouvement des espèces à travers les filtres, et les flèches discontinues illustrent l'influence potentielle de chaque processus/filtre sur la communauté végétale (Lortie *et al.* 2004).

Pour comprendre l'écologie des communautés prairiales, il est nécessaire d'examiner les patrons de réponse temporels et spatiaux présentés par les espèces ainsi que les processus impliqués dans les interactions interspécifiques et les interactions plantes-environnement. Au sein des communautés prairiales, la composition floristique peut être liée à un ou plusieurs facteurs, dont le climat local, la topographie, la structure du sol, l'état nutritionnel et l'humidité du sol, les perturbations, ou encore la gestion. La structure de la communauté peut également être affectée par les interactions biotiques, ces mécanismes permettant d'un point de vue théorique de considérer la communauté comme possédant des propriétés émergentes, supérieures à la somme des plantes prises individuellement (van Andel 2013). Pour bien comprendre la nature de ces interactions entre plantes, il est important de reconnaître le mécanisme sous-jacent. Les différents types d'interactions entre plantes présentes dans une même communauté dépendent de l'effet de l'interaction, qui peut être positif, négatif, ou neutre pour l'une ou plusieurs des espèces présentes. Des travaux sur les prairies permettent de mieux comprendre les relations entre végétation et environnement par l'utilisation de modèles structuraux à l'échelle de la communauté, tels que les modèles de Grime (1974) et de Tilman (1982), ainsi que par une étude fine des mécanismes tels que la compétition et la facilitation.

Une grande partie de la théorie écologique développée pour comprendre la structure des communautés a été axée sur les interactions de type « compétition ». En effet, depuis les travaux de Clements, Hanson & Weaver (1929), le mécanisme de compétition a été fortement étudié pour son effet structurant sur les communautés prairiales, essentiellement concernant la compétition pour l'eau du sol. La compétition est une interaction entre individus provoquée par un besoin partagé pour une ressource et conduisant à une réduction de la croissance, de la reproduction et / ou de la survie d'au moins une partie des individus concernés (Begon, Townsend & Harper 2005). Ce type d'interaction peut impliquer des individus de la même espèce (compétition intra-spécifique) ou de différentes espèces (compétition inter-spécifique), et suppose l'identification de la cause (ressources limitantes) et de l'effet net (réduction de fitness ou de rendement). De manière mécaniste, la mise en place de la compétition exige donc un intermédiaire, une ressource (lumineuse, nutritive ou encore hydrique) partagée par les individus concernés qui répondront aux changements d'abondance de cette ressource. Il est important d'identifier et de mesurer l'effet négatif qu'un individu a sur un autre (effet compétitif net) et la réponse d'un individu à la compétition (réponse compétitive nette) (Goldberg 1990). La compétition peut être symétrique, auquel cas les effets sont proportionnels à la taille des individus concernés, comme généralement dans le cas de la compétition pour les ressources du sol. La compétition peut aussi être asymétrique, auquel cas l'effet net de l'interaction est indépendant de la taille, comme dans le cas de la compétition pour la lumière où une plante domine ses voisins, qui subissent tous la même intensité d'ombrage. La compétition dans les prairies implique donc des facteurs abiotiques comprenant la lumière (Dyer & Rice 1997), les nutriments et l'humidité du sol (Sharifi 1983), ou une interaction entre les facteurs dans le cas des mélanges multi-spécifiques (Schippers & Kropff 2001). La position des espèces dans la canopée est importante dans la détermination des facteurs impliqués dans la compétition. Les espèces dominant les couches supérieures de la canopée seraient principalement en compétition pour la lumière, alors que la compétition entre les autres espèces concernerait principalement l'eau du sol. Les effets de compétition entre graminées ont été résumés dans les travaux de Lauenroth & Aguilera (1998) comme incluant (i) une modification de la quantité et de la qualité de lumière sous la canopée, avec une intensité photosynthétique diminuant avec l'augmentation de la surface foliaire (Skeel & Gibson 1998), et (ii) la capacité à épuiser les nutriments et l'eau du sol environnant la rhizosphère (Gibson 1988; Eissenstat & Caldwell 1988; Tilman & Wedin 1991). Les réponses compétitives des graminées incluraient (i) une augmentation du tallage, (ii) la prolifération différentielle des systèmes racinaires et l'augmentation de la capacité d'absorption en réponse à l'hétérogénéité spatiale dans la distribution des nutriments (différenciation spatiale de niches écologiques), et (iii) la réduction de la capacité de réponse à l'augmentation de la disponibilité en eau après sécheresse. L'équilibre compétitif entre espèces dans les prairies peut également être modifié par le pâturage (Briske & Anderson 1992; Kuijper, Dubbeld & Bakker 2004) ou par d'autres formes de perturbation, le climat (température, précipitations, ensoleillement) et donc par le changement climatique en cours (Polley 1997).

La prise en compte de la facilitation comme processus important de la structuration des communautés est nettement plus récente (Bruno, Stachowicz & Bertness 2003; Lortie et al. 2004; Cheng et al. 2006). La facilitation se définit comme la modification de l'environnement abiotique par une plante, de sorte que ce dernier devienne plus adapté pour la mise en place, la croissance et/ou la survie d'autres plantes physiologiquement indépendantes dans l'espace ou dans le temps (Brooker et al. 2008; van Andel 2013). Ainsi, l'exemple le plus répandu est celui des plantes nurses qui améliorent les conditions de lumière, d'humidité, ou de température de l'air, ou encore les conditions nutritives et d'humidité du sol pour d'autres plantes (Withgott 2000; Flores & Jurado 2003). La facilitation via l'amélioration des conditions de sol a été essentiellement illustrée par l'augmentation de la disponibilité en azote dans le sol due à la présence de légumineuses, une entrée d'azote s'effectuant par le biais d'un mécanisme de fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. La relation de mutualisme entre bactéries de type *Rhizobium* et légumineuses a ainsi été mise en évidence comme mécanisme sous-jacent des relations facilitantes entre légumineuses et graminées (Rumbaugh, Johnson & Van Epps 1982; Spehn et al. 2002; Lee, Reich & Tjoelker 2003). Cette fixation de l'azote atmosphérique a pour conséquence la stimulation de la production des espèces pérennes associées. L'effet de facilitation par les légumineuses contribuerait fortement à la relation positive entre diversité et productivité dans les prairies (Lambers *et al.* 2004). L'azote supplémentaire disponible pour les légumineuses via la fixation symbiotique modifie l'équilibre compétitif entre graminées et légumineuses dans les prairies (Davies 2001) en fournissant un avantage compétitif à la légumineuse quand l'azote est limitant, en particulier dans des conditions de défoliation fréquentes (Davidson & Robson 1986). Comparativement, les relations de type facilitation entre graminées sont très peu étudiées, bien qu'un mécanisme de facilitation mutuelle via un effet positif combiné sur le microclimat ait été proposé (Kikvidze 1996).

5. Diversité végétale et production de biomasse

De nombreuses études expérimentales établissent que la productivité des écosystèmes augmente avec la diversité (van Ruijven & Berendse 2005; Hooper et al. 2005) et que par conséquent une réduction de la diversité en espèces peut affecter les services écosystémiques tels que la production de biomasse (Loreau & Hector 2001). L'approche visant à étudier les mécanismes reliant diversité et fonctionnement des écosystèmes (i.e. les prairies) met généralement en comparaison les performances des espèces en monoculture et en mélanges plurispécifiques (Tilman 2001). Il a ainsi été montré expérimentalement que les plantes produisent plus de biomasse aérienne en mélanges que ce qui est attendu en se basant sur les monocultures (overyielding) (Pontes et al. 2011). Les études portant sur la production des écosystèmes prairiaux se sont ainsi principalement intéressées aux effets de la diversité taxonomique et de la diversité en groupes fonctionnels (Hector et al. 1999), entrainant un vif débat au cours des deux dernières décennies (Hooper et al. 2005; Balvanera et al. 2006; Cardinale et al. 2007). Un consensus s'est progressivement dégagé selon lequel le fonctionnement des écosystèmes tels que les prairies dépendrait plus des caractéristiques fonctionnelles des espèces que de leur nombre (Chapin et al. 2000; Díaz & Cabido 2001; Lavorel & Garnier 2002; Díaz et al. 2007).

Ces effets positifs de la diversité végétale sur la production de biomasse seraient dus à l'existence de deux mécanismes : les effets de sélection et de complémentarité. L'effet de sélection implique que les communautés de plantes diverses ont une plus grande probabilité de contenir des espèces très productives qui vont dominer la communauté (Aarssen 1997; van Ruijven & Berendse 2005). Cet effet de sélection au sens large combine donc l'effet de l'échantillonnage aléatoire et l'effet de dominance à l'échelle locale d'espèces productives. L'effet de complémentarité au sens large concerne quant à lui des processus déterministes à

l'échelle locale qui induisent l'augmentation de l'utilisation des ressources via des interactions de type facilitation ou via la différentiation de niches (partitionnement des ressources). Les mécanismes de facilitation et de différenciation de niches se réfèrent au terme de complémentarité de par la difficulté à distinguer leurs effets en pratique. De manière générale, la dominance provoquée par une « sélection » d'espèces possédant des traits particuliers et la complémentarité entre espèces possédant des traits divergents sont deux mécanismes par lesquels la diversité phénotypique affecte les processus écosystémiques (Loreau 2000). Ces deux mécanismes peuvent être considérés comme deux pôles d'un continuum allant de la dominance à la complémentarité pure, des scénarii intermédiaires impliquant la complémentarité entre des ensembles d'espèces ou des groupes fonctionnels particuliers ou encore la dominance de sous-ensembles particuliers d'espèces complémentaires (Figure 1-9).

Loreau & Hector (2001) ont ainsi formulé une équation permettant de quantifier les effets additifs des deux principaux mécanismes (sélection et complémentarité) impliqués dans la relation entre diversité et productivité de la communauté. L'étude des données de l'expérience BIODEPTH révèle que l'observation d'un effet de sélection dépend des localités à l'échelle européenne. En revanche, l'effet de la complémentarité est globalement positif (Loreau & Hector 2001). Si sélection et complémentarité co-occurrent souvent au sein des expérimentations sur la biodiversité, l'effet net positif de la diversité serait ainsi principalement contrôlé par la complémentarité entre espèces (différenciation de niches et facilitation), l'intensité des interactions de type complémentarité ayant tendance à augmenter au fil du temps (Cardinale *et al.* 2007; Loreau 2010).



Figure 1-9 Mécanismes potentiels au sein des expérimentations sur la biodiversité. Les effets d'échantillonnage sont impliqués dans l'assemblage de la communauté, les communautés contenant le plus d'espèces ayant une plus grande probabilité de contenir une grande diversité de traits phénotypiques. La diversité de traits détermine ensuite les processus des écosystèmes à travers deux mécanismes principaux: la dominance d'espèces possédant des traits particuliers (effet de sélection) et la complémentarité entre espèces possédant des traits divergents. Des scénarii intermédiaires impliquent la complémentarité entre espèces particulières ou groupes fonctionnels ou, de manière équivalente, la dominance de sous-ensembles particuliers d'espèces complémentaires (Loreau *et al.* 2001).

Comme souligné précédemment, la forme la plus commune de facilitation mise en évidence au sein des communautés prairiales est due à la présence de légumineuses, soit un groupe fonctionnel particulier ayant la capacité de fixer l'azote atmosphérique. L'augmentation des intrants d'azote dans le système par ces espèces fixatrices affecterait souvent plus la productivité nette aérienne primaire (ANPP) que la diversité spécifique (Arnone *et al.* 2011). L'effet majeur de la présence d'espèces clés comme les légumineuses suppose un rôle prépondérant de la diversité ou de l'identité fonctionnelle dans le maintien du fonctionnement et des services des écosystèmes tels que la production de biomasse. Hormis le cas des légumineuses, le mécanisme de différenciation ou complémentarité de niches apparaît

également important. Une relation positive entre la richesse spécifique et la productivité a ainsi été mise en évidence après deux ans d'expérimentation dans des mélanges sans légumineuses, cette relation s'intensifiant à plus long terme (van Ruijven & Berendse 2005).

Peu d'études intègrent cependant la biomasse des racines dans les analyses de productivité bien que ces dernières constituent une partie importante de la biomasse végétale totale. La prise en compte de la biomasse racinaire pourrait ainsi modifier les relations entre la richesse en espèces et la productivité (Liira & Zobel 2000). Intégrer le compartiment racinaire dans ces études apparaît également pertinent au regard de la potentielle complémentarité dans l'acquisition des ressources au niveau racinaire. Ainsi, la stimulation de la croissance racinaire en mélanges (plasticité) induite par la compétition pour les ressources du sol pourrait entraîner une amélioration de la séquestration du carbone et de la disponibilité en azote dans le sol, et finalement une amélioration de la production aérienne dans les communautés diverses. Certains auteurs mettent en évidence que la biomasse racinaire augmente avec la richesse spécifique (Reich et al. 2001; Tilman et al. 2001; Craine et al. 2003; Dimitrakopoulos & Schmid 2004). Dans d'autres études, la richesse spécifique et la diversité en groupes fonctionnels n'ont aucun effet significatif sur la biomasse racinaire en conditions naturelles (Hooper 1998; Wardle et al. 1999; Spehn et al. 2000; Niklaus et al. 2001; He, Bazzaz & Schmid 2002; Gastine, Scherer-Lorenzen & Leadley 2003). Bessler et al. (2009) présentent des résultats contradictoires dans une étude expérimentale avec un investissement dans la biomasse racinaire plus faible pour les mélanges riches en espèces comparés aux monocultures, entrainant un investissement aérien plus important et une surproduction (overyielding). L'étude du lien entre biomasse racinaire et overyielding en mélanges donne ainsi des résultats contrastés. Cet overyielding en mélanges a par ailleurs été relié à un investissement racinaire différentiel entre espèces, n'impliquant pas forcément une biomasse racinaire supérieure en mélanges. L'overyielding a ainsi été attribué à la différenciation verticale de niches entre espèces au niveau souterrain (inhérente ou induite), permettant la complémentarité dans l'exploitation des ressources (Figure 1-10). Cependant cette hypothèse n'est que peu étayée par les récentes études de par les difficultés méthodologiques pour identifier les racines des différentes espèces dans les mélanges. Von Felten & Schmid (2008a) mettent en évidence un important partitionnement des ressources au niveau souterrain, en particulier dans des conditions limitantes en nutriments. Cependant, cette complémentarité pourrait ne pas être due à des différences de profondeurs d'enracinement entre espèces mais plutôt à une ségrégation horizontale des racines. Mommer et al. (2010) ont également mis en évidence de la complémentarité souterraine entre espèces dans leurs communautés prairiales expérimentales, rien ne permettant néanmoins de soutenir l'hypothèse de différenciation de niche verticale.



Figure 1-10 Représentation de la diversité des systèmes racinaires illustrant la différenciation de distribution verticale entre espèces prairiales et la potentielle complémentarité d'acquisition des ressources (Conservation Research Institute, 1995).

Les mécanismes via lesquels les interactions entre espèces provoquent une augmentation de la productivité restent encore peu explicités. Si le rôle facilitant des légumineuses pour l'azote a été largement étudié, il demeure difficile de déterminer quels traits des plantes sont actuellement impliqués dans la complémentarité d'utilisation des ressources entrainant un rendement plus important en mélanges. L'amélioration de notre compréhension des mécanismes sous-jacents de la relation diversité-productivité apparaît ainsi comme un axe de recherche majeur, notamment concernant la différenciation de niches au niveau racinaire.

a. Stabilité de la production sous sécheresse

Un nombre croissant d'études empiriques montrent une relation positive entre biodiversité et stabilité des écosystèmes. Pour bien appréhender la relation entre diversité et stabilité, il est nécessaire de comprendre comment les espèces interagissent les unes avec les autres et de quelle manière chacune d'entre elles est affectée par l'environnement. Néanmoins, les

changements anthropiques affectent souvent conjointement la stabilité et la diversité. Ainsi, les mécanismes impliqués dans le lien entre diversité et stabilité ne peuvent être identifiés sans prendre en compte ce double effet des facteurs environnementaux (Ives & Carpenter 2007). Une question centrale en écologie concerne donc la relation causale entre diversité en espèces végétales et stabilité fonctionnelle des écosystèmes en cas de stress environnemental tel qu'une sécheresse (Rooijen *et al.* 2015).

Dès 1958, Elton fut le premier à prédire qu'une diminution de la diversité végétale entraînerait une diminution de la stabilité de l'écosystème associé. Une étude de 13 ans le long d'un gradient de production dans des prairies du Minnesota soutient cette hypothèse en mettant en évidence que la variabilité de la biomasse produite par la communauté (utilisée comme mesure de la stabilité) était significativement dépendante de la diversité, même dans le cas d'une grande sécheresse (Tilman & Downing 1994; Tilman 1996). En effet, les parcelles riches en espèces retrouvaient plus rapidement des niveaux de production présécheresse (i.e. plus résilientes) que celles pauvres en espèces. Par ailleurs, malgré la forte variabilité climatique interannuelle modifiant l'abondance des espèces et la productivité, les parcelles les plus diverses demeuraient les plus stables (Tilman, Reich & Knops 2006). L'hypothèse avancée dans cette étude était que les communautés à faible diversité présentaient peu d'espèces susceptibles de compenser la perte des espèces sensibles au stress, expliquant ainsi la faible stabilité du système. Pour Vogel, Scherer-Lorenzen & Weigelt (2012), la richesse spécifique augmenterait la productivité en conditions non limitantes et permettrait également un maintien de la production sous sécheresse. Ces résultats supportent l'hypothèse d'assurance écologique qui prédit que la biodiversité peut avoir un effet tampon face à la variabilité des conditions environnementales (Yachi & Loreau 1999; Loreau & de Mazancourt 2013). Les méta-analyses confirment généralement l'existence de cette relation entre diversité et stabilité (Tilman 1999; Balvanera et al. 2006; Cardinale et al. 2012). L'effet stabilisateur de la diversité apparait alors comme un facteur fondamental de la durabilité des écosystèmes face aux changements environnementaux (Hector et al. 2010; Campbell, Murphy & Romanuk 2011). Le rôle de la biodiversité apparaît donc essentiel dans le maintien du fonctionnement de l'écosystème (Worm et al. 2006; Balvanera et al. 2006; Suttle, Thomsen & Power 2007; Hector & Bagchi 2007) et dans le renforcement de la résistance ou de la résilience à la sécheresse (Pfisterer & Schmid 2002; Kahmen, Perner & Buchmann 2005; De Boeck et al. 2008; van Ruijven & Berendse 2010). Avec l'occurrence de sécheresses, la diversité végétale constituerait ainsi un élément essentiel à la stabilité de la production de fourrage et donc au maintien de ce service porté par les prairies face au changement climatique. Cependant, si de nombreux travaux suggèrent qu'une plus grande richesse spécifique dans les prairies augmenterait et stabiliserait la productivité dans des conditions stressantes (Tilman 1999; Minns *et al.* 2001), d'autres suggèrent qu'une diversité végétale accrue ne présente aucun intérêt (Wardle *et al.* 2000; Huston *et al.* 2000). La question de la transposition du concept général reliant diversité et stabilité aux systèmes de prairies permanentes demeure par ailleurs incertaine, une grande partie des expérimentations qui étudient le lien entre diversité et stabilité étant menées en pots peu profond avec des espèces sans intérêt agronomique (Sanderson *et al.* 2004).

Des travaux récents cherchent par ailleurs à améliorer notre compréhension des mécanismes sous-jacents de l'effet stabilisateur de la diversité sur les propriétés des écosystèmes (Ives & Carpenter 2007; Gonzalez & Loreau 2009; Hector et al. 2010). Cette compréhension approfondie des mécanismes est essentielle à la prédiction des effets des changements environnementaux sur le fonctionnement des prairies. Cependant, des difficultés apparaissent concernant l'identification des processus, essentiellement de par la variété des mécanismes potentiellement impliqués. La relation entre stabilité de la production et diversité végétale serait due en partie à de la divergence fonctionnelle au sein de la communauté, garantissant la présence d'espèces adaptées à différentes conditions environnementales. La complémentarité temporelle serait ainsi un des facteurs déterminant du lien entre diversité et stabilité de la production (Loreau & de Mazancourt 2013; Rooijen et al. 2015) et s'exprimerait (i) par une asynchronie dans les réponses des espèces aux changements environnementaux (de Mazancourt et al. 2013) ou (ii) par des réponses plus ou moins rapides des espèces à ces changements (Fowler 2009). Des fluctuations compensatoires à l'échelle des populations auraient donc un effet stabilisant à l'échelle de la communauté (Yachi & Loreau 1999). La dynamique compensatoire se met ainsi en place quand un changement négatif dans le niveau de fonctionnement d'une espèce est associé à un changement positif dans le fonctionnement d'une autre espèce, entrainant la stabilisation des propriétés d'un écosystème, telles que la production de biomasse (Figure 1-11). De plus, la redondance fonctionnelle au sein de chaque groupe d'espèces permettrait de pallier une certaine mortalité, notamment en cas de stress intense, assurant un maintien des fonctions et ainsi une meilleure stabilité du système (Pillar et al. 2013; Kang et al. 2015). Il apparaît donc primordial de mieux comprendre les réponses des espèces aux fluctuations de l'environnement et d'identifier la vitesse à laquelle les espèces répondent aux perturbations. Dans le contexte actuel d'augmentation de la fréquence et de l'intensité des événements de sécheresse, cette approche permettrait en particulier d'améliorer notre compréhension et notre capacité de prédiction des effets de la diversité sur la stabilité des prairies tempérées.



Figure 1-11 Scénarii possibles représentant les dynamiques de production de deux espèces au sein de la même communauté (lignes rouge et bleue). La biomasse totale à l'échelle de la communauté est représentée par la ligne orange. La flèche indique l'occurrence d'une perturbation pouvant être d'ordre climatique (i.e. sécheresse). En présence de compensation après perturbation (a et b) le niveau de la biomasse totale reste relativement inchangé, la baisse de production de l'une des espèces étant contrebalancée par l'augmentation de l'autre. Pour a et c des dynamiques compensatoires sont mises en évidence par les fluctuations asynchrones des espèces (pics de production inversés). En l'absence de compensation après perturbation (c et d) la biomasse totale décline mais la variabilité de la biomasse totale, indiquée par les pointillés, est plus importante en présence de dynamiques synchrones (d), (Gonzalez & Loreau 2009).

Outre les mécanismes de complémentarité temporelle et de redondance fonctionnelle, le lien entre diversité végétale et stabilité peut également se mettre en place par le biais d'autres mécanismes, non temporels et directement liés aux interactions biotiques, comme la réduction de l'intensité de compétition ou encore la mise en place d'interactions positives entre espèces (Loreau *et al.* 2012). Ainsi, la diversité fonctionnelle induite par un mécanisme de différenciation spatiale de niches, et la présence d'espèces clés via un mécanisme de facilitation, pourraient permettre le maintien d'un certain niveau de production lors d'un stress et également permettre une meilleure résilience de cette production après stress. Si la facilitation pour l'azote mise en place en présence de légumineuses est un mécanisme majeur de la relation entre diversité et production en conditions ambiantes, la question du maintien de cet effet positif des légumineuses sous sécheresse demeure. Bien qu'il ait été avancé que les légumineuses pourraient atténuer l'impact de sécheresses accrues dans le contexte de changement climatique (Lüscher et al. 2014), peu d'études ont évalué à ce jour l'effet de la présence de légumineuses sur la production de biomasse de communautés prairiales de milieux tempérés sous sécheresse. Les résultats de Pfisterer & Schmid (2002) suggèrent que la présence de légumineuses réduit la résistance des communautés prairiales à la sécheresse, alors qu'une étude plus récente montre une absence d'effet des légumineuses sur la production de la communauté (Khan et al. 2014). La question du maintien de la production de biomasse sous sécheresse en présence de légumineuses doit être approfondie, en fonction notamment de l'intensité du stress subi par les communautés. Le rôle des légumineuses en phase de récupération après sécheresse doit également être considéré.

Comme dans le cas de la relation entre diversité et production des prairies, les études citées précédemment portant sur le lien diversité-stabilité de la production en cas de stress se concentrent majoritairement sur le compartiment aérien. En effet, peu d'informations sont disponibles concernant l'impact des conditions climatiques sur la production racinaire et la distribution des racines dans le sol. La réponse du compartiment racinaire à un stress hydrique apparaît également controversée. Concernant les prairies permanentes, la production racinaire de la communauté serait réduite (Frank 2007), non affectée (Gilgen & Buchmann 2009; Jentsch et al. 2011), ou stimulée (Dreesen et al. 2012) par une diminution des précipitations. Ces résultats contrastés seraient dus à des assemblages différents d'espèces ou à la forte plasticité racinaire face à la variabilité des conditions hydriques (Skinner, Hanson & Benjamin 1998; Skinner 2008). D'autre part, sans nécessairement être liée à une variation de la biomasse racinaire totale, la différence de profondeur des racines entre espèces pourrait expliquer la meilleure stabilité des communautés prairiales diverses. Ainsi, l'hypothèse de différenciation verticale de niches comme mécanisme sous-jacent de la relation diversitéproductivité pourrait être étendue au contexte de sécheresse et à la relation diversité-stabilité. La présence d'espèces à enracinement profond ou la stimulation de la production de racines en profondeur pour certaines espèces en mélanges au cours d'un stress hydrique peuvent être des facteurs majeurs déterminant la résistance à la sécheresse (Carrow 1996b; Kulkarni, Borse & Chaphalkar 2008; Su *et al.* 2008; White & Snow 2012). Un enracinement profond peut en effet accroître la disponibilité en eau du sol. En cas de stress hydrique, Skinner, Gustine & Sanderson (2004) ont constaté que les racines de mélanges complexes présentaient une distribution plus profonde dans le profil du sol que les racines de mélanges moins divers. Le rendement fourrager était également plus élevé dans les mélanges plus complexes dans ces conditions de sécheresse. La distribution plus profonde des racines induirait un meilleur accès à l'eau dans les mélanges divers et réduirait ainsi le niveau de stress (Skinner *et al.* 2006). Il en résulterait que la sélection de mélanges de plantes fourragères incluant des traits d'intérêt tels qu'une grande profondeur d'enracinement pourrait se traduire par une amélioration des performances des prairies, particulièrement en conditions de stress hydrique.

b. Production de biomasse sous sécheresse extrême

Des études récentes laissent supposer que la stabilisation du fonctionnement de l'écosystème liée à une plus grande diversité végétale pourrait être maintenue face au changement climatique (Gilgen & Buchmann 2009; Craine et al. 2011). L'existence d'un effet tampon de la diversité végétale dans un contexte d'occurrence accrue de sécheresses sévères reste cependant à confirmer. La « stress-gradient hypothesis » suggère un changement d'intensité et de direction des interactions biotiques selon le niveau de stress environnemental (Bertness & Callaway 1994). La facilitation serait ainsi un mécanisme important dans les environnements stressants alors que les interactions de type compétitive prédomineraient dans les environnements moins stressés. Cette hypothèse étendue au contexte du changement climatique impliquerait une augmentation de l'occurrence d'interactions positives entre espèces lors d'un stress de forte intensité, par exemple de type sécheresse extrême. L'hypothèse proposée par Bertness et Callaway est cependant controversée (Maestre, Valladares & Reynolds 2005, 2006; Lortie & Callaway 2006; Michalet et al. 2014) (Figure 1-12). D'autres auteurs proposent que les interactions compétitives prédomineraient aux extrémités des gradients de stress environnementaux, avec des interactions positives (facilitation) importantes au niveau de stress de moyenne intensité (Michalet et al. 2006; Cheng et al. 2006). Dans ce cas, les interactions positives seraient observées en cas de stress d'intensité modérée, alors qu'on observerait un collapse de la facilitation en cas de stress trop sévère. Dans des conditions de stress sévère voire extrême, l'importance des interactions biotiques serait moindre et la résistance au stress d'une communauté végétale pourrait donc être directement liée à la résistance individuelle des différentes espèces la composant (Volaire, Norton & Lelièvre 2009). Il apparait donc nécessaire de déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance à des stress sévères à l'échelle spécifique pour comprendre les processus de résistance à l'échelle des communautés. L'étude de la relation entre diversité et stabilité de la production doit prendre en compte l'intensité du stress ainsi que la pérennité des interactions positives entre espèces le long de ce gradient de stress.



Figure 1-12 Schéma théorique montrant la variation des interactions entre espèces en fonction d'un gradient de stress environnemental. Dans des conditions environnementales sévères, les interactions positives peuvent (a) atteindre un plateau (Bertness & Callaway 1994) (b) chuter et atteindre un niveau nul (collapse) (Michalet *et al.* 2006) (c) chuter et devenir des interactions de type compétitive (Michalet *et al.* 2014) ; (Kawai & Tokeshi 2007).

Comme souligné précédemment, au-delà de la capacité de résistance à la sécheresse de la communauté, il apparaît fondamental de prendre en compte la dynamique de régénération de cette dernière particulièrement dans le cas d'écosystèmes gérés, supports d'activités agricoles. Pourtant, peu d'expérimentations se sont intéressées aux mécanismes de récupération après un événement de sécheresse extrême. La régénération par croissance végétative et germination de graines contribuerait à la récupération de la biomasse aérienne après stress, la recolonisation du milieu dépendant essentiellement de la banque de graines (Thompson, Bakker & Bekker 1997; Akinola, Thompson & Buckland 1998) et du stock de méristèmes (Klimešová & Klimeš 2007). Cette réserve de méristèmes en dormance dans le sol se situe à la base des talles pour le cas des graminées ou sur des organes de réserve comme

les rhizomes et les stolons. Le rôle de la survie du système racinaire dans la récupération rapide des transferts de l'eau et d'azote à l'échelle de la plante a également été mis en évidence par Vartanian (1981). Shinoda, Nachinshonhor & Nemoto (2010) ont aussi montré à l'échelle des communautés végétales que la survie racinaire contribuerait à la récupération de la production aérienne. Dans le cas d'un extrême climatique, si les différences entre espèces concernant ces processus de régénération peuvent impacter la composition et la structure des communautés après perturbation (Thompson, Bakker & Bekker 1997; Grime 2001; Stampfli & Zeiter 2004, 2008), les interactions biotiques pourraient également avoir un effet non négligeable sur la capacité et la vitesse de récupération souterraine et aérienne à l'échelle de la communauté.

Les expérimentations dans les prairies tempérées simulant des sécheresses sévères ou extrêmes restent rares (Kahmen, Perner & Buchmann 2005; Mikkelsen *et al.* 2008; Zwicke *et al.* 2015). Malgré les impacts importants que peuvent avoir ces stress hydriques extrêmes sur la composition des prairies, leur productivité et la qualité du fourrage (Gilgen *et al.* 2010), l'étude de Naudts *et al.* (2011) suggère que l'occurrence d'un événement de sécheresse extrême pendant la saison de croissance sous climat futur (température et concentrations de CO₂ accrues) ne modifierait pas la productivité des plantes. Jentsch *et al.* (2011) ont par ailleurs mené une expérimentation long-terme avec des sécheresses extrêmes récurrentes appliquées pendant cinq années consécutives sur des communautés prairiales d'Europe centrale. Contrairement aux attentes, la production aérienne interannuelle est demeurée stable face à ces sécheresses Cependant, de nombreux facteurs tels que la saison, l'intensité et la durée de la sécheresse peuvent affecter la réponse des communautés végétales et expliquer l'absence ou la présence d'effets (Swemmer, Knapp & Snyman 2007; Cherwin & Knapp 2012).

6. Synthèse

L'analyse de la littérature fait ressortir des résultats en apparence contradictoires qui traduisent notre manque de connaissance concernant les mécanismes impliqués dans la résistance et la récupération des communautés prairiales tempérées soumises à des phénomènes climatiques extrêmes tels que les sécheresses. Pour combler ces lacunes, il semble nécessaire de développer des travaux intégrant une approche fonctionnelle, qui permettront notamment d'évaluer le rôle des différences fonctionnelles entre espèces au sein des communautés végétales dans la modulation de la réponse de l'écosystème prairial face à

des sécheresses extrêmes. S'il est à ce jour admis que la composition/diversité végétale peut avoir un effet positif sur le fonctionnement et les services tels que la production de biomasse au niveau des prairies tempérées (Hector *et al.* 1999), les mécanismes sous-jacents doivent encore être explorés. Les données empiriques qui supportent la théorie reliant la composition/diversité des communautés végétales et la stabilité des fonctions de l'écosystème sont moins nombreuses que celles montrant les effets de la composition et de la diversité végétale sur les fonctions elles-mêmes (notamment la production). L'effet facilitant des légumineuses a souvent été évoqué dans la littérature pour interpréter la relation positive entre diversité et productivité dans les prairies tempérées. Pourtant, un manque de connaissance demeure concernant la résistance et particulièrement la résilience des communautés prairiales en présence de légumineuses face à un événement de sécheresse extrême. Dans le contexte actuel d'augmentation de la fréquence d'événements de sécheresse extrême, l'existence d'un effet tampon de la composition/diversité fonctionnelle impliqué dans le maintien des services écosystémiques ainsi que dans la résistance et la résilience des prairies après extrême reste donc à confirmer.

7. Problématique et démarche de travail

La problématique majeure de ce travail consiste en la détermination des mécanismes via lesquels la composition en espèces et les différences fonctionnelles entre espèces au sein des communautés végétales modulent la résistance et la récupération de la production de biomasse aérienne sous sécheresse extrême. Sur la base des connaissances actuelles, les principales questions de recherche portent sur :

1. la résistance et la résilience de la production aérienne des communautés végétales de prairies permanentes face à un événement de sécheresse extrême.

2. l'effet de la composition/diversité fonctionnelle sur la production aérienne des communautés prairiales et l'identification des mécanismes sous-jacents.

Pour aborder ces questions, nous avons élaboré différentes hypothèses construites à partir des connaissances acquises et de l'analyse de la littérature.

1. La présence de légumineuses dans le cortège floristique entraine une augmentation de la production de biomasse aérienne à l'échelle de la communauté, aussi bien en conditions hydriques non limitantes que sous sécheresse extrême. Cette augmentation de production en présence de légumineuses serait induite par des interactions entre espèces, entrainant un phénomène d'overyielding. Dans le cas d'une sécheresse extrême, les interactions entre espèces et l'overyielding associé se mettraient en place en phase de récupération après stress, entrainant une récupération plus rapide et donc une meilleure stabilité de la production aérienne. En effet, un collapse des interactions biotiques aurait lieu lorsque l'intensité du stress hydrique dépasse un certain seuil, expliquant sous stress sévère et extrême l'absence d'interactions interspécifiques pendant la phase de résistance.

2. Les mécanismes sous-jacents de l'overyielding en présence de légumineuses associent facilitation et complémentarité pour les ressources azotée et hydrique, aussi bien en conditions hydriques non limitantes qu'en phase de récupération post-sécheresse extrême. La littérature permet de suggérer que (i) la facilitation pour l'azote due à la fixation symbiotique par la légumineuse induit une plus grande disponibilité en nutriments et un phénomène d'overyielding chez l'espèce associée et (ii) la complémentarité pour l'utilisation de l'eau via une différenciation de niches entre légumineuse et espèce associée au niveau racinaire entraîne une meilleure disponibilité en eau à l'échelle de la communauté et une production plus élevée des différentes espèces.

3. L'impact des interactions entre espèces sur l'expression des traits fonctionnels liés à l'acquisition des ressources à l'échelle intraspécifique régule la production de biomasse des espèces. Les interactions de types facilitation et complémentarité observées à l'échelle de la communauté seraient ainsi liées à des modifications de valeurs de traits fonctionnels à l'échelle de l'espèce. La prédiction de la stabilité de la production de communautés plurispécifiques face à une sécheresse extrême pourrait donc être améliorée par une meilleure compréhension des effets des changements de valeurs de traits induits par des interactions hétérospécifiques.

Pour répondre à nos hypothèses concernant le rôle des interactions entre espèces dans le déterminisme de la production aérienne, une expérimentation en conditions semi-contrôlées a été mise en place dans la mesure où cette approche permettait d'analyser plus finement les mécanismes sous-jacents des effets de composition et de différences fonctionnelles. Sur la base de la composition botanique des communautés de prairies permanentes de moyenne montagne, cinq espèces (quatre graminées et une légumineuse) ont été sélectionnées et cultivées en monocultures ou en association de deux ou cinq espèces afin de réduire la complexité de ces communautés prairiales. En effet, l'utilisation de mélanges plurispécifiques simples est une nécessité pour l'étude fine des mécanismes de réponse à une sécheresse à l'échelle des espèces et de la communauté. L'effet de la présence d'une légumineuse sur les performances de la communauté sera évalué en association avec une ou plusieurs graminées pour tester la continuité d'effet selon le niveau de diversité interspécifique et l'abondance de la légumineuse. Afin de déterminer la réponse du système racinaire à un événement de sécheresse extrême, ainsi que son implication potentielle dans les interactions entre espèces et les mécanismes de complémentarité associés, nous avons choisi de développer une expérimentation en mésocosme et en conditions semi-contrôlées. Un système de culture en pots a ainsi été sélectionné de manière à pouvoir observer l'enracinement en profondeur des communautés végétales. Ces cultures en pots ont été positionnées sur une plateforme expérimentale composée d'un ensemble de balances, ce qui permet par ailleurs d'effectuer un suivi précis des apports en eau, du contenu en eau du sol et de l'évapotranspiration des couverts végétaux. Cette plateforme expérimentale a été placée sous un abri roulant transparent qui permet d'intercepter les précipitations (sur une partie ou la totalité du dispositif) et de simuler un événement de sécheresse estival tout en limitant les biais liés au vent et au rayonnement. Les mesures effectuées sur les communautés végétales assemblées suivent une approche d'écologie fonctionnelle permettant d'appréhender les mécanismes physiologiques abordés dans nos hypothèses, via l'analyse de traits morphologiques et physiologiques. Une forte originalité de notre travail a été de mesurer simultanément les traits aériens et souterrains, de l'échelle de l'individu à la communauté végétale. Les traits fonctionnels sélectionnés sont des proxi de fonctions visées (assimilation et utilisation des ressources, évitement et tolérance à la sécheresse). Ils ont été mesurés en conditions hydriques optimales et en conditions de sécheresse modérée à extrême pour permettre de déterminer les stratégies d'acquisition des ressources et de résistance au stress hydrique des espèces.

Le cadre conceptuel sous-jacent à notre démarche est présenté en figure 1-13. Le tableau 1-1 synthétise notre démarche de travail et l'organisation de cette démarche en identifiant les thématiques abordées, le niveau d'échelle, les conditions de stress concernées et rappelant l'hypothèse testée. La référence au chapitre de résultat permet d'avoir une vision globale du plan de la thèse.



Figure 1-13 Schéma général du travail de thèse

Chapitre de thèse	Niveau d'organisation	Conditions hydriques	Hypothèses	Traits
 Déterminisme de la production aérienne hors stress : composition des mélanges et interactions 	Communauté / espèce	Non limitantas	La facilitation pour l'azote par la légumineuse entraine un phénomène d'overyielding à l'échelle de la communauté via une augmentation de la biomasse des graminées associées	Aériens
hétérospécifiques	Communauté	Non mintantes	La complémentarité pour l'utilisation de l'eau du sol entraine un phénomène d'overyielding à l'échelle de la communauté via une différenciation verticale de niches entre graminée et légumineuse	Racinaires
2. Résistance et récupération de la production aérienne des mélanges sous sécheresse extrême	Communauté	Sécheresse extrême: résistance Sécheresse extrême: résilience	Un collapse des interactions positives entre espèces lors d'une sécheresse extrême limite la production de biomasse de l'ensemble des mélanges La présence d'une légumineuse entraîne une meilleure résilience post- stress des mélanges via des mécanismes de facilitation pour l'azote et de complémentarité pour l'utilisation de l'eau	Aériens
3. Récupération aérienne des espèces après sécheresse extrême : variation intraspécifique des traits et effet du voisinage	Espèce	Sécheresse extrême: résilience	 (i) L'identité de l'espèce associée affecte la récupération aérienne post- sécheresse des espèces en mélanges (ii) Des changements de valeurs de traits induits par l'espèce associée et liés à l'acquisition des ressources ou à la résistance à la sécheresse affectent la récupération aérienne post-sécheresse des espèces en mélanges 	Aériens
		Non limitantes	L'association de plusieurs espèces en mélanges induit une croissance plus importante des racines profondes	
4. Réponse du compartiment racinaire à un événement de sécheresse extrême	Communauté	Sécheresse extrême: résistance Sécheresse extrême: résilience	 (i) Lors d'une sécheresse modérée le déficit en eau stimule la croissance des racines profondes alors qu'en cas de sécheresse sévère la croissance racinaire est réduite (ii) L'association de plusieurs espèces en mélanges induit une croissance plus importante des racines profondes lors d'un stress modéré mais n'a aucun effet sur la croissance racinaire en cas de stress sévère au regard de ressources et d'interactions entre espèces limitantes L'association de plusieurs espèces en mélanges induit à long terme une croissance plus importante des racines profondes lors de la récupération post-sécheresse 	Racinaires

Tableau 1-1. Plan général de la thèse et questions associées aux différentes parties

1. Site et matériel végétal

Une expérimentation en mésocosmes a été mise en place en extérieur (conditions semicontrôlées) au cours de l'automne 2012 à Clermont-Ferrand (45°46' N, 03°08' E, 350 m d'altitude) sous climat semi-continental (température annuelle moyenne 12.4 °C, précipitation annuelle moyenne 579 mm). Les espèces sélectionnées (4 graminées et 1 légumineuse) sont des espèces représentatives des prairies permanentes de moyenne montagne : le Dactyle aggloméré (Dactylis glomerata, dg), la Fétuque élevée (Festuca arundinacea, fa), le Pâturin des prés (Poa pratensis, pp), la Trisète commune ou avoine dorée (Trisetum flavescens, tf) et le Trèfle blanc (Trifolium repens, tr). Dans le but de mettre en évidence un effet tampon lié à la composition et/ou aux différences fonctionnelles au sein de la communauté, le choix de ces espèces repose également sur leur divergence fonctionnelle se traduisant par des dissimilarités de traits reliés à l'acquisition des ressources et à différentes stratégies d'évitement et de tolérance au stress hydrique. Le Dactyle et la Fétuque sont des espèces de grande taille à enracinement profond et présentant une stratégie exploitatrice. Bien que ces deux espèces possèdent une stratégie efficace d'évitement de la sécheresse, seul le Dactyle serait tolérant à la sécheresse (Zwicke 2013). Par opposition, le Pâturin et la Trisète sont des espèces de petite taille, présentant un système racinaire peu profond et une stratégie plutôt conservatrice. Par ailleurs, Pâturin et Trisète ne présentent pas de stratégie efficace d'évitement bien qu'elles soient toutes deux plutôt tolérantes à la sécheresse (Zwicke 2013). Bien que les racines des graminées soient essentiellement concentrées dans la couche supérieure du sol, une part importante du système racinaire peut atteindre plus d'un mètre de profondeur (Zwicke et al. 2015). Comparé aux graminées, le Trèfle blanc présente un pattern intermédiaire avec une distribution plus uniforme des racines le long de l'axe vertical, et une densité racinaire moindre dans les vingt premiers centimètres (Caradus 1977; Kutschera, Lichtenegger & Sobotik 1992; Skinner & Comas 2010).

2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est composé de 101 pots en PVC cylindriques d'un volume de 102 dm³ (93 cm de hauteur, 37,5 cm de diamètre) remplis de sol brun granitique (12% d'argile, 17% de limon, 58% de sable, 13% de matière organique). Le sol, prélevé au niveau d'une

prairie de moyenne montagne (45°43'N, 03°01'E, 850 m d'altitude), a été tamisé (maille de 20 mm) et mélangé avec de l'engrais à libération lente (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14 Multicote 12, Haifa, Israel). Une couche de pouzzolane de 5 cm a été placée au fond de chaque pot pour améliorer le drainage. Avant d'être rempli de sol, chaque pot a été équipé d'un tube acrylique transparent (40 cm de longueur, 5,5 cm de diamètre intérieur) inséré horizontalement à une profondeur de 80 cm pour l'observation des racines. Pour réduire le réchauffement du sol dû au rayonnement lumineux, les pots ont été enveloppés dans un isolant en polystyrène (50 mm d'épaisseur; Styrodur®, BASF, France). A l'automne 2012, des monocultures et des mélanges à deux et cinq espèces ont été mis en place en transplantant des talles de graminées matures, cultivées dans de grands pots pendant deux ans avant l'expérimentation (Zwicke et al. 2015), et en semant le Trèfle blanc (variété Merwi, taille de feuilles moyenne). Cinq types de monocultures, 10 types de mélanges à deux espèces (Dactylis-Festuca: dg-fa, Dactylis-Poa: dgpp, Dactylis-Trisetum: pp-tf, Dactylis-Trifolium: dg-tr, Festuca-Poa: fa-pp, Festuca-Trisetum: fa-tf, Festuca-Trifolium: fa-tr, Poa-Trisetum: pp-tf, Poa-Trifolium: pp-tr, Trisetum-Trifolium: tftr) et un mélange à cinq espèces (dg-fa-pp-tf-tr) ont été mis en place, avec respectivement sept et six réplicats pour les monocultures et les mélanges. Chaque bac contenait initialement 30 individus et une proportion égale entre espèces dans les mélanges. Le déséquilibre dans la représentation entre légumineuse et graminées est lié à la faible abondance des légumineuses dans les prairies fertiles de moyenne montagne (Louault et al. 2005). L'ensemble des cultures a été placé à l'extérieur pour favoriser l'endurcissement des plantes face aux conditions hivernales avant le début de l'expérimentation.

D'avril 2013 à mai 2014, de par le nombre limité de balances, 81 des 101 pots ont été placés sur ces dernières (60×60 cm, Arpege Master K, de type N PAC + SAT MB, France) (Figures 2-1 et 2-2). Les balances ont été reliées à un système d'acquisition automatique des données permettant de mesurer en continu le contenu en eau du sol et l'évapotranspiration réelle du couvert végétal (ET, kg) par les changements journaliers de poids du pot (Zwicke *et al.* 2015). Une correction de l'évapotranspiration journalière a été appliquée pour prendre en compte le changement de poids dû aux précipitations et à l'irrigation. Vingt-neuf pots (9 monocultures, 18 mélanges à deux espèces, 2 mélange à cinq espèces) ont également été équipés de capteurs d'humidité du sol (ECHO-5, Décagone, États-Unis) insérés horizontalement à trois profondeurs (15, 30, 50 cm) et connectés à un enregistreur de données (EM50, Décagone, États-Unis). D'avril 2013 à juin 2014, le contenu en eau du sol (m³.m⁻³) a été mesuré toutes les 30 minutes, et les données moyennées à l'échelle journalière. Jusqu'en

juin 2013, l'ensemble des pots a été maintenu à un minimum de 80% de la capacité au champ du sol par les précipitations ou l'arrosage (Figure 2-3a). A partir de mi-juin 2013, une sécheresse extrême a été simulée sur 48 pots par une interception totale des précipitations durant 57 jours (contenu en eau du sol sous le seuil des 10% durant 50 jours, 95% de sénescence en moyenne à la fin du stress) (Figure 2-3b). Les 53 pots du traitement témoin ont été maintenus à un minimum de 80% de la capacité au champ du sol pendant toute la durée de l'expérimentation (avril 2013 à juin 2014). Le traitement sécheresse se caractérisait par une diminution progressive du contenu en eau du sol pendant 27 jours (stress modéré) puis par un épuisement quasi-total du stock d'eau disponible pour les plantes pendant 30 jours (stress sévère). A partir de mi-août, les pots du traitement sécheresse ont été progressivement réhydratés et à nouveau maintenus à 80% de la capacité au champ jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2	99		51	90		57	83		50	96		86	73		13	84
32	5		70	40		97	39		44	95		46	34		78	98
29	74		27	28		94	60		72	3		85	11		77	91
31	87		63	4		92	79		33	49		48	53	•	66	75
20	101		18	17		30	67		69	23		7	21		71	62
15	80		81	58		12	82		24	6		43	45		10	38
14	41		37	2 5		5 2	16		22	1		61	76		26	36
8	42		88	47		64	55		100	19		56	68	•	54	65
59	89			9	. 1											
93 35																
I						I										
Traitement témoin irrigué						Traitement sécheresse										

Figure 2-1 Schéma de la plateforme expérimentale. Les cultures d'espèces prairiales sont numérotées de 1 à 101 ; différentes couleurs représentent les types de cultures réparties aléatoirement entre traitements témoin et sécheresse (5 types de monocultures, 10 types de mélanges à deux espèces et 1 type de mélange à cinq espèces) ; le cadre délimite l'ensemble des 81 balances.



Figure 2-2 Plateforme expérimentale en préparation.



Figure 2-3 Plateforme expérimentale en cours d'expérimentation. (a) Avant sécheresse (mai 2013) ; (b) Pendant sécheresse (juillet 2013)

3. Mesures

Au total 7 coupes à 5 cm de la biomasse aérienne ont été effectuées entre avril 2013 et juin 2014 pour évaluer sur deux saisons de croissance la production des cultures soumises ou non à une sécheresse estivale extrême (Figure 2-4): début de saison de croissance (22/04/13), pic de biomasse avant sécheresse (21/05/13), pendant sécheresse (09/07/13 uniquement sur les bacs témoins irrigués), fin de la sécheresse (12/08/13), fin de la saison de croissance (récupération à court terme : 06/10/13), puis début de saison de croissance (11/04/14) et pic de biomasse (10/06/14) l'année suivante (récupération à plus long-terme). Les coupes du

21/05/13 et du 10/06/14 correspondant aux deux pics de biomasse ont par ailleurs été effectuées selon deux strates : un ceptomètre (Decagon, USA) permet de déterminer la hauteur, spécifique à chaque pot, pour laquelle le couvert absorbe 50% du rayonnement photosynthétiquement actif incident (PAR). On délimite ainsi la strate de lumière, correspondant à la partie supérieure du couvert, de la strate d'ombre.

Afin de mesurer à chaque coupe la biomasse produite par chaque espèce au sein des cultures, un tri vert-sec suivi d'un tri à l'espèce sur les parties non sénescentes est effectué sur la biomasse récoltée. Une séparation des feuilles et des inflorescences a également été réalisée pour chaque espèce. Les échantillons sont ensuite placés à l'étuve (48h à 60°C) et pesés pour obtenir la biomasse sèche par espèce et par pot.

Les mesures de traits aussi bien morphologiques que physiologiques effectuées tout au long de l'expérimentation nous permettent de caractériser les stratégies d'acquisition des ressources et de réponse à la sécheresse de nos espèces en monocultures et en mélanges (Figure 2-4). La comparaison des valeurs de traits à l'échelle spécifique selon la composition du mélange permet dans un premier temps d'évaluer l'effet du voisinage sur la modulation de l'expression de ces traits et des stratégies associées pour l'acquisition des ressources et la résistance au stress. Des indices de composition ou de diversité fonctionnelles peuvent par ailleurs être calculés pour appréhender le fonctionnement à l'échelle de la communauté à partir des mesures de traits effectuées à l'échelle spécifique, comme les valeurs moyennes de traits (CWM) ou encore l'étendu de la divergence de traits entre espèces. Dans un second temps, les variations de valeurs de ces traits et indices peuvent ainsi permettre d'expliquer la variabilité de production aérienne, mesurée à l'échelle spécifique aussi bien qu'à l'échelle de la communauté, en réponse à un événement de sécheresse extrême, à la composition du mélange, et l'interaction de ces deux facteurs. Les traits fonctionnels permettent donc d'explorer les mécanismes responsables des variations de production aérienne en reliant ces changements à des modifications d'utilisation de certaines ressources. Les principaux traits et variables mesurés au cours de l'expérimentation sont présentés dans le tableau 2-1, l'annexe 1 présentant le détail des protocoles de mesures.



Figure 2-4 Variables et principaux traits mesurés dans les compartiments aérien et souterrain au cours de l'expérimentation. Les flèches noires représentent les dates de coupes de biomasse aérienne ; la flèche en pointillés représente la coupe effectuée sur les bacs du traitement témoin irrigué.

Variable	Echelle	Période de mesure	Unité
Evapotranspiration (ET)	Communauté	Mesure continue	kg
Efficience d'utilisation de l'eau (WUE)	Communauté	Chaque période de production de biomasse	g.kg ⁻¹
Contenu en azote des feuilles (N)	Espèce	Chaque période de production de biomasse	%
Quantité d'azote exportée (Nyield)	Espèce	Chaque période de production de biomasse	g
Efficience d'utilisation de l'azote (NUE)	Espèce	Chaque période de production de biomasse	g.g ⁻¹
Composition isotopique du carbone	Espèce	Fin de saison de croissance et second pic de biomasse (récupération court et long terme)	‰
Specific leaf area (SLA)	Espèce	Pics de biomasse (avant stress et récupération long terme)	m ² .kg ⁻¹
Leaf dry matter content (LDMC)	Espèce	Pics de biomasse (avant stress et récupération long terme)	$mg.g^{-1}$
Croissance végétative (H.growth)	Espèce	Chaque période de production de biomasse	cm.j ⁻¹
Biomasse de la strate de lumière (Biom _{top})	Espèce	Pics de biomasse (avant stress et récupération long terme)	%
Sénescence du couvert	Communauté	Mesure continue pendant sécheresse estivale	%
Teneur en eau relative des	Espèce	Mesure continue pendant sécheresse estivale	-
Stabilité membranaire des	Espèce	Arrêt de la sécheresse	%
Teneur en eau des méristèmes basaux (WC merist.)	Espèce	Arrêt de la sécheresse	-
Densité des racines profondes	Communauté	Chaque période de production de biomasse	mm.cm ⁻²
Biomasse des racines de surface	Communauté	Début de saison de croissance et second pic de biomasse (récupération long terme)	mg.cm ⁻³

Tableau 2-1 Liste des principaux traits et variables mesurés à l'échelle de l'espèce ou de la communauté au cours de l'expérimentation.

Chapitre 3 : DÉTERMINISME DE LA PRODUCTION AÉRIENNE HORS STRESS, COMPOSITION DES MÉLANGES ET INTERACTIONS HÉTÉROSPÉCIFIQUES

Ce chapitre est consacré à l'analyse des effets de la diversité et de la composition fonctionnelle sur la production de biomasse aérienne des mélanges prairiaux en conditions hydriques non limitantes et à l'identification des mécanismes sous-jacents. Nous supposons que la présence d'une légumineuse (Trèfle blanc), liée au phénomène d'overyielding, constitue le déterminant majeur d'une meilleure production en mélanges. Notre hypothèse principale est que la facilitation pour l'azote et la complémentarité verticale de niches pour l'accès à l'eau au niveau racinaire sont les deux principaux mécanismes responsables de l'overyielding en présence de trèfle. Ce chapitre a donc pour objectifs (1) d'analyser les effets de la richesse spécifique et de la présence d'une légumineuse sur la production de biomasse aérienne, et (2) d'identifier les mécanismes et les ressources impliquées dans l'augmentation de la production en mélanges via des traits fonctionnels mesurés à l'échelle de la communauté. Les résultats sont présentés sous la forme d'un article scientifique publié dans la revue *Frontiers in Plant Science*.

PRESENCE OF *TRIFOLIUM REPENS* PROMOTES COMPLEMENTARITY OF WATER USE AND N FACILITATION IN DIVERSE GRASS MIXTURES

HERNANDEZ Pauline, PICON-COCHARD Catherine*

Published in Frontiers in Plant Science

INRA, UR874, Grassland Ecosystem Research, Clermont-Ferrand, France
<u>* Corresponding author: catherine.cochard@clermont.inra.fr</u>

Key words: deep root, functional diversity, leaf area, legume, minirhizotron, overyielding, water use efficiency

Abstract

Legume species promote productivity and increase the digestibility of herbage in grasslands. Considerable experimental data also indicate that communities with legumes produce more above-ground biomass than is expected from monocultures. While it has been attributed to N facilitation, evidence to identify the mechanisms involved is still lacking and the role of complementarity in soil water acquisition by vertical root differentiation remains unclear. We used a 20-months mesocosm experiment to investigate the effects of species richness (single species, two- and five-species mixtures) and functional diversity (presence of the legume Trifolium repens) on a set of traits related to light, N and water use and measured at community level. We found a positive effect of *Trifolium* presence and abundance on biomass production and complementarity effects in the two-species mixtures from the second year. In addition the community traits related to water and N acquisition and use (leaf area, N, wateruse efficiency, and deep root growth) were higher in the presence of Trifolium. With a multiple regression approach, we showed that the traits related to water acquisition and use were with N the main determinants of biomass production and complementarity effects in diverse mixtures. At shallow soil layers, lower root mass of *Trifolium* and higher soil moisture should increase soil water availability for the associated grass species. Conversely at deep soil layer, higher root growth and lower soil moisture mirror soil resource use increase of mixtures. Altogether, these results highlight N facilitation but almost soil vertical differentiation and thus complementarity for water acquisition and use in mixtures with Trifolium. Contrary to grass-Trifolium mixtures, no significant overyielding was measured for grass mixtures even those having complementary traits (short and shallow vs. tall and deep). Thus, vertical complementarity for soil resources uptake in mixtures was not only dependant on the inherent root system architecture but also on root plasticity. We also observed a timedependence for positive complementarity effects due to the slow development of Trifolium in mixtures, possibly induced by competition with grasses. Overall, our data underlined that soil water resource was an important driver of overvielding and complementarity effects in Trifolium-grass mixtures.

Introduction

Legume species promote productivity and increase the digestibility and protein content of herbage in grasslands managed with low fertilizer inputs (Frame, 1986; Jarvis et al., 1996). Considerable experimental evidence also indicates that communities with legumes produce more above-ground biomass than is expected from monocultures (Loreau et al., 2001; Schmid, 2002; Temperton et al., 2007; Dybzinski et al., 2008; Marquard et al., 2009; Roscher et al., 2012). Positive effects of legumes are generally attributed to increases in soil nitrogen availability through atmospheric N_2 fixation (Lambers et al., 2004; Cardinale et al., 2007). However, little is known about the role of soil water resource on overyielding effect in mixtures with legume species, despite soil water availability could also play an important role for the initiation of diversity effect (Silvertown et al., 1999; Nippert and Knapp, 2007).

Together with N facilitation by legume, niche complementarity has been proposed as main underlying mechanisms for overyielding in diverse mixtures. Such complementarity may occur through differences in resource uptake in time, chemical form and especially in space between species species (Kahmen et al., 2006; von Felten et al., 2009), allowing a more exhaustive exploitation of the soil resource (Dimitrakopoulos and Schmid, 2004; Fargione and Tilman, 2005; von Felten and Schmid, 2008). Inter-specific complementarity of plant traits linked to resource acquisition should therefore enhance productivity in mixtures compared with assemblages of species with similar traits. Theoretically, it has been argued that assembling different rooting depth species in mixtures should lead to vertical niche differentiation (Berendse, 1979). In grassland or savannas, communities with deep tap rooted dicots and shallow fibrous rooted grasses are a good example of such below-ground vertical niche differentiation complementarity for below-ground resources uptake in mixtures is a controversial assumption because root plasticity more than inherent different rooting distribution should be taken into account (Mommer et al., 2010; Mueller et al., 2013). Vertical complementarity for soil water uptake has received little attention in grass-legume mixtures (Grieu et al., 2001; Verheyen et al., 2008) and should be further explored as determinant of overyielding.

The niche complementarity mechanism appears to strongly depend on the functional traits of the species, especially related to below-ground resource acquisition and use. Thus, it has been proposed that extensive analyses of diversity- productivity relationship should focus on the functional traits composition and diversity of communities (Mason et al., 2005). Community-weighted means of trait values, quantifying the dominant trait values in a

community, and functional trait diversity, quantifying the distribution of trait values among species, have been shown to jointly explain variations in above- ground productivity in seminatural grasslands (Díaz et al., 2007; Mokany et al., 2008; Schumacher and Roscher, 2009). In case of overyielding in grass-legume mixtures, using this approach on traits composition and diversity indices related to specific functions and resources can lead to an efficient identification and quantification of facilitation and complementarity mechanisms involved.

Despite many evidences on the importance of legume for overyielding establishment, the effects of legume abundance fluctuations have been scarcely taken into account. Indeed, the proportion of legume in sown mixtures and in permanent grasslands fluctuates, both from year to year and within single growth periods (Frame, 1986), which have been attributed to effects of abiotic and biotic factors on N2 fixation (Soussana and Tallec, 2010). White clover (*Trifolium repens* called thereafter *Trifolium*) is one of the most effective N2 fixing species in mesic pastures (Haynes, 1980). In fertile grasslands its development could be slowed, because large biomass accumulation of grasses leads to conspicuous and asymmetric competition for light (Schwinning and Weiner, 1998). Moreover, at below-ground level, it is assumed that species capture the resource in proportion to their root length density (Craine and Dybzinski, 2013), thus competition for water and nutrients induced by grasses having longer, thinner, and more finely branched roots than legumes (Evans, 1977) is to consider in diverse mixtures with legume species. However, in case of *Trifolium* this assumption is challenged as this species is able to take up more water than rye grass and from deeper soil layer with less dense shallow roots but with deep tap root system (Høgh-Jensen and Schjoerring, 1997; Grieu et al., 2001).

In the present work, we studied under well-watered conditions for 20 months, a set of traits related to light, N and water use as predictors of biomass production and diversity effects of mixtures with or without the presence of a legume species *T. repens* (Table 3-1). By using models selection, we set out to identify and rank which leaf and root traits better explain biomass, overyielding and complementarity effect in mixture and therefore which resources are mainly involved in these responses. We assume that functional diversity through *Trifolium* presence is more important than species richness to explain biomass production and diversity effects. Thus our main hypothesis is that overyielding only occurs in grass-*Trifolium* mixture leading to the highest biomass production. We suppose that the underlying mechanisms are: (1) N facilitation leading to higher N yield and leaf N concentration of community and associated grass, respectively; (2) complementarity through vertical differentiation for soil water uptake. We expect higher deep root growth because of root plasticity, whatever the

grass composition in the mixture, leading to a more efficient use of resources along the soil profile and higher transpiration. Finally, time-dependence of these diversity effects, driven by possible change of *Trifolium* abundance, is also explored over several periods.

Materials and methods

Site characteristics and plant material

A mesocosm experiment was set up outdoors in autumn 2012 in Clermont-Ferrand, France (45°46' N, 03°08' E, 350 m a.s.l.) under a semi-continental climate (annual mean temperature 12.4°C, mean annual precipitation 579 mm). Five species were selected (four grasses and one legume) from temperate and fertile upland grasslands: *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Poa pratensis*, *Trisetum flavescens*, and *T. repens*. *Dactylis* and *Festuca* are tall deep-rooted grass species; *Poa* and *Trisetum* are short shallow-rooted grasses. The unbalanced representation of legume compared to grass is linked to the low abundance of legumes in fertile upland grassland (Louault et al., 2005). Although the root systems of grasses are essentially concentrated in topsoil, a significant part of the roots can also grow deeper than 1 m (Zwicke et al., 2015). *Trifolium* has an intermediary root system pattern with a more even root distribution along the vertical column, and less root density at 20 cm than grasses (Caradus, 1977; Kutschera, Lichtenegger & Sobotik 1992; Skinner and Comas, 2010).

Experimental design

Fifty-three large cylindrical pots (37.5 cm in diameter, 93 cm deep, 100 L) were filled with granitic brown soil (12% clay, 17% loam, 58% sand, 13% organic matter) extracted from an upland grassland grassland (45°43' N, 03°01' E, 850 m a.s.l.), sieved (20 mm mesh) and mixed with slow-release fertilizer (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14 Multicote 12, Haifa, Israel). A 5cm layer of pozzolan was placed at the bottom of each pot to improve drainage, *via* holes at the bottom. Before being filled with soil, each pot was equipped with a transparent acrylic tube (40 cm in length, 5.5 cm in inside diameter) inserted horizontally at a depth of 80 cm for root observation (see Root Measurements). To reduce soil warming due to light radiation, the pots were insulated with a home-made polystyrene casing (50 mm thick; Styrodur®, BASF, France).
Table 3-1 List of traits, their potential associated function, link with resource, period of measurement, unit and calculation of community-weighted mean (CWM) and functional diversity (FDQ).

Functional traits	Functions	Resources	Measurement time	Unit	CWM	FDq
Maximum height growth (H.growth)	Light acquisition	C / Light	C / Light Seventeen growth periods between spring in year 1 (DOY 136) and spring in year 2 (DOY 156)		Yes	Yes
Above-ground biomass in the "light" layer (Biom st1)	Light acquisition	C / Light	Two periods of aboveground production: spring year 1 and spring year 2	%	Yes	Yes
Leaf area (L.area)	Light acquisition; indicator of evapotranspiration	Light / water	Six periods of above-ground production	m² pot-1	Yes	Yes
Leaf carbon isotopic composition (δ^{13} C)	Proxy of water use efficiency	Light / C / water	Two periods of above-ground production: spring year 1 and spring year 2	‰	Yes	Yes
Leaf dry matter content (LDMC)	Density of leaf tissue; Conservation of resource	C / N	Two dates: spring in year 1 (DOY 137) and spring in year 2 (DOY 157)	mg g⁻¹	Yes	Yes
Nitrogen content of community (N)	Photosynthetic rate; N use	Ν	Six dates of forage harvest	%	Yes	Yes
Nitrogen yield / ET (Nyield / ET)	Balance of N use to water use	N / water	Six periods of above-ground production	gN kgH2O ⁻¹	Yes	No
Maximum deep root growth (R.growth)	Capacity to water and nutrient use at deep soil layer	N / water	Twenty-two growth periods between DOY 127 year1 and DOY 147 year 2	mm cm ⁻² day ⁻¹	Yes	No
Integrated water use efficiency (WUE)	Biomass production and water use	C / water	Six periods of above-ground production	gDM kg ⁻¹ H ₂ O	Yes	No
Soil relative extractable water (REW)	Indicator of soil water availability	Water	Continuous	NA	Yes	No

In autumn 2012, monocultures, two- and five-species mixtures were established by planting tillers from mature grass plants that had been grown in large containers for 2 years before the experiment (Zwicke et al., 2015), and by sowing *Trifolium* (Merwi variety, medium leaf size). Five types of monoculture (*Dactylis*: dg, *Festuca*: fa, *Poa*: pp, *Trisetum*: tf, *Trifolium*: tr), 10 types of two-species mixtures (*Dactylis-Festuca*: dg-fa, *Dactylis-Poa*: dg-pp, *Dactylis-Trisetum*: dg-tf, *Dactylis- Trifolium*: dg-tr, *Festuca-Poa*: fa-pp, *Festuca-Trisetum*: fa-tf, *Festuca-Trifolium*: fa-tr, *Poa-Trisetum*: pp-tf, *Poa-Trifolium*: pp- tr, *Trisetum-Trifolium*: tf-tr) and one five-species mixture (dg-fa-pp-tf-tr) were established each with four and three replicates for monocultures and mixtures, respectively. Each pot initially contained 30 individuals with an equal proportion of species in the mixtures. Five types of sward were considered: monocultures without *Trifolium* (1-, 16 replicates), monocultures with *Trifolium* (1+, 4 replicates), two-species mixtures without (2-, 18 replicates) and with (2+, 12 replicates) *Trifolium*, and five-species mixtures with *Trifolium* (5+, 3 replicates).

Water use and soil water content measurements

From April 2013 (Day of year: DOY 112 year 1) to May 2014 (DOY 132 year 2), 33 of the 53 pots were set on weighing scales (60 cm x 60 cm, Arpege Master K, type N PAC + SAT MB, France) to continuously measure the actual evapotranspiration (ET, kg) of the plant canopy by the daily changes in pot weight (Zwicke et al., 2015). Due to a limited number of scales, ET measurements were performed on 11 pots of monocultures, 20 pots of two-species mixtures, and 2 pots of five-species mixture. A correction of daily ET was applied to allow for weight change due to rain or irrigation events. Throughout the experimentation (20 months), all the pots were maintained at 80% of field capacity by watering or rainfall events. Soil water content (SWC) was assessed using two methods, by gravimetry (daily change in pot gravimetric soil moisture), and by direct measurement with soil probes. Gravimetric SWC was expressed as daily soil relative extractable water (REW_t) calculated as:

$$\text{REW}_t = \frac{\text{soil moisture}_t - \text{soil moisture}_{\min}}{\text{soil moisture}_{\max} - \text{soil moisture}_{\min}}$$

where soil moisture_t, soil moisture_{min} and soil moisture_{max} are respectively the current, minimum and maximum gravimetric soil moistures measured at time t, in drought (min value = 0.054) and well-watered (max value = 0.379) conditions. The minimum value was obtained from a parallel study done with similar soil and pots.

Sixteen pots (5 monocultures, 10 two-species mixtures, 1 five-species mixture) were also equipped with SWC sensors (ECHO-5, Decagon, USA) inserted horizontally at three depths

(15, 30, 50 cm) and connected to a datalogger (EM50, Decagon, USA). From April 2013 (DOY 112 year 1) to June 2014 (DOY 133 year 2), SWC (m³ m⁻³) was measured every 30 min, and data were averaged at daily scale.

Above-ground biomass and water-use efficiency

Vegetation was cut to 5 cm height at seven dates between April 2013 and June 2014, corresponding to five and two cuts in 2013 and 2014, respectively, to mimic current mowing practice for such vegetation. The first cut in April corresponded to a standardized harvest. Thus six cutting dates were used to define different periods of vegetation biomass production (g pot⁻¹) during the experiment: spring year 1 (DOY 113 to 143), early summer year 1 (DOY 144 to 190), late summer year 1 (DOY 191 to 224), autumn year 1 (DOY 225 to 280), autumn year 1 – early spring year 2 (DOY 281 to 101) and spring year 2 (DOY 102 to 161). At each cut, plant material was sorted by species, and green leaves were separated from inflorescences. Above-ground biomass, comprising all organs, was determined after ovendrying (60°C for 48 h) and weighing. Before the spring cut in year 1 and the spring cut in year 2, photosynthetic active radiation (PAR) extinction was measured using a Sunfleck ceptometer (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) to delimit two horizontal canopy layers (top and bottom), each contributing to approximately 50% of the absorbed PAR. For a given species and mixture, percentage of biomass of species present in the top layer (Biom st1, %) was calculated as the ratio of Biom st1 to total biomass.

For each year of measurement, integrated water-use efficiency (WUE, g kg⁻¹) was calculated as the ratio of annual above- ground biomass to annual evapotranspiration (sum of daily evapotranspiration).

Leaf traits and N measurements

Specific leaf area (SLA, m² kg⁻¹) and leaf dry matter content (LDMC, mg g⁻¹) were measured for all pots and species, using two leaves per species per pot, at two sampling dates (spring year 1: DOY 136 and year 2: DOY 157) to characterize species' strategies for resource acquisition and resource use. Above-ground biomass and SLA were used to calculate community leaf area (L.area, m² pot⁻¹) for each period. Plant vegetative height of each species present in each community was measured throughout the experiment by averaging five measurement points per species and per pot (measurements at 18 dates between spring year 1 and spring year 2). Increase in height between two consecutive dates divided by day number was calculated and defined as height growth rate. Maximum values for each period of cuts was calculated and averaged by treatment (H.growth, cm day⁻¹) Green leaves sampled at each cutting date from May 2013 to June 2014 were oven-dried (60°C, 48 h) and ball-milled (MM200, Retsch, Germany). Samples weighing 1 mg were combusted and analyzed for leaf nitrogen content (N, %; IsotopeCube, Elementar, Hanau, Germany) and leaf ¹³C isotopic composition (Isoprime 100, IsoPrime, Manchester, UK) at the stable isotope facility at INRA Nancy, France. Carbon isotopic composition (δ 13C, ‰) was expressed with an analytical precision of 0.2‰ (standard deviation) and measured for three periods of biomass production (spring year 1, autumn year 1, and spring year 2).

Nitrogen yield (Nyield g N pot⁻¹) was calculated by multiplying N by biomass, and Nyield/ET (g N kg⁻¹) was the ratio of Nyield to evapotranspiration. This trait expresses the link between N and water use and thus the cost of water necessary to produce shoot N.

Root measurements

From spring 2013 to May 2014, root images were recorded each month or twice a month using a minirhizotron system (BTC-2, Bartz Technology, USA) inserted into the acrylic tubes toward the base of each pot. At each date, 11 images (each 1.35 cm x 1.8 cm) were recorded, and length of root segments was measured manually using WinRHIZOTronMF software (V2005a, Regent Instruments, Canada). For each date, length was modified according to growth event, and was expressed per unit tube area (mm cm⁻²). For each tube and date, the root length of the 11 images was averaged. Increase in root length between two consecutive dates divided by day number was calculated and defined as root length growth rate. Maximum values for each period of cuts was calculated and averaged by treatment (R.growth, mm cm⁻² day⁻¹). During summer of year 2, two soil cores per pot (3 cm diameter, 20 cm depth) were collected in June 2014 (DOY 153 year 2). For each pot, the two cores were mixed and the roots were washed, oven-dried (60°C, 48 h) and weighed, and dry mass expressed per soil volume (R.mass, mg cm⁻³).

Community-Weighted Mean traits

For each mixture, community-weighted mean (CWM) traits were calculated on 10 variables (Biom st1, δ 13C, H.growth, L.area, LDMC, N, Nyield/ET, REW, R.growth, WUE). The following equation was used: CWM = $\sum_{i=1}^{S} p_i t_i$, where *S* is the number of species in the community and t_i are species-specific trait values; p_i are the species proportion (i) in total biomass for LDMC, (ii) in green leaves for N, and (iii) in leaf area for δ 13C. Other traits were

obtained directly at the community level: R.growth, Biom st1, L.area, WUE, Nyield/ET and REW. These 10 variables were previously selected for their potential function in link with N, water and/or light resources (Table 3-1) and then pairwise-tested to bring out the absence of correlation.

Functional trait diversity was computed as Raò's quadratic entropy (FD_Q, Leps et al., 2006) on six of the 10 variables because they were measured at species level (Biom st1, δ 13C, H.growth, L.area, LDMC, N), whereas the others were measured at community level (Nyield/ET, REW, R.growth, WUE). All information concerning the calculation and analysis of FD_Q traits are explored in Supplementary Material.

Diversity effects

Above-ground biomass for each period was used to calculate the net diversity effect, which is the difference, summed across species, between observed and expected biomass in mixtures. The expected biomass of each species in a mixture is the product of biomass in monoculture and its proportion in total above-ground biomass in the mixture. We used the method described by Loreau and Hector (2001) to additively partition the net diversity effect in mixtures into complementarity and selection effects. Positive complementarity effect occurs if species yields in a mixture are on average higher than expected on the basis of the weighted average monoculture yield of the component species. We additionally calculated the proportional deviation of species *i*'s biomass from its expected value (D_i), which reveals the sign and magnitude of the net effect on each species of the interactions with the other species in a mixture (Loreau, 1998), according to the equation:

$$D_i = \frac{\text{biomass}_{\text{obs}_i} - \text{biomass}_{\text{exp}_i}}{\text{biomass}_{\text{exp}_i}}$$

biomass_{obs *i*} and biomass_{exp *i*} are the measured and expected biomasses of species *i*, respectively. Similarly, D_i was calculated for averaged grasses (D_{Grass}) and *Trifolium* (D_{Leg}) species. Positive values for D_{Grass} or D_{Leg} show that grasses or *Trifolium* produced more biomass in the mixture than expected based on monoculture, suggesting higher intra- than interspecific competition, facilitation or niche complementarity between species. In contrast, a negative D_{Grass} or D_{Leg} indicates that grasses or *Trifolium* produced less biomass in mixture than expected, suggesting a higher inter than intra-specific competition.

Statistical analyses

A nested linear model was used to test the effect of species-richness (S: 1, 2) and *Trifolium* presence in the monocultures and two-species mixtures (Leg: leg-, leg+) on above-ground biomass, ET, WUE, L.area, N, Nyield/ET, REW, deep R.growth and topsoil root mass. Using species composition as nested random factor, we tested the effects of species richness, legume presence and their interaction. Data were first transformed when necessary (square root or boxcox transformation) to conform to the assumptions of normality and homogeneity of variances (R package car). Analysis of variance (ANOVA) on mixed effect models and the *post hoc* Tukey test were performed for each annual data, whole experiment and for six periods in case of biomass (R packages lme4 and lsmeans).

Then, two nested linear mixed models were used to test the effect of species-richness (S: 1, 2, 5 species, model 1) and *Trifolium* presence in the two-species mixtures (Leg: leg-, leg+, model 2) on above-ground biomass and the same set of traits (ET, WUE, L.area, N, Nyield/ET, REW, deep R.growth and topsoil root mass). For model 1, we tested the effects of species richness (diversity effect) as fixed factor and species composition as random factor nested within species richness in order to assess contributions from species identity and richness by partitioning the variance between identity nested under richness (Giller et al., 2004; Vanelslander et al., 2009). However, it was not possible to separate this effect for the five-species mixture because it was not truly replicated like other sward. Although this is a drawback in the diversity effect analysis, we included this mixture because it supplies information on plant interactions when all species are grown together (Vanelslander et al., 2009). For model 2, we tested the effects of legume presence in the two-species mixtures as fixed factor and species composition as random factor nested within legume presence. ANOVA on mixed models (models 1 and 2) were performed for each annual data and whole experiment.

Effects of S (1, 2, 5) and Leg were tested using nested repeated measures ANOVA on REW and SWC at three depths, with the fixed factors of models 1 and 2 and with species composition, pot and date as random factors (R packages nlme and lsmeans).

Standardized principal components analyses (PCA) were performed to explore relationships between sward types (monocultures and mixtures) and 10 variables including traits related to light, nitrogen and water uses averaged over the experimental period (R package ade4).

Given the observed importance of CWM predictors over FD traits explaining variation in above-ground biomass production and diversity effects (Supplementary material), we used statistical models with the CWM of 10 variables in order to select the main traits contributing to the amount of explained variation in above-ground biomass production and diversity effects. Within each class of models, we selected the best fit based on leave-one-out cross validation (R packages car and leaps). The coefficient of determination R² is given as a summary measure for explained variation. The final selected models contain five traits, as adding additional variables did not significantly increase R². We also studied the relative importance of each variable within each model selected using the proportional marginal variance decomposition metric proposed by Feldman (2005), which can be interpreted as a weighted average over orderings among regressors, with data-dependent weights (R package relaimpo). The qualitative exclusion/inclusion of traits has recently been generalized to a more quantitative approach where relative weights for the different traits can additionally be estimated (Schumacher and Roscher, 2009). For PCAs and model selection, average data for the whole experiment and summer of year 2 (period 102–161) are shown, owing to a more pronounced effect of legume presence at the end of the experiment. All statistical analyses were carried out with R software (R Core Team, 2009).

Results

Species richness effect

Species richness (S: 1, 2, 5) had no significant effect on seven of the eight plant variables including above-ground biomass (Model 1 in Table 3-2; Figures 3-1 and 3-2). The only exception was observed during the first year for the maximum deep root length growth rate which had 2.4-fold higher values in the five-species mixtures compared to monocultures (Figure 3-2). In addition in summer of the second year soil REW had 10% lower values in the five-species mixtures compared to monocultures (P = 0.087 and P = 0.068, Figure 3-3; Table 3-3) This trend was also observable in SWC at 15 and 50 cm (Supplementary Figure 3-S1). We also observed a trend toward positive net diversity and complementarity effects in fivespecies mixtures especially in summer of year 2 (40.3 g pot⁻¹ and 38 g pot⁻¹) respectively, data not shown). Similarly, species richness (S: 1, 2) had no significant effect on five of the eight plant variables (Table 3-4). Indeed, doubling the number of species (1 vs. 2) only had positive effect on above-ground biomass, Nyield/ET and R.growth in year 2, whereas doubling the number of grass species in the sward had no effect on plant or soil characteristics (1- vs 2-, Figures 3-1, 3-2 and 3-3). Otherwise, we measured a strong Leg effect on the eight plant variables in monocultures and two-species mixtures, mostly in year 2 (P < 0.001; Table 3-4). Then, no significant interaction between S and Leg was observed, except for topsoil root mass (R.mass) in year 2, meaning that legume presence effect was independent of species richness (Figures 3-1 and 3-2).

Table 3-2 Effects of species richness (S, Model 1), *Trifolium repens* presence in two-species mixtures (Leg, Model 2) on above-ground biomass, evapotranspiration (ET), leaf area (L.area), community-weighted mean of N (N), plant water-use efficiency (WUE), ratio of Nyield to ET (Nyield/ET), maximum root length growth rate measured at 80 cm depth (R.growth), and root mass measured at 20 cm (R.mass). Averages or cumulated values over the whole experiment period were used for all variables, except for root mass, for which data of June 2014 were used. Bold and underlined P-values correspond to significant differences: P < 0.05 and P < 0.10, respectively. For S: 1, 2, and 5 species treatments were compared; for Leg: presence (+) or absence (-) of *T. repens* species in the two-species mixtures were compared; NumDF and DenDF are degrees of freedom of term and degrees of freedom of error term (which can be fractional in residual maximum likelihood analysis).

		Model 1		Mod	el 2
Variables	Period	Num/Den DF	S P-value	Num/Den DF	Leg P-value
Biomass	2013	2/14.1	0.336	1/8	0.206
	2014	2/14.1	0.247	1/8	< 0.001
	Total	2/14.1	0.226	1/8	0.003
ET	2013	2/14.1	0.148	1/8	0.107
	2014	2/14	0.422	1/8	< 0.001
	Total	2/14.1	0.145	1/8	< 0.005
L.area	2013	2/14.1	0.312	1/8	0.020
	2014	2/14.1	0.283	1/8	< 0.001
	Total	2/14.0	0.251	1/8	< 0.001
Ν	2013	2/14.1	0.781	1/8	0.016
	2014	2/14.0	0.593	1/8	< 0.001
	Total	2/14.0	1	1/8	< 0.002
WUE	2013	2/14.0	0.754	1/8	0.404
	2014	2/14.0	0.144	1/8	< 0.001
	Total	2/14.1	0.307	1/8	0.001
Nyield / ET	2013	2/14.2	1	1/8	0.015
	2014	2/14.0	0.168	1/8	< 0.001
	Total	2/14.1	0.734	1/8	< 0.001
R.growth	2013	2/14.2	< 0.001	1/8	0.176
-	2014	2/13.9	0.122	1/8	< 0.001
	Total	2/14.2	< 0.001	1/8	0.083
R.mass	2014	2/14.7	0.181	1/8	0.049



Figure 3-1 Above-ground biomass, evapotranspiration (ET), community-weighted mean of N (N), leaf area (L.area), water-use efficiency (WUE) and ratio of Nyield to ET (Nyield/ET) measured in 2013 and 2014, for monocultures without (1-) or with *Trifolium repens* (1+), two-species mixtures without (2-) and with (2+) *T.repens* and five-species mixture with *T.repens* (5+). Mean values \pm SEM are shown. For each variable and year, *post hoc* test was performed for all treatments except 5+; different letters correspond to statistical differences (P < 0.05). NS: P > 0.05.



Figure 3-2 Maximum root length growth rate measured at 80 cm depth in 2013 and 2014 and root mass measured at 20 cm in June 2014, for monocultures without (1-) and with (1+) *T. repens*, two-species mixtures without (2-) and with (2+) *T. repens* and five-species mixture with *T.repens* (5+). Mean values \pm SEM are shown. For each variable and year, *post hoc* test was performed for all treatments except 5+; different letters correspond to statistical differences (P < 0.05).



Figure 3-3 Temporal dynamics of soil relative extractable water (REW) for monocultures without (1-) and with (1+) *T. repens*, two-species mixtures without (2-) and with (2+) *T. repens* and five-species mixture with *T.repens* (5+). Seven-days averages are shown. Arrows correspond to cutting events.

Table 3-3 Effects of species richness (S, Model 1) and *T.repens* presence in two-species mixtures (Leg, Model 2) on soil relative extractable water (REW). Averages values over each period were used. P-values are shown. Bold and underlined values correspond to significant differences: P < 0.05 and P < 0.10, respectively. For S: 1, 2, and 5 species treatments were compared; for Leg: presence (+) or absence (-) of *T* .repens species mixtures were compared; NumDF is degrees of freedom of term.

		N	Model 1			lel 2
Year	Period	Num DF	S P-value		Num DF	Leg P-value
2013	113-143	2	0.323		1	0.258
2013	144-190	2	0.087		1	0.280
2013	191-224	2	0.068		1	0.165
2013	225-280	2	0.143		1	0.088
2013-2014	281-101	2	0.396		1	0.007
2014	102-132	2	0.200		1	0.003

Table 3-4 Effects of species richness (S: 1, 2), *T.repens* presence presence in one and two-species mixtures (Leg) and their interaction on above-ground biomass, evapotranspiration (ET), leaf area (L.area), community-weighted mean of N (N), plant water-use efficiency (WUE), ratio of Nyield to ET (Nyield/ET), maximum root length growth rate measured at 80 cm depth (R.growth), and root mass measured at 20 cm (R.mass). Averages or cumulated values over the whole experiment period were used for all variables, except for root mass, for which data of June 2014 were used. Bold and underlined P-values correspond to significant differences: P < 0.05 and P < 0.10, respectively. NumDF and DenDF are degrees of freedom of term and degrees of freedom of error term.

Variables	Dariad	Num/Den	S	Leg	S x Leg
variables	Period	DF	P-value	P-value	P-value
Biomass	2013	1/11	0.356	0.291	0.791
	2014	1/11	0.043	0.0001	0.594
	Total	1/11	0.157	0.013	0.663
ET	2013	1/11	0.332	0.095	0.765
	2014	1/11	0.800	0.001	0.674
	Total	1/11	0.245	0.008	0.704
L.area	2013	1/11	0.626	0.038	0.825
	2014	1/11	0.111	<.0001	0.879
	Total	1/11	0.312	< 0.001	0.847
Ν	2013	1/11	0.654	0.031	0.759
	2014	1/11	<u>0.083</u>	<.0001	0.944
	Total	1/11	0.622	0.001	0.220
WUE	2013	1/11	0.430	0.675	0.589
	2014	1/11	<u>0.076</u>	<.0001	0.840
	Total	1/11	0.198	0.012	0.571
Nyield / ET	2013	1/11	0.647	0.013	0.636
	2014	1/11	0.007	<.0001	<u>0.090</u>
	Total	1/11	0.392	0.0001	0.252
R.growth	2013	1/11	0.190	0.570	0.639
	2014	1/11	0.011	<.0001	0.148
	Total	1/11	0.150	0.350	0.738
R.mass	2014	1/11	0.392	0.001	0.020

Effect of Trifolium presence in two-species mixtures on community traits

Trifolium presence had a significant effect in the second year on all plant characteristics recorded (Model 2, in Table 3-2; Figures 3-1 and 3-2). From autumn of year 1 (DOY 280, Tables 3-2 and 3-3), biomass, ET, L.area, N, WUE, and Nyield/ET increased significantly in sward containing *Trifolium* species, which corresponded to its higher proportion in the biomass (Table 3-5). In addition, at the end of the experiment, N content of grasses growing with *Trifolium* was 53% higher than that of grasses growing without it (Supplementary Table S1). In the presence of *Trifolium*, REW measured from autumn of year 1 decreased (Figure 3-3; Table 3-3) whereas deep root growth (Figure 3-2) increased. Data of REW measured at whole soil water availability were confirmed with measurement of SWC at 50 cm (-14%, P < 0.01) from DOY 280; Supplementary Figure 3-S1).

Table 3-5 Above-ground biomass (g pot⁻¹) and *T. repens* proportion in the biomass for each cut in 2013 and 2014 and cumulated for the whole experiment. Average values for five (1-, 1+, 2-, 2+, 5+) and two (2+, 5+) diversity treatments (Treat.) are shown. For a given period, post hoc tests were performed to compare biomass of all treatments except (5+) and to compare *T. repens* proportion between 2+ and 5+ treatments; different letters indicate statistical difference between treatments (P < 0.05).

Year		2013				201	4	Whole experiment		
Variable	Treat.	113-143	144-190	191-224	225-280	281-101	102-161	113 y1 - 161 y2		
Biomass	1-	92.6 a	149.6 a	85.3 a	74.1 c	59.1 c	54.6 b	515.2 b		
	1+	31.2 b	159.7 a	120.4 a	134.8 ab	100.3 ab	118.3 a	664.6 ab		
	2-	90.5 a	176.8 a	98.0 a	74.1 c	56.7 c	60.7 b	556.6 b		
	2+	84.4 a	176.8 a	115.3 a	132.4 a	114.3 a	155.1 a	778.2 a		
	5+	93.5	190.7	121.6	89.4	67.6	150.4	713.1		
T. repens	2+	0.028 a	0.219 a	0.356 a	0.520 a	0.617 a	0.680 a	0.433 a		
proportion	5+	0.011 a	0.011 b	0.037 b	0.107 b	0.337 a	0.433 a	0.170 a		

Time dependence of diversity effects in two-species mixtures with Trifolium

A significant net positive diversity effect was observed on two-species mixtures, but only with *Trifolium* presence (2+), from autumn in year 1 (+17.8 g pot⁻¹; P < 0.01, DOY 225–280) to spring in year 2 (+36.9 g pot⁻¹; P < 0.01, DOY 102–161; Figure 3-4A). This overyielding was mostly due to a positive complementarity effect (75%, +22.6 and 46.1 g pot⁻¹, for DOY 191–224 until DOY 101–161, respectively; Figure 3-4B), the selection effect being nil or negative throughout the experiment (data not shown). Also, the net diversity effect measured

on above-ground biomass in the two-species mixture with *Trifolium* can be sorted into two components, D_{Grass} and D_{Leg} (Figure 3-4C). D_{Grass} was significantly positive from summer in the first year (P < 0.01, DOY 191–224) until the following spring (P < 0.001, DOY 102–161), while D_{Leg} was significantly positive during spring in the first year (P < 0.001, DOY 113–143) and in the second year (P < 0.05, DOY 102-161; Figure 3-4C). In addition, for the two-species mixtures, D_{Grass} measured with *Trifolium* (2+) was higher than the D_{Grass} measured without it (2-) from autumn year 1 to the following spring (P < 0.001, DOY 225–280, Figure 3-4C), highlighting a significant effect of the legume species on grass biomass in mixtures.

Trait syndromes of monocultures and mixtures

For the PCA based on 10 plant traits of monocultures, the two axes explained 75.5% of variation (Figure 3-5, left). The first axis, accounting for 46.6% of species variation in multiple traits, had a high positive loading for LDMC together with high negative loadings for Nyield/ET, L.area, and WUE. The first principal component clearly separated short grasses (*Poa*, *Trisetum*) from *Trifolium*. The second principal component accounted for about 28.9% of species variation in multiple traits. This axis had a high positive loading for N and high negative loadings for H.growth and R.growth. The second principal component clearly separated short grasses (*Dactylis*, *Festuca*).

For the mixtures, the two axes explained 69.8% of variation (Figure 3-5, right). The first principal component accounted for 50.1% of variation among mixtures. This axis had a high positive loading for LDMC and high negative loadings for L.area, Nyield/ET and WUE. The first axis clearly separated grass mixtures from mixtures with *Trifolium*. The second axis explained about 19.8% of variation in traits among mixtures, and was characterized by a high positive loading for H.growth and high negative loadings for N and Biom st1.



Figure 3-4 Net diversity effect (A), complementarity effect (B) and proportional deviation of grass and *T. repens* species biomass from its expected value (C) in mixtures with two species: 2-, 2+, for different periods in 2013 and 2014. Mean values \pm SEM are shown.



Figure 3-5 Standardized principal component analysis (PCA) combining 10 traits for the five-species monocultures (left) and community-weighted means of trait values (CWM) on 10 functional traits for mixtures of two and five species-mixtures (right), averaged over the experimental period. Biom st1, percentage of biomass in the top canopy layer (%); δ 13C, leaf C isotopic composition (‰); H.growth, growth height (cm day⁻¹); L.area, leaf area (m² pot⁻¹); LDMC, leaf dry matter content (mg g⁻¹); N, N community-weighted mean (%); Nyield/ET, ratio of Nyield to evapotranspiration (g kg⁻¹); REW, soil relative extractable water; R.growth, max root length growth rate at 80 cm depth (mm cm⁻² day⁻¹); WUE, integrated water use efficiency (g kg⁻¹); dg, fa, pp, tf, tr correspond to monocultures of *Dactylis*, *Festuca*, *Poa*, *Trisetum* and *Trifolium*, dg-fa, dg-pp, dg-tf, dg-tr, fa-pp, fa-tf, fa-tr, pp-tf, pp-tr and tf-tr correspond to two-species mixtures of *Dactylis-Festuca*, *Dactylis-Poa*, *Dactylis-Trisetum*, *Dactylis-Trifolium*, fg-fa-pp-tf-tr corresponds to the five-species mixture *Dactylis-Festuca-Poa-Trisetum*, *Trifolium*, Trisetum-Trifolium; dg-fa-pp-tf-tr corresponds to the five-species mixture *Dactylis-Festuca-Poa-Trisetum*.

Prediction of biomass production, net diversity, and complementarity effects with community traits

For the scale of the whole experimental period (20 months), final prediction models containing five traits yielded high prediction of biomass ($R^2 = 0.95$), net diversity ($R^2 = 0.932$) and complementarity ($R^2 = 0.927$; Table 3-6). Biomass production was best explained by the combination of WUE, L.area, REW, R.growth and H.growth ($R^2 = 0.95$; Table 3-6). The main contributors were WUE (49.3%) and L.area (41.4%), ordering species along strategy spectra with regard to water acquisition and use, more than N or light capture. Indeed, leaf area was mostly used as a proxy of evapotranspiration considering the strong correlation measured with ET for the whole experiment ($R^2 = 0.58$, P < 0.0001) as well as in summer of year 2 ($R^2 = 0.50$, P = 0.003. For the net diversity effect, a combination of CWM traits characterizing efforts in water and N acquisition and use were selected: L.area (35.6%), WUE (24.5%), and N (24.2%). The best prediction of complementarity effect then included the same variables: L.area (39.8%), WUE (27.2%), N (15.6%), and also Nyield/ET (10.4%) and H.growth (6.9%).

These ordered mixtures mainly along strategy spectra with regard to water acquisition and use, but also N use. Similarly, taking into account only the summer period of the second year, L.area a trait mainly correlated to water use, principally explained biomass (97.5%), net diversity (89.8%) and complementarity (76.3%) effects (Table 3-6).

Table 3-6 Summary of best statistical models based on 10 community-weighted means of trait values (CWM) predictor variables for community biomass, net diversity effect, and complementarity effect. The final selected models contain five traits, as adding additional variables did not significantly increase R. The five selected traits and relative importance of R^2 (%R²) are shown for whole experiment and summer of year 2 (period 102–161). Models were developed with both two and five-species mixtures.

Period		\mathbb{R}^2	10 traits: CWM					
	Biomass	0.950	Selected traits	WUE	L.area	REW	R.growth	H.growth
			% R ²	49.3	41.4	3.4	3.1	2.8
Whole	Net diversity	0.932	Selected traits	L.area	WUE	Ν	Nyield/ET	H.growth
experiment	effect		% R ²	35.6	24.5	24.2	9.8	6.1
	Complementarity	0.927	Selected traits	L.area	WUE	Ν	Nyield/ET	H.growth
	effect		% R ²	39.8	27.2	15.6	10.4	6.9
	Biomass	0.968	Selected traits	L.area	LDMC	REW	Biom st1	Nyield/ET
			% R ²	97.5	0.9	0.8	0.8	0.7
summer	Net diversity	0.929	Selected traits	L.area	LDMC	WUE	Biom st1	REW
year 2	effect		% R ²	89.8	5.1	4.0	1.0	0.2
	Complementarity	0.883	Selected traits	L.area	R.growth	Biom st1	LDMC	WUE
	effect		% R ²	76.3	7.4	6.2	5.4	4.6

Discussion

Overall, our results confirmed that functional diversity through *Trifolium* presence is more important than species richness to explain biomass production and diversity effects (Tilman et al., 2002). Our data showed no significant effect of species richness (1, 2, 5 species) for biomass production and traits related to N and water-use. In fact the absence of richness effect contradicts with most of diversity experiments (Loreau and Hector, 2001; Spehn et al., 2005) and should be due to the lack of statistical power necessary to test species richness. Moreover, without taking into account the five-species mixtures, a supplementary test of richness effect made on monoculture and two-species mixtures underlines that species richness had minor effect relative to that of *Trifolium* presence on most of the traits including biomass (Table 3-4). Thus, species richness effects in two-species mixtures seem to be confounded with the presence of *Trifolium*. This result appears consistent with most of diversity experiments, which showed positive diversity effect on biomass production in mixtures including legume species (Loreau and Hector, 2001; Spehn et al., 2005). Then in our experiment, by using a set

of traits related to light, N and water uptake and use, we showed that both the two and fivemixtures with *Trifolium* exhibited similar trait syndromes and thus similar strategies for resources uptake and use (Figure 3-5). Together with trends toward similar biomass production, diversity and complementarity effects in the two and five-mixtures with *Trifolium*, these results highlighted that the lack of significant effect in the five-mixtures should be due to the slow development of *Trifolium* (Table 3-5). Altogether our results confirmed that the presence of *Trifolium* promoted biomass production, overyielding and had a pronounced effect on traits related to N and water use, especially in the two species mixtures. This emphasised that *Trifolium* presence is the main determinant of above-ground production and of diversity effects in our mixtures whatever the grass species associated.

According to others studies (Loreau and Hector, 2001; Spehn et al., 2005; Cardinale et al., 2007), complementarity effects mainly explained the net diversity effects we observed in the two species mixtures. Facilitation and niche differentiation, both included in the complementarity effect described by Loreau and Hector (2001), have been suggested as potential underlying mechanisms for positive diversity effects on biomass production. Higher shoot nitrogen measured in sward containing Trifolium from the beginning of the experiment and in the associated grass at the end of the experiment underline N facilitation induced by the legume (Spehn et al., 2002; Lambers et al., 2004; Temperton et al., 2007; Brooker et al., 2008; Marquard et al., 2009). Low root mass at the shallow soil layer in mixtures containing *Trifolium*, as well as positive D_{Grass}, also suggest N facilitation by the legume in summer of year 2. Furthermore, the analysis based on model selection highlighted that traits related to N acquisition and use (N, Nyield/ET) were important determinants of net diversity and complementarity effects, but not of biomass production. Unexpectedly for the second year, N traits disappeared from the selected models although N facilitation induced by Trifolium was observed. Indeed the selected models highlighted the importance of leaf area, a trait highly correlated with evapotranspiration in our experiment, which suggest that traits related to water use mostly explained biomass, diversity and complementarity effects in mixtures. Furthermore, traits related to above-ground dominance (light resource) were also included in the models for the whole experiment, but showed less than 7% of the total variance and disappeared in the model developed for summer of the second year. Thus, light availability appears to play a minor role for the outcome of plant-plant interactions including Trifolium (but see FD traits related to light in the Supplementary Material). Overall model selection underlined the importance of water compared to N traits as predictors of biomass production and diversity effects. However, we cannot rule out that leaf area which is an integrated trait can be related to N and light capture.

Our results suggest that resources other than N should also be considered to explain the positive effects of legumes in grass-legume mixtures (Hoekstra et al., 2014). Using direct measurement of evapotranspiration and soil REW, our data highlighted that the presence of Trifolium in mixtures promoted water use, suggesting a more exhaustive exploitation of soil water due to higher complementarity (Høgh-Jensen and Schjoerring, 1997; Verheyen et al., 2008). Although higher water use due to niche complementarity effect was proposed as underlying mechanism of diversity-productivity relationship, few studies measured water use in diverse mixtures and inconsistent results have been observed. Some authors showed that in more species rich mixtures soil moisture either decline as a result of higher transpiration and biomass (De Boeck et al., 2006; Mokany et al., 2008; Verheyen et al., 2008), increased which was attributable to the increased shading by the canopy in more diverse plant mixtures (Rosenkranz et al., 2012), or caused no change (Stocker et al., 1999; Spehn et al., 2000; Leimer et al., 2014). In our experiment, in addition to higher ET, we highlighted both higher root growth and lower SWC in deep soil layer for mixtures containing Trifolium. Moreover, in shallow soil layers, low root density of Trifolium (Skinner and Comas, 2010) can lead to low competition for water uptake and thus to an increase of soil water availability for the associated grass species, in addition with facilitative effect on soil N induced by Trifolium. The model selection analysis also puts into evidence the importance of resources access from deep soil layer through deep root growth rate as a predictor of complementarity effect. This is in line with the findings of several authors who showed that root depth distributions in mixtures were more than twice higher as expected from monocultures (Skinner et al., 2006; Mueller et al., 2013). Moreover, spatial complementarity of the root systems of grass species, by assembling shallow (*Poa*, *Trisetum*) and deep (*Dactylis*, *Festuca*) rooted species, did not lead to higher biomass production or diversity effect. This suggests that vertical root differentiation and an increased deep exploitation of soil resources by the species in grass-Trifolium mixtures is due to root plasticity more than inherent different rooting distribution (Mommer et al., 2010; Skinner and Comas, 2010; Mueller et al., 2013).

In artificially manipulated mixtures, many studies underlined the time dependence of diversity effects that could be linked with the duration of the experiment (Cardinale et al., 2007). In case of grass-*Trifolium* mixtures, it is known that legume proportion fluctuates both from year to year and within single growth periods (Frame, 1986). These fluctuations can be linked with effects of abiotic and biotic factors on N2 fixation (Soussana and Tallec, 2010).

Our data suggest that increase proportion of *Trifolium* in mixtures until the summer in year 2 is associated with its establishment and then with the increase of diversity and complementarity effects. According to Haynes (1980), competition for light induced by grasses, together with competition for shallow soil resources, can slow the development of Trifolium. However, consecutive cut events would have decreased the negative shading effect of grass species, leading to progressive aerial establishment of Trifolium, which finally capped at about 60% of the above-ground biomass for the two-species mixtures in the year 2. The slow dynamic of *Trifolium* establishment, associated with the progressive N exportation through cuts and thus the likelihood of decrease in N soil content, is coherent with the time dependence of the positive effects of *Trifolium* on biomass production and complementarity. The observation of a time lag for the positive Trifolium effects effects establishment, measured only from autumn in year 1, is also consistent with the results of Spehn et al. (2005), Cardinale et al. (2007), and Reich et al. (2012). Higher deep root growth, lower soil REW and SWC at 50 cm indicate that competition for water induced by grasses having dense, and deep root systems (Zwicke et al., 2015) was sharper in the mixtures than in monocultures. This more stressful condition may have curbed the development of Trifolium, known to be drought-sensitive (Grieu et al., 2001). Nonetheless, a strong positive effect of Trifolium was measured on the grass species associated and on the community even in case of low proportion of legume in the mixture (30% in the two-species mixtures). Despite it is consistent with Suter et al. (2015), our findings partly conflict with their results which demonstrated a considerable N yield increase with increasing legume proportion up to about 30%, until a plateau is reached. It indicates that almost all of the maximum benefits to N yield from mixing grasses and T. repens can be achieved with a modest legume proportion in the mixture. However, in our study we measured a significant correlation between Trifolium proportion (and/or *Trifolium* biomass) and D_{Grass}, shoot N of the grass associated, net diversity and complementarity effects in mixtures over a wide range of legume proportions. Furthermore, for D_{Grass}, we measured the strongest increase when *Trifolium* proportion was superior to 50%. Finally, our results unexpectedly highlighted a mutual facilitative interaction between grass and Trifolium in mixtures. Indeed, if our results showed a positive and delayed effect of *Trifolium* on the associated grass species, we also underline the reverse effect with a D_{Leg} significantly positive during spring of years 1 and 2 for the two-species mixtures. For spring in year 1, the positive D_{Leg}, also measured for the five- species mixtures, appeared with very low *Trifolium* proportions (< 5%). Despite we expected strong light competition induced by the grass species on Trifolium at the beginning of the experiment, the positive D_{Leg} underlines the existence of a strong facilitative effect of the grass on the legume species. This could be due to an indirect positive effect of the grass species associated, through lower soil N availability enabling N_2 fixation initiation. Overall our data highlight the fact that the amount of positive interactions due to *Trifolium* presence could be partly driven by its proportion and its biomass amount in the mixture and thus by the plant–plant interaction outcomes.

Conclusion

Our findings showed that observed complementarity effects leading to overyielding were driven by traits related to water and N acquisition and use, as well as by *Trifolium* abundance in the community. Below-ground complementarity through root plasticity inducing a shift in resource uptake to deeper soil layers led to higher above-ground production, evapotranspiration and also higher WUE in mixtures containing *T. repens*. For temperate grasslands, albeit legumes proportion are known to fluctuate over time, our findings showed a strong positive effect of *Trifolium* on biomass production and diversity effect over a large range of legume abundance in mixture.

Acknowledgments

We thank Patrick Pichon, Alexandre Salcedo, Robert Falcimagne, David Colosse, Sandrine Revaillot, Jean-Luc Ollier, Antoine Vernay, Marie Eve Cordova, and Marie-Elsa Lefranc for their help with the experimental set-up, data collection, chemical analyses, and site management. Christian Hossann from INRA Nancy (PTEF analysis laboratory) is also acknowledged for ¹³C and N analyses.

References

- Berendse, F. (1979). Competition between plant populations with different rooting depths I. Theoretical considerations. *Oecologia* 43, 19-26.
- Brooker, R. W., Maestre, F. T., Callaway, R. M., Lortie, C. L., Cavieres, L. A., Kunstler, G., et al. (2008). Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *J. Ecol.* 96, 18–34. doi:10.1111/j.1365-2745.2007.01295.x.
- Caradus, J. R. (1977). Structural variation of white clover root systems. N. Z. J. Agric. Res. 20, 213–219. doi:10.1080/00288233.1977.10427325.
- Cardinale, B. J., Wright, J. P., Cadotte, M. W., Carroll, I. T., Hector, A., Srivastava, D. S., et al. (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 18123–18128. doi:10.1073/pnas.0709069104.
- Craine, J. M., and Dybzinski, R. (2013). Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Funct. Ecol.* 27, 833–840. doi:10.1111/1365-2435.12081.
- De Boeck, H. J. D., Lemmens, C. M. H. M., Bossuyt, H., Malchair, S., Carnol, M., Merckx, R., et al. (2006). How do climate warming and plant species richness affect water use in experimental grasslands? *Plant Soil* 288, 249–261. doi:10.1007/s11104-006-9112-5.
- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., Quétier, F., Grigulis, K., and Robson, T. M. (2007). Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 20684–20689. doi:10.1073/pnas.0704716104.
- Dimitrakopoulos, P. G., and Schmid, B. (2004). Biodiversity effects increase linearly with biotope space. *Ecol. Lett.* 7, 574–583. doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00607.x.
- Dybzinski, R., Fargione, J. E., Zak, D. R., Fornara, D., and Tilman, D. (2008). Soil fertility increases with plant species diversity in a long-term biodiversity experiment. *Oecologia* 158, 85–93. doi:10.1007/s00442-008-1123-x.
- Evans, P.S. (1977). Comparative root morphology of some pasture grasses and clovers. *New Z. J. Agr. Res.* 20, 331-335.
- Fargione, J., and Tilman, D. (2005). Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. *Oecologia* 143, 598–606. doi:10.1007/s00442-005-0010-y.

- Feldman, B. E. (2005). Relative importance and value. Rochester, NY: Social Science Research Network Available at: http://papers.ssrn.com/abstract=2255827 [Accessed October 20, 2015].
- von Felten, S., Hector, A., Buchmann, N., Niklaus, P. A., Schmid, B., and Scherer-Lorenzen, M. (2009). Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. *Ecology* 90, 1389–1399.
- von Felten, S., and Schmid, B. (2008). Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. *J. Plant Ecol.* 1, 33–41. doi:10.1093/jpe/rtm006.
- Frame, J. (1986). The production and quality potential of four forage legumes sown alone and combined in various associations. *Crop Res.* 25, 103–122.
- Giller, S.P., Hillebrand, H., Berninger, U.-G., O. Gessner, M., Hawkins, S., Inchausti, P., et al. (2004). Biodiversity effects on ecosystem functioning: emerging issues and their experimental test in aquatic environments. *Oikos* 104, 423-436.
- Grieu, P., Lucero, D. W., Ardiani, R., and Ehleringer, J. R. (2001). The mean depth of soil water uptake by two temperate grassland species over time subjected to mild soil water deficit and competitive association. *Plant Soil* 230, 197–209. doi:10.1023/A:1010363532118.
- Haynes, R.J. (1980). Competitive aspects of the grass-legume association. *Adv. Agron.* 33, 227-261.
- Hoekstra, N. J., Finn, J. A., Hofer, D., and Lüscher, A. (2014). Do belowground vertical niche differences between deep- and shallow-rooted species enhance resource uptake and drought resistance in grassland mixtures? *Plant Soil*. doi:10.1007/s11104-014-2352-x.
- Høgh-Jensen, H., and Schjoerring, J. K. (1997). Effects of drought and inorganic N form on nitrogen fixation and carbon isotope discrimination in Trifolium repens. *Plant Physiol. Biochem.* 35, 55–62.
- Jarvis, S.C., Wilkins, R.J., and Pain, B.F. (1996). Opportunities for reducing the environmental impact of dairy farming managements: a systems approach. *Grass Forage Sci.* 51, 21–31.
- Kahmen, A., Renker, C., Unsicker, S. B., and Buchmann, N. (2006). Niche complementarity for nitrogen: an explanation for the biodiversity and ecosystem functioning relationship? *Ecology* 87, 1244–1255.
- Kutschera, L., Lichtenegger, E. and Sobotik, M (1992). Wurzelatlas mitteleuropäischerGrünlandpflanzen: Morphologie, Anatomie, Ökologie, Verbreitung, Soziologie,Wirtschaft. Gustav Fischer.

- Lambers, J., Harpole, W.S., Tilman, D., Knops, J., and Reich, P.B. (2004). Mechanisms responsible for the positive diversity–productivity relationship in Minnesota grasslands. *Ecol. Lett.* 7, 661-668.
- Leimer, S., Kreutziger, Y., Rosenkranz, S., Beßler, H., Engels, C., Hildebrandt, A., et al. (2014). Plant diversity effects on the water balance of an experimental grassland. *Ecohydrology* 7, 1378–1391. doi:10.1002/eco.1464.
- Leps, J., De Bello, F., Lavorel, S., and Berman, S. (2006). Quantifying and interpreting functional diversity of natural communities: practical considerations matter. *Preslia* 78, 481–501.
- Loreau, M. (1998). Separating sampling and other effects in biodiversity experiments. *Oikos* 82, 600–602. doi:10.2307/3546381.
- Loreau, M., and Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76. doi:10.1038/35083573.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., et al. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* 294, 804–808. doi:10.1126/science.1064088.
- Louault, F., Pillar, V.D., Aufrere, J., Garnier, E. and Soussana, J.F. (2005). Plant traits and functional types in responses to reduced disturbance in semi-natural grassland. J. Veg. Sci. 16, 151-160.
- Marquard, E., Weigelt, A., Temperton, V. M., Roscher, C., Schumacher, J., Buchmann, N., et al. (2009). Plant species richness and functional composition drive overyielding in a sixyear grassland experiment. *Ecology* 90, 3290–3302. doi:10.1890/09-0069.1.
- Mason, N.W.H., Mouillot, D., Lee, W.G., and Wilson, J.B. (2005). Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111, 112–118.
- Mokany, K., Ash, J., and Roxburgh, S. (2008). Functional identity is more important than diversity in influencing ecosystem processes in a temperate native grassland. J. Ecol. 96, 884–893. doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01395.x.
- Mommer, L., Van Ruijven, J., De Caluwe, H., Smit-Tiekstra, A. E., Wagemaker, C. A. M., Joop Ouborg, N., et al. (2010). Unveiling below-ground species abundance in a biodiversity experiment: a test of vertical niche differentiation among grassland species. J. Ecol. 98, 1117–1127. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01702.x.

- Mueller, K. E., Tilman, D., Fornara, D. A., and Hobbie, S. E. (2013). Root depth distribution and the diversity–productivity relationship in a long-term grassland experiment. *Ecology* 94, 787–793. doi:10.1890/12-1399.1.
- Nippert, J. B., and Holdo R.M. (2015). Challenging the maximum rooting depth paradigm in grasslands and savannas. *Funct. Ecol.* 29, 739–745.
- Nippert, J. B., and Knapp, A. K. (2007). Soil water partitioning contributes to species coexistence in tallgrass prairie. *Oikos* 116, 1017–1029. doi:10.1111/j.0030-1299.2007.15630.x.
- R Core Team. (2009). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.*
- Reich, P.B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S., Flynn, D. and Eisenhauer, N. (2012). Impacts of biodiversity loss escalate as redundancy fades. *Science*, 336, 589–592.
- Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., et al. (2012). Using plant functional traits to explain diversity–productivity relationships. *PLoS ONE* 7, e36760. doi:10.1371/journal.pone.0036760.
- Rosenkranz, S., Wilcke, W., Eisenhauer, N., and Oelmann, Y. (2012). Net ammonification as influenced by plant diversity in experimental grasslands. *Soil Biol. Biochem.* 48, 78–87. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.008.
- Schmid, B. (2002). The species richness-productivity controversy. *Trends Ecol. Evol.* 17, 113–114. doi:10.1016/S0169-5347(01)02422-3.
- Schumacher, J., and Roscher, C. (2009). Differential effects of functional traits on aboveground biomass in semi-natural grasslands. *Oikos* 118, 1659–1668. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17711.x.
- Schwinning, S., and Weiner, J. (1998). Mechanisms determining the degree of size asymmetry in competition among plants. *Oecologia* 113, 447–455. doi:10.1007/s004420050397.
- Silvertown, J., Dodd, M. E., Gowing, D. J. G., and Mountford, J. O. (1999). Hydrologically defined niches reveal a basis for species richness in plant communities. *Nature* 400, 61–63. doi:10.1038/21877.
- Skinner, R. H., and Comas, L. H. (2010). Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. *Crop Sci.* 50, 2178-2185. doi:10.2135/cropsci2009.08.0461.

- Skinner, R. H., Sanderson, M. A., Tracy, B. F., and Dell, C. J. (2006). Above- and belowground productivity and soil carbon dynamics of pasture mixtures. *Agron. J.* 98, 320. doi:10.2134/agronj2005.0180a.
- Soussana, J.-F., and Tallec, T. (2010). Can we understand and predict the regulation of biological N₂ fixation in grassland ecosystems? *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 88, 197-213.
- Spehn, E. M., Hector, A., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Bazeley-White, E., et al. (2005). Ecosystem effects of biodiversity manipulations in european grasslands. *Ecol. Monogr.* 75, 37–63. doi:10.1890/03-4101.
- Spehn, E. M., Joshi, J., Schmid, B., Alphei, J., and Körner, C. (2000). Plant diversity effects on soil heterotrophic activity in experimental grassland ecosystems. *Plant Soil* 224, 217– 230. doi:10.1023/A:1004891807664.
- Spehn, E. M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M. C., Dimitrakopoulos, P. G., et al. (2002). The role of legumes as a component of biodiversity Hecdoi:10.1034/j.1600-0706.2002.980203.x.
- Stocker, R., Körner, C., Schmid, B., Niklaus, P. A., and Leadley, P. W. (1999). A field study of the effects of elevated CO₂ and plant species diversity on ecosystem-level gas exchange in a planted calcareous grassland. *Glob. Change Biol.* 5, 95–105. doi:10.1046/j.1365-2486.1998.00198.x.
- Suter, M., Connolly, J., Finn, J. A., Loges, R., Kirwan, L., Sebastià, M.-T., et al. (2015). Nitrogen yield advantage from grass–legume mixtures is robust over a wide range of legume proportions and environmental conditions. *Glob. Change Biol.* 21, 2424–2438. doi:10.1111/gcb.12880.
- Temperton, V. M., Mwangi, P. N., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., and Buchmann, N. (2007). Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment. *Oecologia* 151, 190–205. doi:10.1007/s00442-006-0576-z.
- Tilman, D., Knops, D., Wedin, D. and Reich, P. (2002). Plant diversity and composition: effects on productivity and nutrient dynamics of experimental grasslands. In Biodiversity and Ecosystem Functioning. Synthesis and Perspective. Loreau, M., Naeem, S. and Inchausti, P. (eds), Oxford University Press, London, 21-35.
- Vanelslander, B., De Wever, A., van Oostende, N., Kaewnuratchadasorn, P., Vanormelingen,
 P., Hendrickx, F., et al. (2009). Complementarity effects drive positive diversity effects on biomass production in experimental benthic diatom biofilms. *J. Ecol.* 97, 1075-1082.

- Verheyen, K., Bulteel, H., Palmborg, C., Olivié, B., Nijs, I., Raes, D., et al. (2008). Can complementarity in water use help to explain diversity–productivity relationships in experimental grassland plots? *Oecologia* 156, 351–361. doi:10.1007/s00442-008-0998-x.
- Zwicke, M., Picon-Cochard, C., Morvan-Bertrand, A., Prud'homme, M.-P., and Volaire, F. (2015). What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? *Ann. Bot.* 116, 1001-1015. doi:10.1093/aob/mcv037.

SUPPORTING INFORMATION

(1) Supplementary Table and Figure

Table 3-S1 N content (%) measured in grass species present in the two and five-species mixtures either without (2-) or with (2+, 5+) the presence of *T. repens*. Mean values \pm sem are shown by period and averaged over the whole experiment (Total, 113 y₁-161 y₂). For each period, if present different letters correspond to statistical differences (P \leq 0.05). NS: P > 0.05.

Year	Periods	2-	2+	5+	P-value
2013	113-143	3.94 ± 0.01	3.74 ± 0.03	4.21 ± 0.04	0.252
2013	144-190	2.40 ± 0.02	2.71 ± 0.03	2.67 ± 0.11	0.238
2013	191-224	2.49 ± 0.02	2.75 ± 0.04	2.59 ± 0.07	0.603
2013	225-280	2.27 ± 0.02	2.55 ± 0.05	2.18 ± 0.05	0.714
2014	281-101	2.45 ± 0.02	3.14 ± 0.07	2.53 ± 0.06	0.298
2014	102-161	$1.62\pm0.01~b$	$2.48\pm0.05~a$	1.69 ± 0.07 ab	0.049
Total	113 y ₁ -161 y ₂	2.53 ± 0.06	2.91 ± 0.13	2.65 ± 0.04	0.362



Figure 3-S1 Temporal dynamics of soil water content measured at 15, 30 and 50 cm, for monocultures without (1-) or with legume (1+), two-species mixtures without (2-) and with (2+) legume and five-species mixture with legume (5+). Daily averages are shown. For 1+ sward, no data are shown from DOY 166 because of probe failure.

(2) Prediction of biomass production, net diversity and complementarity effects with CWM and functional diversity (FD_Q) traits

Trait composition effects on ecosystem functioning can be assessed by calculating two main indices (a) trait community weighted mean, quantifying the dominant trait values in a community (Garnier et al., 2004) and (b) functional diversity. The Functional Diversity (FD) is considered as the extent of functional trait variation among the species in a community (Petchey and Gaston, 2002). The FD can also be defined as the overall difference among species in a community in terms of their traits. Trait community weighted mean (CWM) is closely related to the mass ratio hypothesis (Grime, 1998) which suggested that the functional traits of dominant species in a community (functional identity) are the main determinant of ecosystem processes. CWM can therefore be related to selection effect. Furthermore, the FD recently appeared as an important issue because it is based on the assumption that the diversity in resource use strategies increases with increasing trait dissimilarity among species. The FD is therefore closely related to complementarity effect (Mason et al., 2005).

The two components of net biodiversity effect, selection and complementarity effects, can be obtained using the additive partitioning method (Loreau and Hector, 2001). Thus, complementarity effect, including both facilitation and species-complementary resource use, has been proposed as main mechanism explaining overyielding (Cardinale et al., 2007). While the concept of species-complementary resource use can easily be related to FD of traits, it remains unclear how the facilitation concept can be more related to the CWM rather than the FD of traits, or conversely. Recent studies looked for assess the relative importance of the two components of trait community, the traits identity (CWM) and diversity (FD) of the community, as drivers of ecosystem functioning. Indeed, the CWM and FD of trait values have been shown to jointly explain variation in aboveground productivity in semi-natural grasslands (Díaz et al., 2007; Mokany et al., 2008; Schumacher and Roscher, 2009). In experimental grasslands, studies on the relative importance of the CWM and FD of traits values as drivers of above-ground production showed contrasted results, with a higher community biomass correlated positively with functional trait diversity (Cadotte et al., 2009; Wacker et al., 2009) or with a combination of functional trait diversity and communityweighted means of trait values (Mouillot et al., 2011; Roscher et al., 2012). Also, using CWM and FD indices as predictors for community biomass production, net diversity and complementarity effects can lead to the identification of relevant traits, which is essential for a mechanistic understanding of the role of plant diversity.

To study the relative contribution of CWM and FD of trait values to the amount of explained variation in above-ground biomass production and diversity effects, we considered statistical models with different combinations of explanatory variables: (a) CWM, (b) FD, (c) CWM and FD (Roscher et al., 2012). We performed these analyses on the two- and five-species mixtures using six variables measured at species level. Root trait (R.growth) and traits related to water use (Nyield/ET, REW, WUE), only measured at the community level, could not be included. Thus, functional trait diversity was computed as Raòs quadratic entropy (FDQ, Leps et al., 2006) on Biom st1, δ^{13} C, H.growth, L.area, LDMC and N. The following equation was used: $FD_Q = \sum_{i=1}^{S} \sum_{j=1}^{S} p_i p_j d_{ij}$, where S is the number of species in the community, p_i and p_j are the relative abundances of species i and j, and d_{ij} is the trait distance between species i and jin the community; p_i and p_j are defined as (i) the species proportions in total biomass for LDMC, L.area, Biom st1 and H.growth, (ii) the species green leaf proportions for N, (iii) the species leaf area proportions for δ^{13} C. The distance d_{ij} , also called species dissimilarity, is scaled between zero (no dissimilarity) and one (maximum dissimilarity). Within each class of models, we selected, the best fit based on leave-one-out cross validation (R packages car and leaps). The coefficient of determination R^2 is given as a summary measure for explained variation. The final selected models contain five traits, as adding additional variables did not significantly increase R². We also studied the relative importance of each variable within each model selected using the proportional marginal variance decomposition metric proposed by Feldman (2005), which can be interpreted as a weighted average over orderings among regressors, with datadependent weights (R package relaimpo). Moreover, standardized PCAs were applied to explore multiple relationships between the CWM and / or FD_Q traits. For PCAs and model selection, average data for the whole experiment and summer of Year 2 (period 102-161) are shown, owing to a more pronounced effect of legume presence at the end of the experiment.

Considering the scale of the whole experimental period (20 months), in separate models based on six predictors, CWM explained a larger proportion of variation in community biomass ($R^2 = 0.822$), net effect (NE, $R^2 = 0.714$) and complementarity effect (CE, $R^2 = 0.723$) than models based on FD_Q (respectively $R^2 = 0.688$, 0.673 and 0.727) (Table 3-S2A). Moreover, the proportion of explained variation increased in models that included both CWM and FD_Q ($R^2 = 0.906$ for biomass, $R^2 = 0.831$ for NE and $R^2 = 0.870$ for CE; Table 3-S2A) compared with models based purely on CWM or FD_Q. Partial R^2 values also provided evidence that CWM was the most important group of predictor variables in the combined model. A similar and even more pronounced pattern occurred for the diversity effects and community biomass produced during summer in Year 2. Indeed, in separate models based on

six predictors, CWM explained a larger proportion of variation in community biomass ($R^2 = 0.949$), net effect (NE, $R^2 = 0.859$) and also complementarity effect (CE, $R^2 = 0.757$) than models based on FD_Q (respectively $R^2 = 0.572$, 0.590 and 0.583). Then partial R^2 values in models that included both CWM and FD_Q showed an even greater dominance of CWM traits over FD_Q traits (Table 3-S2B). This is consistent with the results of PCAs on the average data for the whole experiment, which show a better discrimination of mixture types (especially grass-*Trifolium vs.* grass mixtures) along the different axes in analyses incorporating CWM and FD_Q than in those based on a single group of predictors (Figure 3-S2). Moreover, in separate PCAs, mixtures types were better discriminated with CWM of traits rather than FD_Q (Figure 3-S2). Thus, the finding of models selection, combined with PCAs, suggest that functional identity had the largest effects on community biomass production and diversity effects.

Our analyses of CWM and FD₀ based on 6 functional traits confirm the results of Roscher et al. (2012), who show that in all cases the combination of CWM and FD₀ results in models with the greatest explanatory power for variation in biomass production and measurements of diversity effects. Also, CWM component explained a greater proportion of variation in community biomass and net diversity effect than FD_Q, whereas in theory the CWM of traits values should be more related with the selection effect rather than others biodiversity components. Moreover, our results show that CWM of traits explained a greater proportion of complementarity effect than FDo, despite the increased contribution of functional diversity (29 %) compared with those for biomass or net effect. Despite the concerns on the limited number of variables incorporated in the model selection for the CWM and FD₀ comparison, our findings that show a best explanatory power of CWM traits can be validate to a certain extent according to their consistence with Roscher et al. (2012). Thus, given the observed importance of CWM predictors, we focused our model selection analyses on 10 CWM of traits values linked to light, N and water resources. Indeed, we secondly tried to identify which leaf and root traits better explain biomass, overyielding and complementarity effect measured in mixture, and especially to determine the relative importance of resources involved in these responses.

Whole experiment	R ²	6 traits: CWM									
Biomass	0.822	Selected traits	L.a	irea	Biom st1	Ν	LDMC	$\delta^{13}C$			
		% R^{2}	81	.4	17.0	1.0	0.5	0.1			
Net biodiversity	0.714	Selected traits	L.a	irea	$\delta^{13}C$	LDMC	H.growth	Ν			
effect		% R^{2}	93	3.8	2.8	2.8	0.3	0.3			
Complementarity	0.723	Selected traits	L.a	irea	LDMC	H.growth	$\delta^{13}C$	Ν			
effect		% R^{2}	95	5.4	2.2	1.2	1.0	0.2			
Whole experiment	R ²	6 traits: FD _Q									
Biomass	0.688	Selected traits	Bior	n st1	Ν	$\delta^{13}C$	L.area	LDMC			
		% R^{2}	70).6	23.0	4.0	2.1	0.2			
Net biodiversity	0.673	Selected traits	Bior	n st1	H.growth	LDMC	L.area	$\delta^{13}C$			
effect		% R^{2}	77	7.3	7.9	7.4	7.0	0.5			
Complementarity	0.727	Selected traits	Bior	n st1	H.growth	L.area	LDMC	$\delta^{13}C$			
effect		$\% R^2$	78	3.1	11.1	4.8	4.6	1.5			
Whole experiment	\mathbf{R}^2	6 traits: CWM				Partial R ²	6 traits: FD	Q			Partial R ²
Biomass	0.906	Selected traits	L.area	Biom s	t1 H.growth	0.787	Selected traits	L.area	H.growth		0.120
		% R^2	75.3	10.8	0.7		% R^{2}	9.3	3.8		
Net biodiversity	0.831	Selected traits	L.area	Ν	$\delta^{13}C$	0.695	Selected traits	H.growth	L.area		0.136
effect		% R^{2}	75.5	5.8	2.3		% R^{2}	8.5	8.0		
Complementarity	0.870	Selected traits	L.area	Ν		0.580	Selected traits	Biom st1	L.area	$\delta^{13}C$	0.291
effect		% R ²	63.8	2.8			% R ²	23.8	6.5	3.2	

Table 3-S2A Summary of best statistical models based on different groups of predictor variables (community-weighted means of trait values (CWM) and functional trait diversity (FD_Q)) for the whole experiment community biomass, net biodiversity effects and complementarity effects.

Summer Year 2	R ²	6 traits: CW	Μ						-		
Biomass	0.949	Selected traits	I	L.area	Biom st1t	LDMC	H.growth	$\delta^{13}C$	-		
		% R^{2}		97.7	1.7	0.4	0.2	0.1			
Net biodiversity	0.859	Selected traits	I	L.area	Ν	Biom st1	$\delta^{13}C$	H.growth			
effect		% R^{2}		92.3	5.4	1.1	1.0	0.1			
Complementarity	0.757	Selected traits	I	L.area	Biom st1	Ν	$\delta^{13}C$	H.growth			
effect		% R^{2}		91.7	4.0	3.0	0.9	0.5			
Summer Year 2	\mathbf{R}^2	6 traits: FD _Q							-		
Biomass	0.572	Selected traits	I	L.area	$\delta^{13}C$	Biom st1	LDMC	Ν	-		
		% R^{2}		80.8	12.2	5.2	1.7	0.1			
Net biodiversity	0.590	Selected traits	I	L.area	Biom st1	$\delta^{13}C$	LDMC	Ν			
effect		% R^{2}		77.5	10.7	8.1	2.6	1.1			
Complementarity	0.583	Selected traits	I	L.area	Biom st1	$\delta^{13}C$	H.growth	LDMC			
effect		% R^{2}		66.3	17.7	8.6	8.7	1.5			
Summer Year 2	\mathbf{R}^2	6 traits: CWM					Partial R ²	6 traits: FD _Q			Partial R ²
Biomass	0.977	Selected traits	L.area	LDMC	H.growth		0.943	Selected traits	Biom st1	$\delta^{13}C$	0.034
		% R^2	94.2	1.4	0.9			$\% R^2$	3.1	0.5	
Net biodiversity	0.932	Selected traits	L.area	Ν	H.growth	LDMC	0.841	Selected traits	Biom st1		0.090
effect		% R^{2}	83.4	6.5	0.3	0.1		$\% R^2$	9.6		
Complementarity	0.878	Selected traits	L.area	LDMC	Biom st1		0.767	Selected traits	H.growth	Biom st1	0.112
Effect		% R^{2}	77.3	0.6	0.4			% R^2	17.8	3.9	

Table 3-S2B Summary of best statistical models based on different groups of predictor variables (community-weighted means of trait values (CWM) and functional trait diversity (FD_Q)) for summer Year 2 community biomass, net biodiversity effects and complementarity effects.



Figure 3-S2 Standardized principal component analyses (PCAs) combining 6 functional traits for mixtures of two and five species: community-weighted means of trait values (CWM, left), functional trait diversity (FD, center) and both CWM and FD (right), averaged over the experiment period. Abbreviations are as follows: Biom st1, percentage of biomass in the top canopy layer (%), δ^{13} C: leaf C isotopic composition (‰), H.growth: growth height (cm day⁻¹), L.area: leaf area (m² pot⁻¹), LDMC: leaf dry matter content (mg g⁻¹), N: N community weighted mean (%).

- Cadotte, M. W., Cavender-Bares, J., Tilman, D., and Oakley, T. H. (2009). Using Phylogenetic, Functional and Trait Diversity to Understand Patterns of Plant Community Productivity. *PLoS ONE* 4, e5695. doi:10.1371/journal.pone.0005695.
- Cardinale, B. J., Wright, J. P., Cadotte, M. W., Carroll, I. T., Hector, A., Srivastava, D. S., et al. (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 18123–18128. doi:10.1073/pnas.0709069104.
- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., Quétier, F., Grigulis, K., and Robson, T. M. (2007). Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 20684–20689. doi:10.1073/pnas.0704716104.
- Feldman, B. E. (2005). Relative Importance and Value. Rochester, NY: Social Science Research Network Available at: http://papers.ssrn.com/abstract=2255827 [Accessed October 20, 2015].
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., et al. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85, 2630–2637. doi:10.1890/03-0799.
- Grime, J. P. (1998). Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *J. Ecol.* 86, 902–910. doi:10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x.
- Leps, J., De Bello, F., Lavorel, S., and Berman, S. (2006). Quantifying and interpreting functional diversity of natural communities: practical considerations matter. *Preslia* 78, 481–501.
- Loreau, M., and Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76. doi:10.1038/35083573.
- Mason, N. W. H., Mouillot, D., Lee, W. G., and Wilson, J. B. (2005). Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111, 112–118. doi:10.1111/j.0030-1299.2005.13886.x.
- Mokany, K., Ash, J., and Roxburgh, S. (2008). Functional identity is more important than diversity in influencing ecosystem processes in a temperate native grassland. J. Ecol. 96, 884–893. doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01395.x.
- Mouillot, D., Villéger, S., Scherer-Lorenzen, M., and Mason, N. W. H. (2011). Functional Structure of Biological Communities Predicts Ecosystem Multifunctionality. *PLoS ONE* 6, e17476. doi:10.1371/journal.pone.0017476.
- Petchey, O. L., and Gaston, K. J. (2002). Functional diversity (FD), species richness and community composition. *Ecol. Lett.* 5, 402–411. doi:10.1046/j.1461-0248.2002.00339.x.
- Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., et al. (2012). Using Plant Functional Traits to Explain Diversity–Productivity Relationships. *PLoS ONE* 7, e36760. doi:10.1371/journal.pone.0036760.

- Schumacher, J., and Roscher, C. (2009). Differential effects of functional traits on aboveground biomass in semi-natural grasslands. *Oikos* 118, 1659–1668. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17711.x.
- Wacker, L., Baudois, O., Eichenberger-Glinz, S., and Schmid, B. (2009). Diversity effects in early- and mid-successional species pools along a nitrogen gradient. *Ecology* 90, 637–648.
Chapitre 4 : RÉSISTANCE ET RÉCUPÉRATION DE LA PRODUCTION AÉRIENNE DES MÉLANGES SOUS SÉCHERESSE EXTRÊME

Ce chapitre est consacré à l'analyse de l'interaction entre la présence d'une légumineuse et l'occurrence d'une sécheresse extrême sur la production de biomasse aérienne des mélanges prairiaux. Les résultats du chapitre 3 nous ont amenés à nous interroger sur le maintien de l'effet positif de la présence de Trèfle blanc sur la production de biomasse sous sécheresse extrême, ainsi que sur le maintien des mécanismes de complémentarité sous-jacents. Notre hypothèse principale est que la légumineuse n'a aucun effet positif sur la production de biomasse sous sécheresse extrême, mais détermine une meilleure récupération de la production aérienne après stress via la facilitation pour l'azote et la complémentarité pour l'utilisation de l'eau. Ce chapitre, sous la forme d'un article en préparation, présente donc la production aérienne des mélanges sous sécheresse extrême en présence ou non de Trèfle blanc et la dynamique des interactions entre plantes sur le long terme.

COMBINING GRASS SPECIES AND WHITE CLOVER IN TEMPERATE FORAGE MIXTURES CAN REDUCE GRASSLAND SENSITIVITY TO EXTREME DROUGHT EVENTS

HERNANDEZ Pauline^{*}, BLOOR Juliette, PICON-COCHARD Catherine and POTTIER Julien

UREP, INRA, F-63000, Clermont-Ferrand, France

* Corresponding author: pauline-hernandez@orange.fr

Key words: climate change, drought recovery, species composition, heterospecific plant interactions, legume, overyielding, nitrogen use, water use

Summary

1. Legumes have the potential to enhance production of temperate grassland mixtures under ambient weather conditions through positive plant interactions, but the impacts of legumes on grassland mixtures subjected to extreme drought are poorly understood.

2. We examined interactions between extreme summer drought and legume presence on aboveground productivity and plant-plant interactions in grassland species mixtures. Biomass production of experimental mesocosms with monocultures and two-species mixtures was monitored for one year after the end of the experimental drought. At the same time, traits linked to nitrogen and water-use were examined to identify mechanisms underlying plant interactions.

3. In the presence of white clover, we found positive complementarity effects and significant overyielding in two-species mixtures 2 months after the end of experimental extreme drought. However, production of mixtures with white clover was less resilient than grass mixtures. Overyielding observed in grass-legume mixtures during the experiment was linked to N facilitation and complementarity in water use, as well as delayed positive effect of drought on the biomass of white clover. However, the extreme drought event modified the relative importance of the drivers of complementarity effects in the longer term (8 months following rewetting).

4. Our results suggest that presence of white clover in grassland mixtures plays a critical role for the establishment of positive heterospecific interactions and biomass responses of mixtures to extreme drought. We show that combining grass and white clover in mixtures can minimize losses of production caused by an extreme drought, and should be considered to adapt forage production to more frequent extreme drought in temperate areas.

Introduction

Legumes play a critical role in agriculture because their ability to fix N_2 in symbiosis makes them an economic and environmentally-friendly crop and pasture species (Graham & Vance 2003; Lüscher *et al.* 2014). Grass-legume associations have therefore been widely used for their potential to increase productivity, herbage nutritive value and resource efficiency (Peyraud, Le Gall & Luscher 2009). However, predicted increases in the frequency and severity of drought-stress periods in temperate regions could influence the agricultural performance of mixed grass-legume systems (Seneviratne *et al.* 2012).

Considerable experimental evidence emphasizes that the presence of legume species enhances biomass production under ambient weather conditions, a phenomenon generally attributed to positive heterospecific interactions (Loreau & Hector 2001; Schmid 2002; Temperton *et al.* 2007; Marquard *et al.* 2009; Roscher *et al.* 2012). Indeed, legumes can promote neighbouring plants in mixtures both through nitrogen facilitation, due to their ability to fix additional atmospheric nitrogen (Spehn *et al.* 2002; Suter *et al.* 2015), and through complementarity for water acquisition due to vertical root differentiation as shown for white clover (Hernandez & Picon-Cochard 2016). Overyielding has been shown to occur over a wide range of legume proportions in mixed-species swards, although the positive legume effect increases with increased legume abundance (Nyfeler *et al.* 2009; Küchenmeister *et al.* 2012; Suter *et al.* 2015). Recent work also suggests that legume species can mitigate the impact of climate change (Lüscher *et al.* 2014), but few studies have assessed the mediating role of legume species presence on biomass production in temperate grasslands subjected to drought.

Ecosystem stability is associated with both ecosystem resistance, which refers to the maintenance of productivity despite changes in the environment (Pimm 1984; Grimm, Schmidt & Wissel 1992), and ecosystem resilience, which refers to the recovery of productivity after a temporal alteration (Folke *et al.* 2004). Several factors have been proposed to influence the stability of multi-species communities, such as resilience of dominant species (selection effect) and heterospecific interactions (complementarity effect) (Hooper *et al.* 2005; Hector *et al.* 2010). While resistance of grassland productivity is a target for grasslands under severe or extreme droughts (Volaire, Barkaoui & Norton 2014). Although positive heterospecific interactions are hypothesized to enhance biomass recovery after drought (van Ruijven & Berendse 2010), there is still no clear understanding of the

mechanisms from which European grassland plant communities can recover from extreme drought event and within what time period.

Given that water stress can reduce resource availability, resource uptake from deeper soil layers might help grassland mixtures with legume species cope better with moderate drought events (Hoekstra *et al.* 2014). However, higher water consumption in grass-legume mixtures due to vertical complementarity in soil resource acquisition can be detrimental in the case of severe water deficit (van Peer *et al.* 2004; Verheyen *et al.* 2008; Hernandez & Picon-Cochard 2016). The drying of the upper soil layer has also been suggested to affect the root nodules and to reduce N fixation from the atmosphere, the combination of water and nitrogen deficits limiting biomass production (Sadras 2005; Abdelhamid *et al.* 2010). Accordingly, Khan *et al.* (2014) found no facilitation of community productivity by the legume species under recurrent drought events, while Pfisterer & Schmid (2002) found that the presence of legumes reduced grassland community resistance to drought. Contrasted results between studies on experimental grass-legume mixtures may reflect differences in both the duration and/or intensity of drought (Lei *et al.* 2015). To date, the sensitivity of positive interactions associated with the presence of legumes in temperate grasslands to severe droughts remains unclear.

In this study, we address two questions: (i) Does extreme drought interact with legume presence effect on aboveground productivity and plant-plant interactions in two-species mixtures? (ii) Are effects of legume on plant-plant interactions in the case of extreme drought driven by changes in community water-use and nitrogen-use? According to the stress intensity hypothesis, we expected a collapse of positive plant-plant interactions under severe water stress (Michalet *et al.* 2006). Therefore, our main hypothesis is that the presence of legume species has no positive effect on the maintenance of aboveground biomass under extreme drought but drive biomass production recovery following rewetting, through N facilitation and complementarity in soil water use. Given that drought may have significant effects in the short and longer term, we examined the performance of droughted mesocosms for 10 months following application of an extreme drought event, and assessed the relative importance of plant-plant interactions over time.

Materials and methods

Site characteristics and plant material

A mesocosm experiment was set up outdoors in autumn 2012 in Clermont-Ferrand (45°46' N, 03°08' E, 350 m a.s.l., annual mean temperature 12.4 °C, mean annual precipitation 579 mm). Five species were selected from temperate and fertile upland grasslands, based on their divergence in terms of resource acquisition and drought resistance strategies (four grasses and one legume): *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Poa pratensis*, *Trisetum flavescens* and *Trifolium repens*. *Dactylis* and *Festuca* are tall, deep-rooted grass species with an early foliar senescence related to drought avoidance (Zwicke *et al.* 2015). In contrast, *Poa* and *Trisetum* are short, shallow-rooted grasses capable of maintaining green leaves for longer periods during water stress (Zwicke *et al.* 2015). *Trifolium repens* (white clover) has an intermediate rooting pattern with a more even root distribution in the soil profile, and a lower root density at 20 cm soil depth compared with grasses (Kutschera, Lichtenegger & Sobotik 1992; Skinner & Comas 2010).

Experimental design

Ninety-five free-draining, large cylindrical pots (37.5 cm in diameter, 93 cm deep, 100 L) were filled with granitic brown soil (12% clay, 17% loam, 59% sand, 13% organic matter) extracted from an upland grassland (45°43'N, 03°01'E, 850 m a.s.l.). Soil was sieved (20 mm mesh) and mixed with slow-release fertilizer (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14 Multicote 12, Haifa, Israel). A five cm layer of pozzolan gravel was placed at the bottom of each pot to improve drainage. Pots were insulated with a home-made polystyrene casing (50 mm thick; Styrodur®, BASF, France) to reduce soil warming due to light radiation.

In autumn 2012, monocultures and two-species mixtures were established by planting tillers from mature grass plants that had been grown in large containers for 2 years before the experiment (Zwicke *et al.* 2015), and by sowing white clover (Merwi variety, medium leaf size). Five types of monocultures (i.e. one per species) and ten types of species-mixtures (all possible species pairs) were established each with seven and six replicates for monocultures and mixtures, respectively. Each pot initially contained 30 individuals with an equal proportion of species in the two-species mixtures.

Drought treatment and soil water content measurements

From April 2013 (Day of year: DOY 112 year 1) to May 2014 (DOY 132 year 2), 76 of the 95 pots were set on weighing scales (60 x 60 cm, Arpege Master K, type N PAC + SAT MB, France) to continuously measure the actual evapotranspiration (ET, kg) of the plant canopy by daily changes in pot weight. A correction of daily ET was applied to allow for weight change due to rain or irrigation events. Until mid-June 2013, all pots were maintained at 80% of field capacity by watering or rainfall events. In mid-June 2013, an extreme summer drought lasting two months was applied to 45 of the 95 pots using a large rainout shelter (DOY 164 to 221 year 1). The remaining 'control' pots continued to receive water inputs. At the end of the experimental drought period, droughted pots were gradually rehydrated and subsequently maintained at 80% field capacity to monitor plant recovery capacity (9 mm per day from DOY 222; 80% field capacity reached after 8 days on average).

Soil water content measurements were performed on 26 pots with monocultures (15 droughted pots) and 50 pots with two-species mixtures (30 droughted pots). Soil water content was assessed by daily changes in pot gravimetric soil moisture. Gravimetric soil water content was expressed as the daily soil relative-extractable water (REW_{*t*}) calculated as:

$$\text{REW}_t = \frac{\text{soil moisture}_t - \text{soil moisture}_{\min}}{\text{soil moisture}_{\max} - \text{soil moisture}_{\min}}$$

where soil moisture_t, soil moisture_{min} and soil moisture_{max} are respectively the current, minimum and maximum gravimetric soil moistures measured at time t, in drought (min value = 0.054) and well-watered (max value = 0.379) conditions. REW ranges from 1 (field capacity) to 0 (wilting point).

The drought event was characterized by a high duration and intensity of water stress. Water stress is assumed to occur when REW drops below the threshold 0.4, at which point soil water becomes limiting for transpiration. Absence of water inputs resulted in a REW value lower than 0.4 for 57 days. In addition, the drought event had a strong impact on the lamina senescence of the community, with a nearly complete foliar senescence reached before rewetting.

Aboveground biomass

Vegetation was cut to a height of five cm at six dates between April 2013 and June 2014 (corresponding to four and two cuts in 2013 and 2014 respectively) to mimic local mowing practices. Cutting dates were used to define different periods of vegetation biomass production (g pot⁻¹) during the experiment: peak biomass year 1 (DOY 113 to 143), drought year 1 (DOY 144 to 224), end of growing season year 1 (DOY 225 to 280), start of growing season year 2

(DOY 281 to 101) and peak biomass year 2 (DOY 102 to 161). At each cut (with the exception of droughted pots on DOY 224), plant material was sorted to species and green leaves were separated from inflorescences. Above-ground biomass was determined after oven-drying (60 °C for 48 h) and weighing.

Water use efficiency and leaf N measurements

For each period of biomass production, integrated water-use efficiency (WUE, g kg⁻¹) was calculated as the ratio of above-ground biomass to ET (sum of daily evapotranspiration). Species' green leaves sampled at each cutting date from May 2013 to June 2014 were ovendried (60 °C, 48 h) and ball-milled (MM200, Retsch, Germany). Samples weighing 1 mg were combusted and analysed for leaf nitrogen content (N, %) (IsotopeCube, Elementar, Hanau, Germany) at the stable isotope facility at INRA Nancy, France. Nitrogen yield per species was calculated by multiplying N by species aboveground biomass. Community nitrogen yield (N_{yield}, g N) was thus calculated by summing each species' nitrogen yield per pot. For each period of biomass production, nitrogen-use efficiency (NUE, g g⁻¹) was calculated as the ratio of above-ground biomass to N_{yield}.

Diversity effects

Above-ground biomass for each period was used to calculate the net mixture effect, which is the difference, summed across species, between observed and expected biomass in mixtures. The expected biomass of each species in a mixture is the product of biomass in monoculture and its proportion in total above-ground biomass in the mixture. We used the method described by Loreau & Hector (2001) to additively partition the net mixture effect into complementarity and selection effects. Positive complementarity effects occur if species biomasses in a mixture are on average higher than expected on the basis of the weighted average monoculture biomass of the component species. Positive selection effects occur if species with higher-than-average monoculture biomasses dominate the mixtures. For each type of two-species mixture, we calculated the deviation between the net mixture effect measured in the droughted pots and that of the control value. The deviation was similarly calculated for the complementarity and the selection effects.

Statistics

For the whole experiment (DOY 143 year 1 to DOY 161 year 2), ANOVA with nested linear mixed models and Tukey post-hoc tests were used to assess the effects of drought treatment,

white clover presence, period of the year, and their interactions on a set of variables in twospecies mixtures: community biomass, net mixture effect, complementarity and selection effects. When necessary, data were transformed (log or boxcox transformation) to meet the assumptions of statistical analyses. Three periods of vegetation biomass production after drought (end of growing season year 1, start of growing season year 2 and peak biomass year 2) were selected to assess the effects of white clover presence, period of the year and their interaction using ANOVA (linear models within the two-species mixtures) and the deviation of the net mixture effect between droughted and control pots. Similar statistical analyses were performed on the deviation of complementarity and selection effects from the control pots.

For each period of aboveground production following the extreme, we used statistical model with ET, WUE, N_{yield} and NUE as standardized variables in order to select the main variable contributing to the amount of explained variation in complementarity effect for droughted or control two-species mixtures. The coefficient of determination R^2 is given as a summary measure for explained variation. We also studied the relative importance of each variable within each model using the proportional marginal variance decomposition metric proposed by Feldman (2005), which can be interpreted as a weighted average over orderings among regressors, with data-dependent weights.

Data were analysed under the R environment (version 3.3.0, R core team 2016) using the lme4, lsmeans, car, AICcmodavg, pwr and relaimpo packages (Grömping 2007; Bates *et al.* 2014; Champely *et al.* 2015; Lenth 2016; Mazerolle 2016; Fox *et al.* 2016).

Results

Community aboveground biomass under extreme drought

Across the whole experimental period (DOY 144 year1 to DOY 161 year 2), aboveground biomass in the two-species mixtures was negatively affected by the drought treatment with a decrease of 44% compared to the control treatment (P < 0.0001, Table 4-1). In contrast, aboveground biomass was positively affected by the presence of white clover, with a significant interaction between the presence of white clover and drought treatment (P < 0.001) (Table 4-1, Figure 4-1). Indeed, compared to the aboveground biomass of grass-grass mixtures, an increase of 49% and 40% was found in the presence of white clover for the control and drought treatments, respectively.

Table 4-1 Effects of drought treatment, white clover presence, period and their interaction on different variables measured in two-species mixtures: results of ANOVA on mixed effect models; NumDF and DenDF are degrees of freedom of term and degrees of freedom of error term; bold and underlined P-values correspond to significant differences: P < 0.05 and P < 0.10, respectively.

Variable	Factor	Num/Den DF	F	p value
Biomass	Drought	1/216.03	48.423	4e-11
	Legume	1/8	29.373	0.00063
	Period	3/216.03	56.612	< 2.2e-16
	Drought : legume	1/216.03	14.860	0.0001528
	Drought : period	3/216.03	64.742	< 2.2e-16
	Legume : period	3/216.03	22.446	1.1e-12
	Drought : legume : period	3/216.03	0.111	0.95359
Net mixture effect	Drought	1/160	0.057	0.81121
	Legume	1/8	63.824	4.4e-05
	Period	2/160	1.054	0.35080
	Drought : legume	1/160	8.317	0.00447
	Drought : period	2/160	0.676	0.50993
	Legume : period	2/160	1.718	0.18275
	Drought : legume : period	2/160	2.197	0.11446
Complementarity	Drought	1/168	0.287	0.59260
effect	Legume	1/8	102.304	< 2.2e-16
	Period	2/168	2.307	0.10273
	Drought : legume	1/168	11.036	0.00110
	Drought : period	2/168	1.554	0.21438
	Legume : period	2/168	3.257	0.04097
	Drought : legume : period	2/168	0.565	0.56955
Selection effect	Drought	1/160	3.8758	0.05071
	Legume	1/8	1.8913	0.20633
	Period	2/160	2.0323	0.13441
	Drought : legume	1/160	0.2766	0.59967
	Drought : period	2/160	1.7528	0.17661
	Legume : period	2/160	0.9783	0.37819
	Drought : legume : period	2/160	4.6085	0.01133



Figure 4-1 Aboveground biomass in two-species mixtures without (a) or with (b) white clover. Mean values \pm SEM are shown. Different letters correspond to statistical differences based on *post hoc* tests performed for all periods, mixture.

Above ground biomass was also dependent on the period of the year (P < 0.0001), with significant interactions between the effects of period and drought treatment on the one hand and between the effects of period and white clover presence on the other hand (P < 0.0001) (Table 4-1, Figure 4-1). At the end of the extreme drought event, the aboveground biomass of two-species mixtures showed a significant decrease irrespective of species composition, although we observed a tendency towards higher biomass reduction in the presence of white clover. Above all, we found different patterns of post-drought recovery for grass-grass mixtures and grass-clover mixtures. For the grass-grass mixtures subjected to drought, aboveground biomass recovered to the control level from the end of growing season in year 1 (Figure 4-1a). In contrast, the aboveground biomass of grass-clover mixtures was still affected by the drought event at the end of the growing season (Figure 4-1b). Aboveground biomass of the grass-clover mixtures only recovered eight months following rewetting, at the start of the subsequent growing season (Figure 4-1b). While the presence of white clover had a positive impact on the mixture aboveground biomass from the end of the first growing season for the control treatment, the presence of white clover only had a significant positive effect on the peak biomass in year 2 for the mixtures subjected to the extreme drought, with 2-fold higher aboveground biomass compared to the grass-grass mixtures (Figure 4-1).

Effect of heterospecific neighbour presence on community biomass

Complementarity was the main driver of net mixture effect with around 75% of contribution for both the control and droughted two-species mixtures. In addition, the net mixture effect and complementarity effect were positively affected by the presence of white clover (P <0.0001, Table 4-1). Across periods, we found a significant interaction between white clover presence and drought treatment on the net mixture and complementarity effects (P < 0.01) (Table 4-1; Figure 4-2 a, b, d, e). In the grass-clover mixtures, the net mixture and complementarity effects were significantly positive from the end of growing season to the peak biomass of the next year (i.e. from 2 to 10 months following rewetting), both for the control and the drought treatments (Figure 4-2 a, b). In contrast, the net mixture and complementarity effects in the grass-grass mixtures were not significantly different from zero for the control pots throughout the experiment (Figure 4-2 a, b). In addition, the net mixture and complementarity effects were not significantly different between the control and drought treatment for the grass-grass mixtures (Figure 4-2 a, b, d, e). Throughout the experiment, we found a tendency towards lower overvielding and complementarity effect in the droughted grass-clover mixtures compared to the control (Figure 4-2 a, b, d, e). However, the drought treatment only had a significant negative impact on the net mixture effect on the peak biomass in year 2, with 2.9-fold lower value in the droughted grass-clover mixtures compared to the control (Figure 4-2 a, d).



Figure 4-2 Net mixture effect (a), complementarity effect (b) and selection effect (c) in the control and droughted two-species mixtures with or without white clover. Deviation of net mixture effect (d), complementarity effect (e) and selection effect (f) in the droughted two-species mixtures from control two-species mixtures. Mean values \pm SEM are shown. For each period and mixture type, the sign (*, **, ***) corresponds to a significant deviation from the null hypothesis (deviation from 0). Different letters correspond to statistical differences based on *post hoc* tests (P < 0.05).

We found a significant interaction between white clover presence, drought treatment and period of measurement on the selection effect (P < 0.01) (Table 4-1, Figure 4-2 c). The negative selection effect measured for the grass-clover mixtures on the peak biomass in year 2 was significantly higher in the droughted pots compared to the control (Figure 4-2 c, f).

Drivers of complementarity effect

For each period of aboveground production after the drought, model containing ET, WUE, N_{yield} and NUE as predictors of complementarity effects had a high overall goodness of fit (Table 4-2). In addition, a tendency towards higher goodness of fit appeared for the models in the control treatment compared with the droughted treatment (0.69 < R^2 < 0.87 and 0.32 < R^2 < 0.58, respectively). At the end of growing season (2 months following rewetting), higher

complementarity in the control and drought treatments was primarily linked to greater water acquisition and water use efficiency of mixtures and marginally to greater nitrogen capture (Table 4-2). At the start of subsequent growing season, higher complementarity in the control treatment was mainly linked to greater water use efficiency of mixtures whereas higher complementarity in the drought treatment was mainly linked to lesser nitrogen use efficiency of mixtures (Table 4-2). At the peak biomass in year 2, higher complementarity in the control treatment was mainly linked to greater nitrogen capture of mixtures whereas higher complementarity in the drought treatment was mainly linked to lesser nitrogen use efficiency and greater water acquisition of mixtures (Table 4-2).

Table 4-2 Summary of statistical linear models with ET, WUE, N_{yield} and NUE as predictor variables for complementarity effect in droughted or control two-species mixtures. The models were developed for the end of growing season in year 1 (DOY 224-280), the start of growing season in year 2 (DOY 281-101) and the peak biomass in year 2 (DOY 102-161); the relative importance of each predictor (%) is based on the PMVD metric.

			End	l of growing year 1	season	Start	of growing so year 2	eason	Peak biomass year 2		
					Rela. Impo.		-	Rela. Impo.		-	Rela. Impo.
Treatment	Variable	Predictor	Estimate	Std. error	(% var)	Estimate	Std. error	(% var)	Estimate	Std. error	(% var)
Drought	Complementarity	ET	0.7884.	0.4505	41.8	0.0348	0.3019	0.1	0.4514 *	0.1978	30.4
		WUE	0.7110	0.6269	49.3	0.5092	0.4033	36	0.3564.	0.1910	20
		Nyield	0.0417	0.5462	2.9	-0.0391	0.4600	0.2	0.0461	0.2063	1.1
		NUE	-0.2282	0.2473	6	-0.6587 *	0.3057	63.7	-0.3217.	0.1778	48.5
Fit summary		F	7.917		F	2.933		F	8.694		
			DF	4/25		DF	4/25		DF	4/25	
			R ²	0.5588		R ²	0.3194		R ²	0.5818	
			p-value	2.88e-04		p-value	0.04067		p-value	1.53e-04	
Treatment	Variable	Predictor	Estimate	Std. error		Estimate	Std. error		Estimate	Std. error	
Control	Complementarity	ET	0.6136	0.4097	40.9	0.2970.	0.1567	11.4	0.4920 *	0.1945	18.4
		WUE	0.6236 *	0.2738	52.6	1.3840 ***	0.3245	51.6	0.1541	0.2462	1.7
		Nyield	-0.2861	0.5567	5.4	-0.8247 *	0.3594	22.3	0.6197 *	0.2517	77.9
		NUE	-0.1276	0.2075	1.1	-0.7171 **	0.1980	14.7	0.1711	0.2150	2
	Fi	it summary	F	8.524		F	24.72		F	21.59	
			DF	4/15		DF	4/15		DF	4/15	
			R ²	0.6945		R ²	0.8683		R ²	0.852	
			p-value	8.53e-04		p-value	1.88e-06		p-value	4.43e-06	

Discussion

Legume species have been argued to mitigate the impact of increased drought periods on plant grassland communities. In this study, we observed a tendency towards stronger negative drought effects on grass-clover mixtures compared to grass mixtures, consistent with a reduction in grassland drought resistance observed elsewhere in the presence of legumes (Pfisterer & Schmid 2002). Moreover, we found that presence of white clover decreased drought resilience of grassland mixtures since aboveground production of grass-clover mixtures recovered more slowly than grass mixtures following an extreme drought event. However, the presence of white clover had a positive effect on aboveground biomass recovery in the longer term; grass-clover mixtures had greater biomass than grass mixtures 10 months following rewetting for mixtures subjected to the extreme drought event.

As grass-clover mixtures were less resistant and mainly less resilient on the shortterm, our study supports Kreyling *et al.* (2008) who showed that the presence of legume does not effectively buffer against extreme drought. The low post-drought recovery capacity of grass-clover mixtures can be related to the low biomass production of white clover on the short-term after stress. Since white clover has been argued to be unable to reduce transpiration effectively during increasing water stress (Burch & Johns 1978), lower recovery capacity of grass-clover mixtures may reflect the high sensitivity of white clover to extreme water deficit. This is consistent with recent results highlighting low resistance and short-term recovery capacity of white clover under extreme drought (Hofer *et al.* 2016). Indeed in our study, white clover produced lower aboveground biomass on average than grass species in species mixtures 2 months following rewetting (11 g pot⁻¹ and 46 g pot⁻¹, respectively). In contrast, 10 months following rewetting, the reverse pattern was observed with on average higher biomass for white clover compared to grass species (90 g pot⁻¹ and 42 g pot⁻¹, respectively), which can partly explain the higher production of grass-clover mixtures in the longer term.

According to the stress intensity hypothesis (Michalet *et al.* 2006), positive plant-plant interactions are expected to collapse with increasing water stress intensity. Indeed, we measured a significant reduction of aboveground biomass under extreme drought irrespective of the composition of two-species mixtures. This suggests that heterospecific interactions do not buffer biomass production reduction during severe stress. Then, extreme drought had no significant effect on the strength of plant interactions for 8 months following rewetting. Complementarity effects were more sensitive to white clover abundance than drought, and significant positive complementarity effects occurred in the presence of white clover under

well-watered as well as droughted conditions. This supports a high resilience and the sustainability of positive plant interactions associated to the presence of white clover following drought. Thus, our study is partly consistent with recent results suggesting that diversity effects on above-ground productivity are robust to reductions in water availability (Craven et al. 2016). However, we found that drought had a delayed and significant impact on the net mixture and selection effects in grass-clover mixtures during longer-term drought recovery. Despite the maintenance of positive complementarity effects, we measured a significant decrease in overyielding 10 months following rewetting in droughted grass-clover mixtures compared to well-watered conditions. This appears to be driven by significant negative selection effects which develop in the longer-term, reflecting the dominance of species with lower-than-average monoculture biomass at peak biomass during the year after drought (in particular: Dactylis glomerata, Poa pratensis or Trisetum flavescens). Uncoupling of plant biomass responses and complementarity effects in grass-clover mixtures appears related to the post-drought dynamic of white clover production, which could reflect droughtinduced changes in plant-soil interactions and competition for soil nitrogen (Bloor & Bardgett 2012). Indeed, biomass of white clover in monocultures showed negative drought effect on the short-term (decrease of 64% compared to the control 2 months after the extreme) whilst surprisingly a positive lagged drought effect was found on the long-term (increase of 54% compared to the control 10 months after the extreme).

Based on results obtained under ambient weather conditions (Suter *et al.* 2015; Hernandez & Picon-Cochard 2016), we hypothesised that positive effects of legume species on biomass production would be driven by N facilitation and complementarity in soil water use. In our study, we showed that variation in the strength of complementarity effects was also driven by changes in community water-use and nitrogen-use in droughted mesocosms. Positive complementarity effects were related to high transpiration and water use efficiency during short-term drought recovery. During longer-term drought recovery, positive complementarity effects were linked to a combination of low nitrogen use efficiency, suggesting high nitrogen availability, and high transpiration and water use efficiency. Comparison of droughted and control mesocosms indicated that drought did not modify the relationships between water use, nitrogen use and complementarity in grassland mixtures during short-term drought recovery. However, at the start of the following growing season (8 months after the extreme), we found that water-use efficiency was the main driver of complementarity effect under well-watered conditions whereas complementarity was mostly driven by nitrogen-use efficiency in the droughted mixtures. This result could indicate a lagged effect of drought on soil N availability and hence a shift in the relative importance of N facilitation for complementarity effects between white clover and grasses.

Overall the results of this study indicate that white clover presence is a key driver of drought recovery capacity as well as overyielding and complementarity effects in grassland mixtures. Short-term, negative effects of legume presence on grassland resilience to drought appear to be compensated by positive complementarity effects associated with water use and N facilitation in the longer term. Combining grass and white clover in mixtures may therefore present an effective strategy to maintain levels of forage production under increasingly-variable climatic conditions.

References

- Abdelhamid, M.T., Palta, J.A., Veneklaas, E.J., Atkins, C., Turner, N.C. & Siddique, K.H.M.
 (2010) Drying the surface soil reduces the nitrogen content of faba bean (Vicia faba L.) through a reduction in nitrogen fixation. *Plant and Soil*, **339**, 351–362.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2014) Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. *arXiv:1406.5823 [stat]*.
- Burch, G. & Johns, G. (1978) Root Absorption of Water and Physiological Responses to Water Deficits by Festuca arundinacea Schreb. And Trifolium repens L. *Functional Plant Biology*, 5, 859–871.
- Champely, S., Ekstrom, C., Dalgaard, P., Gill, J., Wunder, J. & Rosario, H.D. (2015) *Pwr: Basic Functions for Power Analysis.*
- Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruelheide, H., Ebeling, A., Roscher, C., Ruijven, J. van, Weigelt, A., Wilsey, B., Beierkuhnlein, C., Luca, E. de, Griffin, J.N., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Loreau, M., Meyer, S.T., Mori, A.S., Naeem, S., Palmborg, C., Polley, H.W., Reich, P.B., Schmid, B., Siebenkäs, A., Seabloom, E., Thakur, M.P., Tilman, D., Vogel, A. & Eisenhauer, N. (2016) Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Phil. Trans. R. Soc. B*, **371**, 20150277.
- Feldman, B.E. (2005) *Relative Importance and Value*. SSRN Scholarly Paper, Social Science Research Network, Rochester, NY.
- Folke, C., Carpenter, S., Walker, B., Scheffer, M., Elmqvist, T., Gunderson, L. & Holling,
 C.S. (2004) Regime Shifts, Resilience, and Biodiversity in Ecosystem Management.
 Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 35, 557–581.
- Fox, J., Weisberg, S., Adler, D., Bates, D., Baud-Bovy, G., Ellison, S., Firth, D., Friendly, M., Gorjanc, G., Graves, S., Heiberger, R., Laboissiere, R., Monette, G., Murdoch, D., Nilsson, H., Ogle, D., Ripley, B., Venables, W., Winsemius, D., Zeileis, A. & R-Core. (2016) *Car: Companion to Applied Regression.*
- Graham, P.H. & Vance, C.P. (2003) Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology*, **131**, 872–877.
- Grimm, V., Schmidt, E. & Wissel, C. (1992) On the application of stability concepts in ecology. *Ecological Modelling*, **63**, 143–161.
- Grömping, U. (2007) Relative Importance for Linear Regression in R: The Package relaimpo. *Journal of Statistical Software*, **17**.

- Hector, A., Hautier, Y., Saner, P., Wacker, L., Bagchi, R., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Spehn, E.M., Bazeley-White, E., Weilenmann, M., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Mulder, C.P.H., Palmborg, C., Pereira, J.S., Siamantziouras, A.S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Schmid, B. & Loreau, M. (2010) General stabilizing effects of plant diversity on grassland productivity through population asynchrony and overyielding. *Ecology*, 91, 2213–2220.
- Hernandez, P. & Picon-Cochard, C. (2016) Presence of Trifolium repens Promotes Complementarity of Water Use and N Facilitation in Diverse Grass Mixtures. *Frontiers in Plant Science*, 7, 538.
- Hoekstra, N.J., Suter, M., Finn, J.A., Husse, S. & Lüscher, A. (2014) Do belowground vertical niche differences between deep- and shallow-rooted species enhance resource uptake and drought resistance in grassland mixtures? *Plant and Soil*.
- Hofer, D., Suter, M., Haughey, E., Finn, J.A., Hoekstra, N.J., Buchmann, N. & Lüscher, A. (2016) Yield of temperate forage grassland species is either largely resistant or resilient to experimental summer drought. *Journal of Applied Ecology*, 53, 1023– 1034.
- 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.
- Khan, M.A.S.A., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Kreyling, J. & Jentsch, A. (2014) Climatic extremes lead to species-specific legume facilitation in an experimental temperate grassland. *Plant and Soil*, **379**, 161–175.
- Kreyling, J., Wenigmann, M., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2008) Effects of Extreme Weather Events on Plant Productivity and Tissue Die-Back are Modified by Community Composition. *Ecosystems*, **11**, 752–763.
- Küchenmeister, F., Küchenmeister, K., Wrage, N., Kayser, M. & Isselstein, J. (2012) Yield and yield stability in mixtures of productive grassland species: Does species number or functional group composition matter? *Grassland Science*, **58**, 94–100.
- Kutschera, L., Lichtenegger, E. & Sobotik, M. (1992) Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen: Morphologie, Anatomie, Ökologie, Verbreitung, Soziologie, Wirtschaft. Gustav Fischer.

- Lei, T., Wu, J., Li, X., Geng, G., Shao, C., Zhou, H., Wang, Q. & Liu, L. (2015) A new framework for evaluating the impacts of drought on net primary productivity of grassland. *Science of The Total Environment*, **536**, 161–172.
- Lenth, R.V. (2016) Least-Squares Means: The R Package Ismeans. *Journal of Statistical Software*, **69**, 1–33.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, **412**, 72–76.
- Lüscher, A., Mueller-Harvey, I., Soussana, J.F., Rees, R.M. & Peyraud, J.L. (2014) Potential of legume-based grassland–livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, **69**, 206–228.
- Marquard, E., Weigelt, A., Temperton, V.M., Roscher, C., Schumacher, J., Buchmann, N., Fischer, M., Weisser, W.W. & Schmid, B. (2009) Plant species richness and functional composition drive overyielding in a six-year grassland experiment. *Ecology*, **90**, 3290–3302.
- Mazerolle, M.J. (2016) AICcmodavg: Model Selection and Multimodel Inference Based on (Q)AIC(c).
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Zikvidze, 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.
- Nyfeler, D., Huguenin-Elie, O., Suter, M., Frossard, E., Connolly, J. & Lüscher, A. (2009) Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding. *Journal of Applied Ecology*, 46, 683–691.
- van Peer, L., Nijs, I., Reheul, D. & De Cauwer, B. (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. *Functional Ecology*, **18**, 769–778.
- Peyraud, J.L., Le Gall, A. & Luscher, A. (2009) Potential food production from forage legume-based-systems in Europe: an overview.
- Pfisterer, A.B. & Schmid, B. (2002) Diversity-dependent production can decrease the stability of ecosystem functioning. *Nature*, **416**, 84–86.
- Pimm, S.L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.

- Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., Schmid,
 B. & Schulze, E.-D. (2012) Using Plant Functional Traits to Explain Diversity–
 Productivity Relationships. *PLoS ONE*, 7, e36760.
- van Ruijven, J. & Berendse, F. (2010) Diversity enhances community recovery, but not resistance, after drought. *Journal of Ecology*, **98**, 81–86.
- Sadras, V.O. (2005) A quantitative top-down view of interactions between stresses: theory and analysis of nitrogen–water co-limitation in Mediterranean agro-ecosystems. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 1151–1157.
- Schmid, B. (2002) The species richness-productivity controversy. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 113–114.
- Seneviratne, S.I., Nicholls, N., Easterling, D., Goodess, C.M., Kanae, S., Kossin, J., Luo, Y., Marengo, J., McInnes, K., Rahimi, M., Reichstein, M., Sorteberg, A., Vera, C., Zhang, X., Rusticucci, M., Semenov, V., Alexander, L.V., Allen, S., Benito, G., Cavazos, T., Clague, J., Conway, D., Della-Marta, P.M., Gerber, M., Gong, S., Goswami, B.N., Hemer, M., Huggel, C., Hurk, B. van den, Kharin, V.V., Kitoh, A., Tank, A.M.G.K., Li, G., Mason, S., McGuire, W., Oldenborgh, G.J. van, Orlowsky, B., Smith, S., Thiaw, W., Velegrakis, A., Yiou, P., Zhang, T., Zhou, T. & Zwiers, F.W. (2012) Changes in Climate Extremes and their Impacts on the Natural Physical Environment. *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation*, p. Cambridge University Press.
- Skinner, R.H. & Comas, L.H. (2010) Root Distribution of Temperate Forage Species Subjected to Water and Nitrogen Stress. *Crop science*, **50**, 2178–2185.
- Spehn, E.M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Jumpponen, A., O'Donnovan, 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.
- Suter, M., Connolly, J., Finn, J.A., Loges, R., Kirwan, L., Sebastià, M.-T. & Lüscher, A. (2015) Nitrogen yield advantage from grass-legume mixtures is robust over a wide range of legume proportions and environmental conditions. *Global Change Biology*, 21, 2424–2438.
- Temperton, V.M., Mwangi, P.N., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B. & Buchmann, N. (2007) Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment. *Oecologia*, **151**, 190–205.

- Verheyen, K., Bulteel, H., Palmborg, C., Olivié, B., Nijs, I., Raes, D. & Muys, B. (2008) Can complementarity in water use help to explain diversity–productivity relationships in experimental grassland plots? *Oecologia*, **156**, 351–361.
- Volaire, F. (2008) Plant traits and functional types to characterise drought survival of plurispecific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy*, **29**, 116–124.
- Volaire, F., Barkaoui, K. & Norton, M. (2014) Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *European Journal of Agronomy*, **52**, **Part B**, 81–89.
- Zwicke, M., Picon-Cochard, C., Morvan-Bertrand, A., Prud'homme, M.-P. & Volaire, F. (2015) What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? *Annals of Botany*, mcv037.

Chapitre 5 : RÉCUPÉRATION AÉRIENNE DES ESPÈCES APRÈS SÉCHERESSE EXTRÊME, VARIATION INTRASPÉCIFIQUE DES TRAITS ET EFFET DU VOISINAGE

Ce chapitre est consacré à l'analyse des effets directs de la présence d'une autre espèce sur la performance de l'espèce associée en mélanges en phase de récupération après sécheresse extrême. Les résultats du Chapitre 3 sur la réponse de la production sous sécheresse extrême à l'échelle de la communauté nous ont amenés à nous interroger concernant l'effet du voisinage sur la réponse intraspécifique au sein des mélanges. Dans ce chapitre nous questionnons l'importance de l'identité du voisin en mélanges sur la récupération de biomasse aérienne après extrême à l'échelle de l'espèce. Le déterminisme des modifications induites par le voisinage des traits intraspécifiques sur les variations de production des espèces après sécheresse est également examiné. Ce chapitre, sous la forme d'un article en préparation, examine donc les effets du voisinage sur l'expression intraspécifique de traits liés à l'acquisition des ressources et à la résistance à la sécheresse, ainsi que l'implication de ces modifications de traits dans la récupération aérienne des espèces après extrême.

NEIGHBOUR-INDUCED VARIATION IN PLANT TRAITS MEDIATES SPECIES' BIOMASS PRODUCTION IN GRASSLAND MIXTURES AFTER AN EXTREME DROUGHT EVENT

HERNANDEZ Pauline^{*}, POTTIER Julien, PICON-COCHARD Catherine and BLOOR Juliette

UREP, INRA, F-63000, Clermont-Ferrand, France

* Corresponding author: pauline-hernandez@orange.fr

Key words: climate change; grasslands; plant functional traits; intraspecific plasticity; species composition; heterospecific plant interactions

Summary

1. Plant-plant interactions have the potential to influence plant responses to environmental fluctuations, but little is known about the effect of heterospecific interactions and plant trait plasticity on biomass recovery following extreme drought.

2. We examined whether neighbour-induced variation in functional traits related to resource acquisition and drought resistance could explain patterns of aboveground biomass production after a simulated extreme summer drought event for five grassland species. Experimental mesocosms with monocultures and two-species mixtures were monitored for 10 months after the drought event, and comparisons of species' performance in monocultures and mixtures were used to infer neighbour-induced changes in biomass. Model selection procedures were used to examine linkages between suites of plant traits and observed biomass responses in the short- and longer-term (two and ten months after rewetting).

3. Presence of heterospecific neighbours had a significant effect on species' biomass production following experimental drought, but the direction and the strength of the effect varied depending on target species and neighbour identity. Effects of grass species on neighbours were mixed, whereas presence of the legume Trifolium repens promoted biomass production of neighbours in both the short- and long-term. Neighbours also had significant species-specific effects on the expression of plant traits associated with i) resource acquisition under non-limiting water conditions, and ii) drought response during water deficit. Neighbour-induced variation in biomass production could be linked to plasticity in plant traits induced by the presence of heterospecific neighbours. In both the short- and longer-term, biomass production following drought was largely driven by plasticity in traits associated with resource acquisition (specific leaf area, tiller density increase). Short-term biomass production was also promoted by higher cell integrity in meristematic tissues.

4. Our results suggest that plant trait plasticity within grassland species mixtures plays a critical role in species' performance following an extreme drought event. We show that neighbour-induced plasticity in plant traits related to resource acquisition may be an effective adaptive strategy in a changing environment, and a valuable indicator of the capacity of species to recover after an extreme drought event.

Introduction

Extreme drought events represent a major disturbance for temperate plants, with consequences for plant growth, survival and community structure (Milbau et al. 2005; Arnone et al. 2011; Kreyling, Jentsch & Beierkuhnlein 2011; Reyer et al. 2013). In grasslands, drought can strongly restrict aboveground plant growth and thus forage production (Silvertown et al. 1994; Lambers & Pons 1998; Lane, Coffin & Lauenroth 2000). However, grassland biomass responses to prolonged drought periods show significant variation in magnitude and duration across studies (Knapp, Briggs & Koelliker 2001; Kahmen, Perner & Buchmann 2005; Gilgen & Buchmann 2009; St. Clair et al. 2009; Jentsch et al. 2011). Given that more frequent extreme droughts are expected in the coming years (Meehl & Tebaldi 2004), improved knowledge of the drivers underlying grassland plant community responses to severe drought events is required.

Growing evidence suggests that plant community composition and species interactions may be critical for grassland responses to extreme drought (Bloor & Bardgett 2012; Mariotte et al. 2013; He & Bertness 2014; Isbell et al. 2015). Under limiting soil water conditions, species within a plant community are expected to compete for water (Grime 1973; Tilman 1982) and/or facilitate access to available soil moisture (Callaway 2007). In the case of severe drought events, the stress gradient hypothesis predicts a shift in plant interactions (Bertness & Callaway 1994); typically an increase in environmental stress induces a shift to facilitation or a reduction in competition (He et al 2013). Studies which have assessed the role of plant interactions in temperate grasslands during extreme drought events confirm that extreme events may modify plant-plant interactions, with the nature of the shifts depending on the community composition (Jentsch et al. 2011; Khan et al. 2014; Grant et al. 2014; Van den Berge et al. 2014). Indeed, Grant et al. (2014) suggest that shifts in the competitive hierarchy between species may be a key mechanism contributing to the stability of plant community productivity under extreme weather events.

Modulation of species performance (in terms of biomass production) by heterospecific interactions can result from both interspecific variation in plant traits and intraspecific variation (plant trait plasticity) in the species involved (Gubsch et al. 2011; Roscher et al. 2015; Liancourt et al. 2015). Previous work has found that plant traits can show a high degree of plasticity in response to neighbours and even to the specific identity of neighbours (Callaway, Pennings & Richards 2003). Plasticity in plant functional traits may have

consequences for subsequent plant resource uptake and use. For example, in semi-arid shrublands, Le Bagousse-Pinguet et al. (2015) report that biotic constraints may induce substantial variation in traits such as leaf area and plant height which are related to plant competitive ability and tolerance to water stress. Recent work has also shown that intraspecific trait responses can be a major determinant of species performance under drought (Jung et al. 2014; Liancourt et al. 2015). Improved understanding of the role of heterospecific interactions in modulating intraspecific traits and subsequent species performance could help better predict how grassland biomass production will be impacted by extreme drought events.

Irrespective of neighbour identity, drought recovery may be promoted by traits linked to resource acquisition, dehydration avoidance and/or tolerance (Pérez-Ramos et al. 2013). Previous work suggests that traits related to species' survival and re-growth capacities may enhance productivity after the occurrence of severe drought (Lelièvre et al. 2011; Volaire, Barkaoui & Norton 2014). For example, cell membrane stability of meristematic tissues has been identified as an important trait for the plant survival after severe drought (Volaire, Thomas & Lelièvre 1998b; Volaire et al. 1998a; Verslues et al. 2006). Moreover, recent work with monocultures of temperate grassland species has shown that survival and plant regrowth after extreme drought was promoted by different plant attributes optimizing resource acquisition such as high leaf elongation and deep roots (Zwicke et al. 2015). However, the relative importance of different plant traits for biomass recovery of multi-species mixtures subjected to severe drought remains unclear.

In this study, experimental mesocosms with monocultures and two-species mixtures of temperate grassland species were subjected to an extreme summer drought event and monitored over a ten-month, post-rewetting recovery period. We examined variation in biomass and plant functional traits measured either prior to or during drought in all species composition treatments. Two main questions were addressed: (i) Do species' biomass production after extreme drought and neighbour-induced variation in biomass production after extreme drought depend on species composition within species mixtures? (ii) Is neighbour-induced variation in biomass production after extreme drought depend on species composition within species mixtures? (ii) Is neighbour-induced variation in biomass production after extreme drought driven by changes in plant traits linked to resource acquisition or drought resistance?

Materials and methods

Site characteristics and plant material

A mesocosm experiment was set up outdoors in autumn 2012 in Clermont-Ferrand, France (45°46' N, 03°08' E, 350 m a.s.l.) under a semi-continental climate (annual mean temperature 12.4 °C, mean annual precipitation 579 mm). Five species (four grasses and one legume) were selected from temperate and fertile upland grasslands, representing a range of different traits linked to resource acquisition and drought resistance strategies: *Dactylis glomerata* (dg), *Festuca arundinacea* (fa), *Poa pratensis* (pp), *Trisetum flavescens* (tf) and *Trifolium repens* (tr). *Dactylis* and *Festuca* are tall, deep-rooted grass species with early foliar senescence under drought (Zwicke 2013). In contrast, *Poa* and *Trisetum* are short, shallow-rooted grasses, capable of maintaining green leaves for longer periods during water stress. In comparison with grass species, *Trifolium* has an intermediate rooting pattern with a more even root distribution in the soil profile, and lower root density at 20 cm soil depth compared with grasses (Skinner & Comas 2010; Hernandez & Picon-Cochard 2016). Moreover, *Trifolium* has a resource exploitation strategy and is considered to be less able to reduce its rate of leaf transpiration in response to drought compared to grass species (Burch & Johns 1978).

Experimental design

Forty-five free-draining, large cylindrical pots (37.5 cm in diameter, 93 cm deep, 100 L) were filled with granitic brown soil (12% clay, 17% loam, 59% sand, 13% organic matter) extracted from an upland grassland (45°43'N, 03°01'E, 850 m a.s.l.). Soil was sieved (20 mm mesh) and mixed with slow-release fertilizer (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14 Multicote 12, Haifa, Israel). A five cm layer of pozzolan gravel was placed at the bottom of each pot to improve drainage. Pots were insulated with a home-made polystyrene casing (50 mm thick; Styrodur®, BASF, France) to reduce soil warming due to light radiation.

In autumn 2012, monocultures and two- species mixtures were established by planting tillers from mature grass plants that had been previously grown in large containers for 2 years, and by sowing Trifolium (Merwi variety, medium leaf size). Five types of monocultures (i.e. one per species) and the ten types of two-species mixtures (all possible species pairs) were established each with three replicates. Each pot initially contained 30 individuals with an equal proportion of species in the two-species mixtures (Hernandez & Picon-Cochard 2016). At the start of the growing season in 2013, tillers and stolons were counted for grass species and Trifolium respectively, in all pots. For a given species and mixture, the changes in tiller density (tiller density increase) were calculated as the ratio of the number of tillers/stolons in the spring of 2013 to the initial number of individuals (autumn 2012).

From 22 April 2013, pots were set on weighing scales (60 x 60 cm, Arpege Master K, type N PAC + SAT MB, France) to continuously measure the soil water content by the daily changes in pot weight until the end of the study. All pots were maintained at 80% of field capacity by watering or rainfall events at the start of the study. On 13th June 2013, an extreme summer drought was applied by stopping irrigation and intercepting all precipitations with a transparent polycarbonate shelter [12.5 x 10.8 m, 6.2 m high, 90 % transmitted photosynthetically active radiation (PAR), Batiroc, France] for 57 days. At the end of the experimental drought period (10 August), pots were gradually rehydrated and subsequently maintained at 80% field capacity to monitor plant recovery capacity (9 mm per day; 80% field capacity reached after 8 days on average).

Soil water content measurements were performed on 15 pots with monocultures and 30 pots with two-species mixtures. Soil water content was assessed by daily changes in pot gravimetric soil moisture. Gravimetric soil water content was expressed as the daily soil relative-extractable water (REW_{*i*}):

$$\text{REW}_t = \frac{\text{soil moisture}_t - \text{soil moisture}_{\min}}{\text{soil moisture}_{\max} - \text{soil moisture}_{\min}}$$

where soil moisture_t is the current gravimetric soil moisture value measured at time t. Soil moisture_{min} and soil moisture_{max} are the minimum and maximum gravimetric soil moisture values recorded under droughted and well-watered conditions (0.054 and 0.379 respectively) (Hernandez & Picon-Cochard 2016).

The drought event was characterized by a high duration and intensity of water stress. Water stress is assumed to occur when REW drops below the threshold 0.4, at which point soil water content becomes limiting for transpiration. Absence of water inputs resulted in a REW value lower than 0.4 for 57 days. In addition, the drought event had a strong impact on lamina senescence of the community, with a nearly complete foliar senescence reached before rewetting.

Aboveground biomass

Vegetation was cut to a height of five cm at six dates between April 2013 and June 2014 (corresponding to four and two cuts in 2013 and 2014 respectively) to mimic local mowing practices. Cutting dates were used to define different periods of vegetation biomass production

(g pot⁻¹) during the experiment: pre-drought (23 May 2013), end of drought (12 August 2013), end of growing season (7 October 2013), start of growing season (11 April 2014) and peak biomass (10 June 2014). At each cut, plant material was sorted to species and green leaves were separated from inflorescences. Above-ground biomass was determined after oven-drying (60 °C for 48 h) and weighing.

Photosynthetic active radiation (PAR) extinction was measured before the pre-drought harvest in 2013 using a Sunfleck ceptometer (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA). PAR data were used to define two horizontal canopy layers (top and bottom), each contributing to approximately 50% of the total absorbed PAR. For a given species and mixture, the percentage of biomass of species present in the top layer (Biom_{top}, %) was calculated as the ratio of biomass in the top canopy layer to total biomass.

Leaf traits and N measurements

The vegetative plant height of each species was measured by averaging five measurement points per species and per pot throughout the experiment (measurements at 18 dates between April 2013 and June 2014). Height growth rate was calculated as the increase in height between two consecutive dates divided by day number. Maximum values of height growth rate were calculated per species and per pot for the drought period (H.growth, cm day⁻¹).

Specific leaf area (SLA, m² kg⁻¹) under well-watered conditions was measured for two leaves for all species in each pot in the spring of the first year following Garnier et al. (2001). Green leaves from the plant harvest prior to drought were oven-dried (60 °C, 48 h) and ballmilled (MM200, Retsch, Germany). Sub-samples of dried, green material (1 mg) were analysed for leaf nitrogen content (N, %) (IsotopeCube, Elementar, Hanau, Germany) and leaf 13C isotopic composition (Isoprime 100, IsoPrime, Manchester, UK) at the stable isotope facility at INRA Nancy, France. δ 13C measured on the leaves of the top canopy layer was expressed with an analytical precision of 0.2 ‰ (standard deviation). Leaf carbon isotopic composition (δ 13C, ‰) is a useful trait for assessing intrinsic water use efficiency (WUE at the leaf level), which is the ratio of photosynthetic carbon fixation to stomatal conductance, but also for time-integrated values of plant water-use efficiency (Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989).

Traits related to drought resistance strategy

We focused on traits related to the maintenance of leaf water content and membrane stability of meristems at the base of enclosed leaves. During the first stage of drought period (i.e. until leaf senescence, 17 June to 8 July 2013), one mature leaf per species and per pot was collected at seven dates, then rehydrated and oven-dried (60 °C for 48h) to measure leaf relative water content (LRWC, %) according to Volaire et al. (1998b). The length of time required for leaf relative water content to reach 50% was measured per species and per pot (LRWC₅₀, day). We used this information to derive a drought resistance trait using a dynamic model of plant dehydration (see Supporting information for full details, Appendix S1). In brief, this model assumes that LRWC decreases with drought as a function of changes in foliar water balance, and that the foliar water balance responds to soil water availability (REW) following a Holling type III function. The parameter b of this function (REW_{wb 50}), representing the REW value at half-maximum of foliar water balance, was calibrated for each species in each plot. Given that soil moisture after a given length of time after the start of drought may vary depending on the water-use efficiency of the plant community, REW_{wb 50} provides a more integrated index of drought sensitivity to soil water deficit than LRWC₅₀ alone.

At the end of the extreme drought event, and immediately prior to rewetting, tolerance to dehydration was estimated by measurements of water content (WC) and cell membrane stability (CMS) on leaf meristems, according to the electrolyte leakage test principle (Blum & Ebercon 1981; Rachmilevitch, DaCosta & Huang 2006). Leaf meristems (or lateral buds on stolons for Trifolium) were harvested on two individuals per species and per pot after removal of mature leaves (Lattanzi, Schnyder & Thornton 2004). One of two sampled meristems was placed in a tube filled with 8 mL of deionised water. Conductivity (C1) was measured with a conductimeter (Held Meter LF340, TetraCon® 325, Germany) after 22h of incubation in the dark at ambient temperature (roughly 20 °C) on a shaking plate. Samples were autoclaved at 120 °C for 30 min to destroy all cell membranes, cooled to ambient temperature and a second conductivity measurement was carried out (C2) (Charrier & Améglio 2011). CMS (%) was calculated as CMS = (1 - C1 / C2) * 100 (Volaire 2002). In parallel, the second leaf meristem sampled per species and per pot was weighed fresh and then dried (60 °C for 48h) prior to reweighing. Meristem water content (%) was determined as (FM - DM)/FM*100 where FM and DM are the meristem fresh mass and the dry mass respectively.

Neighbour-induced variation in biomass production

Species' above-ground biomass harvested at the end of the growing season in year 1 (short-term recovery) and at peak biomass in year 2 (long-term recovery) was used to compare species yield

in monoculture and two-species mixtures. Deviation (D_i) values for species i's biomass in the two-species mixtures were calculated according to the equation:

$$D_i = \frac{\text{biomass}_{obs_i} - \text{biomass}_{exp_i}}{\text{biomass}_{exp_i}}$$

where $biomass_{obs i}$ and $biomass_{exp i}$ are the measured and expected biomasses of species i, respectively (Loreau 1998). The expected biomass of each species in a mixture is calculated as the product of the species biomass in monoculture and its proportion in the total above-ground biomass of the mixture. Positive or negative values for D_i reflect a shift in the direction and/or strength of plant interactions related to the presence of other species in a mixture. For example, a positive value for D_i suggests higher intra- than inter-specific competition, facilitation or niche complementarity between species (Loreau 1998).

Statistics

Mixed models and Tukey's tests were used to assess the effects of species identity, neighbour identity, date of biomass harvest (end of growing season and peak biomass) and their interactions on both biomass production and the deviation of species biomass in mixtures from monocultures (D_i). Pot was also included in the model as a random effect. Effects of species on trait data (SLA, tiller density increase, leaf N and $\delta 13C$, Biom_{top}, H.growth, meristem CMS, meristem WC, LRWC₅₀ and REW_{wb 50}) were assessed using ANOVA and Tukey post-hoc tests within monocultures subjected to the drought event (Table 5-1).

Trait plasticity was estimated for each pot containing two-species mixtures as the difference between species i's trait value recorded in mixtures and the mean trait value of the corresponding monoculture for all ten study traits (Table 5-1). Mixed effects models were used on the trait plasticity data for each species and each trait to evaluate how (1) species i responds to neighbours, and (2) species i affects the associated species. Differences between species' trait values in monocultures and in two-species mixtures were used as explanatory variables of the proportional deviation of species i's biomass following severe drought (D_i). To analyse the importance of trait plasticity for variation in D_i, we used mixed effects models using trait plasticity data as potential predictors and species identity as a random factor. The best fits within all combinations of predictors up to a maximum of 4 predictors were selected for the short- and long-term periods of recovery (end of growing season year 1 and peak biomass year 2 respectively). For each period, the model selected had the lowest number of predictors among models with AICc - AICc_{min} < 2, with AICc the corrected Akaike information criterion of the model being considered and AICc_{min} the minimum AICc value among all tested models. We

also studied the relative importance of each predictor using the sum of Akaike weights across models including a given predictor (Burnham & Anderson 2002).

Data were analysed under the R environment (version 3.3.0, R core team 2016) using the lme4, lsmeans, AICcmodavg and pwr packages (Bates et al. 2015; Champely et al. 2015; Lenth 2016; Mazerolle 2016). Where necessary, D_i and trait data were log-transformed to meet the assumptions of statistical analyses.

Functional traits	Functions	Resources	Measurement time	Unit
Tiller density increase	Resource	Water / N	Spring year 1	-
	acquisition	/ Light	(30 April)	
Specific Leaf Area (SLA)	Light	C / Light	Spring year 1	$m^2 kg^{-1}$
-	acquisition	-	(16 May)	-
Above-ground biomass in	Light	C / Light	Spring year 1	%
the "light" layer (Biom _{top})	acquisition		(23 May)	
Leaf carbon isotopic	Proxy of water	Light / C /	Spring year 1	‰
composition (δ^{13} C)	use efficiency	water	(23 May)	
Leaf nitrogen content (N)	Photosynthetic	Ν	Spring year 1	%
	rate; N use		(23 May)	
Maximum height growth	Light	C / Light	Early summer year 1	cm day ⁻¹
(H.growth)	acquisition	-	(13 June to 9 July)	•
Duration required for leaf	Water deficit	Water	Summer year 1	day
relative water content to	tolerance		(13 June to 12 August)	•
reach 50% (LRWC ₅₀)				
REW value for water	Water deficit	Water	Summer year 1	-
balance equal to 50%	tolerance		(13 June to 12 August)	
(REW _{wb 50})				
Meristem cell membrane	Water deficit	Water	Late summer year 1	%
stability (merist. CMS)	tolerance		(12 August)	
Meristem water content	Water deficit	Water	Late summer year 1	%
(merist. WC)	tolerance		(12 August)	

Table 5-1 Traits recorded during the study. The period of measurement, associated functions and links with resource use are given.

Results

Effects of mixture composition on post-drought biomass production

Across all species mixtures, species' biomass production recorded two months and 10 months after drought ranged from 1-113 g.pot⁻¹ and 2-182 g.pot⁻¹ respectively (Figure 5-1). Species biomass showed significant interspecific variation, but species identity effects varied depending on neighbour identity (significant species identity x neighbour identity interaction, $F_{16,55} = 5.71$, P < 0.001) and period of harvest (significant species identity x harvest

interaction, $F_{4,55} = 13.81$, P < 0.001). Significant interactions were also found between neighbour identity and period of harvest ($F_{4,55} = 2.63$, P < 0.05).



Figure 5-1 Species' aboveground biomass in monocultures and two-species mixtures harvested (a) 2 months after drought (short-term recovery), and (b) 10 months after drought (long-term recovery). Species' biomass is presented for monocultures (grey) and for two-species mixtures in the presence of different neighbours (colours). Mean values \pm SEM are shown. For each period, post hoc tests were performed for all target species and neighbour combinations; different letters correspond to statistical differences (P < 0.05).

Across all species mixtures, deviation values for species i's biomass in the two-species mixtures (D_i) recorded two months and 10 months after drought ranged from -0.59 to 1.19 and -0.52 to 3.56 respectively (Figure 5-2). Species identity had a significant effect on D_i , but species identity effects varied depending on period of harvest (significant species identity x

harvest interaction, $F_{4,60} = 14.09$, P < 0.001). Neighbour identity had a significant effect on D_i, with neighbour identity effects depending on period of harvest (significant neighbour identity x harvest interaction, $F_{4,60} = 8.55$, P < 0.001). Significant interactions were also found between species identity, neighbour identity and period of harvest ($F_{11,60} = 3.09$, P < 0.01).



Figure 5-2 Species' biomass responses in the presence of neighbours recorded (a) 2 months after drought (short-term recovery), and (b) 10 months after drought (long-term recovery). The proportional deviation in biomass of a target species from its expected value (Di) is presented. Mean values \pm SEM are shown. For each period, post hoc tests were performed for all target species and neighbour combinations; different letters correspond to statistical differences (P < 0.05). The sign (*) corresponds to a significance deviation from the null hypothesis (deviation from 0) (P < 0.05).

During short-term recovery, species identity had a significant effect on D_i in twospecies mixtures ($F_{4,28} = 11.00$, P < 0.001; Figure 5-2). D_{dg} had a negative value whereas D_{tr} had a positive value ($D_{dg} = -0.19$, P < 0.05 and $D_{tr} = 0.68$, P < 0.001). In the short-term,
neighbour identity also had a significant effect on D_i ($F_{4,28} = 3.49$, P < 0.05; Figure 5-2). D_i had positive values in the presence of Dactylis, Festuca and Trifolium (0.31, 0.32 and 0.13, respectively; P < 0.05). Species deviation values did not interact with neighbour identity. During long-term recovery, D_i showed a significant interaction between species identity and neighbour identity ($F_{11,23} = 2.36$, P < 0.05; Figure 5-2). In general, D_{fa} had a negative value ($D_{fa} = -0.22$, P < 0.05), although a positive value was observed in the presence of Trifolium ($D_{fa} = 0.32$, P > 0.05). In contrast, D_{pp} and D_{tf} had positive responses to the presence of Trifolium. In the long-term, neighbour identity also had a significant effect on D_i ($F_{4,28} = 7.93$, P < 0.001; Figure 5-2). Trifolium had a positive effect on D_i ($D_i = 1.52$, P < 0.01), although D_{pp} and D_{tf} showed higher increases than D_{dg} and D_{fa} in the presence of Trifolium (Figure 5-2).

Effects of mixture composition on trait values

All plant traits showed significant interspecific variation across monocultures (Table 5-S1). Plant traits also varied in two-species mixtures in the different species combinations (Table 5-2). Trait plasticity (the difference between trait values in monocultures and two-species mixtures) showed significant interspecific variation in eight out of 10 traits examined (Tables 5-3 and 5-S2). Moreover, plasticity in five traits showed significant neighbour effects; effects of neighbour identity were mainly measured on trait plasticity in traits related to resource acquisition in well-watered conditions (SLA, δ 13C, tiller density increase, Biom_{top}; Tables 5-3 and 5-S2). Significant species identity x neighbour identity interactions were only found for three traits (SLA, tiller density increase, meristem CMS; Table 5-3).

	Period			Pre-droug	ght			Drought							
sp.	neighbour	SLA	Ν	$\delta^{13}C$	Biom _{top}	Tiller density increase	H.growth	LRWC ₅₀	merist. CMS	merist. WC	REW _{wb 50}				
dg	dg	23.5	4.32	-29.86	60	15.0	1.00	16.0	30.2	29.73	0.053				
dg	fa	28.8	3.80	-29.64	39	9.6	0.74	12.5	57.5	47.36	0.051				
dg	pp	28.4	3.97	-29.25	47	13.2	0.27	15.0	45.3	40.12	0.064				
dg	tf	27.1	4.33	-29.32	66	13.0	0.91	21.0	28.4	31.17	0.045				
dg	tr	25.9	4.32	-29.74	56	16.0	0.86	18.5	24.2	37.54	0.044				
fa	fa	28.9	3.52	-29.31	36	25.5	0.59	20.0	36.2	50.08	0.049				
fa	dg	25.3	3.63	-29.56	41	24.3	1.09	18.5	41.7	30.69	0.048				
fa	pp	24.3	3.56	-29.49	50	23.5	0.80	20.5	22.5	32.46	0.057				
fa	tf	25.2	3.57	-29.55	65	28.7	1.22	20.0	21.2	41.21	0.053				
fa	tr	23.5	3.46	-29.51	55	26.3	1.28	18.5	20.0	27.95	0.043				
pp	pp	30.0	3.78	-28.98	65	26.4	0.44	25.0	56.6	40.40	0.042				
pp	dg	21.5	3.31	-29.24	50	12.7	0.56	15.5	50.4	35.57	0.063				
pp	fa	24.5	3.88	-29.46	49	12.8	0.68	17.5	50.1	34.13	0.064				
pp	tf	24.7	3.91	-29.04	82	13.7	0.80	24.5	37.4	29.84	0.041				
pp	tr	22.8	3.80	-28.88	75	32.3	0.71	24.0	57.9	45.81	0.048				
tf	tf	25.5	3.99	-29.66	77	17.2	1.51	26.5	44.2	35.38	0.041				
tf	dg	27.5	4.09	-29.8	72	18.1	0.76	21.5	34.6	30.54	0.042				
tf	fa	23.8	3.96	-30.07	63	15.5	1.23	19.5	44.3	41.79	0.056				
tf	pp	22.8	3.81	-29.8	84	20.0	1.63	24.5	23.0	23.98	0.048				
tf	tr	23.0	3.58	-29.99	86	29.8	1.27	24.5	40.2	42.29	0.046				
tr	tr	41.0	4.14	-29.74	100	15.1	0.36	19.5	67.3	47.39	0.046				
tr	dg	38.4	4.22	-30.32	15	9.0	0.43	14.5	13.0	44.40	0.057				
tr	fa	40.6	4.32	-30.88	7	13.6	0.27	13.5	57.6	41.49	0.057				
tr	pp	34.8	4.08	-30.42	46	7.1	0.73	20.5	45.6	35.93	0.057				
tr	tf	34.7	4.16	-29.98	50	8.8	0.47	24.0	67.6	53.30	0.044				

Table 5-2 Effects of neighbour identity on traits measured under non-limiting water conditions during spring year 1 (pre-drought) and during summer year 1 (drought). Mean values per species (sp.) and per neighbour identity are shown.

Table 5-3 Interactive effects of species identity (sp) and neighbour identity (neighbour) on plant trait plasticity measured pre-drought under non-limiting water conditions (spring year 1) and during the drought event (summer year 1). For each trait, mixed model ANOVA was performed on the two-species mixtures data. P-values are shown; bold values correspond to significant differences (P < 0.05).

Period			Pre-drou	ıght		Drought								
Trait shift	SLA	Ν	$\delta^{13}C$	Biom _{top}	Tiller density increase	H.growth	LRWC ₅₀ merist. CMS		merist. WC	REW _{wb 50}				
sp	<0.0001	0.5724	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0111	0.0001	0.0037	<0.0001	0.1126				
neighbour	<0.0001	0.8732	0.0142	0.0015	<0.0001	0.8301	<0.0001	0.2562	0.5139	0.0679				
sp:neighbour	<0.0001	0.5376	0.3921	0.9804	0.0015	0.0901	0.0813	0.0133	0.1857	0.3150				

Relationships between neighbour-induced variation in biomass production and trait plasticity across mixtures

Irrespective of the period considered, plasticity in traits associated with resource acquisition under well-watered conditions was strongly related to the deviation of species biomass production in two-species mixtures (70 % and 63 % of the variation in D_i for short- and longterm recovery periods respectively). Two months after drought, variation in D_i in two-species mixtures was best explained by plasticity in SLA, δ 13C, Biom_{top} and meristem CMS (marginal R² = 0.46, Table 5-4). According to the predictor estimates, higher D_i during shortterm recovery was associated with a decrease in SLA, δ 13C and Biom_{top} and an increase in meristem CMS (Table 5-4). Changes in meristem CMS, the only trait related to dehydration tolerance, contributed 11 % of the variation in D_i, while the main contributors, Biom_{top} (26 %) and δ 13C (23 %), were related to resource acquisition in well-watered conditions (Tables 5-1 and 5-4).

In the longer term, variation in D_i was best explained by plasticity in tiller density increase (31 %) and REW_{wb 50} (16 %) (marginal R² = 0.26, Table 5-4). Indeed, higher D_i was related to an increase in tiller density and a decrease in the soil REW value for which the water balance reached 50% (REW_{wb 50}). Moreover, species identity, as random effect, had a large contribution to the amount of explained variation in D_i in year 2 (conditional R² = 0.66).

Table 5-4 Relationships between plant trait plasticity and species' biomass responses in the presence of neighbours (D_i). The final selected models were developed for two-species mixtures harvested two months after drought (short-term recovery) and 10 months after drought (long-term recovery). Marginal R² describes the proportion of variance explained by the fixed factors; conditional R² describes the proportion of variance explained by both the fixed and random factors.

Period	marg R ²	cond R ²	delta	AICc	Intercept	Std.					
			AICc0			dev.					
Short-term recovery	0.462	0.462	13.11	51.26	0	0	Selected traits	Biom _{top}	$\delta^{13}C$	SLA	merist. CMS
							Estimate	-0.0054	-0.3128	-0.0260	0.0045
							Std. error	0.0014	0.1249	0.0124	0.0022
							Rela. impo. (%)	25.6	22.8	14.6	11
Long-term recovery	0.255	0.661	16.63	155.95	0.6734	0.8206	Selected traits	Tiller density increase	REW _{wb 50}		
							Estimate	0.0765	-15.7664		
							Std. error	0.0160	7.6740		
							Rela. impo. (%)	30.6	16.2		

Discussion

Variation in the distribution and abundance of plant traits is often considered to play a key role for ecosystem function and stability (Díaz et al. 2007; Polley, Isbell & Wilsey 2013). In the present work, we show that intraspecific trait plasticity induced by interactions with heterospecific neighbours may mediate biomass production of grassland species following an extreme drought event.

Neighbouring species and post-drought biomass production

In the present study, neighbour-induced variation in biomass production (D_i) varied depending on both the target species considered and the length of recovery period after drought. Our results provide some evidence for consistent response patterns within grass functional groups i.e. negative responses to neighbours in tall and deep-rooted grass species and positive responses to neighbours in short and shallow-rooted grass species. Similar responses to neighbours within functional groups have previously been predicted (Lavorel et al. 1997) and recently shown in shrub communities from a Mediterranean Mountain Range (Macek et al. 2016).

We found that short-term biomass production after drought was greater for Trifolium in interspecific mixtures compared with Trifolium monocultures (significantly positive D_i). This response could in part reflect stimulatory effects of the neighbouring grass species on the symbiotic N_2 fixation activity of Trifolium (Nyfeler et al. 2011). In the longer-term, short and shallow-rooted grass species (Poa and Trisetum) improved their biomass production in the presence of other species. Positive D_i values for Poa and Trisetum were driven by strong positive responses of these species to the presence of Trifolium, likely reflecting facilitation and increased access to N availability (Huston & McBride 2002; Spehn et al. 2002; Lambers et al. 2004; Bessler et al. 2012) as well as complementarity for water acquisition (Hernandez & Picon-Cochard 2016).

In line with predictions, we found a significant effect of neighbour identity on both species' biomass production and neighbour-induced variation in biomass production following an extreme drought event. This is consistent with results from previous grassland mesocosm experiments based on two- or four-species mixtures (Kreyling et al. 2008; Khan et al. 2014; Grant et al. 2014). However, effects of heterospecific neighbours on biomass production were species-specific and time dependent. Presence of the tall, deep-rooted

Dactylis and Festuca had transient, positive effects on biomass production of the target species. Deep root systems can be an effective drought avoidance trait that allows water uptake maintenance in spite of the rapid drying of the upper soil layer (Su et al. 2008; White & Snow 2012). Thus, short-term positive effects of tall, deep-rooted species could reflect the presence of an efficient deep root system, which alleviates competition for water in the superficial soil layers and consequently promote biomass production of the associated shallow-rooted species. As expected, Trifolium had a facilitative effect on neighbour biomass production in both the short- and long-term; positive legume effects were maintained and strongly increased 10 months following the drought event. Facilitative effects of Trifolium biomass after drought may reflect mutual facilitation effects since production of Trifolium biomass after drought was itself promoted by the presence of interspecific neighbours.

Neighbour-induced variation in biomass production is driven by trait plasticity

Previous studies indicate that plants may show a high degree of trait plasticity in the presence of conspecific and heterospecific neighbours (Callaway et al. 2003; Gubsch et al. 2011; Roscher et al. 2015). In the present study we found that neighbour-induced changes in species traits differed depending on both species and traits. Presence of heterospecific neighbours resulted in significant changes in the expression of traits associated with resource acquisition under non-limiting water conditions (SLA, δ 13C, Biom_{top}, tiller density increase). In contrast, traits associated with drought resistance during water deficit showed limited plasticity (significant response for LRWC₅₀ alone). This result is consistent with a reduction in heterospecific interactions and plant plasticity under severe stress (Michalet et al. 2006). Observed patterns of variation in response traits did not show clear patterns among plant functional groups (legume species, tall and deep-rooted grass species, and short and shallowrooted grass species).

In general, we found that neighbour-induced variation in post-drought biomass production was driven by changes in plant traits linked to resource acquisition under nonlimiting water conditions. This supports the idea that intraspecific variability due to plastic adjustments may underlie plant community responses to short events such as extreme drought (Helmuth, Kingsolver & Carrington 2005). It is perhaps noteworthy that neighbour-induced variation in short-term biomass production following drought was related to decreases in values of SLA and investment in biomass in the top layer of the vegetation canopy in mixtures compared to monocultures. Thus, presence of heterospecific neighbours, which appears to induce more conservative traits, could be beneficial for drought resistance and may confer an advantage during short-term drought recovery. Neighbour-induced shifts towards more conservative leaf-trait syndromes could also help explain the improved short-term biomass recovery of Trifolium in mixed-species mixtures.

Although short-term biomass production appeared to benefit from neighbour-induced adjustments towards more conservative plant traits, species' biomass recovery in the longerterm was promoted by shifts towards higher resource acquisition capacity (i.e. increased tiller density). This suggests that there may be a trade-off between neighbour-induced adjustments in plant traits involved in the short- and long-term performance of species after an extreme drought event. Whilst the maintenance of resource acquisition and transpiration during water stress can be detrimental to subsequent plant survival and short-term recovery (Volaire et al. 2014), traits which promote resource use are expected to benefit longer-term biomass production in surviving individuals. Indeed, work on grassland monocultures has previously shown that plant traits associated with resource acquisition may play an important role in grassland biomass recovery after severe drought (Zwicke et al. 2015).

Taken together, our findings indicate that intraspecific trait plasticity driven by heterospecific neighbour interactions may play a significant role in mediating the biomass response of grassland species after the occurrence of extreme drought. Such trait-based mechanisms could also explain previously-observed effects of heterospecific interactions on biomass variation in grassland communities (Zhang, Wang & Yu 2014). Our results highlight the importance of traits linked to resource acquisition for drought recovery in productive grassland species mixtures, and suggest that plant trait plasticity under non-limiting water conditions may be a useful indicator of how species recover after an extreme drought event. Further studies are needed to confirm the generality of these findings under field conditions and for less productive ecosystems.

Acknowledgements

We thank Patrick Pichon, Alexandre Salcedo, Robert Falcimagne, David Colosse, Sandrine Revaillot, Jean-Luc Ollier, Antoine Vernay, Marie Eve Cordova, Marie-Elsa Lefranc, and Iris Lochon for their help with the experimental set-up, site management, data collection, chemical analyses, and graphic design. Christian Hossann from INRA Nancy (PTEF analysis laboratory) is also acknowledged for 13C and N analyses. This work was supported by the CLIMAGIE project within the metaprogramme Adaptation of Agriculture and Forests to Climate Change (AAFCC) of the French National Institute for Agricultural Research (INRA), by the French Ministry MEDDE (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de

l'Energie) and the ERA-Net BiodivERsA, as part of the 2012 BiodivERsA call for research proposals.

References

- Arnone, J.A., Jasoni, R.L., Lucchesi, A.J., Larsen, J.D., Leger, E.A., Sherry, R.A., Luo, Y., Schimel, D.S. & Verburg, P.S.J. (2011) A climatically extreme year has large impacts on C4 species in tallgrass prairie ecosystems but only minor effects on species richness and other plant functional groups. Journal of Ecology, 99, 678–688.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. Journal of Statistical Software, 67, 1-48.
- Bertness, M.D. & Callaway, R. (1994) Positive interactions in communities. Trends in Ecology & Evolution, 9, 191–193.
- Bessler, H., Oelmann, Y., Roscher, C., Buchmann, N., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Temperton, V.M., Wilcke, W. & Engels, C. (2012) Nitrogen uptake by grassland communities: contribution of N2 fixation, facilitation, complementarity, and species dominance. Plant and Soil, 358, 301–322.
- Bloor, J.M.G. & Bardgett, R.D. (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 14, 193–204.
- Blum, A. (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. Field Crops Research, 112, 119–123.
- Blum, A. & Ebercon, A. (1981) Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Science, 21, 43–47.
- Burch, G. & Johns, G. (1978) Root absorption of water and physiological responses to water deficits by Festuca arundinacea Schreb. and Trifolium repens L. Functional Plant Biology, 5, 859–871.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (2002) Model selection and multimodel inference. Springer New York, New York.
- Callaway, R.M. (2007) Positive interactions and interdependence in plant communities. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Callaway, R.M., Pennings, S.C. & Richards, C.L. (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. Ecology, 84, 1115–1128.
- Champely, S., Ekstrom, C., Dalgaard, P., Gill, J., Wunder, J. & Rosario, H.D. (2015) Pwr: Basic Functions for Power Analysis. (version 1.1-3) [Computer software].

- Charrier, G. & Améglio, T. (2011) The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. Environmental and Experimental Botany, 72, 351–357.
- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., Quétier, F., Grigulis, K. & Robson, T.M. (2007) Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104, 20684–20689.
- Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R. & Hubick, K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 40, 503–537.
- Garnier, E., Shipley, B., Roumet, C. & Laurent, G. (2001) A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. Functional Ecology, 15, 688–695.
- Gilgen, A.K. & Buchmann, N. (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. Biogeosciences, 6, 2525–2539.
- Grant, K., Kreyling, J., Heilmeier, H., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2014) Extreme weather events and plant–plant interactions: shifts between competition and facilitation among grassland species in the face of drought and heavy rainfall. Ecological Research, 29, 991–1001.
- Grime, J.P. (1973) Competitive exclusion in herbaceous vegetation. Nature, 242, 344–347.
- Gubsch, M., Buchmann, N., Schmid, B., Schulze, E.-D., Lipowsky, A. & Roscher, C. (2011) Differential effects of plant diversity on functional trait variation of grass species. Annals of Botany, 107, 157–169.
- He, Q. & Bertness, M.D. (2014) Extreme stresses, niches, and positive species interactions along stress gradients. Ecology, 95, 1437–1443.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G. & Carrington, E. (2005) Biophysics, physiological ecology, and climate change: does mechanism matter? Annual Review of Physiology, 67, 177– 201.
- Hernandez, P. & Picon-Cochard, C. (2016) Presence of Trifolium repens promotes complementarity of water use and N facilitation in diverse grass mixtures. Frontiers in Plant Science, 7: 538.
- Huston, M.A. & McBride, A.C. (2002) Evaluating the relative strengths of biotic versus abiotic controls on ecosystem processes. Biodiversity and Ecosystem Functioning.

Synthesis and Perspectives (eds Loreau, M., Naeem, S. & Inchausti, P.), pp. 47-60. Oxford University Press, Oxford UK.

- Isbell, F., Craven, D., Connolly, J., Loreau, M., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Bezemer, T.M., Bonin, C., Bruelheide, H., de Luca, E., Ebeling, A., Griffin, J.N., Guo, Q., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Manning, P., Meyer, S.T., Mori, A.S., Naeem, S., Niklaus, P.A., Polley, H.W., Reich, P.B., Roscher, C., Seabloom, E.W., Smith, M.D., Thakur, M.P., Tilman, D., Tracy, B.F., van der Putten, W.H., van Ruijven, J., Weigelt, A., Weisser, W.W., Wilsey, B. & Eisenhauer, N. (2015) Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes. Nature, 526, 574–577.
- Jentsch, A., Kreyling, J., Elmer, M., Gellesch, E., Glaser, B., Grant, K., Hein, R., Lara, M., Mirzae, H., Nadler, S.E., Nagy, L., Otieno, D., Pritsch, K., Rascher, U., Schädler, M., Schloter, M., Singh, B.K., Stadler, J., Walter, J., Wellstein, C., Wöllecke, J. & Beierkuhnlein, C. (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. Journal of Ecology, 99, 689–702.
- Jung, V., Albert, C.H., Violle, C., Kunstler, G., Loucougaray, G. & Spiegelberger, T. (2014) Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events. Journal of Ecology, 102, 45–53.
- Kahmen, A., Perner, J. & Buchmann, N. (2005) Diversity-dependent productivity in seminatural grasslands following climate perturbations. Functional Ecology, 19, 594–601.
- Khan, M.A.S.A., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Kreyling, J. & Jentsch, A. (2014) Climatic extremes lead to species-specific legume facilitation in an experimental temperate grassland. Plant and Soil, 379, 161–175.
- Knapp, A.K., Briggs, J.M. & Koelliker, J.K. (2001) Frequency and extent of water limitation to primary production in a mesic temperate grassland. Ecosystems, 4, 19–28.
- Kreyling, J., Jentsch, A. & Beierkuhnlein, C. (2011) Stochastic trajectories of succession initiated by extreme climatic events. Ecology Letters, 14, 758–764.
- Kreyling, J., Wenigmann, M., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2008) Effects of extreme weather events on plant productivity and tissue die-back are modified by community composition. Ecosystems, 11, 752–763.
- Lambers, J.H.R., Harpole, W.S., Tilman, D., Knops, J. & Reich, P.B. (2004) Mechanisms responsible for the positive diversity–productivity relationship in Minnesota grasslands. Ecology Letters, 7, 661–668.

- Lambers, H., Chapin (III.), F.S. & Pons, T.L. (1998) Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag, New York.
- Lane, D.R., Coffin, D.P. & Lauenroth, W.K. (2000) Changes in grassland canopy structure across a precipitation gradient. Journal of Vegetation Science, 11, 359–368.
- Lattanzi, F.A., Schnyder, H. & Thornton, B. (2004) Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. Plant, Cell & Environment, 27, 347–356.
- Lavorel, S., McIntyre, S., Landsberg, J. & Forbes, T.D.A. (1997) Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. Trends in Ecology & Evolution, 12, 474–478.
- Le Bagousse-Pinguet, Y., Börger, L., Quero, J.-L., García-Gómez, M., Soriano, S., Maestre, F.T. & Gross, N. (2015) Traits of neighbouring plants and space limitation determine intraspecific trait variability in semi-arid shrublands. Journal of Ecology, 103, 1647– 1657.
- Lelièvre, F., Seddaiu, G., Ledda, L., Porqueddu, C. & Volaire, F. (2011) Water use efficiency and drought survival in Mediterranean perennial forage grasses. Field Crops Research, 121, 333–342.
- Lenth, R.V. (2016) Least-Squares Means: The R Package Ismeans. Journal of Statistical Software, 69, 1–33.
- Liancourt, P., Boldgiv, B., Song, D.S., Spence, L.A., Helliker, B.R., Petraitis, P.S. & Casper,B.B. (2015) Leaf-trait plasticity and species vulnerability to climate change in a Mongolian steppe. Global Change Biology, 21, 3489–3498.
- Loreau, M. (1998) Separating sampling and other effects in biodiversity experiments. Oikos, 82, 600–602.
- Macek, P., Prieto, I., Macková, J., Pistón, N. & Pugnaire, F.I. (2016) Functional plant types drive plant interactions in a Mediterranean mountain range. Frontiers in Plant Science, 7: 662.
- Mariotte, P., Vandenberghe, C., Kardol, P., Hagedorn, F. & Buttler, A. (2013) Subordinate plant species enhance community resistance against drought in semi-natural grasslands. Journal of Ecology, 101, 763–773.
- Mazerolle, M.J. (2016) AICcmodavg: Model Selection and Multimodel Inference Based on (Q)AIC(c). R package version 2.0-4
- Meehl, G.A. & Tebaldi, C. (2004) More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century. Science, 305, 994–997.

- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Zikvidze, 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.
- Michalet, R., Le Bagousse-Pinguet, Y., Maalouf, J.-P. & Lortie, C.J. (2014) Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. Journal of Vegetation Science, 25, 609–613.
- Milbau, A., Scheerlinck, L., Reheul, D., De Cauwer, B. & Nijs, I. (2005) Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. Physiologia Plantarum, 125, 500–512.
- Nyfeler, D., Huguenin-Elie, O., Suter, M., Frossard, E. & Lüscher, A. (2011) Grass–legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources. Agriculture, Ecosystems & Environment, 140, 155–163.
- Pérez-Ramos, I.M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A. & Roumet, C. (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. Environmental and Experimental Botany, 87, 126–136.
- Polley, H.W., Isbell, F.I. & Wilsey, B.J. (2013) Plant functional traits improve diversity-based predictions of temporal stability of grassland productivity. Oikos, 122, 1275–1282.
- Rachmilevitch, S., DaCosta, M. & Huang, B. (2006) Physiological and biochemical indicators for stress tolerance. Plant-Environment Interactions, Third Edition (ed B. Huang), pp. 321–355. CRC Press, Florida.
- Reyer, C.P.O., Leuzinger, S., Rammig, A., Wolf, A., Bartholomeus, R.P., Bonfante, A., de Lorenzi, F., Dury, M., Gloning, P., Abou Jaoudé, R., Klein, T., Kuster, T.M., Martins, M., Niedrist, G., Riccardi, M., Wohlfahrt, G., de Angelis, P., de Dato, G., François, L., Menzel, A. & Pereira, M. (2013) A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. Global Change Biology, 19, 75–89.
- Roscher, C., Schumacher, J., Schmid, B. & Schulze, E.-D. (2015) Contrasting effects of intraspecific trait variation on trait-based niches and performance of legumes in plant mixtures. PLOS ONE, 10, e0119786.
- Silvertown, J., Dodd, M.E., McConway, K., Potts, J. & Crawley, M. (1994) Rainfall, biomass variation, and community composition in the Park Grass Experiment. Ecology, 75, 2430–2437.

- Skinner, R.H. & Comas, L.H. (2010) Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. Crop science, 50, 2178–2185.
- Spehn, E.M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Jumpponen, A., O'Donnovan, 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.
- St. Clair, S.B., Sudderth, E.A., Fischer, M.L., Torn, M.S., Stuart, S.A., Salve, R., Eggett, D.L. & Ackerly, D.D. (2009) Soil drying and nitrogen availability modulate carbon and water exchange over a range of annual precipitation totals and grassland vegetation types. Global Change Biology, 15, 3018–3030.
- Su, K., Bremer, D.J., Keeley, S.J. & Fry, J.D. (2008) Rooting characteristics and canopy responses to drought of turfgrasses including hybrid bluegrasses. Agronomy Journal, 100, 949.
- Tilman, D. (1982) Resource competition and community structure. Monographs in Population Biology, 17, 1–296.
- Van den Berge, J., Naudts, K., De Boeck, H.J., Ceulemans, R. & Nijs, I. (2014) Do interactions with neighbours modify the above-ground productivity response to drought? A test with two grassland species. Environmental and Experimental Botany, 105, 18–24.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. & Zhu, J.-K. (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal, 45, 523–539.
- Volaire, F. (2002) Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of Dactylis glomerata. Physiologia Plantarum, 116, 42–51.
- Volaire, F., Barkaoui, K. & Norton, M. (2014) Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. European Journal of Agronomy, 52, 81–89.
- Volaire, F., Thomas, H., Bertagne, N., Bourgeois, E., Gautier, M.-F. & Lelièvre, F. (1998a)
 Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: II. Water status, solute accumulation, abscisic acid concentration and accumulation of dehydrin transcripts in bases of immature leaves. New Phytologist, 140, 451–460.

- Volaire, F., Thomas, H. & Lelièvre, F. (1998b) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. New Phytologist, 140, 439–449.
- White, T.A. & Snow, V.O. (2012) A modelling analysis to identify plant traits for enhanced water-use efficiency of pasture. Crop and Pasture Science, 63, 63–76.
- Zhang, Y., Wang, Y. & Yu, S. (2014) Interspecific Neighbor Interactions Promote the Positive Diversity-Productivity Relationship in Experimental Grassland Communities. PLOS ONE, 9, e111434.
- Zwicke, M. (2013) Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial. PhD thesis, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- Zwicke, M., Picon-Cochard, C., Morvan-Bertrand, A., Prud'homme, M.-P. & Volaire, F. (2015) What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? Annals of Botany, 116, 1001-1015.

SUPPORTING INFORMATION

(1) Supplementary Tables

Table 5-S1 Effects of species identity on traits measured under non-limiting water conditions during spring year 1 (pre-drought) and during summer year 1 (drought). Mean values per species are shown. For each trait, post hoc tests were performed on monocultures; different letters correspond to statistical differences (P < 0.05).

Period			Pre-drough	nt		Drought							
species	SLA	Ν	δ ¹³ C	Biom _{top}	Tiller density increase	H.growth	LRWC ₅₀	merist. CMS	merist. WC	REW _{wb 50}			
dg	23.5 b	4.32 a	-29.86 b	60 b	15.0 c	1.00 ab	16.0 c	30.2 b	29.73 b	0.053 a			
fa	28.9 ab	3.52 c	-29.31 ab	36 c	25.5 ab	0.59 b	20.0 b	36.2 b	50.08 ab	0.049 ab			
рр	30.0 ab	3.78 bc	-28.98 a	65 b	26.4 a	0.44 b	25.0 a	56.6 b	40.40 ab	0.042 ab			
tf	25.5 b	3.99 abc	-29.66 b	77 ab	17.2 c	1.51 a	26.5 a	44.2 b	35.38 ab	0.041 b			
tr	41.0 a	4.14 ab	-29.74 b	100 a	15.1 bc	0.36 b	19.5 bc	67.3 a	47.39 a	0.046 ab			

Table 5-S2 Response of species i and effect of heterospecific neighbour i on trait shifts measured under non-limiting water conditions during spring year 1 (pre-
drought) and during summer year 1 (drought). For each trait shift and each species or neighbour, mixed model ANOVA was performed on the two-species mixtures data.
The statistical significance (* : P < 0.05; **: P < 0.01; ***: P < 0.001) and the direction of the shift in trait value (increase + or decrease - compared to monoculture) are
shown.

_		Pre-drought									Drought										
		SLA		N		δ ¹³ C		Bior	n _{top}	Tiller de increa	ensity ase	H.gr	owth	LRW	⁷ C ₅₀	merist	CMS	meris	st WC	REW	/ _{wb 50}
se	dg	***	+	*	-	**	+	NS	-	*	-	*	-	NS	+	NS	+	**	+	NS	-
loods	fa	***	-	NS	+	**	-	***	+	NS	+	*	+	NS	-	*	-	***	-	NS	+
i' re	pp	***	-	NS	-	*	-	NS	-	**	-	**	+	**	-	NS	-	NS	-	**	+
cies	tf	*	-	NS	-	**	-	NS	-	*	+	NS	-	***	-	*	-	NS	-	NS	+
Spe	tr	***	-	NS	+	***	-	***	-	***	-	NS	+	NS	-	*	-	NS	-	*	+
	dg	**	-	NS	-	**	-	*	-	*	-	NS	-	***	-	*	-	**	-	*	+
ur ffec	fa	NS	-	NS	-	*	-	**	-	**	-	NS	-	***	-	NS	+	NS	+	**	+
Neighbo ecies i' e	pp	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-	*	+
	tf	*	-	NS	+	NS	-	NS	+	*	-	NS	+	*	+	*	-	NS	-	NS	-
sb	tr	**	-	NS	-	NS	-	*	+	*	+	NS	+	NS	-	NS	-	NS	-	NS	-

(2) Method for the determination of a drought resistance trait ($REW_{wb 0.5}$): dynamic model of plant dehydration

We developed a simple model of plant leaf dehydration where the decrease of the relative leaf water content through time is a function of the leaf water balance, the ratio between water intake and transpiration, following:

$$\frac{dLRWC}{dt} = -(1 - WB(t)).LRWC(t),$$

where WB(t) and $LRWC(t)_t$ are respectively the modelled foliar water balance and relative leaf water content at time t.

In this model we assume that WB depends on soil water availability (soil relative extractable water, REW) following a Holling type III function (Denny, 2014). Accordingly, both transpiration and water acquisition are regulated to maintain the maximum water balance (equal to 1) until a given threshold of soil water availability (i.e. a given REW value). The water balance is expected to gradually decrease to zero beyond this threshold as REW declines to zero. Thus, the REW threshold value can be considered as a resistance trait. The parameter b of the Holling type III function represents the REW value at half-maximum of foliar water balance, following:

$$b = REW(t).\sqrt{\left(\frac{1}{WB(t)}\right)-1},$$

where REW(t) and WB(t) are respectively the soil relative extractable water and the modelled foliar water balance at time t. This parameter is interpreted as a drought resistance trait and is hereafter denoted REWwb 50.

Since REW and LRWC were monitored during the experiment, we calibrated REWwb 50 for each species in each plot using the deSolve and FME packages (Soetaert 2010; Soetaert, Petzoldt & Setzer 2010).



Figure 5-S1 Example of outputs for Dactylis species in a Dactylis-Trisetum two-species mixture. (a) Observed decrease of soil relative extractable water during the drought event ; (b) Modelled decrease of water balance during the drought event as function of soil relative extractable water ; (c) Best-fit model for the observed values of leaf relative water content during the drought event.

References

- Denny, M. (2014) Buzz Holling and the Functional Response. *The Bulletin of the Ecological Society of America*, **95**, 200–203.
- Soetaert, K. (2010) R Package FME: Inverse Modelling, Sensitivity, Monte Carlo Applied to a Dynamic Simulation Model.
- Soetaert, K., Petzoldt, T. & Setzer, R.W. (2010) Solving Differential Equations in R: Package deSolve. *Journal of Statistical Software*, **33**, 1–25.

Chapitre 6 : RÉPONSE DU COMPARTIMENT RACINAIRE A UN ÉVÉNEMENT DE SÉCHERESSE EXTRÊME

Ce chapitre est consacré à l'analyse des effets directs d'une sécheresse extrême et de la présence d'une autre espèce en association sur la croissance du système racinaire profond des mélanges d'espèces prairiales. Les résultats des Chapitre 1 et 3 nous ont amenés à nous interroger sur la réponse à une sécheresse extrême des racines profondes en mélanges. En effet, le système racinaire profond jouerait un rôle important pour la complémentarité dans l'accès aux ressources en mélanges hors stress et pourrait ainsi être impliqué dans la résistance et la récupération de la couverture végétale des mélanges après un extrême climatique. Ce chapitre, sous la forme d'un article en préparation, présente la dynamique de la croissance des racines profondes sous stress hydrique d'intensité croissance puis en phase de récupération à long terme.

IMPACT OF AN EXTREME DROUGHT EVENT ON THE GROWTH DYNAMICS OF DEEP ROOTS IN EXPERIMENTAL GRASSLAND MIXTURES

HERNANDEZ Pauline^{*}, POTTIER Julien, PICON-COCHARD Catherine and BLOOR Juliette

UREP, INRA, F-63000, Clermont-Ferrand, France

* Corresponding author: pauline-hernandez@orange.fr

Key words: Climate change, deep roots density, resistance, recovery, avoidance strategy, species composition

Abstract

Aims

Investment in deep roots can help sustain the aboveground production of temperate grasslands subjected to moderate water deficit, but little is known on the impacts of extreme drought on deep root dynamics. Here, we investigated the effect of an extreme drought event on the dynamics of deep root growth in experimental mixtures of grassland species. We further examined whether heterospecific interactions alter the deep root response to drought.

Methods

Five temperate grassland species with contrasted vertical root distributions were grown in experimental mesocosms with monocultures and two-species mixtures under well-watered conditions and then subjected or not to an extreme summer drought event. The growth rate of deep root length was monitored in a one-year study to assess the resistance and the recovery capacity of the deep root system.

Results

During the first stage of drought, highest decrease in root growth was measured in the presence of large deep-rooted species. During severe stress, root growth showed significant decreases irrespective of species identity or mixture composition. After the extreme, the presence of the deep-rooted grass *Dactylis glomerata* and the legume *Trifolium repens* appears to promote the re-growth of deep roots in mixtures by sampling effect. Moreover, extreme drought had a delayed positive effect on deep root growth following rewetting.

Conclusions

Species identity and intensity of water stress mediate the responses of deep roots to drought in grassland communities. After an extreme drought event, the resistance strategies of the dominant species appear to be a major determinant of deep root recovery.

Introduction

For many grassland ecosystems, water deficit is a key regulator of individual plant and community processes. Drought occurrence can strongly restrict aboveground plant growth and thus grassland forage production (Silvertown et al. 1994; Lambers et al. 1998; Lane et al. 2000). Given that reductions in summer precipitation and more frequent extreme droughts are expected in Central Europe (Meehl and Tebaldi 2004), clear understanding of grassland plant responses to extreme drought is required.

Different strategies of dehydration avoidance and tolerance allow plants to mitigate the negative effects of water deficit by limiting water loss and/or maintaining water uptake (Levitt 1980). Although shoots drive water uptake, the root system ultimately determines the plant's access to water (Sperry et al. 2002; Comas et al. 2013). Given that deep-rooted plant species have a larger total volume of soil water to exploit, high root density and deep rooting pattern may increase the efficiency of plant water uptake and promote drought avoidance (Carrow 1996; Kulkarni et al. 2008; Su et al. 2008; White and Snow 2012). Indeed, most of experimental studies have revealed higher drought resistance in the presence of deep roots for temperate grasslands communities (Kahmen et al. 2005; Mikkelsen et al. 2008; Hoekstra et al. 2014). However, mechanisms conferring resistance to moderate droughts can differ from those leading to plant persistence during severe drought (Milbau et al. 2005). While water uptake maintenance can be an efficient response under moderate water deficit, a trade-off between plant growth maintenance and survival of intense drought has been highlighted (Volaire et al. 2014). To date, information on deep root responses to severe droughts is limited (Zwicke et al. 2015).

Numerous studies suggest that interactions among species can induce changes in rooting patterns resulting in vertical root complementarity and in deeper and more even root distribution in species-rich mixtures (Callaway et al. 2003; Wardle and Peltzer 2003; Mommer et al. 2012; Skinner and Comas 2010). Root plasticity induced by the presence of heterospecific neighbours can increase access to available deep soil resources, leading to higher total water uptake which can help sustain transpiration (Fitter 1986; Fargione and Tilman 2005; De Boeck et al. 2006; von Felten et al. 2009; Mueller et al. 2013). However, patterns of deep root growth in the soil profile have rarely been recorded for multi-species mixtures (von Felten and Schmid 2008; Gilgen and Buchmann 2009; Mommer et al. 2010). Given that investment in deep roots may be more likely to occur when resources in the upper soil layers are scarce (van Peer et al. 2004; Nippert and Knapp 2007; Schenk 2008; Ravenek

et al. 2014; Bachmann et al. 2015), it seems reasonable to suppose that heterospecific neighbour presence may modify deep rooting patterns under drought conditions. Although the stress gradient hypothesis predicts shift in plant interactions with increasing water stress intensity (Bertness and Callaway 1994), the direction and strength of the shift remain a key issue (Michalet et al. 2006; Maestre et al. 2009; Chen et al. 2009; He et al. 2013; Michalet et al. 2014). A lack of knowledge remains regarding the sustainability of root plasticity induced by heterospecific neighbouring with increasing drought intensity.

Rapid resumption of shallow root growth following soil rewetting has been proposed to improve recovery of water transfer and plant productivity under episodic drought conditions (Vartanian 1981; Shinoda et al. 2010; Comas et al. 2013). Previous results suggest that efficient deep root system can also be related to recovery of forage production following severe drought (Zwicke et al. 2015). However, roots of plant species can vary in their capacity to recover rapidly after exposure to intense drought (Wraith et al. 1995; Eissenstat et al. 1999). Further investigation appears necessary regarding deep root recovery capacity of plant grassland mixtures following severe drought.

In the present study, we used minirhizotron techniques to study the growth and density of deep roots (80cm depth) for grassland species growing in monocultures and two-species mixtures, under well-watered or drought-stressed conditions. We examined the dynamics of deep root growth during the onset of a severe drought and then during one year following rewetting; effects of drought intensity were assessed by comparing time points at the start of drought (moderate drought intensity) and at the end of drought (severe drought intensity). We hypothesized that:

i) Impacts of drought on deep root growth depend on drought intensity; under moderate drought, water deficit promotes deep root growth whereas under severe drought, root growth decreases.

ii) Impacts of heterospecific neighbour presence on deep root growth under drought depend on drought intensity; multi-species mixtures promote deep root growth under optimal conditions or moderate drought due to plant-plant interactions, but have no effect on deep root growth under severe drought due to limiting resources and subsequent collapse of plant interactions.

iii) Heterospecific neighbours have stronger positive effects on long-term deep root recovery than short-term recovery.

Materials and methods

Site characteristics and plant material

A mesocosm experiment was set up outdoors in autumn 2012 in Clermont-Ferrand, France (45°46' N, 03°08' E, 350 m a.s.l.) under a semi-continental climate (annual mean temperature 12.4 °C, mean annual precipitation 579 mm). Five common species from temperate and fertile upland grasslands were selected: *Dactylis glomerata* (dg), *Festuca arundinacea* (fa), *Poa pratensis* (pp), *Trisetum flavescens* (tf) and *Trifolium repens* (tr). *Dactylis* and *Festuca* are tall, fast-growing and deep-rooted grass species with an early senescence drought avoidance strategy, whereas *Poa* and *Trisetum* are short and shallow-rooted grasses with more conservative strategy and longer maintenance of green leaves during water stress (Zwicke et al. 2015). Although the root systems of grasses are essentially concentrated on topsoil, a significant part of the roots can also grow deeper than 1 m (Zwicke et al. 2015). *Trifolium* is a legume with an intermediary root depth and a more even root distribution along the vertical column (Caradus 1977; Kutschera et al. 1992; Skinner and Comas 2010). Moreover, in response to dry topsoil conditions, *Trifolium* had shown less propensity to grow in deeper soil horizons than grasses (Skinner and Comas 2010).

Experimental design

Ninety-five free-draining, large cylindrical pots (37.5 cm in diameter, 93 cm deep, 100 L) were filled with granitic brown soil (12% clay, 17% loam, 59% sand, 13% organic matter) extracted from an upland grassland (45°43'N, 03°01'E, 850 m a.s.l.). Soil was sieved (20 mm mesh) and mixed with slow-release fertilizer (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14 Multicote 12, Haifa, Israel). A five cm layer of pozzolan gravel was placed at the bottom of each pot to improve drainage. Before being filled with soil, each pot was equipped with a transparent acrylic tube (40 cm in length, 5.5 cm in inside diameter) inserted horizontally at a depth of 80 cm for root observation (see Root Measurements). Pots were insulated with a home-made polystyrene casing (50 mm thick; Styrodur®, BASF, France) to reduce soil warming due to light radiation.

Mesocosms were established in autumn 2012 by planting tillers of mature grasses (Zwicke et al. 2015), and by sowing *Trifolium* species (Merwi variety, medium leaf size). Five types of monocultures (i.e. one per species) and ten types of two-species mixtures (all possible species pairs) were set up each with seven and six replicates for monocultures and mixtures, respectively. Each pot initially contained 30 individuals with an equal proportion of species in the species mixtures.

From April 2013 (Day of year: DOY 112 year 1), 76 of the 95 pots were set on weighing scales (60 x 60 cm, Arpege Master K, type N PAC + SAT MB, France) to continuously measure the soil water content by the daily changes in pot weight until May 2014 (DOY 132 year 2). All pots were maintained at 80% of field capacity by watering or rainfall events. In mid June 2013, an extreme summer drought lasting two months was applied to 45 of the 95 pots using a large rainout shelter (DOY 164 to 221 year 1), while water supply was maintained on control pots. Thereafter, the droughted pots were gradually rehydrated and maintained at field capacity to monitor plant recovery capacity (9 mm per day from DOY 222; field capacity reached after about 8 days on average).

Soil water content measurements were performed on 26 pots with monocultures (15 droughted pots) and 50 pots with two-species mixtures (30 droughted pots). Soil water content was assessed by daily changes in pot gravimetric soil moisture. Gravimetric soil water content was expressed as the daily soil relative-extractable water (REW_{*t*}) calculated as:

$$\text{REW}_t = \frac{\text{soil moisture}_t - \text{soil moisture}_{\min}}{\text{soil moisture}_{\max} - \text{soil moisture}_{\min}},$$

where soil moisture_t, soil moisture_{min} and soil moisture_{max} are respectively the current, minimum and maximum gravimetric soil moistures measured at time t, in drought (min value = 0.054) and well-watered (max value = 0.379) conditions (Granier et al. 2000). REW ranges from 1 (field capacity) to 0 (wilting point).

The drought event was characterized by a high duration and intensity of water stress. No water inputs resulted in REW value lower than 0.4 for 57 days. Indeed, water stress is assumed to occur when REW drops below the threshold 0.4, under which soil water becomes limiting for transpiration. In addition, the drought event had a strong impact on the lamina senescence of the community, with a nearly complete foliar senescence reached before rewetting. Therefore, both the extreme nature of the water stress event and the sensitivity of plant mixtures allow us to ensure the occurrence of an extreme drought event (Smith 2011).

Aboveground measurements

Vegetation was cut to 5 cm height at six dates between April and June 2014 in line with local mowing practices. Cutting dates were used to define different periods of vegetation biomass production (g pot⁻¹) during the experiment: peak biomass year 1 (DOY 113 to 143), drought year 1 (DOY 144 to 224), end of growing season year 1 (DOY 225 to 280), start of growing

season year 2 (DOY 281 to 101) and peak biomass year 2 (DOY 102 to 161). An additional cut occurred only for control pots during summer (DOY 190).

Roots measurements

From April 2013 to May 2014, root images were recorded once or twice a month using a minirhizotron system (BTC-2, Bartz Technology, USA). At each date, eleven images (each 1.35×1.8 cm) were recorded, and the length of root segments was measured manually using WinRHIZOTronMF software (V2005a, Regent Instruments, Canada). For each date, length was expressed per unit tube area (mm cm⁻²). For each tube and date, the root length of the 11 images was averaged. The daily increase in root length between two consecutive dates was calculated and defined as root length growth rate (Root growth, mm cm⁻² day⁻¹).

Statistics

We used mixed models to assess the effects of drought treatment, heterospecific neighbour presence (monocultures vs mixtures), period of the year (P1 to P9, Figure 6-1) and their interactions on the growth rate of deep root length (root growth). Random effects associated with the date of measurement were also taken into account. Analysis of variance (ANOVA) and post-hoc Tukey's tests were performed on the root growth data averaged by mixture type. The effect of heterospecific neighbour presence was assessed separately for the control and drought treatments by calculating at each date the difference between the root growth in mixtures and in monocultures (delta root growth). Mixed-model ANOVA and post-hoc Tukey's tests were used to assess i) temporal changes in drought effects on root growth, and ii) temporal changes in species effects on root growth (effects of species composition in mixtures were assessed separately for the control and the droughted pots). Where necessary, data were transformed (square root or boxcox transformation) to meet the assumptions of statistical analyses. Data were analysed under the R environment (version 3.3.0, R core team 2016) using the lme4, nlme, Ismeans and car packages (Bates et al. 2014; Lenth 2016; Fox et al. 2016; Pinheiro et al. 2016).

Results

Root growth showed significant effects of drought, presence of heterospecific neighbour and measurement period across the experimental period (Table 6-1). In general, presence of heterospecific neighbour had a significant positive effect on root growth (+40% in mixtures compared to monocultures) whereas drought had a significant negative effect on root growth

(-30% in droughted pots compared to the watered control, Figure 6-1). However, impacts of drought varied depending on measurement date (significant drought x period interaction, Table 6-1, Figure 6-1).



Figure 6-1 Dynamic of heterospecific neighbour presence effect (mixture), drought treatment effect (drought) and their interaction on the growth rate of deep root length. For each date of root growth measurement, linear regression coefficients \pm SE were shown as effect sizes. ANOVA were performed. The sign (*, **, ***) corresponds to a significance deviation from the null hypothesis (deviation from 0).

Table 6-1 Effects of drought treatment (drought), heterospecific neighbour presence (mixture), period of the year (period) and their interactions on the growth rate of deep root length. ANOVA on mixed model effect model was performed. Bold P-values correspond to significant differences (P < 0.05).

	Num/Den DF	F value	p value
Drought	1/582	29.519	<.0001
Mixture	1/582	13.639	0.0002
Period	8/12	37.729	<.0001
Drought : mixture	1/582	1.820	0.1778
Drought : period	8/582	60.186	<.0001
Mixture : period	8/582	0.428	0.9042
Drought : mixture : period	8/582	0.910	0.5079

Moderate drought (≤ three weeks without water)

After one week of drought, deep root growth showed no significant effect of drought treatment (DOY 171, P2; Figure 6-1). Moreover, heterospecific neighbours had slight but non-significant effects with 1.3 fold higher deep root growth in mixtures than in monocultures (Figures 6-1 and 6-2). Species identity had significant effect on root growth under drought conditions in both monocultures (highest growth value for *Dactylis*, Figure 6-3) and species

mixtures, with a positive effect of *Dactylis* presence (P < 0.05) (Figure 6-4). In contrast species identity had no effect on root growth under control conditions in either monocultures or two-species mixtures.

After three weeks without water supply, root growth was significantly lower in droughted pots (0.029 mm cm² d⁻¹) than in control pots (0.563 mm cm² d⁻¹) (P3, Figure 6-1). Species identity had no effect on root growth in the droughted monocultures. However, monocultures of *Poa* and *Trisetum* maintained their root growth at the same level as the control pots, whereas the deep root growth of *Dactylis, Festuca* and *Trifolium* was significantly reduced by the drought treatment (P < 0.01; Figure 6-3). Presence of heterospecific neighbours and species identity had a greater effect in the control treatment than in droughted (Figure 6-2). Under control conditions, root growth was higher in mixtures compared to monocultures (+0.31 mm cm² d⁻¹), and presence of *Trifolium* had a positive effect on root growth in mixtures (P < 0.05).



Figure 6-2 Dynamic of heterospecific neighbour presence effect on the growth rate of deep root length in control and droughted treatments. Mean values \pm SE are shown. The sign (*, ***) corresponds to a significance deviation from the null hypothesis (deviation from 0).



Figure 6-3 Dynamic of the growth rate of deep root length.



Figure 6-4 Dynamic of species effects on the growth rate of deep root length in two-species mixtures for the control and the droughted treatments (top and bottom, respectively). For each date of root growth measurement, linear regression coefficients \pm SE were shown as effect sizes. ANOVA were performed. The sign (*, **, ***) corresponds to a significance deviation from the null hypothesis (deviation from 0).

Severe drought (> three weeks without water)

Between three and seven weeks of drought (P4), root growth was close to zero in the droughted pots irrespective of species identity in monocultures or mixtures (P < 0.001; Figures 6-1 and 6-3). Unsurprisingly, presence of heterospecific neighbours had no effect on root growth in the droughted pots. However, positive effects of heterospecific neighbours remained apparent under control conditions (Figure 6-2), and a significant effect of *Dactylis* presence appeared in mixtures (DOY 206 and 214, P < 0.05) (Figure 6-4).

Short-term recovery (<12 weeks after rewetting)

One month after soil rewetting (DOY 256), root growth was significantly lower in droughted pots compared to the control (-43% on average; P5, Figure 6-1). During this time, species

identity had a significant effect on root growth in the droughted monocultures (higher deep root growth for *Dactylis* and *Festuca*, Figure 6-3). Only the root growth of *Trisetum* and *Trifolium* was still negatively affected by the drought treatment after rewetting (P < 0.01 and P < 0.05 respectively). Presence of heterospecific neighbours had no effect on root growth in mixtures (Figure 6-2). Only transient effects of species-specific presence were found in the mixtures for P5, with a positive effect of *Dactylis* presence in the droughted pots on DOY 227 (P < 0.05) and a positive effect of *Trifolium* presence in the control pots on DOY 256 (P < 0.01) (Figure 6-4).

78 days after rewetting (DOY 302), drought had a lagged positive effect on the deep roots with 4.7-fold higher root growth compared to the control treatment (P < 0.01) (Figure 6-1). Moreover, species identity had a significant effect on root growth of monocultures between six and eleven weeks after rewetting (P6, highest values reached for *Dactylis* in the droughted monocultures and for *Trifolium* in the control monocultures, Figure 6-3). Drought had a delayed positive effect on the deep roots of the *Dactylis* monoculture with 8.9-fold higher root growth compared to the control treatment (P < 0.001) (Figure 6-3); *Dactylis* presence also had a positive effect on root growth in the droughted two-species mixtures (P6; Figure 6-4).

Long-term recovery

During the winter period (DOY 347 year 1 to DOY 28 year 2, P7), deep root growth was close to zero in all treatment combinations (Figure 3). Between five and eight months following drought cessation (DOY 28 to 107 year 2, P8), drought had a significant positive effect on deep root growth (+160% on average compared to the control pots, Figure 6-1). Then, positive drought effect on the deep roots increased nine months following drought cessation, with 4.4-fold higher deep root growth on average compared to the control pots (P < 0.01) (Figure 6-1). Moreover, species identity had a significant effect on root growth in monocultures (P8, highest values reached for *Festuca* in the droughted monocultures and for *Trifolium* in the control monocultures, Figure 6-3). Only a positive effect of *Trifolium* presence on root growth remained in monoculture (P < 0.05) (P8, Figure 6-3) as well as on the deep roots of *Poa* monoculture (P < 0.05) (P8, Figure 6-3) as well as on the deep roots of the *Dactylis, Festuca* and *Trisetum* monocultures (P < 0.05) (P8 and P9, Figure 6-3). Presence of heterospecific neighbours had no effect on root growth in mixtures (P8 and P9; Figures 6-1 and 6-2). However, *Festuca* presence had a transient positive effect in the droughted pots on DOY 58 and 77 (P < 0.05) (Figure 6-4). *Trifolium* presence also had a

positive effect on the root growth of control mixtures (P < 0.01) (P8 and P9; Figure 6-4) and droughted mixtures (P < 0.05) (P9; Figure 6-4).

Discussion

Investment in deep roots can help maintain the aboveground production of temperate grasslands subjected to moderate water deficit. In the present work, we found that the intensity of water stress modified the drought response of deep root growth in species mixtures. Contrary to expectations, extreme drought had a delayed, positive effect on deep root growth following rewetting. Moreover, effects of heterospecific neighbours on the drought resistance and recovery of deep root growth in two-species mixtures varied depending on species identity.

Deep root growth response to extreme drought

Moderate drought had an unexpectedly negative effect on deep root growth, but the timing of negative effects varied depending on species. According to previous work, we first expected that moderate water deficit promotes the deep root growth of grassland species mixtures (Asbjornsen et al. 2008; Nippert and Holdo 2015). The lack of positive drought effect during the first stage of water deficit could be due to the timing of watering cessation, which corresponded to the root growth peak under well-watered conditions. Besides, our results are consistent with a positive relationship between maintenance of deep root growth and delayed aboveground senescence (Figure 6-S1). Thus, our study confirms deep roots as a drought avoidance trait (Pérez-Ramos et al. 2013; Comas et al. 2013; Hoekstra et al. 2014). Our results also surprisingly suggest that shallow-rooted species with conservative strategies (*Poa pratensis* and *Trisetum flavescens*) can maintain deep root growth for longer than inherent deep-rooted species with more exploitative strategies. This highlights the importance of plant resource-use strategies for drought responses.

In the present study we found that deep roots showed little growth under severe drought conditions. This confirms the negative effects of drought documented for shallow roots in grasslands elsewhere (Frank 2007). We expected the existence of a trade-off between deep root growth maintenance under moderate water deficit and deep root re-growth capacity following rewetting. Our results partly supported this assumption as maintaining deep root growth during drought appeared detrimental to short-term re-growth of *Trisetum*. Despite strong negative effects of drought on root growth, droughted deep roots showed rapid recovery and faster growth rates than control roots after rewetting. This is consistent with

previous work that highlighted a positive lagged effect of an extreme drought event on shallow root growth of grassland monocultures (Zwicke 2013). Short-term positive effects of drought on root growth post-rewetting were driven by the presence of *Dactylis*, but all species mixtures and grass monocultures showed lagged positive drought effects in year 2, suggesting a long-term 'stress memory'.

Species resistance strategies and recovery under extreme drought

Consistently with Volaire et al. (2014), our study highlighted that belowground response of species mixtures to drought depends on the magnitude of water deficit experienced by the plants. While the presence of a dense deep-root system can be a major trait to resist moderate drought (Carrow 1996; White and Snow 2012), our results suggested that early root growth cessation and canopy senescence can ensure rapid root recovery in the case of Dactylis. This is consistent with the study of Munné-Bosch and Alegre (2004) suggesting that a rapid leaf senescence during stress can be a major trait related to species survival and recovery after severe drought. However, patterns of deep root growth and canopy senescence under severe water stress do not appeared sufficient to explain growth dynamics of deep roots following rewetting, since early root growth cessation and canopy senescence observed for Festuca and Trifolium was only related to high deep roots growth capacity on the long-term following the extreme drought event. In previous studies, roots recovery after severe drought have been associated with other mechanisms, such as both dehydration avoidance and tolerance occurring in meristematic tissues (Volaire et al. 2014), which could partly explain the lower deep roots recovery of Festuca and Trifolium on short-term. The higher deep roots re-growth capacity of Dactylis can partly be attributed to maintenance of high fructan content in leaf meristems during drought as shown by Zwicke et al. (2015).

Effect of heterospecific neighbour presence on deep root growth

As interactions among species are likely to induce changes in rooting patterns resulting in vertical root complementarity (Skinner and Comas 2010), we expected higher deep root growth in the presence of heterospecific neighbour. Indeed, we found, under-well watered conditions, higher deep roots length growth rate in species mixtures than in monocultures during one month of the first summer. This result highlighted that the positive effect of heterospecific neighbour presence can be dependent on seasonal dynamic. Thus, subsequent vertical complementarity in resource uptake could only be a transient effect. Besides, in accordance with Skinner et al. (2006) and Hoekstra et al. (2014), we mostly expected that the

presence of heterospecific neighbour drives the community response under moderate water deficit through higher deep root growth. However, no significant positive effect of heterospecific neighbour presence was found on deep roots growth under moderate drought.

Our results support species-specific pattern of the heterospecific neighbouring effect on deep root growth. Furthermore, species-specific inherent root system can be more important than neighbour-induced plasticity as driver of deep roots growth response to moderate drought. Under well-watered conditions, the positive effect of heterospecific neighbour presence appeared dependent on the species identity of the neighbour, with a significant and persistent Trifolium presence effect on the mixture deep root growth during the whole experiment. Although higher deep root growth in the mixtures can be driven by plasticity induced in the presence of particular species, it is more likely due to sampling effect, whereby including species with inherent dense deep roots system as *Trifolium* drives the response pattern of the mixtures. Similarly, under moderate drought, our results highlighted a significant positive effect of *Dactylis* presence in the two-species mixtures. As higher deep root growth was also found for Dactylis in the monocultures, sampling effect due to the presence of Dactylis, an inherent deep rooted species, is more likely to drive the response of mixtures than plasticity due to heterospecific interactions. Therefore, our study appears not consistent with the results of Skinner and Comas (2010) suggesting that increased rooting depth with increasing number of species in water stress conditions probably resulted from interactions among species rather than from the presence of more deep-rooted species in the most diverse mixtures. The identification of relative species proportions in mixed root samples appears to be a critical next step to evaluate the relative importance of sampling effect and positive effect of heterospecific neighbour on deep root growth patterns in mixtures. However, due to major experimental difficulties, reliable methods to separate mixed root samples into species have only recently been developed (Mommer et al. 2008).

Under extreme drought, we expected according to Michalet et al. (2014) a collapse of positive belowground heterospecific neighbour interactions. Indeed, no effect of heterospecific neighbour presence was found on deep root growth under severe water stress, possibly due to a threshold reached in the depletion of soil water that inhibits root growth irrespective of species identity and thus potential establishment of neighbour-induced plasticity under severe stress. However, as sampling effect due to the presence of *Dactylis* appears to drive the higher deep root growth during moderate drought, our study does not support a collapse of positive heterospecific neighbour effect under increased water stress.
After the drought cessation, we expected stronger positive effects of heterospecific neighbours presence on deep root growth dynamics during long-term recovery than immediately following drought. Since rapid rewetting and root resumption are proposed to occur in the surface layer (Asseng et al. 1998), we assume that neighbouring effects are stronger on shallow root dynamics on the short-term. As expected, no significant effect of heterospecific neighbour presence was found on deep roots growth on the short-term recovery. However, a significant positive effect of *Dactylis* presence was found on deep roots growth on deep roots growth of two-species mixtures. Similarly to moderate drought, sampling effect through the presence of *Dactylis* is more likely to drive the response of mixtures rather than heterospecific interactions inducing extended roots into deeper soil layers. Furthermore, the high resumption of deep root growth of *Dactylis*. Thus, species-specific plastic adjustments in response to drought event can be more important than neighbour-induced plasticity as driver of deep roots re-growth on the short-term following an extreme drought event.

Unexpectedly, no significant effect of heterospecific neighbour presence was found on deep roots growth on the long-term following the drought cessation. However, our results support that species identity drives deep roots growth response to extreme drought on the long-term. Indeed, similarly to well-watered conditions, higher deep root growth was related to *Trifolium* presence one year following the extreme. Consistently with the expected low resistance of the legume species under severe water deficits (Burch and Johns 1978), the establishment of a positive *Trifolium* presence effect on the deep root growth was strongly delayed by the extreme drought event and thus appears dependent on the deep root resumption of *Trifolium*.

Conclusion

In summary, our study supports the assumption of plasticity in density of deep roots due to water deficit. Unexpectedly, a delayed positive effect of extreme drought was found on the deep root growth of species mixtures on the long-term recovery period, as well as on the short-term recovery but only with regard to *Dactylis glomerata* presence. Besides, our results do not support the assumption of positive neighbouring effect on the deep root growth through plasticity induced by heterospecific interactions. Indeed, higher deep roots growth measured in two-species mixtures after the extreme drought probably resulted from sampling effect, whereby including *Dactylis* and *Trifolium*, respectively on the short- and long-term recovery periods, is more likely to drive patterns of deep root growth rather than interactions

among species. This study highlighted that the deep root recovery of grassland plant mixtures under extreme drought mainly depend on the inherent functional identity of the species involved in terms of drought avoidance, as presence of deep rooted species and early canopy senescence.

References

- Asbjornsen H, Shepherd G, Helmers M, Mora G (2008) Seasonal patterns in depth of water uptake under contrasting annual and perennial systems in the Corn Belt Region of the Midwestern U.S. Plant Soil 308:69–92. doi: 10.1007/s11104-008-9607-3
- Asseng S, Ritchie JT, Smucker AJM, Robertson MJ (1998) Root growth and water uptake during water deficit and recovering in wheat. Plant Soil 201:265–273. doi: 10.1023/A:1004317523264
- Bachmann D, Gockele A, Ravenek JM, et al (2015) No Evidence of Complementary Water Use along a Plant Species Richness Gradient in Temperate Experimental Grasslands. PLoS ONE 10:e0116367. doi: 10.1371/journal.pone.0116367
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2014) Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4.
- Bertness MD, Callaway R (1994) Positive interactions in communities. Trends Ecol Evol 9:191–193. doi: 10.1016/0169-5347(94)90088-4
- Burch G, Johns G (1978) Root Absorption of Water and Physiological Responses to Water Deficits by Festuca arundinacea Schreb. And Trifolium repens L. Funct Plant Biol 5:859–871.
- Callaway RM, Pennings SC, Richards CL (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. Ecology 84:1115–1128. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[1115:PPAIAP]2.0.CO;2
- Caradus JR (1977) Structural variation of white clover root systems. N Z J Agric Res 20:213–219. doi: 10.1080/00288233.1977.10427325
- Carrow RN (1996) Drought resistance aspects of turfgrasses in the Southeast: root-shoot responses.
- Chen S-Y, Xu J, Maestre FT, et al (2009) Beyond dual-lattice models: incorporating plant strategies when modeling the interplay between facilitation and competition along environmental severity gradients. J Theor Biol 258:266–273. doi: 10.1016/j.jtbi.2009.01.011
- Comas LH, Becker SR, Cruz VMV, et al (2013) Root traits contributing to plant productivity under drought. Front Plant Sci. doi: 10.3389/fpls.2013.00442
- De Boeck HJD, Lemmens CMHM, Bossuyt H, et al (2006) How do climate warming and plant species richness affect water use in experimental grasslands? Plant Soil 288:249–261. doi: 10.1007/s11104-006-9112-5

- Eissenstat DM, Whaley EL, Volder A, Wells CE (1999) Recovery of citrus surface roots following prolonged exposure to dry soil. J Exp Bot 50:1845–1854. doi: 10.1093/jxb/50.341.1845
- Fargione J, Tilman D (2005) Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. Oecologia 143:598–606. doi: 10.1007/s00442-005-0010-y
- von Felten S, Hector A, Buchmann N, et al (2009) Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. Ecology 90:1389–1399.
- von Felten S, Schmid B (2008) Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. J Plant Ecol 1:33–41. doi: 10.1093/jpe/rtm006
- Fitter AH (1986) Spatial and temporal patterns of root activity in a species-rich alluvial grassland. Oecologia 69:594–599. doi: 10.1007/BF00410368
- Fox J, Weisberg S, Adler D, et al (2016) car: Companion to Applied Regression.
- Frank DA (2007) Drought effects on above- and belowground production of a grazed temperate grassland ecosystem. Oecologia 152:131–139. doi: 10.1007/s00442-006-0632-8
- Gilgen AK, Buchmann N (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. Biogeosciences 6:2525–2539. doi: 10.5194/bg-6-2525-2009
- Granier A, Ceschia E, Damesin C, et al (2000) The carbon balance of a young Beech forest. Funct Ecol 14:312–325. doi: 10.1046/j.1365-2435.2000.00434.x
- He Q, Bertness MD, Altieri AH (2013) Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. Ecol Lett 16:695–706. doi: 10.1111/ele.12080
- Hoekstra NJ, Suter M, Finn JA, et al (2014) Do belowground vertical niche differences between deep- and shallow-rooted species enhance resource uptake and drought resistance in grassland mixtures? Plant Soil. doi: 10.1007/s11104-014-2352-x
- Kahmen A, Perner J, Buchmann N (2005) Diversity-dependent productivity in semi-natural grasslands following climate perturbations. Funct Ecol 19:594–601. doi: 10.1111/j.1365-2435.2005.01001.x
- Kulkarni M, Borse T, Chaphalkar S (2008) Mining anatomical traits: a novel modelling approach for increased water use efficiency under drought conditions in plants.

- Kutschera L, Lichtenegger E, Sobotik M (1992) Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen: Morphologie, Anatomie, Ökologie, Verbreitung, Soziologie, Wirtschaft. Gustav Fischer
- Lambers H, Chapin (III) FSC, Pons TL (1998) Plant Physiological Ecology. Springer Science & Business Media
- Lane DR, Coffin DP, Lauenroth WK (2000) Changes in grassland canopy structure across a precipitation gradient. J Veg Sci 11:359–368. doi: 10.2307/3236628
- Lenth RV (2016) Least-Squares Means: The R Package Ismeans. J Stat Softw 69:1–33.
- Levitt J (1980) Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. 497 pp.
- Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. J Ecol 97:199–205. doi: 10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x
- Meehl GA, Tebaldi C (2004) More Intense, More Frequent, and Longer Lasting Heat Waves in the 21st Century. Science 305:994–997. doi: 10.1126/science.1098704
- Michalet R, Brooker RW, Cavieres LA, et al (2006) Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? Ecol Lett 9:767–773.
- Michalet R, Le Bagousse-Pinguet Y, Maalouf J-P, Lortie CJ (2014) Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. J Veg Sci 25:609–613. doi: 10.1111/jvs.12123
- Mikkelsen TN, Beier C, Jonasson S, et al (2008) Experimental design of multifactor climate change experiments with elevated CO2, warming and drought: the CLIMAITE project. Funct Ecol 22:185–195. doi: 10.1111/j.1365-2435.2007.01362.x
- Milbau A, Scheerlinck L, Reheul D, et al (2005) Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. Physiol Plant 125:500–512. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00586.x
- Mommer L, van Ruijven J, De Caluwe H, et al (2010) Unveiling below-ground species abundance in a biodiversity experiment: a test of vertical niche differentiation among grassland species. J Ecol 98:1117–1127. doi: 10.1111/j.1365-2745.2010.01702.x
- Mommer L, van Ruijven J, Jansen C, et al (2012) Interactive effects of nutrient heterogeneity and competition: implications for root foraging theory? Funct Ecol 26:66–73. doi: 10.1111/j.1365-2435.2011.01916.x

- Mommer L, Wagemaker C a. M, De Kroon H, Ouborg NJ (2008) Unravelling below-ground plant distributions: a real-time polymerase chain reaction method for quantifying species proportions in mixed root samples. Mol Ecol Resour 8:947–953. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02130.x
- Mueller KE, Tilman D, Fornara DA, Hobbie SE (2013) Root depth distribution and the diversity-productivity relationship in a long-term grassland experiment. Ecology 94:787–793. doi: 10.1890/12-1399.1
- Munné-Bosch S, Alegre L (2004) Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. Funct Plant Biol 31:203–216.
- Nippert JB, Holdo RM (2015) Challenging the maximum rooting depth paradigm in grasslands and savannas. Funct Ecol 29:739–745. doi: 10.1111/1365-2435.12390
- Nippert JB, Knapp AK (2007) Soil water partitioning contributes to species coexistence in tallgrass prairie. Oikos 116:1017–1029. doi: 10.1111/j.0030-1299.2007.15630.x
- van Peer L, Nijs I, Reheul D, De Cauwer B (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. Funct Ecol 18:769–778. doi: 10.1111/j.0269-8463.2004.00901.x
- Pérez-Ramos IM, Volaire F, Fattet M, et al (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. Environ Exp Bot 87:126–136. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.09.004
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, et al (2016) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- Ravenek JM, Bessler H, Engels C, et al (2014) Long-term study of root biomass in a biodiversity experiment reveals shifts in diversity effects over time. Oikos 123:1528– 1536. doi: 10.1111/oik.01502
- Schenk HJ (2008) The Shallowest Possible Water Extraction Profile: A Null Model for Global Root Distributions. Vadose Zone J 7:1119. doi: 10.2136/vzj2007.0119
- Shinoda M, Nachinshonhor GU, Nemoto M (2010) Impact of drought on vegetation dynamics of the Mongolian steppe: A field experiment. J Arid Environ 74:63–69. doi: 10.1016/j.jaridenv.2009.07.004
- Silvertown J, Dodd ME, McConway K, et al (1994) Rainfall, Biomass Variation, and Community Composition in the Park Grass Experiment. Ecology 75:2430–2437. doi: 10.2307/1940896
- Skinner RH, Comas LH (2010) Root Distribution of Temperate Forage Species Subjected to Water and Nitrogen Stress. Crop Sci 50:2178–2185.

- Skinner RH, Sanderson MA, Tracy BF, Dell CJ (2006) Above- and Belowground Productivity and Soil Carbon Dynamics of Pasture Mixtures. Agron J 98:320. doi: 10.2134/agronj2005.0180a
- Smith MD (2011) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. J Ecol 99:656–663. doi: 10.1111/j.1365-2745.2011.01798.x
- Sperry JS, Stiller V, Hacke UG (2002) Soil water uptake and water transport through root systems. Books Soils Plants Environ Ser 663–681.
- Su K, Bremer DJ, Keeley SJ, Fry JD (2008) Rooting Characteristics and Canopy Responses to Drought of Turfgrasses Including Hybrid Bluegrasses. Agron J 100:949. doi: 10.2134/agronj2007.0292
- Vartanian N (1981) Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems. Plant Soil 63:83–92. doi: 10.1007/BF02374261
- Volaire F, Barkaoui K, Norton M (2014) Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. Eur J Agron 52, Part B:81–89. doi: 10.1016/j.eja.2013.10.002
- Wardle DA, Peltzer DA (2003) Interspecific interactions and biomass allocation among grassland plant species. Oikos 100:497–506. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12030.x
- White TA, Snow VO (2012) A modelling analysis to identify plant traits for enhanced wateruse efficiency of pasture. Crop Pasture Sci 63:63–76.
- Wraith JM (Montana SU, Baker JM, Blake TK (1995) Barley genotypes vary in the ability to rapidly resume water uptake after drought.
- Zwicke M (2013) Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial. Phdthesis, Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand II
- Zwicke M, Picon-Cochard C, Morvan-Bertrand A, et al (2015) What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? Ann Bot mcv037. doi: 10.1093/aob/mcv037

SUPPORTING INFORMATION

(1) Supplementary Figure



Figure 6-S1 Dynamic of canopy senescence in the droughted monocultures and two-species mixtures.

La question de l'évaluation des effets d'un événement de sécheresse extrême sur le fonctionnement de l'écosystème prairial en milieu tempéré constitue la problématique principale de ce travail de thèse. L'ambition scientifique est de caractériser les mécanismes au travers desquels la composition et la diversité fonctionnelle des communautés végétales modulent la résistance et la récupération de la production de biomasse aérienne après un stress extrême. Pour cela nous avons fait le choix de développer une démarche analytique s'appuyant sur une expérimentation en mésocosmes permettant de i) tester l'existence d'un effet tampon de la composition/diversité fonctionnelle sur la production aérienne au sein de mélanges associant graminée et légumineuse et ii) identifier les mécanismes impliqués aux niveaux aérien et souterrain.

Notre démarche de recherche a conduit à réaliser un grand nombre d'enregistrements et de mesures qui ont généré une quantité très conséquente de données. Au-delà du seul caractère quantitatif, nous disposons d'informations complémentaires organisées en un jeu de données cohérent. La mobilisation de tout ou partie de ce jeu de données a ainsi permis d'appréhender notre problématique par différentes approches et de tester plusieurs hypothèses. Les résultats produits ont été présentés de manière détaillée dans la partie résultat. Dans cette discussion générale, je reprendrai les apports les plus significatifs du travail pour mettre en lumière les résultats marquants et en dégager les perspectives de recherche ouvertes par notre étude. Cela me permettra ensuite de proposer quelques pistes mobilisant les dimensions plus finalisées de cette thèse.

1. Synthèse

Ce travail a permis de mettre en évidence le rôle prépondérant du Trèfle blanc dans la modulation de l'impact d'un événement de sécheresse extrême sur la production de biomasse de mélanges prairiaux. A l'échelle du mélange, des modifications de l'acquisition et de l'utilisation des ressources hydrique et azotée, induites par la présence de Trèfle blanc, ont été reliées à un effet positif de ce dernier sur la production de biomasse en phase de récupération post-extrême (Figure 7-1). Dans cette partie de synthèse, les mécanismes au travers desquels l'occurrence d'une sécheresse extrême et la présence de Trèfle blanc interagissent et régulent à long terme la production de biomasse seront ainsi abordés avec comme élément central les changements de traits fonctionnels.



a. Biomasse aérienne et overyielding : effet légumineuse et importance des interactions hétérospécifiques en mélanges

Nos résultats confirment le rôle majeur des légumineuses dans la production de biomasse aérienne de communautés prairiales en conditions hydriques non limitantes (Spehn *et al.* 2002; Lambers *et al.* 2004; Suter *et al.* 2015). Dans notre étude, un phénomène d'overyielding est mesuré uniquement en présence de Trèfle blanc (Figure 7-2). Cette surproduction en mélanges par rapport à l'attendu basé sur les monocultures est associée à une production plus élevée des mélanges graminée-trèfle comparé aux mélanges de graminées (Figure 3-1). Un effet de complémentarité positif, traduisant la présence d'interactions positives ou la diminution de la compétition entre espèces, a par ailleurs été identifié comme le facteur majeur déterminant l'overyielding en mélanges graminée-trèfle (Figure 3-4). Ce résultat est en cohérence avec les études qui attribuent à l'effet de complémentarité un rôle prépondérant dans le déterminisme de l'overyielding comparé à l'effet de sélection (Cardinale *et al.* 2007).

Résultat marquant : La production de biomasse à l'échelle de la communauté sous conditions climatiques ambiantes ne peut pas être directement prédite par le comportement des espèces en monoculture, mais nécessite de prendre en compte la modulation par des interactions interspécifiques du comportement des espèces en mélanges.

Concernant l'effet de la présence de légumineuses sur la stabilité de la production en cas d'occurrence de sécheresse extrême, la littérature fournit comparativement peu d'éléments. Une étude récente a mis en évidence une absence d'effet facilitant des légumineuses sous sécheresse extrême (Khan et al. 2014) alors que les résultats de Pfisterer & Schmid (2002) suggèrent une diminution de la résistance des communautés à la sécheresse en présence de légumineuses. Notre étude met quant à elle en évidence une diminution significative de la production de biomasse à la fin d'une sécheresse extrême quelle que soit la composition du mélange (Figure 7-2). Ce résultat souligne l'absence d'effet significatif de la présence de Trèfle blanc et de la diversité/composition fonctionnelle sur la résistance de la communauté végétale en ce qui concerne la production aérienne sous sécheresse extrême (Figure 4-1). En phase de résistance au stress, une absence d'effet tampon de la diversité ou de la composition fonctionnelle apparait par ailleurs cohérente avec le modèle proposé par Michalet et al. (2006) suggérant un collapse des interactions positives sous stress sévère. Cependant, la tendance montrant une production inférieure des mélanges associant graminée et trèfle à la fin du stress suggère un effet négatif de la légumineuse sur le maintien de production sous sécheresse extrême. Cette production plus faible des mélanges graminéetrèfle apparaît liée à la sensibilité au stress hydrique du Trèfle blanc mise en évidence en monoculture (Chapitre 4).

Résultat marquant : la faible résistance des mélanges en sécheresse extrême tend à montrer l'importance de la réponse individuelle des espèces dans le déterminisme du fonctionnement sous extrême des communautés végétales.

Notre étude met en relief un effet négatif de la présence de trèfle en mélanges sur la capacité de récupération de la biomasse aérienne (Figure 4-1). En effet, par opposition aux mélanges de graminées qui retrouvent deux mois après arrêt du stress un niveau de production similaire aux témoins irrigués, les mélanges graminée-trèfle demeurent négativement affectés par l'événement de sécheresse à court terme et ne récupèrent complètement que dix mois après stress, soit au pic de biomasse de la saison de croissance suivante (Figure 7-2). Malgré l'existence d'un effet de complémentarité positif dès la phase de récupération à court terme, la faible capacité de résilience des mélanges graminée-trèfle apparait là encore liée à la forte sensibilité face à une sécheresse extrême du trèfle, dont la récupération de production

aérienne est fortement ralentie en monoculture (Chapitre 4). A plus long terme, soit dix mois après l'arrêt du stress, l'effet de complémentarité positif au sein des mélanges graminée-trèfle, couplé à un effet positif différé de l'extrême sur la production des espèces et notamment du trèfle, explique la production supérieure des mélanges en présence de trèfle (Figures 4-1 et 4-2). Ainsi, alors que la production nette des mélanges sous stress extrême apparait fortement liée aux stratégies inhérentes de résistance à la sécheresse des espèces (effet « identité fonctionnelle »), la dynamique de récupération post-stress des mélanges serait la résultante des capacités de récupération intrinsèques aux espèces et des variations de comportement induites par des interactions interspécifiques (effet « diversité fonctionnelle »). La disponibilité en eau serait ainsi un facteur limitant de la mise en place d'interactions positives entre espèces.

Résultat marquant : En limitant l'importance des interactions positives entre espèces, l'occurrence d'une sécheresse extrême modifie fortement les déterminants de la production de biomasse aérienne à l'échelle de la communauté, qui apparait majoritairement liée à l'identité fonctionnelle des espèces dominantes (hypothèse de mass-ratio ; Grime 1998).



Figure 7-2 Dynamics of aboveground biomass production (a), deviation of droughted mixtures biomass from control (b) and complementarity effect (c) in the two-species mixtures with or without white clover in the case of extreme drought.

b. Dynamique des effets de complémentarité : mécanismes sous-jacents et effet sécheresse

En conditions hydriques non limitantes, l'effet positif de la présence de légumineuses sur la production de mélanges a été largement attribué à leur effet facilitant pour l'azote. En effet, une symbiose avec des bactéries de type rhizobium permet la fixation de l'azote atmosphérique rendu disponible pour les autres espèces (Temperton *et al.* 2007; Bessler *et al.* 2012). Dans notre étude, l'effet facilitant des légumineuses pour l'azote a été mis en évidence dans les mélanges associant graminée et Trèfle blanc lors de la seconde saison de croissance. Ce mécanisme de facilitation est lié au phénomène d'overyielding ainsi qu'à une production de biomasse plus élevée en présence de trèfle (Figure 3-1 et 3-4). L'overyielding, plus élevé au cours de la deuxième année d'expérimentation, a par ailleurs être majoritairement relié à un effet positif croissant du trèfle sur la production de la graminée associée. De manière similaire, le phénomène d'overyielding en récupération post-sécheresse extrême a été associé à la présence de trèfle et à son effet facilitant pour l'azote dès deux mois après l'arrêt du stress (Figure 4-2 et Tableau 4-2).

Résultat marquant : en récupération post-sécheresse extrême, l'overyielding observé en mélanges graminée-trèfle est dans un premier temps lié à un effet facilitant mutuel entre espèces, alors que lors de la seconde saison de croissance il peut être relié à un effet positif du trèfle sur la production de la graminée associée (Figure A2-1).

Alors que la surproduction des espèces de graminées en présence de trèfle associée à un enrichissement en azote du couvert souligne l'effet facilitant pour l'azote de la légumineuse, nos résultats permettent surtout de mettre en évidence l'importance de la complémentarité pour l'utilisation de l'eau dans le déterminisme de l'overyielding (Table 3-6). Bien que proposée dans de nombreux travaux comme potentiel mécanisme sous-jacent de la complémentarité entre espèces (Parrish & Bazzaz 1976; Dimitrakopoulos & Schmid 2004; Levine & Lambers 2009), la complémentarité de niche verticale au niveau du compartiment racinaire, associée à une plus grande quantité de ressources disponibles et captées à l'échelle du mélange, n'a été que très peu mise en évidence par approche expérimentale pour des communautés prairiales (Mueller *et al.* 2013; Hoekstra *et al.* 2014) avec des résultats d'autre part non concluant (von Felten & Schmid 2008b; Mommer *et al.* 2010; Prechsl *et al.* 2014). A l'échelle de la communauté, ce phénomène de différenciation verticale des racines entre espèces permettrait un accès plus important à l'eau des horizons profonds, notamment lors

d'un stress hydrique (Schenk 2008; Skinner & Comas 2010). Notre étude suggère cependant l'existence de complémentarité pour l'utilisation de l'eau en conditions hydriques non limitantes. Ce mécanisme de complémentarité est lié au phénomène d'overyielding dans les mélanges associant graminée et Trèfle blanc du traitement témoin irrigué ainsi que du traitement sécheresse en phase de récupération après extrême. Concernant les témoins irrigués, la mise en place de complémentarité pour l'utilisation de l'eau est observée dès la fin de la première saison de croissance (Figure 3-4) et apparait liée à une croissance racinaire profonde plus élevée en présence de trèfle, entrainant une consommation d'eau élevée comparé aux mélanges de graminées (Figures 3-1 et 6-4). Cette augmentation de la croissance racinaire profonde en association graminée-trèfle serait due à la production racinaire élevée du trèfle en profondeur qui entraînerait une diminution de la compétition pour l'accès aux ressources entre graminée et trèfle à l'échelle de la communauté.

La production racinaire de surface au cours de la seconde saison de croissance semble confirmer l'hypothèse d'une différenciation verticale de niches entre graminée et trèfle en mélanges. En effet, entre 0 et 20 cm de profondeur, la biomasse du trèfle en monoculture est significativement inférieure à celle des graminées, tandis que la biomasse des mélanges associant graminée et trèfle est inférieure à celle des mélanges de graminées (Figure A2-2). Ainsi, l'observation d'une production racinaire superficielle plus importante chez les graminées, associée à un système racinaire plus dense pour le trèfle en profondeur, supporte nos premiers résultats attribuant la complémentarité pour l'utilisation de l'eau à une différenciation verticale des racines entre espèces au sein des mélanges graminée-trèfle.

Résultat marquant : la complémentarité de niche verticale au niveau du compartiment racinaire augmente la quantité de ressources disponibles pour les différentes espèces à l'échelle du mélange et renforcerait l'overyielding constaté dans les communautés prairiales.

Concernant les mélanges soumis à une sécheresse extrême, la complémentarité pour l'utilisation de l'eau apparait liée au phénomène d'overyielding lors de la récupération après stress et ce dès la phase de récupération à court terme soit deux mois après l'arrêt de la sécheresse (Figure 4-2 et Tableau 4-2). Cependant, contrairement aux témoins irrigués, la complémentarité pour l'utilisation de l'eau au cours de la fin de la première saison de croissance n'est pas associée à une croissance racinaire profonde plus élevée en présence de trèfle (Figure 6-4). A court terme, le phénomène de complémentarité pour l'utilisation de l'eau, qui entraine une plus forte consommation d'eau à l'échelle du couvert dans les

mélanges associant graminée et légumineuse, apparait donc lié à d'autres mécanismes. En récupération à court terme, la complémentarité pour l'utilisation de l'eau pourrait ainsi majoritairement impliquer les racines de surface, dont le rôle dans la récupération aérienne et la récupération rapide des transferts d'eau et d'azote a été par ailleurs mis en évidence (Vartanian 1981; Shinoda, Nachinshonhor & Nemoto 2010). Ainsi, la complémentarité pour l'utilisation de l'eau pourrait être induite en phase de récupération à court terme après extrême par un phénomène de complémentarité racinaire horizontale (von Felten & Schmid 2008b). Concernant la récupération à plus long-terme, les mécanismes sous-jacents de la complémentarité pour l'utilisation de l'eau semblent rejoindre ceux observés chez les témoins irrigués, entraînant une consommation d'eau plus élevée dans les mélanges en présence de trèfle (Figure A3). En effet, au court de la seconde année, une croissance racinaire profonde plus élevée en présence de trèfle est également mesurée dans les mélanges soumis à une sécheresse extrême, et ce de manière encore plus marquée que dans le traitement irrigué (Figure 6-4). Cette augmentation de la croissance racinaire profonde en association graminéetrèfle serait également due à la croissance élevée du trèfle, dont la production racinaire est stimulée par un effet positif différé de l'événement de sécheresse (Figure 6-3). La production racinaire de surface supporte là encore l'hypothèse d'une différenciation verticale de niches entre graminée et trèfle en mélanges, avec d'une part une production de biomasse entre 0 et 20 cm de profondeur significativement inférieure à celle des graminées chez le trèfle en monocultures, et d'autre part une tendance à la diminution de la biomasse racinaire de surface des mélanges en présence du trèfle (Figure A2-2).

Résultat marquant : La croissance des racines profondes est un déterminant majeur de l'effet de complémentarité lors de la récupération à long-terme (Figure A2-4). Elle témoigne de l'importance de la différenciation verticale pour l'accès aux ressources profondes et la mise en place d'interactions de type complémentarité entre graminée et trèfle en mélanges en phase de récupération après sécheresse extrême.

Comme suggéré précédemment, l'occurrence d'une sécheresse extrême modifierait l'importance des interactions entre espèces dans le déterminisme de la production aérienne à l'échelle des mélanges. Notre étude met également en évidence une modification par l'extrême des mécanismes sous-jacents de l'overyielding et des interactions positives entre espèces. En effet, malgré une forte résilience des niveaux d'overyielding et de complémentarité en phase de récupération post-sécheresse, notre étude suggère un effet persistant de l'événement de sécheresse extrême sur les déterminants de cet overyielding et des effets de complémentarité associés. Dans les mélanges graminée-trèfle du traitement irrigué, l'overyielding et l'effet de complémentarité mis en évidence en fin de première saison de croissance ont été reliés à de la complémentarité verticale pour l'utilisation de l'eau entrainant un effet positif du trèfle sur la production de la graminée associée (Chapitre 3, Figure A2-1). Par opposition, l'overvielding et l'effet de complémentarité mis en évidence dans les mélanges graminée-trèfle soumis à l'extrême en fin de première saison de croissance (deux mois après l'arrêt du stress) sont reliés non seulement à un effet positif du trèfle sur la production de la graminée associée mais majoritairement à un effet facilitant de la graminée sur la production du trèfle (Figure A2-1). De plus, bien qu'également lié à de la complémentarité pour l'utilisation de l'eau, l'overyielding en phase de récupération à court terme après extrême ne serait pas lié à de la différenciation verticale de niche. La faible résilience de la complémentarité racinaire verticale pourrait être induite par une dépendance de la croissance des racines profondes à la disponibilité en azote. L'impact suggéré de la sécheresse sur la capacité de fixation azotée des légumineuses (Abdelhamid et al. 2010), associé dans notre étude à la faible récupération du Trèfle blanc à court terme, induirait une disponibilité en azote limitée comparé au traitement irrigué pour la même période (Chapitre 4). La croissance racinaire profonde serait ainsi entravée par la faible disponibilité en azote lors de la récupération à court terme, moins de ressources étant allouées à la colonisation des horizons profonds (van der Krift et al. 2001; Reich et al. 2001; Verheyen et al. 2008).

Résultat marquant : l'occurrence d'une sécheresse extrême modifie à long-terme les mécanismes sous-jacents de l'overyielding et des interactions interspécifiques associées. La différenciation verticale de niches au niveau racinaire est particulièrement affectée par l'extrême avec une croissance différée des racines en profondeur.

Lors de la seconde saison de croissance, l'effet différé de l'événement de sécheresse extrême sur les déterminants de l'overyielding et des effets de complémentarité associés apparait encore plus marqué. Si l'effet de complémentarité n'est pas significativement différent entre les traitements, nous observons cependant une tendance à la diminution du niveau net de complémentarité au sein des mélanges graminée-trèfle dix mois après stress extrême en comparaison avec les témoins irrigués (Figure 7-2). Cette tendance, couplée à un effet de sélection négatif, est reliée à une baisse significative de l'overyielding en phase de récupération à long terme. Contrairement au traitement irrigué, l'effet positif du trèfle sur la graminée associée en mélanges soumis à l'extrême serait essentiellement déterminé pendant la phase de récupération long terme par un effet facilitant du trèfle sur la production des graminées à enracinement peu profond, Poa pratensis et Trisetum flavescens (Figure 5-1). L'effet positif différé de l'événement extrême sur la croissance des racines profondes chez les graminées à enracinement profond Dactylis glomerata et Festuca arundinacea (Figure 6-3) induirait une densité plus élevée de racines profondes pour ces deux espèces en phase de récupération long terme comparé aux témoins (P < 0.01). Cette réponse différée pourrait expliquer le faible niveau de complémentarité observé dans les mélanges les associant au Trèfle blanc. Le chevauchement de niches plus important au niveau du système racinaire profond au sein de ces mélanges expliquerait le faible effet positif de la présence de trèfle sur la production des grandes graminées en mélanges. La complémentarité verticale pour l'utilisation de l'eau mise en évidence à long terme dans les mélanges graminée-trèfle serait ainsi majoritairement déterminée pour le traitement sécheresse par une complémentarité verticale au niveau racinaire au sein des mélanges associant Trèfle blanc et graminées à enracinement peu profond (Poa pratensis et Trisetum flavescens). L'importance relative des mécanismes sous-jacents à l'effet de complémentarité, à savoir la facilitation pour l'azote et la complémentarité pour l'utilisation de l'eau, apparaissent également modifiés à long terme (Tableau 4-2). L'intensité de l'effet de complémentarité et donc de l'effet positif du trèfle sur la production de la graminée associée est par ailleurs fortement corrélée à la proportion de trèfle dans le mélange (Chapitre 3) (Suter et al. 2015).

Résultat marquant : Lors de la récupération après sécheresse extrême, la mise en place d'une différenciation verticale de niches au niveau racinaire en présence de Trèfle blanc dépend de la réponse au stress de ses racines profondes et de l'identité fonctionnelle de la graminée associée.

La résilience des processus facilitants sous-jacents de l'effet positif de la présence de Trèfle blanc dépendrait en partie de la capacité de récupération de la légumineuse après sécheresse extrême.

c. Plasticité des traits fonctionnels: effet sécheresse et interactions hétérospécifiques

Si la plasticité des traits fonctionnels est considérée comme une réponse majeure permettant aux plantes de faire face aux variations des conditions environnementales (Díaz & Cabido 1997; Lavorel & Garnier 2002), l'ampleur de ces variations de valeurs de traits et leur implication dans la performance des espèces demeure peu connu (Pontes *et al.* 2010; Gratani 2014). Zwicke (2013) a mis en évidence dans un travail de thèse des effets directs d'un événement de sécheresse extrême sur l'expression de traits aériens et souterrains impliqués dans les stratégies d'acquisition des ressources et de résistance à la sécheresse (évitement et tolérance). Une réduction de la croissance foliaire, de la teneur en eau et de la stabilité membranaire des méristèmes foliaires et racinaires ont ainsi été mesurés. De récentes études suggèrent par ailleurs que la variabilité intraspécifique de traits peut être un déterminant majeur de la performance des espèces sous sécheresse (Jung et al. 2014; Liancourt et al. 2015). Ces travaux soulignent l'importance d'évaluer la plasticité phénotypique des plantes et d'identifier les traits pour lesquels cette variabilité d'expression détermine le comportement des espèces face à l'occurrence d'une sécheresse extrême. D'autres études suggèrent par ailleurs que les traits fonctionnels des plantes peuvent présenter une forte plasticité en réponse aux interactions biotiques, cette variabilité induite pouvant dépendre de l'identité de l'espèce voisine (Callaway, Pennings & Richards 2003; Le Bagousse-Pinguet et al. 2015). Notre étude met en évidence que la présence d'une autre espèce a un effet significatif et spécifique sur l'expression des traits de l'espèce associée en mélanges. Cette plasticité induite concerne des traits aériens reliés à l'acquisition des ressources et mesurés en conditions hydriques non limitantes (SLA, N, δ^{13} C, Biom_{top}), ainsi que des traits de résistance à la sécheresse mesurés pendant le déficit hydrique (meristem CMS, LRWC 50) (Tableaux 5-2 et 5-3). Bien que l'ensemble des mesures au niveau racinaire ait été effectué à l'échelle de la communauté, nos résultats suggèrent un moindre impact du voisinage sur la variabilité intraspécifique des traits au niveau sous-terrain (Chapitre 6). En effet, notre étude tend à mettre en évidence une absence de plasticité concernant la croissance des racines profondes en présence d'une autre espèce, aussi bien en traitement irrigué que sécheresse. Les variations de croissance racinaire mesurées entre mélanges peuvent ainsi être attribuées à la présence d'espèces particulières plutôt qu'à une plasticité induite par des interactions entre espèces (Chapitre 6).

Résultat marquant : nous mettons en évidence une forte plasticité d'un ensemble de traits aériens en réponse à des interactions hétérospécifiques, ces interactions entre espèces ne paraissant pas affecter l'expression des traits racinaires. Cela suggère un découplage entre compartiments aérien et souterrain concernant les réponses des traits intraspécifiques aux interactions entre espèces.

Le système racinaire profond apparait par ailleurs plastique au regard des changements de disponibilité en eau, l'occurrence d'une sécheresse entrainant une réduction en stress modéré puis un quasi arrêt de la croissance racinaire sous stress plus sévère. Comme démontré précédemment pour le système racinaire de surface (Zwicke 2013), un effet de l'événement de sécheresse extrême sur la plasticité du système racinaire profond est mesuré jusqu'à dix mois après l'événement. En effet, la croissance racinaire est stimulée après sécheresse, suggérant une mémoire du stress à long terme affectant le fonctionnement des communautés végétales (Figure 6-1). Par ailleurs, cet effet positif différé de la sécheresse apparait à court terme dépendant de l'identité des espèces impliquées, seule la croissance de *Dactylis glomerata* étant stimulée jusqu'à deux mois après stress. Par opposition, l'effet positif du stress sur la croissance racinaire profonde durant la saison de croissance suivante est mis en place indépendamment de l'identité des espèces présentes (Chapitre 6).

Résultat marquant : Malgré un effet négatif sur les racines profondes à court terme, l'occurrence d'une sécheresse extrême stimule de manière différée la croissance des racines profondes. A la différence des interactions biotiques interspécifiques, un changement climatique de type sécheresse extrême a un effet majeur et persistant sur la réponse des racines profondes.

Notre étude met par ailleurs en évidence un rôle majeur de la plasticité intraspécifique des traits aériens induite par la présence d'une autre espèce en mélanges dans la réponse des espèces à une sécheresse extrême. Ainsi, conformément à notre hypothèse de départ, des changements de valeur de traits induits par une autre espèce ont été reliés dans cette étude à une variation de production de biomasse aérienne en récupération après extrême pour l'ensemble des espèces étudiées (Tableau 5-4). Des productions de biomasse aérienne plus élevées en phase de récupération long-terme étant mesurées chez les espèces de graminée en présence de trèfle, nos résultats suggèrent que des modifications de valeurs de traits chez les graminées constitueraient un mécanisme sous-jacent des interactions hétérospécifiques associées à l'effet positif du trèfle. Cette étude est ainsi en accord avec les travaux de Jung *et al.* (2014) qui ont mis en évidence la forte contribution de la variabilité intraspécifique dans les changements de traits moyens à l'échelle de la communauté, suggérant que la variabilité intraspécifique serait un mécanisme via lequel les communautés peuvent répondre rapidement et de façon réversible aux épisodes de sécheresse par des ajustements de traits.

La plasticité intraspécifique impliquée dans les variations de production postsécheresse des espèces concerne par ailleurs majoritairement des traits reliés à l'acquisition des ressources (SLA, densité) mesurés avant stress. Par opposition, des variations de traits liés à la résistance à la sécheresse, comme une plus forte stabilité des méristèmes basaux, ne paraissent stimuler la production de biomasse qu'à court terme (Tableau 5-4). Résultat marquant : Nous confirmons l'importance des traits fonctionnels liés aux stratégies d'acquisition des ressources hors stress dans la détermination du comportement des espèces sous sécheresse extrême. Nous montrons que les stratégies d'acquisition des ressources induisant une meilleure récupération après sécheresse à court terme différeraient de celles impliquées dans une meilleure récupération à longterme (existence d'un trade-off concernant le sens des variations de valeurs de traits à court et long terme).

2. Analyse critique de la démarche expérimentale

Une critique récurrente concernant les expérimentations en mésocosmes porte sur l'artificialisation des conditions de culture des plantes par rapport à des conditions *in situ*. Cela est d'autant plus vrai au niveau du compartiment souterrain qui est soumis à un environnement contraint (la taille du pot). Les expérimentations en pots ont par ailleurs été critiquées pour le caractère immature des communautés végétales assemblées (Thompson *et al.* 2005). De manière similaire, l'utilisation de communautés assemblées artificiellement avec des niveaux fixés d'abondance et de densités des espèces est largement interrogée dans le cas de problématiques relatives à la diversité. Le choix des assemblages d'espèces peut en effet paraitre critiquable dans la mesure où les abondances et les densités initiales ne sont pas celles observées dans les communautés naturelles. Ainsi, la pertinence de la transposition des processus existant au sein des communautés naturelles a été mise en doute (Huston & McBride 2002; Flombaum & Sala 2008).

Conscient de ces limites et des critiques formulées dans la littérature, nous avons pris soin dans notre étude d'en limiter les impacts en jouant sur :

 La taille des mésocosmes : les cultures d'espèces prairiales ont été mises en place au sein de pots en PVC cylindriques de 93 cm de hauteur et 37,5 cm de diamètre. Malgré les contraintes d'enracinement notamment horizontal liées à un effet bordure, l'utilisation de pots de relativement grande taille permet de limiter les effets indésirables sur le comportement des racines. Par ailleurs, l'étude des communautés végétales à une échelle spatiale réduite apparait pertinente dans la mesure où les mécanismes de complémentarité ou de facilitation sont plus susceptibles d'être mis en place à l'échelle du voisinage immédiat où les espèces interagissent directement (Cahill 2003; Gross *et al.* 2007). ii) La durée de pré-culture avant exposition au traitement sécheresse : une culture de huit mois associée à des conditions hivernales a permis un endurcissement des plantes au stress hydrique et la mise en place de communautés relativement matures. Cette durée d'installation a également permis une acclimatation aux conditions climatiques ambiantes et des modifications d'abondance et de densité par des interactions entre espèces.

L'intérêt de l'approche mésocosme, à l'origine de son succès dans les travaux fondamentaux récents, tient à sa capacité d'accéder et identifier des mécanismes sous-jacents aux effets de la diversité et de la composition fonctionnelle sur le fonctionnement des communautés végétales, notamment au niveau racinaire. Ce type d'approche expérimentale s'avère ainsi nécessaire à la mise en évidence de processus comme la différenciation verticale de niches au niveau des racines en mélanges.

Notre étude a mis en évidence un an après l'événement de sécheresse extrême une résilience complète de la production aérienne des mélanges (Figure 4-1). Néanmoins, l'événement de sécheresse affecte toujours à cette période le niveau d'overyielding au sein des mélanges associant graminée et trèfle, ainsi que l'importance des mécanismes sousjacents de l'effet de complémentarité entre espèces. Cet effet rémanent de l'événement de sécheresse extrême souligne l'importance des expérimentations à long terme pour évaluer l'impact du changement climatique sur le fonctionnement de l'écosystème prairial en milieu tempéré.

3. Perspectives ouvertes par nos travaux

a. Suivi long-terme de la réponse à une sécheresse extrême

L'effet persistant de la sécheresse sur le fonctionnement de nos mélanges suggère soit un temps de retour à l'état initial supérieur à un an, soit la mise en place d'une nouvelle trajectoire associée à une réorganisation du système (résilience écologique, Holling, 1996). En effet, lorsque un événement de sécheresse dépasse un certain seuil d'intensité, le système peut se réorganiser d'un point de vue structurel et fonctionnel pour atteindre un nouvel état d'équilibre, divergent de son état initial (Walker & Meyers 2004; Briske, Fuhlendorf & Smeins 2006). Notre étude ne permet cependant pas totalement de trancher i) sur la mise en place d'un changement permanent d'état ou ii) sur la durée nécessaire à la résilience complète des fonctions portées par les communautés végétales. Pour apporter des conclusions plus définitives sur ces deux questions, la mise en place d'un suivi à plus long terme (de 5 à 10

ans) nous apparait indispensable. En effet, quelques études et des résultats expérimentaux *in situ* montrent que le fonctionnement de l'écosystème prairial et en conséquence la production de biomasse, peuvent être affectés jusqu'à une dizaine d'années après l'occurrence d'une sécheresse (Haddad, Tilman & Knops 2002; Bloor *et al.* 2010; Cantarel, Bloor & Soussana 2013).

b. Analyse de l'effet temporel des sécheresses (saisonnalité et fréquence)

Bien que notre étude se concentre sur les effets d'un événement de sécheresse extrême isolé et donc sur le facteur intensité du stress, d'autres études ont démontré que la saisonnalité et la fréquence de tels événements impactent la communauté végétale, ainsi que le fonctionnement de l'écosystème associé (Swemmer, Knapp & Snyman 2007; Craine et al. 2012). De nombreuses questions demeurent concernant l'importance de ces deux facteurs sur la réponse de l'écosystème prairial. Dans des travaux récents, un découplage mis en évidence entre les réponses à la sécheresse des compartiments aérien et racinaire souligne l'importance de la prise en compte de la saisonnalité et de la fréquence des sécheresses pour prédire la réponse des prairies aux changements climatiques (Denton 2014). Dans un contexte d'augmentation de l'intensité et de la fréquence des sécheresses extrêmes, des expérimentations à plus long terme intégrant à la fois intensité, durée, saisonnalité et fréquence des sécheresses doivent donc être menées. De manière complémentaire, une approche de modélisation apparaît essentielle pour la prédiction à long terme des effets de saisonnalité et de fréquence d'événement de sécheresse extrême sur le fonctionnement des prairies. Les données issues des expérimentations, notamment concernant la détermination de seuils de réponse à des sécheresses d'intensité croissante et l'identification des mécanismes sous-jacents, doivent servir de base pour la calibration des modèles de simulations mécanistes et leur évaluation. La prise en compte des événements extrêmes doit ainsi permettre d'améliorer la pertinence et la fiabilité des modèles de simulation utilisés en réduisant les incertitudes et de progresser dans l'analyse de la vulnérabilité des prairies face à l'augmentation de l'intensité et de la fréquence des sécheresses.

c. Mécanismes sous-jacents des interactions hétérospécifiques : identification des racines en mélanges

Des travaux expérimentaux ou de modélisation complémentaires apparaissent également nécessaires concernant l'identification des mécanismes sous-jacents des interactions entre espèces. Ils permettraient de conforter les résultats obtenus et de confirmer les propositions avancées dans le cadre de notre étude, en progressant notamment sur la caractérisation d'une complémentarité de niches verticale en mélanges entre systèmes racinaires des graminées et du Trèfle blanc. L'absence de plasticité induite par les interactions hétérospécifiques dans la croissance des racines profondes, fortement suggérée par nos résultats, nécessite également confirmation. La quantification des racines de chaque espèce présente à différentes profondeurs serait ainsi la prochaine étape dans la validation des hypothèses liées à la différenciation verticale de niches au niveau racinaire. Pour ce faire, il est nécessaire de lever un verrou méthodologique relatif à l'exploration de la distribution verticale des racines de chaque espèce au sein de communautés plurispécifiques. Une méthode moléculaire basée sur une technique de quantification de l'ADN a récemment été développée par Mommer et al. (2008). Elle permettrait une mesure assez fiable de l'abondance relative des espèces dans des échantillons plurispécifiques de racines. Obtenir la contribution relative de différents horizons du sol aux ressources réellement prélevées par les plantes serait également une étape supplémentaire dans la mise en évidence de la complémentarité verticale comme mécanisme sous-jacent d'une augmentation du prélèvement d'eau à l'échelle du mélange. L'injection de traceurs et l'analyse de la composition isotopique de l'eau du sol et de l'eau prélevée par les plantes sont deux techniques qui permettraient in fine de quantifier mais aussi d'identifier l'origine des prélèvements d'eau et de nutriments par différentes espèces en mélanges (Hoekstra et al. 2014; Prechsl et al. 2014).

d. Rôle clé du Trèfle blanc: généralisation à l'ensemble des légumineuses

Nos résultats mettent en évidence le rôle majeur du Trèfle blanc dans le déterminisme de la production de biomasse aérienne. Compte tenu de la biologie très spécifique du Trèfle blanc (distribution verticale des racines, régulation stomatique, réponse des nodules racinaires au déficit hydrique) (Frame, Charlton & Laidlaw 1998), des études complémentaires nous semblent indispensables pour pouvoir généraliser l'effet positif de la présence de Trèfle blanc à l'ensemble des légumineuses, notamment dans le cadre de sécheresses plus intenses et fréquentes. Cette généralisation relève d'approches plus finalisées qui pourraient être promues dans le cadre de prescriptions entrant dans le champ de l'agroécologie. La mise en évidence d'un effet bénéfique des légumineuses au sens large lors de la récupération après sécheresse extrême serait particulièrement importante. Dans nos travaux, nous faisons l'hypothèse que la meilleure production post-sécheresse des mélanges associant graminée et trèfle dépendrait en partie de la capacité de récupération aérienne du trèfle. Il s'agirait donc de tester cette hypothèse sur une plus large gamme de mélanges avec une graminée « témoin » et plusieurs genres de légumineuses (trèfles, luzernes, vesces, lotiers), afin de mesurer la production

individuelle de la légumineuse en réponse au stress. Ces expérimentations pourraient être ciblées en adaptant le mélange à des situations observées en conditions de culture de prairies temporaires (par exemple Ray-grass anglais-Trèfle blanc, Dactyle aggloméré-luzerne, Fétuque élevée-Trèfle violet) ou localement dans des prairies permanentes. La large gamme des associations possibles, combinée avec différents facteurs de gestion, induit la nécessité de mobiliser une approche de modélisation.

La meilleure production des mélanges graminée-trèfle après sécheresse dépendrait par ailleurs essentiellement de la récupération des mécanismes sous-jacents de l'effet positif de la légumineuse sur la croissance des graminées associées. Cela relève de deux mécanismes concomitants et complémentaires : (i) la mise en place d'une croissance racinaire importante en profondeur (complémentarité de niche verticale) et (ii) la fixation de l'azote atmosphérique (facilitation azotée). Alors qu'un stress hydrique sévère peut affecter la capacité de fixation de l'azote atmosphérique des légumineuses dans leur ensemble (Peña-Cabriales & Castellanos 1993; Serraj, Sinclair & Purcell 1999; Abdelhamid et al. 2010), la variabilité de réponse des légumineuses au déficit hydrique concernerait principalement leurs stratégies de résistance à la sécheresse et les différences de systèmes racinaires associées. Ainsi, en cas d'occurrence de sécheresse extrême, les divergences fonctionnelles entre légumineuses induiraient potentiellement des différences de réponse au stress concernant (i) la récupération de biomasse aérienne et (ii) la croissance racinaire en profondeur, affectant la mise en place de complémentarité de niche verticale en mélanges. Des perspectives de recherche concernent donc l'évaluation de la vulnérabilité des différentes légumineuses à la sécheresse. L'enjeu est d'identifier d'éventuels types fonctionnels en lien avec la résistance et la résilience à la sécheresse au sein de ce groupe d'intérêt agro-écologique. L'enjeu plus finalisé devrait permettre de se prononcer quant à l'intérêt des légumineuses pour le maintien d'une production de biomasse élevée sous climat futur et particulièrement en cas d'occurrence de sécheresses extrêmes. Ainsi, un des objectifs d'une seconde expérimentation en mésocosme, réalisée au cours de cette thèse dans le cadre d'un projet européen BiodivERsA (SIGNAL), était d'évaluer sous sécheresse extrême la similarité des réponses du Trèfle blanc et du Trèfle violet et de leurs effets en mélanges. Pendant la phase de stress puis de récupération, nous avons donc étudié (i) la réponse individuelle du Trèfle blanc et du Trèfle violet à une sécheresse extrême et (ii) leurs effets sur le fonctionnement de mélanges plurispécifiques associant individuellement ces deux trèfles aux graminées préalablement étudiées. L'analyse de ces données étant actuellement en cours, les résultats de cette expérimentation n'ont pu être inclus dans ce manuscrit de thèse. Des résultats préliminaires tendent cependant à montrer des

différences de sensibilité concernant la production de biomasse aérienne sous sécheresse modérée des trèfles blanc et violet.

e. Interactions hétérospécifiques : importance de la modulation des réponses individuelles des espèces

Une des suggestions majeures de notre étude est que la réponse individuelle des espèces prairiales à la sécheresse ne serait pas suffisante pour prédire le comportement des mélanges dans les conditions climatiques actuelles aussi bien que sous sécheresse extrême. Ainsi, nos résultats mettent en évidence la nécessité d'intégrer l'effet des interactions hétérospécifiques dans l'étude de la réponse des communautés à la sécheresse (Jung et al. 2014; Liancourt et al. 2015). La modulation des valeurs intraspécifiques de traits modifierait les stratégies des espèces en mélanges notamment en ce qui concerne l'acquisition des ressources. Ces modifications du comportement peuvent constituer une des causes de variation de production sous sécheresse induite par des interactions hétérospécifiques. La plasticité de la réponse fonctionnelle des espèces serait notamment un des mécanismes sous-jacents de l'overyielding au sein des mélanges associant graminée et Trèfle blanc lors de la phase récupération postsécheresse extrême. Notre étude suggère ainsi que la modulation par des interactions entre espèces du fonctionnement des écosystèmes serait en partie liée à modifications de l'acquisition des ressources à l'échelle spécifique et pas seulement à une complémentarité fonctionnelle inhérente entre espèces présentes dans la communauté. Par conséquent, dans une optique d'optimisation de la stabilité de production des prairies sous sécheresse extrême, le choix d'association d'espèces par une approche de sélection de traits fonctionnels ou de combinaisons particulières de traits ne pourrait se baser uniquement sur les stratégies inhérentes des espèces mesurées en monocultures, mais devrait prendre en compte la modulation du comportement de ces espèces par les interactions biotiques. Il apparaît donc important d'approfondir notre compréhension du rôle des changements de valeurs de traits induits par les interactions hétérospécifiques hors stress sur la réponse sous sécheresse extrême des espèces. Cela permettra d'améliorer notre capacité de prédiction de l'impact du changement climatique sur la production des communautés prairiales. Le défi académique est de pouvoir introduire ce type d'interactions entre espèces dans des modèles de simulation. Actuellement, des modèles utilisés comme outils de prédiction pour identifier les impacts du changement climatique sur le fonctionnement des prairies prennent en compte les différences fonctionnelles entre espèces végétales ainsi que les interactions plantes-plantes (Soussana et al. 2008). Cependant, la fiabilité de leur prédiction doit être améliorée notamment en intégrant la variabilité intraspécifique de traits et la régulation par les interactions interspécifiques de la réponse des espèces aux changements environnementaux. A terme, la production de référence permettra de progresser sur des enjeux plus finalisés en vue de proposer soit des mélanges d'espèces mieux adaptés à ces conditions extrêmes, soit d'adapter les pratiques de gestion par le pâturage ou la fauche. L'association de populations au comportement méditerranéen et tempéré en mélanges, ou le développement de méthodes de sélection pour l'obtention de mélanges interspécifiques améliorés et de variétés dédiées spécifiquement à une utilisation en mélanges, sont autant de perspectives d'adaptation des mélanges aux conditions climatiques futures (Litrico *et al.* 2016) (Annexe 4). Des travaux antérieurs suggèrent par ailleurs qu'une fréquence de fauche modérée serait favorable au maintien de la production après un extrême climatique, avec cependant pour conséquence une baisse de l'abondance des légumineuses pouvant être dommageable à long terme.

f. Approche multifonctionnelle des prairies : réponse à une sécheresse extrême des différents services

Notre étude met par ailleurs en évidence un découplage des patterns aérien et racinaire concernant la réponse à la sécheresse et aux interactions hétérospécifiques, suggérant une incapacité à prédire le comportement souterrain des communautés végétales par la mesure du comportement aérien au niveau des prairies. En réponse à des changements de composition ou de structure des communautés végétales ou à des changements d'ordre climatique, les modifications fonctionnelles au niveau du compartiment souterrain des prairies tempérées ne seraient ainsi pas corrélées aux modifications fonctionnelles observées pour le compartiment aérien. L'évaluation par l'étude de traits aériens des réponses fonctionnelles de l'écosystème prairial au niveau souterrain, relatives notamment à la problématique du stockage de carbone, apparait donc compromise. Des études montrent ainsi que les traits aériens et souterrains des plantes impliqués dans le cycle du carbone seraient peu couplés, ce qui constitue un inconvénient majeur pour la modélisation et la prévision du cycle du carbone dans le contexte des changements globaux (De Deyn, Cornelissen & Bardgett 2008). Bien que de récents travaux suggèrent que des mesures de traits foliaires moyens à l'échelle des communautés pourraient permettre de prédire le stock de carbone organique dans le sol des prairies tempérées (Kohler et al. 2013), ce couplage entre traits aériens et stockage du carbone pourrait être affecté par l'occurrence de sécheresses extrêmes, compromettant ainsi la prévision du cycle du carbone sous climat futur. Le stockage de carbone dans le sol étant un levier essentiel pour la limitation des effets du changement climatique, la modélisation du

cycle du carbone apparait comme un enjeu majeur pour l'amélioration des pratiques agricoles optimisant le maintien ou l'augmentation du stock de carbone dans le sol. Un taux de croissance annuel du stock de carbone dans les sols de 4 ‰ permettrait ainsi de stopper l'augmentation actuelle du CO₂ dans l'atmosphère.

Si ce travail apporte des éléments nouveaux concernant le rôle de la composition et de la diversité fonctionnelle des communautés végétales dans le maintien de la production de biomasse sous sécheresse extrême (service d'approvisionnement), il renseigne peu la réponse d'autres fonctions et services. Il serait notamment intéressant de réinterroger nos résultats sous l'angle des services de régulation (stockage du carbone, maintien de la fertilité et épuration des sols). Par ailleurs, les changements de structure des communautés végétales en réponse à événements de sécheresses plus intenses pourraient être explorés. Bien que nos résultats tendent à montrer l'intérêt des associations de graminées et de Trèfle blanc, les compositions et structures de communautés végétales prairiales favorables à d'autres services agro-écologiques, comme le stockage du carbone ou la qualité du fourrage produit, pourraient s'avérer différentes de celles optimisant le niveau de production en cas d'occurrence de sécheresse extrême. Des expérimentations prenant en compte la multifonctionnalité des prairies doivent donc être envisagées pour l'étude de la réponse des prairies permanentes au changement climatique et notamment à l'augmentation de l'intensité des sécheresses.

g. Rôle de la diversité intraspécifique

Bien que la majorité des travaux concernant les effets de la diversité végétale sur le fonctionnement de l'écosystème prairial soit axée sur la diversité interspécifique (richesse spécifique, divergence des traits fonctionnels entre espèces, traits moyens), de récentes études suggèrent un rôle majeur de la diversité intraspécifique dans le déterminisme de fonctions comme la production de biomasse (Bolnick *et al.* 2011). Le rôle de la variabilité génétique intraspécifique est néanmoins peu exploré malgré les preuves grandissantes de son importance pour l'évaluation du potentiel d'adaptation des prairies face aux changements climatiques (Beierkuhnlein *et al.* 2011; Kreyling *et al.* 2012; Poirier, Durand & Volaire 2012). L'hypothèse d'assurance écologique pourrait ainsi être étendue à la diversité intraspécifique, la présence d'écotypes adaptés à des conditions plus arides permettant une meilleure stabilité du système et notamment de la production de biomasse en cas d'occurrence de sécheresse extrême. La quantification de la part de variabilité intra- et inter-spécifique dans le déterminisme du fonctionnement de l'écosystème prairial constitue ainsi une perspective récente de recherche, qui présente un intérêt tant sur le plan académique (comprendre et

identifier de nouveaux leviers de complémentarité) que finalisé (produire des mélanges multivariétés et multispécifiques).

La quantification de l'importance de la diversité inter- et intra-spécifique dans un contexte d'intensification des sécheresses en Europe constitue une grande partie des objectifs du projet européen SIGNAL amorcé en 2013 et auquel j'ai participé. Pour ce faire, nous avons développé une expérimentation en mésocosme en deux volets, de chacun 72 cultures en pots: (i) manipulation de la richesse spécifique (1, 3 et 6 espèces en mélanges) combinée à la diversité en groupes fonctionnels (4 graminées, 4 légumineuses, 4 dicotylédones non fixatrices), et (ii) manipulation de la diversité intraspécifique chez l'espèce modèle *Dactylis glomerata* (12 écotypes européens de Dactyle en mélanges de 1, 3 et 6 écotypes). L'analyse des résultats de cette expérimentation et leur valorisation est actuellement en cours (Annexe 3).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence le rôle clé de la composition des communautés végétales et plus particulièrement de la présence de Trèfle blanc dans la récupération de la production de biomasse aérienne sous sécheresse extrême. Cette thèse a de plus permis d'améliorer notre compréhension des mécanismes sous-jacents du phénomène d'overvielding observé en présence de la légumineuse, en soulignant notamment l'importance de la croissance des racines profondes pour la mise en place de complémentarité fonctionnelle entre espèces. Les résultats de nos travaux soulignent par ailleurs la nécessité de prendre en compte la modulation par les interactions interspécifiques du comportement des espèces en mélanges dans la prévision de la production des communautés prairiales sous climat futur. Une approche de modélisation intégrant la variabilité de comportement intraspécifique induite par les espèces associées permettrait d'améliorer la prédiction de la réponse des communautés végétales face à l'occurrence de sécheresses extrêmes. Dans une optique plus appliquée, la prise en compte de cette variabilité fonctionnelle intraspécifique, inhérente ou induite par des interactions, apparaît nécessaire pour pouvoir proposer des mélanges d'espèces ou de variétés mieux adaptés à ces conditions extrêmes. De plus, une approche multiple des services de la prairie, intégrant aussi bien la quantité et la qualité du fourrage produit que le service de séquestration du carbone, apparait nécessaire pour la mise en évidence de compromis dans l'adaptation des prairies et de leur mode de gestion sous climat futur.

- Aarssen, L.W. (1997) High productivity in grassland ecosystems: effected by species diversity or productive species? *Oikos*, 183–184.
- Abdelhamid, M.T., Palta, J.A., Veneklaas, E.J., Atkins, C., Turner, N.C. & Siddique, K.H.M. (2010) Drying the surface soil reduces the nitrogen content of faba bean (Vicia faba L.) through a reduction in nitrogen fixation. *Plant and Soil*, **339**, 351–362.
- AGRESTE. (2010) Enquête Sur Les Prairies. AGRESTE, Les Dossiers.
- Akinola, M.O., Thompson, K. & Buckland, S.M. (1998) Soil Seed Bank of an Upland Calcareous Grassland After 6 Years of Climate and Management Manipulations. *Journal of Applied Ecology*, 35, 544–552.
- Albert, C.H., Thuiller, W., Yoccoz, N.G., Douzet, R., Aubert, S. & Lavorel, S. (2010a) A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology*, **24**, 1192–1201.
- Albert, C.H., Thuiller, W., Yoccoz, N.G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P. & Lavorel, S. (2010b) Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. *Journal of Ecology*, 98, 604–613.
- Amiaud, B. & Carrère, P. (2012) La multifonctionnalité de la prairie pour la fourniture de services écosystémiques. *Fourrages*, 229–238.
- Amiaud, B. & Plantureux, S. (2011) La biodiversité des prairies permanentes : nouveau contexte, nouvelles approches. *Fourrages*, 241–243.
- van Andel, J. (2013) Species Interactions Structuring Plant Communities. *Vegetation Ecology* (eds E. van derarel & J. Franklin), pp. 203–232. John Wiley & Sons, Ltd.
- Arnone, J.A., Jasoni, R.L., Lucchesi, A.J., Larsen, J.D., Leger, E.A., Sherry, R.A., Luo, Y., Schimel, D.S. & Verburg, P.S.J. (2011) A climatically extreme year has large impacts on C4 species in tallgrass prairie ecosystems but only minor effects on species richness and other plant functional groups. *Journal of Ecology*, 99, 678–688.
- Asbjornsen, H., Shepherd, G., Helmers, M. & Mora, G. (2008) Seasonal patterns in depth of water uptake under contrasting annual and perennial systems in the Corn Belt Region of the Midwestern U.S. *Plant and Soil*, **308**, 69–92.
- Asseng, S., Ritchie, J.T., Smucker, A.J.M. & Robertson, M.J. (1998) Root growth and water uptake during water deficit and recovering in wheat. *Plant and Soil*, **201**, 265–273.
- Bachmann, D., Gockele, A., Ravenek, J.M., Roscher, C., Strecker, T., Weigelt, A. & Buchmann, N. (2015) No Evidence of Complementary Water Use along a Plant Species Richness Gradient in Temperate Experimental Grasslands. *PLoS ONE*, 10, e0116367.

- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D. & Schmid, B. (2006) Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters*, **9**, 1146–1156.
- Barnes, R.F. & Nelson, C.J. (2003) Forages and grasslands in a changing world. *Forages: an introduction to grassland agriculture*, Iowa State University Press, pp. 3–24. RF Barnes, CJ Nelson, M Collins and KJ Moore, Ames, IA.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2014) Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. *arXiv:1406.5823 [stat]*.
- Beard, J.B. (1989) Turfgrass Water stress: drought resistance components, physiological mechanisms and species-genotype diversity., pp. 23–28. Japan.
- Begon, M., Townsend, C.R. & Harper, J.L. (2005) *Ecology: From Individuals to Ecosystems,* 4th Edition., Blackwell. Oxford.
- Beierkuhnlein, C., Thiel, D., Jentsch, A., Willner, E. & Kreyling, J. (2011) Ecotypes of European grass species respond differently to warming and extreme drought. *Journal* of Ecology, 99, 703–713.
- van den Berge, J., Naudts, K., De Boeck, H.J., Ceulemans, R. & Nijs, I. (2014) Do interactions with neighbours modify the above-ground productivity response to drought? A test with two grassland species. *Environmental and Experimental Botany*, 105, 18–24.
- Bertness, M.D. & Callaway, R. (1994) Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, 191–193.
- Bessler, H., Oelmann, Y., Roscher, C., Buchmann, N., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Temperton, V.M., Wilcke, W. & Engels, C. (2012) Nitrogen uptake by grassland communities: contribution of N2 fixation, facilitation, complementarity, and species dominance. *Plant and Soil*, **358**, 301–322.
- Bessler, H., Temperton, V.M., Roscher, C., Buchmann, N., Schmid, B., Schulze, E.-D., Weisser, W.W. & Engels, C. (2009) Aboveground overyielding in grassland mixtures is associated with reduced biomass partitioning to belowground organs. *Ecology*, **90**, 1520–1530.
- Bloor, J.M.G. & Bardgett, R.D. (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 14, 193–204.
- Bloor, J.M.G., Pichon, P., Falcimagne, R., Leadley, P. & Soussana, J.-F. (2010) Effects of Warming, Summer Drought, and CO2 Enrichment on Aboveground Biomass Production, Flowering Phenology, and Community Structure in an Upland Grassland Ecosystem. *Ecosystems*, 13, 888–900.
- Blum, A. (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, **112**, 119–123.

- Blum, A. & Ebercon, A. (1981) Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, **21**, 43–47.
- Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araújo, M.S., Bürger, R., Levine, J.M., Novak, M., Rudolf, V.H.W., Schreiber, S.J., Urban, M.C. & Vasseur, D.A. (2011) Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 183–192.
- Briske, D.D. & Anderson, V.J. (1992) Competitive ability of the bunchgrass Schizachyrium scoparium as affected by grazing history and defoliation. *Vegetatio*, **103**, 41–49.
- Briske, D.D., Fuhlendorf, S.D. & Smeins, F.E. (2006) A Unified Framework for Assessment and Application of Ecological Thresholds. *Rangeland Ecology & Management*, **59**, 225–236.
- 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.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 119–125.
- Bryant, J.R. & Snow, V.O. (2008) Modelling pastoral farm agro-ecosystems: A review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **51**, 349–363.
- Burch, G. & Johns, G. (1978) Root Absorption of Water and Physiological Responses to Water Deficits by Festuca arundinacea Schreb. And Trifolium repens L. Functional Plant Biology, 5, 859–871.
- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (eds). (2002) *Model Selection and Multimodel Inference*. Springer New York, New York, NY.
- Cahill, J.F. (2003) Lack of relationship between below-ground competition and allocation to roots in 10 grassland species. *Journal of Ecology*, **91**, 532–540.
- Callaway, R.M. (2007) *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Callaway, R.M., Pennings, S.C. & Richards, C.L. (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology*, **84**, 1115–1128.
- Campbell, V., Murphy, G. & Romanuk, T.N. (2011) Experimental design and the outcome and interpretation of diversity–stability relations. *Oikos*, **120**, 399–408.
- Cantarel, A.A.M., Bloor, J.M.G. & Soussana, J.-F. (2013) Four years of simulated climate change reduces above-ground productivity and alters functional diversity in a grassland ecosystem. *Journal of Vegetation Science*, **24**, 113–126.
- Caradus, J.R. (1977) Structural variation of white clover root systems. *New Zealand Journal* of Agricultural Research, **20**, 213–219.

- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S. & Naeem, S. (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, **486**, 59–67.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., Loreau, M. & Weis, J.J. (2007) Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, 18123–18128.
- Carrère, P., Seytre, L., Piquet, M., Landrieaux, J., Rivière, J., Chabalier, C. & Orth, D. (2012) Une typologie multifonctionnelle des prairies des systèmes laitiers AOP du Massif central combinant des approches agronomiques et écologiques. *Fourrages*, 9–21.
- Carrow, R.N. (1996a) Drought avoidance characteristics of diverse tall fescue cultivars. *Crop science (USA)*.
- Carrow, R.N. (1996b) Drought resistance aspects of turfgrasses in the Southeast: root-shoot responses. *Crop science (USA)*.
- Champely, S., Ekstrom, C., Dalgaard, P., Gill, J., Wunder, J. & Rosario, H.D. (2015) *Pwr: Basic Functions for Power Analysis.*
- Chapin, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C. & Díaz, S. (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature*, **405**, 234–242.
- Charrier, G. & Améglio, T. (2011) The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. *Environmental and Experimental Botany*, **72**, 351–357.
- Chaves, M.M. & Pereira, J.S. (1992) Water Stress, CO2 and Climate Change. *Journal of Experimental Botany*, **43**, 1131–1139.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T. & Pinheiro, C. (2002) How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, **89**, 907–916.
- Chen, S.-Y., Xu, J., Maestre, F.T., Chu, C.-J., Wang, G. & Xiao, S. (2009) Beyond duallattice models: incorporating plant strategies when modeling the interplay between facilitation and competition along environmental severity gradients. *Journal of Theoretical Biology*, **258**, 266–273.
- Cheng, D.-L., Wang, G.-X., Chen, B.-M. & Wei, X.-P. (2006) Positive Interactions: Crucial Organizers in a Plant Community. *Journal of Integrative Plant Biology*, **48**, 128–136.
- Cherwin, K. & Knapp, A. (2012) Unexpected patterns of sensitivity to drought in three semiarid grasslands. *Oecologia*, **169**, 845–852.

- Christensen JH, Hewitson B, Busuioc A, et al (2007) Regional Climate Projections. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Clements, F.E., Hanson, H.C. & Weaver, J.E. (1929) *Plant Competition; an Analysis of Community Functions*. Carnegie institution of Washington, Washington.
- Collins, S.L., Knapp, A.K., Hartnett, D.C. & Briggs, J.M. (1998) The dynamic tallgrass prairie: synthesis and research opportunities., Grassland dynamics: long-term ecological research in tallgrass prairie, pp. 301–315. Oxford University Press, London, UK.
- Comas, L.H., Becker, S.R., Cruz, V.M.V., Byrne, P.F. & Dierig, D.A. (2013) Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, **4**.
- 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.
- Craine, J.M., Nippert, J.B., Elmore, A.J., Skibbe, A.M., Hutchinson, S.L. & Brunsell, N.A. (2012) Timing of climate variability and grassland productivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109**, 3401–3405.
- Craine, J.M., Nippert, J.B., Towne, E.G., Tucker, S., Kembel, S.W., Skibbe, A. & McLauchlan, K.K. (2011) Functional consequences of climate change-induced plant species loss in a tallgrass prairie. *Oecologia*, **165**, 1109–1117.
- Craine, J.M., Reich, P.B., David Tilman, G., Ellsworth, D., Fargione, J., Knops, J. & Naeem, S. (2003) The role of plant species in biomass production and response to elevated CO2 and N. *Ecology Letters*, 6, 623–625.
- Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruelheide, H., Ebeling, A., Roscher, C., Ruijven, J. van, Weigelt, A., Wilsey, B., Beierkuhnlein, C., Luca, E. de, Griffin, J.N., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Loreau, M., Meyer, S.T., Mori, A.S., Naeem, S., Palmborg, C., Polley, H.W., Reich, P.B., Schmid, B., Siebenkäs, A., Seabloom, E., Thakur, M.P., Tilman, D., Vogel, A. & Eisenhauer, N. (2016) Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 371, 20150277.
- Davidson, I.A. & Robson, M.J. (1986) Effect of Temperature and Nitrogen Supply on the Growth of Perennial Ryegrass and White Clover. 2. A Comparison of Monocultures and Mixed Swards. *Annals of Botany*, **57**, 709–719.
- Davies, A. (2001) Competition between grasses and legumes in established pastures. , 63–83.
- De Boeck, H.J.D., Lemmens, C.M.H.M., Bossuyt, H., Malchair, S., Carnol, M., Merckx, R., Nijs, I. & Ceulemans, R. (2006) How do climate warming and plant species richness affect water use in experimental grasslands? *Plant and Soil*, **288**, 249–261.

- De Boeck, H.J., Lemmens, C.M.H.M., Zavalloni, C., Gielen, B., Malchair, S., Carnol, M., Merckx, R., van den Berge, J., Ceulemans, R. & Nijs, I. (2008) Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, 5, 585–594.
- De Deyn, G.B., Cornelissen, J.H.C. & Bardgett, R.D. (2008) Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology Letters*, **11**, 516–531.
- Denton, E.M. (2014) *The Timing of Growing Season Drought and Its Effects on above- and Belowground Production in a Mesic Grassland.* phdthesis, Colorado State University.
- Díaz, S. & Cabido, M. (1997) Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *Journal of Vegetation Science*, **8**, 463–474.
- 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, F. 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. r. (2004) The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science*, 15, 295–304.
- Díaz, S. & Cabido, M. (2001) Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646–655.
- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., Quétier, F., Grigulis, K. & Robson, T.M. (2007) Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 20684–20689.
- Dimitrakopoulos, P.G. & Schmid, B. (2004) Biodiversity effects increase linearly with biotope space. *Ecology Letters*, **7**, 574–583.
- Dreesen, F.E., De Boeck, H.J., Janssens, I.A. & Nijs, I. (2012) Summer heat and drought extremes trigger unexpected changes in productivity of a temperate annual/biannual plant community. *Environmental and Experimental Botany*, **79**, 21–30.
- Durand, J.L. (2007) Les effets du déficit hydrique sur la plante : aspects physiologiques. *Fourrages*, 181–195.
- Dybzinski, R., Fargione, J.E., Zak, D.R., Fornara, D. & Tilman, D. (2008) Soil fertility increases with plant species diversity in a long-term biodiversity experiment. *Oecologia*, **158**, 85–93.
- Dyer, A.R. & Rice, K.J. (1997) Intraspecific and Diffuse Competition: The Response of Nassella Pulchra in a California Grassland. *Ecological Applications*, **7**, 484–492.
- Eissenstat, D.M. & Caldwell, M.M. (1988) Competitive ability is linked to rates of water extraction. *Oecologia*, **75**, 1–7.
- Eissenstat, D.M., Whaley, E.L., Volder, A. & Wells, C.E. (1999) Recovery of citrus surface roots following prolonged exposure to dry soil. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 1845–1854.
- Elton, C.S. (1958) The Ecology of Invasions by Animals and Plants. Methuen, London.
- Farber, S., Costanza, R., Childers, D.L., Erickson, J., Gross, K., Grove, M., Hopkinson, C.S., Kahn, J., Pincetl, S., Troy, A., Warren, P. & Wilson, M. (2006) Linking ecology and economics for ecosystem management. *BioScience*, 56, 121–133.
- Fargione, J. & Tilman, D. (2005) Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. *Oecologia*, **143**, 598–606.
- Fay, P.A., Carlisle, J.D., Knapp, A.K., Blair, J.M. & Collins, S.L. (2000) Altering Rainfall Timing and Quantity in a Mesic Grassland Ecosystem: Design and Performance of Rainfall Manipulation Shelters. *Ecosystems*, 3, 308–319.
- Fay, P.A., Carlisle, J.D., Knapp, A.K., Blair, J.M. & Collins, S.L. (2003) Productivity responses to altered rainfall patterns in a C4-dominated grassland. *Oecologia*, 137, 245–251.
- Feldman, B.E. (2005) *Relative Importance and Value*. SSRN Scholarly Paper, Social Science Research Network, Rochester, NY.
- von Felten, S., Hector, A., Buchmann, N., Niklaus, P.A., Schmid, B. & Scherer-Lorenzen, M. (2009) Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. *Ecology*, **90**, 1389–1399.
- von Felten, S. & Schmid, B. (2008a) Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. *Journal of Plant Ecology*, **1**, 33–41.
- von Felten, S. von & Schmid, B. (2008b) Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. *Journal of Plant Ecology*, **1**, 33–41.
- Fitter, A.H. (1986) Spatial and temporal patterns of root activity in a species-rich alluvial grassland. *Oecologia*, **69**, 594–599.
- Flombaum, P. & Sala, O.E. (2008) Higher effect of plant species diversity on productivity in natural than artificial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 6087–6090.
- Flores, J. & Jurado, E. (2003) Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *Journal of Vegetation Science*, **14**, 911–916.
- Folke, C., Carpenter, S., Elmqvist, T., Gunderson, L., Holling, C.S. & Walker, B. (2002) Resilience and sustainable development: building adaptive capacity in a world of transformations. *Ambio*, **31**, 437–440.
- Folke, C., Carpenter, S., Walker, B., Scheffer, M., Elmqvist, T., Gunderson, L. & Holling, C.S. (2004) Regime Shifts, Resilience, and Biodiversity in Ecosystem Management. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35, 557–581.

- Forage and Grazing Terminology Committee. (1992) Terminology for grazing lands and grazing animals. *Journal of Production Agriculture*, 191–201.
- Fowler, M.S. (2009) Increasing community size and connectance can increase stability in competitive communities. *Journal of Theoretical Biology*, **258**, 179–188.
- Fox, J., Weisberg, S., Adler, D., Bates, D., Baud-Bovy, G., Ellison, S., Firth, D., Friendly, M., Gorjanc, G., Graves, S., Heiberger, R., Laboissiere, R., Monette, G., Murdoch, D., Nilsson, H., Ogle, D., Ripley, B., Venables, W., Winsemius, D., Zeileis, A. & R-Core. (2016) Car: Companion to Applied Regression.
- Frame, J., Charlton, J.F.L. & Laidlaw, A.S. (1998) Temperate Forage Legumes. CAB International.
- Frank, D.A. (2007) Drought effects on above- and belowground production of a grazed temperate grassland ecosystem. *Oecologia*, **152**, 131–139.
- 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., Shipley, B., Roumet, C. & Laurent, G. (2001) A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology*, 15, 688–695.
- Gastine, A., Scherer-Lorenzen, M. & Leadley, P.W. (2003) No consistent effects of plant diversity on root biomass, soil biota and soil abiotic conditions in temperate grassland communities. *Applied Soil Ecology*, **24**, 101–111.
- Gibson, D.J. (1988) The Maintenance of Plant and Soil Heterogeneity in Dune Grassland. *Journal of Ecology*, **76**, 497–508.
- Gibson, D.J. (2009) *Grasses and Grassland Ecology*, Oxford University Press. Oxford University Press.
- Gilgen, A.K. & Buchmann, N. (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525–2539.
- Gilgen, A.K., Signarbieux, C., Feller, U. & Buchmann, N. (2010) Competitive advantage of Rumex obtusifolius L. might increase in intensively managed temperate grasslands under drier climate. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **135**, 15–23.
- Gill, R.A. & Jackson, R.B. (2000) Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, 13–31.
- Gitay, H. & Noble, I.R. (1997) What are functional types and how should we seek them? *Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change*, Cambridge University Press, pp. 3–19. Smith TM, Shugart HH, Woodward F.
- Goldberg, D.E. (1990) Components of resource competition in plant communities. , 27-49.

- Gonzalez, A. & Loreau, M. (2009) The Causes and Consequences of Compensatory Dynamics in Ecological Communities. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 393–414.
- Graham, P.H. & Vance, C.P. (2003) Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiology*, **131**, 872–877.
- Granier, A., Ceschia, E., Damesin, C., Dufrêne, E., Epron, D., Gross, P., Lebaube, S., Le Dantec, V., Le Goff, N., Lemoine, D., Lucot, E., Ottorini, J.M., Pontailler, J.Y. & Saugier, B. (2000) The carbon balance of a young Beech forest. *Functional Ecology*, 14, 312–325.
- Grant, K., Kreyling, J., Heilmeier, H., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2014) Extreme weather events and plant-plant interactions: shifts between competition and facilitation among grassland species in the face of drought and heavy rainfall. *Ecological Research*, **29**, 991–1001.
- Gratani, L. (2014) Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Advances in Botany*, **2014**, 1–17.
- Grime, J.P. (1973) Competitive Exclusion in Herbaceous Vegetation. Nature, 242, 344-347.
- Grime, J.P. (1974) Vegetation classification by reference to strategies. *Nature*, 250, 26–31.
- Grime, J.P. (1979) Plant Strategies and Vegetation Processes. John Wiley & Sons Ltd.
- Grime, J.P. (1998) Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, **86**, 902–910.
- Grime, J.P. (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties.* John Wiley & Sons Ltd.
- Grime, J.P., Thompson, K., Hunt, R., Hodgson, J.G., Cornelissen, J.H.C., Rorison, I.H., 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., Hodkinson, D.J., Jalili, A., Liu, Z., Mackey, J.M.L., Matthews, N., Mowforth, M.A., Neal, A.M., Reader, R.J., Reiling, K., Ross-Fraser, 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.
- Grimm, V., Schmidt, E. & Wissel, C. (1992) On the application of stability concepts in ecology. *Ecological Modelling*, **63**, 143–161.
- Grömping, U. (2007) Relative Importance for Linear Regression in R: The Package relaimpo. *Journal of Statistical Software*, **17**.
- Gross, N., Bloor, J.M.G., Louault, F., Maire, V. & Soussana, J.-F. (2009) Effects of land-use change on productivity depend on small-scale plant species diversity. *Basic and Applied Ecology*, **10**, 687–696.

- 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.
- Gubsch, M., Buchmann, N., Schmid, B., Schulze, E.-D., Lipowsky, A. & Roscher, C. (2011) Differential effects of plant diversity on functional trait variation of grass species. *Annals of Botany*, **107**, 157–169.
- Gunderson, L.H., Holling, C.S., Pritchard, L. & Peterson, G.D. (2002) Resilience of Large Scale Resource Systems. *Resilience and the Behavior of Large-Scale Systems*, Island Press, pp. 3–20. Gunderson LH, Pritchard LJ, UK.
- Haddad, N.M., Tilman, D. & Knops, J.M.H. (2002) Long-term oscillations in grassland productivity induced by drought. *Ecology Letters*, **5**, 110–120.
- He, J.-S., Bazzaz, F.A. & Schmid, B. (2002) Interactive effects of diversity, nutrients and elevated CO2 on experimental plant communities. *Oikos*, **97**, 337–348.
- He, Q. & Bertness, M.D. (2014) Extreme stresses, niches, and positive species interactions along stress gradients. *Ecology*, **95**, 1437–1443.
- He, Q., Bertness, M.D. & Altieri, A.H. (2013) Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecology Letters*, **16**, 695–706.
- Hector, A. & Bagchi, R. (2007) Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, **448**, 188–190.
- Hector, A., Hautier, Y., Saner, P., Wacker, L., Bagchi, R., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Spehn, E.M., Bazeley-White, E., Weilenmann, M., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Mulder, C.P.H., Palmborg, C., Pereira, J.S., Siamantziouras, A.S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Schmid, B. & Loreau, M. (2010) General stabilizing effects of plant diversity on grassland productivity through population asynchrony and overyielding. *Ecology*, 91, 2213–2220.
- Hector, A., Joshi, J., Lawler, S., Spehn, E.M. & Wilby, A. (2001) Conservation implications of the link between biodiversity and ecosystem functioning. *Oecologia*, **129**, 624–628.
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Hogberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Korner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A. & Read, D.J. (1999) Plant diversity and productivity experiments in european grasslands. *Science (New York, N.Y.)*, 286, 1123–1127.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G. & Carrington, E. (2005) Biophysics, physiological ecology, and climate change: does mechanism matter? *Annual Review of Physiology*, **67**, 177–201.
- Hernandez, P. & Picon-Cochard, C. (2016) Presence of Trifolium repens Promotes Complementarity of Water Use and N Facilitation in Diverse Grass Mixtures. *Frontiers in Plant Science*, **7**, 538.

- Hoekstra, N.J., Suter, M., Finn, J.A., Husse, S. & Lüscher, A. (2014) Do belowground vertical niche differences between deep- and shallow-rooted species enhance resource uptake and drought resistance in grassland mixtures? *Plant and Soil*.
- Hofer, D., Suter, M., Haughey, E., Finn, J.A., Hoekstra, N.J., Buchmann, N. & Lüscher, A. (2016) Yield of temperate forage grassland species is either largely resistant or resilient to experimental summer drought. *Journal of Applied Ecology*, 53, 1023– 1034.
- Holling, C.S. (1973) Resilience and Stability of Ecological Systems. Annual Review of Ecology and Systematics, 4, 1–23.
- Holling, C.S. (1996) Engineering resilience versus ecological resilience. Engineering Within Ecological Constraints, National Academies Press, pp. 31–44. P. Schulze, Washington, D.C.
- Hooper, D.U. (1998) The role of complementarity and competition in ecosystem responses to variation in plant diversity. *Ecology*, **79**, 704–719.
- 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.
- Hopkins, A. & Holz, B. (2005) Grassland for agriculture and nature conservation: production, quality and multi-functionality. *Integrating efficient grassland farming and biodiversity. Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation*, pp. 15–29. Estonian Grassland Society.
- Huston, M.A., Aarssen, L.W., Austin, M.P., Cade, B.S., Fridley, J.D., Garnier, E., Grime, J.P., Hodgson, J., Lauenroth, W.K., Thompson, K., Vandermeer, J.H. & Wardle, D.A. (2000) No consistent effect of plant diversity on productivity. *Science (New York, N.Y.)*, 289, 1255.
- Huston, M.A. & McBride, A.C. (2002) Evaluating the Relative Strengths of Biotic Versus Abiotic Controls on Ecosystem Processes., p. Oxford University Press.
- Huyghe, C. (2009) Changes in the pastures and forage crops in France, and their conditions of cultivation and utilization during the past fifty years. *Fourrages*, 407–428.
- Illius, A.W. & O'Connor, T.G. (1999) On the relevance of nonequilibrium concepts to arid and semiarid grazing systems. *Ecological applications : a publication of the Ecological Society of America*.

INA P-G. (2003) Les prairies.

IPCC, 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.

- Isbell, F., Craven, D., Connolly, J., Loreau, M., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Bezemer, T.M., Bonin, C., Bruelheide, H., de Luca, E., Ebeling, A., Griffin, J.N., Guo, Q., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Manning, P., Meyer, S.T., Mori, A.S., Naeem, S., Niklaus, P.A., Polley, H.W., Reich, P.B., Roscher, C., Seabloom, E.W., Smith, M.D., Thakur, M.P., Tilman, D., Tracy, B.F., van der Putten, W.H., van Ruijven, J., Weigelt, A., Weisser, W.W., Wilsey, B. & Eisenhauer, N. (2015) Biodiversity increases the resistance of ecosystem productivity to climate extremes. *Nature*, **526**, 574–577.
- Ives, A.R. & Carpenter, S.R. (2007) Stability and Diversity of Ecosystems. *Science*, **317**, 58–62.
- Jentsch, A., Kreyling, J., Elmer, M., Gellesch, E., Glaser, B., Grant, K., Hein, R., Lara, M., Mirzae, H., Nadler, S.E., Nagy, L., Otieno, D., Pritsch, K., Rascher, U., Schädler, M., Schloter, M., Singh, B.K., Stadler, J., Walter, J., Wellstein, C., Wöllecke, J. & Beierkuhnlein, C. (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689–702.
- Jones, M.M., Turner, N.C. & Osmond, C.B. (1981) Mechanisms of drought resistance. *The physiology and biochemistry of drought resistance in Plants*, pp. 15–37. Paleg LG, Aspinall D.
- Jung, V., Albert, C.H., Violle, C., Kunstler, G., Loucougaray, G. & Spiegelberger, T. (2014) Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events. *Journal of Ecology*, **102**, 45–53.
- Kahmen, A., Perner, J. & Buchmann, N. (2005) Diversity-dependent productivity in seminatural grasslands following climate perturbations. *Functional Ecology*, **19**, 594–601.
- Kahmen, A., Renker, C., Unsicker, S.B. & Buchmann, N. (2006) Niche complementarity for nitrogen: an explanation for the biodiversity and ecosystem functioning relationship? *Ecology*, 87, 1244–1255.
- Kang, S., Ma, W., Li, F.Y., Zhang, Q., Niu, J., Ding, Y., Han, F. & Sun, X. (2015) Functional Redundancy Instead of Species Redundancy Determines Community Stability in a Typical Steppe of Inner Mongolia. *PloS One*, **10**, e0145605.
- Kawai, T. & Tokeshi, M. (2007) Testing the facilitation–competition paradigm under the stress-gradient hypothesis: decoupling multiple stress factors. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **274**, 2503–2508.
- Khan, M.A.S.A., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Kreyling, J. & Jentsch, A. (2014) Climatic extremes lead to species-specific legume facilitation in an experimental temperate grassland. *Plant and Soil*, **379**, 161–175.
- Kikvidze, Z. (1996) Neighbour interaction and stability in subalpine meadow communities. *Journal of Vegetation Science*, **7**, 41–44.
- Klimešová, J. & Klimeš, L. (2007) Bud banks and their role in vegetative regeneration A literature review and proposal for simple classification and assessment. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **8**, 115–129.

- Knapp, A.K., Briggs, J.M. & Koelliker, J.K. (2001) Frequency and extent of water limitation to primary production in a mesic temperate grassland. *Ecosystems*, **4**, 19–28.
- Knapp, A. & Smith, M.D. (2001) Variation among biomes in temporal dynamics of aboveground primary production. *Science*, **291**, 481–484.
- Kohler, C., Morvan-Bertrand, A., Cliquet, J.B. & Lemauviel-Lavenant, S. (2013) Aggregated plant functional traits as affected by management practices impact on C stocks in temperate grasslands. *The role of grasslands in a green future: threats and perspectives in less favoured areas*, pp. 73–75. Helgadóttir, Á.; Hopkins, A., Akureyri, Iceland.
- Kreyling, J., Jentsch, A. & Beierkuhnlein, C. (2011) Stochastic trajectories of succession initiated by extreme climatic events. *Ecology Letters*, **14**, 758–764.
- Kreyling, J., Thiel, D., Simmnacher, K., Willner, E., Jentsch, A. & Beierkuhnlein, C. (2012) Geographic origin and past climatic experience influence the response to late spring frost in four common grass species in central Europe. *Ecography*, **35**, 268–275.
- Kreyling, J., Wenigmann, M., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2008) Effects of Extreme Weather Events on Plant Productivity and Tissue Die-Back are Modified by Community Composition. *Ecosystems*, **11**, 752–763.
- van der Krift, T.A.J., Kuikman, P.J., Möller, F. & Berendse, F. (2001) Plant species and nutritional-mediated control over rhizodeposition and root decomposition. *Plant and Soil*, **228**, 191–200.
- Küchenmeister, F., Küchenmeister, K., Wrage, N., Kayser, M. & Isselstein, J. (2012) Yield and yield stability in mixtures of productive grassland species: Does species number or functional group composition matter? *Grassland Science*, **58**, 94–100.
- Kuijper, D.P.J., Dubbeld, J. & Bakker, J.P. (2004) Competition between two grass species with and without grazing over a productivity gradient. *Plant Ecology*, **179**, 237–246.
- Kulkarni, M., Borse, T. & Chaphalkar, S. (2008) Mining anatomical traits: a novel modelling approach for increased water use efficiency under drought conditions in plants. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding UZPI (Czech Republic).*
- Kutschera, L., Lichtenegger, E. & Sobotik, M. (1992) Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen: Morphologie, Anatomie, Ökologie, Verbreitung, Soziologie, Wirtschaft. Gustav Fischer.
- Lambers, J.H.R., Harpole, W.S., Tilman, D., Knops, J. & Reich, P.B. (2004) Mechanisms responsible for the positive diversity–productivity relationship in Minnesota grasslands. *Ecology Letters*, **7**, 661–668.
- Lambers, H., Chapin III, F.S. & Pons, T.L. (1998) *Plant Physiological Ecology*. Springer Science & Business Media.
- Lane, D.R., Coffin, D.P. & Lauenroth, W.K. (2000) Changes in grassland canopy structure across a precipitation gradient. *Journal of Vegetation Science*, **11**, 359–368.

- Lattanzi, F.A., Schnyder, H. & Thornton, B. (2004) Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 347–356.
- Lauenroth, W.K. & Aguilera, M.O. (1998) Plant?plant interactions in grasses and grasslands. *Population Biology of Grasses*, p. Cambridge University Press.
- Lavorel, S. & Garnier, E. (2002) Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology*, 16, 545–556.
- Lavorel, S., McIntyre, S., Landsberg, J. & Forbes, T.D.A. (1997) Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**, 474–478.
- Le Bagousse-Pinguet, Y., Börger, L., Quero, J.-L., García-Gómez, M., Soriano, S., Maestre, F.T. & Gross, N. (2015) Traits of neighbouring plants and space limitation determine intraspecific trait variability in semi-arid shrublands. *Journal of Ecology*, **103**, 1647– 1657.
- Leadley, P., Pereira, H.M., Alkemade, R., Fernandez-Manjarrés, J.F., Proença, V., Scharlemann, J.P.W. & Walpole, M.J. (2010) *Biodiversity Scenarios: Projections of* 21st Century Change in Biodiversity, and Associated Ecosystem Services : A Technical Report for the Global Biodiversity Outlook 3, Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal. UNEP/Earthprint.
- Lee, T.D., Reich, P.B. & Tjoelker, M.G. (2003) Legume presence increases photosynthesis and N concentrations of co-occurring non-fixers but does not modulate their responsiveness to carbon dioxide enrichment. *Oecologia*, **137**, 22–31.
- Lehner, B., Döll, P., Alcamo, J., Henrichs, T. & Kaspar, F. (2006) Estimating the Impact of Global Change on Flood and Drought Risks in Europe: A Continental, Integrated Analysis. *Climatic Change*, **75**, 273–299.
- Lei, T., Wu, J., Li, X., Geng, G., Shao, C., Zhou, H., Wang, Q. & Liu, L. (2015) A new framework for evaluating the impacts of drought on net primary productivity of grassland. *Science of The Total Environment*, **536**, 161–172.
- Lelièvre, F., Seddaiu, G., Ledda, L., Porqueddu, C. & Volaire, F. (2011) Water use efficiency and drought survival in Mediterranean perennial forage grasses. *Field Crops Research*, **121**, 333–342.
- Lenth, R.V. (2016) Least-Squares Means: The R Package Ismeans. *Journal of Statistical Software*, **69**, 1–33.
- Levine, J.M. & Lambers, J. (2009) The importance of niches for the maintenance of species diversity. *Nature*, **461**, 254–257.
- Levitt, J. (1980) Responses of Plants to Environmental Stress, 2nd Edition, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses., 497 pp.

- Liancourt, P., Boldgiv, B., Song, D.S., Spence, L.A., Helliker, B.R., Petraitis, P.S. & Casper, B.B. (2015) Leaf-trait plasticity and species vulnerability to climate change in a Mongolian steppe. *Global Change Biology*, **21**, 3489–3498.
- Liira, J. & Zobel, K. (2000) The species richness-biomass relationship in herbaceous plant communities: what difference does the incorporation of root biomass data make? *Oikos*, **91**, 109–114.
- Litrico, I., Barkaoui, K., Barradas, A., Barre, P., Béguier, V., Birouste, M., Bristiel, P., Crespo, D.G., Deleglise, C., Durand, J.L., Fernandez, L., Gastal, F., Ghesquière, M., Godinho, B., Hernandez, P., Julier, B., Louarn, G., Meisser, M., Mosimann, E., Picon-Cochard, C., Roumet, C. & Volaire, F. (2016) Utiliser les mélanges fourragers pour s'adapter au changement climatique : opportunités et défis. *Fourrages*, 11–10.
- Loreau, M. (1998) Separating Sampling and Other Effects in Biodiversity Experiments. *Oikos*, **82**, 600–602.
- Loreau, M. (2000) Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, **91**, 3–17.
- Loreau, M. (2010) Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 49–60.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, **412**, 72–76.
- Loreau, M. & de Mazancourt, C. (2013) Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecology Letters*, **16 Suppl 1**, 106–115.
- 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*, **294**, 804–808.
- Loreau, M., Sapijanskas, J., Isbell, F. & Hector, A. (2012) Niche and fitness differences relate the maintenance of diversity to ecosystem function: comment. *Ecology*, **93**, 1482-1487-1491.
- 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.
- Lortie, C.J. & Callaway, R.M. (2006) Re-analysis of meta-analysis: support for the stressgradient hypothesis. *Journal of Ecology*, **94**, 7–16.
- Louault, F., Pillar, V. d., Aufrère, J., Garnier, E. & Soussana, J.-F. (2005) Plant traits and functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *Journal of Vegetation Science*, **16**, 151–160.
- Lüscher, A., Mueller-Harvey, I., Soussana, J.F., Rees, R.M. & Peyraud, J.L. (2014) Potential of legume-based grassland–livestock systems in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, **69**, 206–228.

- Macek, P., Prieto, I., Macková, J., Pistón, N. & Pugnaire, F.I. (2016) Functional Plant Types Drive Plant Interactions in a Mediterranean Mountain Range. *Frontiers in Plant Science*, **7**.
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F. & Lortie, C.J. (2009) Refining the stressgradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology*, **97**, 199–205.
- Maestre, F.T., Valladares, F. & Reynolds, J.F. (2005) Is the change of plant–plant interactions with abiotic stress predictable? A meta-analysis of field results in arid environments. *Journal of Ecology*, **93**, 748–757.
- Maestre, F.T., Valladares, F. & Reynolds, J.F. (2006) The stress-gradient hypothesis does not fit all relationships between plant–plant interactions and abiotic stress: further insights from arid environments. *Journal of Ecology*, **94**, 17–22.
- Maire, V. (2009) Des Traits Des Graminées Au Fonctionnement de L'écosystème Prairial : Une Approche de Modélisation Mécaniste. Clermont-Ferrand 2.
- Mariotte, P., Vandenberghe, C., Kardol, P., Hagedorn, F. & Buttler, A. (2013) Subordinate plant species enhance community resistance against drought in semi-natural grasslands. *Journal of Ecology*, **101**, 763–773.
- Marquard, E., Weigelt, A., Temperton, V.M., Roscher, C., Schumacher, J., Buchmann, N., Fischer, M., Weisser, W.W. & Schmid, B. (2009) Plant species richness and functional composition drive overyielding in a six-year grassland experiment. *Ecology*, 90, 3290–3302.
- Marshall, J.K. (1977) Biomass and production partitioning in response to environment in some North American grasslands. *Belowground Ecosystem Symposium : A Synthesis* of Plant Associated Processes, Range Science Series, pp. 73–84. Marshall, J K, Colorado State Univ.
- de Mazancourt, C., Isbell, F., Larocque, A., Berendse, F., De Luca, E., Grace, J.B., Haegeman, B., Wayne Polley, H., Roscher, C., Schmid, B., Tilman, D., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B.J. & Loreau, M. (2013) Predicting ecosystem stability from community composition and biodiversity. *Ecology Letters*, 16, 617–625.
- Mazerolle, M.J. (2016) AICcmodavg: Model Selection and Multimodel Inference Based on (Q)AIC(c).
- Meehl, G.A. & Tebaldi, C. (2004) More Intense, More Frequent, and Longer Lasting Heat Waves in the 21st Century. *Science*, **305**, 994–997.
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Zikvidze, 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.
- Michalet, R., Le Bagousse-Pinguet, Y., Maalouf, J.-P. & Lortie, C.J. (2014) Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. *Journal of Vegetation Science*, **25**, 609–613.

- Mikkelsen, T.N., Beier, C., Jonasson, S., Holmstrup, M., Schmidt, I.K., Ambus, P., Pilegaard, K., Michelsen, A., Albert, K., Andresen, L.C., Arndal, M.F., Bruun, N., Christensen, S., Danbæk, S., Gundersen, P., Jørgensen, P., Linden, L.G., Kongstad, J., Maraldo, K., Priemé, A., Riis-Nielsen, T., Ro-Poulsen, H., Stevnbak, K., Selsted, M.B., Sørensen, P., Larsen, K.S., Carter, M.S., Ibrom, A., Martinussen, T., Miglietta, F. & Sverdrup, H. (2008) Experimental design of multifactor climate change experiments with elevated CO2, warming and drought: the CLIMAITE project. *Functional Ecology*, 22, 185–195.
- Milbau, A., Scheerlinck, L., Reheul, D., De Cauwer, B. & Nijs, I. (2005) Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. *Physiologia Plantarum*, **125**, 500–512.
- Minns, A., Finn, J., Hector, A., Caldeira, M., Joshi, J., Palmborg, C., Schmid, B., Scherer-Lorenzen, M., Spehn, E. & Troumbis, A. (2001) The functioning of European grassland ecosystems: potential benefits of biodiversity to agriculture. *Outlook on Agriculture*, **30**, 179–185.
- Mommer, L., van Ruijven, J., Jansen, C., van de Steeg, H.M. & de Kroon, H. (2012) Interactive effects of nutrient heterogeneity and competition: implications for root foraging theory? *Functional Ecology*, **26**, 66–73.
- Mommer, L., Van Ruijven, J., De Caluwe, H., Smit-Tiekstra, A.E., Wagemaker, C.A.M., Joop Ouborg, N., Bögemann, G.M., Van Der Weerden, G.M., Berendse, F. & De Kroon, H. (2010) Unveiling below-ground species abundance in a biodiversity experiment: a test of vertical niche differentiation among grassland species. *Journal of Ecology*, 98, 1117–1127.
- Mommer, L., Wagemaker, C. a. M., De Kroon, H. & Ouborg, N.J. (2008) Unravelling belowground plant distributions: a real-time polymerase chain reaction method for quantifying species proportions in mixed root samples. *Molecular Ecology Resources*, 8, 947–953.
- Moore, K.J. (2003) Compendium of Common Forages. *Forages: an introduction to grassland agriculture*, Iowa State University Press, pp. 237–238. RF Barnes, CJ Nelson, M Collins and KJ Moore, Ames, IA.
- Mueller, K.E., Tilman, D., Fornara, D.A. & Hobbie, S.E. (2013) Root depth distribution and the diversity-productivity relationship in a long-term grassland experiment. *Ecology*, 94, 787–793.
- Munné-Bosch, S. & Alegre, L. (2004) Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, **31**, 203–216.
- Naudts, K., Van den Berge, J., Janssens, I.A., Nijs, I. & Ceulemans, R. (2011) Does an extreme drought event alter the response of grassland communities to a changing climate? *Environmental and Experimental Botany*, **70**, 151–157.
- Niklaus, P.A., Leadley, P.W., Schmid, B. & Körner, C. (2001) A long-term field study on biodiversity × elevated co2 interactions in grassland. *Ecological Monographs*, **71**, 341–356.

- Nippert, J.B. & Holdo, R.M. (2015) Challenging the maximum rooting depth paradigm in grasslands and savannas. *Functional Ecology*, **29**, 739–745.
- Nippert, J.B. & Knapp, A.K. (2007) Soil water partitioning contributes to species coexistence in tallgrass prairie. *Oikos*, **116**, 1017–1029.
- Nyfeler, D., Huguenin-Elie, O., Suter, M., Frossard, E., Connolly, J. & Lüscher, A. (2009) Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding. *Journal of Applied Ecology*, **46**, 683–691.
- Nyfeler, D., Huguenin-Elie, O., Suter, M., Frossard, E. & Lüscher, A. (2011) Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **140**, 155–163.
- Oliver, T.H., Heard, M.S., Isaac, N.J.B., Roy, D.B., Procter, D., Eigenbrod, F., Freckleton, R., Hector, A., Orme, C.D.L., Petchey, O.L., Proença, V., Raffaelli, D., Suttle, K.B., Mace, G.M., Martín-López, B., Woodcock, B.A. & Bullock, J.M. (2015) Biodiversity and Resilience of Ecosystem Functions. *Trends in Ecology & Evolution*, **30**, 673–684.
- Parrish, J. a. D. & Bazzaz, F.A. (1976) Underground Niche Separation in Successional Plants. *Ecology*, **57**, 1281–1288.
- Pärtel, M., Bruun, H.H. & Sammul, M. (2005) Biodiversity in temperate European grasslands: origin and conservation. *Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity: Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation*, pp. 1–14.
- Paruelo, J.M., Lauenroth, W.K., Burke, I.C. & Sala, O.E. (1999) Grassland Precipitation-Use Efficiency Varies Across a Resource Gradient. *Ecosystems*, **2**, 64–68.
- van Peer, L., Nijs, I., Reheul, D. & De Cauwer, B. (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. *Functional Ecology*, **18**, 769–778.
- Peña-Cabriales, J.J. & Castellanos, J.Z. (1993) Effects of water stress on N2 fixation and grain yield of Phaseolus vulgaris L. *Plant and Soil*, **152**, 151–155.
- Pérez-Ramos, I.M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A. & Roumet, C. (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 126–136.
- Peyraud, J.L., Le Gall, A. & Luscher, A. (2009) Potential food production from forage legume-based-systems in Europe: an overview.
- Pfisterer, A.B. & Schmid, B. (2002) Diversity-dependent production can decrease the stability of ecosystem functioning. *Nature*, **416**, 84–86.
- Pillar, V.D., Blanco, C.C., Müller, S.C., Sosinski, E.E., Joner, F. & Duarte, L.D.S. (2013) Functional redundancy and stability in plant communities. *Journal of Vegetation Science*, 24, 963–974.

- Pimm, S.L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., EISPACK authors, Heisterkamp, S., Van Willigen, B. & R-core. (2016) *Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.
- Pinheiro, C. & Chaves, M.M. (2011) Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*, **62**, 869–882.
- Plantureux, S., Pottier, J. & Carrère, P. (2012) La prairie permanente : nouveaux enjeux, nouvelles définitions ? *Fourrages*, 181–193.
- Poirier, M., Durand, J.-L. & Volaire, F. (2012) Persistence and production of perennial grasses under water deficits and extreme temperatures: importance of intraspecific vs. interspecific variability. *Global Change Biology*, **18**, 3632–3646.
- Polley, H.W. (1997) Implications of rising atmospheric carbon dioxide concentration for rangelands. *Journal of Range Management*, 561–577.
- Polley, H.W., Isbell, F.I. & Wilsey, B.J. (2013) Plant functional traits improve diversity-based predictions of temporal stability of grassland productivity. *Oikos*, **122**, 1275–1282.
- Pontes, L. da S., Louault, F., Carrère, P., Maire, V., Andueza, D. & Soussana, J.-F. (2010) The role of plant traits and their plasticity in the response of pasture grasses to nutrients and cutting frequency. *Annals of Botany*, **105**, 957–965.
- Pontes, L. da S., Maire, V., Louault, F., Soussana, J.-F. & Carrère, P. (2011) Impacts of species interactions on grass community productivity under contrasting management regimes. *Oecologia*, 168, 761–771.
- Prechsl, U.E., Burri, S., Gilgen, A.K., Kahmen, A. & Buchmann, N. (2014) No shift to a deeper water uptake depth in response to summer drought of two lowland and subalpine C3-grasslands in Switzerland. *Oecologia*, **177**, 97–111.
- Rachmilevitch, S., DaCosta, M. & Huang, B. (2006) Physiological and Biochemical Indicators for Stress Tolerance. *Plant-Environment Interactions, Third Edition* (ed B. Huang), pp. 321–355. CRC Press.
- Rackham, O. (1986) The History of the Countryside. Phoenix, London.
- Ravenek, J.M., Bessler, H., Engels, C., Scherer-Lorenzen, M., Gessler, A., Gockele, A., De Luca, E., Temperton, V.M., Ebeling, A., Roscher, C., Schmid, B., Weisser, W.W., Wirth, C., de Kroon, H., Weigelt, A. & Mommer, L. (2014) Long-term study of root biomass in a biodiversity experiment reveals shifts in diversity effects over time. *Oikos*, 123, 1528–1536.
- Reich, P.B., Knops, J., Tilman, D., Craine, J., Ellsworth, D., Tjoelker, M., Lee, T., Wedin, D., Naeem, S., Bahauddin, D., Hendrey, G., Jose, S., Wrage, K., Goth, J. & Bengston, W. (2001) Plant diversity enhances ecosystem responses to elevated CO2 and nitrogen deposition. *Nature*, **410**, 809–812.

- Reich, P.B., Wright, I.J., Cavender-Bares, J., Craine, J.M., Oleksyn, J., Westoby, M. & Walters, M.B. (2003) The Evolution of Plant Functional Variation: Traits, Spectra, and Strategies. *International Journal of Plant Sciences*, **164**, S143–S164.
- Reyer, C.P.O., Leuzinger, S., Rammig, A., Wolf, A., Bartholomeus, R.P., Bonfante, A., de Lorenzi, F., Dury, M., Gloning, P., Abou Jaoudé, R., Klein, T., Kuster, T.M., Martins, M., Niedrist, G., Riccardi, M., Wohlfahrt, G., de Angelis, P., de Dato, G., François, L., Menzel, A. & Pereira, M. (2013) A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. *Global Change Biology*, 19, 75–89.
- Rice, C.W., Todd, T.C., Blair, J.M., Seastedt, T., Ramundo, R.A. & Wilson, G.W.T. (1998) Belowground biology and processes. *Grassland dynamics: long-term ecological research in tallgrass prairie*, Oxford University Press, pp. 244–264. AK Knapp, JM Briggs, DC Hartnett and SL Collins, Nex York.
- Rooijen, N.M. van, Keersmaecker, W. de, Ozinga, W.A., Coppin, P., Hennekens, S.M., Schaminée, J.H.J., Somers, B. & Honnay, O. (2015) Plant Species Diversity Mediates Ecosystem Stability of Natural Dune Grasslands in Response to Drought. *Ecosystems*, 18, 1383–1394.
- Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., Schmid,
 B. & Schulze, E.-D. (2012) Using Plant Functional Traits to Explain Diversity– Productivity Relationships. *PLoS ONE*, 7, e36760.
- Roscher, C., Schumacher, J., Schmid, B. & Schulze, E.-D. (2015) Contrasting Effects of Intraspecific Trait Variation on Trait-Based Niches and Performance of Legumes in Plant Mixtures. *PLOS ONE*, **10**, e0119786.
- Roumet, C., Urcelay, C. & Díaz, S. (2006) Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist*, **170**, 357–368.
- van Ruijven, J. & Berendse, F. (2005) Diversity-productivity relationships: initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 695–700.
- van Ruijven, J. & Berendse, F. (2010) Diversity enhances community recovery, but not resistance, after drought. *Journal of Ecology*, **98**, 81–86.
- Rumbaugh, M.D. (1990) Special Purpose Forage Legumes. *Advances in new crops*, Timber Press, pp. 183–190. J. Janick and J.E. Simon, Portland, OR.
- Rumbaugh, M.D., Johnson, D.A. & Van Epps, G.A. (1982) Forage yield and quality in a great basin shrub, grass, and legume pasture experiment [Utah, semiarid rangeland]. *Journal of Range Management (USA)*.
- Sadras, V.O. (2005) A quantitative top-down view of interactions between stresses: theory and analysis of nitrogen–water co-limitation in Mediterranean agro-ecosystems. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 1151–1157.
- Sala, O.E. & Paruelo, J.M. (1997) Ecosystem services in grasslands. Nature's Services: Societal Dependence on Natural Ecosystems, Island Press, pp. 237–252. G. C. Daily, Washington, D.C.

- Sanderson, M.A., Skinner, R.H., Barker, D.J., Edwards, G.R., Tracy, B.F. & Wedin, D.A. (2004) Plant species diversity and management of temperate forage and grazing land ecosystems. *Crop Science*, **44**, 1132–1144.
- Scheffer, M., Bascompte, J., Brock, W.A., Brovkin, V., Carpenter, S.R., Dakos, V., Held, H., van Nes, E.H., Rietkerk, M. & Sugihara, G. (2009) Early-warning signals for critical transitions. *Nature*, **461**, 53–59.
- Schenk, H.J. (2008) The Shallowest Possible Water Extraction Profile: A Null Model for Global Root Distributions. *Vadose Zone Journal*, **7**, 1119.
- Schenk, H.J. & Jackson, R.B. (2002) The global biogeography of roots. *Ecological Monographs*, 72, 311–328.
- Schippers, P. & Kropff, M.J. (2001) Competition for light and nitrogen among grassland species: a simulation analysis. *Functional Ecology*, **15**, 155–164.
- Schmid, B. (2002) The species richness-productivity controversy. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 113–114.
- Schulze, E.-D., Robichaux, R.H., Grace, J., Rundel, P.W. & Ehleringer, J.R. (1987) Plant Water Balance. *BioScience*, **37**, 30–37.
- Seneviratne, S.I., Nicholls, N., Easterling, D., Goodess, C.M., Kanae, S., Kossin, J., Luo, Y., Marengo, J., McInnes, K., Rahimi, M., Reichstein, M., Sorteberg, A., Vera, C., Zhang, X., Rusticucci, M., Semenov, V., Alexander, L.V., Allen, S., Benito, G., Cavazos, T., Clague, J., Conway, D., Della-Marta, P.M., Gerber, M., Gong, S., Goswami, B.N., Hemer, M., Huggel, C., Hurk, B. van den, Kharin, V.V., Kitoh, A., Tank, A.M.G.K., Li, G., Mason, S., McGuire, W., Oldenborgh, G.J. van, Orlowsky, B., Smith, S., Thiaw, W., Velegrakis, A., Yiou, P., Zhang, T., Zhou, T. & Zwiers, F.W. (2012) Changes in Climate Extremes and their Impacts on the Natural Physical Environment. *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation*, p. Cambridge University Press.
- Serraj, R., Sinclair, T.R. & Purcell, L.C. (1999) Symbiotic N2 fixation response to drought. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 143–155.
- Sharifi, M.R. (1983) The effects of water and nitrogen supply on the competition between three perennial meadow grasses. *Acta Oecologica, Oecologia Plantarum*, **4**, 71–82.
- Shinoda, M., Nachinshonhor, G.U. & Nemoto, M. (2010) Impact of drought on vegetation dynamics of the Mongolian steppe: A field experiment. *Journal of Arid Environments*, 74, 63–69.
- Silvertown, J., Dodd, M.E., McConway, K., Potts, J. & Crawley, M. (1994) Rainfall, Biomass Variation, and Community Composition in the Park Grass Experiment. *Ecology*, **75**, 2430–2437.
- Silvertown, J., Dodd, M.E., Gowing, D.J.G. & Mountford, J.O. (1999) Hydrologically defined niches reveal a basis for species richness in plant communities. *Nature*, **400**, 61–63.

- Skeel, V.A. & Gibson, D.J. (1998) Photosynthetic rates and vegetative production of Sorghastrum nutans in response to competition at two strip mines and a railroad prairie. *Photosynthetica*, 35, 139–149.
- Skinner, R.H. (2008) Yield, Root Growth, and Soil Water Content in Drought-Stressed Pasture Mixtures Containing Chicory. *Crop Science*, **48**, 380–388.
- Skinner, R.H. & Comas, L.H. (2010) Root Distribution of Temperate Forage Species Subjected to Water and Nitrogen Stress. *Crop science*, **50**, 2178–2185.
- Skinner, R.H., Gustine, D.L. & Sanderson, M.A. (2004) Growth, water relations, and nutritive value of pasture species mixtures under moisture stress. *Crop Science*, **44**, 1361–1369.
- Skinner, R.H., Hanson, J.D. & Benjamin, J.G. (1998) Root distribution following spatial separation of water and nitrogen supply in furrow irrigated corn. *Plant and Soil*, **199**, 187–194.
- Skinner, R.H., Sanderson, M.A., Tracy, B.F. & Dell, C.J. (2006) Above- and Belowground Productivity and Soil Carbon Dynamics of Pasture Mixtures. *Agronomy Journal*, **98**, 320.
- Smith, M.D. (2011a) The ecological role of climate extremes: current understanding and future prospects. *Journal of Ecology*, **99**, 651–655.
- Smith, M.D. (2011b) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *Journal of Ecology*, **99**, 656–663.
- Soetaert, K. (2010) *R Package FME: Inverse Modelling, Sensitivity, Monte Carlo Applied* to a Dynamic Simulation Model.
- Soetaert, K., Petzoldt, T. & Setzer, R.W. (2010) Solving Differential Equations in R: Package deSolve. *Journal of Statistical Software*, **33**, 1–25.
- Soussana, J.F., Dähring, H., Fontaine, S., Gross, N., Maire, V., Pagès, L., Picon-Cochard, C., Pontes, L.S., Reinhold, T. & Wirth, C. (2008) Modélisation des relations entre la diversité et le fonctionnement de couverts prairiaux à flore complexe. *Fourrages*, 259–274.
- Spehn, E.M., Joshi, J., Schmid, B., Alphei, J. & Körner, C. (2000) Plant diversity effects on soil heterotrophic activity in experimental grassland ecosystems. *Plant and Soil*, **224**, 217–230.
- Spehn, E.M., Hector, A., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Bazeley-White, E., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högberg, P., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Koricheva, J., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Palmborg, C., Pereira, J.S., Pfisterer, A.B., Prinz, A., Read, D.J., Schulze, E.-D., Siamantziouras, A.-S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S. & Lawton, J.H. (2005) Ecosystem effects of biodiversity manipulations in european grasslands. *Ecological Monographs*, 75, 37–63.

- Spehn, E.M., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Hector, A., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Jumpponen, A., O'Donnovan, 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.S., Stiller, V. & Hacke, U.G. (2002) Soil water uptake and water transport through root systems. *Books in Soils, Plants, and the Environment Series*, 663–681.
- St. Clair, S.B., Sudderth, E.A., Fischer, M.L., Torn, M.S., Stuart, S.A., Salve, R., Eggett, D.L. & Ackerly, D.D. (2009) Soil drying and nitrogen availability modulate carbon and water exchange over a range of annual precipitation totals and grassland vegetation types. *Global Change Biology*, 15, 3018–3030.
- Stampfli, A. & Zeiter, M. (2004) Plant regeneration directs changes in grassland composition after extreme drought: a 13-year study in southern Switzerland. *Journal of Ecology*, 92, 568–576.
- Stampfli, A. & Zeiter, M. (2008) Mechanisms of structural change derived from patterns of seedling emergence and mortality in a semi-natural meadow. *Journal of Vegetation Science*, 19, 563–574.
- Su, K., Bremer, D.J., Keeley, S.J. & Fry, J.D. (2008) Rooting Characteristics and Canopy Responses to Drought of Turfgrasses Including Hybrid Bluegrasses. Agronomy Journal, 100, 949.
- Suding, K.N., Lavorel, S., Chapin, F.S., Cornelissen, J.H.C., Díaz, S., Garnier, E., Goldberg, D., Hooper, D.U., Jackson, S.T. & Navas, M.-L. (2008) Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology*, 14, 1125–1140.
- Suter, M., Connolly, J., Finn, J.A., Loges, R., Kirwan, L., Sebastià, M.-T. & Lüscher, A. (2015) Nitrogen yield advantage from grass-legume mixtures is robust over a wide range of legume proportions and environmental conditions. *Global Change Biology*, 21, 2424–2438.
- Suttle, K.B., Thomsen, M.A. & Power, M.E. (2007) Species Interactions Reverse Grassland Responses to Changing Climate. *Science*, **315**, 640–642.
- Swemmer, A.M., Knapp, A.K. & Snyman, H.A. (2007) Intra-seasonal precipitation patterns and above-ground productivity in three perennial grasslands. *Journal of Ecology*, **95**, 780–788.
- Temperton, V.M., Mwangi, P.N., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B. & Buchmann, N. (2007) Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment. *Oecologia*, **151**, 190–205.
- Thomas, H. (1980) Terminology and definitions in studies of grassland plants. *Grass and Forage Science*, **35**, 13–23.

- Thompson, K., Askew, A.P., Grime, J.P., Dunnett, N.P. & Willis, A.J. (2005) Biodiversity, ecosystem function and plant traits in mature and immature plant communities. *Functional Ecology*, **19**, 355–358.
- Thompson, K., Bakker, J.P. & Bekker, R.M. (1997) *The Soil Seed Banks of North West Europe: Methodology, Density and Longevity*, Cambridge University Press.
- Tilman, D. (1982) Resource competition and community structure. *Monographs in Population Biology*, **17**, 1–296.
- Tilman, D. (1996) Biodiversity: population versus ecosystem stability. *Ecology*, 77, 350–363.
- Tilman, D. (1999) The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. *Ecology*, **80**, 1455–1474.
- Tilman, D. (2001) Effects of diversity and composition on grassland stability and productivity. *Ecology: Achievement and Challenge*, British Ecological Society Symp. Vol. Ser. 41, Blackwell Science, Cambridge University Press, pp. 183–207. M. C. Press, N. J. Huntly, S. A. Levin, Oxford.
- Tilman, D. & Downing, J.A. (1994) Biodiversity and stability in grasslands. *Nature*, **367**, 363–365.
- Tilman, D. & Haddi, A.E. (1992) Drought and biodiversity in Grasslands. *Oecologia*, **89**, 257–264.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M. (2014) Biodiversity and Ecosystem Functioning. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 45, 471–493.
- Tilman, D., Lehman, C.L. & Thomson, K.T. (1997) Plant diversity and ecosystem productivity: theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 1857–1861.
- Tilman, D., Reich, P.B. & Knops, J.M.H. (2006) Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, **441**, 629–632.
- Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T. & Lehman, C. (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science (New York, N.Y.)*, **294**, 843– 845.
- Tilman, D. & Wedin, D. (1991) Plant Traits and Resource Reduction For Five Grasses Growing on a Nitrogen Gradient. *Ecology*, **72**, 685–700.
- 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.
- Turkington, R., Hamilton, R.S. & Gliddon, C. (1991) Within-population variation in localized and integrated responses of Trifolium repens to biotically patchy environments. *Oecologia*, 86, 183–192.

- Vartanian, N. (1981) Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems. *Plant and Soil*, **63**, 83–92.
- Verheyen, K., Bulteel, H., Palmborg, C., Olivié, B., Nijs, I., Raes, D. & Muys, B. (2008) Can complementarity in water use help to explain diversity-productivity relationships in experimental grassland plots? *Oecologia*, **156**, 351–361.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. & Zhu, J.-K. (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45, 523–539.
- Vile, D. (2005) Significations Fonctionnelle et Écologique Des Traits Des Espèces Végétales (Exemple Dans Une Succession Post-Culturale Méditerranéenne et Généralisations). Université des sciences et techniques de Montpellier 2.
- Vogel, A., Scherer-Lorenzen, M. & Weigelt, A. (2012) Grassland Resistance and Resilience after Drought Depends on Management Intensity and Species Richness. *PLoS ONE*, **7**, e36992.
- Volaire, F. (2002) Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of Dactylis glomerata. *Physiologia Plantarum*, **116**, 42–51.
- Volaire, F. (2008) Plant traits and functional types to characterise drought survival of plurispecific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy*, **29**, 116–124.
- Volaire, F., Barkaoui, K. & Norton, M. (2014) Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions. *European Journal of Agronomy*, 52, Part B, 81–89.
- Volaire, F., Norton, M.R. & Lelièvre, F. (2009) Summer Drought Survival Strategies and Sustainability of Perennial Temperate Forage Grasses in Mediterranean Areas. Crop Science, 49, 2386.
- Volaire, F., Thomas, H., Bertagne, N., Bourgeois, E., Gautier, M.-F. & Lelièvre, F. (1998a) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: II. Water status, solute accumulation, abscisic acid concentration and accumulation of dehydrin transcripts in bases of immature leaves. *New Phytologist*, 140, 451–460.
- Volaire, F., Thomas, H. & Lelièvre, F. (1998b) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New Phytologist*, **140**, 439–449.
- Walker, B. & Meyers, J.A. (2004) Thresholds in Ecological and Social–Ecological Systems: a Developing Database. *Ecology and Society*, **9**.
- Wardle, D.A., Bonner, K.I., Barker, G.M., Yeates, G.W., Nicholson, K.S., Bardgett, R.D., Watson, R.N. & Ghani, A. (1999) Plant removals in perennial grassland: vegetation dynamics, decomposers, soil biodiversity, and ecosystem properties. *Ecological Monographs*, 69, 535–568.

- Wardle, D.A., Huston, M.A., Grime, J.P., Berendse, F., Garnier, E., Lauenroth, W.K., Setälä, H. & Wilson, S.D. (2000) Biodiversity and Ecosystem Function: An Issue in Ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 81, 235–239.
- Wardle, D.A. & Peltzer, D.A. (2003) Interspecific interactions and biomass allocation among grassland plant species. *Oikos*, **100**, 497–506.
- Westoby, M., Daniel S. Falster, Angela T. Moles, Peter A. Vesk & Wright, and I.J. (2002) Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 125–159.
- White, R., Murray, S. & Rohweder, M. (2000) *Pilot Analysis of Global Ecosystems:* Grasslands Ecosystems. World Resources Institute.
- White, T.A. & Snow, V.O. (2012) A modelling analysis to identify plant traits for enhanced water-use efficiency of pasture. *Crop and Pasture Science*, **63**, 63–76.
- Whitehead, D. (2000) Nutrient Elements in Grassland: Soil-Plant-Animal Relationships., Wallingford, Oxon. CABI Publishing.
- Williams, J.R. & Diebel, P.L. (1996) The economic value of the prairie. *Prairie conservation: preserving North America's most endangered ecosystem*, Island Press, p. F. Samson and F. Knopf, Washington, DC.
- Withgott, J. (2000) Botanical Nursing From deserts to shorelines, nurse effects are receiving renewed attention. *BioScience*, **50**, 479–484.
- Worm, B., Barbier, E.B., Beaumont, N., Duffy, J.E., Folke, C., Halpern, B.S., Jackson, J.B.C., Lotze, H.K., Micheli, F., Palumbi, S.R., Sala, E., Selkoe, K.A., Stachowicz, J.J. & Watson, R. (2006) Impacts of Biodiversity Loss on Ocean Ecosystem Services. *Science*, **314**, 787–790.
- Wraith, J.M., Montana S.U., Baker, J.M. & Blake, T.K. (1995) Barley genotypes vary in the ability to rapidly resume water uptake after drought. *Montana agresearch (USA)*.
- Wright, J.P., Naeem, S., Hector, A., Lehman, C., Reich, P.B., Schmid, B. & Tilman, D. (2006) Conventional functional classification schemes underestimate the relationship with ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 9, 111–120.
- 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, Ü., 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, 821–827.
- 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.
- Yurkonis, K.A. & Meiners, S.J. (2006) Drought impacts and recovery are driven by local variation in species turnover. *Plant Ecology*, **184**, 325–336.

- Zhang, J., Nguyen, H.T. & Blum, A. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 291–302.
- Zhang, Y., Wang, Y. & Yu, S. (2014) Interspecific Neighbor Interactions Promote the Positive Diversity-Productivity Relationship in Experimental Grassland Communities. *PLOS ONE*, **9**, e111434.
- Zwicke, M. (2013) Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial. phdthesis, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II.
- Zwicke, M., Picon-Cochard, C., Morvan-Bertrand, A., Prud'homme, M.-P. & Volaire, F. (2015) What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? *Annals of Botany*, mcv037.

Cette annexe fournit des éléments supplémentaires sur la méthodologie des mesures réalisées à l'échelle des espèces et des communautés.

Évapotranspiration et efficience d'utilisation de l'eau :

L'évapotranspiration (ET, kg) du couvert est mesurée de manière continue via les balances qui enregistrent la valeur moyenne de pesées effectuées toutes les 20 secondes sur un intervalle de 15 min. Les variations de poids sont cumulées pour obtenir l'évapotranspiration à échelle journalière. Une correction est appliquée pour prendre en compte les changements de poids dus aux précipitations, à l'arrosage manuel ou à toute autre intervention. L'efficience d'utilisation de l'eau intégrée (g kg⁻¹) est calculée pour chaque période de production de biomasse par le ratio de la biomasse aérienne sur l'évapotranspiration cumulée.

Carbone et azote foliaire :

Les échantillons de feuilles non sénescentes obtenus à chaque coupe à l'échelle spécifique ont été placés à l'étuve (60 °C, 48 h) et broyés finement dans un broyeur à bille. Des souséchantillons de 1 mg ont été analysés à l'INRA de Nancy pour déterminer les teneurs en azote (%) (IsotopeCube, Elementar, Hanau, Germany), ainsi que la composition isotopique du carbone (δ^{13} C) (Isoprime 100, IsoPrime, Manchester, UK) pour les coupes du 21/05/13 (premier pic de biomasse), du 06/10/13 (fin de la saison de croissance) et du 10/06/14 (second pic de biomasse). Le δ^{13} C, exprimé avec une précision analytique de 0.2 ‰, est une méthode pour estimer l'efficience de transpiration correspondant à l'efficience d'utilisation de l'eau à l'échelle de la feuille (Blum 2009).

La quantité d'azote exportée par espèce et par période de production de biomasse (g) est calculée en multipliant la teneur en azote des limbes par la quantité de biomasse aérienne produite. L'efficience d'utilisation de l'azote (g g⁻¹) est calculée à l'échelle de l'espèce ou de la communauté par le ratio de la biomasse produite sur la quantité d'azote exportée.

SLA et LDMC :

Les SLA et LDMC de chaque espèce en monoculture et en mélanges sont déterminés avant coupe les 17/05/13 et 06/06/14, correspondant au pic de biomasse des deux saisons de

croissance. Pour ces deux dates, 12 limbes matures sont prélevés pour chaque espèce et dans chaque type de culture (soit les derniers limbes matures de deux individus par espèce et par pot). Pour chaque limbe, on détermine le poids frais et le poids à saturation en eau (limbe partiellement immergé dans l'eau et placé entre 6 et 24h en chambre froide). La surface foliaire est ensuite déterminée individuellement à l'aide d'un planimètre, puis le poids sec après 48h dans une étuve à 60°C. SLA (m² kg⁻¹) et LDMC (mg g⁻¹) sont obtenus par les formules suivantes: SLA = surface / poids sec, et LDMC = poids sec / poids frais.

Une deuxième méthode permet d'obtenir une estimation du SLA sur un sous-échantillon de la coupe du 21/05/13 et du 10/06/14 (SLA moyen). Après tri à l'espèce, environ 20% de la biomasse foliaire d'un échantillon sont passés au planimètre pour en déterminer la surface. Ce même sous-échantillon est ensuite placé à l'étuve (48h, 60°C) puis pesé pour obtention du poids sec.

Hauteur et croissance végétative :

Tout au long de l'expérimentation, plusieurs mesures de hauteurs végétatives sont réalisées entre chaque coupe pour estimer la cinétique de croissance aérienne des espèces dans les différents mélanges et traitements hydriques. Pour cela, la hauteur de 5 individus par espèce et par pot est mesurée à l'aide d'un herbomètre (cinq points contact par pot). La croissance végétative (cm j⁻¹) est calculée par espèce et par mélange en divisant la différence de hauteur par le nombre de jours entre deux dates consécutives.

Biomasse de la strate de lumière :

Pour les coupes du 21/05/13 et du 10/06/14, deux strates ont été délimitées à l'aide d'un ceptomètre (Decagon, USA). La strate haute est définie par la hauteur, spécifique à chaque pot, pour laquelle le couvert absorbe 50% du rayonnement photosynthétiquement actif incident (PAR). On délimite ainsi la strate de lumière, correspondant à la partie supérieure du couvert, de la strate d'ombre. Le pourcentage de biomasse de la strate de lumière est déterminé à l'échelle spécifique ou de la communauté par le ratio de la biomasse en strate de lumière sur la biomasse totale des deux strates.

Pourcentage de sénescence du couvert :

Pendant la sécheresse, l'évolution de la sénescence du couvert est mesurée par une estimation visuelle du jaunissement à différentes dates par projection au sol (10 dates entre le 25/06/13 et

le 05/08/13). Par un système de grille, on attribue une note correspondant à un pourcentage de jaune du couvert dans 4 zones de surface égale délimitées sur chaque pot. On obtient une note de sénescence par pot par la moyenne des 4 notes, correspondant à un pourcentage de sénescence moyen. De manière similaire, on estime le pourcentage de vert du couvert par projection au sol pendant la phase récupération à court terme post-sécheresse (9 dates entre le 14/08/13 et le 26/09/13).

Teneur en eau relative foliaire :

Un suivi de la teneur en eau relative des limbes a été effectué sur l'ensemble des pots durant la période de sécheresse modérée (7 dates entre le 17/06/13 et le 08/07/13), jusqu'à un seuil de sénescence du couvert trop élevée pour permettre la mesure. Un limbe par espèce et par pot est ainsi prélevé tous les 3 ou 4 jours pour la détermination du poids frais (PF) et du poids à saturation (PFsat, feuilles partiellement immergées dans de l'eau en chambre froide pendant 6 à 24h). Les limbes sont ensuite placés à l'étuve (60°C pendant 48h) pour obtention le poids sec (PS). La teneur en eau relative des limbes (%) est calculée suivant la formule suivante : Teneur en eau relative = 100 * (PF - PS) / (PFsat - PS)

Teneur en eau et stabilité membranaire des méristèmes basaux :

La tolérance à la déshydratation est estimée par la mesure du coefficient de stabilité membranaire de l'organe méristématique à la fin de la sécheresse. Pour chaque pot et chaque espèce, on prélève deux individus de taille identique en conservant la naissance des racines à la base des talles. On isole ensuite le méristème à la base des talles. Pour chaque pot et chaque espèce, un des méristèmes est destiné au calcul de la teneur en eau, l'autre à la mesure de la stabilité membranaire.

<u>Mesure de la teneur en eau :</u> On note la valeur du poids frais d'un méristème. Ce méristème est ensuite placé pendant 48h dans une étuve à 60°C. On mesure alors le poids sec pour le calcul de la teneur en eau (%) selon la formule suivante : Teneur en eau = 100 * (PF - PS) / (PS)

<u>Mesure de la stabilité membranaire</u>: Le second méristème est mis à incubation pendant 22h à température ambiante et à l'obscurité dans 8 ml d'eau ultrapure sur un plateau d'agitation. On mesure ensuite la conductivité C1 dans les tubes à température ambiante soit environ 25°C (sonde conductimètre Held Meter LF340, TetraCon® 325, Germany). Après avoir vidé le contenu des tubes, on ajoute à nouveau 8 ml d'eau ultrapure. Les tubes sont placés à

l'autoclave à 120°C pendant 30 min pour détruire les membranes des cellules. On laisse refroidir dans un bain d'eau froide pendant environ une heure jusqu'à atteindre la température ambiante (même température que lors de la mesure C1) ; on mesure alors la conductivité C2. Le coefficient de stabilité membranaire (%) est calculé selon la formule suivante: CMS = 100 * (1 - (C1/(C1 + C2)))

Densité et diamètre des racines profondes:

Un suivi de la longueur et du diamètre des racines profondes a été réalisé entre avril 2013 et juin 2014 par un système minirhizotron qui consiste en l'enregistrement d'images des racines à l'aide d'une caméra introduite dans le tube transparent placé horizontalement à 80 cm de profondeur (BTC2, Bartztechnology, USA). A intervalle de 10j environ le système racinaire profond de chaque bac est photographié le long du transect horizontal, soit 11 photos par pot révélant les racines en contact avec la partie supérieure du tube. Pendant la période hivernale (novembre 2013 à février 2014) les photos ne sont effectuées qu'à intervalle de 1 mois environ.

Les images ainsi obtenues sont analysées à l'aide du logiciel WinRhizoTron© (Regent Instrument, Canada). Sur chaque image, un cadre de dimension 1.35 x 1.8 cm permet de délimiter la zone à analyser, où toutes les racines sont redessinées (longueur et diamètre). Le calque ainsi obtenu est ensuite réutilisé pour l'analyse des dates suivantes, où les racines nouvellement apparues sont ajoutées. Les racines ayant disparu sont éliminées car considérées comme mortes ou masquées. La longueur et le diamètre des racines sont ainsi été déterminés pour chaque date. La longueur racinaire de chaque image est exprimée en mm cm⁻², la moyenne des 11 images permettant d'obtenir la longueur racinaire de chaque pot. Le taux de croissance de longueur racinaire (mm cm⁻² j⁻¹) est obtenu en divisant la différence de longueur racinaire entre deux dates consécutives par le nombre de jours les séparant.

Biomasse et croissance des racines de surface :

Stock racinaire et teneur en eau / nitrate ammonium du sol (NO3/NH4)

Le 03/03/14, deux carottes de sol de 20cm de profondeur et d'environ 3cm de diamètre sont prélevées dans chaque bac. Deux ingrowth-cores (IGC) sont ainsi installés dans chaque bac. Les filets sont remplis avec de la terre tamisée et préalablement séchée, puis ré-humidifiés après tassage. Les deux IGC sont prélevés un mois plus tard et rassemblés en un seul échantillon par bac. De nouveaux filets sont alors mis en place et remplis avec de la terre

tamisée. Les racines contenues dans les IGC prélevés sont ensuite lavées, pesées (PF) puis mises à l'étuve (48H à 60°C) pour obtention du poids sec. Les biomasses sèches (mg cm⁻³) permettent le calcul de la croissance racinaire des racines de surface pour chaque bac, correspondant à la biomasse produite par bac divisée par la durée entre installation et récupération des IGC (mg cm⁻³ j⁻¹). Trois dates de mise en place d'IGC permettent ainsi de délimiter trois périodes de croissance racinaire : du 06/03/14 au 07/04/14, du 08/04/14 au 05/05/14 et du 06/05/14 au 03/06/14.

Référence

Blum, A. (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, **112**, 119–123.



Figure A2-1 Proportional deviation of *Trifolium repens* and grass species biomass from its expected value (D_i) in two-species mixtures with or without *T. repens* for different periods in 2013 and 2014. Mean values \pm SEM are shown. For a given period and species type, the sign (*, **, ***) corresponds to a significance deviation from the null hypothesis (deviation from 0); post hoc tests were performed D_i and different letters indicate statistical difference between the types of species i (P < 0.05).





Figure A2-2 Root mass to a depth of 20 cm during spring year 2, in monocultures and two-species mixtures with or without *T. repens* for the control and droughted treatments. Root was harvested between April and June 2014, for two periods of root growth in ingrowth-cores; mean values \pm SEM are shown. For a given treatment and mixture type, the sign * indicate statistical differences between root masses with and without *Trifolium repens* (P < 0.05).



Figure A2-3 Whole experiment dynamic of soil relative extractable water (REW) for the droughted two-species mixtures with or without *Trifolium repens*. Daily mean values \pm SEM are shown; drought period is represented by a red rectangle; cuts are represented by black arrows and dashed lines; the sign * indicate statistical differences between REW values with and without *Trifolium repens* (P < 0.05).

8 traits moyens (N_{yield}, NUE, ET, WUE, δ^{13} C, Biom_{top}, Shallow root biomass et R.growth) sont utilisés comme variables explicatives de l'effet net de la diversité et de l'effet de complémentarité (net mixture and complementarity effects) au sein des mélanges à deux espèces au pic de biomasse de la seconde année (DOY 102-161). Des modèles mixtes qui incluent ces 8 traits moyens comme potentielles variables prédictives et l'identité du mélange comme effet aléatoire sont utilisés pour sélectionner les principaux traits contribuant à la variation expliquée. Les meilleurs ajustements sont sélectionnés jusqu'à un maximum de deux variables prédictives au sein de l'ensemble des combinaisons de variables prédictives. Le modèle sélectionné a le plus faible nombre de variables prédictives parmi les modèles dont AICc - AICc_{min} < 2. Nous avons également étudié l'importance relative de chaque variable prédictive en utilisant la somme des coefficients de pondération d'Akaike de tous les modèles incluant une variable prédictive donnée (Burnham & Anderson 2002).

Period	Variable	marg R ²	cond R ²	delta	AICc	Intercept	Std.			
				AICc0			dev.			
Spring year 2	Net mixture effect	0.499	0.597	15.39	274.59	73.41	8.568	Selected traits	Biom _{top}	R.growth
								Estimate	1.0362	114.3423
								Std. error	0.2856	26.7043
								Rela. impo. (%)	34.42	29.78
	Complementarity	0.609	0.609	20.23	266.44	0	0	Selected traits	NUE	R.growth
								Estimate	-0.6298	93.5478
								Std. error	0.1911	25.7708
								Rela. impo. (%)	29.91	44.57

Table A2-4 Summary of best statistical models based on 8 CWM of trait values as predictor variables for net mixture effect and complementarity effect. The final selected models were developed with two-species mixtures for spring year 2 (DOY 102-161); the relative importance of each predictor (%) is based on the sum of Akaike weights across models including a given predictor.

Reference

Burnham, K.P. & Anderson, D.R. (eds). (2002) Model Selection and Multimodel Inference. Springer New York, NY.

1) Article soumis à Nature Communications (15 Septembre 2016)

Species richness increases resilience after drought in a continental-scale coordinated experiment

Authors: Juergen Kreyling^{1*}, Jürgen Dengler^{2,3}, Julia Walter⁴, Nikolay Velev⁵, Emin Ugurlu⁶, Desislava Sopotlieva⁵, Johannes Ransijn⁷, Catherine Picon-Cochard⁸, Ivan Nijs⁹, Pauline Hernandez⁸, Behlül Güler¹⁰, Philipp von Gillhaussen⁷, Hans J. De Boeck⁹, Juliette M.G. Bloor⁸, Sigi Berwaers⁹, Carl Beierkuhnlein¹¹, Mohammed A.S. Arfin Khan^{7,12}, Iva Apostolova⁵, Yasin Altan¹⁰, Michaela Zeiter^{13,14}, Camilla Wellstein¹⁵, Marcelo Sternberg¹⁶, Andreas Stampfli¹³, Giandiego Campetella¹⁷, Sándor Bartha^{18,19}, Michael Bahn²⁰, Anke Jentsch⁷

Affiliations:

¹ Experimental Plant Ecology, Ernst-Moritz-Arndt University Greifswald, D-17487 Greifswald, Germany

² Plant Ecology, BayCEER, University of Bayreuth, 95440 Bayreuth, Germany

³ German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv), 04103 Leipzig, Germany

⁴Landscape Ecology, University of Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany

⁵ Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, 1113 Sofia, Bulgaria

⁶ Forest Engineering, Faculty of Forestry, Bursa Technical University, 152 Evler Str., No:2/10, 16330, Yildirim, Bursa, Turkey.

⁷ Disturbance Ecology, BayCEER, University of Bayreuth, 95440 Bayreuth, Germany

⁸ INRA, UR0874 Grassland Ecosystem Research, F-63039, Clermont-Ferrand, France

⁹ Plant and Vegetation Ecology, Department of Biology, University of Antwerp, 2610 Wilrijk, Belgium

¹⁰ Department of Biology, Faculty of Science & Letters, Celal Bayar University, Muradiye Campus, 45040, Manisa, Turkey

¹¹ Biogeography, BayCEER, University of Bayreuth, 95440 Bayreuth, Germany

¹² Department of Forestry and Environmental Science, Shahjalal University of Science and Technology, Sylhet-3114, Bangladesh

¹³ School of Agricultural, Forest and Food Sciences, Bern University of Applied Sciences, CH-3052 Zollikofen, Switzerland ¹⁴ Institute of Plant Sciences, University of Bern, CH-3013 Bern, Switzerland

¹⁵ Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen, I-39100 Bozen, Italy

¹⁶ Department of Molecular Biology & Ecology of Plants, Faculty of Life Sciences, Tel Aviv University, Tel Aviv 69978, Israel

¹⁷ School of Biosciences and Veterinary Medicine, Plant Diversity and Ecosystems Management unit, University of Camerino, Italy

¹⁸ Institute of Ecology and Botany, MTA Centre for Ecological Research, H-2163 Vácrátót (Hungary);

¹⁹ School of Plant Biology, The University of Western Australia, 35 Stirling Hughway, Crawley, WE 6009, Australia;

 20 Ecophysiology and Ecosystem Processes, University of Innsbruck, A-6020 Innsbruck, Austria

*Correspondence to: juergen.kreyling@uni-greifswald.de

Abstract: Biodiversity can potentially buffer ecosystem functioning against extreme climatic events, but current evidence for diversity effects on resistance and resilience is equivocal due to a lack of controlled experiments that create sufficiently severe conditions. Here, we test for resistance and resilience to severe drought in the first controlled coordinated biodiversity × disturbance experiment at five temperate or Mediterranean grassland sites. Across sites, biomass production was reduced by 30% due to experimental drought periods. Species richness improved proportional resilience one year after the drought (comparing biomass between drought manipulation and control). Neither plant functional group richness nor presence of legumes affected resistance or resilience. Our data suggests that species richness helps maintain ecosystem productivity and productivity-dependent ecosystem services for grassland communities exposed to pulsed extreme climate events through asynchrony of species responses. Hence, biodiversity loss reduces resilience in response to pulsed climate extremes.

2) Article en cours de finalisation avant soumission à Ecology letters

Within-species richness enhances resistance to extreme drought in experimental mesocosms

Authors: Sigi Berwaers^{1*}, Pauline Hernandez², Ivan Nijs¹, Iva Apostolova³, Hans J. De Boeck¹, Jürgen Dengler^{4,5}, Anke Jentsch⁶, Catherine Picon-Cochard², Nikolay Velev³, Jürgen Kreyling⁷

Affiliations:

¹Centre of Excellence Plant & Vegetation Ecology (PLECO), Department of Biology, University of Antwerp, B-2610 Wilrijk, Belgium

²UREP, INRA, F-63000, Clermont-Ferrand, France

³Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, BG-1113 Sofia, Bulgaria

⁴Plant Ecology, Bayreuth Center of Ecology and Environmental Research (BayCEER), D-95447 Bayreuth, Germany

⁵German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv) Halle-Jena-Leipzig, D-04103 Leipzig, Germany

⁶Disturbance Ecology, BayCEER, University of Bayreuth, D-95440 Bayreuth, Germany

⁷Experimental Plant Ecology, Ernst-Moritz-Arndt University Greifswald, D-17487 Greifswald, Germany

*Correspondence to: sigi.berwaers@uantwerpen.be

Abstract: We experimentally investigated the effect of within-species diversity on grassland phytomass production under drought, and explored whether presence of drought pre-adapted ecotypes improves drought resistance in these systems.

The experiment was replicated at four locations in Europe with different climatic characteristics. Seeds of *Dactylis glomerata* agg. from 12 regions across Europe were collected in the growing season of 2013, representing a climatic gradient from Mediterranean to boreal and from continental to maritime climates, thus providing a set of 12 differently adapted ecotypes. Individuals of these ecotypes were used to create three richness levels in

mesocosms exposed to an extreme drought event simulated by excluding all ambient rainfall with shelters.

Ecotype richness induced positive complementarity and negative selection effects on aboveground biomass, which canceled each other out. The negative selection effect involved the promotion of intrinsically less productive ecotypes in the higher richness treatments at the expense of the more productive ecotypes, and was stronger under drought. In monoculture, smaller ecotypes invested in relatively more and deeper roots, offering an explanation for the restructuring of the community under drought. While the zero net effect of ecotype richness on phytomass suggested limited overall influence of intraspecific variation, richness did alleviate drought-induced senescence. Surprisingly, drought-induced senescence in monocultures could not be correlated to the ecotypes' climate of origin.

These results, obtained in different regions across Europe, point to beneficial effects of higher genetic richness on drought resistance at no cost to aboveground production. This may shed more light on the role of genetic diversity and open new perspectives for adapting grassland management practices in a future climate.

Utiliser les mélanges fourragers pour s'adapter au changement climatique : opportunités et défis

I. Litrico¹, K. Barkaoui², A. Barradas³, P. Barre², V. Béguier⁴, M. Birouste², P. Bristiel²,
D. Crespo³, C. Deléglise⁵, J.-L. Durand¹, L. Fernandez⁶, F. Gastal^{1, 6},
M. Ghesquiere¹, B. Godinho³, P. Hernandez⁷, B. Julier¹, G. Louarn¹, M. Meisser⁵,
E. Mosimann⁵, C. Picon-Cochard⁷, C. Roumet², F. Volaire²

Dans la perspective du changement climatique, il est nécessaire d'adapter les couverts prairiaux à des conditions hydriques limitantes. Les mélanges offrent des perspectives intéressantes mais posent des questions quant aux critères de sélection des variétés.

RÉSUMÉ

Différentes expérimentations récentes montrent la plus-value de la diversité spécifique et intraspécifique sur la production des prairies face au changement climatique et en particulier face aux épisodes de sécheresse. Mais le choix des espèces et des génotypes composant cette diversité nécessite de définir correctement les règles d'assemblage. Ces règles pourraient être basées sur des choix de traits (caractères) des espèces et des génotypes. La diversification de traits liés à des stratégies de croissance décalées dans le temps semble avoir un effet positif, contrairement aux traits racinaires. Ainsi, le choix de traits d'intérêt et de la valeur de ces traits dans les couverts prairiaux est à considérer dans les processus de sélection variétale.

SUMMARY

Using mixed-forage grasslands to deal with climate change: opportunities and challenges

In the context of climate change, grasslands will need to be populated with forage species that tolerate drought conditions. Planting forage mixtures is a possible solution, but questions remain regarding the specific varieties to use. Recently, different experiments have shown that both intra- and interspecific diversity could have a positive effect on grassland production under climate change and, more specifically, during droughts. However, to choose which species and genotypes to include, it is necessary to define the rules of assembly. These rules could be based on the choice of certain functional traits. For instance, research suggests that differences in growth-related traits among plants within the community, namely temporal differences in growth periods, have a positive effect. Defining the traits of greatest interest and their relative importance in grassland communities is a major consideration when selecting the plant varieties to include in forage mixtures.

AUTEURS

- 1 : URP3F INRA, Le Chêne, RD 150, BP 86006, F-86600, Lusignan ; isabelle.litrico@lusignan.inra.fr
- 2 : CEFE CNRS, Montpellier (France)
- 3 : FERTIPRADO, Vaiamonte (Portugal)
- 4 : Jouffray-Drillaud, Saint-Sauvant (France)
- 5 : Agroscope, Nyon (Suisse)
- 6 : FERLUS INRA, Lusignan (France)
- 7 : UREP-INRA, Clermont Ferrand (France)

MOTS CLÉS : Association végétale, biodiversité, changement climatique, composition fonctionnelle, mélange fourrager, perennité, prairie, sécheresse, sélection variétale, système racinaire, variabilité intraspécifique, variations saisonnières.

KEY-WORDS : Biodiversity, climatic change, cultivar breeding, drought, forage mixture, functional composition, genetic variation, grassland, persistency, plant association, root system, seasonal variations.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Litrico I., Barkaoui K., Barradas A., Barre P., Béguier V., Birouste M., Bristiel P., Crespo D., Deléglise C., Durand J.L., Fernandez L., Gastal F., Ghesquiere M., Godinho B., Hernandez P., Julier B., Louarn G., Meisser M., Mosimann E., Picon-Cochard C., Roumet C., Volaire F. (2016) : "Utiliser les mélanges fourragers pour s'adapter au changement climatique : opportunités et défis", *Fourrages*, 225, 11-20.

1. Les prairies soumises au changement climatique

Les prairies et cultures fourragères sont parmi les agroécosystèmes les plus représentés à l'échelle du globe. Cependant, la pérennité des prairies permanentes et temporaires est aujourd'hui fortement menacée par les effets grandissants du changement climatique (TUBIELLO et al., 2007). Les changements climatiques attendus sur le sud-ouest de l'Europe se caractérisent, outre par l'augmentation générale de concentration en CO2 de l'atmosphère, par une augmentation de température annuelle (moyenne et variabilité) et un changement de régime hydrique. Cela se traduira par des hivers plus doux, avec un moindre risque de gel, des étés plus chauds avec des risques de températures journalières maximales excessives pour la végétation, et des déficits pluviométriques et hydriques plus marqués que dans le stècle précédent (IPCC, 2013). Dans le pourtour méditerranéen, ces modifications du climat pourraient conduire à l'extension de près d'un mois des conditions estivales (GIANNAKOPOULOS et al., 2009) ainsi qu'à de plus forts déficits hydriques annuels (BINDI et OLESEN, 2011).

Ces changements climatiques auront des conséquences sur la production fourragère, en particulier **une modification significative de la répartition de la croissance des espèces**. Cela se caractérise essentiellement par a) une avancée dans l'année du pic de croissance de printemps et b) une réduction de la vitesse de croissance durant la période estivale (DURAND et al., 2010). Des mesures réalisées depuis 15 ans sur les pâturages de l'ouest de la Suisse révêlent l'importance des effets de variation du climat, en particulier de la sécheresse, sur la croissance de l'herbe (MOSIMANN et al., 2012). Ce type de données constitue des références importantes pour



Des lettres différentes indiquent des différences significatives.

FIGURE 1 : Biomasse annuelle récoltée sur les associations luzerne-dactyle, la luzerne et la graminée (la seule fertilisée en N) au cours des 4 années suivant le semis en 2008.

FIGURE 1 : Annual biomass production over 4 years for lucerne monocultures, cocksfoot monocultures (fertilised with N), and lucerne-cocksfoot mixtures; the fields were planted in 2008. améliorer la précision des prédictions de la réponse des couverts végétaux au changement climatique en termes de production fourragère (CALANCA *et al.*, 2016).

Face à la fréquence grandissante des sécheresses qui accompagnent le changement climatique, il est nécessatre d'adapter les systèmes de production à des conditions hydriques limitantes. Depuis plus de cinquante ans, l'agriculture est majoritairement basée sur l'installation de cultures abritant un faible nombre d'espèces (diversité interspécifique) et de génotypes (diversité intraspécifique), même si l'utilisation de variétés synthétiques ou de populations est généralement la règle chez les graminées et légumineuses fourragères. L'amélioration des plantes s'est toujours attachée à exploiter l'espèce la plus adaptée aux attentes en sélectionnant le génotype (au sein de l'espèce) le plus productif pour un milieu donné, correspondant souvent à des conditions assez intensives. Définir les caractéristiques des espèces et des génotypes qui permettent l'assurance d'une production efficace (quantité, qualité et stabilité) sous contrainte hydrique est une étape incontournable de l'amélioration génétique des espèces cultivées. Mais cette approche pourrait être complétée par l'introduction de diversité au sein des peuplements cultivés. En effet, de nombreuses études en écologie mettent en évidence la plus-value de la diversité sur la production et la stabilité des écosystèmes, et cela en particulier en conditions stressantes et en environnements variables. En conséquence, maintenir certains niveaux de diversité inter et intraspécifique au sein des peuplements semés pourrait être un levier important pour adapter les prairies au changement climatique.

2. La plus-value de la diversité spécifique sur la production fourragère

La production de fourrage plus importante induite par l'augmentation de la diversité spécifique du peuplement pratrial semé (et que nous qualifierons de « surproduction ») est bien documentée dans la littérature (FINN et al., 2013; KIRWAN et al., 2007). C'est aussi ce que montrent les résultats obtenus sur des associations binaires de luzerne et dactyle installées en parcelles de 10 m2 dans deux sites différents (INRA Lusignan en France et Valamonte au Portugal) et exploitées sur un rythme de 4 à 5 coupes par an (GASTAL et al., 2015). La biomasse annuelle est le cumul des biomasses évaluées à chaque cycle de récolte. Les associations (non fertilisées en azote) ont montré une surproduction de biomasse en années 3 et 4 (cumul de biomasse produite durant ces 2 années s'élevant à + 10 % pour l'association comparativement à la luzerne pure non fertilisée en N, et +73% par rapport à la graminée fertilisée, p<0,05) (figure 1). Cette surproduction de l'association peut notamment être expliquée par une meilleure interception du rayonnement solaire et une meilleure nutrition azotée de la graminée associée, au-delà de la phase d'installation et de mise en place efficace des transferts d'azote depuis la légumineuse durant les années 1 et 2 (LOUARN et al.,

Fourrages (2016) 225, 11-20


2015). Ces résultats ont également été confirmés sur des microcommunautés de plantes plus complexes soumises à la contrainte hydrique (PRIETO et al., 2015). Dans ce dispositif, installé à l'INRA de Lusignan, 124 microcommunautés, de 50 individus chacune, ont été disposées en bacs avec un substrat homogène et des apports d'eau et de minéraux contrôlés. Chaque microcommunauté était constituée soit de 5 espèces (les plus semées en zone tempérée : luzerne, fétuque élevée, dactyle, trèfle blanc et ray-grass anglais), soit d'une seule de ces espèces. Le dispositif a été reproduit en deux lots installés dans les mêmes conditions initiales. Durant l'essai, le lot 1 a été soumis à un régime hydrique non limitant alors que le lot 2 a été privé d'apport hydrique durant plusieurs semaines. Les microcommunautés composées de 5 espèces ont montré, sous contrainte hydrique, une plus grande production de biomasse cumulée sur une année que la moyenne des cultures pures (figure 2a). La diversité spécifique de ces microcommunautés a aussi permis une meilleure réponse à la sécheresse (figure 2b). A cette surproduction observée dans les peuplements diversifiés, vient s'ajouter une plus grande régularité de la production de biomasse au cours du temps. En effet, la variation au cours de l'année de la production de biomasse des microcommunautés abritant 5 espèces était inférieure à celle des microcommunautés composées d'une seule espèce (variation estimée à partir du coefficient de variation temporelle : 0,69 vs 0,87). Toutefois, cette stabilité de la production de biomasse au cours de l'année n'a été observée qu'en conditions hydriques non limitantes.

Fourrages (2016) 225, 11-20

3. Le choix et l'assemblage des espèces

La mise en place des prairies temporaires en Europe est de plus en plus souvent réalisée avec des mélanges d'espèces fourragères. Cela s'appuie en partie sur le fait que de nombreuses études (ALLARD, 1961 ; RASMUSSON et al., 1967 ; TILMAN et al., 1996; HOCKETT et al., 1983; HECTOR et al., 1999; FINCKH et al., 2000; GRIME, 2006; NYFELER et al., 2009) ont démontré la plus-value de la diversité spécifique des peuplements sur la production et sa stabilité. Toutefois cette surproduction n'est pas forcément systématique et le choix des espèces à associer doit être raisonné pour optimiser les bénéfices des associations. Le défi est donc de parventr à identifier les bons agencements d'espèces végétales de sorte à concevoir des mélanges fourragers plurispécifiques résistants et résilients sous les sécheresses (RICHARDSON et al., 2010 ; VOLAIRE et al., 2014) induites par le changement climatique. Nous focaliserons notre propos sur la question de l'élaboration de ces mélanges d'espèces prairiales adaptés à des conditions de sécheresse, sécheresses pouvant être sévères sur le pourtour méditerranéen.

Différentes approches

En Suisse, l'assemblage des espèces s'inspire notamment des communautés végétales observées in situ dans des milieux présentant un stress hydrique fréquent, milieux caractéristiques de l'ouest du pays. Dans les conditions du Jura (1 200 m), les pâturages de type Cynosurion dominés par l'agrostide vulgaire et la fétuque rouge sont particulièrement bien adaptés aux fortes contraintes hydriques. Il a été démontré que les espèces subordonnées (Trifolium pratense L., Achillea millefolium L., Leontodon sp., Cerastium fontanum ssp. vulgare, Veronica chamaedrys L.) augmentent la résistance et la résilience face à la sécheresse, notamment par leur relation avec les microorganismes du sol (MARIOTTE et al., 2015). Les mélanges standard suisses utilisés pour une durée supérieure à 3 ans contiennent du pâturin des prés et une graminée pérenne à large amplitude écologique (SUTER et al., 2013). Mais, parallèlement à l'approche empirique, une approche mécaniste doit être conduite afin de déterminer les mécanismes sous-jacents à la plus-value de la diversité spécifique et d'optimiser les interactions. En écologie des communautés, deux mécanismes, non exclusifs, ont été proposés pour expliquer l'effet de la diversité spécifique (HOOPER, 2005). Le premier repose sur la complémentarité d'utilisation des ressources entre espèces : des espèces qui possèdent des niches écologiques différentes, et donc des facons différentes d'utiliser les ressources disponibles, ont plus de chance de coexister et de produire de la biomasse au sein d'une communauté (MACARTHUR et LEVINS, 1967 ; ABRAMS, 1983). Le second se base sur le mécanisme de sélection, qui traduit l'augmentation de la probabilité de la présence d'une espèce adaptée à l'environnement à un instant donné lorsque la diversité de la communauté augmente. La présence systématique d'une espèce adaptée aux contraintes dominantes permettrait d'avoir une bonne production de biomasse et un maintien d'une certaine régularité de la production de la communauté face aux

13

conditions variables du milieu. Ces mécanismes sont bien décrits au niveau des communautés d'espèces naturelles mais il existe encore peu de mises en évidence expérimentales de leur mise en œuvre et de leurs effets pour des communautés à vocation agronomique. Dans l'étude précédemment décrite (PRETO et al., 2015), l'effet de la diversité spécifique sur la surproduction des microcommunautés est principalement interprété comme un effet de complémentarité entre les espèces. En effet, grâce à l'utilisation d'une méthodologie statistique adaptée (LOREAU et HECTOR, 2001), il a été mis en évidence que la plus-value de la diversité spécifique sur la production de biomasse était principalement due à des effets de complémentarité entre espèces. En se basant sur cette étude, il semble donc que la complémentarité entre espèces, bien que non exclusive du mécanisme de sélection, soit un mécanisme majeur pour expliquer l'effet de la diversité spécifique des peuplements pratriaux. Il reste cependant encore à approfondir les relations fonctionnelles entre la diversité des communautés et la complémentarité d'utilisation des ressources, et notamment la ressource hydrique. Dans cette optique, les traits fonctionnels des plantes sont particulièrement pertinents à considérer car ils capturent des aspects essentiels des stratégies écologiques des espèces (WESTOBY et al., 2002).

D'un point de vue racinaire

Les différentes stratégies adaptatives permettent aux plantes d'éviter ou de tolérer la déshydratation des tissus et donc de survivre lors des épisodes de sécheresse. Les caractéristiques fonctionnelles du système racinaire comme la profondeur racinaire, la biomasse des racines profondes, la densité des tissus racinaires, ou encore la longueur spécifique ou le diamètre moyen des racines fines jouent un rôle crucial dans les processus d'acquisition de l'eau du sol (HERNANDEZ *et al.*, 2010; PÉREZ-RAMOS *et al.*, 2013). Bien qu'encore peu de données soient disponibles sur le rôle des racines dans des conditions de plein champ sous sécheresses sévères, elles **pourraient contribuer significativement à l'évitement de la déshydratation** des plantes et à la résilience des couverts. De plus, assocter des espèces végétales avec des caractéristiques fonctionnelles racinaires contrastées permettraient d'améliorer l'acquisition de l'eau sur l'ensemble du profil de sol et de conférer aux couverts plurispécifiques une plus grande stabilité vis-à-vis des épisodes de sécheresse plus ou moins intenses par rapport à des couverts monospécifiques. En s'appuyant sur des concepts et méthodologies issus de l'écologie fonctionnelle, BARKAOUI et al. (2015) ont analysé l'impact de la diversité fonctionnelle racinaire sur l'utilisation de l'eau du sol, la production de biomasse et la résilience de la productivité des couverts d'espèces natives et de cultivars soumis à deux niveaux de sécheresses estivales. Il a été fait l'hypothèse : i) que la diversité fonctionnelle racinaire permet d'augmenter l'utilisation de l'eau du sol et ainsi d'améliorer la production de biomasse et sa résilience et ii) que les effets de la diversité fonctionnelle seraient d'autant plus marqués au sein des couverts que les stress dus à la sécheresse estivale seraient intenses. Pour vérifier ces hypothèses, une expérimentation a été implantée en 2011 à Montpellier sur le terrain expérimental du CEFE-CNRS. Trois cultivars de graminées fourragères méditerranéennes (Dactylis glomerata var. Kasbah, Dactylis glomerata var. Medly et Festuca arundinacea var. Centurion) ont été installés en monoculture et en mélanges bi ou tri-spécifique dans 8 blocs. 4 de ces blocs ont été soumis en 2012 à une sécheresse estivale correspondant aux conditions moyennes sur les 30 dernières années (soit un déficit hydrique climatique correspondant à une différence entre précipitations et évapotranspiration potentielle de -380 mm) et les 4 autres blocs à une sécheresse estivale plus extrême (-500 mm). La même expérimentation a été simultanément conduite avec trois espèces de graminées pérennes natives des Grands Causses (Bromus erectus, Carex humilis et Festuca christiani-bernardii). Des mesures d'humidité du sol ont permis d'estimer la quantité totale d'eau transpirable (TTSW) pour chaque communauté. La profondeur racinaire et la biomasse de racines profondes ainsi que les traits morphologiques des racines entre 0 et 20 cm ont été

Composante de la structure fonctionnelle du	Quantité d'eau transpirable du sol (TTSW)			Réslience		
système racinaire*	x²	Perte cultivars	Pente natives	χ²	Pente cultivars	Pente natives
a) Valeur moyenne des traits racinaires (identi	té fonctionn	elle)				
PC1-axe de profondeur + densité racinaires	10,70*	4,05	8,38	17,15***	0,368	0,226
PC2-axe de diamètre racinaire	7,058*	3,64	6,59	10,35*	0,380	0,220
b) Variance des traits racinaires en mélange (o	liversité fond	ction nelle)				
PC1-axe de profondeur + densité racinaires	2,114 ns	-	-	1,043 ns	-	-
PC2-axe de diamètre racinaire	7,094*	0,026	0,029	0,632 ns	-	-

Los variacións de trats indicadones racionames des cute varians de se de especies naives precesents dans res communautes ont en au precasor de racionadores es par une analyse en composante principaie (ACP). Les doux premiers axes de l'ACP (PC1 et PC2) ont été net euro pour calculer les indices d'identité (= moyenne des coordonnées des espèces aur les axes) et de diversité (= variance des coordonnées des espèces aur les axes) fonctionnelle.

TABLEAU 1 : Part de la variance a) de la quantité d'eau totale transpirable du sol (TTSW) et de la résilience expliquée par l'identité fonctionnelle des systèmes racinaires et b) des écarts de la TTSW et de la résilience des mélanges par rapport aux monocultures expliquée par la diversité fonctionnelle des systèmes racinaires.

TABLE 1 : Proportion of variance in a) total transpirable soil water (TTSW) and resilience explained by root system functional identity and b) deviation in TTSW and the resilience of mixtures versus monocultures explained by root system functional diversity.

estimés pour chaque communauté sur la base des valeurs de traits racinaires de chaque espèce cultivée en monoculture. Nous avons cherché à savoir si, d'une part, les valeurs moyennes des traits racinaires des couverts (identité fonctionnelle) ont un rôle sur les performances de tous les couverts et, d'autre part, si les variances des traits racinaires au sein des mélanges (diversité fonctionnelle) améliorent leurs performances.

Cette expérimentation a mis en évidence que les communautés avec des enracinements plus profonds et plus développés en profondeur ont une metlleure capacité d'extraction de l'eau du sol (Cht2 significatif, tableau 1). L'utilisation de l'eau des horizons profonds ne se fait pas au détriment de l'utilisation de l'eau des horizons de surface et les espèces à enracinement profond ont aussi globalement un système racinaire plus développé tout au long du profil de sol. La diversité fonctionnelle racinaire n'a pas permis d'améliorer les prélèvements hydriques des mélanges par rapport aux monocultures (Chi2 non significatif, tableau 1). En revanche, des mélanges avec des racines à diamètre contrasté favorisent une augmentation de l'extraction d'eau. Concernant la production de biomasse aérienne, elle a varié au sein des espèces natives et au sein des cultivars d'un facteur trois, mais ni la valeur moyenne, ni la variance des traits racinaires au sein des couverts n'expliquent ces variations. La résilience des communautés après sécheresse estivale est associée à de fortes profondeurs et densités racinaires ainsi que des diamètres élevés de racines puisque de fortes relations positives et significatives sont observées (tableau 1). En revanche, la diversité fonctionnelle racinaire n'a aucun effet significatif sur la résilience des couverts.

En conclusion, cette expérimentation met en évidence l'importance de la profondeur et des traits racinaires des espèces dans les mélanges pour améliorer d'une part la quantité totale d'extraction d'eau du sol et d'autre part la résilience des couverts qu'ils soient constitués d'espèces natives ou de cultivars fourragers. Associer des espèces avec une forte diversité fonctionnelle racinaire ne semble pas améliorer les performances des mélanges quel que soit le niveau de sécheresse estivale.

Ce résultat est en partie confirmé par une autre expérimentation qui teste la résistance à un stress hydrique d'un mélange d'espèces avec des systèmes racinaires contrastés (Picon-Cochard et Hernandez, 2015). Dans cette étude, conduite à l'INRA (UREP Clermont-Ferrand), l'hypothèse posée était la suivante : les mélanges complexes à 5 espèces et les mélanges bispécifiques associant une espèce à enracinement superficiel et une espèce à enracinement profond (espèces à enracinements contrastés) ont plus de racines en profondeur. Cette augmentation de racines en profondeur, dans ce type de mélanges, devrait permettre une meilleure récupération après un stress hydrique sévère relativement aux mélanges composés d'espèces à enracinement similaire (mélange à deux espèces à racines profondes ou mélanges à deux espèces à racines superficielles). En effet, il est bien établi que les plantes utilisent préférentiellement l'eau de surface en conditions hydriques non limitantes

Fourrages (2016) 225, 11-20

pour la croissance (PICON-COCHARD *et al.*, 2001; HOEKSTRA *et al.*, 2014). Alors qu'en conditions hydriques limitantes (stress modéré), les espèces prélèvent l'eau plus en profondeur, ce qui contribue à la stratégie d'évitement du stress hydrique (CHAVES, 2002; LUDLOW, 1989; ZWICKE *et al.*, 2015). SKINNER *et al.* (2006) ainsi que MUELLER *et al.* (2013) ont montré que la complémentarité de niche conduit à une capture plus complète des ressources du sol par les plantes en mélange grâce notamment à une augmentation de la biomasse racinaire en profondeur.

Quatre espèces de graminées prairiales issues de moyenne montagne (Dactylts glomerata, Festuca arundinacea, Poa pratensis, Trisetum flavescens) et une espèce de légumineuse (Trifolium repens) ont été implantées à l'automne 2012 dans des bacs contenant un sol prairial et de l'engrais retard (3,5 kg/m3, N-P-K: 14-7-14 Multicote 12, Hatfa, Israel). Trois types de mélanges ont été constitués à 1, 2 et 5 espèces. La longueur des racines au contact de la surface de tubes transparents (5 cm diamètre) qui ont été placés horizontalement à 80 cm de profondeur a été mesurée avec un minirhizotron (BTC2, Bartztechnology, USA) pour caractériser la densité (mm/cm²) de la colonisation de cet horizon de sol par les racines. L'humidité du sol des bacs a été maintenue à 80 % de la capacité au champ (pluie+irrigation). De juin à août, toutes les pluies ont été interceptées par un écran de pluie mobile sur la moitié des bacs pour induire un stress hydrique sévère induisant la sénescence complète du couvert. Les bacs ont ensuite été réhydratés jusqu'au printemps suivant pour suivre la récupération à plus long terme des couverts prairiaux. La production relative de longueur racinaire dans les mélanges a été calculée comme le rapport entre la longueur mesurée du mélange et la longueur estimée du mélange à partir des longueurs des monocultures présentes dans chaque mélange pondérées par leur abondance relative dans la biomasse aérienne. Un ratio supérieur à 1 correspond à une surproduction de racines dans les mélanges par rapport à l'attendu basé sur les monocultures. Comme dans BARKAOUI et al. (2015), les espèces à enracinement le plus profond en monoculture



FIGURE 3 : Evolution de la longueur moyenne de racines profondes pour les mélanges à 1, 2 ou 5 espèces des bacs témoins (sans stress hydrique appliqué).

FIGURE 3 : Change in the mean length of deep roots in 1, 2, and 5-species communities under control conditions (i.e., no water stress).

15

sont le dactyle et la fétuque élevée, et les mélanges présentant la plus grande profondeur d'enracinement sont constitués de ces espèces. En conditions hydriques non limitantes, le mélange à 5 espèces a les valeurs les plus élevées de densité de racines profondes par rapport aux monocultures et aux mélanges à 2 espèces quelle que sott la période considérée (figure 3). Ceci s'accompagne d'une surproduction de racines (ratio=1,51) tandis que les mélanges à 2 espèces ont un ratio de 1,06. Ces résultats montrent donc un effet positif de la diversité d'espèces sur la production de racines profondes en conditions hydriques non limitantes. Mais cette surproduction de racines a été observée dans le traitement « sécheresse » uniquement lors de la phase de récupération en automne pour les mélanges ayant du dactyle. La similarité racinaire des espèces constituant un mélange pourrait donc jouer un rôle important. Ce qui va dans le sens du faible effet relatif de la diversité racinaire pour la récupération des racines après un stress hydrique sévère comme l'a démontré l'étude de Barkaoui et al., (2015).

Ainsi, dans un contexte d'amélioration des plantes pour les mélanges plurispécifiques soumis à la sécheresse, un trait racinaire comme la profondeur d'enracinement pourrait constituer un critère de sélection (directionnelle) avec un objectif d'enracinement profond. Les études écophysiologiques de la réponse des plantes à la contrainte hydrique confortent cette conclusion (DURAND et al., 2007).

4. La diversité génotypique (intraspécifique) des espèces est-elle une plus-value pour les mélanges plurispécifiques ?

Les différentes études, décrites ci-dessus, ont mis en évidence les effets de la diversité des espèces ; cette diversité peut être envisagée à des niveaux intraspécifiques. Beaucoup d'études (ALLARD, 1961 ; RASMUSSON et al., 1967 ; TILMAN et al., 1996; HOCKETT et al., 1983; HECTOR et al., 1999; FINCKH et al., 2000; GRIME, 2006; NYFELER et al., 2009) se sont intéressées à l'effet de la diversité spécifique sur la production, notamment face aux aléas climatiques (TILAHUN, 1995; LESICA et ALLENDORF, 1999; TILMAN et al., 2001). Mais l'effet de la diversité intraspécifique est rarement investi. Pourtant, l'importance potentielle de la diversité intraspécifique dans les performances des peuplements pourrait avoir des conséquences importantes en amélioration des plantes, notamment en ce qui concerne les espèces prairiales destinées à être utilisées en mélanges plurispécifiques et devant faire face aux aléas climatiques. Afin d'apporter des éléments sur l'importance de la diverstté génétique abritée par chaque espèce installée en mélange plurispécifique, une des variables contrôlées de l'expérimentation de PRIETO et al. (2015) décrite plus haut, conduite à l'INRA de Lusignan, portait sur le nombre de génotypes par espèce composant le mélange. Sur les 74 microcommunautés plurispécifiques, 32 microcommunautés contenaient un seul génotype par espèce, 32 microcommunautés, 5 génotypes par espèce et





FIGURE 4 : Effect of genetic diversity on a) the coefficient of variation for biomass production over time under water stress versus under irrigated conditions and b) the log of the ratio between biomass production under water stress and biomass production under irrigated conditions (after PRETO et al., 2015).

10 microcommunautés, 10 génotypes par espèce. Ce dispositif n'a pas permis de montrer une plus-value de la diversité génotypique, donc de la diversité intraspécifique, sur la production, mais cette diversité intraspécifique a eu un impact positif sur la stabilité de la production au cours de l'année (figure 4a) et la réponse à la sécheresse (figure 4b). Cet impact positif de la diversité intraspécifique sur la production du couvert plurispécifique en termes de stabilité pourrait être dû à l'effet de cette diversité sur le décalage des pics de biomasse de chacune des espèces au cours du temps (asynchronie des espèces). En effet, la mesure de l'asynchronisme des espèces composant les microcommunautés montrait une valeur relative plus importante dans les microcommunautés comportant une plus grande diversité intraspécifique. La diversité intraspécifique des espèces composant le mélange permettrait donc une augmentation de l'asynchronie de croissance des espèces. Ce mécanisme d'asynchronisme des espèces est souvent mis en avant en écologie pour expliquer la stabilité des communautés végétales. Les traits pouvant être liés à la dynamique de croissance des espèces pourraient donc être des traits candidats pour raisonner la diversification



FIGURE 5 : Distribution annuelle de la vitesse de croissance des populations de type méditerranéen et tempéré.

FIGURE 5 : Speed of growth over the year for populations of temperate versus Mediterranean plant varieties.



FIGURE 6 : Biomasse de variétés de dactyle méditerranéennes et tempérées (Dm et Dt) cultivées en pur et en mélange au cours des 5 récoltes de 2013 et 2014. FIGURE 6 : Biomass production for temperate and Mediterranean varieties of cocksfoot (Dm et Dt) grown in monocultures or as part of mixtures; biomass was harvested 5 times between 2013 and 2014.

intraspécifique des mélanges interspécifiques. GASTAL et al. (2015) apputent cette hypothèse de diversification de dynamique de croissance à l'échelle intraspécifique sur des associations binaires graminées - légumineuses. En effet, dans cette expérimentation, la diversité génétique intraspécifique est représentée par l'utilisation de différentes variétés, des variétés de type méditerranéen et de type tempéré qui diffèrent notamment dans leur période de croissance (figure 5). Les populations méditerranéennes de fétuque élevée et de dactyle se caractérisent par une résistance à la sécheresse et une pérennité en climat chaud et sec plus grandes que les populations tempérées ou continentales (LELIÈVRE et MANSAT, 1990). Les populations méditerranéennes ont une croissance plus élevée en automne, hiver et début de printemps. Au contraire, les populations d'origine tempérée maintiennent un potentiel de croissance plus élevé en été, mais une vitesse de croissance plus faible en hiver, qui s'exprime par une dormance hivernale dans le cas de la luzerne. Sur les mélanges monospécifiques de variétés méditerranéenne et tempérée, les résultats ont montré une production de biomasse systématiquement intermédiaire entre la production des deux types de variétés cultivées en pur (figure 6). Comme dans Prieto et al. (2015), il n'apparaît donc pas de surproduction du mélange de variétés, mais une meilleure régularité de production entre cycles de récolte.

La mise en évidence de l'effet de l'asynchronie de croissance des génotypes/espèces sur la régularité, la stabilité de la production est un élément permettant d'expliquer la plus-value de la diversité intraspécifique des espèces composant le couvert. L'usage en mélange de populations au comportement méditerranéen et tempéré pourrait permettre aux zones fourragères du sud-ouest de l'Europe de s'adapter au moins en partie aux évolutions climatiques futures. De façon similaire, en Suisse, les variétés

Fourrages (2016) 225, 11-20

de fétuque élevée issues du pied du Jura (BADOUX, 1993) ont conduit à une demande croissante de cette espèce dans les mélanges semés en zones sèches (MOSIMANN *et al.*, 2010).

5. La diversité intraspécifique pour maintenir l'équilibre des espèces dans le mélange

Les résultats obtenus vont dans le sens d'une plusvalue de la diversité et de certaines stratégies de croissance tout en démontrant l'importance de l'identité fonctionnelle de certains traits, notamment racinaires, pour faire face à des épisodes de sécheresse. Mais il est important de considérer la dynamique des espèces composant le couvert dans le temps. Il est relativement bien établi que la composition spécifique du semis n'est pas forcément pérenne et que certaines espèces se développeront plus vite et plus intensément que d'autres qui pourront à terme disparaître. Par exemple, en Suisse, en zone sèche, les formules proposées pour la fauche souffrent du déséquilibre botanique provoqué par les graminées à touffes. De la même façon, une enquête conduite sur le terrain (par l'entreprise Jouffray-Drillaud) met en évidence la demande des agriculteurs d'améliorer le maintien de certaines espèces, en particulier les légumineuses, dans le couvert prairial plurispécifique.

BÉGUIER et LTRICO (2015) ont testé l'effet de la diversité intraspécifique (approchée par le nombre de variétés par espèce) sur l'équilibre des espèces dans les mélanges. Leur expérimentation contenant 15 mélanges, chacun composé de 7 espèces prairiales (ray-grass anglais, dactyle, fétuque, luzerne, lotier, trèfle blanc et trèfle violet), a été implantée en microparcelles en pleine terre (5x3 m) à Saint-Sauvant sur le site de l'entreprise Jouffray-Drillaud, avec 3 répétitions par modalité de mélange testé. Trois mélanges contenaient une seule variété par espèce (M-1); un mélange contenait Jusqu'à 3 variétés par espèce (M-2) et un mélange



* Plus cet indice est proche de 1 plus l'abondance entre espèces est équilibré e

FIGURE 7 : Indice d'équitabilité (E) de PIELOU (1966) de juin 2014 pour les différents mélanges prairiaux ensemencés avec des niveaux de diversité variétale variable.

FIGURE 7 : Value of evenness index (E, after PIELOU, 1966) in June 2014 for mixed grasslands with different levels of varietal diversity.

de chacune des espèces ont été choisies pour être contrastées sur leur phénologie, leur architecture et leur pool génétique originel. M-3 comportait en son sein une diversité plus contrastée que M-2. La biomasse produite par chaque mélange a été estimée trois fois par an et un tri des espèces a été systématiquement conduit sur un sous-échantillon de chaque microparcelle. Les résultats de cette expérimentation confirment l'effet positif de la diversité intraspécifique sur la stabilité temporelle de la production. La variation temporelle de la biomasse produite, mesurée par le coefficient de variation dans le temps, est plus faible dans le mélange M-3 abritant la plus grande diversité intraspécifique (coef=0,03) que dans les mélanges M-1 avec une seule variété par espèce (coef=0,18). Mais en plus de confirmer les résultats trouvés dans les autres dispositifs (GASTAL et al., 2015; PRIETO et al., 2015) décrits précédemment, l'analyse des données de cet essat a mis en évidence une plus-value de la diversité intraspécifique sur l'équilibre d'abondance des différentes espèces (figure 7) dans le couvert (mesuré avec l'indice d'équitabilité de PIELOU, 1966).

Conclusion

Ces différentes études mettent en évidence une plusvalue de la diversité spécifique et intraspécifique sur la production des prairies face au changement climatique et en particulier face aux épisodes de sécheresse. La diversité spécifique et la diversité intraspécifique semblent avoir un effet positif complémentaire sur la production. La première agissant préférentiellement sur la surproduction et la seconde sur la stabilité de la production. Mais le choix des espèces et des génotypes à assembler reste une question prioritaire. En effet, nous avons vu que, dans le choix de l'assemblage, la diversification de certains traits, comme les traits fonctionnels racinaires, n'est pas forcément une plus-value. En revanche, la diversification des traits liés à des stratégies de croissance décalées dans le temps pourrait avoir un effet positif. Ce choix d'assemblage nécessite de définir correctement les règles, qui pourraient être basées sur les traits des espèces et des génotypes. Ces traits constitueraient alors des critères à introduire dans les processus de sélection en amélioration des plantes. La sélection de ces traits devra alors se faire autour de valeurs de diversité et de moyenne spécifique à chacun d'entre eux (LITRICO et VIOLLE, 2015). Cette approche, basée sur les critères de sélection, pourrait aussi être couplée à la définition de nouveaux schémas de sélection permettant de prendre en compte les interactions génotypexgénotype de même espèce et d'espèces différentes sans maîtriser l'ensemble des règles d'assemblage. Pour ce faire, il sera sûrement nécessaire à l'avenir de développer de nouvelles méthodologies de sélection pour l'obtention de variétés dédiées spécifiquement à une utilisation en mélange, voire l'obtention directe de mélanges interspécifiques améliorés. Nos résultats ouvrent des pistes intéressantes pour l'amélioration des espèces destinées à une utilisation en mélange. Cependant, les implications réglementaires assoctées à ces types de couverts devront également être évaluées. Elles auront des impacts majeurs sur l'inscription et la certification de ces variétés et mélanges commercialisés. En effet (STRAÉBLER, cet ouvrage), ces mélanges représentent actuellement 23 % du marché des fourrages prairiaux.

> Accepté pour publication, le 23 février 2016

Remerciements : Ce travail a bénéficié de l'aide du projet CLIMAGIE du métaprogramme Adaptation au Changement Climatique de l'Agriculture et de la Forêt (ACCAF) de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABRAMS P. (1983): "The theory of limiting similarity", Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst., 14, 359-376.
- ALLARD R.W. (1961: "Relationship between genetic diversity and consistency of performance in different environments", Crop Science, 1, 127-133.
- BADOUX S. (1993) : "Elfina, première variété suisse de fétuque élevée", *Revue suisse d'agriculture*, 25 (3), 177-180.
- BARKAOUI K., BIROUSTE M., BRISTIE P., ROUMET C., VOLAIRE F. (2015) : "La diversité fonctionnelle racinaire peut-elle favoriser la résilience des mélanges de graminées méditerranéennes sous sécheresses sévères ?", J.L. Durand et al. éd., Adaptation des Prairies semées au changement climatique, INRA, Poitiers, 16-17 novembre 2015.
- Béquier, V., Litraico I. (2015) : "Mettre au point des mélanges d'espèces efficaces et stables en prairie semée", J.L. Durand et al. éd., Adaptation des Prairies semées au changement climatique, INRA, Poitiers, 16-17 novembre 2015.
- BINDI M., OLESEN J.E. (2011): "The responses of agriculture in Europe to climate change", *Regional Environmental Change*, 11: S151-S158.
- CALANCA P., DELÉGUSE C., MARTIN R., CARRÉRE P., MOSIMANN E. (2016) : "Testing the ability of a simple grassland model to simulate the seasonal effects of drought on herbage growth", *Field Crops Res.*, 12-23, DOI information: 10.1016/j.fcr.2015.12.008
- CHAVES M.M. (2002) : "How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth", Ann. Bot., 89, 907-916.
- DURAND J.L., BARIAC T., GHESQUIÈRE M., BIRON P., RICHARD P., HUMPHREYS M., ZWIERZYKOVSKI Z. (2007): "Ranking of the depth of water extraction by individual grass plante, using natural 18O isotope abundance", *Environmental and Experimental Botany*, 60, 137-144.
- DURAND J.L., BERNARD F., LARDY R., GRAUX I. (2010): "Changement climatique et Prairies: l'escentiel des impacts", Brisson et Levraud éd., Livre vert du projet climator. Changement climatique, agriculture et forêt en France : simulations d'Impacts sur lesprincipales espèces, ADEME et INRA, 181-190.
- FINCKH M., GACEK E., GOYEAU H., LANNOU C., MERZ U., MUNDT C., MUNK L., NADZIAK J., NEWTON A. C., DE VALLAVIEILE-POPE C., WOLFE M.S. (2000) : "Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance", *Agronomie*, 20, 813-837.
- FINN J.A., KIRWAN L., CONNOLLY J., SEBASTIÀ M.T., HELGADOTTIR A., BAADSHAUG O.H., BELANGER G., BLACK A., BROPHY C., COLLINS R.P., COP J., DALMANNSDÓTTIR S., DELGADO I., ELGERSMA A., FOTHERILL M., FRANKOW-LINDBERG B.E., GHESQUERE A., GOLINSKA B., GOLINSKA P., GRIEU P., GUSTAVSSON A., HÖGLIND M., HUGUENIN-ELIE O., JØRGENSEN M., KADZIULIENE Z., KURKI P., LLURBA R., LUNNAN T., PORQUEDDU C., SUTER M., THUMM U., LÜSCHER A. (2013) : "ECOSYSTEM function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: a 3-year continental-scale field experiment", J. Applied ECOL, 50 (2), 365-375.

- GASTAL F., FERNANDEZ L., LOUARN G., JULIER B., BARRADAS A., CRESPO D., GODINHO B. (2015): "Les mélanges de variétés méditerranéennes/tempérées comme stratégie d'adaptation des espèces fourragères au changement climatique ?", J.L. Durand et al. éd., Adaptation des Prairies semées au changement climatique, INRA, Poitiers, 16-17 novembre 2015.
- GIANNAKOPOULOS C., LE SAGER P., BINDI M., MORIONDO M., KOSTOPOULOU E., GOODESS C.M. (2009): "Climatic changes and associated impacts in the Mediterranean resulting from a 2 degrees C global warming", *Global and Planetary Change*, 68, 209-224.
- GRIME J.P. (2006): "Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: mechanisms and consequences", J. Veg. Sci., 17, 255-260.
- HECTOR A., SCHMID B., BEIERKUHNLEIN C., CALDEIRA M. C., DIEMER M., DIMITRAKOPOULOS P. G., FINN J. A., FREITAS H., GILLER P. S., GOOD J., HARRIS R., HÖGBERG P., HUSS-DANELL K., JOSHI J., JUMPPONEN A., KÖRNER C., LEADLEY P. W., LOREAU M., MINNS A., MULDER C.P.H., O'DONOVAN G., OTWAY S. J., PEREIRA J. S., PRINZ A., READ D. J., SCHERER-LORENZEN M., SCHULZE E.D., SIAMANTZIOURAS A.S.D., SPEHN E. M., TERRY A. C., TROUMBIS A. Y., WOODWARD F.I., YACHI S., LAWTON J.H. (1999): "Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands", Sci., 5, 286, 1123-1127.
- 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.
- HOCKETT E.A., ESLICK R.F., QUALSET C.O., DUBBS A.L., STEWART V.R. (1983) : "Effects of natural selection in advanced generations of barley composite cross II", Crop Sci., 23, 752-756.
- HOEKSTRA N.J., FINN J.A., HOFER D., LÜSCHER A. (2014): "The effect of drought and interspecific interactions on depth of water uptake in deep- and shallow-rooting grassland species as determined by D18O natural abundance", *Biogeosci.*, 11, 4493-4506.
- HOOPER D.U., CHAPIN III F.S., EWEL J.J., HECTOR A., INCHAUSTI P., LAVOREL S., LAWTON J.H., LODGE D., LOREAU M., NAEEM S., SCHMID B., SETALA H., SYMSTAD A.J., VANDERMEER J., WARDLE D.A. (2005) : "Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge", *Ecol. Monogr.*, 75, 3–35.
- IPCC (2013): Climate change 2013 : The physical Science Basis. Contribution of working group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker T.F., Qin D., Plattner G.K., Tignor M., Allen S.K., Boschung J., Nauels A., Xia Y., Bex V., Midgley P.M. eds], Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- KIRWAN L., LUSCHER A., SEBASTIA M.T., FINN J.A., COLLINS R.P., PORQUEDDU C., HELGADÓTTIR Á., BAADSHAUG O.H., BROPHY C., CORAN C., DALMANNSDÓTTIR S., DELGADO I., ELGERSMA A., FOTHERGILL M., FRANKOW-LINDBERG B.E., GOLINSKI P., GRIEU P., GUSTWISSON A., HÖGLIND M., HUGUENIN-ELIE O., ILIADIS C., JØRGENSEN M., KADZIULENE Z., KARVOTIS T., LUNNAN T., MALENGIER M., MALTONI S., MEYER V., NYFELER D., NYKONEN-KURKI P., PARENTE J., SMIT H.J., THUMM U., CONNOLLY J. (2007): "Evenness drives consistent diversity effects in intensive grassland systems across 28 European sites", J. Ecology, 95 (3), 530-539.
- LELIÈVRE F., MANSAT P. (1990) : "La production de semences fourragères et les recherches nécessaires pour l'améliorer dans les pays méditerranéens de la CEE", Caredda S., Roggerao PP. ed., Proc. Int. Conf., Sassari, Italy, 29-31 Oct., CNR-CSMPP, 83-108.
- LESICA P., ALLENDORF F.W. (1999): "Ecological Genetics and the Restoration of Plant Communities: Mix or Match?", *Restoration Ecology*, 7, 1, 42-50.
- LITRICO I., VIOLLE C. (2015): "Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework", *Trends in Plant Sci.*, 10/2015; DOI:10.1016/j.tplants.2015.07.007.
- LOREAU M., HECTOR A. (2001): "A. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments", Nature, 412, 72-76.

Fourrages (2016) 225, 11-20

- LOUARN G., PEREIRA-LOPES E., FUSTEC J., MARY B., VOISIN A.S., CARVALHO P.C.D., GASTAL F. (2015): "The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grasslegume mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality", *Plant and Soll*, 389: 1-2, 289-305.
- Lub.ow M.M. (1989) : "Strategies of response to water stress", K. Kreeb, H. Richter, T. Hinckley, eds, Structural and functional responses to environmental stresses, The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishers, 269-281.
- MACARTHUR R.H., LEWINS R. (1967): "The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species", Am. Nat., 101, 377-385.
- MARIOTTE P., ROBROEK B., JASSEY V.E.J., BUTTLER A. (2015) : "Subordinate plants mitigate drought effects on soil ecosystem processes by stimulating fungi", *Functional Ecology*, sous presse.
- MOSIMANN E., SCHMIED R., THUILLARD C.P., THOMET P. (2010) : "Production de viande sur prairies temporaires: intérêt de la fétuque élevée", *Rech. Agron. Suisse*, 1(5), 194-201.
- Mosimmin E., Meissen M., DeLéguise C., JEANGROS B. (2012): "Potentiel fourrager des p\u00e4turages du Jura", *Rech. Agron. Suisse*, 3 (11-12), 516-523.
- MUELLER K.E., TILMAN D., FORNARA D.A., HOBBIE S.E. (2013) : "Root depth distribution and the diversity-productivity relationship in a longterm grassland experiment", *Ecology*, 94, 787-793.
- NYFELER D., HUGUENIN-ELIE O., SUTER M., FROSSARD E., CONNOLLY J., LÜSCHER A. (2009): "Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding", J. Applied Ecology, 46, 683-691.
- PÉREZ-RAMOS I.M., VOLAIRE F., FATTET M., BLANCHARD A., ROUMET C. (2013): "Tradeoffs between functional strategies for resourceuse and drought-survival in Mediterranean rangeland species", *Env. and Exp. Botany*, 87, 126-136.
- PICON-COCHARD C., HERNANDEZ P. (2015): "Rôle des racines profondes dans la récupération après un stress hydrique sévère de mélanges prairiaux", J.L. Durand et al. éd., Adaptation des Prairies semées au changement climatique, INRA, Poitiers, 16-17 novembre 2015.
- PICON-COCHARD C., NSOUROU-OBAME A., COLLET C., GUEHL J.M., FERH A. (2001) : "Competition for water between walnut seedlings (Juglans regia) and rye grass (Lolium perenne) assessed by carbon isotope discrimination and d180 enrichment", Tree Physiol., 21, 183-191.
- PIELOU E.C. (1966) : "The measurement of diversity in different types of biological collections", J. Theoretical Biology, 13, 131-44.
- PRIETO I., VIOLLE C., BARRE P., DURAND J.L., GHESQUERE M., LITRICO I. (2015): "Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands", *Nature Plants*, DOI: 10.1038/NPLANTS.2015.3.3
- RASMUSSON D.C., BEARD B.H., JOHNSON F.K. (1967) : "Effect of natural selection on performance of a barley population", Crop Science, 7, 543.
- RICHARDSON P.J., HORROCKS J., LARSON D.W. (2010): "Drought resistance increases with species richness in restored populations and communities", *Basic and Applied Ecology*, 11, 204-215.
- SKINNER R.H., SANDERSON M.A., TRACY B.F., DELL C.J. (2006): "Aboveand belowground productivity and soil carbon dynamics of pasture mixtures", Agron. J., 98, 320-326.
- SUTER D., HIRSCHI H.U., FRICK R., AEBI P. (2013) : "Nouveaux essais sur le trêfle blanc et le pâturin des prés", *Rech. Agron. Suisse*, 4 (10), 416-423.
- TILAHUN A. (1995): "Yield gain and risk minimization in maize (Zea mays) through cultivar mixtures in semi-arid zones of the rift valley in Ethiopia", Exp. Agric., 31, 161-168.
- TILMAN D., WEDIN D., KNOPS J. (1996): "Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems", *Nature*, 379, 718-720.

19

- TILMAN D., REICH P., KNOPS J. WEDIN D.A., MIELKE T., LEHMAN C. (2001) : "Diversity and productivity in a long-term grassland experiment", Science, 294, 843-845.
- TUBIELLO N., SOUSSANA J.F., HOWDEN S.M. (2007) : "Crop and pasture response to climate change", Proc. National Acad. Sciences, 104 (50), 19686-19690
- VOLNRE F., BARKAOUI K., NORTON M. (2014): "Designing resilient and sustainable grasslands for a drier future: Adaptive strategies, functional traits and biotic interactions", *Europ. J. Agronomy*, 52, 81-89.
- 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", *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 125-159. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150452.
- ZWICKE M., PICON-COCHARD C., MORWAN-BERTRAND A., PRUD'HOMME M.P., VOLAIRE F. (2015): "What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland?", Ann. Bot., 116, 1001-1015.

20