



# **Dynamique de population d'une légumineuse du sous-bois de la forêt landaise (*Ulex europaeus*) dans le cadre de la sylviculture du pin maritime : proposition d'un modèle conceptuel**

Florian Delerue

## **► To cite this version:**

Florian Delerue. Dynamique de population d'une légumineuse du sous-bois de la forêt landaise (*Ulex europaeus*) dans le cadre de la sylviculture du pin maritime : proposition d'un modèle conceptuel. Sciences du Vivant [q-bio]. Université des Sciences et Technologies (Bordeaux 1), 2013. Français. <NNT : >. <tel-02807517>

**HAL Id: tel-02807517**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02807517v1>**

Submitted on 6 Jun 2020

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

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



HAL Authorization

N° d'ordre: 4805

**Thèse présentée par:**  
**Florian DELERUE**

Pour l'obtention du grade de: **Docteur**  
 Spécialité: **Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés**

**Dynamique de population d'une légumineuse  
 du sous-bois de la forêt landaise (*Ulex europaeus*)  
 dans le cadre de la sylviculture du pin maritime.  
 Proposition d'un modèle conceptuel**



**Thèse dirigée par:**

|                      |                  |                                              |
|----------------------|------------------|----------------------------------------------|
| <i>Directeur</i>     | Sylvain PELLERIN | DR / HDR, INRA Bordeaux-Aquitaine            |
| <i>Co-Directeur</i>  | Laurent AUGUSTO  | CR / HDR, INRA Bordeaux-Aquitaine            |
| <i>Co-Directrice</i> | Maya GONZALEZ    | Maître de Conférence, Bordeaux Sciences Agro |

Date de soutenance: **le 27 juin 2013**

**Jury:**

|                      |                    |                                                      |
|----------------------|--------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Rapporteurs</i>   | Philippe BALANDIER | DR / HDR, IRSTEA Nogent, INRA Clermont-Ferrand       |
|                      | Danièle MAGDA      | DR / HDR, INRA Toulouse                              |
| <i>Examineurs</i>    | Bart MUYS          | Professeur, Katholieke Universiteit Leuven           |
|                      | Jean-Claude GEGOUT | Professeur / HDR, AgroParisTech Nancy                |
|                      | Blaise TOUZARD     | Maître de Conférence / HDR, Université de Bordeaux 1 |
| <i>Directeur</i>     | Sylvain PELLERIN   | DR / HDR, INRA Bordeaux-Aquitaine                    |
| <i>Co-Directrice</i> | Maya GONZALEZ      | Maître de Conférence, Bordeaux Sciences Agro         |



**Dynamique de population d'une légumineuse du sous-bois de la forêt landaise  
(*Ulex europaeus*) dans le cadre de la sylviculture du pin maritime. Proposition d'un  
modèle conceptuel**

**Résumé**

La fixation symbiotique d'azote par l'ajonc d'Europe (*Ulex europaeus*) représente une source importante d'azote dans la forêt cultivée de pins maritimes des 'Landes de Gascogne'. Cette thèse a pour objectif la création d'un modèle conceptuel de dynamique de population de l'ajonc dans la région en vue de la prédiction du flux d'azote associé. Pour cela plusieurs étapes du cycle de vie de l'espèce ont été étudiées: la production et la prédation des graines, puis le recrutement de nouveaux individus depuis le stock de graines du sol.

Nos résultats suggèrent que le maintien de cette espèce héliophile à l'ombre de la canopée des pins est facilité par la diminution de l'allocation de ressources à la reproduction, lui permettant de maintenir sa croissance, et par la diminution de la prédation des graines. Par ailleurs, le recrutement de nouveaux ajoncs semble influencé par des facteurs écologiques identifiables (e.g. humidité du sol). Mais ces facteurs sont fortement variables dans l'espace et dans le temps, et aucun micro-habitat n'apparaît comme plus favorable à la régénération de l'espèce.

Ces résultats sont intégrés à un modèle conceptuel, représentant les différentes étapes du cycle de vie de l'espèce, et l'impact des opérations sylvicoles sur ces étapes. Les connaissances issues de cette thèse pourraient aussi bénéficier à d'autres problématiques liées à l'espèce (e.g. c'est une espèce invasive dans de nombreuses régions du monde) et à la compréhension de l'écologie de la régénération des espèces ligneuses. En effet, l'allocation des ressources à la reproduction pourrait être plastique et permettre une réponse adaptative à un environnement changeant; et la variabilité spatio-temporelle de la régénération des ligneux pourrait reposer sur l'existence de niches écologiques de régénération définies dans l'espace écologique.

**Mots clés**

Dynamique de population, sous-bois, plantes ligneuses, modèle spatialement explicite, allocation à la reproduction, prédation avant la dispersion, niche de régénération.



# **Population dynamic of an understory legume (*Ulex europaeus*) in the context of forestry of maritime pine in the 'Landes de Gascogne'. Proposition for a conceptual model**

## **Abstract**

Symbiotic nitrogen fixation by European gorse (*Ulex europaeus*) is a major source of nitrogen in the 'Landes de Gascogne' cultivated forest of maritime pine. This thesis aimed to build a conceptual model of the population dynamic of gorse in the region, with a view to predict the associated flux of nitrogen. To achieve this, several steps of the life cycle of the species were studied: production and predation of seeds, and the recruitment of new plants from the seedbank.

The results suggest that the maintenance of this light demanding species in the shade of the canopy of pines is improved by the decrease of reproductive allocation, which enable to maintain its growth, and by the decrease of the predation of seeds. The recruitment of new gorse plants seems controlled by identifiable ecological factors (e.g. soil moisture), however these factors are highly variable in space and time, and no specific micro-habitat appears to be more favourable for the species regeneration.

These results are integrated into a conceptual model based on the different steps of the life cycle of the species, and taking into consideration the influence of forestry practices on these steps. Furthermore, the production of knowledge could benefit other subjects related to the species (e.g gorse is a noxious weed in many regions in the world) and the understanding of the ecology of woody plants' regeneration. Allocation of resources to reproduction may be plastic and enable an adaptative response to a changing environment; and spatiotemporal variability of the regeneration of woody plants may rely on the existence of ecological regeneration niches defined in the ecological space.

## **Key words**

Population dynamic, understory, woody plants, spatially explicit models, reproductive allocation, predispersal seed predation, regeneration niche.

# REMERCIEMENTS

---

Je souhaitais d'abord remercier mes directeurs et codirecteurs de thèse pour m'avoir laissé la liberté nécessaire au plaisir de l'activité de recherche, tout en sécurisant et balisant le parcours pour assurer le bon déroulement de ces trois dernières années. Merci pour ce subtil dosage, et pour vos qualités de formateur que j'ai constamment ressenti à vos côtés. Merci à Sylvain pour sa capacité à prendre un recul très rapide et dégager l'essentiel pour avancer. Merci à Maya pour ses compétences d'écologue et les nombreuses discussions sur le fond, merci à Laurent qui de part sa proximité (presque le bureau d'à côté), et contraint par mes débarquements à l'improviste (et interruptions des solos de Dave Mustaine), a fait tout ça à la fois. Merci pour votre bienveillance, votre amitié, et pour votre confiance malgré mon parcours et mon profil atypique (au sens propre comme au figuré). Merci pour votre disponibilité constante, prêts à partir sur le terrain à 2 h du matin, ou à passer des journées entières sous la pluie ou sous la canicule à se piquer à des plantes hostiles au point de déclencher des réactions allergiques. Merci pour les discussions qui passent de la science à Tolkien aux grés des kilomètres en voiture. Merci pour les bons moments passés ensemble. Merci pour le rire et le sérieux.

Et puis il y a toute l'unité TCEM, techniciens, chercheurs, ingénieurs, thésards. Sylvie et Nathalie, le duo de choc. Je n'ai pas réussi à suivre votre rythme, et je finis ma thèse avec encore des résultats d'analyses que je n'ai pas touché. Merci pour votre précieux travail. Sylvie (la deuxième du nom), merci pour tous ces jours de terrain, même si j'ai parfois oublié le café (et appris à ne plus l'oublier), et merci pour avoir construit les outils appropriés! Merci à Anne et David pour l'aventure GBC commune, toujours dans la bonne humeur. David, je croise les doigts pour la suite. Merci à Loïc pour croire en l'avenir des précaires, merci à André pour l'animation politique, merci à Alain pour son investissement dans le modèle (cela paiera un jour prochain j'espère), merci à Christophe pour les stats, merci à Pascal, Christian, Jean-Christophe pour leur compagnie et disponibilité. Corinne, merci d'avoir veillé à ce que tout se passe bien et dans les règles, et merci pour ta gentillesse. Mark, merci pour m'avoir fait confiance dans ton travail, et aidé dans le mien, merci pour perpétuer la tradition du Yorkshire. Marie, merci d'avoir partagé les galères sous R! Merci à Laurence pour l'huile apportée au moulin, merci d'avoir permis une entrée d'oxygène de trois mois pour ma fin de thèse.

J'ai eu aussi le plaisir d'échanger avec de nombreuses personnes extérieures à l'unité. Merci à Alexandre Bosc, Pierre Trichet, Céline Meredieu et Christophe Chipeaux pour l'appui scientifique, merci à toute l'unité expérimentale de Pierroton, et en particulier à Frédéric Bernier et Luc Puzos pour leur disponibilité. Merci plus spécifiquement à Richard Hill et Dean Drake pour les échanges concernant l'ajonc d'Europe à travers le monde. Merci à Richard Michalet pour les éclairages sur la niche écologique.

J'espère pouvoir me rendre à Montpellier prochainement pour terminer le travail de modélisation commencé avec François de Coligny. Merci à lui pour son intérêt pour mon travail, merci pour son volontarisme. Merci à Anne Atlan et Michèle Tarayre pour leur accueil à Rennes. J'espère que notre collaboration pourra continuer (c'est bien parti, pas moins de 3 mails le jour de l'écriture de ces remerciements). Merci pour ces échanges fructueux, et pour ce regard à la fois extérieur et proche sur mon travail. Merci d'avoir pris ce temps. Philippe Balandier, Emmanuel Corcket, Bernard Prévosto, Claude Monteil, merci pour votre participation aux comités de pilotage, et merci pour vos remises en questions indispensables.

Si le lecteur est avisé, il s'attend maintenant à ce que l'on quitte le milieu professionnel pour rejoindre la sphère personnelle. Cela paraît assez logique puisqu'au cours d'une thèse, on n'est

pas toujours disponible, ni de bonne humeur, un peu irascible, parfois fatigué, parfois content quand tout s'illumine (ou que le papier est passé), ou qu'on a simplement passé une bonne journée. Marlène, je garde mes rimes pour d'autres occasions et tes seuls yeux, mais voilà, s'achève pour nous encore une expérience de plus, encore un cycle, et le soleil brille toujours. La suite n'en sera que plus belle. Zaka, merci d'être là, merci d'être plus important que tout ça. Je ne te remercierai pas pour les nuits en dents de scie (ah ça non!), mais si un jour toi aussi tu fais comme les autres, et que tu ne lis de ce manuscrit trop épais que les premières pages de remerciements, saches que tes sourires, grimaces, tes nombreux pourquoi, tes blagues et moments de folie m'ont rempli tout au long de ce travail qui s'achève et qu'ils me sont simplement devenus indispensables.

Alors bien sûr faire une thèse devient plus facile quand on sait qu'on peut compter sur le soutien sans faille de sa famille (et belle-famille). C'était bien ces trois dernières années de revenir au pays, et de se voir plus souvent. Cela faisait longtemps que l'on avait envie de ça. Merci pour votre soutien affectif indéfectible. Quant aux valeureux membres du PSS, vous êtes mon équilibre, et ce depuis déjà bien longtemps. Heureusement que tout ça a continué ces trois dernières années. Arnaud, Jean-Mi, vous êtes toujours mon inspiration.

Et puis, en clin d'œil à tous mes amis d'ailleurs que j'ai quitté bien trop précipitamment, "*boul grenn mwen e tout lòt yo*", et si vous vous demandez ce que j'ai fait ces derniers temps, je vous rappellerais simplement un proverbe que je trouve approprié à la situation: "*ak pasyans nou ka wè tete founmi*" (Avec de la patience, on peut voir les mamelles d'une fourmi).

A bientôt à tous.

# SOMMAIRE

---

|                                                                                                                                                                                                                                                   |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>INTRODUCTION .....</b>                                                                                                                                                                                                                         | <b>1</b>   |
| <br><b>Chapitre 1: ETAT DE L'ART.....</b>                                                                                                                                                                                                         | <b>5</b>   |
| A. L'écosystème landais et la sylviculture du pin maritime .....                                                                                                                                                                                  | 5          |
| B. L'ajonc d'Europe: écologie et cycle de vie dans le contexte de la sylviculture du pin maritime..                                                                                                                                               | 16         |
| C. Modélisation de la dynamique des populations végétales, modèles d'espèces de sous-bois et modèles dédiés à la dynamique de l'ajonc d'Europe.....                                                                                               | 31         |
| D. Précision des objectifs de recherche: cahier des charges du modèle et questions d'intérêt scientifique .....                                                                                                                                   | 49         |
| <br><b>Chapitre 2: MATERIEL ET METHODES.....</b>                                                                                                                                                                                                  | <b>59</b>  |
| A. La démarche expérimentale vue dans son ensemble .....                                                                                                                                                                                          | 59         |
| B. L'étude de la fécondité des ajoncs d'Europe .....                                                                                                                                                                                              | 61         |
| C. L'impact de la prédation .....                                                                                                                                                                                                                 | 66         |
| D. Chronologie du protocole suivi pour l'étude de la fécondité et de la prédation .....                                                                                                                                                           | 68         |
| E. Facteurs influençant l'émergence et le développement des plantules d'ajoncs en phase pionnière.....                                                                                                                                            | 69         |
| <br><b>Chapitre 3: RESULTATS .....</b>                                                                                                                                                                                                            | <b>73</b>  |
| A. Plasticity of reproductive allocation of a woody species ( <i>Ulex europaeus</i> ) in response to variation in resource availability .....                                                                                                     | 73         |
| B. Multi-scale analysis of pre-dispersal seed predation of gorse ( <i>Ulex europaeus</i> ) by the weevil <i>Exapion ulicis</i> and the moth <i>Cydia succedana</i> along a light and a density gradient: implications for biological control..... | 93         |
| C. Spatiotemporal variability of the recruitment of a leguminous shrub: the contribution of Hutchinson to the regeneration niche concept.....                                                                                                     | 113        |
| <br><b>Chapitre 4: MODELE CONCEPTUEL, CHOIX DES FORMALISMES ET DEFINITION DES PARAMETRES .....</b>                                                                                                                                                | <b>136</b> |
| A. Présentation du modèle conceptuel .....                                                                                                                                                                                                        | 136        |
| B. Description du modèle étape par étape: choix des formalismes et définition des paramètres:...                                                                                                                                                  | 144        |
| <br><b>Chapitre 5: DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>                                                                                                                                                                                   | <b>183</b> |
| A. La dynamique des populations d'ajoncs dans la parcelle de pins maritimes, originalité et avancement de la démarche de modélisation .....                                                                                                       | 183        |
| B. L'ajonc d'Europe, un modèle d'étude pour la recherche en écologie .....                                                                                                                                                                        | 191        |
| C. Apports pour l'écologie de la régénération des ligneux .....                                                                                                                                                                                   | 195        |
| D. Perspectives.....                                                                                                                                                                                                                              | 202        |
| <br><b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>                                                                                                                                                                                                      | <b>204</b> |
| <b>ANNEXES.....</b>                                                                                                                                                                                                                               | <b>223</b> |





# INTRODUCTION

---

A l'échelle mondiale, la demande en bois augmente, alors que les surfaces forestières diminuent (Brown, 2000). Les forêts restantes sont alors soumises à une pression de production plus importante. Cela se traduit notamment par l'augmentation des surfaces forestières plantées gérées intensivement, dont la proportion dans la surface boisée mondiale a doublé depuis 1995 pour atteindre 7% (FAO, 2010). Les forts rendements de production attendus des forêts de production s'accompagnent d'une exportation importante, lors de la récolte, des éléments nutritifs puisés dans les sols et contenus dans le bois (Augusto et al., 2008; Ranger et al., 2002). Ces systèmes de production intensifs peuvent aboutir à un appauvrissement des sols (Johnson et al., 1991) et leur durabilité n'est pas garantie. L'utilisation de fertilisants chimiques est un moyen couramment utilisé pour rééquilibrer les bilans de fertilité. Mais l'azote (N), élément nutritif majeur, est soluble dans la solution du sol et fortement lessivable sous forme minérale assimilable. La capacité des systèmes forestiers à capter et bénéficier des apports ponctuels importants en azote est alors relativement limitée (e.g. Loustau et al., 1999), et ceux-ci peuvent engendrer une contamination en nitrates des eaux souterraines (e.g. Smethurst et al., 2004). Sans restitution et avec les pratiques de gestion intensive des forêts de production, le maintien à long terme de la fertilité chimique azotée pose question (Laclau et al., 2005; Ranger et al., 2002).

La forêt des *Landes de Gascogne* est la plus grande forêt plantée d'Europe. Elle couvre près d'un million d'hectares dans le Sud-Ouest de la France. Elle est constituée d'une majorité de parcelles plantées en pins maritime (*Pinus pinaster* Ait) qui couvrent environ 75% du massif forestier (Inventaire Forestier National (IFN), [www.ifn.fr](http://www.ifn.fr)) et sont gérées intensivement (e.g fertilisation phosphatée, rotation courtes, mécanisation importante). Sa productivité a doublé en quelques dizaines d'années (Thiviolle-Cazat and Najar, 2001) suite à l'amélioration des techniques culturales, permettant d'atteindre plus de  $600 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$  au cours de l'ensemble de la rotation (dont près de  $400 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$  lors de la récolte finale) (ONF, 2003). Aujourd'hui, la filière bois en Aquitaine représente près de 30 000 emplois, soit 16.5% des emplois du secteur forestier national (CRPF, 2005). La durabilité de sa production est donc un enjeu socio-économique majeur.

En lien avec la dynamique nationale et les politiques publiques incitatives, les besoins futurs en biomasse forestière dans la région devraient continuer d'augmenter avec la demande en bois-énergie et matériaux de construction, ainsi que le rôle de plus en plus important attribué à la séquestration et au stockage du carbone (ADEME, 2006; CRPF, 2009; Mora et al., 2012). Des évolutions des itinéraires sylvicoles sont donc envisagées, mais les sols du massif forestiers landais étant très pauvres (Achat et al., 2009; Augusto et al., 2010), le maintien de la fertilité des sols landais pourrait-être remis en question par ces nouvelles pratiques. Le stock total d'azote du sol dans la région est estimé entre 2 et  $8 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  d'azote selon la fertilité du site (Augusto et al., 2010), et l'azote est le second élément nutritif limitant dans le massif, le premier étant le phosphore (Trichet et al., 2009; Trichet et al., 2008). Les exportations d'azote dans la biomasse récoltée varient entre 3 et  $18 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$  selon l'itinéraire suivi et la fertilité du site (Augusto et al., 2010), et pourraient augmenter avec les nouvelles pratiques. Cependant, elles ne sont pas restituées par la fertilisation, contrairement à ce qui est couramment pratiqué pour le phosphore.

La fixation symbiotique d'azote (SNF) représente un flux majeur d'entrée d'azote dans les écosystèmes à l'échelle mondiale, produisant environ 30% de l'azote assimilable créé chaque année (Galloway et al., 2004). Que ce soit en forêts primaires ou en forêts plantées, les fixateurs d'azote contribuent au maintien de la fertilité (Binkley et al., 2003; Bouillet et al., 2008; Roggy and Prevost, 1999). La symbiose s'effectue entre des micro-organismes capables de réduire le diazote atmosphérique ( $\text{N}_2$ ) en azote ammoniacal ( $\text{NH}_3$ ) assimilable d'une part, et des plantes fournissant sucres et énergie issus de la photosynthèse pour permettre la réduction

d'autre part (Marschner, 1995). La symbiose la plus courante associe des bactéries du genre *Rhizobium* à des plantes de la famille des Fabacées (i.e. les légumineuses), et est caractérisée par la formation de nodosités au niveau des racines de la plante, siège de la symbiose et des échanges.

Dans le massif forestier landais, plusieurs arbustes fixateurs symbiotiques d'azote atmosphérique sont spontanément présents dans le sous-bois: le genêt à balais: *Cytisus scoparius* L., l'ajonc nain: *Ulex minor* L. et l'ajonc d'Europe: *Ulex europaeus* L. L'ajonc d'Europe est de loin la légumineuse la plus abondante dans le massif. Le genêt à balais et l'ajonc nain sont absents respectivement dans 85% et 74 % des relevés botaniques de l'IFN, mais l'ajonc d'Europe est présent dans la majorité (60%) de ces relevés, et abondant dans près de 20% d'entre eux (i.e. Indice Braun Blanquet  $\geq 3$  (recouvrement  $\geq 25\%$ )). En conséquence, lorsque l'on cherche à estimer le flux de fixation symbiotique d'azote dans la région, il convient d'abord de s'intéresser au flux lié à la présence de l'ajonc d'Europe. Lorsque cette espèce est très abondante au sein d'une parcelle, ce flux pourrait représenter environ  $20 \text{ kg.ha}^{-1}\text{an}^{-1}$  d'azote (Augusto et al., 2005), pouvant participer à l'équilibre des bilans azotés au sein de la parcelle forestière et contribuer au maintien de la fertilité des sols forestiers.

Le flux entrant d'azote atmosphérique sur un intervalle de temps et une surface donnés peut-être considéré comme le résultat croisé de i) l'abondance de l'espèce fixatrice (i.e. le nombre d'individu), ii) la dynamique d'accroissement de biomasse de chacun de ces individus, iii) la teneur en azote contenue dans la biomasse produite par ces individus et iv) la part d'azote d'origine atmosphérique dans l'approvisionnement de la plante en N (i.e. le  $\%N_{\text{dfa}}$  ou  $\%N_{\text{derived from atmosphere}}$ ).

Les quantités de phosphore et d'azote biodisponibles dans la solution du sol sont 2 facteurs importants régulant la fixation symbiotique d'azote (e.g. Graham and Rosas, 1979; Voisin et al., 2002). Cependant le  $\%N_{\text{dfa}}$  de l'ajonc d'Europe y est peu sensible car 1) les légumineuses ont des stratégies d'acquisition du phosphore *in situ* qui leur permettent de maintenir un  $\%N_{\text{dfa}}$  optimal (Augusto et al., submitted, cf Annexe 5), et 2) l'ajonc d'Europe est un fixateur d'azote 'obligatoire', qui maintient des  $\%N_{\text{dfa}}$  élevés quelle que soit la teneur en azote assimilable dans la solution du sol (Drake, 2011). En effet, les études dans le massif forestier landais confirment que le  $\%N_{\text{dfa}}$  de l'ajonc d'Europe est peu variable (compris en moyenne entre 75 et 80 %) (Augusto et al., 2005; Cavard et al., 2007), et indépendant des pratiques de fertilisation. En conséquence, avec des  $\%N_{\text{dfa}}$  toujours élevés, les teneurs en azote de l'ajonc d'Europe, pour un type de tissus donné, sont peu variables dans notre milieu (Augusto et al., 2005), mais aussi dans des contextes très variés (Augusto et al., 2009). Alors, le flux entrant d'azote atmosphérique dans la parcelle forestière de pins maritimes est principalement lié à l'abondance et à la croissance des ajoncs d'Europe. En d'autres termes, pour estimer ce flux d'azote il convient de se concentrer sur l'estimation des variables liées à la dynamique de population i) et ii) précitées plus que sur les variables physiologiques iii) et iv).

Le développement du sous-bois est fortement influencé par les pratiques sylvicoles (Gilliam, 2007; Kaye et al., 2008). En effet la gestion intensive de la forêt des *Landes de Gascogne* provoque des perturbations fréquentes du sous-bois (coupe rase, labour, débroussaillage mécanique). De plus, le développement de la canopée est contrôlée (e.g. éclaircies en cours de rotation), déterminant la quantité de lumière interceptée par les arbres dominants et disponible pour le sous-bois. Ainsi l'abondance et la croissance des ajoncs d'Europe sont sûrement fortement influencées par les pratiques sylvicoles actuelles, et seront sûrement dépendantes de leurs évolutions futures.

Cette thèse contribue à la création d'un outil de prédiction du flux entrant d'azote atmosphérique dans le cadre de la sylviculture du pin maritime. Il s'agit de bâtir un modèle conceptuel de la dynamique de population et d'accroissement des ajoncs d'Europe dans une parcelle de pins maritimes en fonction des pratiques sylvicoles, ce qui permettra d'estimer le flux entrant d'azote atmosphérique associé.

Le présent manuscrit se structure en cinq chapitres. Un état de l'art est d'abord présenté. Il concerne le milieu d'étude, l'espèce modèle (l'ajonc d'Europe), la dynamique des populations végétales et les différents modèles utilisés pour leur étude. Il permettra: 1) de préciser un cahier des charges adapté aux objectifs de modélisation et 2) d'identifier plusieurs questions d'intérêt scientifique concernant la dynamique des populations végétales. Dans un second temps, l'ensemble de la démarche expérimentale mise en place pour répondre aux questions d'intérêt scientifique et construire le modèle conceptuel est présenté. Les réponses à chacune de ces questions seront abordées dans un troisième chapitre de présentation des résultats. Enfin le modèle conceptuel sera détaillé dans une quatrième partie, en tirant les enseignements des résultats obtenus. Les perspectives permises par les travaux conduits au cours de cette thèse seront développées dans le dernier chapitre.

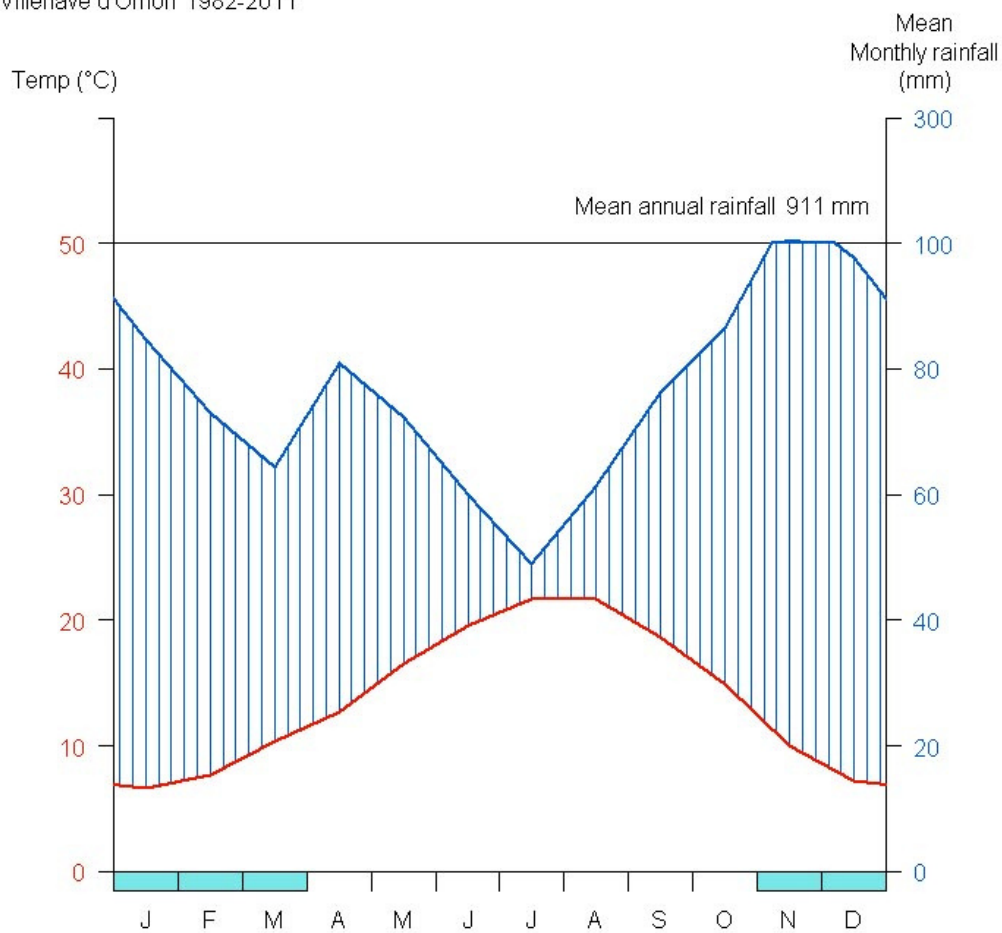


**Figure 1.** Diagramme ombrothermique des 30 dernières années d'après les observations météorologiques enregistrées sur le site de l'INRA de Villenave d'Ornon situé en bordure du triangle landais. Courbe bleue: moyenne des pluviométries mensuelles (les pluviométries mensuelles supérieures à 100 mm ne sont pas indiquées). Courbe rouge: moyenne mensuelle des températures. Sur l'axe des abscisses, les mois en bleu indiquent une occurrence possible de gelées. (Source: CLIMATIK, INRA).

# Chapitre 1: ETAT DE L'ART

---

## A. L'écosystème landais et la sylviculture du pin maritime

---

Cette partie s'organise autour de 2 axes: 1) la présentation de l'écosystème, principalement centrée sur les questions de pédologie, de fertilité chimique et de l'importance de la fixation symbiotique pour le maintien de cette fertilité, et 2) la présentation des pratiques sylvicoles actuelles, et leurs évolutions envisagées.

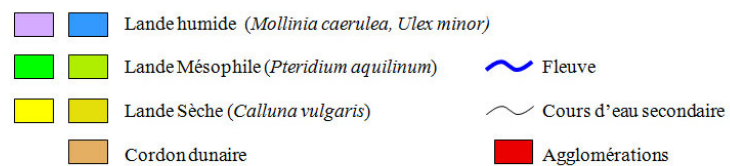
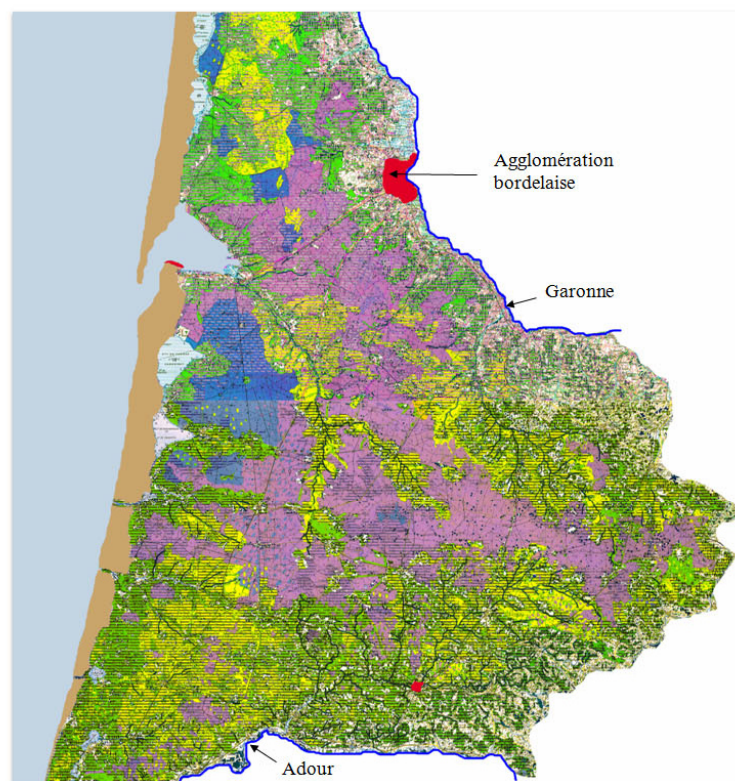
### 1 L'écosystème landais

#### 1.1 Biogéographie

La forêt des *Landes de Gascogne* forme un triangle qui s'étend sur 988 000 ha (latitude: 43.5 – 45.5°N, longitude: 1.5°O–0.3°E) sur la façade atlantique française. Le climat régional est océanique avec des hivers doux (température moyenne > 5 °C), des étés chauds (température moyenne > 20°C) et une pluviométrie annuelle d'environ 900 mm répartie sur toute l'année. Il faut cependant noter que: 1) les précipitations estivales sont réduites et 2) des températures négatives possibles de novembre à mars (Figure 1).

Le matériau parental à partir duquel ont évolué les sols forestiers est le '*sable des Landes*', formé par la remobilisation éolienne récente (Pliocène: [-2800 ; -12 milliers d'années] BP) de dépôts détritiques formés au tertiaire (Legignan, 1979). Les sols régionaux sont acides (pH≈ 4.5) principalement des podzols, résultant de la migration en profondeur d'acides organiques, entraînant les ions métalliques (Fer et Aluminium), et s'accumulant au niveau des horizons illuviaux (Jolivet et al., 2007). Des alternances saisonnières des conditions oxydo-réductrices liées à la battance de la nappe peuvent provoquer l'induration des horizons illuviaux. L'amplitude des oscillations du toit de la nappe, ainsi que sa profondeur détermine classiquement trois types de stations (Augusto et al., 2006) (Figure 2a):

a)



b)

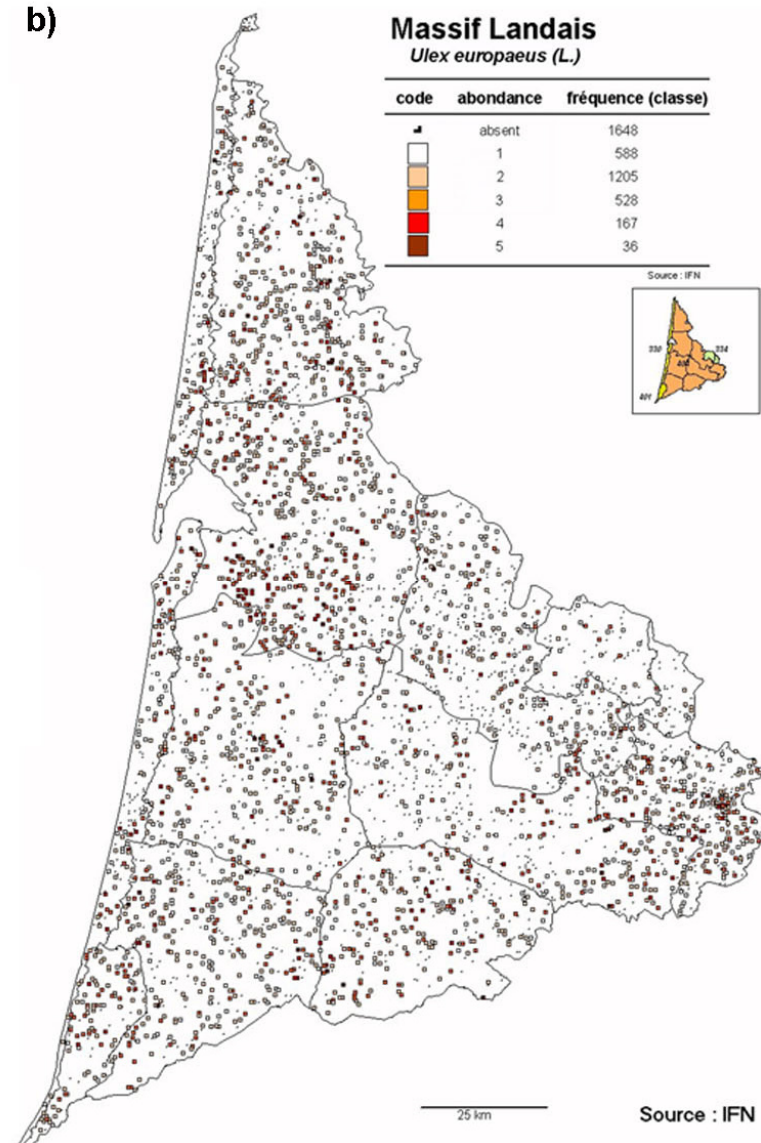


**Figure 2.** Carte des différents types de landes dans le triangle landais (a) et présence ubiquiste de l'ajonc d'Europe dans le massif (b)

1) *La lande sèche* ( $\approx 15$  % du massif) : à proximité des cours d'eau, et dans les parties hautes du massif, la nappe y est toujours à plus de 2 m de profondeur. La végétation est dominée par les éricacées (la bruyère cendrée (*Erica cinerea* L.) et la callune (*Calluna vulgaris* L.)). L'hélianthème faux alysson (*Halimium lasianthum* Lam.) est aussi indicateur du type stationnel. Souvent l'horizon éluvial est bien développé et l'horizon illuvial est meuble.

2) *La lande humide* ( $\approx 45$  % du massif): Dans les parties basses ou les interfluves, la nappe est parfois affleurante en hiver (0 à 0.5 m) et peu profonde en été ( $< 1.5$  m). La végétation est dominée par la molinie bleue (*Molinia caerulea* L. Moench), avec présence de la bruyère des marais (*Erica tetralix* L.) et la bruyère ciliée (*Erica ciliaris* L.) dans les zones les plus humides. L'horizon éluvial est souvent peu visible, et l'horizon illuvial peu induré.

3) *La lande mésophile* ( $\approx 30$  % du massif): Dans les zones où la hauteur de nappe est intermédiaire, c'est la lande mésophile dominée par la fougère aigle (*Pteridium aquilinum* L. Khun). Les oscillations de nappes au niveau des horizons illuviaux facilitent la formation d'*alios*, nom local donné au grès formé par l'induration des horizons illuviaux.

Enfin, sur la frange littorale, les dunes forestières sont aussi plantées en pins maritimes, et sont caractérisées par des arénosols très peu évolués. Leur structure uniforme impose un drainage vertical et des stress hydriques importants, empêchant tout type d'engorgement. Le développement de la végétation y est faible (Jolivet et al., 2007).

On notera que l'ajonc d'*Europe* est présent à travers l'ensemble du massif (Figure 2b). Le genêt à balais est présent principalement sur les dunes littorales, alors que l'ajonc nain est présent surtout en landes humides ([www.ifn.fr](http://www.ifn.fr)).

## 1.2 Un milieu oligotrophe plus ou moins marqué

La fertilité chimique des sols landais est globalement faible. Par exemple, les teneurs en phosphore dans l'ensemble des sols landais, en moyenne de  $0.060 \text{ mg.g}^{-1}$  de sol (comparé à la moyenne mondiale de  $0.55 \text{ mg.g}^{-1}$  de sol) en font un élément limitant majeur (Achat et al 2009). Les landes mésophiles et humides ont une fertilité chimique et une productivité végétale comparable (Augusto et al., 2010). Aussi, de la lande humide et mésophile à la lande sèche et jusqu'au cordon dunaire, le massif landais est caractérisé par un gradient croissant d'oligotrophie (Figure 3) en raison de:

- Une diminution de la matière organique dans les sols, et une diminution des stocks d'azote ( $N_{\text{TOT}}$  diminue et le ratio C/N augmente).
- Une diminution des cations échangeables ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ )
- Une diminution des teneurs en phosphore biodisponible. En effet, le pouvoir tampon du sable des Landes vis-à-vis du phosphore est assuré par les oxydes de fer et d'aluminium, dont la plus forte teneur en lande mésophile et humide permettent un meilleur réapprovisionnement de la solution du sol en P au cours du temps (Achat et al 2011).



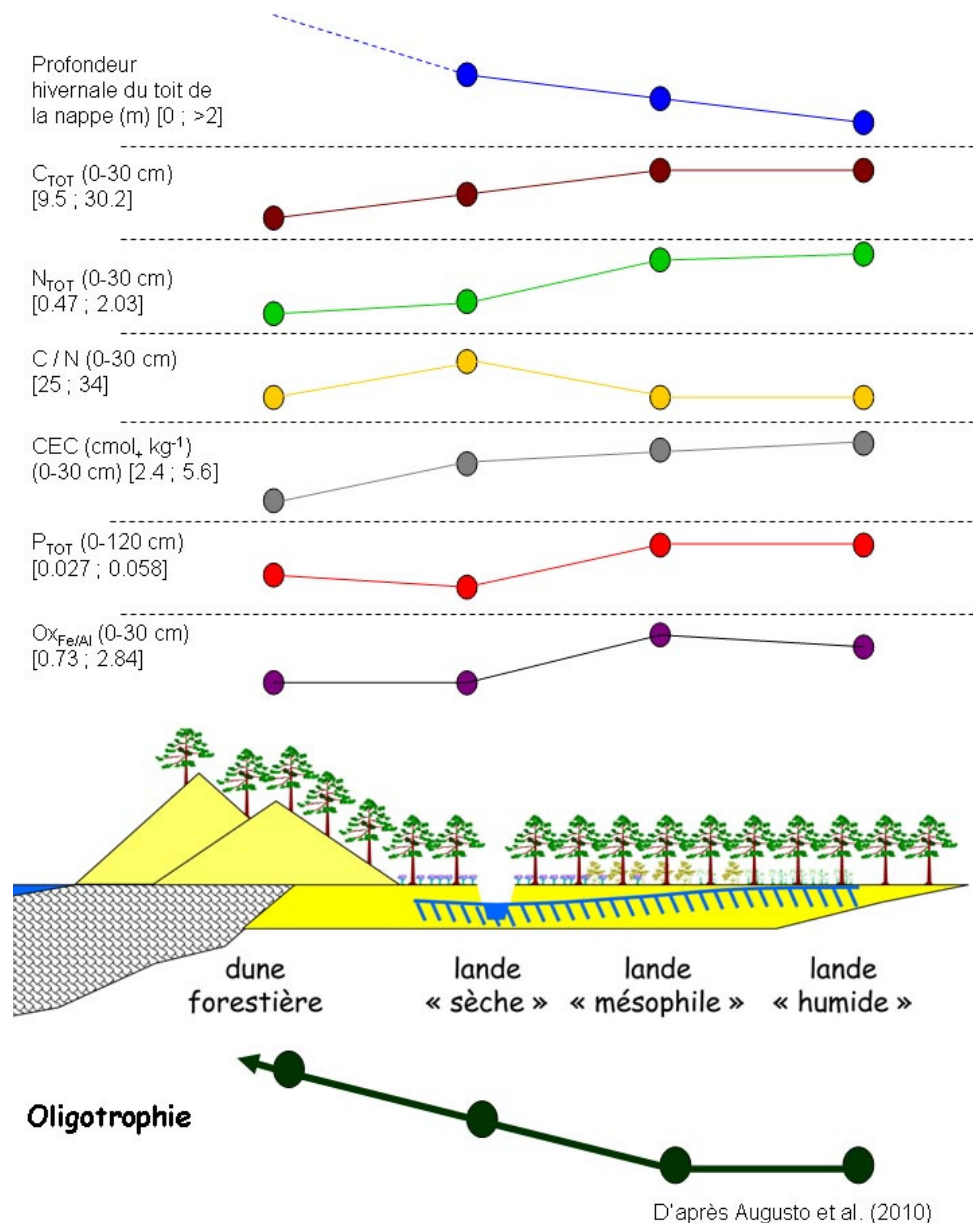


**Figure 3.** Gradient d'oligotrophie croissant de la lande humide à la dune forestière. Les valeurs entre crochets indiquent les valeurs minimales et maximales mesurées exprimées en mg.g<sup>-1</sup> de sol (ou autrement directement indiqué sur la figure).

### 1.3 Le cycle de l'azote en forêt et le rôle clé de la fixation symbiotique dans la parcelle de pins maritimes

Une présentation générale du cycle de l'azote en forêt est d'abord effectuée et les principales voies d'entrées et de sorties de l'azote dans un écosystème forestier sont indiquées. Les flux d'azote entrants et sortants de la parcelle de pins maritimes sont ensuite précisés.

#### 1.3.1 Présentation générale du cycle de l'azote en forêt :



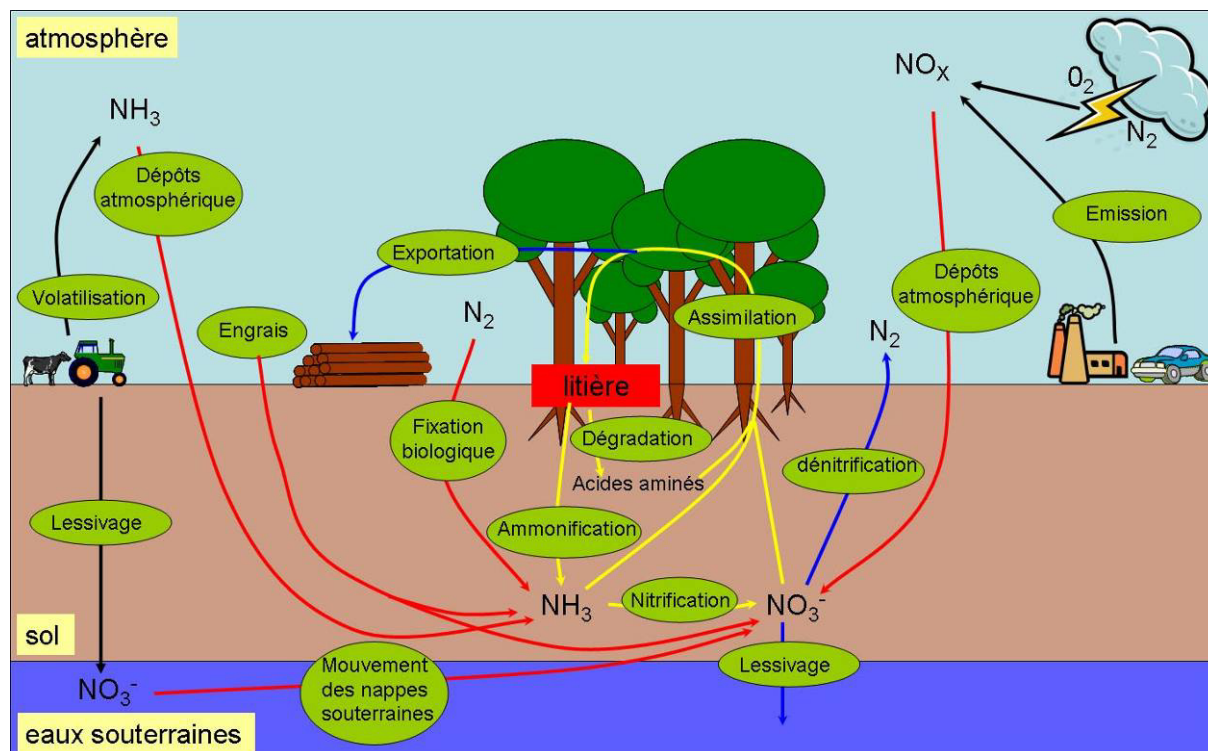


**Figure 4.** Cycle simplifié de l'azote en forêt cultivée. Flèches rouges: voies d'entrée d'azote dans le système. Flèches jaunes: cycle interne. Flèches bleues: voies de sorties. Flèches noires: éléments du cycle extérieur à la forêt.

L'azote est un élément nutritif majeur limitant la production primaire des écosystèmes terrestres et aquatiques (Vitousek and Howarth, 1991). La production primaire en milieu forestier est donc fortement influencée par le cycle de l'azote, et en particulier par les différentes voies d'entrée d'azote assimilable par les plantes (azote ammoniacal, nitrates, acides aminés). Trois principales sources d'approvisionnement sont identifiées (Galloway et al., 2004, Figure 4 ci dessus): 1) les dépôts atmosphériques, 2) l'utilisation d'engrais azotés (produits à partir du diazote atmosphérique par le procédé de Harber-Bosch), et 3) la fixation biologique d'azote (la majorité de la fixation résultant de la symbiose entre les plantes légumineuses et les bactéries du genre *Rhizobium*). Les dépôts atmosphériques sont de deux types: des oxydes d'azotes formés lors de la combustion des matériaux fossiles contenant de l'azote organique ou par oxydation du diazote lors de l'émission importante de photons accompagnant la foudre; et de l'ammoniac volatilisé à partir des exploitations agricoles (engrais et déjections animales). Notons que dans certaines forêts situées en aval de zones agricoles fortement fertilisées, les apports de nitrates par les eaux souterraines peuvent être importants (Bravo and Hill, 2012).

Le cycle interne de l'azote dans l'écosystème forestier (Figure 4) implique l'assimilation par les plantes et la production de biomasse, puis le recyclage de la litière et de la matière organique par les champignons mycorhiziens (produisant essentiellement des acides aminés) (Lindahl et al., 2007) et par des bactéries ammonifiantes puis nitrifiantes (Schulze, 2000). Les pertes d'azote du système (Figure 4) sont liées au lessivage dans les eaux souterraines, aux bactéries dénitrifiantes en conditions anaérobiques, et aux exportations de la biomasse récoltées (Schulze, 2000). Les pertes par drainage sont surtout importantes en forêt cultivée, où il y a une augmentation importante de la minéralisation de l'azote organique après coupe rase et travail du sol (Dahlgren and Driscoll, 1994; Kreutzweiser et al., 2008). Enfin si la forêt est exploitée pour sa production de bois, l'azote organique contenu dans la biomasse est perdu lors de l'exportation.

Dans les écosystèmes terrestres, la fixation biologique permet la création d'une quantité d'azote biodisponible équivalente à celle apportée par l'utilisation des engrais azotée (soit environ 100 Tg.an<sup>-1</sup> d'azote, Galloway et al., 2004). La fixation biologique est d'autant

plus importante en milieu forestier (e.g. Busse et al., 2007; Roggy and Prevost, 1999; Sanborn et al., 2002) où l'utilisation d'engrais azoté est nulle en forêt naturelle et limitée en forêt cultivée (e.g. Loustau et al., 1999). Les apports via les dépôts atmosphériques sont généralement plus faibles (Galloway et al., 2004), et les apports via les eaux souterraines sont limitées aux forêts dont les eaux souterraines communiquent avec des zones agricoles en amont fortement fertilisées.

### 1.3.2 Les différents flux d'azote dans la parcelle de pins maritimes

Ces flux sont représentés dans la Figure 5. On peut distinguer:

1) *Les flux sortants*: les principales pertes en azote sont liées aux exportations de biomasse qui peuvent représenter entre 3 et 18 kg.ha.<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> d'azote (Augusto et al., 2010). Par ailleurs, les conditions requises pour la dénitrification (combinaison de conditions hypoxiques et de températures relativement élevées) sont très peu souvent réunies et le potentiel de dénitrification est très réduit dans notre contexte (Jambert et al., 1994). Les pertes dues au lessivage dans les eaux souterraines, mesurées à l'exutoire d'un bassin versant du massif, sont faibles (1 kg.N.ha.<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>) (Campagne, 1997). En effet le couvert végétal herbacé et la microflore immobilisent rapidement l'azote assimilable (Dambrine et al., 2000). Cependant, il est probable que le travail du sol et la réduction du prélèvement par la végétation après une coupe rase conduisent ponctuellement à des pertes importantes.

2) *Les flux entrants*: L'utilisation d'intrants azotés est nulle comme indiqué précédemment. Les dépôts entrants via les dépôts atmosphériques ont été mesurés entre 6 et 12 kg.ha.<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> (Ulrich et al., 1998). Le flux de fixation symbiotique d'azote peut représenter jusqu'à 20 kg.ha.<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> en cas de forte abondance des fixateurs d'azote et pourrait même augmenter en cas de fertilisation phosphatée et d'augmentation de la vitesse de croissance des ajoncs (Augusto et al., 2005). Ce flux peut donc représenter la principale source de réapprovisionnement en azote assimilable au sein de la parcelle.

3) *Flux entrants et sortants*: Les flux liés au drainage latéral des eaux souterraines sont considérées comme faibles car la topographie de la région est essentiellement plane (pentes < à 5%) (Augusto, 2003). La battance verticale de la nappe en lande humide et mésophile implique deux flux qui peuvent se compenser: de l'azote est perdu lorsque la nappe s'abaisse, et une entrée d'azote a lieu lorsque la nappe remonte (Augusto, 2003).

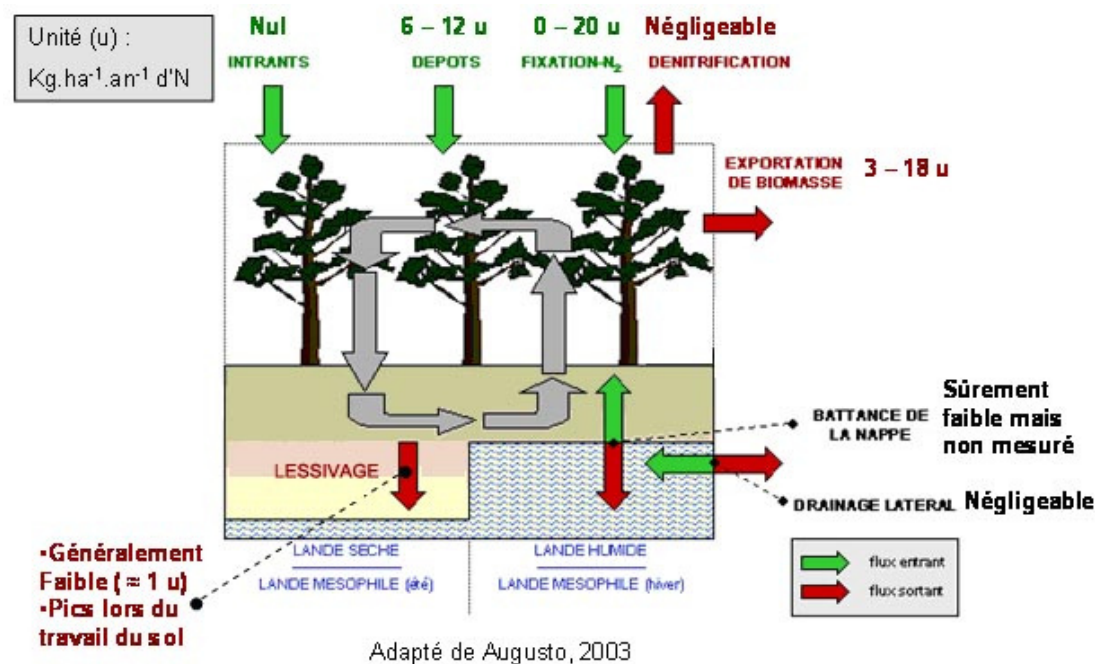


**Figure 5.** Les flux d'azote au sein de la parcelle forestière de pins maritimes.

## **1.4 Synthèse**

Dans le massif, un gradient croissant d'oligotrophie (de la lande humide et mésophile jusqu'à la lande sèche et la dune littorale) et une composition changeante des espèces présentes dans le sous-bois caractérisent les différents types de stations.

L'ajonc d'Europe est ubiquiste dans l'ensemble du massif. Lorsqu'il est abondant, la fixation symbiotique d'azote pourrait représenter la principale source de réapprovisionnement en azote au sein de la parcelle forestière, et compenser les pertes liées à l'exportation de la biomasse récoltée.

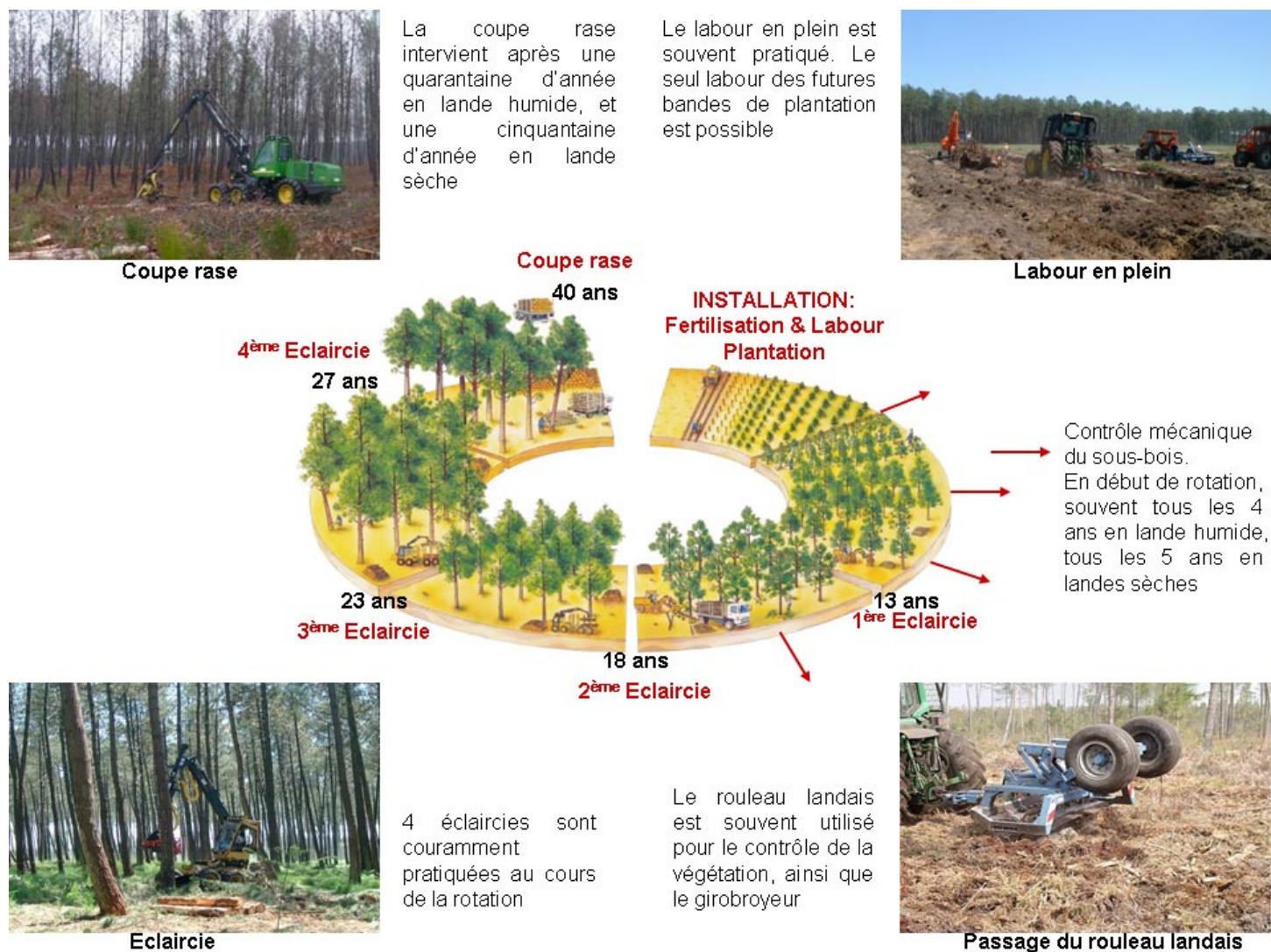


**Figure 6.** Un itinéraire sylvicole type (schéma central issu de Martres et Tomé, 2002, calendrier des opérations issus de ONF, 2003).

## **2 La sylviculture du pin maritime**

La forêt des *Landes de Gascogne* a un objectif principal de production et a un régime foncier essentiellement basé sur un parcellaire privé. La forêt plantée en dune à un rôle multifonctionnel, pour fixer les dunes, accueillir le public en bord de mer et conserver la richesse biologique présente à l'interface terre-mer. Ces missions sont facilitées par un régime foncier spécifique, la forêt littorale étant essentiellement domaniale et gérée par l'ONF (Favennec, 1999). Ces différences d'objectifs de gestions se traduisent par des différences importantes de pratiques dans la sylviculture du pin maritime.

### **2.1 Les pratiques sylvicoles actuelles**

Dans la forêt de production en plaine, les landes sèches étant moins fertiles, la durée des rotations sylvicoles est plus longue que celle couramment pratiquée dans la lande humide (respectivement 50 et 40 ans) (ONF, 2003). Les principales opérations sylvicoles au cours de la rotation sont présentées sur la Figure 6. Mais derrière l'apparente simplicité de cette figure, il ne faut pas oublier que la conduite des itinéraires sylvicoles dans la région reste diversifiée, chaque sylviculteur poursuivant un objectif propre avec une stratégie particulière pour y parvenir :

- A l'installation, la fertilisation phosphatée peut être utilisée (jusqu'à 120 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) pour compenser la faible disponibilité en phosphore des sols landais (Trichet et al., 1999). Le labour, jusqu'à une profondeur de 30 cm, est utilisé pour diminuer la compétition interspécifique de la végétation spontanée avec les jeunes pins plantés, ainsi que pour enfouir les résidus de récolte de la rotation précédente. Souvent pratiqué sur la totalité de la surface, il peut être réduit aux bandes de plantations. La plantation de jeunes plants issus de pépinières, espacées de 1 à 2 mètres avec des interlignes de 3 à 4 mètres est courante (pour des densités initiales de 1250 à 1670 tiges.ha<sup>-1</sup>). Le semis en bandes, suivi de dépressages, est parfois utilisé.
- Plusieurs éclaircies permettent des récoltes intermédiaires, et d'optimiser la croissance des arbres en contrôlant la compétition intraspécifique.
- Le contrôle mécanique du sous bois est fréquent en début de rotation, souvent tous les 4 à 5 ans. Il est souvent effectué uniquement dans l'interligne.
- L'abattage et le débardage de la totalité des arbres a lieu au moment de la coupe rase, puis le dessouchage est pratiqué. Pour le maintien de la fertilité des sols landais, le broyage des résidus de récolte (houppiers, racines) et leur enfouissement est conseillé alors que la constitution d'andain, le brûlage ou l'exportation comme biomasse forestière valorisable sont déconseillés (Trichet et al 1999).

Dans la forêt littorale dunaire, les pratiques sont moins interventionnistes (e.g. rotations plus longues, maintien d'un sous-bois feuillus, régénération naturelle et réensemencement par semis, parcelles de gestion plus petites) (Favennec, 1999; Sardin, 2009).



| Itinéraires / pratiques                                                   | Production attendues      | Enjeu 1: Production Biomasse et filière bois                               | Enjeu 2: Changement Climatique                                                                | Enjeux 3: Valorisation Ecosystémique                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Rotations longues (60 ans) avec éclaircies intermédiaires                 | Bois d'œuvre de qualité   | Revenus importants (CAFSA, 2010), investissement dans les marchés d'avenir | Séquestration, Stockage Substitution (Bucket et al., 2005; Fortin et al., 2012)               |                                                                                         |
| Rotations raccourcies, peu d'éclaircies (25 ans)                          | Petits sciages            | Réponse à la demande à court terme                                         | Diminution risques vents et incendies                                                         |                                                                                         |
| Rotations très courtes, variétés très productives (8-12 ans)              | Biomasse, trituration     | Réponse à la demande à court terme et bois énergie                         | Substitution Diminution risques vents et incendies                                            | <i>Effets contraires à l'enjeu:</i> Diminution biodiversité. (Jactel and Barbaro, 2009) |
| Cultures Mixtes (favoriser les feuillus, lisières, îlots)                 | Selon durée des rotations | Production diversifiée moins risquée                                       | Atténuation des risques liés aux insectes ravageurs, aux vents (Jactel and Brockerhoff, 2007) | Augmentation de la biodiversité. Labellisation                                          |
| Espèces exotiques productives, conduite en taillis (eucalyptus, robinier) | Biomasse, trituration     | Réponse à la demande à court terme et bois énergie                         | Substitution. Adaptation aux futurs étés secs. Diminution risques vents et incendies          | <i>Effets contraires à l'enjeu:</i> Diminution biodiversité, modification des paysages  |

**Tableau 1.** Evolutions envisagées des pratiques et des itinéraires dans la forêt de production. Sources principales (Augusto et al., in press; CRPF, 2009; Mora et al., 2012)

## 2.2 Enjeux et évolutions envisagées des itinéraires sylvicoles

Les évolutions envisagées des pratiques dans la forêt landaise de production concernent plusieurs enjeux liés à 1) l'augmentation de la demande en biomasse forestière et les évolutions de la filière bois, 2) l'adaptation au changement climatique et son atténuation, et 3) la valorisation des services écosystémiques forestiers (Augusto et al., in press; Mora et al., 2012). Ces enjeux sont d'abord présentés puis l'évolution des scénarios sylvicoles envisagée qui en découle est indiquée dans le tableau 1 ci-contre.

- 1) *L'augmentation de la production de biomasse forestière.* Elle est liée à : l'augmentation de la demande en bois de faible qualité (développement de la filière bois-énergie, pâtes à papier, panneaux) (DRAAF Aquitaine, 2010); la demande en bois d'œuvre de qualité pour les marchés porteurs d'ossature bois et d'éco-construction (Mora et al., 2012); la destruction par les deux tempêtes hivernales récentes (Martin en 1999 et Klaus en 2009) de 50% des volumes de bois sur pied (soit des pertes respectives de 24 et 41 millions de m<sup>3</sup> de bois) qui renforce la demande à court terme en biomasse forestière pour alimenter la filière (CRPF, 2009).
- 2) *Les conséquences attendues du changement climatique* sur la forêt de production sont (Augusto et al., in press): une augmentation des déficits hydriques durant la période estivale de croissance végétale et une diminution de la productivité du pin maritime (Bosc, 2011), une augmentation du risque d'incendie, une augmentation des dégâts dus aux insectes ravageurs (scolytes, chenille processionnaire, nématodes du pin (Piou and Jactel, 2010), et l'augmentation possible des fréquences des événements climatiques violents. De plus la forêt des Landes de Gascogne peut aider à compenser l'émission de gaz à effet de serre par: la séquestration de carbone dans la biomasse sur pied, le stockage dans des produits à longue durée de vie (bois d'œuvre), et la substitution à des matériaux ou énergies fortement émetteurs de carbone (e.g. substitution aux énergies fossiles par le bois énergie, substitution du béton par le bois de construction) (Degos, 2011).
- 3) *La valorisation des services écosystémiques.* En plus de la vente de crédit carbone sur les marchés volontaires, la mise en place d'un fond carbone régional pourrait représenter une nouvelle forme de revenus pour les sylviculteurs (Degos, 2011). Le maintien de la diversité ligneuse dans les parcelles (e.g. lisière ou îlots de feuillus) et de la biodiversité contribue à la reconnaissance de la durabilité des pratiques de gestions via la labellisation PEFC d'une majeure partie de la production issue du massif landais. Sur le littoral, ce troisième enjeu est particulièrement important avec le rôle multifonctionnel de la forêt dunaire évoqué précédemment (e.g. création de réserves de biodiversité, entretien de zones d'accueil du public et fixation du cordon dunaire) (Sardin, 2009).

Ainsi, si la gestion de la forêt littorale obéit à des objectifs spécifiques, la pression de production sur le reste du massif landais est importante et répond à des objectifs variés, aux implications parfois contraires (Tableau 1). Sur le cordon dunaire, plus qu'une évolution des pratiques, c'est leur diversification qui est conseillée, afin d'adapter chaque itinéraire à des conditions locales spécifiques et à différents objectifs (ONF 2007).

## 2.3 Synthèse

Hormis sur la dune littorale, le premier objectif de gestion dans le massif est la production de biomasse forestière. Les pratiques sylvicoles actuelles sont variées et intensives. De plus, les objectifs de production à venir sont multiples (e.g. répondre à une demande croissante en bois de différentes qualités, adaptation au changement climatique et atténuation). En conséquence, des évolutions de pratiques sont envisagées, et une diversification supplémentaire des itinéraires sylvicoles est probable dans l'avenir.

## B. L'ajonc d'Europe: écologie et cycle de vie dans le contexte de la sylviculture du pin maritime

---

Les informations présentées dans cette partie sont issues de la littérature dédiée à l'ajonc d'Europe (*Ulex europaeus* L.) et font référence au cadre théorique approprié pour l'étude de la dynamique de population d'une espèce ligneuse. Ces informations présentent les principales implications et hypothèses concernant la dynamique des populations d'ajonc d'Europe dans le contexte de la sylviculture du pin maritime. Après une brève introduction sur l'autoécologie et l'aire de répartition de l'ajonc d'Europe, les différentes étapes de son cycle de vie sont présentées, en distinguant les étapes liées aux stades adultes de celles de la phase de régénération.

### 1 *Autoécologie et répartition*

L'ajonc est une espèce héliophile à tendance xérophytique bien adaptée aux sols pauvres et bien drainés (e.g. Clements et al., 2001; Drake, 2011). Dans la région, elle résiste cependant à un ennoiment racinaire de courte durée dans certaines stations de la lande humide. Elle se développe préférentiellement sur des substrats acides avec un pH de 4 à 5. Son caractère calcifuge est confirmé par l'inhibition de la nodulation et des signes de chlorose importants sur substrat calcaire (Gehu-Franck, 1974).

L'aire naturelle de l'ajonc d'Europe s'étend du Nord du Portugal au Sud de la péninsule scandinave. C'est une espèce atlantique qui préfère les climats tempérés des façades océaniques, où le nombre de jours de gel est limité, et où les écarts entre les températures extrêmes sont modérés (Gehu-Franck, 1974). Au 19<sup>ème</sup> siècle, cette espèce a été introduite dans de nombreuses régions du monde, principalement pour la formation de haies séparant différentes parcelles d'élevage. Elle est aujourd'hui déclarée espèce très invasive dans de nombreux pays, dont les Etats-Unis, le Canada, le Chili, l'Afrique du Sud, l'Australie et la Nouvelle-Zélande (Clements et al., 2001; Richardson and Hill, 1998).

Son caractère héliophile et sa capacité à fixer l'azote atmosphérique en font un arbuste principalement présent en phase pionnière des successions végétales. Il est fréquent dans les zones perturbées (e.g. bords de route) et pâturés (Clements et al., 2001; Gallet and Roze, 2001). Dans notre contexte, il peut aussi se maintenir dans des milieux plus fermés (Augusto et al., 2005), où la canopée de pins réduit la quantité de lumière disponible pour le sous-bois jusqu'à 30% du flux photonique, (dans les plantations denses avant éclaircies, Berbigier and Bonnefond, 1995). Comme indiqué précédemment, il est ubiquiste dans le massif landais.

### 2 *Caractéristique des stades adultes*

#### 2.1 *Croissance et production de biomasse*

##### 2.1.1 *Croissance et dimensions individuelles*

La croissance végétative a lieu de mai à octobre dans notre milieu. Les nouveaux rameaux chlorophylliens sont constitués d'un ensemble d'unités verticillées, composées de 3 épines disposées en spirale autour de l'axe du rameau (Tarayre et al., 2007). Ils se développent à partir des parties supérieures des rameaux de l'année précédente, ces derniers se lignifiant au cours de la saison (Hely and Forgeard, 1998). Au cours de la croissance de la plante, il y a donc un déplacement des tissus photosynthétiques vers le haut, et un développement et une accumulation des tissus ligneux de support sous-jacents. Le rapport entre la biomasse verte et la biomasse aérienne totale diminue en conséquence (Puentes and Basanta, 2002).



Les arbustes les plus grands ont été observés en contexte invasif, et peuvent atteindre 7 m de hauteur et une tige de plus de 200 mm de diamètre à 10 cm du sol ( $D_{10}$ ) (Lee et al., 1986). Dans notre contexte, les ajoncs les plus grands atteignent près de 5 m et ont un diamètre supérieur à 100 mm (pers. obs.). Cependant, la grande majorité des arbustes observés tous contextes confondus ont des hauteurs et diamètres compris respectivement entre 1 et 3 m et 10 et 60 mm (Augusto et al., 2009; Hely and Forgeard, 1998; Lee et al., 1986).

La croissance individuelle est largement influencée par les conditions environnementales comme la luminosité et la disponibilité en phosphore (Augusto et al., 2005) ou la compétition intraspécifique (Augusto et al., 2009). Demounen (1968) a observé un accroissement en hauteur maximal en landes humides et mésophiles, minimal en dunes, et intermédiaire en landes sèches. Par ailleurs, Atlan et al. (2010) observent, pour des individus du même âge, des variations de hauteur importantes d'origine génétique, et Lee et al (1986) mesurent pour des individus de 15 ans en milieu invasif des  $D_{10}$  et des hauteurs qui varient respectivement de 20 à 200 mm et de 1,2 à 1,6 m.

### 2.1.2 Biomasse produite

Dans la région, l'ajonc est capable de former des peuplements monospécifiques denses où les biomasses totales peuvent atteindre 40 Mg.ha<sup>-1</sup> de matière sèche (Augusto et al., 2005). En milieu invasif, Lee et al. (1986) relèvent des densités dépassant 60 000 individus par hectares. Dans ces conditions, des biomasses pouvant dépasser les 50 Mg.ha<sup>-1</sup> sont relevées, avec une production annuelle proche de 10 Mg.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> (Egunjobi, 1971b).

## 2.2 Fixation symbiotique d'azote et teneurs en azote

La fixation symbiotique commence avec la mise en place des nodosités dès le développement des feuilles juvéniles de l'ajonc (Roze, 1988). Les taux de fixation d'azote d'origine atmosphérique de l'espèce cible indiqués dans la littérature sont constamment élevés in situ (contexte landais avec fertilisation en P variable: 70 à 85% en moyenne (Augusto et al., 2005; Cavard et al., 2007); contexte invasif in situ avec sols saturés en nitrates: 80% (Drake, 2011)). L'ajonc serait donc un fixateur d'azote obligatoire. Une bonne nutrition azotée étant toujours assurée, les teneurs en azote dans les différents tissus rapportées dans la littérature, quel que soit le contexte, sont peu variables: de 1,6 à 2,0% pour les tiges vertes et de 0.5 à 0.8% dans les tiges ligneuses (Augusto et al., 2009). Les teneurs mesurées par De Lavaissière (2003) au niveau du système racinaire (0.8%) sont comparables à celles mesurées dans les tiges ligneuses par ailleurs.

Les teneurs en azote et les taux de fixation d'azote atmosphérique étant peu variables, les principales sources de variations de quantité d'azote fixé dans la parcelle de pins sont liées à l'abondance et à la croissance des légumineuses (i.e. la production de biomasse légumineuse totale). Ainsi, sans et avec apport initial de 80 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>, Augusto et al (2005) estiment dans une jeune parcelle de pins, après 3 ans de croissance des ajoncs, une quantité d'azote sur pied respectivement de 50.7 et 130.5 kg.ha<sup>-1</sup> (soit un flux de 13.9 et 35.7 kg.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> d'azote fixé à partir de l'atmosphère considérant le %N<sub>dfa</sub> moyen de l'étude). Notons qu'en milieu invasif, les flux annuels d'azote liés à la fixation symbiotique peuvent dépasser les 100 kg.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>, en lien avec une production de biomasse très importante (Drake, comm. pers., Magesan et al., 2012).

L'ajonc libérant peu de composés azotés via exsudation racinaire et le pluviollessivage (Reid 1973), l'azote fixé sera disponible au sein de la parcelle principalement via la décomposition de la matière organique dans la litière produite par l'ajonc.

## 2.3 Le rejet de souche

L'ajonc est capable de se maintenir, après une perturbation, en rejetant à partir des bourgeons dormants situés le long de la tige ligneuse. Cette stratégie de régénération est répandue chez les ligneux présents dans les zones où des perturbations fréquentes entraînent la destruction des parties aériennes de la plante (e.g. espèce méditerranéenne adaptée aux perturbations par incendies (Pausas, 1999)). Il apparaît dans la littérature que les chances de réussite d'un rejet d'une plante ligneuse sont liées à :

### 1) des facteurs externes à la plante:

- L'intensité de la perturbation (température et durée d'un incendie, hauteur de coupe) qui détermine le stock de bourgeons dormants disponibles pour le rejet (Clarke et al., 2005; Knox and Clarke, 2006)).

- L'accès aux ressources qui est déterminé par le niveau de ressources dans l'environnement et le niveau de compétition intra ou interspécifique pour ces ressources (O'Hara et al., 2007; Vila, 1997; Vila and Terradas, 1998).

### 2) des facteurs ontogéniques internes à la plante:

au cours du développement de la plante, le nombre de bourgeons dormants mis en place augmente, ainsi que la quantité de réserves accumulées dans les parties souterraines qui pourront être mobilisées pour le rejet (Kubo et al., 2005). Puis en vieillissant, les bourgeons deviennent sénescents, et la vigueur générale de la plante diminue (Randall et al., 2005).

La littérature spécifique à l'ajonc d'Europe indique que les taux de rejets de l'espèce sont très élevés. Par exemple, après une coupe entre 10 et 20 cm de hauteur dans un peuplement dense, Ivens (1979) observe que 92 % des souches rejettent. De plus, l'influence des facteurs ontogéniques est confirmée par une étude plus récente, en sous bois de pins maritimes, et dans une région proche, au Nord Ouest de l'Espagne (Reyes et al., 2009). Dans cette étude, des taux de rejets de 78%, 100% et 92% sont observés respectivement pour: des jeunes ajoncs de 1 an, des individus d'âge intermédiaire (approximativement 3 à 4 ans), et des ajoncs plus âgés. Par ailleurs cette même étude indique que la forte capacité de rejet de souche de l'espèce d'Europe est maintenue dans des conditions d'ombrage modéré (i.e. peu d'influence de la lumière comme facteur externe à la plante).

## 2.4 Mortalité

### 2.4.1 L'autoéclaircie

La biomasse que peut produire une espèce végétale sur une surface donnée est limitée car l'accès aux ressources est fini (White and Harper, 1970). Alors, lorsque la biomasse des individus augmente, le nombre maximal d'individus que l'on peut rencontrer sur la même surface diminue. Ainsi, la projection, en échelle logarithmique, du nombre d'individus observés par unité de surface en fonction de leur masse moyenne forme un nuage de points qui ne peut pas dépasser une droite limite, et dont la valeur de la pente serait théoriquement proche de  $-3/2$  (Yoda et al., 1963). Cet ajustement entraîne la mort des individus les plus petits, une part disproportionnellement élevée des ressources étant captée par les plus grands individus (i.e. compétition asymétrique (Weiner, 1990)). Cette loi d'autoéclaircie a été démontrée pour l'ajonc d'Europe en contexte invasif (Wilson and Lee, 1988). Notons cependant que l'existence d'une valeur unique de pente ( $-3/2$ ) est débattue dans la littérature (Tang and Jiang, 2011; Zeide, 1987), et que l'utilisation de différentes variables relatives à la masse ou au volume peut influencer la valeur de la pente (Lonsdale, 1990b).

### 2.4.2 Sénescence

Lee et al. (1986) observent un âge maximum de 15 ans en milieu invasif. Il n'y a pas de données précises dans la littérature quant aux facteurs de régulation de l'âge où la mortalité

intervient, mais on peut avancer que les mécanismes influençant la vigueur de la plante interviennent aussi sur la rapidité de la sénescence de l'ajonc. Autrement dit, en conditions limitantes pour la croissance, la sénescence intervient plus rapidement. L'ajonc étant héliophile, la lumière pourrait être un facteur particulièrement important.

## 2.5 Synthèse de la caractéristique des stades adultes dans la région

Un résumé des informations issues de la littérature concernant les stades adultes de l'ajonc d'Europe est présenté dans la figure 7 suivante:

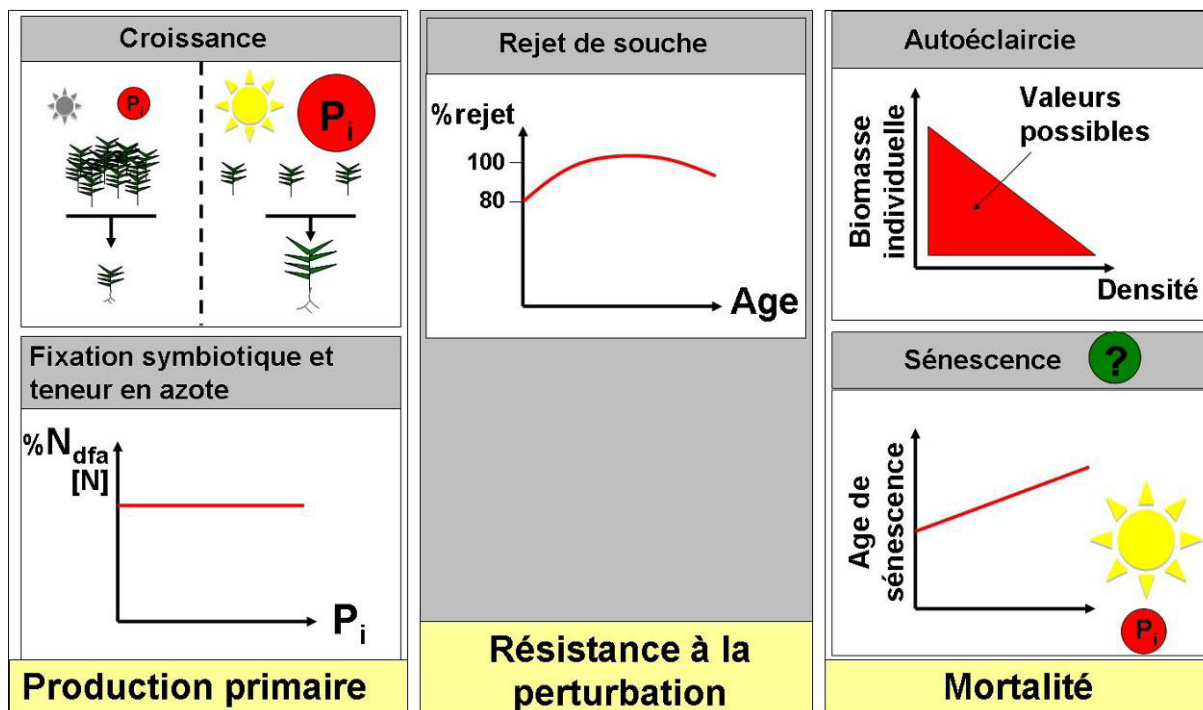


**Figure 7.** Principaux enseignements de l'état de l'art concernant les stades adultes de l'ajonc d'Europe. Un point d'interrogation indique un manque d'information spécifique à l'espèce dans la littérature.

*Croissance:* la croissance individuelle des ajoncs serait influencée par: 1) la lumière disponible pour le sous-bois qui évolue au cours de la rotation forestière, 2) la fertilité (le type de station, les pratiques de fertilisation en phosphore) et 3) la compétition intraspécifique dans les peuplements denses. La biomasse produite par les ajoncs dépend essentiellement de leur abondance (variant à l'hectare sur plus de 4 ordres de grandeurs). La croissance des plantes (variant entre individus d'un ordre de grandeur) pourrait aussi induire des différences importantes de biomasse à l'hectare.

*Fixation symbiotique et teneur en azote:* Ces deux variables sont peu variables dans notre contexte et un flux entrant d'azote atmosphérique de  $20 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$  est possible. Ce flux est principalement influencé par la biomasse totale produite.

*Rejet de souche:* La sylviculture du pin impose des perturbations fréquentes au niveau du sous-bois lors du débroussaillage. La capacité des ajoncs à rejeter de souche après ces perturbations pourraient être une composante importante de sa dynamique de population. Des facteurs, surtout ontogéniques, influenceraient la possibilité de rejeter, mais dans tous les cas, les taux de rejet de l'espèce sont élevés.

*Auto-éclaircie:* Dans les peuplements denses d'ajoncs, une mortalité par auto-éclaircie liée à la compétition intraspécifique a été mise en évidence en contexte invasif. Elle limite la biomasse d'ajonc maximale qui peut se développer sur une surface donnée. Elle intervient très probablement aussi dans le contexte landais.

*Senecence*: Aucune information précise sur les facteurs environnementaux influençant l'âge de la mortalité n'a été trouvée. Cependant, l'accès aux ressources, notamment à la lumière, déterminant la croissance individuelle, influence aussi certainement la rapidité de l'occurrence de la mortalité.

### **3 La phase de régénération**

La régénération comprend l'ensemble des processus liés au recrutement d'un nouvel individu dans une population végétale. Elle commence par la production des graines et se termine par l'implantation réussie d'une plantule qui atteint le stade mûre (Grime 2001, Harper 1977). Cette phase est une étape clé pour la dynamique des populations végétales sur laquelle les conditions environnementales agissent de manière spécifique car 1) elle est associée à des mortalités importantes des graines et des plantules sensibles aux stress environnementaux, et 2) les stades juvéniles et matures des plantes peuvent avoir des fonctionnements physiologiques et écologiques radicalement différents (Grime 2001). Ainsi, Grubb (1977) a proposé la définition d'une niche écologique spécifiquement dédiée à cette phase de régénération, qui peut être assez différente de la niche écologique de la plante adulte. Cette niche de régénération est définie comme " *l'expression des besoins pour une forte probabilité de succès dans le remplacement d'un individu mûre par un individu de la génération suivante* ". Elle inclut les processus 'parentaux' qui sont liés à l'environnement des parents, puis, après dispersion, les processus 'juvéniles' liés à l'environnement des graines et des plantules.

#### **3.1 Les processus 'parentaux': de la reproduction à la dispersion**

##### **3.1.1 La reproduction**

L'ajonc est une espèce itéropare qui se reproduit tous les ans dès l'âge de 2 ans (Clements et al., 2001). Les bourgeons floraux se développent à partir du méristème à la base des épines des rameaux chlorophylliens (Tarayre et al., 2007). Même si l'autofécondation est possible, les fleurs doivent être visitées par des insectes pollinisateurs (principalement *Apis mellifera* et *Bombus terrestris*) pour que la fécondation ait lieu. Cependant il a été montré que la reproduction de l'ajonc d'Europe n'était pas limitée par les visites de pollinisateurs dans son aire d'origine (Bowman et al., 2008), incluant le massif landais, zone importante d'apiculture (Strange et al., 2007). Le nombre moyen d'ovules par gousse est proche de 10 (Gutierrez et al., 1996), mais une minorité se développe pour donner des graines. En effet, plusieurs études indiquent en moyenne entre 3 et 4 graines par gousses, que ce soit en milieu natif ou invasif (Barat et al., 2007; Rees and Hill, 2001; Tarayre et al., 2007). Ces graines sont arrondies et pèsent 6 mg pour un diamètre de 2 mm (Clements et al., 2001). Rees et Hill (2001) rapportent en milieu invasif des productions de graines par des peuplements matures d'ajonc très variables, et pouvant atteindre plus de 30 000 graines.m<sup>-2</sup>. Les sources possibles de variation de la production des graines identifiées dans la littérature sont:

1) *le polymorphisme de floraison*. La phénologie de floraison de l'ajonc est très variable. Ce polymorphisme a un déterminisme en partie génétique (Atlan et al., 2010). Sur la façade atlantique, il se traduit par des individus à périodes de floraison et fructification longues (de l'automne au printemps), et d'autres individus à floraison courte uniquement concentrée au printemps (Tarayre et al., 2007). La floraison longue permettrait d'échapper à deux insectes dont les larves se nourrissent au printemps des graines d'ajonc durant leur maturation à l'intérieur des gousses: le charançon *Exapion ulicis* et le papillon *Cydia succedana* (Barat et al., 2007). Mais en hiver, le risque d'avortement et de pourrissement des graines est plus fort (Bowman et al., 2008). Le polymorphisme aboutirait donc à une stratégie de diversification des risques entre la rigueur de l'hiver et l'activité des prédateurs au printemps (Tarayre et al., 2007). Il semblerait que les climats plus doux favoriseraient la présence des phénotypes à

floraison longue (Hill et al., 1991), mais dans le massif landais, la grande majorité des individus ont une floraison courte au printemps (Augusto, comm. pers.).

2) *La reproduction dépendante de la taille des individus et de l'allocation des ressources à la reproduction.* La production des organes reproducteurs consomme des carbohydrates et des nutriments fournis par l'appareil végétatif des plantes. Il existe donc des relations universelles dans le règne végétal entre la taille des individus et leur performance de reproduction qui augmente au cours de leur croissance (Niklas and Enquist, 2003). Selon la richesse en ressources de l'environnement dans lequel les plantes évoluent, des changements de taux de croissance permettront d'aboutir à des plantes de tailles différentes, et cela impactera indirectement le nombre de graines qui seront produites (Weiner, 2004). Lorsque l'accès aux ressources est limité, les différentes fonctions que la plante doit assurer, et qui consomment ces ressources (e.g. croissance, reproduction, lutte contre les prédateurs), peuvent interférer entre elles. Par conséquent, la possibilité pour les plantes de modifier leur allocation à la reproduction en réaction directe à des variations environnementales pourrait être une capacité adaptative importante (Weiner et al., 2009a). Cela pourrait permettre d'ajuster de manière optimale l'investissement des ressources dans la reproduction au niveau des ressources disponibles, sans compromettre les autres fonctions et la survie de la plante (Obeso, 2002). Chez les plantes ligneuses, s'il est clair que les performances de reproduction sont liées à la taille des individus (Dodd and Silvertown, 2000; voir aussi Stokes et al (2004b) pour une espèce proche, l'ajonc nain), et à l'influence indirecte de l'environnement sur leur taux de croissance (e.g. Debain et al., 2003; Jennings and Baima, 2005), leur capacité à modifier directement leur allocation à la reproduction est peu connue.

### 3.1.2 La prédation des graines avant la dispersion

Le charançon *Exapion ulicis* est un prédateur spécifique de l'ajonc d'Europe. Les adultes se nourrissent du feuillage ou des fleurs de l'ajonc d'Europe, et les femelles pondent au printemps exclusivement dans ses gousses (Barat et al., 2007). Le papillon *Cydia succedana* a aussi une forte préférence pour l'ajonc d'Europe, mais étant bivoltin (i.e. donnant deux générations par an), les femelles pondent aussi sur des gousses d'ajonc nain qui mûrissent à l'automne (Hill and Gourlay, 2002). Ces deux insectes sont responsables de la destruction d'une part importante des graines avant leur dispersion, mais les gousses produites en dehors des périodes de reproduction des prédateurs sont non infectées (voir paragraphe précédent). Au printemps, les taux d'infection indiqués dans la littérature pour la façade atlantique vont de 30 à 80 % de gousses infectées par le charançon, et d'environ 25 % de gousses infectées par le papillon (Barat et al., 2007).

Comme pour d'autres espèces invasives (Ghazoul, 2002), l'absence des prédateurs de graines dans les zones introduites est avancée comme une des raisons importantes du caractère invasif de l'ajonc d'Europe (Hornoy et al., 2011; Rees and Hill, 2001). Ces prédateurs ont donc été introduits dans les zones invasives dans le cadre de la lutte biologique contre l'ajonc, en particulier en Nouvelle-Zélande (Hill et al., 2000). Mais les taux d'infection reportés sont très variables (Hill et al., 1991) et rarement élevés (e.g. Cowley, 1983 (35 %)). Là encore, les décalages entre la phénologie de reproduction de l'ajonc, et celle des prédateurs expliquent en partie les faibles taux de prédation (Hill et al., 1991; Sixtus et al., 2007).

Dans notre contexte landais, où la majorité des ajoncs ont une floraison courte au printemps, les phénologies de reproduction de la plante hôte et de l'insecte prédateur correspondent. Les variations possibles des taux de prédictions pourraient donc avoir plusieurs autres origines:

1) Les gradients environnementaux influencent la performance de reproduction des plantes, et donc la densité de la ressource pour les prédateurs. Cette densité peut influencer l'activité des prédateurs, pouvant être attirés par une ressource abondante (e.g. Moravie et al., 2006), mais aussi incapables de maintenir des taux de prédictions élevés quand la ressource augmente abondamment (i.e. satiété, Jones and Comita, 2010). Les modifications abiotiques

de l'environnement (e.g. lumière, température) peuvent aussi directement influencer le comportement des insectes (Herrera, 1995).

2) Par ailleurs, les femelles des 2 insectes sont en compétition pour l'accès à une même ressource (ici les gousses d'ajoncs disponibles pour la ponte). Elles peuvent perdre du temps et de l'énergie dans cette compétition (Ives et al., 2005). Ainsi la somme totale de la prédation correspondrait à un "Effet Prédateurs Multiples", et ne pourrait pas être interprétée comme la somme de l'action des 2 prédateurs agissant seul (McCoy et al., 2012).

3) Enfin, les larves étant confinées dans l'environnement choisi par les femelles lors de la ponte, l'hypothèse de "préférence - performance" indique que les femelles pondent dans des sites où leurs larves ont un maximum de chance de réussir à atteindre le stade adulte (Gripengberg et al., 2010; Jaenike, 1978). Ainsi, comme suggéré par Barat et al (2007), les gousses d'ajonc ayant un nombre plus important de graines en développement pourraient être préférées lors de la ponte, car elles fournissent une quantité de nourriture plus importante pour le développement des larves.

### 3.1.3 La dispersion des graines

Lorsque les gousses arrivent à maturité, leur déhiscence explosive permet une dispersion autochore. Les petites graines arrondies sont projetées à faible distance. Elles atterrissent en majorité à l'intérieur de la zone du houppier de l'ajonc, et jusqu'à une distance inférieure à 2.5 m pour un ajonc de 1.3 m de hauteur (Hill et al., 1996). Des projections à plus longues distances ont été relevées mais semblent peu fréquentes (Hill et al., 1996).

Dans un deuxième temps, différents agents de transport peuvent intervenir et assurer une dispersion secondaire des graines: les fourmis se nourrissant de l'élaïosome situé sur le tégument de la graine permettent la myrmécochorie. L'homme, par le passage d'engins (i.e. agestochorie), et les animaux (i.e. zoochorie) peuvent disperser des graines involontairement à plus grandes distances (Twigg et al., 2009). Les itinéraires perturbés, comme les bords de route, et les cours d'eau seraient aussi des axes importants de dispersion et propagation de l'espèce (Clements et al., 2001).

### 3.1.4 Synthèse sur les processus 'parentaux' de régénération:

Un résumé des informations issues de la littérature concernant les processus 'parentaux' de régénération est présenté dans la figure 8 suivante:

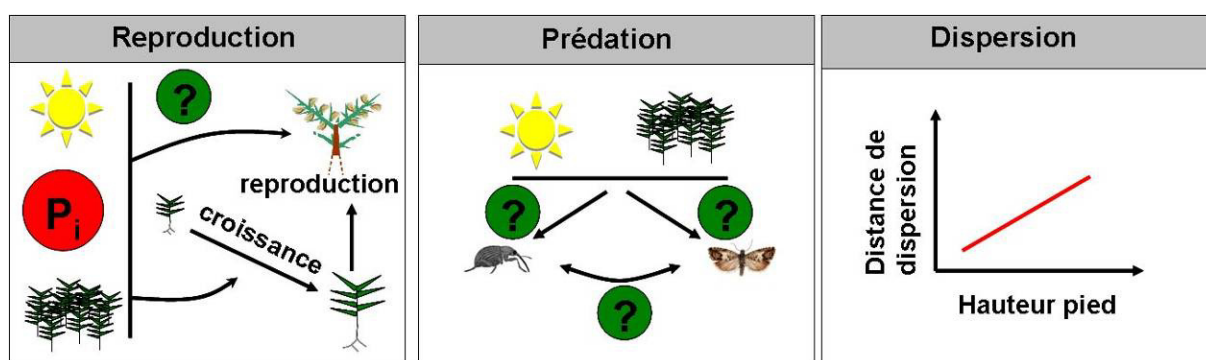


**Figure 8.** Principaux enseignements de l'état de l'art concernant les processus 'parentaux' de régénération de l'ajonc d'Europe. Un point d'interrogation indique un manque d'information spécifique à l'espèce dans la littérature.

*Reproduction:* Les facteurs de variations de la reproduction dans la forêt landaise sont sûrement liés à l'existence des gradients environnementaux qui déterminent la croissance des individus (e.g. disponibilité en lumière, fertilité stationnelle). Mais la modification directe des mécanismes d'allocation des ressources à la reproduction le long de ces gradients est inconnue.

*Prédation:* L'intensité de la prédation pourrait être influencée par la densité en ajoncs, ainsi que par des facteurs abiotique (e.g. la luminosité). Des interactions sont aussi possibles entre les deux prédateurs utilisant la même ressource. Les facteurs de régulation de la prédation dans notre milieu sont inconnus, mais leur étude pourrait également profiter aux programmes de lutte biologique contre l'ajonc d'Europe en contexte invasif

*Dispersion:* Dans notre contexte, avec une topographie plane, la distance de dispersion primaire des graines serait principalement liée à la hauteur de projection, i.e. la hauteur du pied mère.

### **3.2 Les processus 'juvéniles' liés aux graines et aux plantules**

#### **3.2.1 La banque de graines**

Comme pour beaucoup d'espèces végétales, la forme sphérique et la petite taille de la graine d'ajonc facilite sa pénétration, puis sa migration verticale dans le profil du sol et son maintien en dormance (Bekker et al., 1998; Thompson et al., 1993). L'ajonc forme effectivement un stock de graines persistant dans le sol, avec une longévité importante pouvant atteindre une trentaine d'années en milieu invasif (Hill et al., 2001; Moss, 1959). Les graines d'ajonc peuvent permettre l'émergence en surface de nouvelles plantules lorsqu'elles se trouvent à faible profondeur, entre 0 et 5 cm (Rees and Hill, 2001). Ainsi, la dynamique de la banque de graines d'ajonc d'Europe proche de la surface du sol est particulièrement importante pour sa régénération. Elle est le résultat de (Harper, 1977; Magda et al., 2009; Rees and Long, 1993):

- Un approvisionnement via la pluie de graines dispersée.
- Une diminution via la germination d'une partie des graines permettant l'émergence de nouvelles plantules, et une disparition liée à la sénescence des graines, une germination échouée, une destruction par des agents pathogènes ou granivores, et la migration progressive en profondeur en lien avec la macroporosité et la faune du sol.

##### **3.2.1.1 Constitution du stock**

Lorsque l'approvisionnement est supérieur à la diminution, le stock de graines augmente. Ainsi, en milieu natif, les études dénombrent une banque de graines pouvant atteindre 450 à 900 graines.m<sup>-2</sup> dans les 5 premiers centimètres du sol et 1300 gr. m<sup>-2</sup> jusqu'à 10 cm de profondeur (Gonzalez et al., 2010; Puentes et al., 1988). En milieu invasif, celle-ci est beaucoup plus importante, pouvant atteindre 10 000 à 20 000 graines.m<sup>-2</sup> (Ivens, 1978; Zabkiewicz and Gaskin, 1978) jusqu'à 6 cm de profondeur. L'absence précitée des prédateurs de graines engendrant des pluies de graines plus importantes en milieu invasif serait une cause importante de cette différence de densité de graines dans le sol (Rees and Hill, 2001).

##### **3.2.1.2 Longévité et diminution du stock**

La longévité des graines augmente généralement avec la profondeur (Bekker et al., 1998), en lien sûrement avec des variations marquées des conditions physico-chimiques et une activité biologique plus importante en surface permettant la germination où la destruction des graines. Il est également observé que le passage d'un incendie augmente ponctuellement la mortalité dans la banque de graines en surface où les augmentations de température sont les plus importantes (Puentes et al., 1988).

En conséquence, dans les zones d'approvisionnement, sous couvert d'ajoncs, la densité de graines paraît plus importante en surface, mais lorsque cet approvisionnement diminue, les densités retrouvées sont supérieures plus en profondeur (Ivens, 1978; Puentes et al., 1988). Dans une expérience d'enfouissement de graines d'ajonc d'Europe pendant 10 ans, Hill et al (2001) observent que la viabilité des graines récupérées est toujours très importante, et reste de 99% tout au long de l'expérience. Ils confirment aussi l'augmentation de la longévité des



graines avec la profondeur. Au cours d'observations intermédiaires, ils n'observent pas de résidus de graines mortes (mortalité intrinsèque, pourrissement). Les migrations verticales étant impossibles (graines contenues dans des sacs), ils concluent que la disparition d'une proportion de la banque de graines est essentiellement liée à des germinations avortées dans le sol. Ils indiquent des taux de diminution annuels qui sont constants au cours de l'expérience (i.e.  $\approx 20\% \cdot \text{an}^{-1}$ ), donc indépendant de l'âge des graines. Ainsi, la décroissance de la banque de graine avec le temps est exponentielle.

### **3.2.1.3 Importance écologique du stock**

Le rôle de la banque de graines est très important pour la régénération dans les systèmes perturbés (Bossuyt et al., 2007). Comme il y a destruction de l'ensemble des parties aériennes et souterraines des ajoncs lors de la coupe rase, sa capacité à se maintenir au cours de plusieurs rotations forestières dépend de sa capacité à maintenir ce stock jusqu'au moment de la coupe rase. Par exemple, Gonzalez et al (2010) indiquent que la densité de graines en surface (0-5 cm) diminue de manière importante au cours de la rotation, alors qu'elle se maintient mieux en profondeur (5 - 10 cm) ou lorsqu'une population d'ajoncs est présente dans les parcelles âgées de pin maritime et réalimente ce stock de graines.

## **3.2.2 La germination et le développement des plantules**

La germination doit être suivie du développement du système aérien et racinaire de la plantule pour aboutir à un recrutement réussi d'un nouvel individu. Cette transition de la graine à la plantule est un passage critique pour la plupart des plantes (Harper, 1977) dont celles du genre *Ulex* (Rees and Hill, 2001; Stokes et al., 2004a).

### **3.2.2.1 La germination**

Le tégument de la graine d'ajonc est épais et hydrophobe assurant une dormance longue. La levée de cette dormance peut être influencée par:

1) *des facteurs externes*. Des contraintes ou stimuli chimiques ou physiques sont nécessaires pour lever la dormance des graines et briser le tégument (Gehu-Franck, 1974). La température a plusieurs effets sur les graines d'ajoncs. D'abord une période de température froide est nécessaire avant la germination (i.e. stratification). La dormance des graines est donc innée et non provoquée (Harper, 1977). Aussi, dans un essai en milieu contrôlé avec une température maintenue constante, il apparaît que la température optimale de germination de l'ajonc d'Europe est de 18 °C, que la germination diminue avec la température, et qu'elle est aussi inhibée par des températures trop chaudes, supérieures à 26°C (Ivens 1983). L'effet de l'augmentation de la température est aussi mis en évidence par Hanley (2009), la germination passant de 50% (témoin) à 97% après une augmentation importante sur une courte durée. L'imbibition des graines serait favorisée par ces températures chaudes. Par contre une exposition lumineuse ne semble pas être un stimuli important (Ivens, 1983).

*In situ*, les principales études de la germination de l'ajonc d'Europe indiquent que: i) Au Nord de l'Espagne, un taux de germination annuelle des graines de 10% est observé (Reyes et al., 2009), ii) La germination de l'espèce est favorisée lorsque les températures moyennes sont chaudes (supérieure à 15 °C), en dehors des périodes où la pluviométrie est la plus faible (Ivens, 1982). En conséquence un pic de germination est visible au printemps, mais l'apparition des plantules est opportuniste et peut-avoir lieu toute l'année, en dehors des périodes hivernales froides (Ivens, 1982). iii) Une explosion de la germination des graines d'ajonc a lieu après le passage d'un incendie (concomitante avec une destruction importante du stock de graines) (Puentes et al., 1988). iv) La germination est réduite sous les couverts denses d'ajoncs (Ivens, 1978). L'épaisseur de la litière, ainsi que sa texture et sa faible teneur en eau expliquerait cette inhibition de la germination (Lee et al., 1986). Une possible

inhibition allélopathique par les adultes (i.e. auto-toxicité, (e.g. Ruan et al., 2011)) pourrait être aussi envisageable mais elle n'a pas été étudiée chez l'ajonc d'Europe. Enfin, aucune étude ne mentionne un possible effet du microrelief *in situ* sur la germination et l'émergence des plantules d'ajoncs. Pourtant, de nombreuses études ont montré que la texture et le microrelief du sol en surface impliquent des variations d'humidité qui impactent la germination (e.g. Battaglia and Reid, 1993; Harper, 1977; Hartgerink and Bazzaz, 1984).

2) *des facteurs internes*. Comme indiqué précédemment l'âge de la graine ne semble pas influencer son potentiel de germination (Hill et al., 2001). Par contre une dessiccation plus importante de l'embryon peut avoir lieu avec le temps (Harper 1977), entraînant une dormance plus dure à lever.

### 3.2.2.2 *Le développement et la survie des plantules*

#### *L'influence des facteurs abiotiques*

Valladarès (2002) montre que les plantules d'ajoncs ont des caractéristiques de tolérance à l'ombre importante (forte survie et proportion de surface photosynthétique foliaire à l'ombre, faible plasticité physiologique quand la lumière augmente). Par ailleurs, la favorisation des ajoncs adultes par les pratiques de fertilisation phosphatée a été mise en évidence (Augusto et al 2005). Mais comme pour la majorité des légumineuses (Augusto et al., submitted, cf Annexe 5), même si la quantité totale d'azote par individu augmente avec l'augmentation de la biomasse totale, la proportion d'azote d'origine atmosphérique (%N<sub>dfa</sub>) reste constante (Cavard et al., 2007). Cependant, des carences en P pouvant limiter l'infection bactérienne nécessaire à la formation des nodosités (Marschner, 1995), la mise en place de la symbiose bactérienne pourrait être directement facilitée en cas de fertilisation chez les jeunes plantules, via l'augmentation du %N<sub>dfa</sub>. Une amélioration de la fixation symbiotique, quelle soit directe (via le %N<sub>dfa</sub>) ou indirecte (via l'augmentation de biomasse) pourrait favoriser le développement des plantules. Le rôle de l'eau n'est pas rapporté dans la littérature, mais comme pour d'autres espèces, avec un système racinaire peu développé, la mortalité des plantules pourraient augmenter avec une diminution de l'humidité du sol en surface (Hartgerink and Bazzaz, 1984; Herrera, 2002).

#### *Les interactions biologiques:*

La modification des facteurs abiotiques, comme la biodisponibilité en P ou la fertilité générale des sols peut influencer l'ensemble de la végétation, et donc les interactions biotiques entre cette végétation et les plantules d'ajonc émergentes. Hormis pendant les premières années après la coupe rase, le pin maritime et l'ajonc d'Europe occupe des places très différentes dans le profil vertical aérien et souterrain de la parcelle forestière (i.e position supérieure de la canopée et enracinement profond pour le pin, sous-bois et enracinement plus en surface pour l'ajonc). Si le développement des plantules d'ajoncs est influencé par les interactions avec le reste de la végétation, ce sont certainement les interactions de proximité qui priment, c'est-à-dire celles avec la végétation composante de la même strate: le sous-bois.

1) *les interactions négatives*: L'effet de la végétation accompagnatrice sur la mortalité des plantules d'ajoncs a été mis en avant dans plusieurs études en milieu invasif lorsque la végétation concurrente est favorisée (semis, fertilisation) (Hartley and Thai, 1982; Ledgard, 2006). Le type de végétation détermine le type d'interaction en jeu. Par exemple *Molinia caerulea* est considérée comme une espèce fortement compétitrice, grâce à une croissance rapide, surtout racinaire et une capacité importante à capter les ressources nutritives (Aerts et al., 1991; Taylor et al., 2001). *Pteridium aquilinum* est considérée comme une espèce fortement compétitrice grâce à la croissance rapide des ses frondes aux printemps et la production de larges feuilles interceptant la lumière (George and Bazzaz, 1999; Marrs and Watt, 2006). *Calluna vulgaris* intercepte peu la lumière (Gaudio et al., 2010) et a une

croissance générale faible. Elle est considérée comme moins compétitrice (Grime et al., 2007), mais comme de nombreuses Ericacées, elle libère des composés phénoliques allélopathiques (Jalal et al., 1982). Enfin, les interactions négatives peuvent aussi être intraspécifique. Sous un couvert dense d'ajoncs, la mortalité rapportée des plantules d'ajonc est d'au moins 70%. Elles sont moins vigoureuses et plus sensibles aux maladies (Ivens, 1982).

2) *Les interactions positives.* Différents types de facilitations, favorisant la survie et le développement des plantules d'espèces végétales ont été mis en évidence, et dont l'effet est particulièrement visible lors de conditions stressantes (Callaway and Walker, 1997). Par exemple, en cas de sécheresse et de fortes radiations solaires, la présence d'un couvert végétal limiterait l'évaporation et permettrait un meilleur maintien de l'humidité du sol, facilitant ainsi la survie des plantules (Brooker et al., 2008). Des types de facilitations similaires pourraient intervenir dans notre contexte considérant le climat local, mais ce type d'interaction positive n'a pas été étudié pour le recrutement de l'ajonc d'Europe.

### 3.2.3 Synthèse sur les processus 'juvéniles' de régénération

Un résumé des informations issues de la littérature concernant les 'processus juvéniles' de régénération est présenté dans la figure 9 suivante:

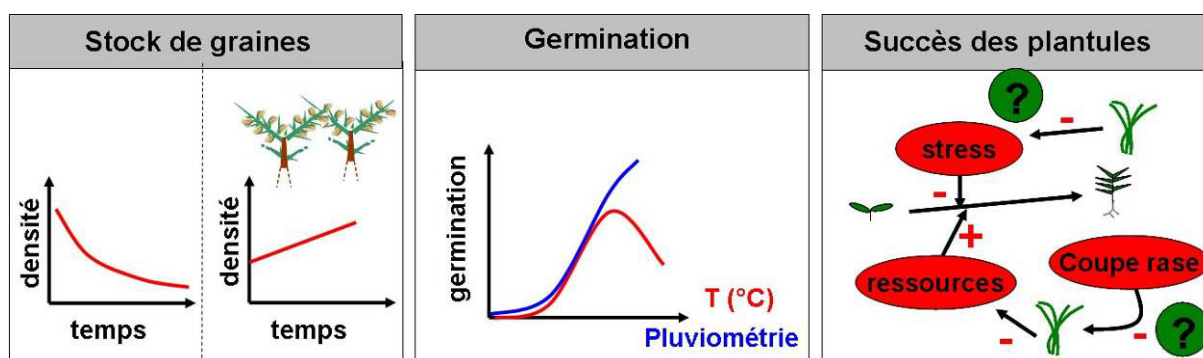


**Figure 9.** Principaux enseignements de l'état de l'art concernant les processus 'juvéniles' de régénération de l'ajonc d'Europe. Un point d'interrogation indique un manque d'information spécifique à l'espèce dans la littérature.

*Le stock de graines dans le sol:* Au cours de plusieurs rotations forestières, l'ajonc pourrait se maintenir grâce: au maintien de l'approvisionnement de graines par des ajoncs mûres dans le sous-bois, la longue durée de vie des graines dans le sol, une remontée en surface lors du labour d'un stock de graines profond dont la longévité est supérieure.

*La germination:* La germination de l'ajonc peu avoir lieu toute l'année, mais est nulle pendant les périodes hivernales car elle nécessite des températures chaudes (mais pas excessives). Elle peut-être limitée pendant les périodes sèches (qui correspondent aux périodes les plus chaudes dans notre contexte), et diminuée sous un couvert dense d'ajoncs adultes.

*Le succès des plantules:* Le développement des plantules d'ajonc pourrait-être influencé par: i) le niveau de ressources, notamment nutritives (type de lande, les pratiques de fertilisation), ii) l'accès à ces ressources, selon le niveau d'interception par la végétation compétitrice (dépendant du type de végétation compétitrice), iii) un rôle facilitateur de la végétation, en cas de stress important (sécheresse, froid hivernal). Etant sensible à la compétition interspécifique, la réussite des plantules d'ajonc pourrait dépendre de leur date d'émergence, et être facilitée suivant la coupe rase, alors que le sous-bois n'a pas encore recolonisé la parcelle.

### 3.3 L'importance des processus parentaux et juvéniles dans la phase de régénération, et implications de la niche de régénération de Grubb:

Il est connu que des micro-variations de fertilité et/ou d'humidité du sol en surface peuvent fortement influencer la réussite du développement des plantules (e.g. Hartgerink and Bazzaz, 1984). Aussi, la notion de "safe site" introduite par Harper (1977) fait référence à un environnement fournissant les conditions précises nécessaires à la germination d'une graine (stimuli et ressources suffisantes), et est défini à une échelle très fine: celle correspondant à la taille de la graine. Effectivement, les plantules d'ajoncs, de part leur enracinement superficiel et les réserves limitées issues de la graine de petite taille, sont probablement très sensibles aux variations de leur environnement très proche. Ainsi, en s'intéressant aux conditions favorables à la germination d'une graine et au développement d'une plantule, un changement d'échelle d'observation est nécessaire par rapport à l'étude des processus 'parentaux'.

Inspiré par Grubb (1977), pour expliquer le maintien d'une diversité importante d'espèces fonctionnellement proches aux stades adultes dans un même écosystème, des études comparatives entre micro-habitats, cherchant à montrer des conditions plus ou moins favorables à la germination et au développement des plantules de différentes espèces ont été menées (e.g. Beckage and Clark, 2003; Christie and Armesto, 2003; Hunziker and Brang, 2005; Powers et al., 2008). En effet, des différences de *niche de régénération* qui se situeraient dans des micro-habitats distincts, et concernant en particulier les stades de germination et plantules, pourraient être un moteur de maintien de la biodiversité.

Mais, d'une part, comme indiqué par Harper (1977), la présence de 'safe sites' correspondant à une espèce végétale ne suffit pas à prédire sa présence dans la communauté végétale, il faut aussi que des graines de cette espèce soient présentes. Le poids des processus 'parentaux' de dispersion, eux-mêmes très variables (Clark et al., 1998; Houle, 1998) sont alors parfois plus importants dans les processus de régénération que le poids des processus 'juvéniles' (Jacquemyn et al., 2001; Pulliam, 2000).

D'autre part, la réalisation des niveaux des facteurs écologiques favorables à la germination et au développement des plantules peut varier dans l'espace et dans le temps (Hutchinson, 1957; Pearman et al., 2008). Ces variations sont liées aux modifications abiotiques de l'environnement (e.g. liés aux variations climatiques saisonnières) et à la modification de l'environnement par les organismes vivants (en particulier aux interactions biotiques pouvant basculer de la compétition à la facilitation selon le développement de la végétation ou le niveau de stress à un moment donné (Brooker et al., 2008; Heinemann and Kitzberger, 2006). Ces variations sont d'autant plus prégnantes si l'on considère l'échelle très fine à laquelle la graine ou la plantule 'perçoit' son environnement (Harper, 1977). Cela pose question quant à la capacité à distinguer des différences de niche de régénération importantes, par l'étude des stades graines et plantules, dans un micro-habitat particulier.

Avec une forte variabilité à la fois des processus 'parentaux' et 'juvéniles', l'utilisation de modèles stochastiques a permis la description de dynamique complexe de régénération d'espèces ligneuses (Kelly and Bowler, 2002; Kelly and Bowler, 2005). Mais l'information concernant les facteurs écologiques en jeu en est réduite. Pourtant cette information reste utile, tant pour la caractérisation des niches écologiques des ligneux, que pour les gestionnaires des systèmes forestiers intéressés par une ou plusieurs espèces en particulier.

L'étude des processus 'juvéniles' de régénération de l'ajonc d'Europe pourrait apporter des connaissances importantes pour l'écologie de l'espèce, et pour la modélisation de sa dynamique de population. L'étude à des échelles fines des processus de germination et de développement des plantules pourrait permettre de déterminer si la variabilité spatio-temporelle de la niche de régénération est déterminée par la variation de certains facteurs écologiques, en particulier pour les stades 'graines' et 'plantules'.

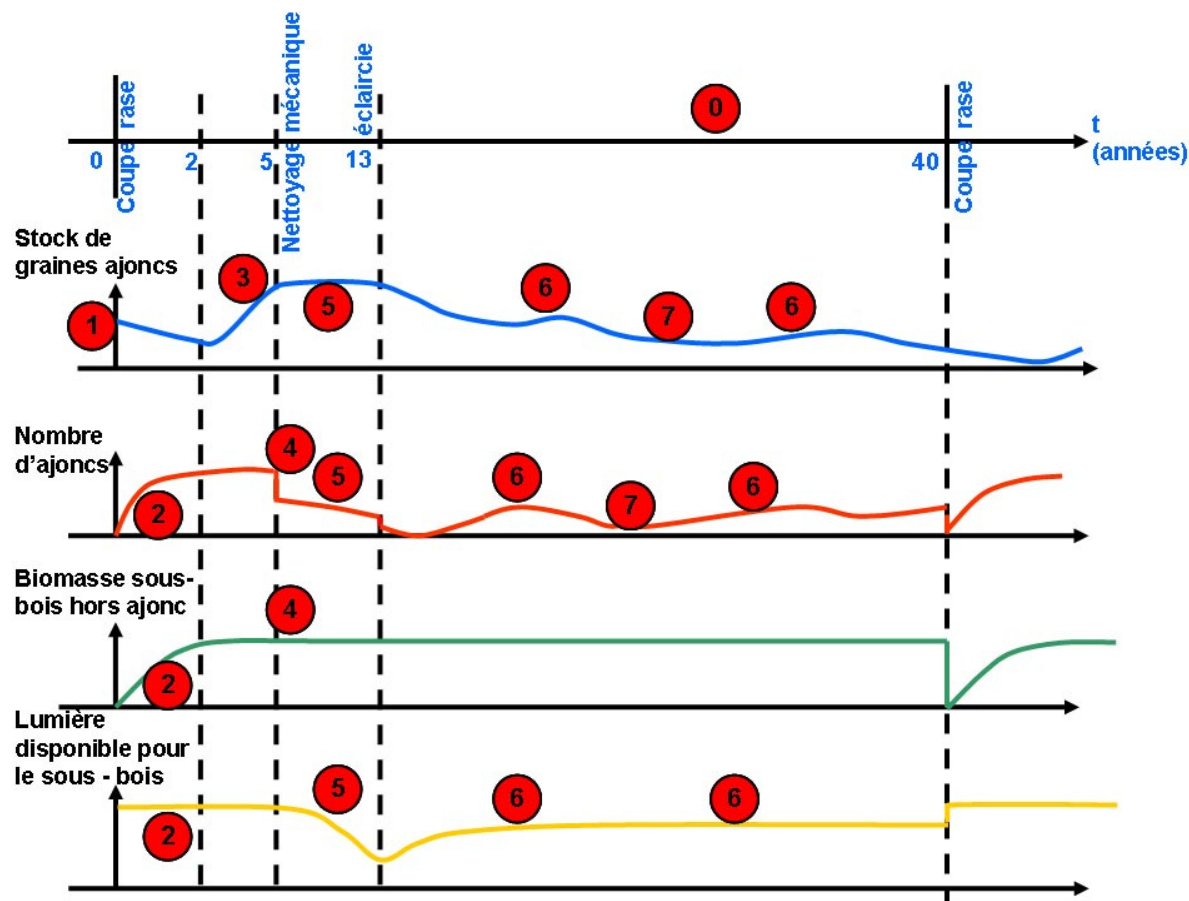


**Figure 10.** Dynamique hypothétique de l'ajonc d'Europe dans la parcelle de pins maritimes.

**0.** L'itinéraire sylvicole représenté est celui de la Figure 4, mais le nombre d'interventions sylvicoles (éclaircies, nettoyage mécanique) est simplifié pour la clarté du schéma. Dans cet exemple, la végétation du sous-bois (hors ajonc) est peu sensible au nettoyage mécanique du sous-bois (e.g. molinie, fougère).

**1.** Le pré-requis à la présence d'ajonc au cours de la rotation sylvicole est la présence d'une banque de graines au moment de la coupe rase.

**2.** Le recrutement des plantules d'ajoncs est facilité en début de rotation par une faible compétition avec le sous-bois, et un plein accès à la lumière.

**3.** La banque de graines est réapprovisionnée à partir des ajoncs qui deviennent matures.

**4.** Lors d'un broyage mécanique du sous-bois, une part des ajoncs est détruite, une autre part rejetée de souche. Le reste du sous-bois est peu perturbé.

**5.** La lumière disponible pour le sous-bois diminue en lien avec la fermeture de la canopée de pins. Aussi les ajoncs deviennent sénescents et la production de graines diminue.

**6 et 7.** La banque de graines diminue au cours de la rotation. L'apparition de nouveaux ajoncs peut permettre de réalimenter ce stock. Ceci est facilité dans les parcelles âgées de pins maritimes par une quantité de lumière transmise au sous-bois assez importante après les premières éclaircies. Selon la mortalité (7) ou l'apparition de nouveaux ajoncs (6), l'abondance de la population varie ainsi que la banque de graines.

#### **4 *Bilan: la dynamique de l'ajonc dans la parcelle de pin maritime:***

La figure 10 présente la dynamique hypothétique de l'ajonc d'Europe dans la parcelle de pin maritime, proposée à partir de l'ensemble des informations présentées ci-dessus. Cette hypothèse est cohérente avec la place pionnière de l'ajonc dans la succession végétale et avec la 'successional niche hypothesis' (Pacala and Rees, 1998). Cette théorie indique que certaines espèces se maintiennent grâce à des périodes courtes d'accès à une quantité importante de ressources, lorsque la compétition interspécifique est moindre. En effet, après une coupe rase, la compétition est plus faible, ce qui pourrait faciliter la survie des plantules d'ajonc et l'installation d'une nouvelle population. Puis, les nouveaux individus deviendraient matures, se développant en pleine lumière, et produisant un stock de graines important. Sans cette production élevée de graines pendant la phase pionnière, le stock de graines pourrait s'épuiser au cours de la rotation, et l'ajonc disparaître de la parcelle (Fig. 10).





## C. Modélisation de la dynamique des populations végétales, modèles d'espèces de sous-bois et modèles dédiés à la dynamique de l'ajonc d'Europe

---

Dans notre contexte, le flux de fixation symbiotique d'azote est principalement lié à la biomasse produite au cours du temps par les ajoncs d'Europe (partie B). Cette biomasse dépend d'abord de l'abondance des ajoncs, puis de leur croissance individuelle. Cette partie s'intéresse par conséquent aux modèles de prédiction de l'abondance des espèces végétales, i.e. aux modèles de dynamique de populations. De plus, comme la croissance des ajoncs est très variable entre individus (partie B), une attention particulière est portée sur la capacité de ces modèles à prendre en compte des variations individuelles au sein des populations modélisées. Dans un premier temps, les différents types de modèles existants dans la littérature sont présentés. Puis, nous reviendrons plus spécifiquement sur les modèles de prédiction de la dynamique d'espèces du sous-bois, et en particulier sur deux modèles dédiés à la dynamique de population de l'ajonc d'Europe.

### 1 *Modélisation de la dynamique des populations végétale*

En écologie animale, en raison de la mobilité des organismes, leur position spatiale est changeante dans le temps, et la structuration de leur environnement peut n'être que transitoire. A l'inverse, Les plantes étant des organismes sessiles, un élément plus important dans la modélisation en écologie végétale est la prise en compte de la variation de l'environnement (Czárán, 1998). Par exemple nous avons vu dans la partie B que de nombreuses étapes du cycle de vie de l'ajonc d'Europe pouvaient dépendre des gradients environnementaux au sein du massif forestier landais. Par conséquent, dans les paragraphes suivants, la capacité des modèles à prendre en compte une structuration spatiale de l'environnement sera indiquée. Les objectifs de la modélisation de la dynamique d'une population végétale sont d'abord brièvement rappelés, puis les principaux types de modèles utilisés sont présentés. Il s'agit des modèles déterministes entièrement basés sur l'écriture et la résolution d'équations mathématiques, des modèles stochastiques basés sur l'analyse des chaînes de Markov, et enfin des modèles de voisinage (Coquillard and Hill, 1997; Czárán, 1998).

#### 1.1 **Les différents objectifs de la modélisation de la dynamique d'une population végétale**

##### 1.1.1 *Objectif général*

L'objectif premier de la modélisation de la dynamique d'une population végétale est de prédire l'évolution de la quantité d'individus au cours du temps (i.e.  $dN/dt = f(N)$ ,  $N$  étant le nombre d'individus dans la population). Elle peut être exprimée par l'équation (1) ci-dessous ou équation BIDE (Birth, Immigration, Death, Emigration) (Harper, 1977):

$$dN/dt = (b+i).N - (d+e).N \quad (1)$$

Avec  $b, i, d, e$  étant respectivement: le nombre de 'birth', 'immigrant', 'death', 'emmigrant' par individu présent et par unité de temps.

Pour les végétaux, les immigrations et émigrations du système analysé sont permises par les processus de dispersion. Selon la question de modélisation, la définition d'un individu, et donc des 'naissances' et 'mortalités' associées peuvent concerner des états différents, par exemple uniquement les stades adultes, ou aussi comptabiliser les plantules.

### 1.1.2 Dynamique d'une population ou d'une communauté

La prédiction de la dynamique d'une population végétale répond soit au besoin de comprendre l'évolution de la population d'une espèce en particulier, soit de comprendre l'évolution d'une communauté végétale ou d'une biocénose, en lien avec les différentes espèces qui la composent. Dans le premier cas, l'intérêt est centré sur la prédiction de l'abondance de la population en lien avec une question écologique précise centrée autour de l'espèce (e.g. une invasion biologique (e.g. Parker, 2000), un objectif de production (e.g. Kawano and Iwasa, 1993) ou un objectif de conservation (e.g. Berglund et al., 2009)). Dans le second cas, l'abondance des différentes populations sert à l'analyse des interactions entre populations au sein de la communauté et aux mécanismes de coexistence (Colasanti and Grime, 1993; Crawley and May, 1987).

Même si les types de modèles utilisés peuvent être similaires, ces deux objectifs impliquent des choix de modélisation différents. Par exemple, le second type s'appuie beaucoup sur la classification des espèces végétale selon un type fonctionnel particulier, et le modèle s'attachera à décrire ces différences fonctionnelles (Colasanti et al., 2001; Gassmann et al., 2000). Dans notre étude, il s'agit clairement d'un objectif du premier type: prévoir l'abondance de l'ajonc d'Europe pour la prédiction du flux de fixation symbiotique associé.

## 1.2 Les modèles déterministes

### 1.2.1 Définition

Dans ce premier type de modèle, la dynamique d'une population est traduite sous forme d'équations dont la résolution à une unique solution à un temps  $t$ . Ces modèles impliquent 2 hypothèses importantes: 1) l'uniformité (tous les individus sont identiques), et 2) l'ergodicité (tous les individus sont parfaitement mélangés dans le système, et perçoivent le même environnement) (Czárán, 1998). Ils sont souvent dérivés de l'équation BIDE. Par exemple, si l'on considère dans cette équation que la population est fermée ( $i$  et  $e$  sont nuls) et que  $r$  est le taux d'accroissement de la population par unité de temps ( $r = b - d$ ), on obtient le modèle *malthusien* de croissance exponentielle de la population ( $dN/dt = rN \Leftrightarrow N(t) = N_0 \cdot e^{rt}$ ). Ou encore, en faisant l'hypothèse qu'il existe un seuil maximal ( $K$  = capacité de charge) que la population peut atteindre dans un environnement limité, et que  $r$  diminue lorsque la taille de la population approche de  $K$ , on obtient l'équation logistique de Verhulst – Pearl ( $dN/dt = rN \cdot ([K - N]/K)$ ).

### 1.2.2 Utilisations

Basées sur des hypothèses très simplificatrices, ces modèles décrivent des situations théoriques à laquelle la réalité peut être comparée. Pour être plus applicables à des situations concrètes, ces modèles ont été complexifiés afin de pouvoir décrire plusieurs états discrets (e.g. plusieurs espèces dans le modèle de Lotka-Volterra) ou continus (e.g. l'âge des individus). Par extension, ces états peuvent aussi identifier leurs positions spatiales de manière continue (coordonnées cartésiennes) ou discrète (différents patches). Les modèles sont alors représentés par des équations différentielles complexes.

Ce type de modèle peut aussi servir à décrire une étape particulière du cycle de vie d'une espèce végétale. Par exemple, Nathan et Casagrandi (2004) arrivent, sur la base d'une équation unique, à décrire différentes fonctions de recrutement des plantules d'une espèce en fonction de la distance à la plante mère et de la prédation, notamment les relations dépendantes de la densité de Janzen-Connell (Connell, 1971; Janzen, 1970).

### 1.2.3 Limites

Dans ces modèles de 'masse', le devenir d'un individu particulier est impossible à suivre (Czárán, 1998). En effet, quel que soit le nombre d'états du modèle, les individus

appartenant à chacun de ces états respectent toujours les hypothèses d'uniformité et d'ergodicité. Ainsi, si l'hétérogénéité de l'environnement peut-être implicite (e.g. par l'utilisation de plusieurs patches définissant plusieurs états), sa prise en compte reste limitée. La formalisation d'une structuration complexe de l'environnement multiplie le nombre d'équations différentielles à résoudre et peut vite devenir très complexe (voir par exemple la complexité des modèles à 2 patches et 2 espèces compétitrices dans Krisvan et al. (2008)).

### **1.3 Les matrices de transition et l'utilisation des chaînes de Markov**

#### **1.3.1 Définition**

Dans ce type de modèle, l'objet étudié prend plusieurs états discrets: e.g. classes d'âges ou de tailles, types de formations au sein d'une succession végétale, de paysages (Flamm and Turner, 1994; Rammig and Fahse, 2009). Chaque observation du système décrit les différentes proportions des états présents dans le système. Entre 2 observations, un objet observé peut évoluer d'un état vers un autre, ou rester dans le même état. Pour cela une matrice de transition est construite donnant les probabilités de transition entre 2 états au cours de l'intervalle de temps. Ces probabilités sont des variables holistiques qui permettent de synthétiser l'action de plusieurs variables intrinsèques (e.g. déterminisme génétique, stratégies d'utilisation des ressources) et extrinsèques (e.g. compétition, ressources disponibles) à l'objet observé. Cette approche stochastique représente donc une simplification poussée de la dynamique du système étudié, où la prédiction des états du système à un temps  $t$  est rendue possible, avec la seule connaissance de l'état initial à  $t_0$  et de la matrice de transition. (Balzter, 2000; Coquillard and Hill, 1997).

#### **1.3.2 Utilisations**

Lorsque l'on cherche à décrire une population végétale, les différents états du système suivent le développement des individus : plantules, classes d'âges ou de tailles, individus sénescents. L'introduction en première ligne de la fécondité (quantité de graines produites par chaque individu de la classe considérée) permet d'obtenir une matrice de Leslie (Leslie, 1945). Par exemple, Parker (2000) et Stokes (2004) utilisent ce type de matrices pour prédire le taux d'accroissement des populations de genêts à balais en Amérique du Nord et d'ajoncs nains en Angleterre. Comme la structuration de l'espace n'est pas explicite, plusieurs matrices sont construites pour différentes situations (e.g. jeune population, population mature, population sénescence (Stokes et al., 2004)).

#### **1.3.3 Limites et extensions**

Les fondements de l'analyse markovienne reposent sur l'homogénéité du temps. Le système évolue, mais les règles dirigeant l'évolution (i.e. les probabilités de transitions), sont constantes au cours du temps. L'homogénéité du temps implique aussi l'homogénéité de l'espace. Les différentes proportions des états du système (donc la densité de la population et la position des individus les uns par rapport aux autres) n'influencent pas les probabilités de transition. La prise en compte de la densité reste possible, mais implique de réévaluer en permanence la matrice de transition à chaque observation à l'aide d'une matrice de densité (Jensen, 1997). Les matrices de transition ne sont donc applicables qu'à des sous-espaces uniformes de l'environnement. Dès qu'il y a des variations importantes (e.g. disponibilité des ressources qui changent, aléas climatiques, présence de parasites), il faut construire une nouvelle matrice de transition (Coquillard and Hill, 1997). Mais l'analyse markovienne perd alors son principal avantage: sa simplicité (Naulin, 2002).

On peut noter deux types d'extension dans l'utilisation des chaînes de Markov visant à lever les restrictions liées à l'homogénéité du temps (et de l'espace) pour prédire la dynamique des populations végétales dans un environnement plus complexe et variable. D'abord les *méga-matrices* qui utilisent 1) une première matrice de transition concernant les différents

types d'environnements dans lesquels évolue l'espèce cible (e.g. unités paysagères, stades au sein d'une succession végétale) et 2) une matrice de Leslie de l'espèce cible associée à chaque type d'environnement (Pascarella and Horvitz, 1998). A chaque pas de temps, les types d'environnement peuvent évoluer, et la dynamique de l'espèce cible est calculée en conséquence. La définition initiale des proportions des différents types d'environnements, selon par exemple une mosaïque réelle d'unités paysagères ou forestières, est une forme de structuration implicite de l'espace.

Par ailleurs, dans les *matrices de projections intégrées*, une fonction continue de croissance est utilisée à la place d'une matrice de transition entre différentes classes de tailles (Ellner and Rees, 2006; Rees and Ellner, 2009). Si l'évolution de l'environnement en fonction du temps est connue, la fonction de croissance peut intégrer ces effets environnementaux (Dahlgren and Ehrlén, 2011). Alors la distribution de la taille des individus dans la population à chaque pas de temps n'est plus discrète mais suit une fonction de densité continue et intègre les variations environnementales temporelles. Mais cette fonction de croissance reste appliquée de manière uniforme à l'ensemble des individus.

## **1.4 Les modèles de voisinage**

Dans le cas où la position spatiale de l'objet modélisé influe sur sa dynamique, les hypothèses relatives aux modèles précités sont violées (uniformité et ergodicité des individus). Dans ces modèles, l'interaction entre plusieurs objets appartenant à un même état est impossible. Pourtant, dans la réalité et particulièrement en écologie, la proximité spatiale de deux objets détermine la force de leurs interactions (Czárán, 1998). La prise en compte explicite de ce type d'interaction, lié à la position spatiale des individus et à leur proximité, est permise dans les modèles de voisinage. Plusieurs types sont distingués selon la manière de prendre en compte et de définir le voisinage. Les plus utilisés pour la dynamique des populations végétales sont: 1) les automates cellulaires (AC) et les systèmes de particules en interaction (IPS pour Interaction Particule System) qui sont spatialement discrets et 2) les modèles dépendant de la distance qui utilisent un espace continu (Coquillard and Hill, 1997; Czárán, 1998).

### **1.4.1 Automates cellulaires et Interaction Particule System**

#### **1.4.1.1 Définition**

Les AC ou IPS utilisent une grille ou treillis spatialisé qui définit un certain nombre de cellules ou de sites. Cette grille est souvent carrée, impliquant un voisinage à 9 cellules (la cellule cible et les 8 cellules adjacentes), mais d'autres types de grille et de voisinage peuvent exister. Les états de l'objet modélisé sont attribués à chacun de ces sites-cellules. Ce système évolue d'une observation à l'autre grâce à une fonction de transition qui définit les règles de passage entre les différents états possibles. Cette fonction prend en compte l'état des cellules du voisinage, et peut s'appuyer sur des variables holistiques (e.g. des probabilités de changement d'état), mais aussi sur des fonctions mécanistes plus complexes, ou sur une combinaison des deux. Le langage écologique peut alors être traduit de manière simplifiée dans ces fonctions de transition (Gassmann et al., 2000). La définition du terme automate cellulaire n'est pas constante dans la littérature. Dans ce manuscrit, un automate cellulaire est simplement un cas particulier où la fonction de transition dépend uniquement de l'état des cellules dans le voisinage (Balzter et al., 1998). Cette fonction de transition est ensuite traduite en un algorithme exécutable par un ordinateur, rendant l'évolution du système facilement observable et analysable, ce qui serait impossible par la résolution d'équations différentielles.

#### **1.4.1.2 Utilisations**

En se basant sur des fonctions de transitions appropriées, les possibilités offertes par ce type de modèle, en écologie en général, et pour la dynamique des populations végétales en particulier, sont très nombreuses. Ils ont été utilisés dans des domaines variés (e.g. compétition entre populations ou dispersion d'une population, évolution des paysages, relations hôte-parasitoïdes, lutte contre les incendies) (Czárán, 1998; Krivtsov et al., 2009). Les algorithmes construits suivent les différentes étapes du cycle de vie des plantes: dispersion, recrutement, croissance, reproduction, sénescence. La discrétisation de l'espace en grille permet de structurer l'hétérogénéité de l'environnement et d'attribuer certaines caractéristiques à chaque cellule (e.g. luminosité, fertilité, occurrence de perturbation) et ensuite de réguler les différentes étapes du cycle de vie en fonction des caractéristiques de chaque cellule (Massada et al., 2009; Perry and Enright, 2002; Perry and Enright, 2007; Sprugel et al., 2009). Des fonctions de transition peuvent aussi complètement s'appuyer sur l'analyse markovienne pour reproduire le cycle de vie de la plante dans chaque cellule dont les probabilités de transitions sont influencées par l'état des cellules voisines (Dytham, 1995; Rammig and Fahse, 2009). Enfin, notons que la correspondance entre une cellule et un individu particulier n'est pas obligatoire. Par exemple un site peut être défini par l'état d'une formation végétale (Plotnick and Gardner, 2002), ou encore un même individu peut occuper plusieurs cellules (Wild and Winkler, 2008).

#### **1.4.1.3 Limites**

Une limite inhérente à ce type de modèle repose sur l'implémentation informatique de l'algorithme pour décrire des fonctions de transitions plus ou moins complexes. Aussi, si l'utilisation d'une fonction de transition complexe autorise la modélisation détaillée des différentes étapes liées à la dynamique des populations, elle peut nécessiter la prise en compte et la définition d'un nombre important de paramètres qui ne sont pas toujours mesurables empiriquement, et rendre plus difficile l'extrapolation d'un modèle à des contextes différents de celui où il a été construit (Kimmins et al., 2008)

### **1.4.2 Les modèles dépendant de la distance**

#### **1.4.2.1 Définition**

Ces modèles sont des modèles de voisinage *individus centrés*. L'état de chaque individu est caractérisé, incluant sa position spatiale. Dans ces modèles l'interaction entre chaque paire d'individus est liée à la distance qui les sépare, et est décrite par des fonctions qui peuvent-être de formes très différentes.

#### **1.4.2.2 Utilisation**

Trois types de modèles dépendant de la distance sont couramment distingués: 1) les modèles à rayon de voisinage fixe où chaque individu est au centre d'un disque circulaire, et l'ensemble des individus présents dans ce cercle influencent l'individu central (e.g. la croissance, la fécondité, la survie) (Newton and Jolliffe, 1998; Silander and Pacala, 1985); 2) les modèles où chaque individu utilise les ressources dans une zone circulaire autour de sa position, lorsque les zones d'influences de deux individus se chevauchent, ils sont en compétition pour la ressource (Czárán, 1998) et 3) les modèles d'influence écologique où aucun rayon de voisinage n'est imposé, l'impact environnemental d'un individu peut être faible à longue distance, mais non nul (e.g. Weiner, 1984).

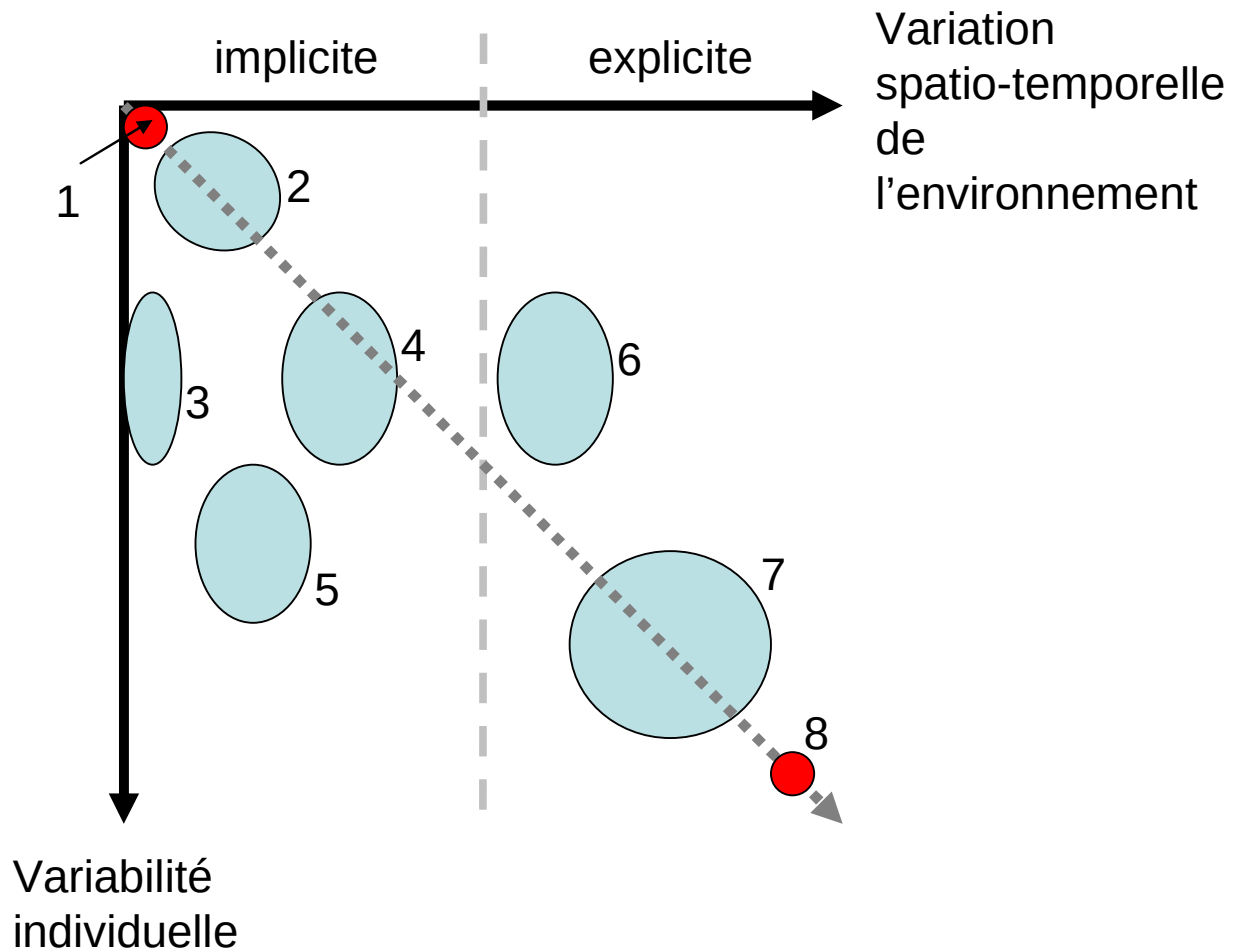


**Figure 11.** Classement des principaux modèles de dynamique des populations végétales selon leur prise en compte de la variabilité individuelle et de la variabilité spatio-temporelle de l'environnement.

- 1 :** modèles déterministes simples (un seul état)
- 2 :** modèles déterministes à plusieurs états
- 3 :** matrices de Leslie
- 4 :** méga-matrices
- 5 :** matrices de projection intégrale
- 6 :** automates cellulaires
- 7 :** IPS
- 8 :** modèles de voisinages dépendant de la distance

#### 1.4.2.3 Limites

Ces modèles ne sont généralement pas utilisés pour caractériser l'ensemble de la dynamique d'une population, mais plutôt très utile à l'analyse d'une des étapes du cycle de vie, particulièrement dépendante de la densité, comme par exemple la croissance (Busing and Mailly, 2004; Damgaard, 2004; Damgaard and Weiner, 2008).

### 1.5 Synthèse quant aux différents type de modèles et leur prise en compte des variations individuelles et des variations spatiotemporelles

*Les modèles déterministes* ont permis des avancées considérables dans la connaissance théorique de la dynamique de population végétale. Ils constituent des références faces auxquelles peuvent être comparées des situations réelles plus complexes. Cependant, avec ce type de modèles de 'masse', il est impossible de suivre un individu en particulier, et la modélisation de systèmes complexes spatialement explicites est très limitée.

Les modèles basés sur les *chaînes de Markov* permettent de prédire l'abondance d'une population végétale dans le temps et dans un environnement donné de manière simple grâce à la matrice de transition. Cependant, la variation de ces probabilités dans un environnement spatialement et temporellement hétérogène n'est pas prise en compte, sauf dans des développements de modèles récents (i.e. les matrices de projections intégrées). Ces modèles sont utilisés pour décrire la dynamique globale d'une population, en particulier déterminer l'évolution de son taux d'accroissement dans différents contextes. L'ensemble des individus, selon leurs états, restent uniformes et perçoivent l'environnement de manière homogène.

*Les modèles de voisinage* sont les seuls qui permettent une prise en compte explicite de l'environnement. L'utilisation de fonction de transition dans les IPS (et les AC) décrivant les différentes étapes du cycle de vie d'une population végétale permet la modélisation de systèmes complexes dans lesquels l'environnement abiotique est hétérogène et structuré, ainsi que la prise en compte des interactions entre sites ou individus plus ou moins proches. Ils nécessitent l'implémentation informatique d'un algorithme. La spatialisation est continue dans les modèles distances-dépendant individus centrés, et ils peuvent être utiles à l'analyse d'une étape particulière du cycle de vie

Il apparaît que les modèles déterministes à un seul état sont les moins à même à décrire la variabilité individuelle et spatio-temporelle de l'environnement, alors que les modèles de voisinage dépendant de la distance les décrivent de manière très précise. Entre ces 2 extrêmes, la figure 11 (p. 54) propose un classement des autres types de modèles.

| Article                         | Espèce cible                                                                 | Type fonctionnel                       | Objectif général                                                                                            | Type de modèle                   | Système étudié                                                                             | Relation avec le contexte forestier |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| (Abe et al., 2008)              | <i>Sambucus racemosa</i>                                                     | ligneux arbustif                       | caractérisation du cycle de vie d'un arbuste pionnier                                                       | matrices de Leslie               | forêt avec un gradient de canopée                                                          | qualitative <sup>1</sup>            |
| (Cipollini et al., 1994)        | <i>Lindera benzoin</i>                                                       | ligneux arbustif dioïque               | caractérisation du cycle de vie d'un arbuste du sous-bois                                                   | matrices de Leslie               | forêt avec sites contrastés (trouée, canopée fermée)                                       | qualitative                         |
| (Dahlgren and Ehrlen, 2011)     | <i>Actaea spicata</i>                                                        | herbacée arbustive pérenne non clonale | prédiction de l'abondance de l'espèce cible avec changement de composition dans la canopée                  | matrices de projection intégrale | forêt avec un gradient de présence d'épicéa                                                | quantitative <sup>2</sup>           |
| (Froborg and Eriksson, 2003)    | <i>Actaea spicata</i>                                                        | Herbacée arbustive pérenne non clonale | impact de la prédation des graines sur l'accroissement des populations dans différents contextes forestiers | matrices de Leslie               | Forêts décidue et de conifères                                                             | qualitative                         |
| (Horvitz and Schemske, 1995)    | <i>Calathea ovandensis</i>                                                   | Herbacée pérenne non clonale           | caractérisation de la variation spatio temporelle des différentes étapes du cycle de vie                    | matrices de Leslie               | Forêt avec forte hétérogénéité de lumière, substrat et densité de l'espèce                 | qualitative                         |
| (Huffman and Moore, 2008)       | <i>Ceanothus fendleri</i>                                                    | Ligneux arbustif fixateur d'azote      | prédiction de l'abondance de l'espèce cible selon itinéraire sylvicole, incendie et herbivorie              | matrices de Leslie               | forêt avec traitement sylvicoles, contrôle du feu et de l'herbivorie dans différents sites | qualitative                         |
| (Kisanuki et al., 2008)         | <i>Neolitsea sericea</i> , <i>Pieris japonica</i> , <i>Illicium anisatum</i> | ligneux arbustif                       | impact de l'herbivorie sur la dynamique des ligneux du sous-bois                                            | matrices de Leslie               | forêt avec sites contrastés à différentes étapes de la succession                          | qualitative                         |
| (Pascarella and Horvitz, 1998)  | <i>Ardisia escallonioides</i>                                                | ligneux arbustif                       | dynamique de l'espèce selon l'ouverture de la canopée et perturbation (ouragans)                            | mega-matrices                    | massif forestier                                                                           | qualitative                         |
| (Schleuning et al., 2008)       | <i>Heliconia metallica</i>                                                   | herbacée pérenne clonale               | dynamique de l'espèce selon perturbations (trouées, inondations)                                            | matrices de Leslie               | forêt avec sites différemment perturbés                                                    | qualitative                         |
| (Ticktin and Nantel, 2004)      | <i>Aechmea magdalenae</i>                                                    | Herbacée pérenne clonale               | dynamique de l'espèce selon forêt primaire ou secondaire                                                    | matrices de Leslie               | forêts primaire et secondaire                                                              | qualitative                         |
| (Tomimatsu and Ohara, 2010)     | <i>Trillium camschatcense</i>                                                | Herbacée pérenne non clonale           | dynamique de l'espèce selon taille du 'fragment' forestier                                                  | matrices de Leslie               | Forêt fragmentée avec parcelles de différentes tailles                                     | qualitative                         |
| (Valverde and Silvertown, 1997) | <i>Primula vulgaris</i>                                                      | herbacée pérenne clonale               | dynamique de colonisation et extinction de l'espèce selon la succession végétale                            | mega-matrices                    | forêt avec sites contrastés à différentes étapes de la succession                          | qualitative                         |

**Tableau 2.** Les modèles publiés de dynamique de populations d'espèces de sous-bois en lien avec le contexte forestier.

1: Les relations qualitatives indiquent qu'une matrice de Leslie est construite pour chaque site d'étude, et permet de discuter des différences de dynamique de population entre sites.

2: La relation quantitative implique les relations suivantes: abondance en épicéa => teneur du sol en potassium => croissance et abondance de l'espèce cible.



## 2 Les modèles de dynamique du sous-bois et de l'ajonc d'Europe

Dans un premier temps, une présentation des modèles existants de dynamique de population d'une espèce du sous-bois sont présentés, avant de s'intéresser aux modèles spécifiquement dédiés à l'ajonc d'Europe.

### 2.1 Les modèles de dynamique du sous-bois

Pour connaître les expériences de modélisation déjà menées, liant la dynamique d'une espèce de sous-bois à un contexte forestier variable, la requête holistique suivante a été entrée dans la base de données ISI Web of Science: (predict\* OR model\*) AND understor\* AND (population OR dynamic). Les publications retenues doivent répondre à deux critères: 1) décrire un modèle permettant la modélisation de la dynamique de population et 2) faire intervenir un contexte forestier variable (au moins deux situations). La consultation des études citées et citant les publications sélectionnées permet de compléter la liste retenue.

Le rôle écologique important du sous-bois dans un système forestier est reconnu. Il constitue une réserve de biodiversité, impacte la régénération de la canopée et les flux d'énergies et de nutriments (Gilliam, 2007). Dans notre contexte le sous-bois représente en moyenne près de 30% de la biomasse racinaire totale, et présente des surfaces foliaires et de racines fines par mètre carré bien supérieures à celle des pins maritimes (Gonzalez et al., 2013, cf Annexe 5). Pourtant même si les cas d'études concernant la relation entre le contexte forestier et le sous-bois sont nombreux dans les résultats de la requête effectuée (e.g. Gaudio et al., 2011; Rodriguez-Calcerrada et al., 2011), les modèles centrés sur la dynamique d'une espèce du sous-bois sont rares. Le tableau 2 ci contre présente succinctement les 12 publications trouvées qui répondent aux deux critères de sélection.

Plusieurs éléments interdépendants apparaissent clairement à l'issue de cette recherche:

- La modélisation de la dynamique de population d'espèces du sous-bois est peu développée. Sans prétendre à l'exhaustivité, seulement 12 études assez récentes ont été trouvées dans une recherche assez large.
- Tous ces modèles s'intéressent à la dynamique de population à l'échelle d'un ensemble forestier, la variabilité intra-site n'est pas étudiée. Ils essaient d'analyser les grandes tendances dans la dynamique de population des espèces cibles (extinction, maintien, augmentation) basées sur l'estimation des taux de croissance populationnel.
- Les interactions entre le contexte ou les pratiques forestières et la dynamique du sous-bois sont discutées qualitativement, mais pas explicitées (excepté dans Dahlgren and Ehrlén (2011)).
- L'utilisation des matrices basées sur les chaînes de Markov est systématique rendant les systèmes modélisés assez simples. Un contexte correspond à une matrice de transition avec des probabilités holistiques qui n'expliquent pas les facteurs écologiques en jeu. L'espace n'est jamais défini de manière explicite.
- Seule l'étude de Huffman et Moore (2008) fait intervenir des pratiques de gestion anthropiques. Mais les traitements sont appliqués *ex ante*, puis les matrices de transitions sont élaborées *ex post*. Ainsi, le système modélisé reste entièrement défini au temps initial ( $t_0$ ), et ne dépend que des probabilités de transition. La réponse à des changements de pratiques après le  $t_0$  n'est pas considérée. Sur ce point, les modèles utilisant les méga-matrices et les matrices de projection intégrales sont particuliers car ils permettent une évolution des règles influant sur la dynamique de population après le démarrage de la simulation.

Il apparaît que notre démarche de modélisation, visant à prédire l'abondance d'une espèce du sous-bois, en fonction d'itinéraires sylvicoles contrastés et impliquant des perturbations intermédiaires en cours de rotation sylvicole, est originale. Elle a plus de similitudes avec les modèles forestiers dont l'objectif premier est la prédiction de la production forestière et la gestion des pratiques sylvicoles (e.g. Dufour-Kowalski et al., 2012).

## **2.2 Les modèles dédiés à la dynamique de population de l'ajonc d'Europe**

Un premier modèle a été construit dans un but appliqué de contrôle du caractère invasif de l'ajonc d'Europe (Rees and Hill, 2001). Une adaptation de ce premier modèle au contexte forestier landais a été réalisée dans le cadre d'un stage de Master 2 (Mathieu, 2008).

### *2.2.1 Le modèle en contexte invasif (Rees et al., 2001)*

#### **2.2.1.1 Description du modèle**

L'objectif de la modélisation est de tester sur des temps longs (500 ans), avec un pas de temps annuel, les effets de plusieurs techniques de lutte contre l'ajonc en milieu invasif en landes non forestières. Le modèle est un IPS, avec des cellules de 1,5 m de côté et qui peuvent être occupées soit par un ajonc d'Europe, soit par la végétation native. L'abondance en ajoncs est définie comme le nombre de cellules qu'il occupe par rapport au nombre de cellules totales. Le modèle s'appuie sur un algorithme qui gère l'occurrence des perturbations et décrit les différentes étapes du cycle de la vie de la plante. A chaque itération, la fonction de transition suit les étapes suivantes:

1. *Les perturbations* : Elles dépendent d'une probabilité annuelle représentant la proportion de cellules où la perturbation est appliquée à chaque itération. Lorsqu'une cellule est perturbée, la végétation est détruite et la cellule est 'libérée'. Seule une cellule 'libre' peut être colonisée par l'ajonc.

2. *Le recrutement*: il est calculé comme le produit de : la quantité de graines présente dans la banque de graines, la probabilité de germination et la probabilité de survie de la plantule la première année.

3. *La colonisation* : Si le produit du recrutement est supérieur ou égal à 1 dans une cellule 'libre', la cellule est occupée par l'ajonc. Sinon, la cellule est considérée comme occupée par la végétation native et n'est plus disponible jusqu'à la perturbation suivante.

4. *La diminution de la banque de graines* : Dans chaque cellule, on retire à la banque de graines de l'année précédente la quantité de graines qui a germé et la quantité de graines disparues dans le sol.

5. *La production des graines*: Elle a lieu dans les cellules occupées par l'ajonc. Une proportion de graines reste dans la cellule et le reste est dispersé dans les 8 cellules voisines.

6. *Mortalité*: Les ajoncs d'âges supérieurs à un âge maximal décèdent et la probabilité que le site reste disponible pour un nouveau recrutement est testée.

7. *Vieillesse*: l'âge des individus augmente d'une année.

Les méthodes de lutte contre l'ajonc sont traduites en modifiant certains paramètres clés du modèle. Par exemple avec le feu, la probabilité de germination augmente et la mortalité dans la banque de graines aussi, en cohérence avec les informations présentées dans la partie B. Pour simuler l'introduction des insectes prédateurs des graines dans le cadre de la lutte biologique, la production de graines est réduite plus ou moins fortement. L'effet d'autres insectes phytophages consiste à diminuer l'âge maximal de l'ajonc. Avec la mise en pâture, la probabilité de survie de la plantule la première année diminue.

### **2.2.1.2 Quelques résultats et commentaires**

Lors des simulations, l'abondance en ajoncs est déterminée d'abord par la réalisation ou non du recrutement des individus d'ajonc lors d'une libération de cellule. La combinaison d'effets diminuant la possibilité de recruter a des effets très marqués sur la diminution de l'abondance de la population (par exemple : association de la diminution de la production de graines (effets des prédateurs) ou de l'augmentation de la mortalité dans la banque de graines (effets du feu) avec la diminution de la probabilité de survie des plantules (effet de la mise en pâture ou d'autres types de contrôle des plantules). En conséquence le modèle traduit bien la nécessité de combiner plusieurs méthodes de luttés contre l'ajonc en contexte invasif. L'occurrence seule d'une perturbation ne suffit pas (e.g. par destruction mécanique), la banque de graines est tellement importante qu'il faut pouvoir ensuite contrôler le recrutement massif de plantules (Hartley and Thai, 1982; Ivens, 1982; Ledgard, 2006).

### **2.2.1.3 Extrapolation au contexte forestier landais:**

Dans le modèle initial de Rees et Hill (2001), la dynamique modélisée est assez brutale avec des abondances d'ajoncs à 100% ou une élimination totale, et des fluctuations très importantes. Ceci est en partie lié aux objectifs de modélisation, impliquant des temps longs de simulation (500 ans) et une description simplifiée du cycle de vie de la plante (e.g. pas de possibilité de rejeter de souche, pas de possibilité de recruter dans une cellule non 'libre', mortalité par 'cohorte' à partir d'un âge maximal fixe). Si le modèle reproduit bien la stratégie pionnière de l'ajonc à travers la constitution d'une banque de graines importante et l'attente d'une perturbation pour installer une nouvelle population, il reste limité pour simuler des variations plus fines sur des temps plus courts, comme celui de la rotation forestière correspondant à notre objectif.

## **2.2.2 Adaptation du modèle initial au contexte forestier landais (Mathieu, 2008)**

### **2.2.2.1 Modifications par rapport au modèle d'origine**

Des modifications ont été effectuées avec deux justifications principales: 1) la prise en compte des perturbations périodiques et spatialement structurées (e.g. le débroussaillage du sous-bois dans les interlignes de pins), et 2) le changement de plusieurs paramètres du cycle de vie de la plante en milieu natif. Elles concernent:

- *La durée de la simulation*: elle devient modifiable, et se déroule sur des temps plus courts pour correspondre à 2 rotations sylvicoles (e.g. 80 ans).

- *Les perturbations*: Deux types de perturbation sont possibles, qui interviennent selon le calendrier prédéfini des opérations sylvicoles dans la parcelle: 1) les perturbations totales des parties aériennes et souterraines des ajoncs correspondant à la coupe rase en fin de cycle forestier et la mise en place d'une nouvelle plantation et 2) les perturbations des seules parties aériennes liées au passage des engins pour l'éclaircie des pins et contrôle mécanique du sous-bois. Lors de l'initialisation du modèle, toute la parcelle subit une perturbation totale équivalente à la fin d'une rotation sylvicole et le début d'un nouveau cycle. Une probabilité de rejet de souche (*p\_sprout*) est utilisée pour la survie des ajoncs après les perturbations aériennes. Elle diminue avec l'âge des individus, traduisant la diminution des bourgeons dormants disponibles pour le rejet de souche (cf partie B de ce chapitre).

- *La taille des cellules de l'IPS*. Elle est réduite à 1 m<sup>2</sup> pour mieux correspondre aux dimensions locales des ajoncs adultes. Comme dans le modèle initial, chaque cellule ne peut-être occupée que par 1 seul individu d'ajonc, ou par la végétation compétitrice.

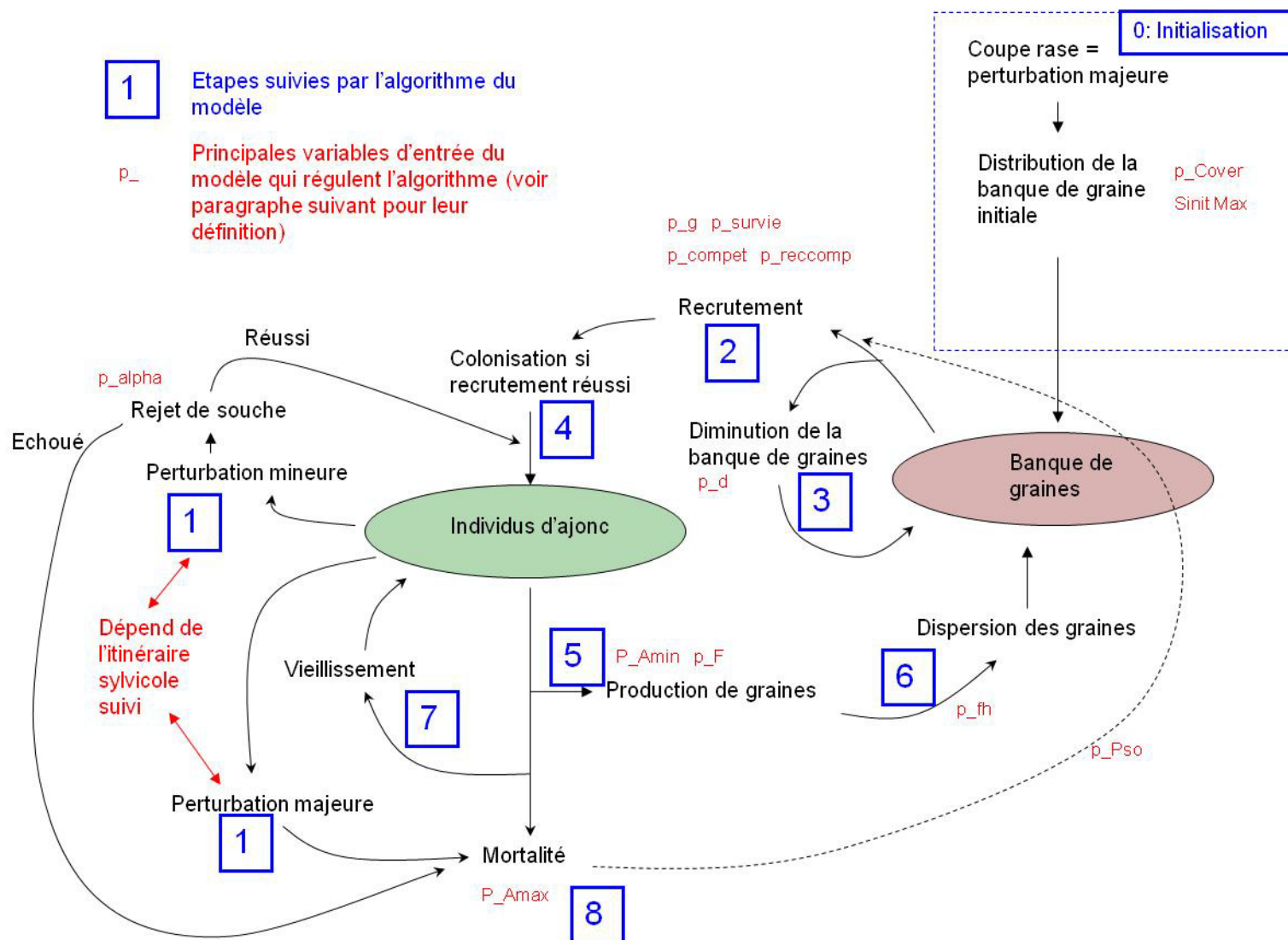


**Figure 12:** Représentation schématique des étapes de l'algorithme du modèle de Rees modifié.

- *Le recrutement*: Il est rendu possible dans les cellules déjà occupées par de la végétation. Mais la diminution de la probabilité de survie des plantules liée à la présence de la végétation compétitrice est prise en compte dans la fonction de recrutement.

- *L'interception de la lumière par la canopée des pins*: Un paramètre représentant la lumière incidente reçue au niveau du sous-bois impacte la probabilité de survie des plantules. Mais ce paramètre n'évolue pas au cours de la rotation.

- *La mortalité par sénescence*: Elle est progressive avec l'introduction d'une probabilité de mourir quand l'âge maximal est atteint.

Le modèle a également été paramétré pour le genêt à balais en modifiant les variables d'entrées. Les probabilités de germination et de survie des plantules, le taux de diminution de la banque de graines, la production de graines, l'âge de maturité et l'âge maximal sont fixés d'après les données issues de la littérature.

### **2.2.2.2 Description de l'algorithme**

La figure 12 illustre les différentes étapes suivies par l'algorithme ainsi que les principales variables d'entrées du modèle. Ces variables seront explicitées dans le paragraphe suivant présentant l'analyse de sensibilité de ce modèle.

### **2.2.2.3 Quelques résultats et commentaires**

Ce modèle réussit à capter les variations d'abondance globale en ajoncs dans notre milieu de manière cohérente par rapport aux pratiques sylvicoles et à la dynamique du sous-bois. Aussi, il prédit l'exclusion du genêt à balais dans les landes mésophiles et humides en cohérence avec la répartition de l'espèce observée dans le massif forestier.

Mais les prédictions du modèle restent imprécises sur de nombreux points (e.g. densité de la banque de graines prédite, positions des individus dans la parcelle, âges des individus). Ces imprécisions peuvent avoir des conséquences importantes quant à notre objectif de recherche. Par exemple, la densité des graines prédites est souvent trop élevée (jusqu'à un facteur 5), pouvant permettre un maintien non réaliste de l'espèce en cas de changement de pratiques sylvicoles. Aussi, une description précise de la structure démographique de la population, en particulier de la répartition des âges (et donc des tailles), est nécessaire pour une prédiction de la production de biomasse et le calcul du flux de fixation symbiotique d'azote associé.

| variables d'entrées | Signification de la variable                                                                                                          | Valeurs dans le modèle; (Bornes de l'AS)    | Références bibliographiques                                                   | Justification                                                                                                                                           |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| p_Cover             | % de recouvrement en ajonc avant la perturbation initiale. Définit un % de cellules où une banque de graine est distribuée.           | Variable ; (0.05-0.95)                      | Sans objet                                                                    | Détermine le comportement initial du modèle.                                                                                                            |
| Sint                | La moyenne d'une variable aléatoire normale pour la taille de la banque de graine initiale dans chaque cellule comportant des graines | 125 graines/m <sup>2</sup> ; (50-700)       | Gonzalez et al (2010)<br>Puentes et (1988)                                    |                                                                                                                                                         |
| p_Duration          | Temps de la simulation                                                                                                                | Variable ; (10-100) années                  | Sans objet                                                                    | Le nombre d'itération influe sur les opérations sylvicoles effectuées                                                                                   |
| p_alpha             | Paramètre de la fonction de rejet de souche ( $p_{\text{sprout}} = \text{Age}^{p_{\text{alpha}}}$ )                                   | (0.1, 1)                                    | (Mathieu 2008). Borné et calé pour que le rejet de souche diminue avec l'âge. | Est-ce que le rejet de souche permet de mieux se maintenir au cours de la rotation sylvicole?                                                           |
| p_g                 | Probabilité de germination d'une graine                                                                                               | 0.03 ; (0.01-0.3)                           | Rees et Hill (2001), Hanley (2009) Ledgard (2006)                             | Etapes très importante dans le cycle de vie des plantes. Influence la réussite du recrutement. Peu de données en condition naturelles dans notre milieu |
| p_survie            | Probabilité de survie d'une plantule la première année                                                                                | 0.5 ; (0.1-0.9)                             | Rees et Hill (2001)                                                           |                                                                                                                                                         |
| p_Compét            | Probabilité de survie d'une plantule liée à la compétition                                                                            | 0.09 ; (0.01-0.31)                          | Hartley et Thaï (1982), Ledgard (2006), Cavard (2005)                         | L'ajonc est sensible à la compétition interspécifique. Difficile à déterminer pourtant déterminant dans le cycle de vie de la plante                    |
| p_recomp            | % de recouvrement des compétiteurs                                                                                                    | Variable ; (0.05-0.95)                      | Sans objet                                                                    |                                                                                                                                                         |
| p_d                 | Taux annuel de diminution de la banque de graines                                                                                     | 0.2, (0.05-0.7)                             | Rees et Hill (2001), Hill et al 2001                                          | La production d'une grande quantité de graines fait partie de la stratégie pionnière de l'ajonc                                                         |
| p_F                 | Production de graines par un individu                                                                                                 | 485 ; (50-3050) graines/m <sup>2</sup> /a n | Rees et Hill (2001), Mathieu (2008)                                           |                                                                                                                                                         |
| p_fh                | Proportion de graines dispersée qui restent dans la cellule                                                                           | 0.6 ou 0,4 ; (0.2-0.8)                      | Hill et al (1996)                                                             | Peut influencer la capacité de colonisation de l'ajonc dans la parcelle                                                                                 |
| p_Amin              | Âge minimum de reproduction                                                                                                           | 3 ; (2-4) ans                               | Rees et Hill (2001) Clements et al                                            | Déterminent la durée de production des graines                                                                                                          |
| p_Amax              | Âge de début de la sénescence                                                                                                         | 9 ; (5-15) ans                              | Mathieu (2008)                                                                |                                                                                                                                                         |
| p_Pso               | Probabilité qu'une cellule soit disponible pour un nouveau recrutement après sénescence                                               | Variable ; (0-0.7)                          | Rees et Hill (2001)                                                           | Influe sur la régénération de l'espèce après sénescence.                                                                                                |

**Tableau 3.** Variables testées dans l'analyse de sensibilité et leur intervalle de variation

### 3 Analyse de sensibilité du modèle de Rees modifié:

#### 3.1 Description générale de l'analyse

Une Analyse de Sensibilité (AS) de ce modèle a été faite en début du travail de thèse. Elle permet de distinguer: 1) les variables d'entrée qui ont une forte influence sur les sorties du modèle (il est donc important de les paramétrer avec précision) et 2) les variables d'entrée qui ont une influence moindre, et dont le paramétrage précis est moins important. Ce travail est présenté dans cette partie correspondant à l'état de l'art, car son objectif était d'approfondir la connaissance du modèle existant, de contribuer au choix des améliorations ou des changements à apporter, et ainsi d'aider à la définition de l'ensemble du programme de recherche à réaliser au cours de la thèse.

Une AS globale a été effectuée pour étudier l'influence de l'ensemble des variables d'entrée sur les prédictions du modèle. Deux types d'indices couramment employés lors des analyses de sensibilité de modèles en écologie sont calculés, les indices de Morris, et les indices de Sobol (Cariboni et al., 2007). Ils permettent d'estimer la variation des sorties du modèle liées aux variations de la variable d'entrée seule, ou en interaction avec la variation des autres variables. Les variables d'entrée testées et leurs gammes de variations sont présentées dans le tableau 3 ci-contre. Le scénario sylvicole est fixé, et correspond à celui décrit sur la figure 4. La variable de sortie choisie pour l'analyse de sensibilité est l'abondance en ajoncs de la parcelle, soit la proportion de cellules occupées par l'ajonc.

#### 3.2 Méthode de Morris

Le plan d'expérience d'une analyse de sensibilité consiste à définir les valeurs de l'ensemble des variables d'entrée pour chacune des simulations à mener au cours de l'AS. Soit  $k$  le nombre de variables d'entrées du modèle dénommées  $x_1, x_2, \dots, x_k$ , et  $N$  le nombre de répétitions souhaitées dans l'AS. Dans la méthode de Morris; une seule variable d'entrée ( $x_i$ ) varie à la fois (plan OAT (One At a Time) (Cariboni et al., 2007)). Le plan d'expérience est donc défini par:

- Une matrice de référence ( $A$ ) comprenant  $k$  colonnes et  $N$  différentes valeurs choisies aléatoirement des  $k$  variables d'entrée.
- Pour chaque variable  $x_i$ , une nouvelle matrice  $C_i$  est construite, avec à chaque  $N^{\text{ième}}$  ligne: 1 valeur aléatoire de  $x_i$ , et les valeurs de la  $N^{\text{ième}}$  ligne dans  $A$  pour les autres variables. Il y a donc  $k$  nouvelles matrices construites.

Soit  $G(x_1, x_2, \dots, x_k)$  la relation entre la valeur de sortie du modèle et les  $k$  variables d'entrée. La variation des sorties du modèle ( $\Delta Y$ ), lorsque qu'une seule variable d'entrée ( $x_i$ ) varie d'une valeur  $\delta$  entre 2 simulations, est défini dans l'équation 2 suivante

$$\Delta Y = \frac{G(x_1, x_2, \dots, (x_i + \delta), \dots, x_k) - G(x_1, x_2, \dots, (x_i), \dots, x_k)}{\delta} \quad (2)$$

Alors deux indices de Morris sont calculés:

- Pour les  $N$  répétitions, la moyenne des valeurs absolues des  $\Delta Y$  lorsque  $x_i$  varie seule donne l'effet élémentaire de  $x_i$  (nommé  $\mu^*_i$ ). Il est obtenu en comparant les sorties du modèle selon le plan d'expérience contenu dans  $A$  et  $C_i$ . Plus l'effet élémentaire est grand, plus le modèle est sensible au paramètre.
- L'écart-type des  $\Delta Y$  ( $\sigma_i$ ) représente les effets non linéaires de  $x_i$ . Des valeurs élevées de  $\sigma_i$  indiquent des effets en interaction avec d'autres variables d'entrées.

Avec  $k = 14$  variables d'entrées (cf Tableau 3) et 1500 répétitions, le nombre total de simulations à effectuer est de 22 500 (i.e.  $N.(K+1)$ ). Les résultats sont présentés dans le tableau 4 ci après.

### 3.3 Méthode de Sobol

C'est une analyse de décomposition de la variance. Avec  $k$  variables d'entrée et  $N$  répétitions, le plan d'expérience est construit selon:

- Deux matrices de références (A et B) comprenant  $k$  colonnes et  $N$  valeurs des  $k$  variables d'entrée choisies aléatoirement.
  - Puis pour chacune de ces variables, une troisième matrice (C) est construite par recombinaison de A et de B, comprenant les valeurs de A pour cette variable, et les valeurs de B pour l'ensemble des autres variables. Il y a donc  $k$  recombinaisons effectuées. Pour chaque variable  $x_i$ , la matrice construite correspondante ( $C_i$ ) diffère de B à une variable près (les valeurs de  $x_i$ ), et de A à  $k-1$  variables près. Ensuite, pour chaque  $x_i$  la comparaison des variances des sorties du modèle selon les plans d'expériences contenus dans  $C_i$ , A et B permettent de calculer les indices de Sobol (Saltelli, 2002) qui expriment:
    - *L'effet total*: soit la variabilité des sorties du modèle due à la variation de  $x_i$  seule et en interaction.
    - *L'effet principal*: soit la variabilité des sorties du modèle due à la variation de  $x_i$  seule.
    - *L'effet en interaction* est calculé comme la différence de l'effet total – l'effet principal
- Avec  $N=1500$  répétitions, le nombre total de simulations à effectuer est de 24 000 (i.e.  $N.(K+2)$ ). Les résultats sont présentés dans le tableau 4 ci après.

### 3.4 Résultats

Les méthodes d'analyse de Morris et de Sobol sont bien distinctes, et les indices calculés ne sont pas équivalents. Cependant, *l'effet élémentaire* de Morris et *l'effet principal* de Sobol représentent tous deux des effets liés à la variation seule d'une variable d'entrée. Des *effets non linéaires* élevés dans l'analyse de Morris sont caractéristiques d'*effets en interaction* et les *effets en interaction* sont directement donnés par l'analyse de Sobol. Ainsi pour faciliter la lecture des résultats, dans le tableau 4 suivant: 1) les différents indices de Morris et de Sobol calculés sont donnés avec leur valeur de rang, 2) la somme des rangs de l'ensemble des indices est effectuée pour obtenir un classement moyen de l'influence des variables d'entrées, et 3) un classement en trois catégories, variables influentes, intermédiaires et peu influentes est effectué, par simple observation de la somme des rangs de chaque variable.

| variables d'entrée | Rang effet élémentaire de Morris | Rang effet non linéaire de Morris | Rang effet principal Sobol | Rang effet en interaction Sobol | Sommes des rangs |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|---------------------------------|------------------|
| p_g                | 2                                | 1                                 | 1                          | 1                               | 5                |
| p_F                | 1                                | 2                                 | 4                          | 2                               | 9                |
| p_Compét           | 3                                | 3                                 | 3                          | 4                               | 13               |
| p_survie           | 5                                | 4                                 | 2                          | 3                               | 14               |
| p_Cover            | 7                                | 5                                 | 7                          | 7                               | 26               |
| P_recomp           | 8                                | 8                                 | 6                          | 6                               | 28               |
| p_d                | 6                                | 6                                 | 14                         | 5                               | 31               |
| Sinit              | 10                               | 7                                 | 8                          | 8                               | 33               |
| p_Amax             | 4                                | 10                                | 10                         | 9                               | 33               |
| p_Duration         | 11                               | 9                                 | 5                          | 11                              | 36               |
| p_fh               | 9                                | 12                                | 13                         | 10                              | 44               |
| p_Amin             | 13                               | 13                                | 9                          | 12                              | 47               |
| p_Pso              | 12                               | 11                                | 11                         | 14                              | 48               |
| p_alpha            | 14                               | 14                                | 12                         | 13                              | 53               |

**Tableau 4.** Classement de l'influence des variables d'entrées selon les résultats combinés des indices de Morris et de Sobol. En rouge sont indiquées les variables les plus influentes, en bleu les variables intermédiaires, et en vert les variables peu influentes. La définition des variables d'entrées est donnée dans le tableau 3 précédent.



### 3.5 Discussion des résultats de l'analyse de sensibilité

#### 3.5.1 *L'importance de la phase de régénération*

Les résultats sont bien similaires pour les 2 méthodes d'AS employées. Les variables influentes sont toutes liées à la phase de régénération (cf partie B de ce chapitre): production des graines ( $p_F$ ), germination ( $p_g$ ), et survie des plantules ( $p_{\text{Compet}}$ ,  $p_{\text{survie}}$ ). Les variables intermédiaires sont aussi principalement liées à la phase de régénération: distribution initiale ( $p_{\text{Cover}}$ ,  $S_{\text{init}}$ ), diminution de la banque de graines ( $p_d$ ) et survie des plantules ( $p_{\text{recomp}}$ ). La sénescence ( $p_{\text{Amax}}$ ) est liée au stade adulte, mais va aussi influencer sur la durée de production des graines.

#### 3.5.2 *Hypothèses quant à la faible influence des autres variables*

On peut penser que les effets des variables peu influentes sont masqués par ceux des variables plus influentes. Par exemple, lorsqu'un ajonc adulte meurt, il peut avoir déjà produit localement une banque de graines importante. Alors la probabilité que le site devienne disponible pour le recrutement au cours de la même itération ( $p_{\text{Pso}}$ ) jouerait peu, car le recrutement d'un nouvel individu serait quand même fortement probable les années suivantes. Aussi l'âge de maturité sexuelle ( $p_{\text{Amin}}$ ) jouerait peu, car la production de graines étant pondérée par l'âge, même si la production de graines est précoce, elle est faible. Aussi dans le modèle la probabilité de rejeter de souche diminue avec l'âge des ajoncs. Si l'ajonc est jeune, la probabilité de rejet de souche est forte (même quand  $p_{\text{alpha}}$  varie). Donc les rejets sont nombreux, mais le retard de développement de la tige (âge de la tige après perturbation - âge de la tige s'il n'y avait pas eu perturbation) est faible et la perturbation influencerait peu le comportement de la tige. Quand l'ajonc est âgé, il a déjà eu le temps de produire une banque de graines importante. S'il y a rejet : une nouvelle tige apparaît et se comporterait comme la tige d'un nouvel individu. Si le rejet n'a pas lieu, avec le stock de graines élevé, la probabilité de recruter un nouvel individu serait forte, produisant aussi également un nouvel individu. Aussi, la pluie de graines qui est dispersée dans les cellules voisines de l'ajonc est partagée entre 8 cellules. Donc la proportion de graines qui arrivent dans chaque cellule voisine est de  $[(1 - P_{\text{fh}}) / 8]$  soit un maximum de 10 % quand  $p_{\text{fh}}$  prend la valeur 0.2 (cf tableau 3). Dans le modèle il a été calculé que: 1) en moyenne un ajonc produit 210 graines.an<sup>-1</sup> (soit une dispersion moyenne de 21 graines.cellule. an<sup>-1</sup> si  $p_{\text{fh}} = 0.02$ ), et 2) que le nombre minimum de graines nécessaire à la réalisation d'un recrutement varie entre 80 et 750 (Mathieu, 2008). Donc en cas d'ajoncs isolés, la quantité de graines dispersées en dehors de la cellule d'origine pourrait-être trop faible pour que la colonisation ait lieu. En cas de peuplement dense, la quantité de graines produites par les voisins dans leur propre cellule serait plus importante et masquerait l'effet de la dispersion.

### 3.6 Synthèse sur l'analyse de sensibilité

Les résultats de l'AS sont en accord avec les résultats du modèle original implémenté en Nouvelle-Zélande, et avec les connaissances quant à l'importance des différentes étapes du cycle de vie de la plante (cf partie B): la phase de régénération de l'espèce détermine sa dynamique de population. Elle doit donc être décrite de manière précise dans un modèle visant à prédire la dynamique de population de l'ajonc d'Europe. De plus, l'analyse de sensibilité permet de confirmer la faible influence de certains paramètres sur la dynamique de population de l'espèce. Par exemple, la production de graines étant dépendante de la taille des individus (cf partie B), l'âge d'entrée en reproduction ( $A_{\text{min}}$ ) influe peu sur sa dynamique, car des productions faibles de graines sont en jeu. Néanmoins, les résultats de l'analyse de sensibilité dépendent de la représentation des processus biologiques dans le modèle. Par exemple, le fait que la fonction de rejet de souche détermine une probabilité de rejet toujours

importante pour des individus jeunes est un choix fait par le modélisateur, et peut influencer au final les résultats de l'analyse de sensibilité. Même si certaines variables apparaissent peu influentes, leur prise en compte de manière cohérente par rapport à la connaissance de l'espèce cible reste importante.

## **D. Précision des objectifs de recherche : cahier des charges du modèle et questions d'intérêt scientifique**

---

L'objectif central de la thèse est l'élaboration d'un modèle conceptuel de dynamique de population de l'ajonc d'Europe. Cette objectif est d'abord reprécisé. Puis, sur la base de l'état de l'art présenté dans les parties précédentes de ce chapitre, nous précisons dans cette partie de quoi doit rendre compte le modèle, et le choix du type de modèle qui en découle pour répondre à cet objectif. Puis nous présentons les connaissances encore à acquérir pour permettre la construction du modèle. En particulier, trois questions importantes pour l'élaboration du modèle sont présentées, correspondant à trois questions d'intérêt scientifiques pré-identifiées dans la partie B de ce chapitre. La réponse à ces questions constitue l'essentiel du travail de thèse qui sera présenté dans les chapitres suivant.

### ***1 Retour sur l'objectif de modélisation : la dynamique spontanée de l'ajonc d'Europe dans le cadre de la sylviculture***

L'objectif annoncé de ce travail de modélisation conceptuelle est de comprendre l'incidence des pratiques forestières sur la dynamique spontanée de l'ajonc d'Europe dans la parcelle de pins maritimes, et sur le flux entrant d'azote atmosphérique associé, afin d'estimer la durabilité des pratiques forestières quant au maintien de la fertilité des sols landais. Pour rendre compte de cette dynamique spontanée, il s'agira, lorsque des graines d'ajonc sont présentes dans la parcelle au moment d'une coupe rase, de simuler la dynamique de population de l'espèce au cours de la ou des rotations suivantes, en fonction des choix faits par les forestiers.

Nous avons vu que de nombreuses étapes du cycle de vie de l'ajonc d'Europe étaient influencées par les modifications environnementales qui ont lieu au cours de la rotation forestière. Par ailleurs les opérations sylvicoles provoquent des perturbations qui peuvent aussi influencer la dynamique de population de l'ajonc d'Europe présent en sous-bois (partie B). Le modèle devra donc rendre compte :

- des effets des modifications environnementales qui ont lieu tout au long de la rotation sur le cycle de vie de l'espèce. En effet, la présence de l'espèce dans la parcelle n'est sûrement pas liée à sa seule régénération après une coupe rase, mais bien à sa capacité à se développer et à se reproduire dans un environnement changeant au cours de la rotation (voir en particulier la figure 10 de synthèse en fin de partie B).
- des effets des opérations sylvicoles sur la dynamique de l'espèce, via des modifications de l'environnement au niveau du sous-bois (en particulier la modification de l'accès à la lumière), et via des perturbations des systèmes aériens ou souterrains des plantes.

Les pratiques sylvicoles et leurs évolutions envisagées sont très diverses, et chaque sylviculteur peut conduire un itinéraire propre (partie A). Il ne s'agit pas ici de rendre compte de la multiplicité des choix possibles par les forestiers, mais bien de s'intéresser aux pratiques les plus discriminantes d'un itinéraire à l'autre quant à leur impact possible sur la dynamique de l'ajonc d'Europe. La description des opérations dans le modèle devra s'intéresser en particulier aux modifications environnementales induites pour le sous-bois (e.g. prise en compte de la densité de plantation et des

éclaircies qui modifient l'accès à la lumière pour le sous-bois, pratiques de fertilisation qui peuvent modifier la croissance des ajoncs) et des rythmes et fréquences des perturbations (dépendant de la durée de la rotation, des nettoyages mécaniques du sous-bois). Des scénarios de simulation, combinant ces différentes opérations, et basés sur les objectifs de production actuels et futurs pourront alors être définis. A minima ces scénarios décriront: 1) un itinéraire de 'référence' actuel, tel que présenté sur la figure 6, 2) un itinéraire 'long' dont l'objectif serait la production de bois de haute qualité et 3) deux scénarios 'courts' visant à produire du bois de petit sciage ou de la biomasse pour la production d'énergie (cf tableau 1).

*In fine*, les pratiques et itinéraires qui favorisent ou non la dynamique de l'ajonc pourront être identifiées sur la base de critères simples (e.g. durée de rotation, densité de plantation, fertilisation...) ce qui permettra d'alimenter la discussion quant à l'adéquation entre les objectifs de production, les pratiques associées, et le maintien sur le long terme de la fertilité des sols landais.

## **2 Le cahier des charges du modèle**

### **2.1 Le cadre spatial et temporel**

Le cadre spatial et temporel du modèle existant (cf partie C, Mathieu 2008) est confirmé. Il s'agit bien de la parcelle équiennne de pins maritimes, où différents itinéraires sylvicoles sont appliqués. La durée de simulation couvrira 2 rotations forestières successives, avec répétition du même itinéraire.

De plus, les parcelles de pins maritimes sont distribuées le long d'un gradient d'oligotrophie (cf partie A). Or, la fertilité du site peut influencer directement les performances des ajoncs (e.g. la croissance des stades adultes, ou des plantules, cf partie B), mais aussi indirectement le type d'espèces présentes dans le sous bois (partie A), et donc les interactions entre l'ajonc et ce sous-bois (partie B). La démarche de modélisation s'attachera prioritairement à décrire des situations dans les landes humides, majoritaires au sein du massif (couvrant approximativement 45% de la surface), avec un sous-bois dominé par la molinie. Une adaptation de la démarche aux autres types de landes sera aussi envisagée.

### **2.2 Impact des opérations sylvicoles sur l'ajonc d'Europe.**

D'après la description des pratiques sylvicoles (partie A), et la connaissance de l'espèce cible (partie B), l'impact supposé des opérations sylvicoles sur l'ajonc d'Europe et à rendre compte dans le modèle est résumé dans le tableau 5 suivant:

| <b>Opération:</b>                                                              | <b>Incidence sur les ajoncs</b>                                                                                                                                                                                          | <b>A prendre en compte par le modèle</b>                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Labour en plein                                                                | Destruction totale des ajoncs<br>Remobilisation du stock de graines                                                                                                                                                      | Mort de tous les ajoncs. Dilution du stock de graines sur toute la profondeur de labour                                                                                                                                        |
| Labour en bande                                                                | Destruction totale sur et proche de la ligne de pins. Perturbation aérienne uniquement au centre des interlignes<br>Remobilisation du stock de graines là où la perturbation est totale                                  | Perturbation totale:<br>Mort de tous les ajoncs. Dilution du stock de graines sur toute la profondeur de labour.<br>Perturbation partielle:<br>Détruire les parties aériennes et autoriser un rejet de souche                  |
| Fertilisation phosphatée                                                       | Modification possible des performances de l'ajonc: survie des plantules, croissance (Taux de fixation?)<br>Modification de la vitesse de croissance des pins et donc de l'évolution de la lumière transmise au sous-bois | Prévoir des relations entre les taux de survie et de croissance des plantules en fonction de la fertilisation.<br>Prévoir des relations entre la lumière incidente et la fitness des ajoncs (croissance, survie, reproduction) |
| Densité et schéma de plantation                                                | Modification de la lumière disponible pour le sous-bois                                                                                                                                                                  | Prévoir des relations entre la lumière incidente et la fitness des ajoncs (croissance, survie, reproduction)                                                                                                                   |
| Durée de la rotation                                                           | Temps disponible au développement de la population et à l'approvisionnement du stock de graines avant la coupe rase                                                                                                      | Permettre différentes durées de simulation                                                                                                                                                                                     |
| Nombre, localisation, et fréquence des éclaircies                              | Perturbation aérienne liée au passage des engins                                                                                                                                                                         | Autoriser un rejet de souche                                                                                                                                                                                                   |
| Nombre, localisation, et fréquence des contrôles de la végétation du sous-bois | Perturbation aérienne                                                                                                                                                                                                    | Autoriser un rejet de souche                                                                                                                                                                                                   |

**Tableau 5:** Impact des opérations sylvicoles sur l'ajonc d'Europe présent en sous-bois.

## 2.3 L'influence du reste du sous-bois

L'ajonc dominant en hauteur la strate du sous-bois, et les plantules d'ajoncs étant très sensibles aux variations dans leur environnement, les interactions les plus influentes avec le reste de la végétation ont lieu au stade plantule (partie B). Ces plantules étant sensibles à la compétition interspécifique, nous avons aussi fait l'hypothèse réaliste que ces interactions dépendaient du timing d'émergence de la plantule, autrement dit de l'occupation de la parcelle par le reste du sous-bois, réduit après la coupe rase, et plus important au cours du reste de la rotation forestière.

En plus de l'influence du niveau de fertilité local sur ces interactions (discutées-ci dessus), le modèle devrait prendre en compte: 1) des processus de recrutement des ajoncs bien différenciés en phases pionnières et en phases avancées de la rotation et 2) des processus de recrutement différenciés en fonction de l'espèce dominante dans le sous-bois (hors ajonc d'Europe) si des simulations en contexte de landes mésophile et sèche sont envisagées.

## 2.4 Le cycle de vie de l'ajonc d'Europe

Les principales étapes du cycle de vie de l'ajonc et leurs principales sources de variations possibles ont été identifiées, en lien avec les modifications environnementales au cours de la rotation forestière (partie B). L'AS du modèle existant (partie C) indique aussi l'importance de la phase de régénération de l'ajonc d'Europe sur sa dynamique de population. Les résultats de l'AS doivent être pris avec précaution, car ils dépendent en partie de la structure du modèle qui a été choisie. Mais les conclusions issues de la littérature et de l'AS sont bien concordantes. Le modèle s'attachera donc à décrire de manière plus précise les différentes étapes de cette phase de régénération et leurs variations. Les étapes liés à la phase adulte ne sont pour autant pas ignorées, la croissance et la mortalité des individus déterminant par exemple la quantité de graines produites et le nombre de saisons de reproduction effectuées.

## **2.5 Autres questions non étudiées relatives à l'ajonc d'Europe dans le massif forestier**

L'occurrence d'incendies, mais aussi la variabilité du climat peuvent influencer la dynamique de l'ajonc, en particulier les taux de germinations et la dynamique de la banque de graines (partie B). Aussi, l'absence de l'ajonc d'Europe de 40% des relevés IFN à travers le massif (partie A) est certainement liée à une absence locale de graines dans le sol, empêchant la mise en place d'une population d'ajoncs après la coupe rase. Avant de présenter le cahier des charges auquel le modèle doit répondre, il convient de préciser que la démarche de modélisation:

- ne s'intéresse pas à ce qui explique la présence d'ajonc (et donc d'un stock de graines) au sein d'une parcelle forestière, mais bien lorsque l'ajonc est présent, à prédire sa dynamique et la production de biomasse associée. Ainsi la dispersion secondaire des graines d'ajonc (e.g. zoochorie, agestochorie, cf partie B) ne sera pas prise en compte.
- n'a pas pour objectif d'analyser les effets de perturbations stochastiques (e.g. incendies) ou d'interactions avec des scénarios évolutifs du climat.

Aussi, il est indiqué dans la partie A, que la sylviculture d'espèces exotiques est envisagée dans les évolutions de pratiques dans le massif. Le changement d'espèce impliquant des modifications importantes des relations entre la canopée et le sous-bois, ainsi que des techniques de cultures utilisées, et le pin maritime représentant plus de 75% des surfaces plantées à l'heure actuelle dans le massif, ces changements ne seront pas pris en compte dans la démarche de modélisation.

Même si dans un deuxième temps, des évolutions d'un modèle existant sont possibles, en fonction des évolutions des questions scientifiques posées, l'objectif central de la thèse reste la modélisation conceptuelle de l'incidence des pratiques de la sylviculture du pin maritime actuelles, et de leurs évolutions envisagées, sur la dynamique de population et la production de biomasse de l'ajonc d'Europe, et sur le flux de fixation symbiotique associé.

## **3 Choix du type de modèle**

### **3.1 Un IPS spatialement explicite**

La sylviculture du pin maritime impose 1) une hétérogénéité des perturbations selon la distance à la ligne de pins. Par exemple le contrôle mécanique du sous-bois s'effectue souvent uniquement dans l'interligne et 2) une hétérogénéité de la lumière disponible pour le sous-bois aussi selon la distance à la ligne de pins. Ceci est particulièrement vrai avant la première éclaircie dans les peuplements denses de pins maritimes (partie A). De plus, le modèle doit-être capable de prendre en compte une évolution de l'environnement des ajoncs au cours du temps car: 1) la dynamique de croissance du pin maritime crée des conditions de luminosité contrastées au niveau du sous-bois au cours de la rotation, et l'ajonc y est particulièrement sensible (partie B) et 2) l'étape de recrutement des plantules est certainement sensible au timing d'émergence (partie B).

Les modèles habituellement utilisés pour la dynamique des espèces de sous-bois, basés sur l'analyse markovienne (partie C) ne sont donc pas adaptés à nos objectifs de modélisation, et à l'importance des variations spatio-temporelles de l'environnement des ajoncs dans notre contexte. Au contraire, l'utilisation d'un treillis carré est particulièrement appropriée pour la représentation du schéma de plantation de pins maritime en lignes. En conséquence, l'utilisation d'un IPS semble plus adaptée, grâce à sa fonction de transition et à une prise en compte de l'évolution des processus dans le temps (i.e. des règles de transitions itératives peuvent évoluer selon la chronologie de la rotation forestière).

| Etat actuel du model                                                            | Evolution souhaitée                                                                     | Données / Outils disponibles                                                                           | Manque à combler                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1. Influence de la sylviculture</b>                                          |                                                                                         |                                                                                                        |                                                                                               |
| - Structure spatiale de la parcelle: ligne répétée tous les 4 m.                | Largeur de l'interligne et schéma de plantations variables                              |                                                                                                        | Définition initiale de la propriété des cellules dans l'IPS                                   |
| - Perturbations: description des différents types                               | Non (bonne description actuelle).                                                       |                                                                                                        |                                                                                               |
| - Fertilisation: non prise en compte.                                           | Influence la croissance des adultes, et le développement des plantules                  | Données concernant la croissance en diamètre des adultes avec différents apports en P.                 | - Fonction de croissance des adultes<br><b>- Impact de la fertilisation sur les plantules</b> |
| - Interception de la lumière: fixe.                                             | Evolution de la lumière transmise au sous-bois au cours de la rotation                  | - Scénarios de croissance du pin maritime et coefficient d'extinction de la lumière                    | Règles de croissances et de transmission de la lumière (basé sur la loi de Beer Lambert)      |
| <b>2. Relations avec le sous-bois</b>                                           |                                                                                         |                                                                                                        |                                                                                               |
| - Taux de recouvrement uniforme et constant, sauf l'année après coupe rase.     | Impact du sous-bois sur le recrutement en phase pionnière et en phase avancée           |                                                                                                        | <b>Interactions des plantules avec le reste du sous-bois selon son abondance</b>              |
| <b>3. Etapes du cycle de vie de l'ajonc</b>                                     |                                                                                         |                                                                                                        |                                                                                               |
| • <b>Les stades adultes</b>                                                     |                                                                                         |                                                                                                        |                                                                                               |
| Croissance: Incrément annuel de l'âge.                                          | Prédiction des biomasses individuelles, en fonction de l'environnement de la plante     | - Relations allométriques diamètres- biomasses<br>- Données âges - diamètres dans différents contextes | Fonctions de croissance du diamètre.                                                          |
| Sénescence: selon un paramètre d'âge fixe.                                      | Age de sénescence dépendant de l'environnement, en particulier la lumière               | Données âges -mortalité dans 2 environnements lumineux différents                                      | Fonctions âge-mortalité                                                                       |
| Auto-éclaircie: non prise en compte car 1 cellule = 1 individu                  | Autoriser plusieurs individus par cellule, et appliquer l'auto-éclaircie                | Loi d'auto-éclaircie pour l'espèce en milieu invasif                                                   | Vérification de la loi dans notre milieu                                                      |
| Rejet de souche: La probabilité décroît avec l'âge                              | Fonction non linéaire avec l'ontogénie de la plante, et selon l'environnement           | Fonctions de rejet de souche dans la littérature                                                       | Pas de données concernant l'espèce                                                            |
| • <b>La phase de régénération</b>                                               |                                                                                         |                                                                                                        |                                                                                               |
| Production des graines: valeur constante par âge                                | Production des graines par individus en fonction de leur développement et environnement |                                                                                                        | <b>Pas de données quantifiées dans notre milieu</b>                                           |
| Taux de prédation des graines inconnu car intégré à la production de graines    | Variations de la prédation selon les gradients environnementaux locaux                  | Taux de prédation mesurés dans la littérature.                                                         | <b>Pas de données quantifiées dans notre milieu</b>                                           |
| Dispersion: proportion fixe distribuée en dehors des cellules                   | Dispersion par individus                                                                | Profil de dispersion pour une hauteur du pied mère                                                     | Adaptation du profil à une hauteur de dispersion variable                                     |
| Dynamique banque de graines: Utilise un taux annuel fixe issu de la littérature | Un taux correspondant à notre contexte (Un taux dépendant de la profondeur?)            | Taux mesurés en nouvelle Zélande                                                                       | Pas de données quantifiées dans notre milieu                                                  |
| Germination: Utilise un taux annuel fixe issu de la littérature                 | Taux mesuré dans notre contexte (Variabilité de ce taux?)                               |                                                                                                        | <b>Pas de données quantifiées dans notre milieu</b>                                           |
| Développement et survie des plantules: taux annuel fixe issu de la littérature  | Variabilité en fonction de la fertilité locale et interactions avec le sous-bois.       |                                                                                                        | <b>Pas de données quantifiées dans notre milieu</b>                                           |

**Tableau 6.** Etat du modèle en début de thèse et informations manquantes pour le faire évoluer. Les informations manquantes jugées les plus importantes (partie B, partie C) sont indiquées en italique.

Chacune des étapes du cycle de vie de l'ajonc peut être influencée par différents facteurs (partie B). La souplesse des fonctions de transitions des IPS permet justement de représenter ces différentes étapes, et d'en décrire certaines plus précisément (i.e. la phase de régénération). Ces trois arguments forts plaident pour l'utilisation d'un IPS spatialement explicite.

### **3.2 Reprise et évolution du modèle disponible**

Le choix antérieur qui avait été fait de l'utilisation d'un IPS est donc confirmé. Ce modèle utilisait une évolution des états des différentes cellules selon un pas de temps annuel. Ce pas de temps paraît aussi adapté car: 1) les phases de reproduction et de croissance des ajoncs matures ont une périodicité annuelle 2) considérant nos objectifs de modélisations sur des temps longs (2 rotations forestières), l'utilisation de certaines variables holistiques annuelles (e.g un taux de germination ou un taux de diminution de la banque de graines annuel) présente plusieurs avantages. Elle permet d'intégrer les variations infra-annuelles et sont plus facilement mesurables, et certaines sont déjà décrites dans la littérature pour des intervalles annuels.

Cependant, deux types de modifications importantes sont suggérés. D'abord la présentation de l'écologie de l'espèce (partie B), l'imprécision du modèle actuel (partie C) et sa sensibilité importante aux variables décrivant la phase de régénérations impliquent des modifications importantes de la fonction de transition. Pour cela, les informations manquantes à préciser sont indiquées dans le tableau 6 ci-contre.

Ensuite, les processus à simuler (i.e. reproduction, croissance) peuvent avoir des performances très variables d'un individu à l'autre (partie B), ce qui est très probable dans une parcelle forestière où l'environnement est spatio-temporellement hétérogène. Alors la dynamique globale de la population peut résulter de la somme de comportements individuels bien différenciés, et être décrite de manière imprécise par des comportements moyens. De plus, le flux d'azote d'origine symbiotique est lié à la dynamique de production de biomasse (partie A). La quantité de biomasse produite par unité de surface est-elle-même certainement très variable, en lien avec des densités d'individus très variables (pouvant dépasser les 10 individus matures par mètre carré). Ainsi l'utilisation d'une cellule de 1 m<sup>2</sup>, au sein de laquelle se développerait un ajonc de taille moyenne est remise en question. A minima, il apparaît important de permettre la croissance de plusieurs ajoncs dans une même cellule de 1 m<sup>2</sup>. Ainsi les différentes étapes du cycle de vie seraient modélisées à l'échelle de l'individu, et une cellule de l'IPS pourrait contenir plusieurs individus, chacun dans des états différents. La représentation continue de l'espace pourrait aussi être envisagée, mais la précision supplémentaire apportée doit-être cohérente par rapport au niveau de précision atteint lors de la définition conceptuelle du modèle. Si le déroulement dans l'espace de certaines étapes du cycle de vie reste approximatif, la discrétisation de l'espace par l'utilisation d'un treillis reste pertinente.

## **4 Le programme de recherche de la thèse**

Le cahier des charges précité, et le choix tranché de la structure de modélisation permet de préciser le programme de recherche à mettre en œuvre au cours de la thèse pour la conceptualisation du modèle d'ajonc d'Europe.

### **4.1 L'acquisition des connaissances**

Le tableau 6 suivant présente l'état d'avancement de la modélisation avant le début de la thèse (Mathieu 2008), les évolutions souhaitées, les outils ou données disponibles ainsi que les informations manquantes pour concrétiser ces évolutions. Les informations manquantes les plus importantes concernant la dynamique de l'espèce et la production de biomasse y sont distinguées.



## 4.2 Les questions prioritaires de modélisation, et les questions d'intérêt scientifique

La présentation et priorisation des données manquantes ci-dessus, permet de définir trois questions prioritaires de modélisation. Ces questions concernent toutes la niche de régénération de l'ajonc d'Europe. Leurs implications écologiques déterminent des questions d'intérêt scientifiques plus précises, pré-identifiées dans la partie B, et qui sont aussi présentées ici succinctement.

### Question 1 (Fécondité)

*Quels sont les facteurs de régulation de la production de graines par les ajoncs dans le milieu étudié?*

Les espèces ligneuses sont susceptibles de subir des modifications importantes de leur environnement au cours de leur longue durée de vie. Pourtant leur capacité à ajuster l'allocation à la reproduction à la disponibilité en ressources dans leur environnement, pour ne pas compromettre les autres fonctions essentielles à la plante, est peu connue. Si cette allocation n'était pas fixée, mais permettait une réponse plastique aux variations environnementales, cela pourrait avoir des conséquences importantes sur l'histoire de vie de ces espèces, et leur capacité à se maintenir dans un environnement imprédictible.

### Question2 (Prédation)

*La prédation des graines dans notre milieu contribue-t-elle à une diminution importante de la pluie de graines? Si oui, quels sont les facteurs de variations de la prédation par les deux insectes identifiés?*

L'ajonc est une espèce invasive à travers le monde. La lutte biologique est basée sur l'introduction des deux prédateurs de graines spécifiques de l'ajonc d'Europe qui sont présents dans notre contexte forestier. Aussi les relations plantes-insectes varient selon l'échelle considérée. Pour identifier la force de ces relations et leur importance relative, l'analyse doit se faire dans un cadre spatial explicite. Alors à différentes échelles (gousse, plante, peuplement) nous essaierons de déterminer: 1) quels sont les facteurs de variations de la prédation par les deux insectes, 2) s'il y a des interactions entre les activités des deux prédateurs. De manière secondaire, la connaissance des mécanismes liés à la prédation des graines dans notre contexte pourrait aussi aider à la lutte biologique dans d'autres contextes.

### **Question 3 (recrutement post-coupe rase)**

*En lande humide, quels sont les facteurs qui favorisent la régénération d'une population d'ajoncs après la coupe rase, à travers une augmentation de la germination dans le stock de graines et /ou du développement et de la survie des jeunes plantules? Le recrutement en ajonc est-il favorisé par les pratiques de fertilisation? Avec la recolonisation de la parcelle par le sous-bois, quel est l'impact des interactions biotiques, et celles-ci sont-elles influencées par la fertilisation?*

La réalisation des étapes de germination et d'installation des plantules au sein de la niche de régénération de l'espèce correspond-elle à un micro-habitat particulier au sein de la parcelle ou au contraire est-elle très variable dans l'espace et le temps? Et quelles sont les implications pour l'étude et la caractérisation de la niche de régénération des ligneux?

### **4.3 Les autres questions**

Comme indiqué dans le tableau 6, l'élaboration du modèle conceptuel nécessite de répondre à d'autres questions complémentaires (e.g. quels sont les effets des différentes espèces du sous-bois sur le recrutement des ajoncs dans notre milieu, en phase avancée de la rotation forestière ?). Une démarche expérimentale pour répondre à certaines d'entre elles a été mise en place au cours de la thèse et est présentée dans les annexes 1 à 3 de ce manuscrit. Enfin, l'acquisition d'informations non prioritaires présentées dans le tableau 6 ci-dessus sera uniquement abordée de manière conceptuelle à partir des informations disponibles dans la littérature.



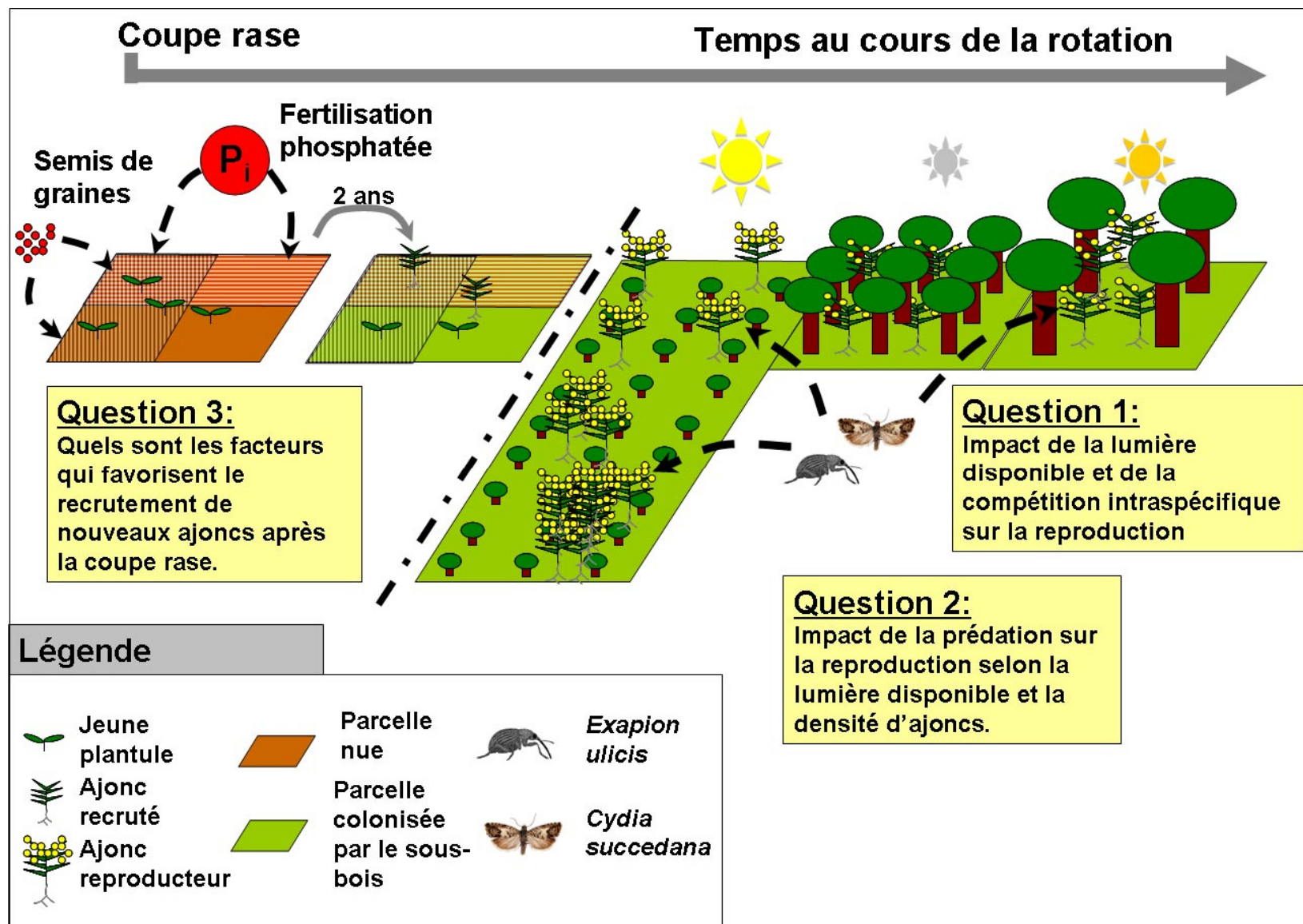


**Figure 13.** Les différentes étapes du cycle de vie de l'ajonc d'Europe étudiée au cours de la rotation forestière.

## Chapitre 2: MATERIEL ET METHODES

---

Ce chapitre présente la démarche expérimentale mise en place pour répondre aux trois questions de recherche identifiées au chapitre précédent. Une vue d'ensemble est d'abord donnée, puis nous revenons plus longuement sur chacune des questions. L'objectif de ce chapitre est de permettre une présentation globale de la démarche expérimentale. Plus de détails sur les différents protocoles suivis seront donnés dans le chapitre de résultat suivant, où la réponse à chacune des questions est présentée sous forme d'article scientifique.

### A. La démarche expérimentale vue dans son ensemble

---

Les trois questions de recherches qui sont au cœur de ce travail de thèse concernent différentes étapes du cycle de vie de l'ajonc, à différents stades de la rotation forestière. La figure 13 ci-contre permet de resituer la démarche expérimentale par rapport au cycle de vie de l'ajonc dans la parcelle de pins maritimes.

*La question 1* concerne la production de graines, avant impact de la prédation, par des ajoncs mûres, à différents stades de la rotation forestière. Pour des ajoncs mûres, la compétition intra-spécifique dans notre milieu pourrait être relativement forte par rapport à la compétition interspécifique puisque: 1) l'ajonc domine en hauteur la strate du sous-bois, et 2) en phase pionnière en pleine lumière, l'ajonc forme régulièrement des peuplements très denses. Aussi, l'ajonc peut se maintenir dans des parcelles âgées de pins maritimes, où la lumière disponible pour le sous-bois est diminuée via l'interception par la canopée de pins.

En conséquence, deux gradients sont impliqués dans l'étude de la fécondité: 1) un gradient de densité (déterminant des conditions variables de compétition intraspécifique pour l'ensemble des ressources) dans une jeune parcelle de pins, dans des conditions de plein accès à la lumière pour le sous-bois; 2) un gradient de luminosité (dans des parcelles âgées avec différents degrés d'interception de la lumière par la canopée de pins). L'allocation à la reproduction chez l'ajonc d'Europe est étudiée en déterminant les relations qui peuvent exister entre la croissance des ajoncs et leur reproduction, et la modification de ces relations le long de deux gradients expérimentaux.

*La question 2* concerne la prédation des graines par deux prédateurs spécifiques avant la dispersion. L'étude de la prédation le long des deux mêmes gradients que ceux identifiés pour la question 1 permet de s'intéresser aux deux sources de variations principales envisagées dans la prédation des graines: 1) la fécondité des ajoncs et la densité de la ressource (i.e. les graines); et 2) l'environnement lumineux (son influence sur la température peut induire des modifications de comportement des insectes ectothermes). Pour étudier l'impact de la prédation, nous estimons le taux d'infection des gousses d'ajoncs, et la proportion de graines détruites dans les gousses. Nous regardons en particulier comment varie l'intensité de la prédation le long des deux gradients de l'étude, et à différentes échelles (gousse, plante, peuplement).

*La question 3* concerne l'émergence et le développement des plantules en phase pionnière, suite à la coupe rase d'une parcelle de pins, la parcelle du 'Rousset'. Le recrutement de nouveaux individus peut être limité par l'alimentation du stock de graines avant la coupe rase. Pour mieux identifier les facteurs qui pourraient influencer le recrutement d'un nouvel individu à partir du stock de graines dans le sol, un semis de graines d'ajonc est pratiqué sur la

moitié de la parcelle. De plus l'influence de la fertilisation sur le développement des plantules d'ajoncs, mais aussi sur les relations entre la végétation qui recolonise la parcelle et les plantules, est étudiée grâce à la fertilisation phosphatée d'une partie du dispositif. L'émergence, la survie et la croissance des plantules sont suivies pendant 2 années entières. L'environnement des plantules est caractérisé à des échelles fines décimétriques (microrelief, et abondance locale de la végétation). Enfin, nous vérifions si la fertilisation influence le taux de fixation d'azote atmosphérique ( $\%N_{dfa}$ ) des plantules.

## B. L'étude de la fécondité des ajoncs d'Europe

### 1 Les peuplements suivis

Les peuplements d'ajoncs denses sont surtout observés en pleine lumière dans les jeunes plantations de pins. De plus, les pratiques sylvicoles impliquent le contrôle mécanique du sous-bois. Donc les parcelles âgées, où le sous-bois est ombragé et où la densité en ajoncs est élevée, sont rares. En conséquence les deux gradients de lumière et de densité ne sont pas croisés (Figures 13 et 14)). Douze peuplements d'ajoncs sont suivis le long des deux gradients, deux années successives (2010 et 2011, 6 peuplements par an). Chaque peuplement est composé de 12 ajoncs mâtures soit un total de 144 ajoncs suivis. La figure 14 suivante présente la distribution des peuplements le long de ces deux gradients.

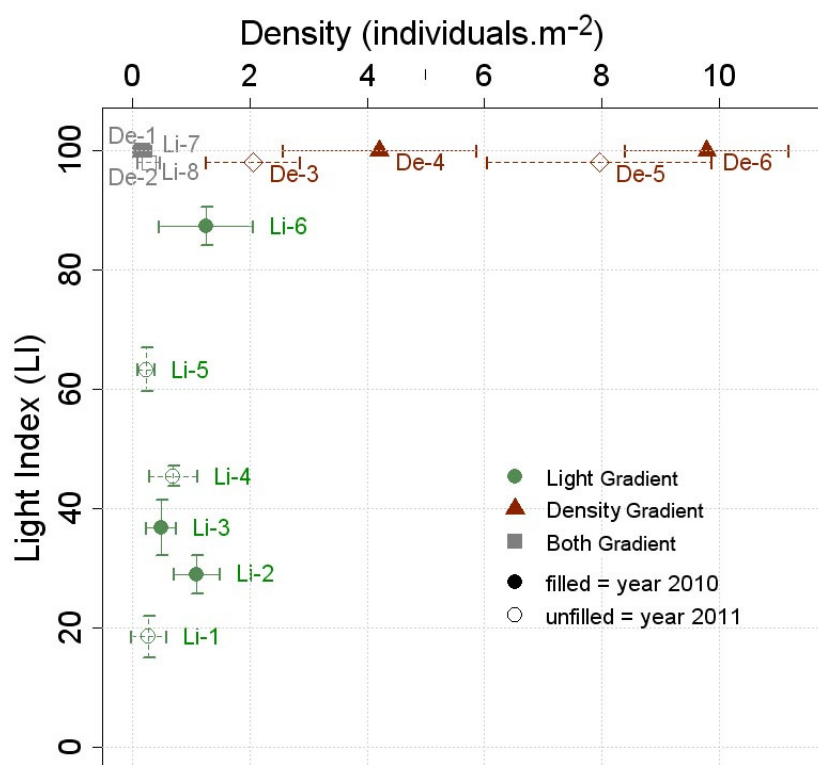


**Figure 14.** Distribution des peuplements d'ajoncs suivis le long des deux gradients étudiés. L'axe des abscisses indique la densité moyenne d'ajoncs calculée dans un rayon de 2 m autour des ajoncs suivis. L'indice de lumière en ordonnée est défini dans le paragraphe suivant

### 2 La caractérisation des gradients de lumière et de densité

#### 2.1 Le gradient de lumière

Chaque année en hiver, avant le démarrage de la saison de reproduction, quatre peuplements d'ajoncs sont identifiés: le premier est situé dans un site en pleine lumière, dans une jeune parcelle de pins, et les trois autres dans différentes parcelles de pins, dans des conditions variées de luminosité pour le sous-bois. Une première détermination approximative de la position de ces peuplements le long du gradient de lumière est permise par: 1) la densité et les dimensions des pins (diamètre à 1,3 m du sol), 2) des relations allométriques permettant d'estimer la surface foliaire de chaque arbre (Porte et al., 2000), puis la surface foliaire par unité de surface (grâce à la densité d'arbres par hectare) et 3)

l'application de la loi de Beer Lambert avec le coefficient d'extinction du pin maritime (Berbigier and Bonnefond, 1995).

Après la fin de la saison de reproduction, un indice de lumière reçue par chaque ajonc est mesuré basé sur l'estimation de la transmittance à travers la canopée des pins. Pour cela la méthode en 'ciel complètement nuageux' (Gendron et al., 1998), est utilisée (Figure 15a). Dans ces conditions météorologiques, le ratio du flux photonique reçu en un microsite du sous-bois, par le flux photonique hors couvert est indicateur de la proportion du flux photonique reçu au niveau de ce microsite sur l'ensemble de la saison de végétation. En effet, cette mesure en condition de lumière complètement diffuse permet d'intégrer les changements d'angle d'incidence des rayons lumineux qui ont lieu au cours de la saison de végétation. La proportion du flux photonique mesurée est utilisée pour la création d'un indice de lumière, afin de classer les ajoncs selon cet indice.

Il faut noter que la méthode en 'ciel complètement nuageux' a été mise au point dans un contexte forestier différent au Québec (Gendron et al., 1998). Cependant, comme indiqué sur la figure 15b, la loi de Beer-Lambert utilisant le coefficient d'extinction du pin maritime mesuré dans la région (Berbigier and Bonnefond, 1995), et la méthode en ciel nuageux donnent des résultats très comparables pour l'estimation de la transmittance. Cette dernière méthode semble donc bien adaptée à une utilisation dans notre contexte.



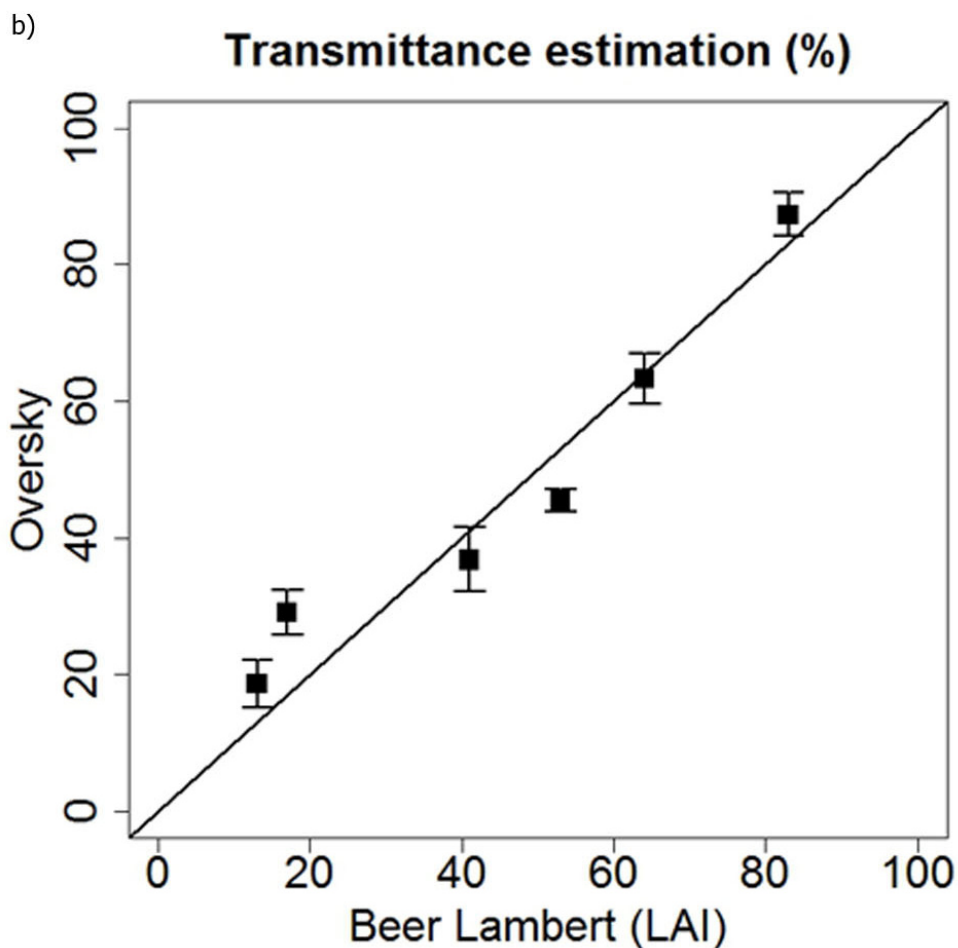


**Figure 15.** Mesure de l'indice de lumière en ciel complètement couvert. a) description de la méthode ; b) comparaison des mesures faites en ciel couvert avec l'estimation donnée par la loi de BeerLambert.

## 2.2 Le gradient de densité

Ce gradient est construit, les deux années consécutives, dans le site en pleine lumière utilisé pour la construction du gradient de lumière. Chaque année, 3 peuplements sont étudiés. Deux zones carrées de 64 m<sup>2</sup> sont identifiées correspondant à des peuplements de moyennes

et fortes densités. De plus, 12 ajoncs épars au sein de cette parcelle, en conditions de faible compétition intraspécifique (peu ou pas d'ajoncs dans un rayon de 2.5 m autour d'eux), forment le troisième peuplement en conditions de faible densité.

A la fin de l'été, une cartographie de l'ensemble des ajoncs présents dans les différents peuplements est effectuée, jusqu'à une distance de 2.5 m des ajoncs suivis. Pour cela, les ajoncs sont coupés, leur diamètre basal à 10 cm du sol ( $D_{10}$ ) est mesuré. Leur distance à deux points fixes permet de déterminer leurs coordonnées dans le peuplement (Figure 16). Finalement un indice de densité est calculé en utilisant la distance entre les ajoncs cibles de l'étude et leurs compétiteurs voisins, et leur  $D_{10}$  respectifs. L'indice de Hegyi (1974) (équation 3) est utilisé car il permet de prendre en compte l'hétérogénéité spatiale de la population (c'est un indice dépendant de la distance), ainsi que la compétition asymétrique (en comparant la taille de l'individu cible à celui des compétiteurs)

$$DI_i^{\text{Hegyi}} = \sum_j \frac{BA_j}{BA_i \times \text{dist}_{ij}} \quad (3)$$

$DI_i^{\text{Hegyi}}$  est l'indice de Hegyi pour l'ajonc  $i$  de surface basale  $BA_i$ .  $BA_j$  est la surface basale du compétiteur  $j$  distant de  $i$  de  $\text{dist}_{ij}$ .

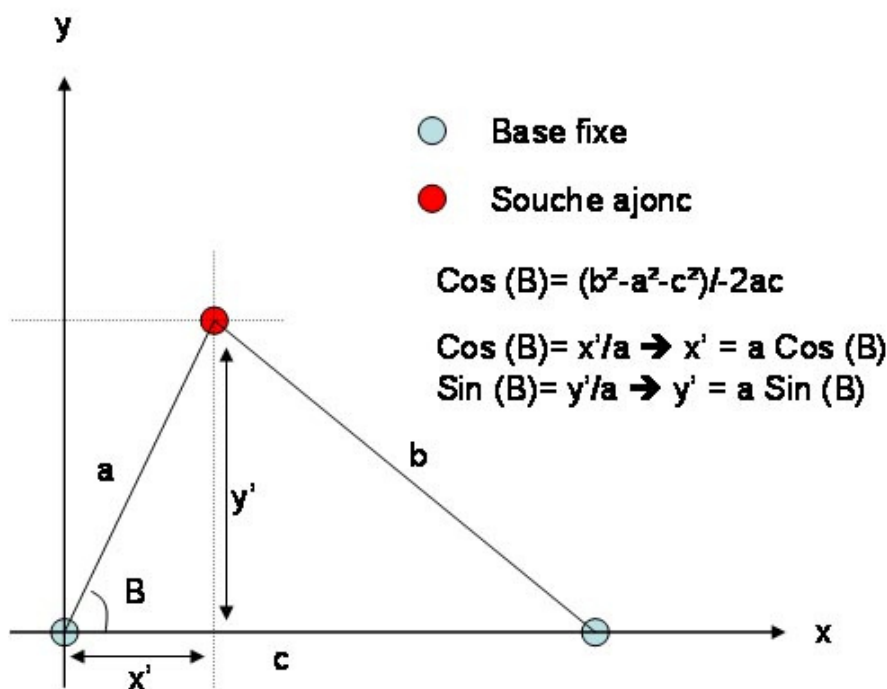


**Figure 16.** Détermination des coordonnées des souches d'ajoncs dans un repère orthonormé.  $a$ ,  $b$  et  $c$  sont mesurées.  $(x', y')$ , coordonnées de la souche dans le repère, sont calculées suivant les équations indiquées sur la figure.

### 3 Détermination de la fécondité des ajoncs suivis

Pour déterminer la production totale de fruits, toutes les gousses mûres de tous les individus suivis sont comptées et récoltées avant déhiscence tous les 15 jours de Mai à Juillet (période de maturation des gousses dans la zone d'étude). A chaque date de récolte, 20 gousses sont ouvertes par plante pour déterminer le nombre moyen de graines par gousse et par individu. En cas de destruction de graines par *Exapion ulicis*, le nombre de graines initialement produites peut quand même être observé dans la plupart des cas (Figure 17).

## **4 *L'allocation à la reproduction et les relations entre la croissance et la reproduction***

L'hypothèse est faite que la biomasse photosynthétique est corrélée à la production des organes reproducteurs car ce sont les rameaux verts qui sont porteurs des organes reproducteurs et qui fournissent les carbohydrates nécessaires à la reproduction (cf chapitre 1, partie B). De plus des modifications de relation entre la quantité de biomasse verte, indicatrice de la croissance récente, et la quantité d'organes reproducteurs, en réponse à des variations d'accès aux ressources dans l'environnement, pourraient indiquer des changements dans les mécanismes d'allocation à la reproduction.

En conséquence, 3 types de variables sont mesurés pour chaque individu, nécessitant la récolte des parties aériennes des ajoncs suivis à la fin de la période de reproduction. Il s'agit :

- des variables liées à la taille totale des individus: la biomasse aérienne totale, la surface basale (déterminée à partir des  $D_{10}$ ) et la hauteur.
- de la biomasse verte: la biomasse aérienne totale est donc séparée en biomasse verte et biomasse de support avant séchage et pesée.
- des variables liées à l'ontogénie de la plante: le nombre de cernes de croissance, et le ratio biomasse verte sur biomasse aérienne totale.

## **5 *L'analyse des données***

L'analyse des données s'attache à déterminer:

- si la quantité de biomasse verte est un bon indicateur de la quantité de gousses produites.
- si ces relations entre biomasse verte et gousses produites sont modifiées par:
  - les variables ontogéniques en lien avec le développement de la plante
  - les variables environnementales (lumière et densité) ce qui traduirait une modification de l'allocation à la reproduction en fonction des ressources disponibles pour la plante
  - l'année de l'étude (2010 ou 2011)

## C. L'impact de la prédation

---

La prédation est étudiée le long des mêmes gradients environnementaux que ceux utilisés pour l'étude de la fécondité. Les ajoncs suivis pour la réponse à cette seconde question sont donc les mêmes que ceux échantillonnés pour la question 1. La lumière reçue par chaque ajonc, ainsi que la densité autour de chaque plante sont donc déterminées de manière conjointe pour les question 1 et 2.

### **1    *Caractérisation de la prédation***

L'ouverture de 20 gousses par date de récolte et par plante permet de déterminer la proportion de graines détruites par les prédateurs à l'intérieur des gousses, et la proportion de gousses infectées. En cas d'attaque par le charançon *Exapion ulicis*, le comptage des adultes ou des larves dans la gousse (qui émergent généralement à partir d'une graine), ainsi que celui des empreintes des logements de graines dans l'endocarpe de la gousse, permettent de déterminer le nombre de graines produites par la plante et détruites par le prédateur (Figure 17). En cas d'attaque par la chenille du papillon de nuit *Cydia succedena*, il est souvent impossible de déterminer le nombre de graines produites et détruites. Dans ce cas, ces variables sont considérées comme manquantes dans l'analyse de données.

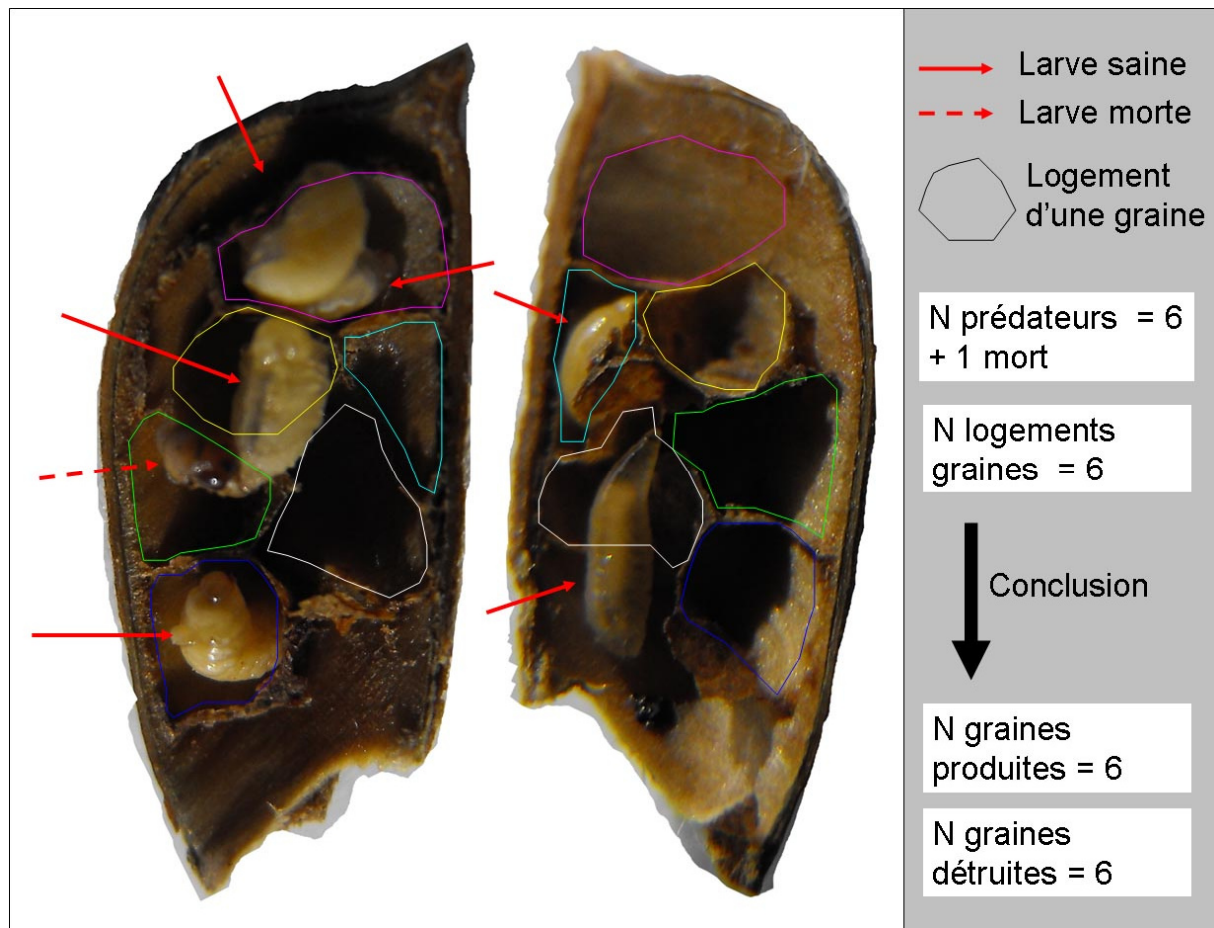


**Figure 17.** Illustration de la détermination du nombre de graines produites (avant la prédation) et du nombre de graines détruites par *Exapion Ulicis* à l'intérieur d'une gousse. Le logement d'une même graine est visible sur les 2 valves de la gousse (indiqué avec la correspondance des couleurs) Dans le cas présenté, la proportion de graines détruites est de 100%.

## 2 L'analyse de données

L'analyse de donnée s'attache à déterminer:

- S'il y a des différences dans les proportions de graines détruites dans la gousse, selon le prédateur, et selon la position de l'ajonc mère dans les gradients étudiés.
- S'il y a une préférence des insectes femelles pour pondre dans des gousses ayant un nombre de graines plus important.
- S'il y a satiété ou attraction du prédateur avec un grand nombre de fruits par plante.
- Si des interactions sont détectables dans les activités des deux prédateurs.
- Si la lumière et la densité du peuplement d'ajoncs influencent la prédation des graines.

## D. Chronologie du protocole suivi pour l'étude de la fécondité et de la prédation

L'étude des questions 1 et 2 étant faite grâce au suivi des mêmes peuplements d'ajoncs, les principales étapes de la démarche expérimentale commune, et leur chronologie, sont résumées dans la figure 18 suivante

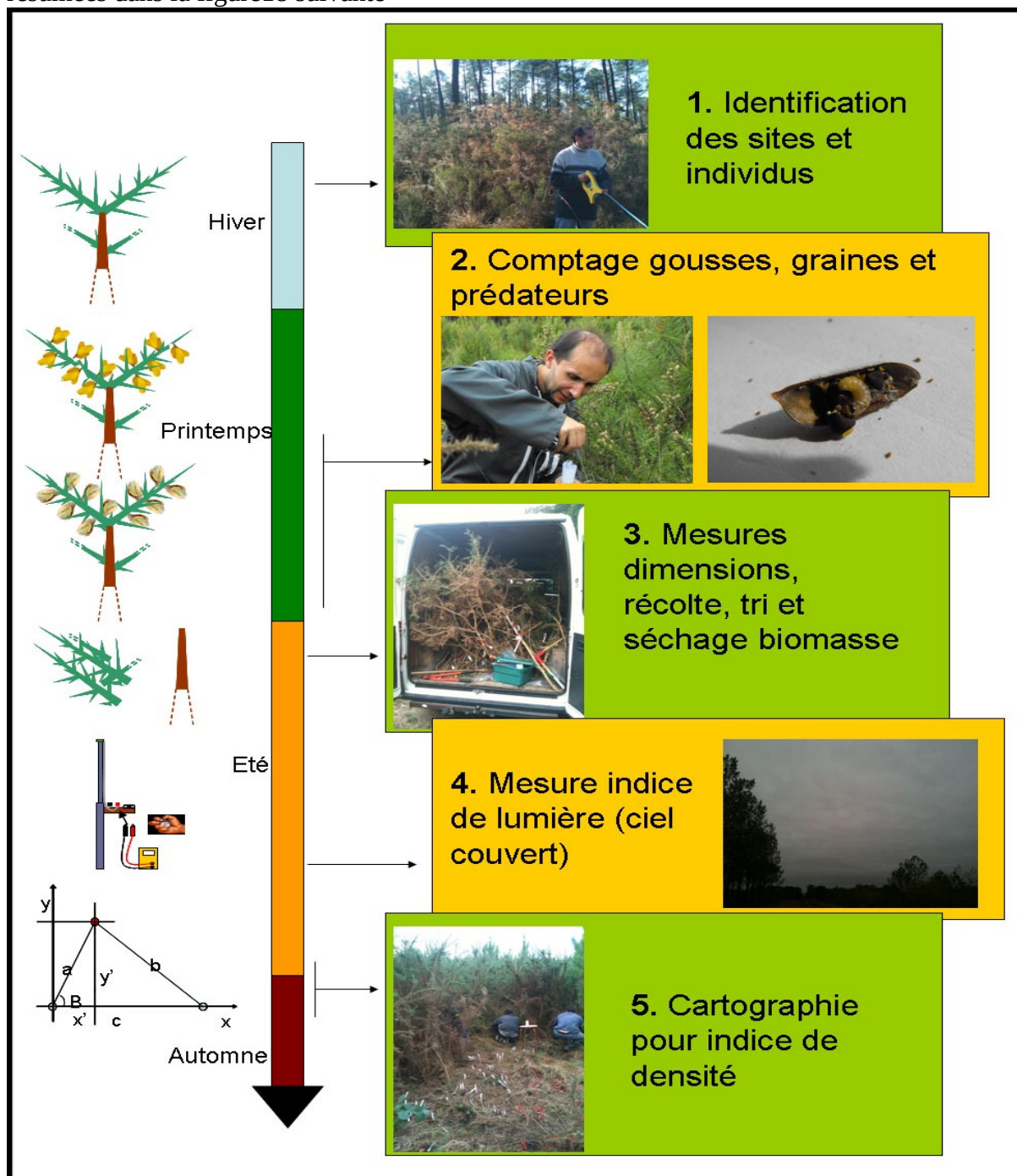


**Figure 18.** Principales étapes suivies dans le protocole expérimental mis en place pour la réponse aux questions 1 et 2, en lien avec la phénologie de reproduction de l'ajonc.

## **E. Facteurs influençant l'émergence et le développement des plantules d'ajoncs en phase pionnière**

---

L'étude du recrutement des nouveaux ajoncs a été effectuée pendant 2 ans (Mai 2010 - Avril 2012) sur la parcelle du 'Rousset', située en lande humide (44.73°N, 0.73°W), à la suite d'une coupe rase avec labour du sol. La parcelle mesure 225 m de long pour 30 m de large (soit une surface de 0.67 ha). La recolonisation de la surface par la végétation a eu lieu au cours de l'étude. Les espèces dominantes du sous-bois qui se sont mises en place au cours de l'expérience sont herbacées, principalement *Molinia caerulea*. Une planche de photos concernant ce dispositif est présentée sur la figure 19 ci-après.

### **1 Les traitements appliqués et les zones d'observation du recrutement**

La parcelle est constituée de 3 blocs de dimensions égales dans le sens de la longueur. Les deux traitements appliqués sur la parcelle comportent deux niveaux qui sont croisés dans chaque bloc: 1) fertilisation en phosphate inorganique ( $P_2O_5$ , 0 ou 160 kg.ha<sup>-1</sup>); 2) semis de graines d'ajonc (0 ou 100 gr.m<sup>-2</sup>). Le semis de graines d'ajonc s'est fait manuellement à partir d'un mélange de graines et de sable blanc, pour une bonne visualisation de l'homogénéité du semis. Les graines utilisées sont issues du commerce. Elles sont récoltées dans l'aire d'origine de l'espèce, sur des ajoncs en fin de période de reproduction. Un enfouissement léger des graines a ensuite été pratiqué à l'aide d'une herse légère. L'émergence et le développement des plantules d'ajoncs sont observés au sein de quadrats de 1 m<sup>2</sup> distribués de manière équilibrée entre les traitements. Dans chaque bloc, 12 quadrats sont disposés dans les zones fertilisées (dont 6 en zone semées en ajoncs), et 12 en zones non fertilisées (dont 6 en zone semées en ajoncs), pour un total de 72 quadrats d'observation sur l'ensemble des 3 blocs.

### **2 Le marquage isotopique (<sup>15</sup>N) de la parcelle**

La méthode de la dilution isotopique (Oberson et al., 2007) est utilisée pour la mesure des %N<sub>dfa</sub> des plantules d'ajoncs. Pour cela, à la sortie de l'hiver après la coupe rase, avant la reprise de la végétation, la parcelle est marquée avec l'isotope 15 de l'azote, par aspersion homogène de <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>Cl correspondant à une dose non fertilisante de 0.07 kg.ha<sup>-1</sup> d'azote. La comparaison des rapports isotopiques [<sup>15</sup>N]/[<sup>14</sup>N] dans les tissus d'une légumineuse au champ, avec celle d'une plante de référence non fixatrice d'azote voisine, ayant puisée la totalité de l'azote qu'elle a assimilé dans le sol marqué, permet de déduire le %N<sub>dfa</sub> de la légumineuse. Le marquage au <sup>15</sup>N permet d'augmenter la différence de rapport isotopique entre les plantes de référence et les légumineuses, rendant la méthode plus fiable.

### **3 Suivi de l'émergence et du développement des plantules**

Pendant les 2 ans de l'étude, des relevés tous les 50 ± 5 jours ont été effectués, hors période hivernale. Un total de 12 relevés a eu lieu pour suivre l'évolution saisonnière des processus de recrutement. A chaque relevé, la position d'une nouvelle plantule au sein des 100 cellules de 10 cm de côtés formées par le quadrat de 1 m<sup>2</sup> est déterminée. Pour les plantules déjà observées précédemment, leur absence est signe de mortalité, sinon la longueur de la plus grande tige est notée comme indicateur de la croissance.





**Figure 19.** 1. Vue de la parcelle après la coupe rase (hiver 2009-2010). 2. Une zone fertilisée en Juin 2010. 3. premier plan: zone non fertilisée, second plan, zone fertilisée (Juin 2010). 4. Marquage du dispositif au  $^{15}\text{N}$  (Avril 2010). 5. Suivi des plantules dans un quadrat d'observation. 6. Prélèvement annuel de biomasse autour d'un quadrat. 7. Mesure du micro-relief.



Pour la détermination des %N<sub>dfa</sub>, à la fin de chaque saison de croissance (à l'hiver 2010-2011 et 2011-2012) les parties aériennes d'un échantillon d'ajoncs sont prélevées, en dehors des quadrats d'observation. Cet échantillonnage prend en compte le traitement de fertilisation, les 3 blocs, 3 classes de taille la première année, puis 4 classes de taille la seconde (en raison de la croissance plus avancée des ajoncs). Avec 3 répétitions, c'est un total de 54 et 72 couples 'ajoncs-plantes de référence' qui sont prélevés pour les 2 années.

## 4 Caractérisation de l'environnement des graines et des plantules

Les variables correspondantes sont d'abord déterminées avec une échelle fine, celle de la cellule de 10 cm de côté au sein des quadrats d'observation. Des variables à une échelle plus large, celle du quadrat de 1 m<sup>2</sup>, sont aussi déterminées.

### 4.1 Le micro-relief

Le micro-relief pourrait provoquer des différences de germination importante. Il est caractérisé par la mesure de l'altitude relative de chacune des cellules des quadrats d'observation. Pour cela, une table horizontale disposée à l'aplomb de chaque quadrat est utilisée. Elle est trouée à l'emplacement précis de chaque centre de cellule (Figure 20).

A l'échelle du quadrat l'écart-type des d'altitudes relatives de chaque cellule indique l'hétérogénéité des variations du micro-relief sur le m<sup>2</sup>, donc l'existence d'une microtopographie plus ou moins accidentée.

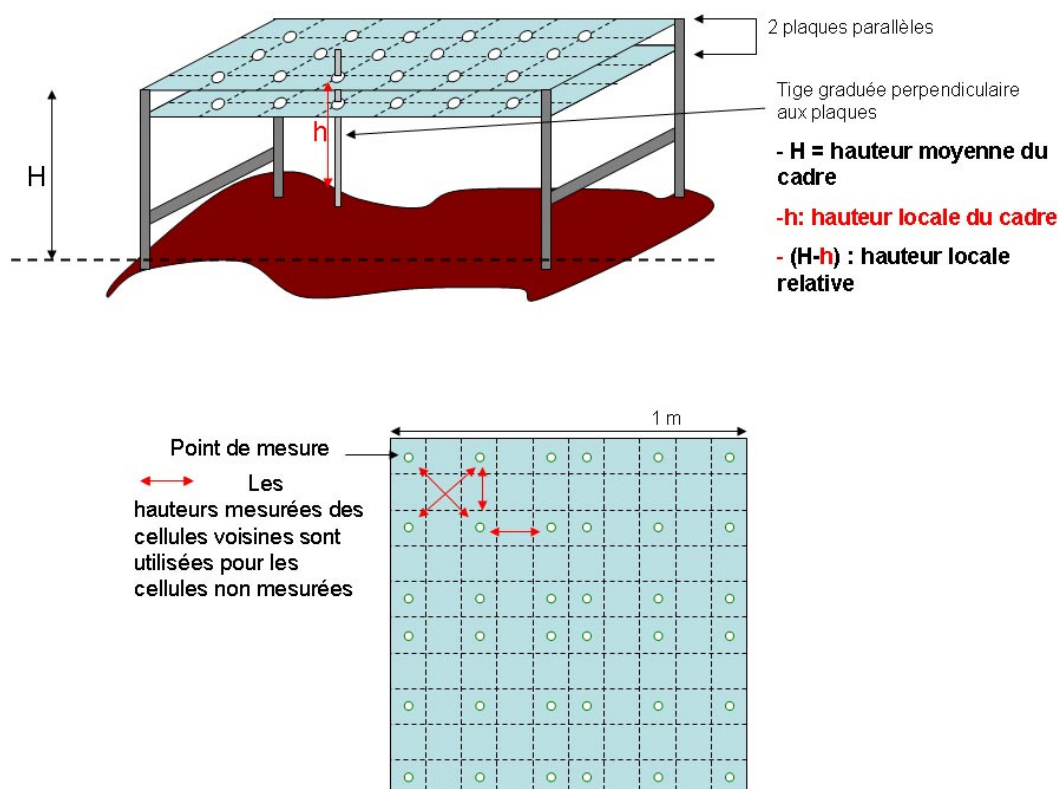


**Figure 20.** Mesure de l'altitude relative pour chaque cellule du quadrat

### 4.2 Caractérisation des interactions biotiques

A chaque suivi, un indice de végétation est construit pour décrire l'abondance de la végétation voisine de chaque plantule. On attribue à chacune des 9 cellules du voisinage de la plantule (1 centrale + 8 voisines) un score selon le recouvrement du sol par la végétation

accompagnatrice (0: 0-25%; 1: 26-75%; 2: 76-100%). L'indice de végétation correspond à la somme des 9 scores (compris entre 0 et 18). A l'échelle du quadrat, chaque année, la biomasse aérienne de la végétation est récoltée dans 4 zones adjacentes de 20 cm<sup>2</sup>, puis séchée et pesée. Les biomasses sèches indiquent la productivité globale au niveau du quadrat. De plus, elles permettent d'affiner les indices de végétation calculés pour chaque plantule, en pondérant cet indice par la biomasse du quadrat correspondant, par rapport à la biomasse du quadrat le plus productif (Figure 21).

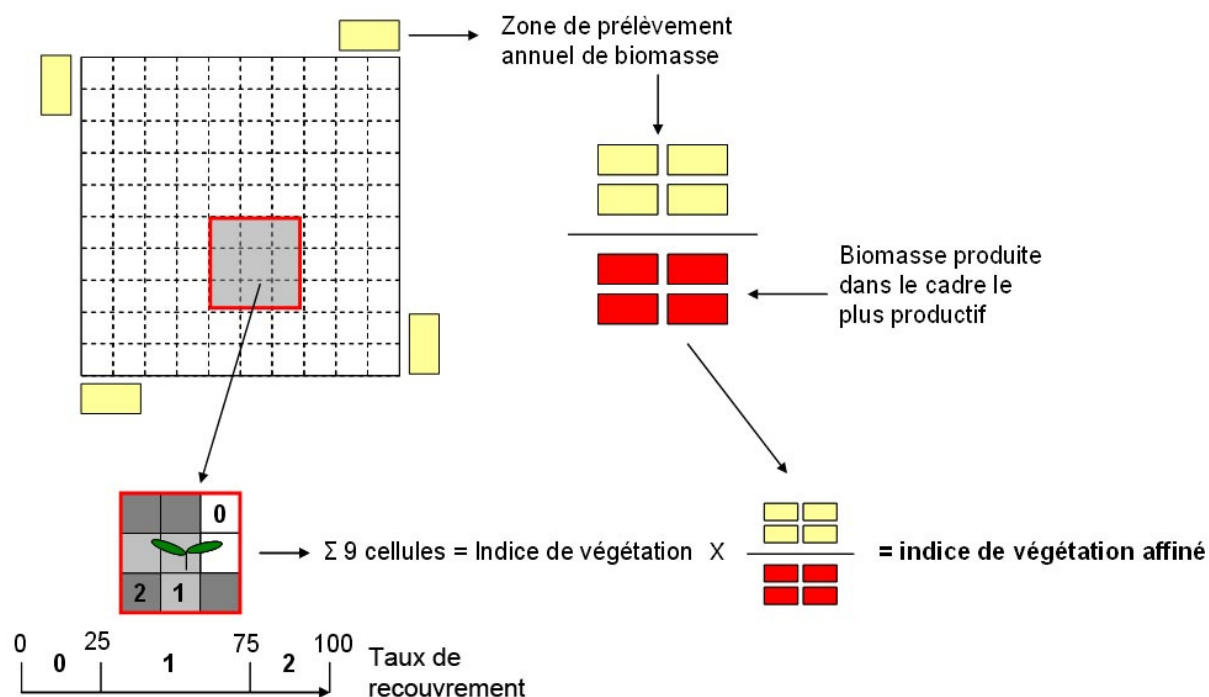


**Figure 21.** Construction de l'indice de végétation

## 5 L'analyse des données

La variabilité ou la stabilité des facteurs favorisant l'émergence et le développement des plantules est analysée grâce à : 1) la comparaison des résultats pour les différents suivis qui ont été faits de manière rapprochée (tous les 50 jours), avec les variables mesurées à une échelle fine, et selon les rythmes saisonniers, et 2) la comparaison entre les résultats de cette première étape et les résultats obtenus sur des périodes plus longues (annuelles) en utilisant les réponses moyennes par quadrat de 1 m<sup>2</sup>. L'analyse des résultats sur ces périodes longues permet aussi des comparaisons interannuelles (2010 et 2011).

## Chapitre 3: RESULTATS

---

### A. Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability

---



A gauche: floraison de l'ajonc d'Europe en sous-bois ombragé, A droite: floraison en pleine lumière.

Cette partie à fait l'objet d'une publication:

Delerue, F., Gonzalez, M., Atlan, A., Pellerin, S., Augusto, L., 2013. Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability. Ann For Sci 70, 219-228. doi: 10.1007/s13595-012-0260-x

#### Résumé:

De nombreuses espèces ligneuses se développent et se reproduisent dans des environnements changeants. Cependant leur capacité à modifier leur allocation à la reproduction dans des conditions variables d'accès aux ressources est incertaine. Cette étude a pour objectif de mettre en évidence la plasticité de l'allocation à la reproduction d'une espèce pionnière ligneuse (*Ulex europaeus*). Pour cela, nous avons étudié la production de graines de 144 plantes, dans des conditions de lumière et de densité populationnelle variables. Nous avons mesuré leur surface basale, leur quantité de biomasse aérienne totale et de biomasse photosynthétique, et leur fécondité (nombre de fruits par plante et nombre de graines par fruit). Les résultats montrent que la production récente de biomasse photosynthétique est influencée par les variations environnementales, ce qui en retour détermine la fécondité des plantes. De plus, dans les conditions les moins lumineuses, l'investissement dans la reproduction est davantage réduit que l'investissement dans la croissance, indiquant la plasticité de l'allocation à la reproduction. Ces résultats attestent pour la première fois de ce type de plasticité chez une plante ligneuse. Cela pourrait permettre à l'espèce pionnière étudiée de survivre et de continuer à produire des graines, même en faible quantité, dans des habitats ombragés non optimaux, et de maintenir une banque de graines dans les systèmes forestiers lors d'une longue période défavorable entre deux perturbations.

## Title

Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability

## Abstract

- Context: While many woody perennials grow and reproduce in varying environments, their ability to modify their reproductive allocation under varying resource availability is unclear.
- Aims: This study aimed to demonstrate the occurrence of plasticity of reproductive allocation in a pioneer woody species (*Ulex europaeus*).
- Methods: We studied seed production in 144 plants under different irradiance and population densities. We measured their basal area, their whole shoot biomass and photosynthetic biomass, and their reproductive output (number of fruits per individual and number of seeds per fruit).
- Results: We found that newly produced photosynthetic biomass was influenced by environmental variation, which in turn determined its reproductive output. In addition, in low light conditions investment in reproduction was more reduced than investment in growth indicating plasticity of reproductive allocation.
- Conclusion: These results provide the first evidence for plasticity of reproductive allocation of a woody plant. It may lead to the ability of this pioneer species to survive and to continue to reproduce even at low rates in non-optimal shady habitats and to maintain a non empty seed bank in forest systems with long unfavourable periods between two disturbances.

## Key words

woody perennials; reproductive ecology; size-dependent reproductive output; light; density.

## Introduction

Many polycarpic woody plants go through successive growing and reproductive episodes in varying environments. For example, pioneer woody shrubs establish early in the forest succession and some of them persist until competition increases and tree canopy closure strongly decreases light availability (e.g. Abe et al., 2008).

When resource availability is limited, allocation to reproduction or growth may interfere, and high investment in reproduction may be hazardous (Obeso, 2002). Thus, to maximize offspring production without jeopardizing further growth and survival, it could be advantageous for a woody perennial to adjust the amount of resource allocated to reproduction to the availability of resource. Reproducing within a large gradient of resource availability, some pioneer shrubs species could particularly benefit from plasticity of their reproductive allocation.

Reproduction consumes carbohydrates and nutrients provided by vegetative tissues. As a consequence, plants show species-specific relationships between reproductive output (R) and vegetative (V) biomass. These relationships (hereafter referenced to as "*R-V relationships*") can be linear, allometric (i.e.  $R = kV^a$ ), or involve more complex shapes (Klinkhamer et al., 1992). Therefore, when individuals of the same species are exposed to different resource availability, they grow to different sizes and their reproductive output is mainly determined by their position on the R-V relationship. 'True' plasticity of reproductive allocation implies a change in the R-V relationship, and differs from 'apparent' plasticity that just involves a change in the growth rate (i.e. 'apparent' plasticity') (Weiner, 2004).

In woody plants, the main size parameter used to fit these R-V relationships was tree diameter (e.g. Dodd and Silvertown, 2000). In resource rich environments (e.g. higher irradiance (Jennings and Baima, 2005), lesser density of neighbours (Debain et al., 2003)), trees with the same initial diameter show higher reproductive output. But any conclusion on the ability of woody plants to modify their reproductive allocation is premature. With the same initial

diameter, if trees with a higher reproductive output also had a higher growth rate, the proportion of resource allocated to reproduction would simply remain unchanged. Therefore, to address the question of reproductive allocation of woody plants, the actual reproductive output and the actual or recent growth rate in relation with the actual availability of resource should be considered explicitly in the R-V relationships (Weiner et al., 2009a).

Niklas and Enquist (2003) showed that leaf biomass is a more efficient predictor of reproductive output than stem or root biomass. Indeed, photosynthetic biomass (PB) is well correlated with the carbohydrates available for all plant functions including reproduction. Consequently, we assumed that using the relationship between PB and reproductive output is an appropriate approach to track modifications in the reproductive allocation of woody plants (see Fig. 1).

However, resource allocation is expected to evolve with plant development (McConnaughay and Coleman, 1999). For example, as woody plants grow, their proportion of PB in the whole shoot biomass (hereafter referred to as the *PB: Shoot ratio*) decreases. The proportion of non photosynthetic support tissue correspondingly increases. The cost to maintain support tissue could increase too and decrease reproductive allocation (Peters et al., 1988). Thus, to demonstrate occurrence of 'true' plasticity of reproductive allocation, changes in R-V relationships using PB must be independent to changes due to plant development (Online resource 1). Therefore, the influence of other variables related to ontogeny (e.g. the *PB: Shoot ratio*, the number of wood rings) on the R-V relationships have to be taken into account.

In the present study, we took advantage of the spontaneous presence of a pioneer shrub of moderate size (*Ulex europaeus* L), in a wide range of irradiance conditions and intra-specific competition in the understory of a planted forest, to investigate if its reproductive allocation was plastic along the gradient of resource and competition studied. We fitted different R-V relationships, using BA or PB as main proxies for vegetative tissues, and we examined the influence of environmental variations on these R-V relationships to disentangle 'apparent' and 'true' plasticity of reproductive allocation (see Fig. 1).

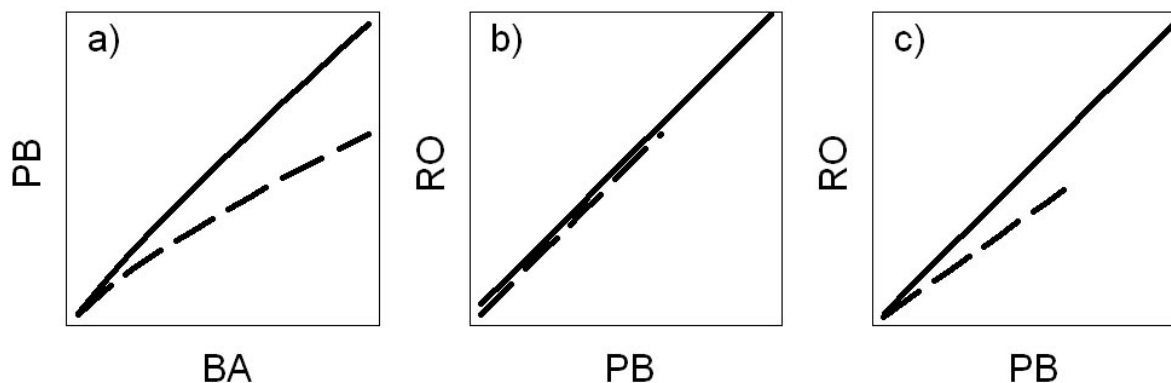


**Fig. 1** R-V relationships using PB as an appropriate tool to distinguish between 'apparent' and 'true' plasticity of the reproductive allocation for woody plants growing in low (---) and rich (—) resource availability. BA: Basal Area. PB; Photosynthetic Biomass; RO: Reproductive Output.

The production of PB increases with plant size (BA), but decrease in case of low resource availability (a). In a first scenario, allocation to reproduction is equal in both poor and rich environments. Thus the R-V relationships between PB and RO remain unchanged (b). Because of differences in the production of PB (a), the R-V relationships using BA will differ in low and rich resource availability (i.e. 'apparent' plasticity of reproductive allocation). In a second scenario, allocation to reproduction is plastic (lower in poor environments). Thus the R-V relationships between PB and RO show two distinct lines (c) as indicator of this 'true' plasticity.

## Materials and methods

### *Model species and region of the study*

*Ulex europaeus* L. (common gorse, hereafter referred to as gorse) is an evergreen leguminous shrub native to the Atlantic European coast. The study was conducted in 2010 and 2011 in the "Landes de Gascogne" forest of planted maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) in southwest France. This forest is characterised by poor acidic sandy soils, forming an oligotrophic environment. In this forest, gorse shrubs often grow and reproduce in a high intra-specific and relatively low inter-specific understory since: 1) gorse is taller than the other understory species, 2) as a pioneer and light demanding species (Lee et al., 1986), it commonly forms dense mono-specific thickets in very young pine stands with full light exposure. However gorse can maintain itself in old forest stands where less light reaches the understory because of interception by the tree stratum. Thus it can also grow and reproduce under different light conditions.

After two growing seasons, gorse reproduces once a year. Its onset and duration of reproduction is variable. This polymorphism is under genetic control (Atlan et al., 2010) and is expressed through: 1) plants with a long flowering period from winter to spring or 2) plants with a short and abundant flowering period in spring. In this study, we focused on the plants of the second group which are by far the most frequent in our study area. Their flowering involves a cycle of two successive years (Online Resource 2). In year 1, new photosynthetic shoots (i.e. green stems with prickly leaves) are produced at the end of the previous year's shoots, the latter being transformed into non-photosynthetic supporting tissues. Thus, the proportion of non photosynthetic support tissue increases as the plant grows (Puentes and Basanta, 2002). Flowering occurs in early spring after winter dormancy in year 2. Pods mature and seeds are filled from May to the beginning of July before their dispersal by explosive dehiscence of pods. New shoots grow at the end of the reproductive season. The species is self compatible but visit of flowers by bees or bumblebees is needed for fecundation. In its native area, gorse flower visitation is not limited (Bowman et al., 2008) because of the abundance of pollinators (Louveaux et al., 1966).

### *Experimental design and variables*

#### *Selection of sites and individuals*

We took advantage of light interception by the pine overstory to build our first experimental gradient of light availability. In addition, we studied plants along a second gradient of density and intra-specific competition for resource. The two gradients studied were not crossed in our experimental design.

We repeated the following steps during the two successive years. First, we selected three sites with different light availability after a coarse estimation of light interception by the pine canopy (based on pine leaf area index calculated using tree dimensions (Porte et al., 2000)). Another site was selected in full light conditions. Avoiding winter flowering individuals, we selected 12 isolated gorse bushes per site (i.e. with no or few conspecific neighbours within a radius of 2.5 m). We chose individual plants representing a wide range of sizes to study reproductive allocation of the species over its whole size range (Online Resource 3). However we avoided very small bushes (height < 1.0 m). At the site with full light conditions, we identified each year two plots with moderate and high densities of gorse bushes in addition to the 12 isolated shrubs. In the densest plot, we opened a narrow access path to the centre of the plot where we selected 12 individuals of different sizes.

In practice, our sampling was split between (Online Resource 3): 1) **the light gradient** composed of 8 plots (6 in the understorey and 2 outside the forest). 12 gorse bushes were monitored in 400 m<sup>2</sup> plots, except in the shadiest plot where we found only eight individuals, i.e. a total of 92 individuals composed the light gradient. 2) **the density gradient** composed of 72 gorse bushes all located under full light conditions (i.e. 3 levels of density × 2 years × 12 plants). The 'low density' level referred to isolated gorse bushes (see above) scattered throughout the site. The 'medium density' and 'high density' levels were studied in two 64 m<sup>2</sup>

plots (8×8 m). On the whole, a total of 140 individuals were sampled in the study (144 – 4 exclusions because of obvious operator mistakes).

#### *Heterogeneity of sites and years sampled*

A few plots showed differences in soil nutrient contents (determined from three soil samples) or in the understory composition (Online Resource 3, plots Li-4, Li-5 and De-4). However, these differences were not organized in the same way as the light or density gradients. 'Non-gorse' understory biomass ( $\text{g.m}^{-2}$ ) decreased under low light availability and in dense gorse thickets (Online resource 3). Rainfall and temperatures were similar in the two seasons of PB production, whereas the spring was drier and hotter in 2011 (Online resource 3).

#### *Measurement of reproductive variables*

Each year, we measured the two main components of the reproductive output of shrubs: the *number of fruits* produced and the *number of seeds per fruit*. We visited all sites every two weeks from complete maturation of the first pods (end of May) until the end the reproductive period (beginning of July). We counted all the ripe (brown to black) pods on each shrub sampled and harvested them before the pod opened. To estimate the number of seeds per pod, we randomly opened 20 pods per harvesting date and per individual if available (otherwise we opened all the pods we had collected) i.e. a total of 4 169 pods opened. The number of seeds per pod used in this paper refers to seed production before predation by the gorse seed weevil (*Exapion ulicis*) and the gorse pod moth (*Cydia succedena*). As each weevil larvae generally feeds on one seed (Barat et al., 2007), we estimated the original number of seeds per pod by adding the number of larvae and the number of undamaged seeds. After predation by the pod moth larvae, we were often not able to estimate the original number of seeds.

#### *Measurement of size variables*

We harvested the whole shoot of sampled individuals soon after reproduction ended. We measured their stem basal area (BA) at 10 cm from the soil surface with a calliper and counted their total number of wood rings as a proxy of their age. Their BA during dormancy the preceding winter was obtained by subtracting the width of their last ring from their stem diameter at harvesting time. Then, their shoot biomass was split between photosynthetic biomass (PB) and the rest of supporting biomass, dried and weighed.

#### *Determination of light and density indexes*

##### *Light index (LI)*

Selection of sites was based on a first coarse estimate of light interception by the canopy (see above). A Light Index (LI) was determined using a more accurate method after the ending of reproduction. Following Gendron et al. (1998), under a completely overcast sky, one-off comparison of the photosynthetically active radiation (PAR) received simultaneously by the understory and at a nearby canopy-free area provides a reliable estimation of the seasonal mean percentage of PAR received by the understory. We used this "overcast" method both years in summer, within the same two weeks period. Two operators simultaneously measured the signal of two PAR sensors during two series of 30-second measurements under adequate cloud cover. One sensor was placed at the apex of the sampled shrub, the other one was placed at the same height in a close open area. Finally, the ratio of the two signals (understory: open area) was expressed in % to create the LI (Online Resource 3).

##### *Density index (DI)*

By the end of summer, we had cut, measured (stem basal area) and mapped all gorse plants growing in the density plots. Conspecific neighbours at all sites located within a 2.5 m radius of targeted individuals were also measured and mapped (Online Resource 3), i.e. a total of 3 089 gorse plants mapped in the whole study. The width of the last wood ring was measured in a subsample in each plot. Then, we used the relationship between the BA measured and the width of the last wood ring in each plot to estimate the BA of all competitors in the preceding



winter. Finally we calculated a density index (DI) using the distance between competitors and target individuals and the BAs in the preceding winter.

We selected Hegyi's density index (Hegyi, 1974, stated in equation 1, Online Resource 4) because it takes into account 1) population spatial heterogeneity (it is distance dependent) and 2) size-asymmetric competition (it compares the size of the target individual with that of the competitor). Many competitors concentrated on the same side of one individual provide preferential access to resource on the opposite side. To account for the spatial distribution of competitors, we modified Hegyi's index according to Newton and Jolliffe (1998), given the position of the centre of mass of the competitors (Online Resource 4). Other spatialized density indexes were also built and tested during analyses but did not perform better (Online Resource 4).

### Data analysis

First, we verified the influence of the environment on the production of PB, and on ontogenic variables (e.g. the PB: Shoot ratio). Then, R-V relationships were built for 1) the *number of pods* produced by each plant and 2) the *total number of seeds* produced by each shrub (as the number of pods multiplied by the mean number of seeds per pod).

All R-V relationships were fitted on a log-log scale to normalize the variables. Thus they correspond to standard allometric R-V relationships (i.e.  $R = kV^\alpha \Leftrightarrow \ln R = \alpha \ln V + \ln k$ ,  $\alpha$  being the scaling exponent). To test for modifications in the R-V relationships under different levels of LI or DI (i.e. changes in the scaling exponent ( $\alpha$ )), we split our sample into three LI and DI classes of equal size, respecting the distribution of the tertiles (LI ranging from 15 to 42% - *Shady* class; 43 to 88 % - *Medium light* class and 89 to 100% - *Full light* class). Equivalently, DI classes were named *Sparse*, *Medium density* and *Dense*.

For relationships predicting the *production of pods*, we used both BA and PB as the main explanatory variables.

- R-V relationships using BA were as follows (equation 1):

$$\ln R_i = \alpha_j \ln BA_i + \ln k_j + \varepsilon_i \quad (1)$$

where  $\alpha_j$  is the scaling exponent (and  $\ln k_j$  the intercept) for the  $j^{\text{th}}$  LI or DI class and  $\varepsilon_i$  is the residual of the allometric model for the  $i^{\text{th}}$  individual. Using equation 1, we expected strongly significant differences between the scaling exponent of the LI and DI classes (i.e. strong 'apparent' plasticity of the reproductive output). Indeed, this first kind of R-V relationships does not take into account the influence of the environment on the production of PB, and thus on the availability of carbohydrates.

- R-V relationships using PB, with additional variables related to ontogeny (the PB: Shoot ratio or the number of wood rings), were also fitted (equation 2; example with PB: Shoot ratio):

$$\ln R_i = \alpha_j \ln PB_i + b \ln (PB: \text{Shoot})_i + \ln k_j + \varepsilon_i \quad (2)$$

Equation 2 takes into account 1) the modification of PB production with environment variation and 2) the possible modification of the R-V relationship due to ontogeny. Thus, we expected much less significant differences between the scaling exponents of the different LI and DI classes than in equation 1, and significant differences between the  $\alpha_j$  indicate 'true' plasticity of reproductive allocation.

For relationships predicting the *production of seeds*, we investigated if the LI and DI class, or any other explanatory variable, had an effect on the mean number of seeds per pod. Plants for which we were not able to count the number of seeds per fruit in a minimum of 15 pods were excluded from this analysis. Finally, we reanalysed the R-V relationships for the total number of seeds produced by each individual shrub.

### Statistical analyses

Light and density datasets were analysed independently. In the density plots, some targeted individuals were competitors of other sampled individuals, causing non-independence



between observations. Therefore, we performed 1000 random permutations of the DI of individuals within the density plots to estimate the significance of the models using DI.

We performed all data analyses using R software (R Development Core Team, 2010). We used the 'nlme' package to fit non-linear mixed models and the 'lme4' package for general linear mixed models. We used random effects when we suspected uncontrolled effects (e.g. site effect) or to control for dependence between observations (the same shrub used for several measurements of the number of seeds per pod). ANCOVA analysis was used to test differences of the scaling exponent  $\alpha$  in equation 1 and 2 between different LI or DI classes. The effect of the year of the study was tested similarly. The non-significant intercepts in equation 1 and 2 ( $\ln k$ ) were removed from analyses. Reduced Major Axis regression (RMA) is generally more suitable than Ordinary Least Square regression (OLS) to fit allometric relationship in a log-log scale. However, RMA regressions were not used in our study because available procedures in R software 1) do not enable to fit random effects for the different sites samples, 2) are not designed for multiple regressions (like in equation 2) and 3) OLS and RMA regressions gave consistent results when performing the latter approach was possible (data not shown).

We modelled the number of seeds per pod with a generalized linear mixed model with Poisson distribution and log link function.

Nested mixed models with different fixed or random effects were fitted respectively with Maximum Likelihood and Restricted Estimation of Maximum Likelihood. They were compared with likelihood ratio tests, correcting the  $P$  values following Zuur et al. (2009). Modelling efficiency (ME, the ratio of the sum of squares of the model residuals to that of the null model using the sample mean as a predictor) was used to compare the models for continuous response variables.

## Results

### *Effect of the environment on the production of PB and on the PB: Shoot ratio*

We found significant allometric relationships between PB and individual BA (Online Resource 5). Light positively influenced this relationship. The random permutation test of shrubs DI within density plots gave a marginal result ( $P < 0,1$ , Online Resource 5). On the whole these relationships are consistent with our Fig. 1a. Correspondingly, the PB: Shoot ratio decreased with increasing individual BA, decreasing irradiance and increasing conspecific densities (Online Resource 5) consistently with our figure in Online Resource 1.

### *Comparison of the R-V relationships using BA and PB (equation 1 and 2)*

In equation 2, the explanatory variables related to ontogeny were not significant (e.g.  $P = 0.24$  and  $P = 0.47$  in the light and density samples respectively for the PB: Shoot ratio) and this equation was simplified to:  $\ln R_i = \alpha_j \ln PB_i + \ln k_j + \varepsilon_i$ .

In the light sample, the ME of both R-V relationships using either BA or PB were improved when LI class was taken into account, but the relationship using PB was much less influenced (Fig. 2a,b). ANCOVA revealed highly significant differences between the slopes of the different light classes using BA (Fig. 2a), while these differences were less pronounced using PB (Fig. 2b). In the density sample, adding DI class to the relationships did not improve model predictions (Fig. 2c,d). On the whole, using PB rather than BA led to better ME. Moreover, using BA, we found a significant difference of slopes between the two years of the study in the density sample ( $P=0.002$ , Fig. 2c), while with PB, the difference disappeared (Fig. 2 d).

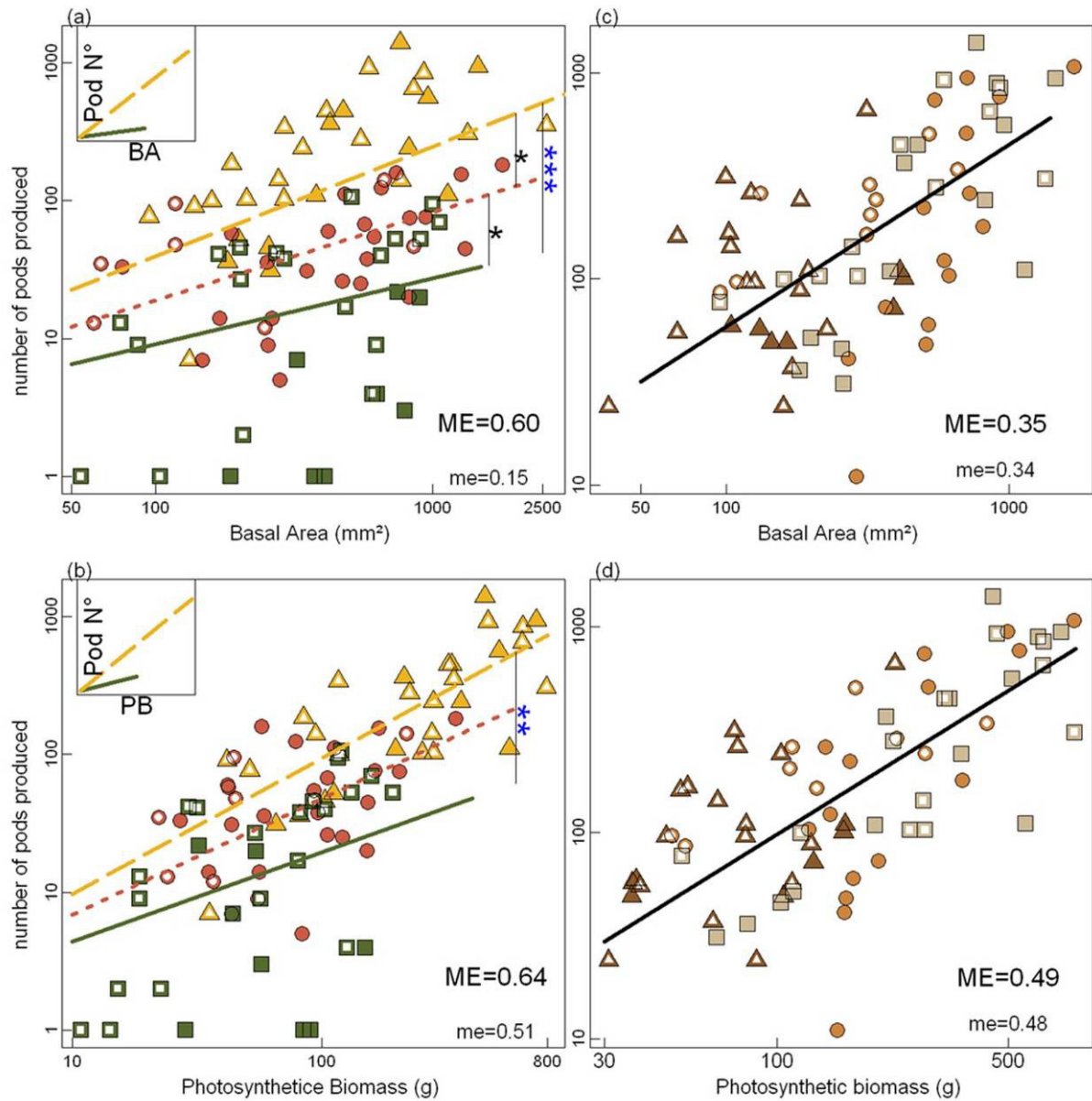


**Fig. 2** Different R-V relationships (using basal area (a,c) or photosynthetic biomass (b,d)) to explain pod production under different levels of light (a,b) and of density (c,d).

We added one to the number of pods produced by each shrub before log transformation because some individuals did not produce any pod. In the top left corner (a,b), the slope of the relationships on the natural scale are given for the Shady and Full light class. Stars indicate differences in the slope parameters (\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ ). Black stars show differences between adjacent slopes, blue stars between the most distant slopes. In the bottom right corner, the ME of the fitted relationships taking environmental variables into account (belonging to LI or DI classes) or not are given respectively in capital and lowercase letters. Relationships for each LI class are represented by different types of line (a, b). In the density sample we present the overall relationship as a black solid line (no differences of slopes between classes) (c, d). Individuals sampled in 2010 and 2011 are indicated respectively by empty and filled symbols.

(a,b) ■, □ and solid line: the Shady class (N= 28 (30 – 2 operator mistakes)), ●, ○ and dotted line: the Medium light class (N=30 (31 – 1 operator mistake)), ▲, △ and dashed line: the Full light class (N=31). (c,d) ■, □: the Sparse density class (N=24), ●, ○: the Medium density class (N=24), ▲, △: the Dense class (N=23 (24 – 1 operator mistake))

*Changes in the R-V relationships using PB (equation 2) due to environmental variation*

In the light sample, the slopes of the R-V relationships between PB and pod production differed significantly between the Shady and Full Light classes (Fig. 2b). As a continuous variable, LI also significantly influenced the slope of the R-V relationship (Online Resource 5). Moreover, the number of seeds per pod increased with LI (Online Resource 5), with more seeds per pod in the Full light class (Fig. 3a). However, using pod or total seed production led to similar results (Fig. 2b, Fig. 3b).

In the density sample, we did not observe any difference in R-V relationships between DI classes for pod production (Fig. 2d). When we analysed the number of seeds per pod, random permutations within density plots indicated a marginal effect of the DI (Online Resource 5). Indeed the number of seeds per pod was more influenced by the density of the whole plot (Fig. 3c) than by the immediate vicinity of individual gorse bushes represented by the DI. However, when the total number of seeds produced was used (Fig. 3d), we found no difference in the R-V relationships among density plots.

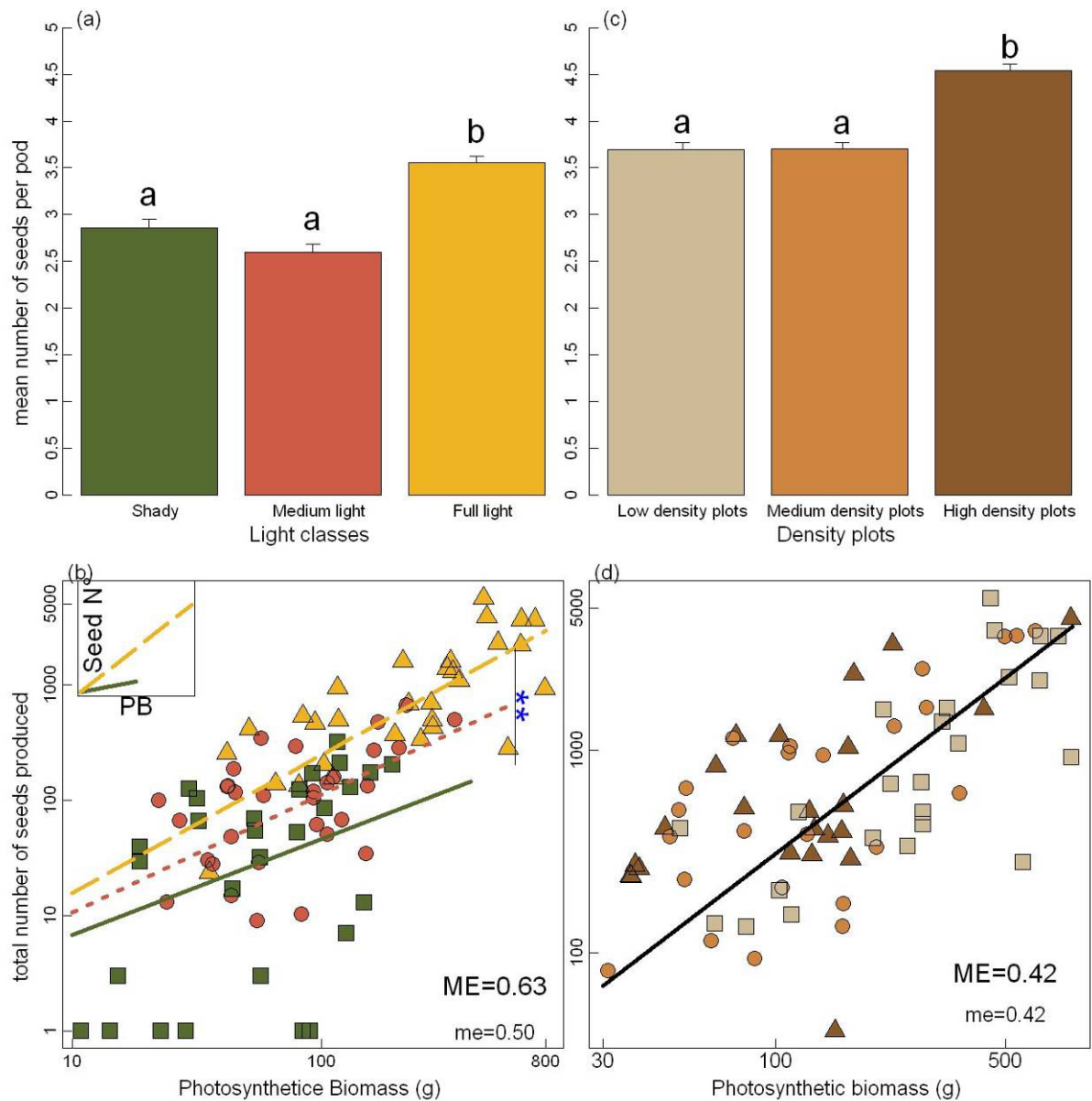


**Fig. 3** Number of seeds per fruit (a,c) and R-V relationships between total seed production per individual and photosynthetic biomass (b,d) under different levels of light (a,b) and of density (c,d).

a, c): Lowercase letters indicate a significant difference in the number of seeds per pod between LI classes and density plots. Vertical lines are standard errors. 300, 359 and 847 pods were opened on 11, 15 and 27 individuals in the Shady, Medium light and Full light classes respectively. 636, 675 and 641 pods were opened on 21, 23 and 21 individuals in the Low density plots, Medium density plots and High density plots respectively.

b, d): We added one to the number of seeds produced by each shrub before log transformation because some individuals did not produce any seed. b) Symbols, legend, meaning of the top-left and the bottom-right graph labels and number of individuals per LI class are the same as in Fig 2b.

c,d) We classified the individuals per density plots and not per DI classes because the observed response is independent of the close neighbourhood (represented by the DI) within plots. d) We show the overall relationship represented by the solid black line (no significant difference of slope between classes). The ME of the fitted relationship taking into account environmental variables (density plots) or not are shown as in Fig. 2. ■: low density plots (N=24), ●: medium density plots (N=24), ▲: high density plots (N=23 (24 – 1 operator mistake))

## Discussion

### *On the use of R-V relationships to study reproductive allocation of woody plants*

Using basal area (BA, equation 1), it is tempting to conclude that reproductive allocation was strongly modified by light availability and reduced by the dry spring in 2011 (Fig. 2a,c). However, using photosynthetic biomass (PB, equation 2), the influence of environment variation on reproductive allocation was less obvious. Like in herbaceous plants, the main response to resource availability we identified was plasticity of growth (i.e. 'apparent' plasticity), which in turn determined the reproductive output (Weiner et al., 2009a). Thus, future studies of size-dependent fecundity of woody plants should consider that R-V relationships should be related to recent growth, and relationships using PB appeared appropriate according to our results.

We found a decreased in the PB: Shoot ratio with plant size and in resource-poor environments (Online Resource 5). The proportion of support tissue increased correspondingly. This could have two opposite consequences: 1) an increase of the respiration cost to maintain support tissue which could reduce reproductive allocation (Online resource 1, Peters et al., 1988) and 2) an increase of the amount of carbohydrates and nutrients stored in the sapwood and inner bark (Hoch et al., 2003) that could be remobilized and represent an additional resource for reproduction. However, we found no significant effect on the R-V relationships using PB neither of the PB: Shoot ratio nor of any variable related to ontogeny. Therefore the opposite consequences stated above may 1) have counterbalanced each other, 2) have only impacted the production of PB, not directly the allocation to reproduction and 3) be stronger and detectable only for taller trees. Even though, changes due to ontogeny should be constantly taken into account in future studies of reproductive allocation of woody plants, and the PB: Shoot ratio could be an indicator of these changes.

### *Plasticity of reproductive allocation of the model species*

Analysis of the *light gradient* produced two results which suggested 'true' plasticity in reproductive allocation: a modification in the R-V slope for pod production in equation 2 (Fig. 2b), and a modification in the number of seeds per pod (Fig. 3a). However, alternative explanations need to be explored. *First*, uncontrolled effects that influence individuals sampled in different sites are likely to play a role. However no differences between plots were in conflict with our interpretation. For instance, when species composition of the understory varied (Online Resource 3), the encountered species were all typical of the same regional level of fertility (Augusto et al., 2010), and the decrease of reproductive allocation in shade did not concern these plots. Moreover, the effect of light was still significant after taking into account a random effect due to sampling in different locations (Online Resource 5, Fig. 2b). *Second*, a limitation in pollination in shade could be involved. However, pollinators of gorse are not influenced by the irradiance in forest stands (Herrera, 1995). In addition the few species that bloom simultaneously with gorse are not abundant locally suggesting a low inter-specific competition for pollinators' service. Finally, Hornoy (2012) confirmed, in an experimental garden, that a decrease in light led to a decrease in flower initiation of gorse but did not change the fruit: flower ratio. Therefore the most likely explanation of Figures 2b and 3b is plasticity of reproductive allocation. However, some individuals remained tied to the main R-V relationship. Genetic differences may explain this variability of plasticity (e.g. Clauss and Aarssen, 1994).

When analysing the *density sample*, we observed an increase in the number of seeds per pod (Fig. 3c) in the densest plots. Plant-pollinator interactions may explain this result. When shrubs are isolated, one single pollinator may visit more flowers per plant thus leading to higher abortion of self-fecundated ovules to avoid genetic depression (Cibula and Zimmerman, 1984). In dense areas, cross-pollination is more likely, and would increase the number of viable fecundated ovules per fruit, which would be consistent with our findings. In general, the response to increased intra-specific competition did not involve plasticity of reproductive allocation. The corresponding depletion of resource may be limited because 1)

photosynthetic biomass is concentrated at the apex of the plant in dense thickets (i.e. in good light conditions), 2) gorse is tolerant to poor nutrient availability (Drake, 2011).

From our whole experimental design, we found evidence that our model species can display plasticity of reproductive allocation, limited to the response to light availability. To our knowledge, no previous studies have characterized the plasticity of this trait in woody plants.

#### *Plasticity of reproductive allocation and shade avoidance*

We observed that gorse bushes in shady sites showed modification associated with shade avoidance: thinner branches and longer internodes. The quantity of carbon-based constituents and biomass allocated to functions other than photosynthesis is reduced in cases of shade avoidance (Iason and Hester, 1993; Poorter et al., 2012). Our results suggest a similar trade-off in the most limiting environments, making the production of photosynthetic tissues a priority, enabling the individual to survive and continue reproducing in the future. Moreover, green stems are the main component of PB of gorse. The structural and chemical modifications of the green stems associated with etiolation (Iason and Hester, 1993) may result in the observed plasticity. While nutrient concentration may be reduced in the PB, it is likely to be less variable in the reproductive organs to ensure the viability of the offspring. Therefore a higher amount of PB may be needed to provide the necessary material and energy to build a single reproductive organ with fixed composition (Weiner et al., 2009b).

#### *Ecological significance of the plasticity of reproductive allocation*

Like in herbaceous plants, plasticity was only observed by comparing the two extremes of the resource gradient (light in our study) (Weiner et al., 2009a). It is thus unlikely that plasticity is expressed in the case of small inter-annual variations in the environment. The successional niche hypothesis (Pacala and Rees, 1998) is helpful to explore the ecological significance of our findings. Indeed the extreme variations in irradiance involved only occur during changes from the pioneer to late successional stages in forest, or suddenly after a disturbance of the canopy. The successional niche hypothesis states that pioneer species (like gorse) should be excluded by over-competitors (trees in our case) but are maintained thanks to the short window of access to a high level of resource after a disturbance. This hypothesis is in agreement with the life cycle of gorse in our context. After a clear cut and the plantation of the next pine stand, when competition is low, the emergence of new individual gorse bushes is favoured. The new recruits mature and produce a large seed bank in full light conditions as we showed here. Because this seed bank can remain dormant for a long time, the species' ability to regenerate is stored in its seed bank (Beckage et al., 2005) until a new disturbance occurs. If plasticity of reproductive allocation is followed by improved survival in the forest succession, it could lead to a higher probability of maintaining a seed bank in the gap between two disturbances. However, to fit the R-V relationships, we had to perform a single destructive harvest. Thus, we did not observe the fates of the plastic individuals. Answering the question of their future survival and of their reproductive output during the course of their lifetime is crucial to understand the ecological significance of plasticity of reproductive allocation.

### **Conclusion**

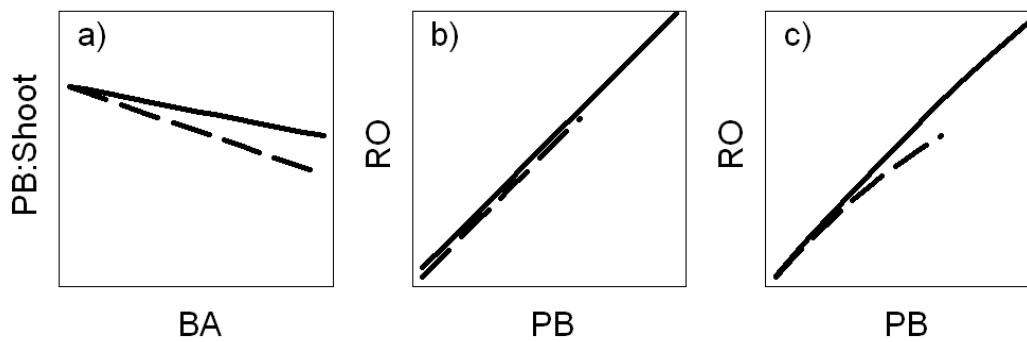
We showed that the whole size of woody plants does not provide enough information to detect 'true' plasticity of their reproductive allocation. Using a more appropriate variable, photosynthetic biomass, we demonstrated that the reproductive allocation of the studied species can indeed be plastic. Depending on their distribution along wide gradients of resource, other woody species may express this kind of plasticity. Pioneer species may be able to modify their reproductive allocation under different light regimes because they are known to develop mechanisms of shade avoidance, and plasticity of reproductive allocation may be part of this response. Particularly, species with green stems may show similar plasticity, because shade avoidance response results in strong modification of their PB composition, and may in turn modify the ability of PB to provide energy for reproduction. If plasticity of

reproductive allocation confers higher survival in the shade, it could increase the ability of these pioneer species to maintain in forest systems with long unfavourable periods between two disturbances. Long-term studies are needed to better understand the ecological importance of plasticity of reproductive allocation of woody plants.

### **Acknowledgments**

We thank Mr. Jean Michel Beau from the French Forest National Office (ONF) and Mr. Castagnet for giving us access to additional sampling sites. We are grateful to the INRA-UE570 Forêt Pierroton and UMR1202 BIOGECO teams, especially Laurent Severin, Luc Puzos and Celine Meredieu for their help in identification of sites and support in the field. We thank Alexandre Bosc for advice on measuring light and Alain Mollier, Christophe Nguyen, André Schneider and Frédérique Pellerin for discussion about statistical methods. We also thank David Achat, Mark Bakker, Jean Christophe Domec, Nathalie Gallegos, Céline Gire, Sylvie Millin, Sylvie Niollet, Loïc Prudhomme and Stéphane Thunot for technical help. We are also grateful for the suggestions made by the anonymous reviewers and editors.

**Online Resource 1** 'apparent' plasticity of the reproductive allocation for woody plants because of the cost of support tissue maintenance



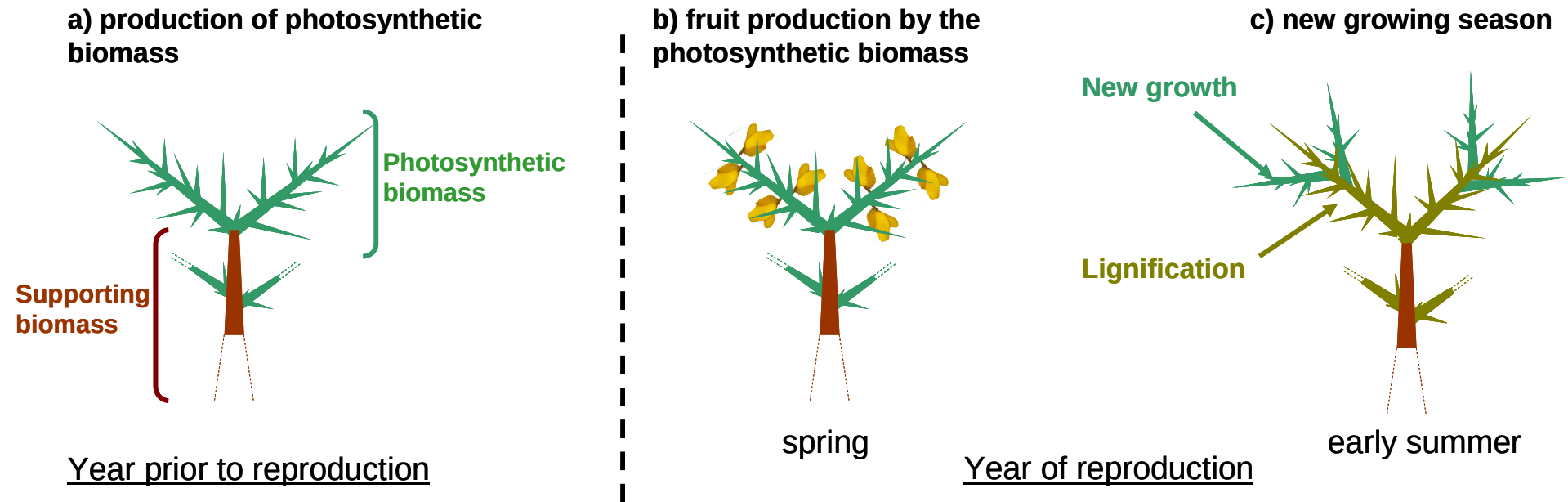
Woody plants growing in low (---) and rich (—) resource availability are shown. BA: Basal Area. PB; Photosynthetic Biomass; RO: Reproductive Output, PB: Shoot: proportion of PB biomass in the whole shoot biomass. The different scenarios presented in this figure do not involve 'true' plasticity of reproductive allocation and use plants with the same characteristics (BA and PB) than in Fig. 1. The evolution of the PB: Shoot ratio expected with plant growth and with different access to resource is shown in a).

In a first scenario the cost of allocation to support tissue is not influenced by the PB: Shoot ratio. The R-V relationships between PB and RO remain unchanged (b).

In a second scenario, the cost of allocation to support tissue increased with a lower PB: Shoot ratio. It results in 'apparent' plasticity in the relationships between PB and RO (c).



**Online Resource 2** Scheme of 2-year cycle of vegetative production and reproduction of *Ulex europaeus*



**Online Resource 3** Experimental sites description and general meteorological conditions in the 2 reproductive seasons studied

| (a)            | Name of the plots                                             | mean Light Index (%) $\pm$ SD <sup>a</sup> | Mean n° ind.m <sup>-2</sup> <sup>b</sup> ( $\pm$ SD) | Sampling year         | Min and Max diameter (D <sub>10</sub> ) <sup>c</sup> | Min and max no of growth rings | pH <sub>H2O</sub>   | C <sub>TOTAL</sub> (mg/g)                 | N <sub>TOTAL</sub> (mg/g) | P <sub>TOTAL</sub> (ug/g) | Oxides (Fe + Al) (mg/g) <sup>c</sup> | Other understorey biomass (g/m <sup>2</sup> ) | Other main understorey species |
|----------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|-------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------|
|                |                                                               |                                            |                                                      |                       |                                                      |                                |                     |                                           |                           |                           |                                      |                                               |                                |
| Light Sample   | Li-1                                                          | Full Light                                 | 0.2 $\pm$ 0.2                                        | 2010                  | 11.0 – 41.3                                          | 3 - 7                          | 4.2                 | 31.0                                      | 1.14                      | 45.8                      | 0.90                                 | 128.7                                         | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | Li-2                                                          | Full Light                                 | 0.3 $\pm$ 0.2                                        | 2011                  | 15.3 – 43.1                                          | 5 - 9                          | 4.2                 | 27.3                                      | 0.93                      | 38.9                      | 0.51                                 | 74.3                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | Li-3                                                          | 87 $\pm$ 3                                 | 1.3 $\pm$ 0.8                                        | 2010                  | 8.8 – 57.3                                           | 3 - 23                         | 4.2                 | 39.1                                      | 1.46                      | 51.1                      | 0.98                                 | 128.4                                         | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | Li-4                                                          | 63 $\pm$ 4                                 | 0.2 $\pm$ 0.1                                        | 2011                  | 13.8 – 47.8                                          | 6 - 20                         | 3.7                 | 60.4                                      | 2.13                      | 60.9                      | 0.45                                 | 72.2                                          | <i>Pteridium aquilinum</i>     |
|                | Li-5                                                          | 46 $\pm$ 2                                 | 0.7 $\pm$ 0.4                                        | 2011                  | 9.9 – 28.0                                           | 4 - 9                          | 4.0                 | 33.1                                      | 1.21                      | 32.2                      | 1.35                                 | 108.4                                         | <i>Erica scoparia</i>          |
|                | Li-6                                                          | 37 $\pm$ 5                                 | 0.5 $\pm$ 0.3                                        | 2010                  | 8.3 – 35.7                                           | 3 - 9                          | 4.2                 | 37.8                                      | 1.45                      | 40.6                      | 0.97                                 | 60.2                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | Li-7                                                          | 29 $\pm$ 3                                 | 1.1 $\pm$ 0.4                                        | 2010                  | 10.5 – 36.8                                          | 4 - 10                         | 4.0                 | 33.5                                      | 1.03                      | 31.4                      | 0.30                                 | 54.1                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | Li-8                                                          | 19 $\pm$ 4                                 | 0.3 $\pm$ 0.3                                        | 2011                  | 15.4 – 33.8                                          | 5 - 10                         | 4.0                 | 18.3                                      | 0.68                      | 26.4                      | 0.51                                 | 22.7                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
| Density Sample | De-1                                                          | Full Light                                 | 0.2 $\pm$ 0.2                                        | 2010                  | 11.0 – 41.3                                          | 3 - 7                          | 4.2                 | 31.0                                      | 1.14                      | 45.8                      | 0.90                                 | 128.7                                         | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | De-2                                                          | Full Light                                 | 0.3 $\pm$ 0.2                                        | 2011                  | 15.3 – 43.1                                          | 5 - 9                          | 4.2                 | 27.3                                      | 0.93                      | 38.9                      | 0.51                                 | 74.3                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | De-3                                                          | Full Light                                 | 4.2 $\pm$ 1.7                                        | 2010                  | 7.0 – 20.3                                           | 2 - 6                          | 4.1                 | 25.8                                      | 0.91                      | 46.8                      | 0.88                                 | 162.9                                         | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | De-4                                                          | Full Light                                 | 2.1 $\pm$ 0.8                                        | 2011                  | 14.5 – 34.4                                          | 4 - 8                          | 4.0                 | 47.5                                      | 1.30                      | 30.9                      | 0.38                                 | 41.7                                          | <i>Ulex minor</i>              |
|                | De-5                                                          | Full Light                                 | 9.8 $\pm$ 1.4                                        | 2010                  | 9.3 - 29.0                                           | 4 - 7                          | 4.2                 | 24.5                                      | 0.90                      | 47.3                      | 0.55                                 | 14.1                                          | <i>Molinia caerulea</i>        |
|                | De-6                                                          | Full Light                                 | 8.0 $\pm$ 1.9                                        | 2011                  | 10.5 – 46.6                                          | 4 - 9                          | 4.1                 | 44.2                                      | 1.27                      | 30.6                      | 0.35                                 | 7.3                                           | <i>Molinia caerulea</i>        |
| (b)            | Growing season preceding reproductive season (July – October) |                                            |                                                      |                       |                                                      |                                |                     | During reproductive season (March - June) |                           |                           |                                      |                                               |                                |
|                | Total rainfall (mm)                                           |                                            |                                                      | Mean temperature (°C) |                                                      |                                | Total rainfall (mm) |                                           |                           | Mean temperature (°C)     |                                      |                                               |                                |
|                | 2010 Sample                                                   | 189                                        |                                                      |                       | 17.8                                                 |                                |                     | 201                                       |                           |                           | 13.3                                 |                                               |                                |
|                | 2011 Sample                                                   | 176                                        |                                                      |                       | 17.2                                                 |                                |                     | 93                                        |                           |                           | 14.9                                 |                                               |                                |

### *Captions of tables*

(a) Experimental sites description:

<sup>a</sup> Given for the 12 individuals sampled per plot.

<sup>b</sup> Mean and SD of the number of individuals in a 2 m radius around the 12 individuals sampled per plot.

<sup>c</sup> D<sub>10</sub>: Basal diameter measured 10 cm from the ground.

<sup>d</sup> In the soils in the study area, which are extremely poor in mineral clay, these Al and Fe oxides are responsible for the bioavailability of P (Achat et al., 2009).

(b): general meteorological conditions.

Data comes from a meteorological station located near the experimental sites (40 km from the farthest site). See Online Resource 2 for the growth and reproductive phenology of the species.

### *Method*

For each sampling site, 3 soil samples were pooled for chemical analysis and the phytovolume of other understory species was converted into biomass following Porte et al. (2009). These descriptive data enabled us to check if soil characteristics or differences in the biomass of inter-specific competing individuals in the understory could lead to misleading interpretations of the effects of light availability or density. In addition, we collected meteorological data for the two years of the study to interpret possible inter-annual variability.

### *Description of the heterogeneity of sites and years sampled*

Large gradients of light (LI ranging from <20% to full light) and density (from less than 1 to more than 10 individuals m<sup>-2</sup>) were covered in the study. Considering the range of individual sizes and number of wood rings, different light and density plots broadly overlapped. A few plots showed differences in soil nutrient contents or in the species composition of the understory. However, these differences were not organized in the same way as the light or density gradients. 'Non-gorse' understory biomass decreased under low light availability (Li-6 to Li-8) and in dense gorse thickets (De-5 and De-6). Rainfall and temperatures were similar in the two seasons of PB production, whereas the spring was drier and hotter in the second reproductive period.

#### Online Resource 4 The different density indexes used

##### *Hegyi's Density Index*

Hegyi's index is defined in equation 1 below:

$$(1) DI_i^{\text{Hegyi}} = \sum_1^j \frac{BA_j}{BA_i \times \text{dist}_{ij}} \quad \text{eqn 1}$$

$DI_i^{\text{Hegyi}}$  represents Hegyi's index calculated for the targeted individual  $i$  with the basal area  $BA_i$  from the preceding winter.  $BA_j$  is the basal area from the preceding winter of the  $j^{\text{th}}$  competitor located at  $\text{dist}_{ij}$  from  $i$ . The crown radius of individual gorse bushes in our study ranged from 0.2 to 1.25 m. We chose a radius of 1.5 m around target individuals as a suitable zone of influence of competitors to build our density index. We also tried varying the competitive radius between 1 and 2 m in our data analysis, but no different trends appeared.

##### *Modification of Hegyi's index*

We modified Hegyi's index according to the position of the competitors' centre of mass in equation 2.

$$(2) DI_i^{\text{Hegyi-mod}} = DI_i^{\text{Hegyi}} \left( 1 - \frac{\text{dist}_{\text{CM}}}{\text{dist}_{\text{max}}} \right) \quad \text{eqn 2}$$

where  $\text{dist}_{\text{CM}}$  is the distance between the target individual and the centre of mass of the competitors, and  $\text{dist}_{\text{max}}$  is the radius of the zone of influence (here 1.5 m).

For all analyses, modified Hegyi's index was cube rooted to fit a normal distribution.

##### *Other indexes tested*

During all density analyses, other spatialized density indexes were also built and tested but did not perform better. We tested the Silander and Pacala's index (Silander and Pacala, 1985) stated in equation 3 and Weiner's index (Weiner, 1984) stated in equation 4.

$$(3): DI_i^{\text{Silander}} = \sum_1^j BA_j \left( 1 - \left[ \frac{\text{dist}_{ij}}{\text{dist}_{\text{max}}} \right] \right)^{\theta} \quad \text{eqn 3}$$

where  $DI_i^{\text{Silander}}$  is Silander and Pacala's index calculated for the targeted individual  $i$ .  $BA_j$  is the basal area of the  $j^{\text{th}}$  competitor the preceding winter located at  $\text{dist}_{ij}$  from  $i$ . and  $\text{dist}_{\text{max}}$  is the radius of the zone of influence around the target individual to account for competitors.  $\theta$  is a distance weighting exponent. To predict predation rates, the best radius of the zone of influence was 1.75 m. We set  $\theta$  to 1 because higher values did not improve the models.

$$(4): DI_i^{\text{weiner}} = \sum_1^j \frac{BA_j}{\text{dist}_{ij}^2} \quad \text{eqn 4}$$

where  $DI_i^{\text{weiner}}$  is Weiner's index calculated for the targeted individual  $i$ .  $BA_j$  is the basal area of the  $j^{\text{th}}$  competitor the preceding winter located at  $\text{dist}_{ij}$  from  $i$ .

**Online Resource 5** The different models fitted to estimate the reproductive performance of gorse bushes

| Dependant variable           | Light effects                                                                                                          |                                               |      | Density effects                                                                                                      |                                               |      | Results of random test |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------|------------------------|
|                              | Fixed effects of the model                                                                                             | Random effect of the model                    | ME   | Fixed effects of the model                                                                                           | Random effect of the model                    | ME   |                        |
| Photo-synthetic biomass      | $\ln(y_i) = 0.61^{***} \ln(BA_i) + 24.10^{-5} [ \ln(BA_i) \times LI_i ]$                                               | Plot <sup>***</sup>                           | 0.78 | $\ln(y_i) = 0.91^{***} \ln(BA_i) - 33.10^{-3} [ \ln(BA_i) \times DI_i ]$                                             | Plot <sup>***</sup>                           | 0.84 | °                      |
| PB: Shoot Ratio              | $y_i = 92.10^{-3} - 72.10^{-6} BA_i + 24.10^{-4} LI_i$                                                                 | Plot <sup>***</sup>                           | 0.55 | $y_i = BA_i^{-0.17} - 45.10^{-2} DI_i$                                                                               | Plot (on BA parameter)                        | 0.33 | *                      |
| Number of pods produced      | $\ln(y_i) = 0.45^{***} \ln(PBi) + 62.10^{-4} [ \ln(PBi) \times LI_i ]$                                                 | Plot <sup>**</sup>                            | 0.65 | $\ln(y_i) = 0.97^{***} \ln(PBi) + 31.10^{-2} [ \ln(PBi) \times DI_i ]$                                               | none                                          | 0.49 | -                      |
| Model per class <sup>a</sup> | $\ln(y_i) =$<br>a. $0.65^{***} \ln(PBi)$ if SHA<br>ab. $0.84^{***} \ln(PBi)$ if MED<br>b. $0.99^{***} \ln(PBi)$ if FUL | Plot <sup>**</sup>                            | 0.64 | $\ln(y_i) =$<br>a. $0.98^{***} \ln(PBi)$ if SPA<br>a. $1.00^{***} \ln(PBi)$ if MED<br>a. $1.03^{***} \ln(PBi)$ if DE | none                                          | 0.49 |                        |
| Number of seeds per pod      | $\ln(y_i) = 0.65^{***} + 55.10^{-4} LI_i$                                                                              | Date <sup>***</sup><br>⊂ Gorse <sup>***</sup> | -    | $\ln(y_i) = 1.26^{***} + 91.10^{-3} DI_i$                                                                            | Date <sup>***</sup><br>⊂ Gorse <sup>***</sup> | -    | °                      |

*Caption*

°, P<0.1; \*, P<0.05; \*\*, P<0.01; \*\*\*, P<0.001

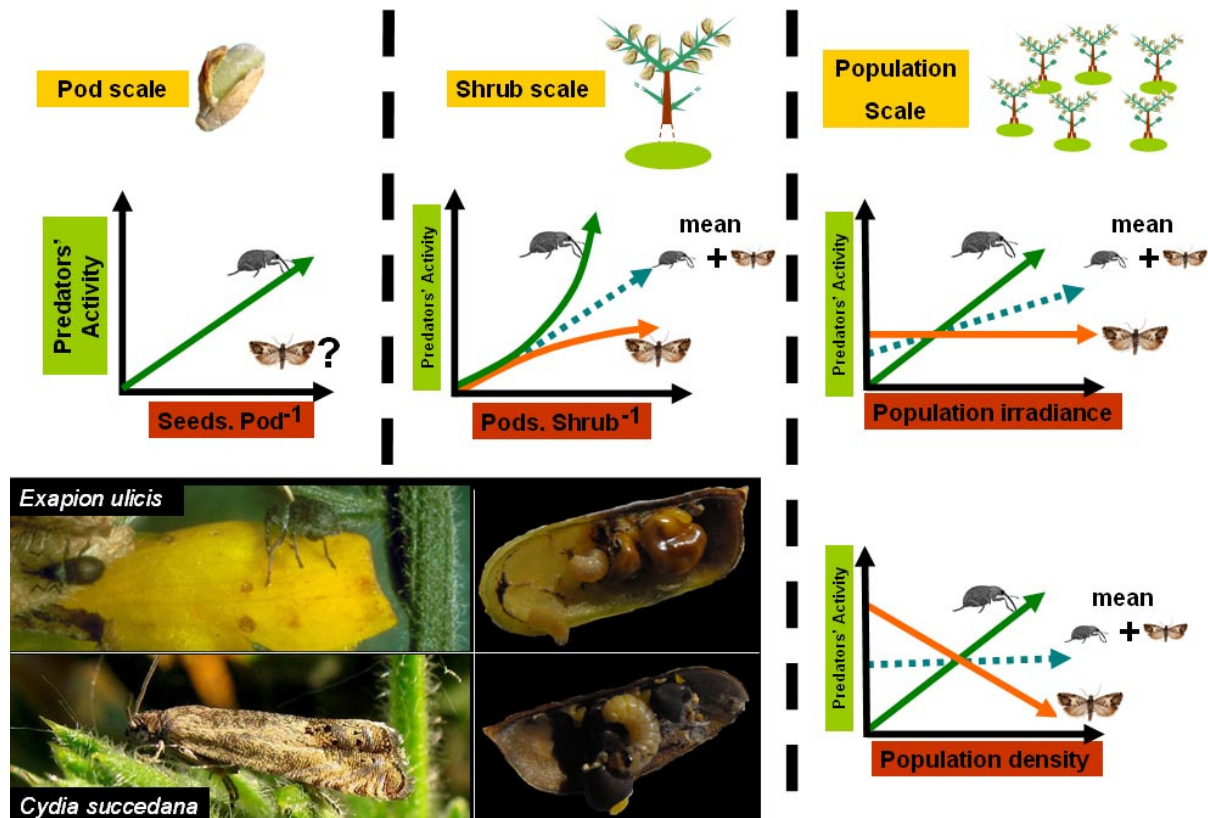
Explanatory variables are in capital letters: BA: Basal area; LI: Light index; DI: Density index; PB: Photosynthetic biomass; PD: number of pods produced by the individual. SHA, MED and FUL: Shady, Medium light and Full light classes of the light sample respectively. SPA, MED and DE: Sparse, Medium density and Dense classes of the density sample respectively

ME: Modelling efficiency. If models contain random effects, ME is given for the fixed effects of the model only.

<sup>a</sup>: Different lowercase letters in front of slope parameters of classes indicate a significant difference between slopes



## B. Multi-scale analysis of pre-dispersal seed predation of gorse (*Ulex europaeus*) by the weevil *Exapion ulicis* and the moth *Cydia succedana* along a light and a density gradient: implications for biological control



Résumé graphique de l'article soumis à la revue Biological Control.

Cette partie est un article soumis à la revue Biological Control par Delerue F., Gonzalez M., Atlan A., Pellerin S., et Augusto, L.

## Résumé

La lutte biologique contre l'ajonc (*Ulex europaeus*) par deux prédateurs des graines avant leur dispersion (le charançon *Exapion ulicis* et le papillon de nuit *Cydia succedana*) est pratiquée dans de nombreux pays. La présence des ajoncs le long de larges gradients naturels pourrait influencer la prédation des graines. L'objectif de cette étude est d'identifier les facteurs qui influent sur cette prédation le long de deux gradients naturels, dans l'aire de répartition d'origine de l'ajonc, et de considérer les implications pour la lutte biologique, en contexte invasif. La prédation des graines a été étudiée chez 144 plantes dans des peuplements caractérisés par des différences de luminosité et de densité. Le nombre de graines détruites a été déterminé à différentes échelles: la gousse, la plante et le peuplement.

A toutes les échelles, les résultats suggèrent que l'activité du charançon augmente avec la quantité de graines d'ajonc produites. A l'échelle de la plante, les taux de prédation des gousses par les deux prédateurs se compensent mutuellement. L'action du papillon de nuit semble complémentaire de celle du charançon, puisque il est plus présent sur les plantes, et dans les peuplements, où le charançon est rare. Dans l'ensemble, la prédation augmente le long du gradient de lumière, et varie peu le long du gradient de densité.

En contexte invasif, les prédateurs pourraient limiter la production de graines abondante au printemps dans les zones denses en ajoncs. Lorsque l'ajonc est présent dans des zones ombragées, à la limite de son habitat, les graines produites ont sûrement une plus forte probabilité d'échapper à la prédation. Cela pourrait contribuer au maintien et à l'extension de l'espèce sur de larges étendues. Cependant, une plus forte présence du papillon de nuit pourrait aider à contrôler cette production de graines à l'ombre.

## Abstract

Biological control of gorse (*Ulex europaeus*) by two pre-dispersal seed predators (the weevil *Exapion ulicis*, and the moth *Cydia succedana*) is common in many countries. Gorse shrubs are distributed along wide natural gradients, and this could influence seed predation. The aim of this study was to identify factors that influence seed predation along two natural gradients in the native range of gorse, and to consider their implications for its biological control in invasive contexts.

Seed predation was studied in 144 shrubs in stands with different irradiance and population densities. The number of seeds damaged was determined at different scales: the pod, the shrub and the gorse stand.

At all scales, the activity of the weevil increased with the quantity of gorse seeds produced. At the scale of the bush, pod predation rates by the two predators compensated for each other. The action of the moth was complementary to that of the weevil, since it foraged on shrubs and in shady stands where the weevil was less frequent. On the whole, predation increased along the light gradient and varied little along the density gradient.

In invasive contexts, the predators may limit the abundant production of seeds in spring in areas with dense gorse populations. In shady environments at the limit of the species' habitat, seeds have a higher probability of escaping predation. This could contribute to the maintenance and spread of the species over larger areas. However better establishment of the moth could help control seed production in the shade.

## Keywords

Preference Performance Hypothesis; Predator satiation; Predator attraction; Multiple Predators Effects; Limit of habitat; Invasive plant

## Highlights

- The activity of the weevil increased with the quantity of seeds at all scales
- The moth foraged more on shrubs and in stands where the weevil was less frequent
- Total seed predation decreased in the shade at the limit of the gorse habitat
- Successful establishment of the moth could help control seed production in the shade



## 1. Introduction

Common gorse (*Ulex europaeus* L.) is an evergreen leguminous shrub native to the European Atlantic coast (Clements et al., 2001). It has been introduced in all continents and is now considered as one of the most invasive plant species in the world (Lowe et al., 2000). It alters native biodiversity (Sullivan et al., 2007), increases fire hazard (Anderson and Anderson, 2010), invades pasture lands and competes with trees in planted forests (Clements et al., 2001; Richardson and Hill, 1998).

The release of plants from seed predators in invasive regions is thought to play an important role in how weeds outcompete native plants (Ghazoul, 2002). The introduction of gorse in absence of two pre-dispersal seed predators (the gorse seed weevil (*Exapion ulicis* Förster) and the gorse pod moth (*Cydia succedana* Denis & Schiffermüller)) is thought to be one of the main processes responsible for the invasiveness of gorse (Hornoy et al., 2011; Rees and Hill, 2001). The larvae of these two predators feed on gorse seeds inside the pods, and both predators have been introduced as biological control agents (Davies et al., 2008; Norambuena and Piper, 2000; Paynter et al., 2008; Sixtus et al., 2006; Sixtus et al., 2007). However recorded annual levels of pod infestation vary considerably (Hill et al., 1991) and rarely reach very high values in invasive contexts (e.g. 35% in Cowley, 1983).

In both native and invasive contexts, gorse is able to escape predation over time. Thanks to the marked variability of its fruiting phenology, it can reproduce outside the main period when the predators' larvae develop (Atlan et al., 2010). In addition, gorse shrubs are distributed along wide natural light and density gradients since: 1) it commonly forms dense mono-specific thickets in early succession and good light conditions (Lee et al., 1986) and 2) its habitat range includes the understory of forest systems in its native area (Augusto et al., 2005). However the effects of these environmental variations on the degree of pre-dispersal seed predation have never been studied even though they could have important implications for the biological control of gorse if seed predation differs significantly along the two gradients concerned.

Two points are important when studying host plant - multiple seed predator systems. First, when the larvae are confined to the oviposition sites chosen by the females, the *preference-performance hypothesis* states that females choose the most suitable sites for the optimum development of their larvae (Gripenberg et al., 2010; Jaenike, 1978). Second, *multiple predator effects* can result from the effect of several predators exploiting the same resource, i.e. the predators can interact synergistically or antagonistically (Ives et al., 2005). For example two predators foraging simultaneously on the same limited resource can "waste" their time and energy as they compete for access to this resource. In that case, the overall predation rate cannot be predicted by summing the effect of each predator acting alone (McCoy et al., 2012).

The main aim of the present study was to characterize the impact of pre-dispersal seed predation on gorse by its two main seed predators along two natural gradients of light and population density in its native range. To this end, seed predation was analysed at different nested scales: the pod (on the shrub), the shrub (in the sample plot), and the difference between the plots sampled along the natural gradients (Figure 1). At each scale, the focus was on identifying drivers of the behaviour of the two seed predators, and on checking if this behaviour was consistent along the two gradients. Four specific questions were addressed at the three scales (Fig. 1). 1) Were pods that contained more seeds on a given shrub more attractive for ovipositing females (this would be consistent with the preference-performance hypothesis)? 2) Did shrubs with more pods attract or satiate the predators? 3) Was there any detectable interaction between the activities of the two predators (i.e. any multiple predator effects)? 4) At the plot scale, did incident light and plant density influence seed destruction along the two gradients? This multi-scale analysis helped highlight the key determinants of predation of gorse shrubs along natural gradients, and their possible implications for the biological control of gorse by the two seed predators in invasive contexts.

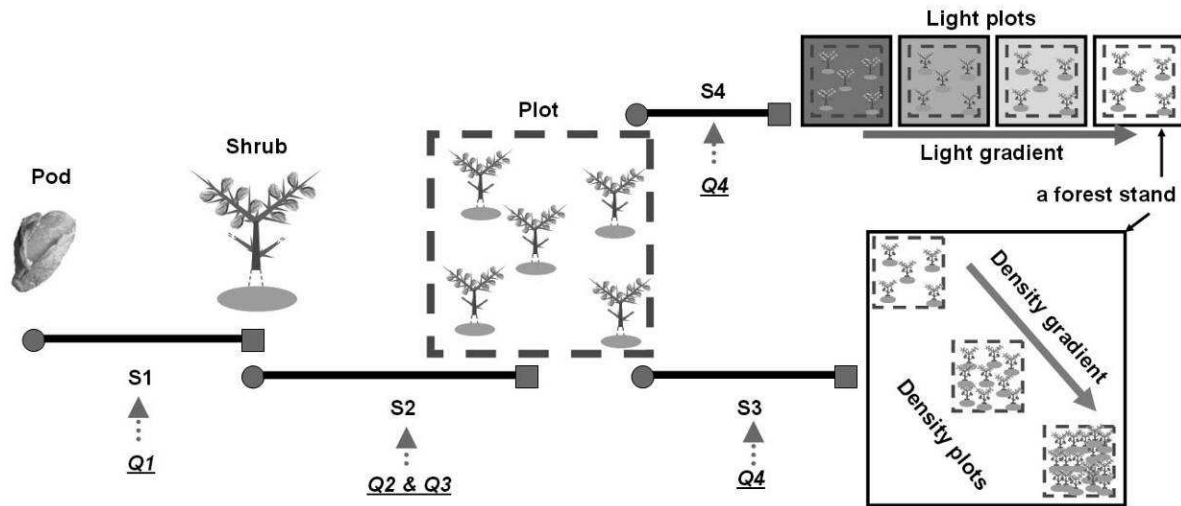


**Figure 1.** The different nested scales of seed predation and data analysis along the light and density gradients

The different objects analysed are indicated by grey circles. Their corresponding level of nesting is indicated by grey squares. S1, S2, S3 and S4 are abbreviations for scale 1, scale 2, etc. For example, the aim of analysing the effects of seed predation at scale 1 is to determine what makes a pod attractive for predators. But pods were harvested on different gorse shrubs and the predation of pods depends on their nesting scale on the same shrub. Dotted arrows indicate the different scales at which the four main questions (Q1, Q2, etc.) raised during data analysis were addressed

## 2. Material and Method

### 2.1. The host plant (*Ulex europaeus* L.)

Gorse grows spontaneously in the understory of the large *Landes de Gascogne* forest of planted maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) in southwest France ( $\approx 0.9$  Mha,  $43.5\text{--}45.5^\circ\text{N}$  and  $1.5^\circ\text{W}\text{--}0.3^\circ\text{E}$ ) where the study was conducted in 2010 and 2011. Gorse is a light demanding species, and commonly forms dense mono-specific thickets (Augusto et al., 2009) in very young stands that have full exposure to light. However the distribution range of the species also includes older forest stands. Therefore gorse can reproduce along two wide gradients of light availability and population density (Delerue et al., in press).

Two main reproductive phenologies have been described in both native and invasive ranges. This study focuses on by far the most frequent phenology in our study region, where flowering occurs only in early spring, and pods mature and seeds are filled from May to the beginning of July (Barat et al., 2007) before their dispersal by explosive dehiscence of pods.

Gorse seed production is controlled by the environment surrounding the shrubs. Plants have a higher growth rate and higher reproductive output in well lit conditions and in low density populations. In full light conditions in its native range, a tall individual shrub can produce up to 1,500 pods, but only a few pods in understories which receive less than 40% of photosynthetic active radiation (Delerue et al., in press). The mean number of seeds per pod ranges from respectively 2.5 to five seeds in the least and most suitable environments for gorse (Delerue et al., in press).

### 2.2. The gorse seed weevil (*Exapion ulicis* Förster, Apionidae)

The gorse seed weevil is univoltine and is specific to *Ulex europaeus* (Barat et al., 2007). Pods and seeds produced by shrubs flowering at other seasons than spring are not infected by the weevil, but in spring, the level of infestation can be as high as 90% (Hill et al., 1991). In our study area, weevils can fly from a temperature threshold of approximately  $20^\circ\text{C}$  from March to October, enabling them to disperse in natural populations of gorse (Hornoy, 2012).

The weevil's dispersal ability is unknown. However, in a closely related species, the broom seed weevil (*Exapion fuscirostre*), it is limited (Rodriguez et al., 2012). In spring, females feed more specifically on gorse flowers (Maddox et al., 2007), bore a hole in the young pods and lay a batch of eggs. They oviposit for six weeks, laying approximately 150 eggs in 30 ovipositions (i.e. approx. two ovipositions every three days) (Hornoy, 2012). They show a strong preference for pods free of eggs laid by other weevils. They can infest pods from their 10<sup>th</sup> to 35<sup>th</sup> day of development, but the optimal time for oviposition is at two weeks, corresponding to the optimal development of seeds to feed the larvae (Hoddle, 1991). All the weevil's juvenile stages of development and the metamorphosis to the imago take place inside the pod and adults are released at pod dehiscence. One cause of mortality inside the pod is parasitism by a wasp (*Pteromalus sequester* Walker), which feeds on weevil larvae (Barat et al., 2007).

### 2.3. The gorse pod moth (*Cydia succedana* Denis & Schiffermüller, Tortricidae)

The moth is bivoltine in both the native and the invasive range where it infests gorse in spring. In autumn, it infests other *Ulex* species in Europe, and in New Zealand, still attacks *Ulex europaeus* pods produced in autumn (Sixtus et al., 2007). Some cases of moth larva feeding on weevil larvae inside pods have been reported (Hill, 1982), but most moth larvae feed preferentially on gorse seeds (Hill and Gourlay, 2002). In the present study, intraguild predation was likely incidental as the two predators were only found together in 0.3% of pods. Female moths fly towards sunset, but how far they can fly is not known. In a closely related moth, *Cydia pomella*, it was reported to be capable of flying several kilometres (Schumacher et al., 1997). Each female deposits a mean of 30 eggs individually on or close to a pod, but in controlled conditions, only 30% of eggs laid reached the adult stage (Hill and Gourlay, 2002). Each larva chews a hole in the pod, feeds on the seeds, exits and then looks for another pod to feed on. It has been observed to feed on up to three different pods (Hill and Gourlay, 2002). When a fruit that was infected by the moth was opened, often only residual pieces of seeds and larval droppings were observed.

**Table 1.** Description of experimental sites and main reproductive performance of gorse shrubs

|                | Plot position on the natural gradient | Variable related to the natural gradient                     | Sampling year | Min - Max diameter (D <sub>10</sub> in mm) <sup>c</sup> | Min - Max number of pods per gorse shrub | Mean number of seed per pod ( $\pm$ SE) |
|----------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|
|                |                                       | mean Light Index (%) ( $\pm$ SD) <sup>a</sup>                |               |                                                         |                                          |                                         |
| Light Sample   | Li-8                                  | 19 $\pm$ 4                                                   | 2011          | 15.4 – 33.8                                             | 0 - 21                                   | 3.00 $\pm$ 0.38                         |
|                | Li-7                                  | 29 $\pm$ 3                                                   | 2010          | 10.5 – 36.8                                             | 0 - 69                                   | 2.72 $\pm$ 0.11                         |
|                | Li-6                                  | 37 $\pm$ 5                                                   | 2010          | 8.3 – 35.7                                              | 0 – 106                                  | 2.91 $\pm$ 0.12                         |
|                | Li-5                                  | 46 $\pm$ 2                                                   | 2011          | 9.9 – 28.0                                              | 4 – 111                                  | 1.80 $\pm$ 0.09                         |
|                | Li-4                                  | 63 $\pm$ 4                                                   | 2011          | 13.8 – 47.8                                             | 6 – 182                                  | 2.39 $\pm$ 0.11                         |
|                | Li-3                                  | 87 $\pm$ 3                                                   | 2010          | 8.8 – 57.3                                              | 6 – 544                                  | 3.15 $\pm$ 0.11                         |
|                | Li-2                                  | Full Light                                                   | 2011          | 15.3 – 43.1                                             | 30 – 1399                                | 3.64 $\pm$ 0.10                         |
|                | Li-1                                  | Full Light                                                   | 2010          | 11.0 – 41.3                                             | 76 – 923                                 | 3.72 $\pm$ 0.12                         |
|                |                                       | mean density (ind.m <sup>-2</sup> ) ( $\pm$ SD) <sup>b</sup> |               |                                                         |                                          |                                         |
| Density Sample | De-1                                  | 0.2 $\pm$ 0.2                                                | 2010          | 11.0 – 41.3                                             | 76 – 923                                 | 3.72 $\pm$ 0.12                         |
|                | De-2                                  | 0.3 $\pm$ 0.2                                                | 2011          | 15.3 – 43.1                                             | 30 – 1399                                | 3.64 $\pm$ 0.10                         |
|                | De-3                                  | 2.1 $\pm$ 0.8                                                | 2011          | 14.5 – 34.4                                             | 40 – 945                                 | 3.68 $\pm$ 0.09                         |
|                | De-4                                  | 4.2 $\pm$ 1.7                                                | 2010          | 7.0 – 20.3                                              | 23 – 311                                 | 3.73 $\pm$ 0.10                         |
|                | De-5                                  | 8.0 $\pm$ 1.9                                                | 2011          | 10.5 – 46.6                                             | 10 – 1067                                | 4.30 $\pm$ 0.11                         |
|                | De-6                                  | 9.8 $\pm$ 1.4                                                | 2010          | 9.3 – 29.0                                              | 54 – 660                                 | 4.67 $\pm$ 0.10                         |

<sup>a</sup> Given for the 12 individuals sampled per plot<sup>b</sup> Mean and SD given the number of individuals in a 2 m radius around the 12 individuals sampled per plot<sup>c</sup> D<sub>10</sub>: Basal diameter measured 10 cm from the ground

## 2.4. Distribution of the plots along the natural gradients

Dense gorse thickets are common in full light conditions but not in old forest stands, since light availability decreases and local forestry practices include control of the understory vegetation. The two gradients studied were consequently not crossed in the experimental design.

### *2.4.1. The light gradient*

A total of 92 shrubs were sampled and shared between eight plots of at least 400 m<sup>2</sup> (Table 1, Li-1 to Li-8) at seven sites along the range of light availability in the forest understory. Three individuals were not included in statistical analyses because of obvious operator errors, leaving a total of 89 shrubs studied. The full light site was monitored in 2010 and 2011 (plots Li 1- and Li-2). Twelve gorse bushes per plot were selected in winter before the beginning of reproduction (except in the plot with the least light, (Li-8) where there were only eight individuals growing). To study the impact of seed predation between shrubs bearing different sets of pods, individual plants were selected to represent a wide range of sizes (i.e. potentially producing a highly variable quantity of pods because of the size dependence of the reproductive output). The position of the plots along the light gradient was first estimated in winter (i.e. before the variables of interest were measured) from the leaf area index of pine trees using the dimensions of the trees (Porte et al., 2000). The exact position of the plots along the light gradient was determined in summer (after reproduction) using the "overcast method" of Gendron et al. (1998). The proportion of photosynthetic active radiation received simultaneously by two sensors was measured under appropriate cloud cover. One sensor was placed at the apex of a gorse shrub, and one in an adjoining open area. A light index was obtained for each shrub sampled, giving the ratio of the two signals received (apex of the shrub: open area). The mean light index of all the shrubs sampled per plot was used to rank the plots along the light gradient (Table 1).

### *2.4.2. The density gradient*

All 72 gorse plants studied along the density gradient were located at the same full light site used in the light sample. Each year, 36 shrubs were studied, equally shared between three plots of different densities (low, intermediate and high, see Table 1). 'Low density plots', where shrubs had no or few conspecific neighbours within a radius of 2.5 m (De-1 and De-2), correspond to the same plots used for light analyses (Li-1 and Li-2). Each year in winter, two additional 64 m<sup>2</sup> (8x8 m) plots with an intermediate density (De-3 and De-4) and high density of gorse shrubs (De-5 and De-6) were identified. One individual shrub was not used for statistical analyses because of obvious operator errors. By the end of summer, all the gorse plants in the density plots were cut to estimate the mean number of conspecific neighbours in a 2 m radius around the individual shrubs sampled in each plot. This variable was used to rank the position of the different plots along the density gradient (Table 1). More complex density indexes (DI) for each sampled shrub were built following Weiner (1984) and Silander and Pacala (1985) but never turned out to be significant variables in the statistical analyses.

## 2.5. Variable measurements

### *2.5.1. Production of pods and rate of predation of pods*

All sites were visited every two weeks from complete maturation of the first pods (end of May) until the end of the reproductive period (beginning of July). At each visit, all the ripe (brown to black) pods were counted on each gorse sampled bush. The pods were harvested before they opened and the seeds and adult weevils were released. To estimate the number of pods attacked by the two predators, at each harvest date, 20 pods were randomly opened per individual shrub (if fewer than 20 pods were found on one shrub, all the pods were collected and opened) giving a total of 4,169 pods opened. The presence of weevils was observed directly inside the pods. In the case of predation by *C. succedana*, larvae were rarely observed directly because they often left the pod before dehiscence. However, the frass and exit hole are reliable signs of its presence. From these observations, several variables related to

predation were estimated: 1) the predation rate of pods per shrub (0-100%). This rate was calculated from the proportion of pods that had been attacked at each harvest date, weighted by the number of mature pods counted at this date; 2) the number of pods attacked per shrub (the predation rate of pods multiplied by the number of pods produced; pods.plant<sup>-1</sup>).

#### *2.5.2. Number of seeds per pod and proportion of seeds destroyed inside the pod*

The number of seeds in the pod destroyed or damaged by both predators was determined when the pods were opened. Whole seeds were classified as undamaged, partially damaged or completely destroyed seeds were classified as destroyed. Considering predation by the weevil, a first approximation of the number of seeds destroyed was possible following Barat et al. (2007). Inside ripe pods, at the end of their development, each weevil generally emerges from one seed and is well established in one seed chamber. In addition, each wasp generally feeds on one weevil. Thus the number of weevils plus the number of wasps provide a first raw estimation of the number of seeds destroyed. This first estimation was then corrected by examining the imprint of seed chambers in the pod endocarp and the residues of seed teguments and elaiosomes. In addition, seeds that appeared to be intact were turned upside down to look for a possibly hidden weevil. In the case of doubt about the presence of the weevil inside a seed, the tegument was broken to look inside. Finally the number of damaged seeds in some pods was not recorded if its estimation was not reliable (e.g. a large number of weevils and a small number seed chamber imprints but that were difficult to count). In the case of predation by the moth larva, often all the seeds were destroyed and in this case, the number of damaged seeds was not estimated.

From these estimations, in the case of infection by each predator, the proportion of seeds destroyed inside the pods (the number of seeds destroyed / (number of seeds destroyed + intact seeds); 0-100%) was calculated. Because attacks by both predators and along the natural gradients led to a similar proportion of seeds destroyed inside the pod (Supplementary material 1), we considered that the direct comparison of the predation rate of pods by the two predators at the shrub and plot scale was reasonable.

### 2.6. Multi-scale data analysis

All data analyses were performed using R software (R Development Core Team, 2010). The experimental design involved several levels of nesting, i.e. the plots were distributed along the light and density gradients, while the shrubs were distributed inside the plots, and the pods opened belonged to a specific host plant (Fig. 1). When performing an analysis at a given scale, the variables of interest were standardized given their mean and standard deviation at the coarser scale to filter out higher level effects. Other methods to filter out the effect of coarser scales (i.e. nested ANOVA and mixed general linear modelling with a random intercept for higher levels of nesting) were tested and gave similar results. For ease of reading standardized variables will be hereafter referred to as relative in-plots or relative in-shrubs variables depending on the level of standardization. To facilitate graphical presentation of the results, the shrubs were split into three light classes (shady, medium and full light classes) according to the distribution of the tertiles of their light index. Three density classes were also created by aggregating shrubs belonging to the De-1 and De-2 (low density) plots; De-3 and De-4 (medium density) plots; De-5 and De-6 (high density) plots. Individuals for which we had not been able to collect data from at least 15 pods were not used for analysis.

#### *2.6.1 Effect of predation inside the pod*

To check the preference of the female weevils to oviposit in pods with more seeds, the total original number of seeds was compared between pods attacked and not attacked by the weevil. The number of seeds inside the pods was standardized at the shrub level, and ANOVA was performed. In the case of infection by the moth, in most cases, the original number of seeds could not be estimated, and consequently no analysis was performed.

#### *2.6.2. Effect of predation on the shrub*

To estimate whether predators were attracted or satiated by large numbers of seeds on one shrub, we checked if the relationships between the number of pods infected on the plant and the total number of pods borne by the plant departed from linearity. Non-linear power relationships using least square regression ('nls' function in R software) were fitted following equation 1:  $At_i = a \cdot Pod_i^b + \varepsilon_i$  eqn 1

For the  $i^{th}$  shrub,  $At$  is the number of attack,  $Pod$  is the number of pods and  $\varepsilon$  is the residual error of the model.  $a$  and  $b$  are the model parameters. Values of  $b$  close to one indicate a linear relationship. If predators aggregate more (or conversely if they are satiated) on host plants with higher number of pods, the number of pods infected on the plant will show respectively a convex (value of  $b$  higher than 1) or concave (values of  $b$  lower than 1) relationship with the number of pods borne by the plant. To analyse the emergent effects of both predators, the total number of attacks of both predators was analysed in the same way.

To highlight possible interactions between the predators, the number of attacks by each predator was regressed against the number of pods available on the host plant once the pods attacked by the other predator had been removed (i.e. taking into account the depletion of oviposition sites caused by the other predator. The covariance of the predation rates of the two predators on the same individual shrubs) was also checked.

### 2.6.3. Effect of predation between plots

To check the effect of incident light and plant density on seed destruction, the variation in the pod predation rates of shrubs distributed in the different plots was analysed. Rank-based nonparametric multiple comparisons between all pairs of plots were performed using the 'nparcomp' package.

### 2.6.4. Sum of the effects of predation on seed production at all scales

Finally, the number of seeds produced by each shrub along the two gradients (i.e. the number of pods produced by a shrub multiplied by the mean number of seeds per pod (intact + damaged seeds)) was compared with the number of seeds dispersed after predation. The total predation rate of seeds for each individual shrub was calculated as the ratio of seeds dispersed to seeds produced by a shrub expressed in percent. The number of seeds dispersed was calculated according to equation 2.

$$SeedDisp_i = Pod_i \cdot SeedPod_i \cdot (1 - [PropExap_i \cdot SeedExap_i]) \cdot (1 - [PropCyd_i \cdot SeedCyd_i]) \quad eqn 2$$

For the  $i^{th}$  individual in the  $j^{th}$  plot,  $SeedDisp$  is the total number of seeds dispersed,  $Pod$  is the number of pods produced,  $SeedPod$  is the mean number of seeds per pod,  $PropExap$  and  $PropCyd$  are the proportion of pods infected respectively by the weevil and the moth,  $SeedExap$  and  $SeedCyd$  are the proportion of seeds destroyed inside pods respectively by the weevil and the moth.

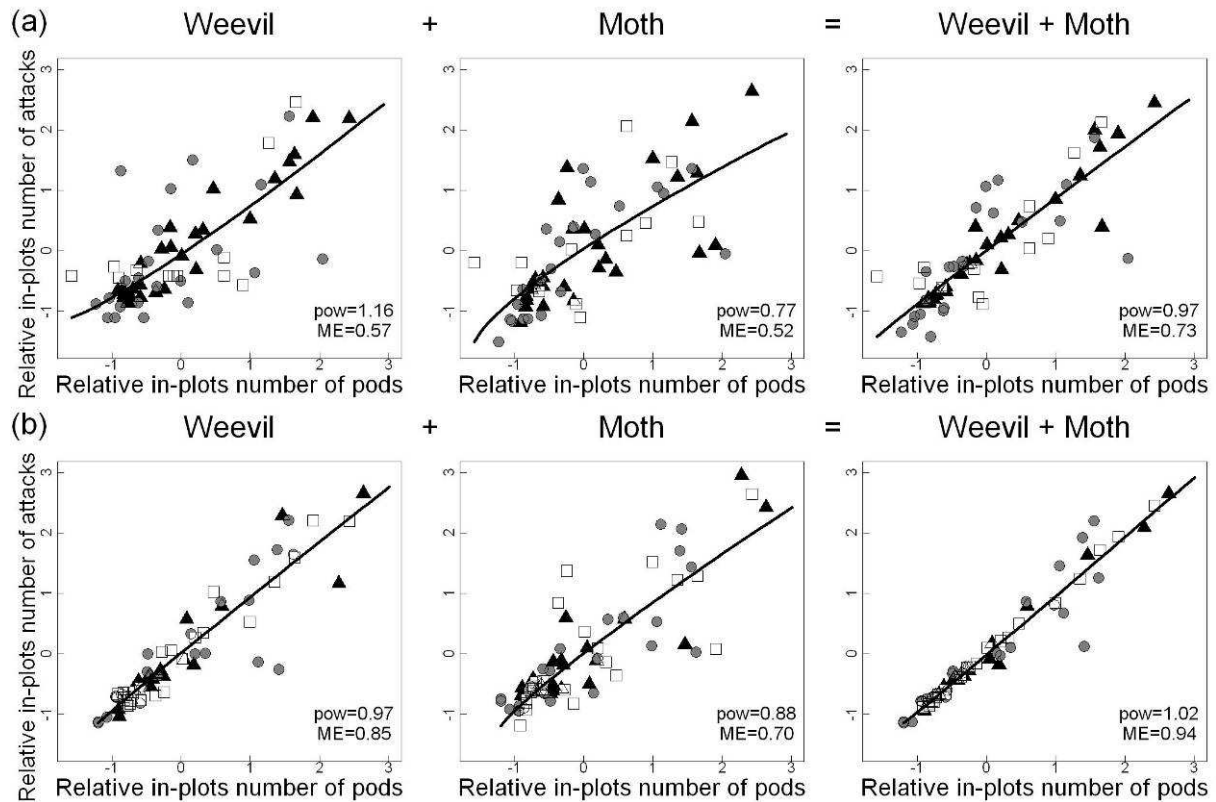


**Figure 3.** Relationships between the number of attacks by each predator or by the two predators and the number of pods borne by the host plant along the light (a) and density (b) gradients

In the bottom right hand corner of the plots, "pow" (for power) indicates the value of the parameter  $b$  of the models fitted according to equation (1), and the modelling efficiency (ME, i.e. the ratio of the sum of squares of the model residuals to that of the null model using the sample mean as a predictor) is given. The fitted relationships are represented by solid black lines.

In (a)  $\square$  is the shady class ( $N=12$  (30 – 2 operator errors – 16 shrubs which produced less than 15 pods)),  $\bullet$  is the medium light class ( $N=22$  (31 – 1 operator error – 8 shrubs which produced less than 15 pods)),  $\blacktriangle$  is the Full light class ( $N=29$  (31- 2 shrubs which produced less than 15 pods)). In (b)  $\square$  represents low density plots ( $N=24$ ),  $\bullet$  represents medium density plots ( $N=24$ ),  $\blacktriangle$  represents high density plots ( $N=23$  (24 – 1 operator error))



### 3. Results

#### 3.1. Effect of predation inside the pod

Pods with a higher number of seeds on a given shrub were always preferred by the female weevils to oviposit (Fig. 2). This result was consistent in both the light and density samples (Fig. 2a,b). The same result was observed in all the study plots (data not shown).

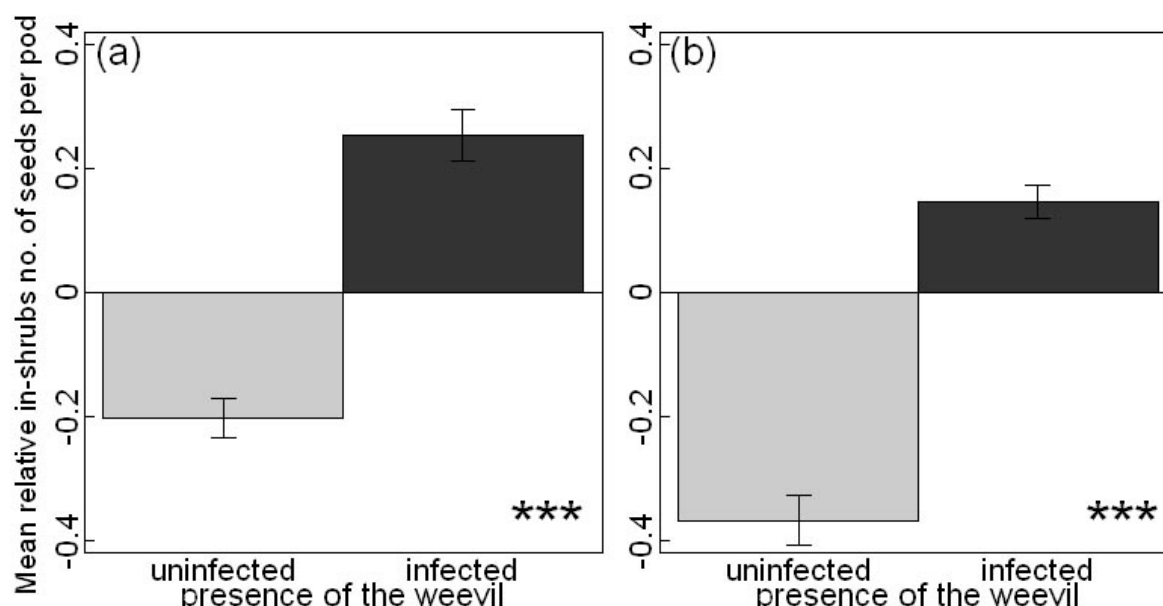


**Figure 2.** Preference of the female weevil for pods containing a higher number of seeds on the gorse shrub (scale 1) along the light (a) and density (b) gradients. Bars indicate the mean ( $\pm$  SE) of the relative in-shrub number of seeds per pod. Stars indicate the significance of the analysis of variance (\*\*\*,  $P < 0.001$ ).

#### 3.2. Effect of predation on the shrub

In the light gradient (Fig. 3a), the number of attacks by the weevil increased more than the number of pods borne by the host plant (power function with parameter  $b > 1$ ), while the number of attacks by the moth increased less than the number of pods ( $b < 1$ ). When considering the combined results of predation (weevil + moth), the number of attacks was proportional to the number of pods on the host plant ( $b \approx 1$ ), and the goodness of fit of the relationship was improved. The same pattern was observed along the density gradient (Fig. 3b), except that the number of attacks by the weevil was proportional to the number of pods on the host plant ( $b \approx 1$ ). The goodness of fit for the action of the two predators acting together was high (modelling efficiency,  $ME = 0.94$ ).

Along both gradients, for a given shrub, there was a negative covariance of the pod predation rates of the two predators (Fig. 4 a,b), i.e., within one sample plot, the highest rate of predation by one predator corresponded to the lowest predation rate by the other. In addition, along the light gradient (but not along the density gradient, see Fig. 4a,b) high predation rates of pods by the moth were found more frequently on less fecund shrubs, while host plants with many pods were subject to higher predation rates by the weevil. When considering the number of attacks by the moth, after taking into account the depletion of the oviposition sites by the weevil (Fig. 4 c,d), relationships were closer to linearity ( $b \approx 1$ ) and their goodness of fit was improved compared to Figure 3 (a,b), especially along the light gradient. Conversely, when considering the number of attacks by the weevil, taking into account the depletion of the oviposition sites available by the moth did not improve the relationships nor change their shape (data not shown).

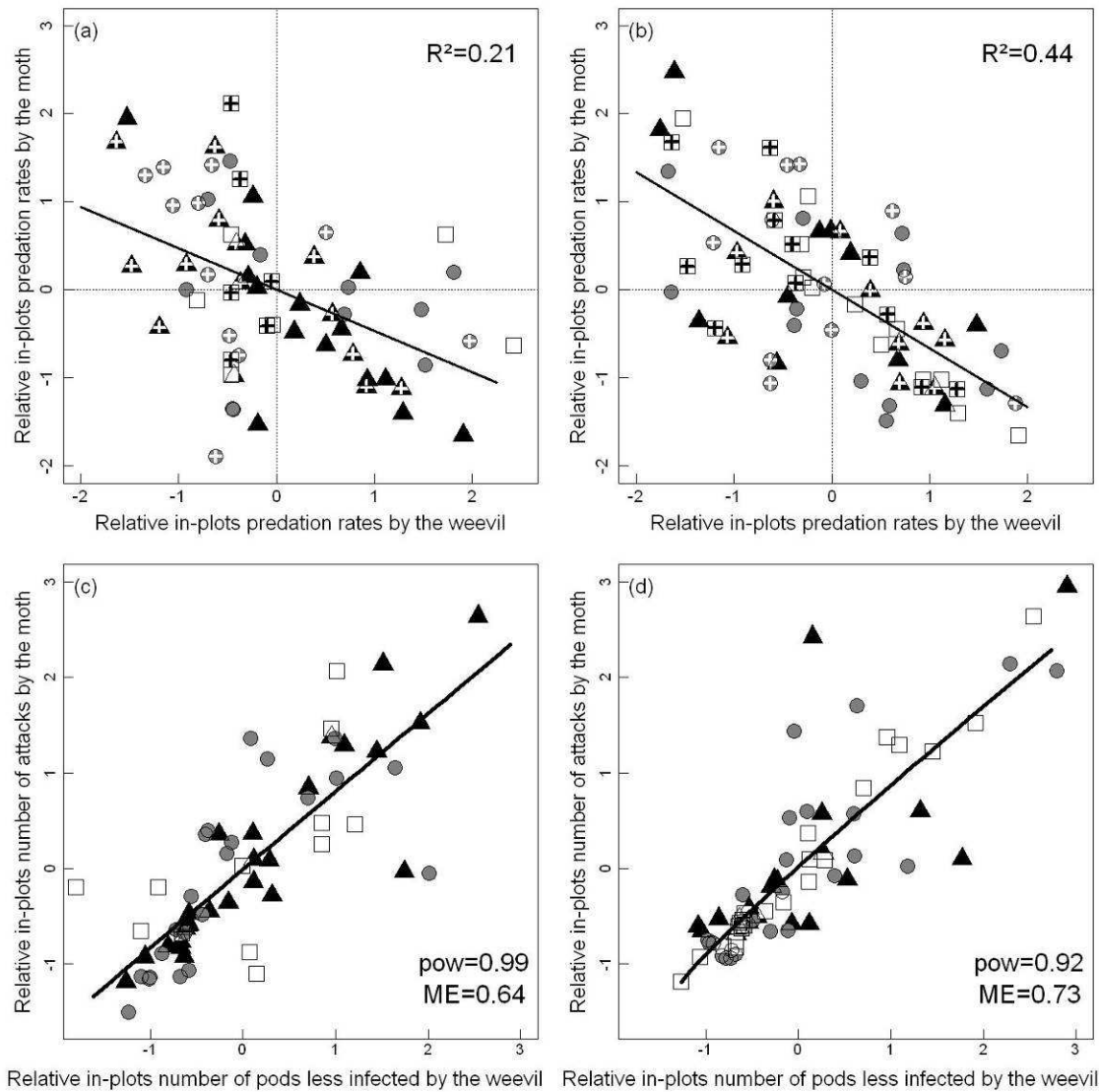


**Figure 4.** Interactions between the weevils and the moth ovipositing on the same gorse shrubs in the light (a, c) and density (b, d) samples

In (a, b), the covariance of the predation rates of pods is shown. Solid lines represent the fitted linear regressions which are highly significant ( $P<0.001$ ). Within a plot, the higher the relative pod predation rate of a given predator, the higher this rate compared to the mean of the plot, while negative values indicate rates below than the plot mean. The colour and shape of the symbols indicate the light or density classes to which they belong, the same as in Fig. 3. For each plot, shrubs with low fecundity (pod set below the median of the plot, symbols with mark) are distinguished from shrubs with high fecundity (pod set equal to or above the median, filled symbols).

In (c,d) the relationships between the number of attacks by the moth and the number of pods available for oviposition after deducting pods predated by the weevil are shown. Symbols and the legend are the same as in Fig. 3.

### 3.3. Effect of predation between plots

The rate of pod predation by weevils increased along the light gradient (Fig. 5a), while that of the moth was much more chaotic. It resulted in an irregular but significant decrease in the proportion of pods that escaped predation in the lightest plots. In the density sample (Fig. 5b), the ranking of the mean predation rates was the same for the low, medium and high density plots in both years, and the density plots are consequently grouped in pairs in Figure 5. The pod predation rate by the weevil was higher in the densest plots, whereas predation by the moth decreased along the density gradient. Thus a constant proportion of pods escaped predation between the densest and the least dense plots. In medium density plots, a decrease in the pod predation rate of the moth resulted in a moderate but significant increase in the proportion of pods that escaped predation.

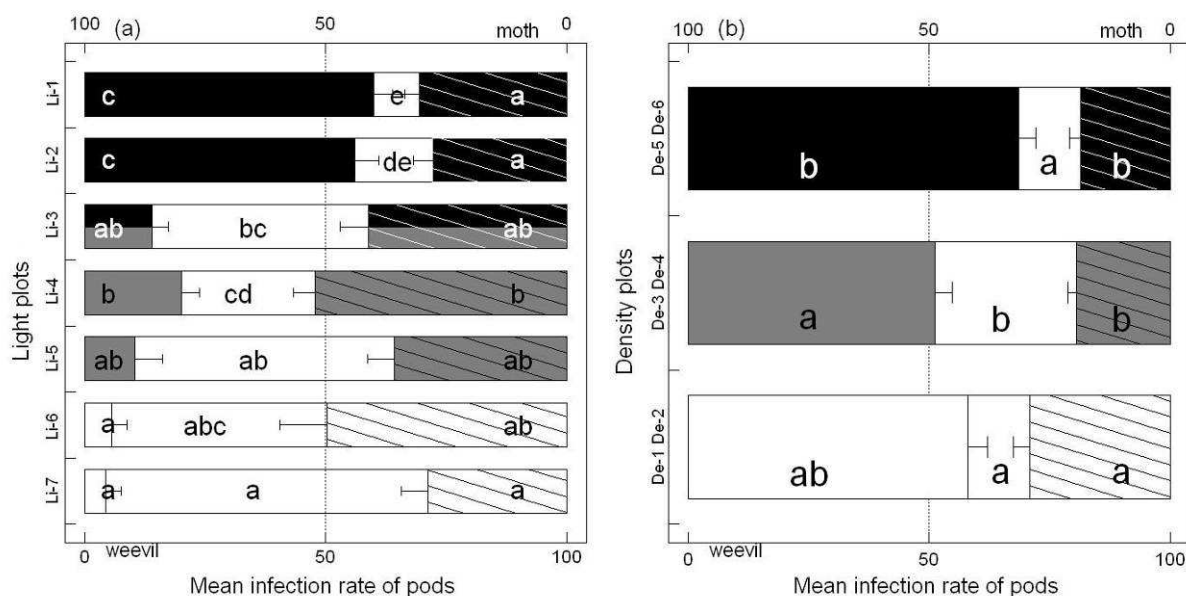


**Figure 5.** Variations in the predation rates of the two predators and in the proportion of pods that escaped predation among plots distributed along the light (a) and density (b) gradients. Plots are ranked in ascending order along the light gradient (from Li-1 to Li-7) and the density gradient (De 1 to De-6) (Li-8 could not be represented because only one individual produced more than 15 pods). Predation rate of pods by the weevil are shown on the left (see x axis at the bottom), those of the moth on the right (hatched rectangles, see the x axis at the top). Lines on the rectangles represent the standard error of the mean. The empty space between predation by the weevil and the moth represents the proportion of pods that escaped predation. Different lowercase letters indicate significant differences in the predation rate of pods by the predators or in the proportion of non-infected pods. N= 12, 12, 9, 10, 7, 5 and 8 individuals for the Li-1 to the Li-7 plot respectively. N=24, 24 and 22 individuals for the low, medium and high density plots (De-1 and De-2; De-3 and De-4; De-5 and De-6 plots respectively). Colours indicate the light and density classes of the shrubs distributed in the plots (the same as in Figs. 3 and 4).

### 3.4. Sum of the effects of predation on seed production at all scales

Both seed production by individual shrubs before predation and the number of seeds finally dispersed showed exponential relationships with light availability along the light gradients (Fig. 6a). The number of seed produced and dispersed thus increased considerably in the lightest plots. However the total predation rate of seeds also increased along the light gradient (Fig. 6c), thus the difference in the number of seeds finally dispersed between the lightest and shadiest plots was lower than when predation was not taken in to account (Fig. 6a).

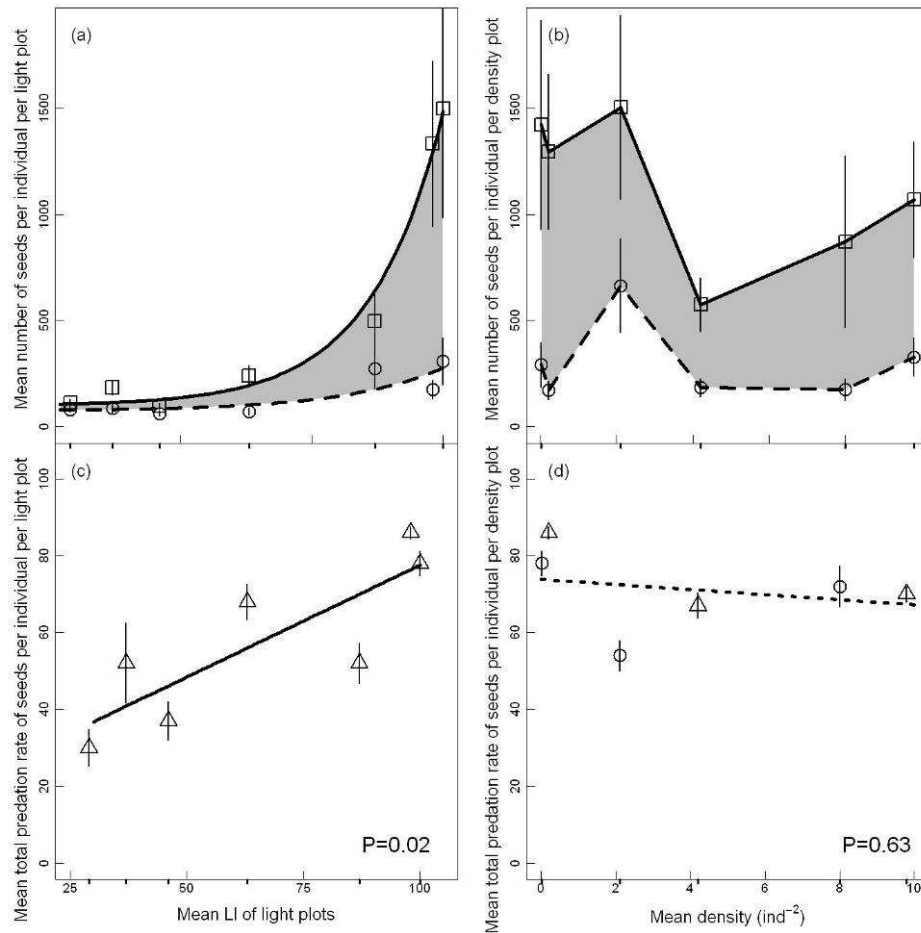


**Figure 6.** Sum of all the effects of predation on seed production along the light (a,c) and density (b,d) gradients

The positions of the plots along the light and density gradients are indicated by the darker vertical lines on the x axis. Li-7 is not represented as in Figure 5. The vertical lines crossing the squares, triangles or circles indicate the standard errors of the plots.

In (a,b) the mean number of seeds produced by individual bushes (before predation) is indicated by squares, the mean number of seeds dispersed (see equation 2) is indicated by circles. In (a) exponential relationships are fitted between the number of seeds produced (solid line) and dispersed (dotted line). In (b) the numbers of seeds produced and dispersed are linked respectively by solid and dotted straight lines but no relationships were fitted). In (a,b) the grey areas represent the effect of predation on seed production.

In (c,d), linear relationships between the mean proportion of seeds destroyed per plot and the mean light index of the plot (c) or the number of neighbours (d) in the plots are shown. P values of the slope parameters are given in the bottom right corner. A black solid line (significant slope) is shown in (c); a dotted line (non-significant slope) is shown in (d). In d) predation rates in the first year of the study (triangles) are distinguished from those in the second year (circles).

The mean seed production per individual before predation occurs tended to decrease slightly with an increase in the number of neighbours along the density gradient (Fig. 6b). But the total predation rate of seeds remained constant all along the density gradient (Fig. 6d) and the number of seeds produced and dispersed per individual shrub evolved in parallel (Fig. 6b). In low, medium and high density plots (all in the same forest stand) the values observed in 2011 were close to the values observed in 2010.

## 4. Discussion

From the pod to the plot scale, we found evidence that gorse seed predation is ubiquitous but not uniform along the light and density gradients studied, and that the factors influencing the degree of seed predation differed with respect to the two seed predators studied.

### 4.1. Effect of predation inside the pod

The results showing that the female weevil chose pods with a higher number of seeds to oviposit are in agreement with those of Hoddle (1991) and of Barat et al. (2007), who already suggested that the oviposition strategy of this species is consistent with the preference-performance hypothesis. The size of the pod, which is linked to the number of seeds it contains, could play a determining role in the female's choice (Hornoy, 2012). Gripenberg et al (2010) showed that a preference-performance relationship is likely when the female feeds and oviposits on the same host plant (fewer contradictory choices to make), when the larva is strictly sessile (e.g. the weevil larva is trapped inside the pod) and when the female lays batches of eggs (one oviposition in a low quality site results in the loss of many eggs). Therefore the "weevil-gorse" system identified in the present study clearly supports previous works on the subject. It was not possible to analyse the behaviour of the moth with respect to the number of seeds per pod.

### 4.2. Effect of predation on the shrub

Considering the **weevil**, in the *light plots*, the number of attacks increased more than the number of pods borne by the host plant. This is consistent with the results of Moravie et al (2006), who showed an aggregation of another Apionidae (*Apion onoropodi*) with limited dispersal ability, on high quality patches. However, in the *density plots*, weevil attacks showed a linear relationship with the number of pods. In intermediate and high density plots, individual plants grow close to one another and their branches are often intertwined. Therefore the quality of the different patches available may not be detected by the females at the individual plant scale, but rather at the plot scale. The increase in the predation rates in the highest density plots is consistent with this interpretation. These results disagree with those obtained in a previous study which showed a decrease in the rate of pod predation by weevils with an increase in pod density on gorse shoots (2010). However this previous study used a different variable and scale: the number of pods produced per shoot, which might explain the discrepancy.

In both gradients, the number of attacks by **the moth** increased less than the number of pods borne by the host plant. This could imply that the ability of the female moth to oviposit was satiated when the number of pods on a given shrub increased.

Considering the **sum of attacks by the two predators**, a strong linear fit with the number of pods of the shrubs emerged. This may result from interactions between the two predators, as discussed in the following paragraph.

Three non-exclusive explanations are possible for the negative covariance of the predation rates of pods of the two predators on the same plant. They concern: 1) the consequence of the respective attraction and satiation of the weevil and the moth when the number of pods borne by the host plant increased as discussed above; 2) a limited number of available oviposition sites when both predators are abundant; 3) a preference of the female to oviposit where the other predator is rare.

The *first explanation* is supported by the results in the light plots, where more fecund plants were subject to higher predation rates by the weevil and to lower predation rates by the moth (Fig. 4a). However, this does not explain the covariance observed in the dense plots (Fig 4b). In these plots, where the total level of predation was high, a higher predation rate by one predator implied a lower rate by the other on the same plant; otherwise their sum would have exceeded 100%. In addition, low predation rates by the two predators were very unlikely. Thus the negative covariation observed in Fig. 4b follows the only possible distribution in

such a context (*second explanation*). In addition, in cases where the proportion of pods that escaped predation was high (e.g. the medium light plots, see Fig 5a), both predation rates could be high (relative to those found in the plot), and uninfected pods could still be available. Thus the simultaneously higher or lower relative predation rate of the two predators was expected, at least in some cases. However the negative covariance was strictly maintained. This suggests that predators forage preferentially where the other predator is absent (*third explanation*).

Indeed, after depletion of the oviposition sites by the weevil, the distribution of the number of attacks by the moth became more linear and the modelling efficiency was improved. Hoddle (1991) suggested that female weevils leave allelochemical compounds on the pods when ovipositing, thus directing conspecifics towards pods that are free of weevil eggs. Moreover, Hornoy (2012) showed that gorse shrubs produce alkaloids in shoots and pods, and that they have a repulsive action on the weevil, whereas they do not influence the oviposition behaviour of the moth. All these factors may contribute to the contrasted choice of oviposition sites by the two predators. Finally, Gourlay et al. (2003) found that predation of seeds by the weevil increased in the absence of the moth, which also suggests that the moth itself reduces the activity of the weevil to a certain extent. Whatever the mechanisms involved, the emergent effect of joint oviposition by the two predators was that, at the shrub level, the pod predation rates compensated for each other, and the total number of attacks finally matched the quantity of pods of the host plant.

#### 4.3. Effect of predation between plots

Along the *density gradients*, the results showed that the number of attacks by the weevils increased more than the number of pods available in the plot, while the number of attacks by the moth decreased. This is consistent with the observations made at the shrub scale.

Along the *light gradient*, the increase in the predation rates of pods by the weevil is consistent with the results of several other studies showing the preference of weevil species for good lighting conditions (e.g. Hough-Goldstein and LaCoss, 2012; Major et al., 2009). The foraging ability of many insects in the forest understory is known to be related to light availability and all associated microclimate variations (Herrera, 1995). Hornoy (2012) found a similar preference for gorse shrubs in good lighting conditions in an experimental garden, and showed that the flight activity of the gorse seed weevil is influenced by warmer temperatures. However a higher number of weevils in light plots (Li-1 and Li-2) could also result from their preference for plots with a high density of shrubs (the density gradient was in the same forest stand). These two explanations are not exclusive and may reinforce the phenomenon. Indeed, gorse shrubs are expected to be abundant in habitats with high light availability, and to be more sparse in the shade.

The distribution of the moth did not appear to be linked with light availability. As the moth flies towards the sunset, it may not be sensitive to the modification of the lighting and related changes in the abiotic environment. In addition, it may be less influenced by the density of gorse populations because its life cycle involves other species than gorse in autumn, and because it may be able to fly long distances.

#### 4.4. Sum of the effects of predation on seed production and implications for biological control

The degree of predation was similar in 2010 and 2011 (Fig. 6d). At the pod scale, the variation in the proportion of seeds destroyed by predation was small along both gradients (Supplementary material 1). At the shrub scale, in all plots, the rate of pod predation by each predator compensated for the other. Therefore the key determinant of the outcome of predation encountered by a gorse shrub in this study is the plot in which it grows.

In practice, because little variation was found in the proportion of pods that escaped predation between density plots, no relationship appeared between the total predation rate of seeds and the density gradient. This gradient was built in a single forest stand, so general conclusions

cannot be drawn. However, a high level of predation is likely to occur where dense populations of gorse and high seed production exist together. In this study, the activity of the weevil did not appear to be influenced by the activity of the moth. Even when the moth appeared to suppress the activity of the weevil, in Gourlay et al. (2003), the result of predation was higher in case of the joint presence of the predators. Therefore, in invasive context, where both predators are present, biological control may succeed in restraining the abundant production of seeds in spring in dense gorse areas.

Along the light gradient, the reproductive output of gorse was low in the shade, but the corresponding level of predation was also low. Indeed at the limit of a species' habitat, abundance and reproduction of the species is known to decrease along with seed predation by granivorous species (Alexander et al., 2007; Vaupel and Matthies, 2012). The consequence is that the small quantity of seeds produced in the shade has a higher probability of being dispersed. Gorse benefits from disturbances to establish itself in the pioneer phase of succession (e.g. Rees and Hill, 2001). The maintenance of seed production at the limit of the species' habitat increases the area of soil in the environment with a gorse seed bank, which has long dormancy and viability (Hill et al., 2001). Thus if a disturbance occurs at a given location, the probability that the gorse seed bank is not empty at this location increases. When new individuals are recruited, they may establish a new population locally or even develop a new invasive front since invasion can progress from scattered populations comprising few individuals (Moody and Mack, 1988; Shigesada et al., 1995). The successful establishment of the moth in invasive regions may thus be particularly important because it seems constantly present along the two natural gradients studied here, and this could help control seed production at the limit of gorse's habitat.

## **5. Conclusions**

At all the scales studied, the weevil was more active where the number of seeds was higher (preference for pods with many seeds, higher predation rates of pods on more fecund gorse shrubs, and an increase in the average predation rates of pods in dense plots). The regulation of the activity of the moth across scales and along the gradients studied was less clear and much more chaotic. However the activity of the moth appeared to be complementary to that of the weevil. The moth was able to forage in plots where the weevil was rare (i.e. in shady environments). When the weevil was abundant, the moth appeared to forage on pods left uninfected by the weevil.

Gorse is known to escape predation over time thanks to its variable fruiting phenology. It might also escape predation in space at the limit of its habitat. In many weed control programmes, the objective is not to eradicate the weed, but rather to control its expansion. To this end, the moth could play a distinct role in helping to control seed production, especially in shady habitats.

## **Acknowledgments**

We are very grateful to Richard L. Hill for proof reading this article and for his help in improving it. We thank Mr. Jean Michel Beau from the French Forest National Office (ONF) and Mr. Castagnet for allowing us access to additional sampling sites. We are grateful to the INRA- UE570 Forêt Pierroton and UMR1202 BIOGECO teams, especially Laurent Severin, Luc Puzos and Celine Meredieu for their help in identifying suitable sites and for their support in the field. Finally we also thank Mark Hoddle for explanations about the reproductive biology of the gorse seed weevil.

**Table S1.** Differences in the proportion of seeds destroyed inside pods by both predators along the light and density gradients

|                | Proportion of seeds destroyed inside pods   |                         |     |                       |    |                         |
|----------------|---------------------------------------------|-------------------------|-----|-----------------------|----|-------------------------|
|                | Plot                                        | The Weevil<br>Mean ± SE |     | The Moth<br>Mean ± SE |    | Mean Weevil / Mean Moth |
| Light sample   | Li-7                                        | 79.2 ± 1.4              | ac  | 90.8 ± 2.8            | ab | 0.87                    |
|                | Li-6                                        | 83.7 ± 6.0              | ac  | 94.9 ± 1.2            | bc | 0.88                    |
|                | Li-5                                        | 62.0 ± 10.3             | a   | 85.5 ± 3.6            | a  | 0.73                    |
|                | Li-4                                        | 85.9 ± 3.3              | ac  | 96.4 ± 1.3            | bc | 0.89                    |
|                | Li-3                                        | 84.1 ± 2.7              | ab  | 96.8 ± 0.9            | bc | 0.87                    |
|                | Li-2                                        | 92.5 ± 1.2              | c   | 98.1 ± 1.1            | c  | 0.94                    |
|                | Li-1                                        | 90.7 ± 1.3              | c   | 97.5 ± 1.0            | bc | 0.93                    |
|                | Average per gorse shrub in the whole sample | 85.8 ± 6.8              |     | 95.8 ± 3.3            |    | 0.90                    |
| Density sample | De-1                                        | 92.6 ± 1.2              | c   | 98.1 ± 1.1            | b  | 0.94                    |
|                | De-2                                        | 90.8 ± 1.2              | bc  | 97.5 ± 1.0            | b  | 0.93                    |
|                | De-3                                        | 77.9 ± 1.9              | a   | 96.3 ± 1.3            | ab | 0.81                    |
|                | De-4                                        | 83.8 ± 2.0              | abc | 98.1 ± 1.0            | b  | 0.85                    |
|                | De-5                                        | 86.1 ± 1.6              | b   | 100.0 ± 0.0           | b  | 0.86                    |
|                | De-6                                        | 75.8 ± 1.8              | a   | 92.0 ± 2.2            | a  | 0.82                    |
|                | Average per gorse shrub in the whole sample | 82.9 ± 1.6              |     | 97.1 ± 2.5            |    | 0.85                    |

Different lowercase letters indicate significant difference in the mean proportion of seeds destroyed (nonparametric multiple comparisons tests)



**Supplementary material 1.** Supplementary question: Is the proportion of seeds destroyed inside the pod the same between predators and plots?

From the estimations of the number of seeds let intact and damaged inside pods by each of predators in case of infection, we determinate the proportion of seeds destroyed inside pods (the number of seeds destroyed / (number of seeds destroyed + intact); 0-100%) by each predator. When no intact seed remained in the pod, the proportion of seeds destroyed was set to 100% even if we could not determine the number of seeds destroyed (e.g. in many pods infected by the moth).

When comparing the predation rates of pods by each predator on a given shrub, or between different shrubs distributed in different plots, one should have assurance that attacks by both predators are substitutive, i.e they lead to a similar proportion of seeds destroyed inside the pod (Schmitz, 2007). In addition, this proportion of seeds destroyed inside pods by a given predator must be stable over the whole gradients studied; otherwise predation by this predator could have different impacts on seed production at a particular position in the gradient.

The proportions of seeds destroyed inside pods between predators and plots were transformed before statistical analysis using the logit function following Warton and Hui (2011). Then we performed nested ANOVA to test for the effect of the predator on the explained variable (taking into account the variance due to the belonging to a given shrub and plot), and pair-wised multiple comparisons between pairs of plots.

#### *Results (See Table S1)*

Differences in the proportion of seeds destroyed inside pods by the different predators on a given shrub were highly significant ( $P < 0,001$ , nested ANOVA) in both gradients. However the proportion destroyed by the weevil consistently represented 85 to 90% of that of the moth. The damage of predation by each predator showed significant differences between the plots of the two gradients (Table 3). Differences were more pronounced for the weevil which showed a smaller proportion of seeds destroyed in one light plot (Li-5) and a higher proportion of seed destruction in Li-1 and Li-2 (which are equivalent to De-1 and De-2). However, the proportions of seeds destroyed were always high, mainly between 75 and 90 % in all plots for the weevil (except Li-5), and higher than 90 % for the moth.

#### *Conclusion*

We found evidence that the proportion of seeds destroyed by the weevils were lesser than those destroyed by the moth in both gradients. In addition we found some variation of this proportion for each predator between sampled plots. However the relative changes were small, for example the ratio of the proportion of seeds destroyed inside pods by the weevil: the proportion of seed destroyed inside pods by the moth was approximately 90% in all plots. Therefore both kinds of attacks are mostly substitutive between predators and between plots, and the direct comparison of the predation rate of pods of both predators at coarser scale seems rational.



## C. Spatiotemporal variability of the recruitment of a leguminous shrub: Revisiting the regeneration niche of Grubb through Hutchinson's prism

---



A gauche: plantules d'ajoncs sans végétation voisine. A droite plantules d'ajoncs en présence de molinie.

Ce chapitre correspond à un manuscrit qui sera soumis prochainement.

### Résumé

Les facteurs susceptibles de faire varier l'émergence et le développement des plantules sont nombreux, et variables à des échelles spatiotemporelles fines. Cela pourrait expliquer la difficulté à identifier des niches de régénération dans des habitats ou micro-habitats spécifiques au sein d'une communauté végétale. L'objectif premier de cette étude est de caractériser la niche de régénération d'un arbuste ligneux fixateur d'azote, l'ajonc d'Europe, en particulier la phase de recrutement de nouveaux individus depuis le stock de graines.

Un suivi est fait en conditions naturelles, deux années successives, au sein d'une parcelle où sont croisées l'application d'un semis de graines et une fertilisation en phosphore. L'environnement proche des graines et plantules a été caractérisé avec une échelle décimétrique, 5 à 6 fois par an. Cette caractérisation prend en compte le microrelief ainsi que le développement de la végétation herbacée.

Les résultats indiquent que le microrelief, les interactions biotiques avec le reste de la végétation, et la disponibilité en phosphore influencent le recrutement de nouveaux individus. Mais ces effets sont dépendants des variations climatiques saisonnières. En un même endroit se succèdent des périodes favorables et défavorables pour la régénération, et aucun habitat n'apparaît comme correspondant à la niche de régénération de l'espèce.

La niche écologique telle que définie par Hutchinson permet de proposer une interprétation cohérente de la variabilité observée. Si l'espèce possède une niche fondamentale de régénération bien définie, sa réalisation peut être fortement variable dans le temps et l'espace. Cette dualité de la niche de régénération pourrait expliquer la difficulté à identifier des niches de régénération dans des habitats distincts. Différentes espèces ligneuses, avec différentes niches fondamentales de régénération, pourraient se régénérer en un même habitat selon l'occurrence de périodes qui leur sont plus ou moins favorables (*'storage theory'*). Des probabilités de recrutement peu différenciées pourraient aussi émerger (modèle neutraliste).

## Abstract

Many ecological factors are able to impact the emergence and development of seedlings, and they can vary at very fine spatiotemporal scales. This variability may explain the difficulty to identify distinct regeneration niches in specific habitat or micro-habitats for different species in a given community. The main goal of this study is to characterise the regeneration niche of a leguminous shrub, *Ulex europaeus*, regarding recruitments of new plants from seeds. A monitoring of seedlings emergence, survival and growth was made in natural conditions, during two successive years, in an area where two treatments were crossed: sowing of seeds and P fertilisation. The close environment of seeds and seedlings was characterised at decimetric scales, 5 to 6 times per year. It took into account microtopography and herbaceous vegetation development. Results showed that microtopography, biotic interactions and availability in P impacted recruitment of new plants. However, these effects were dependant on seasonal climatic variations. In a given location, periods favourable and unfavourable for recruitment followed one other, and no specific habitat appeared to correspond to the regeneration niche of the species. The definition of the ecological niche by Hutchinson helped propose a rational explanation for the observed variability. The species is likely to have a well defined fundamental niche of regeneration, its realisation in the physical space may show high variability in space and time. This duality of the regeneration niche helps explain the difficulty to distinguish different regeneration niches in distinct habitats. Different species, with different fundamental niche of regeneration may regenerate in the same habitat given the occurrence of period more or less favourable for them (storage theory), and small difference in their probability to recruit may emerge (neutralism).

## Introduction

The existence of different ecological niches for woody species with close functional type and that maintains their coexistence within a community is a key issue in modern ecology of plants (Kraft et al., 2008; Rosindell et al., 2011). The difficulty to identify different niches at the established phase led to the proposition of a niche specific to the regeneration phase (Grubb, 1977; Nakashizuka, 2001). Indeed, regeneration strategies are of prime importance in woody species life histories. It plays a distinct role in their dynamic of population, and consequently on assemblage of woody species in forest ecosystems (Ribbens et al., 1994). Particularly juvenile stages can have very specific requirements, different from those of adults (Grime, 2001), i.e. they can have specific ecological niches (Eriksson, 2002).

Success of the recruitment of a new mature plant in a community requires first that seeds were provided by dispersal from adults (Pulliam, 2000). Then, 'safe site', where requirements for germination and successful establishment of the new plant are met (Harper, 1977; Uriarte et al., 2010), must be available in this community. Important uncoupling can be observed between dispersal and recruitment of new individuals (Herrera et al., 1994; Houle, 1998) because environmental conditions can strongly impact seedlings establishment from the seedbank (Clark et al., 1998). In addition to the role of dispersal in the regeneration process, identification of interspecific differences in regards of seedling emergence and development is an important part of the studies about regeneration niches, particularly in the context of gap opening (Denslow, 1987; Wright, 2002).

Characterisation of regeneration niches is frequently made on the basis of distinct habitat or micro-habitats, e.g. census made within quadrats of 1 m<sup>2</sup>, distributed along a transect between the centre and the periphery of a gap, along a topographic gradient, on different kind of substrate (e.g. Beckage and Clark, 2003; Shibata and Nakashizuka, 1995; Sipe and Bazzaz, 1995; Streng et al., 1989). However, high variability is often observed within each habitat, and may be even stronger than variability between habitats. Nevertheless, some studies succeeded in the identification of distinct regeneration niches. In particular, these studies were focused in the development of seedlings: 1) whose surrounding environment was characterised at fine spatial scale, or measured at their exact position (e.g. Christie and Armesto, 2003; Laurans et al., 2012; Powers et al., 2008), or 2) belonging to species light

demanding and shade tolerant, functionally dissimilar (e.g. Masaki et al., 1992; Hunziker and Brang, 2005; Van Couwenberghe et al., 2010).

In its definition of the regeneration niche, Grubb (1977) partly relied upon the definition of the ecological niche by Hutchinson (Colwell and Rangel, 2009; Hutchinson, 1957). He stated that it can be important to distinguish between a potential niche (i.e. the *fundamental niche sensu* Hutchinson), and a realised niche, depending partly upon the presence of competitors. This distinction may imply that the realised niche shows important variations in space and time, as supported by the well known spatiotemporal variability of woody species recruitment (e.g. Quero et al., 2011). However recruitment appears to be strongly stochastic (Beckage and Clark, 2003; Beckage et al., 2005), and the ecological determinism of this variability (i.e. the identification of the ecological factors responsible for this variability) is much less clear, as no general pictures emerge from the conclusions of studies dedicated to this topic (e.g. Streng et al., 1989).

Many ecological factors may influence seedling emergence and development. First, the texture and microtopography of the topsoil generate variations of moisture at spatial scale that can be centimetric, and that impact germination (Battaglia and Reid, 1993; Harper, 1977; Hartgerink and Bazzaz, 1984). In addition, root system of young seedlings is superficial, and micro-variations of fertility or moisture in the topsoil can strongly impact the success of recruitment (e.g. Hartgerink and Bazzaz, 1984; Herrera, 2002). Moreover, vegetation that is already present when a new seedling appears may decrease or increase its survival, when competitive or facilitative interactions dominate respectively. In case of severe abiotic stress, facilitation is likely to be more important (Brooker et al., 2008; Callaway and Walker, 1997). De la Cruz et al. (2008) showed that these interactions may change sharply, in a few weeks, that they depend on the distance between interacting plants, and that they may occur at decimetric scales. In particular, the fate of the seedlings depends on meteorological conditions and vegetation development at the time of their emergence (De Luis et al., 2008). Consequently, sensibility of seeds and seedlings to variation in their environment, and their 'perception' of these changes at small scales in space and time may be responsible for the difficulty to identify distinct regeneration niches in specific habitats.

Furthermore, when the interest is on the regeneration of a leguminous species, the availability of nutrients, particularly in phosphorus, may be an important ecological factor of its regeneration niche. Indeed, limitation in phosphorus has long been recognized to limit symbiotic nitrogen fixation (Graham and Rosas, 1979; Vitousek et al., 2002), and nodulation of young seedlings may be limited by shortage in phosphorus (Marschner, 1995). Consequently, in case of good availability in phosphorus, the probability of success of a new seedling may be enhanced by 1) an increase of growth and 2) an improvement of the establishment and running of the symbiosis.

The main goal of this study was to characterise the regeneration niche of a leguminous shrub, the common gorse (*Ulex europaeus* L.), regarding emergence and development of seedlings. More precisely, we aimed to determine if the regeneration of the species was highly variable in space and time, or on the contrary if regeneration was constantly enhanced in a specific kind of habitat. Then, an explanation of the observed results is given, based upon the proposition of the different ecological factors that could have contributed to the regeneration of the species. Secondly, the importance of the availability of phosphorus for the regeneration of the species was evaluated.

The study was made in a forest stand, in the South-West of France. To avoid possible limitation of recruitment by seed dispersal, part of the study area was sown with gorse seeds. Monitoring of emergence, survival and growth of seedlings have been done regularly during two successive years. The microtopography and vegetation development surrounding each new seedling were characterised with a fine spatial scale. Part of the stand was also fertilised in phosphorus. The effect of fertilisation on seedlings development and on the symbiotic nitrogen fixation was assessed.

## Material and Methods

### *Region of the study*

This study was done from May 2010 to April 2012 in the planted forest of maritime pine of the 'Landes de Gascogne'. In the region, soils are mainly acidic podzols, with low nutrient content (particularly low phosphorus content) and fertility (Achat et al., 2009; Augusto et al., 2010). Plant growth in the region is mainly limited by phosphorus availability (Trichet et al., 2009). The climate is temperate-oceanic, with about 900 mm of rainfall recorded annually the last 30 years. Rainfall is distributed throughout the year, however precipitation is much lower in summer (source INRA-Aquitaine).

### *The model species*

Common gorse is a sempervirent leguminous shrub, native from the European Atlantic coast. (Clements et al., 2001). It is a light demanding species. Thus, it is more present in the pioneer phase of the forest cycle in the region. And its fecundity is high in full light conditions (Delerue et al., 2013), with a production of numerous seeds of about 3 mm of diameter. Seeds develop inside pods that explode at dehiscence (autochory). They are dispersed locally, and rarely reach distance farther than 2.5 m from the parent plant (Hill et al., 1996). Dispersed seeds form a persistent seed bank, that can remain dormant during many years (Hill et al., 2001). Seeds located in the first five centimetres of the topsoil can germinate and emerge at the surface (Rees and Hill, 2001). Germination is opportunistic and can occur throughout the whole year (except in winter), and is favoured by warm and wet periods (Ivens, 1982). Young seedlings are sensible to interspecific competition (Ivens and Mlowe, 1980). Even though mature gorse plants are light demanding, strong shade tolerance has been shown at the seedling stage (Valladares et al., 2003).

### *Experimental design*

**The stand.** The study was made during two years in a stand of 225 m of length for 30 m of width (44.73°N, 0.73°W), after a clear cut and soil ploughing. A sample of the seedbank in the 0 to 5 cm of the soil showed that its mean density was approximately 50 seeds.m<sup>-2</sup> (from 90 samples throughout the stand, unpublished data), which is low compared to densities in the region (Gonzalez et al., 2010). After the clear cut, the colonisation of the stand by the vegetation occurred during the course of the study. Dominant species were herbaceous, mainly purple moor grass (*Molinia caerulea*). This herbaceous vegetation formed approximately 90 % of the aerial vegetation biomass at the end of the first year of the study (i.e. 145 g.m<sup>-2</sup>, calculated from the measurement of the phytovolume of the vegetation, converted into biomass following Gonzalez et al.(2013)). Daily rainfall and mean temperature were recorded in a station nearby, distant by three kilometres from the site of the study.

**The treatments.** Two treatments were applied after the clear cut and repeated in three blocs that split the stand lengthwise. Each treatment had two levels that are crossed in each bloc: 1) fertilisation in inorganic phosphate (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 0 or 160 kg.ha<sup>-1</sup>); 2) sowing in gorse seeds (0 or 100 gr.m<sup>-2</sup>). The sowing was made by hand from a mix of seeds and white sand to control the homogeneity of the sowing, before a light burying of seeds with a harrow.

**The quadrats.** Emergence and development of gorse seedlings were monitored within quadrats of 1m<sup>2</sup>, evenly shared between the different treatments. In each bloc, 12 quadrats were located in fertilised areas (including 6 in sown areas), and 12 in unfertilised areas (also including 6 in sown areas), i.e. a total of 72 quadrats composed the full sample.

The stand where the study was done is also dedicated to the long term monitoring of interactions between pines and gorse, aim that does not fall within the scope of the present study. Consequently, in each bloc 1) rows of pine seedlings were planted after the clear cut on two third of the area, spaced by 4 meters, 2) in areas without pines, 6 quadrats were evenly distributed along the length of the stand, and 3) in areas with pines, 9 quadrats were located in the center of the space between rows, and 9 other were located close to rows of pines. However, pines' growth was small during the course of the study (mean height of pines of 44

and 75 cm the first and second year of the study respectively), and no significant effect was found between the location of the quadrats in regards of the rows of pines and the different dependant variables presented in this study (results not shown). Results developed in this paper only concern the distribution of the quadrats regarding the two treatments of fertilisation and sowing of seeds.

**Monitoring of the emergence and development of seedlings.** During the two years of the study, seasonal variation of recruitment was observed each  $50 \pm 5$  days, except during winter, given a total of 12 monitorings. At each date of observation, the position of a new seedling in a quadrat was recorded, considering a hundred of squared cells each 10 cm in size in the quadrat (each cell has two coordinates x and y from 1 to 10). Absence of seedlings that were observed before is sign of death, otherwise the length of the longest twig was noted to monitor the growth of the seedlings.

### **The end of the regenerative phase and the success of the recruitment**

In many studies regarding regeneration of woody plants, the distinction between seedlings and mature plants rely upon a size threshold which appear somewhat arbitrary (e.g. Beckage et al., 2005; Christie and Armesto, 2003). Clear determination of the end of the regenerative phase can be a critical issue when studying the regeneration niche. In this study, we tried to determine an objective criterion of recruitment success based upon: 1) a size threshold from which the number of death events observed was almost zero, 2) a size threshold from which growth rates of gorse plants increased sharply, and 3) the measurement of the mean height of the herbaceous layer in the stand, as an indicator of the height to reach by gorse plants to get a better access to light. Finally we considered that plants that reached 12 cm of length were successfully recruited (Supplementary material S1).

### **Phosphorus fertilisation and symbiotic nitrogen fixation by gorse seedlings.**

To measure the impact of phosphorus fertilisation on symbiotic nitrogen fixation by gorse seedlings, each year we harvested an additional sample of seedlings (aerial parts), that were located outside the quadrats of observation. According to McLaughlin et al. (1990), if a deficiency in phosphorus limit the proportion of nitrogen derived from atmosphere ( $\%N_{dfa}$ ) fixed by a leguminous plant, it should result in lower N and P content in the plant tissues. Thus, we measured the contents of N and P in these samples, as well as their  $\%N_{dfa}$ .  $\%N_{dfa}$  determination was done thanks to the homogenous spray of labelled  $^{15}NH_4Cl$  after soil preparation and following the  $^{15}N$  isotopic dilution method (Oberson et al., 2007). More details about  $\%N_{dfa}$ , N and P content determination are given in supplementary S2.

The first year, three classes of size for gorse seedlings were determined from the distribution of the tertiles of the length of all seedlings in the quadrats of observation, at the end of vegetation growth in autumn ('C1': 0-6'cm; 'C2': 6.1-16 cm, 'C3': > 16 cm). In each block, three samples of each class of size were harvested respectively in fertilised and control areas, i.e a total of 54 gorse plants sampled (and an equivalent number of non legume plants). In 2011, the same protocol was followed, except that we added a fourth class, to take into consideration the likely evolution of the  $\%N_{dfa}$  for plants that had grown higher ('C4': > 47 cm, percentile 90 at the autumn 2011), i.e. a total of 72 samples.

### **fine-scale characterisation of the environment.**

*The microtopography.* It was characterised with a table placed horizontally in alignment with the quadrats, with holes at the precise location of each centre of the hundred cells of the quadrat. The distance (cm) between the table and the soil was measured with a graduated stick for 36 of the 100 cells (at the intersection of the x and y coordinates 1, 3, 5, 6, 8 and 10). For non measured-cells, the distance between the table and the soil was calculated as the mean of the measured neighbouring cells. For each quadrat, all distances were zero-centred to obtain the relative elevation of each cell within the quadrat. Then this relative elevation was

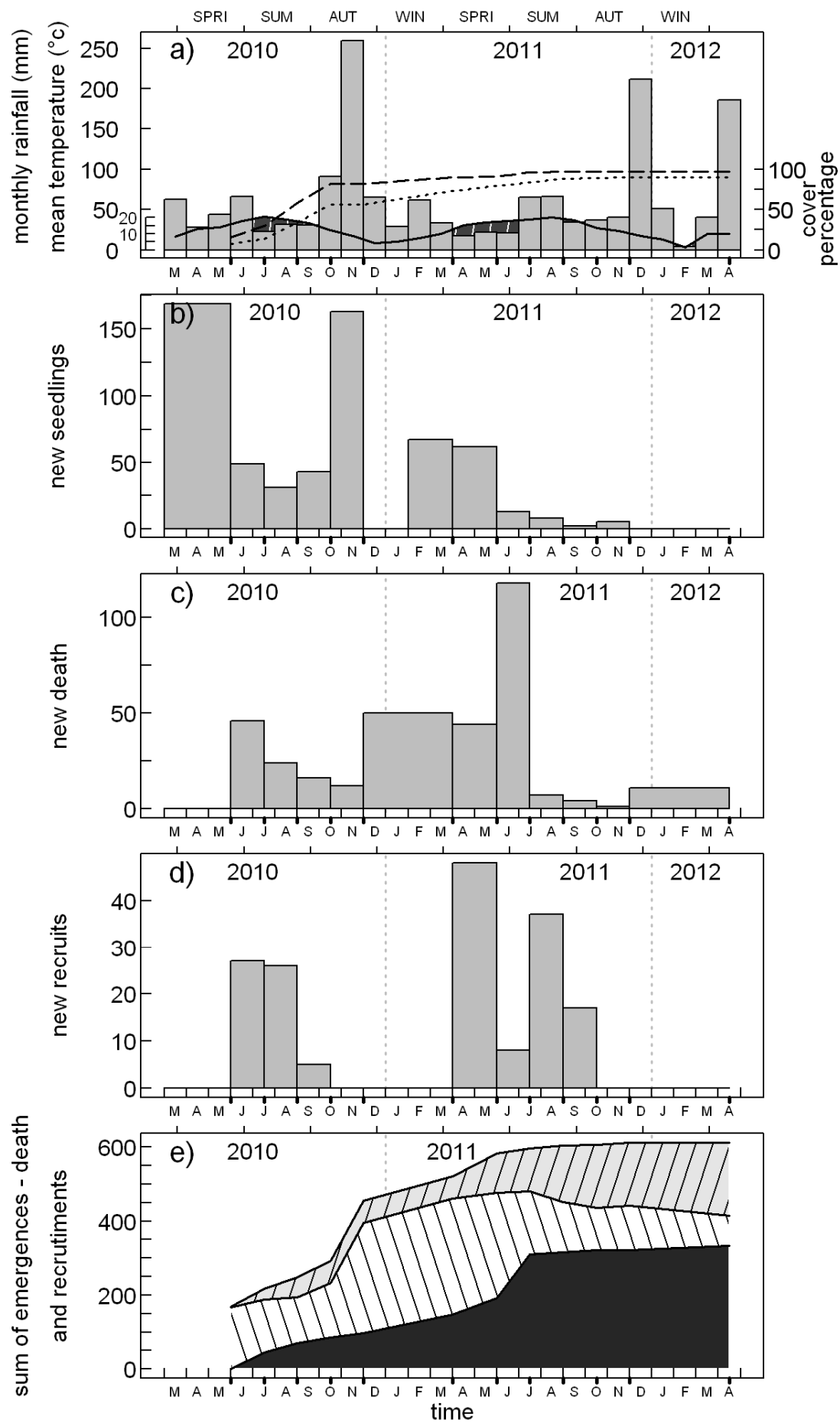




**Figure 1.** Number of different demographic events observed during the course of the study in regards to meteorological conditions and vegetation growth in the experimental stand. The 12 monitorings made are indicated by a thick mark on the time axis.

a) Standard climograph is shown, with 1 unit on the left y-axis equivalent to 1 °C for temperature (line) or 2 mm of rain (histograms). The shaded areas represent period of water deficit. Evolution of the surface of the stand covered by the vegetation (right y-axis) is represented by dotted (no fertilization) and dashed (fertilization) lines.

b) No seedlings emergence occurred in December and January during the coldest period.

e) The cumulated number of emergence is shown by the upper line. The cumulated number of death is shown by the lower shaded area. The surviving plants are shared between the recruits (light grey dashed-area) and the seedlings (white dashed-area).

compared to the 8 neighbouring cells to create five class of microtopography: a) 'bottom': the cell was the lowest (or in penultimate position (rank 8, 8.5 (two *ex aequo* in low position) or 9); b) 'low': rank 6, 6.5, 7 or 7.5; c) 'middle': rank 4, 4.5, 5 or 5.5 ; d) 'high' : rank 2.5, 3 or 3.5) and e) 'top': rank 1, 1.5 or 2.

At each date of monitoring, a *vegetation index* was built for each present seedling. A score was attributed to each of the 9 cell of the neighbourhood of the seedling (one central plus the 8 neighbouring cells) following vegetation cover (0: 0-25%; 1: 26-75%; 2: 76-100%). The vegetation index was calculated as the sum of the 9 scores (ranged from 0 to 18). In addition, for each year of the study, after the ending of vegetative growth, aerial biomass of the vegetation was harvested on four surfaces of 20 cm<sup>2</sup> adjacent to each corners of each quadrat. Then a single composite sample was dried and weighted per quadrat. Finally, at each date of observation, for each seedling, the vegetation index was refined following equation 1.

$$VI_{ijt} = \Sigma COVER_{1-9t} \cdot Biom_{jt} / \max (Biom)_t \quad (1)$$

With,  $VI_{ijt}$  the vegetation index of the seedling  $i$  in the quadrat  $j$  at the observation  $t$ ,  $\Sigma COVER_{1-9t}$  is the raw vegetation index at the observation  $t$ ,  $Biom_{jt}$  is the aerial biomass of the quadrat  $j$  weighted the year corresponding to the observation  $t$ ,  $\max (Biom)_t$  is the maximum of aerial biomass weighted for the 72 quadrats the corresponding year.

The characterisation of these variables at the cell scale (class of microtopography, vegetation index) requires the knowledge of the whole neighbourhood of the cells. Thus, cells on the edge of the quadrats were excluded from all analyses because they have an incomplete neighbourhood, i.e. a total of 4608 cells (64 central cells.quadrat<sup>-1</sup> x 72 quadrats) makes the sampled surface of the study.

### Data analysis

#### Fine grained analysis by date of observation and by cohort of seedlings

Mortality, growth and success of recruitment were analysed by cohorts, i.e by groups of seedlings whose presence was first recorded at the same date. In addition, most of analyses were made following the date of observation. The treatments applied at the stand scale, and the micro-environmental variables (i.e. classes of microtopography and vegetation indexes) were used for these analyses.

With regards to seedling emergence, the effect of the sowing treatment was obvious and area sown and unsown were analysed separately. Concerning seedling development, mortality and growth are two dependant processes. A low growth rate may indicate a plant that is not vigorous and healthy, which may lead ultimately to death. When the growth of a group of seedlings is analysed on a given lapse of time, some individuals present at the beginning of the interval are dead and absent at the end of the period. This loss 'not at random' of a part of the sample, preferentially those with low growth rates, may lead to spurious interpretation of

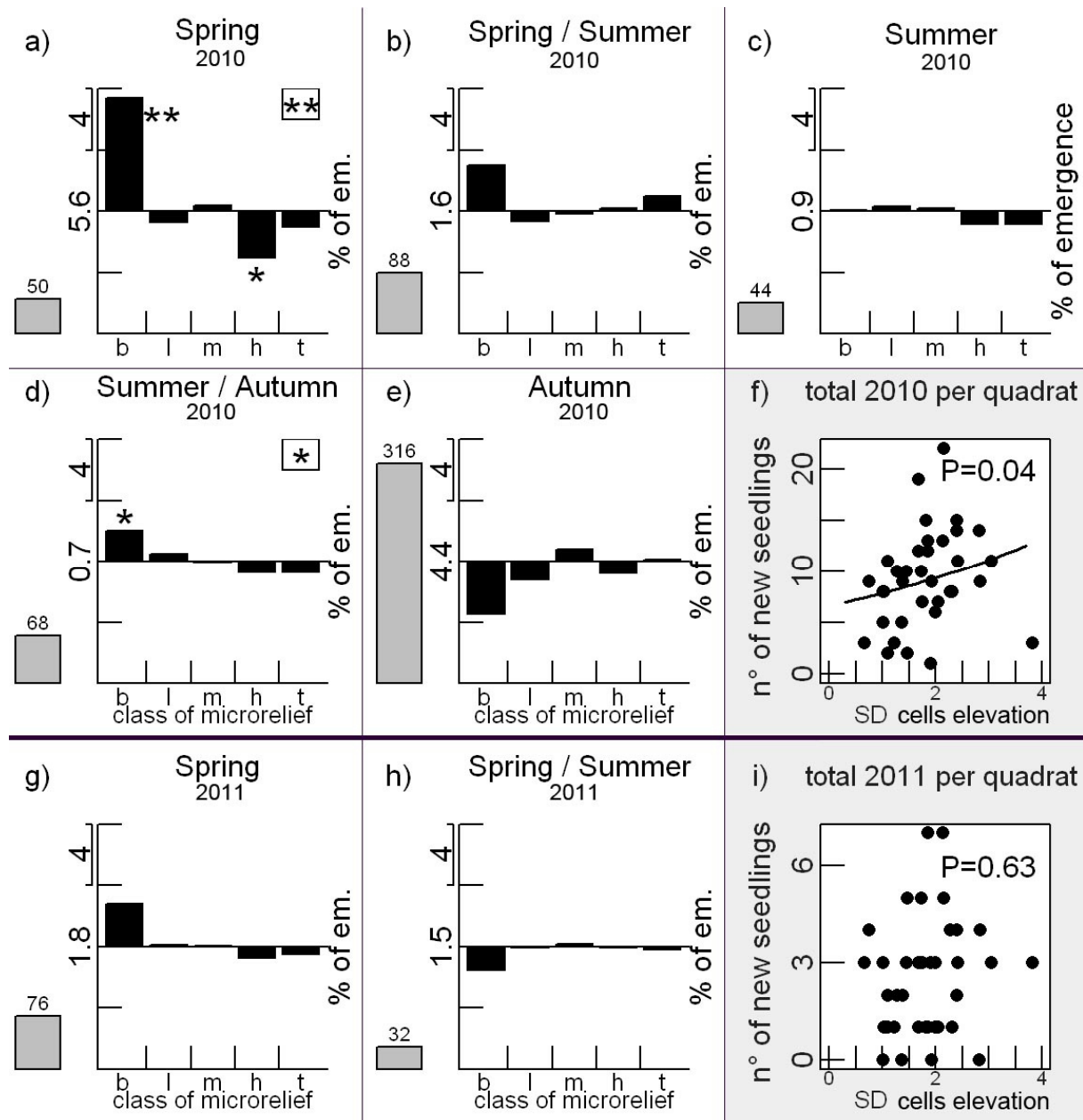


**Figure 2.** Relationship between seasonal rainfall, microtopography and frequency of emergence in sown areas.

a to e, g, h) Grey rectangles on the left of the panels indicate the sum of rainfall (mm) during the 50 days preceding the monitoring. Topographic classes of cells are indicated on the x axis (b: bottom; l: low; m: medium; h: high; t: top). For each class, the difference with the mean proportion of cell where an emergence was observed during the interval is shown. Stars with frame on the topright corner indicate the results of the Chi-Square test. When this test was significant, the results of binomial tests for each class of cell (comparisons of the frequencies for the given class with that of the general mean) is also on histograms shown (\*\*,  $P < 0.01$ ; \*,  $P < 0.05$ ).

f, i) The annual number of emergences per quadrat is shown in regards to the heterogeneity of the microtopography of the quadrat (using standard deviation of the relative elevation of cells)

statistical models (Rizopoulos, 2010). Thus development of seeding was analysed in two successive steps to answer the following questions: 1) what individuals were dead, and why? and 2) among survivors, what are the factors or variables that influenced growth (and *in fine* the success of recruitment) ?

### **Constancy in time of the regeneration processes**

Coarse-grained analyses of seedlings recruitment were also made, at the quadrat scale (i.e. 1 m<sup>2</sup>), and using the sum of the events occurring during a full year. In order to do this, dependant and explanatory variables corresponding to those used for fine-grained analyses were calculated. For instance, the sum of emergences, together with the proportion of dead or recruited seedlings, were calculated yearly for each quadrat. Similarly, standard deviation of the relative elevation of the cells of one quadrat was used to characterise a microtopography more or less rugged, and the dry biomass harvested around each quadrat was used as indicator of vegetation development.

Moreover, correlation between different demographic events within each quadrat (number of emergences, deaths and recruitments) and between years was determined. Quadrats in sown and unsown areas were distinguished for this purpose, to observe the importance of seed production and of dispersal on the downstream processes of recruitment.

Finally, we checked the overall influence of the treatments (sowing and fertilisation), and of the quadrat characteristics (heterogeneity of the microrelief and vegetation development) on the number of recruits per quadrat during the whole course of the study.

### *Statistics*

All analyses were performed with the R software (R Development Core Team, 2010). The effect of the factor 'bloc' was always tested, and kept in the different models if significant. Selection of significant explanatory variables was made with a backward procedure, from a saturated model with all potential variables and their interactions.

**Fine-grained analyses.** Regarding seedling emergences observed at the cell scale, Pearson Chi square tests were made to test the association between the frequencies of the observed emergences and the level of different factors (e.g classes of microtopography). When this test was significant, we checked if the frequency observed for each level of the factor was different from the overall frequency of the whole sample (i.e binomial test). Concerning mortality, the response variable is binary for each seedling, thus multiple logistic regressions were performed. As to growth, size of seedlings was normalised with logarithmic transformation, then ANOVAs were made between different groups of seedling (e.g grouping depending on the fertilisation level).

**Coarse-grained analyses.** We used general linear modelling, appropriate for count data, to analyse the number of emergent seedlings per quadrat. We used multiple logistic regressions for the proportions of dead seedlings or seedling having recruited (i.e. the proportion that reached the size threshold). For analyses of the correlation between the different demographic events, in order to avoid spurious effects due to spatial auto-correlation, we used partial Spearman coefficients of correlation to filter out the effect due to the longitudinal position of the quadrat in the stand (between 0 and 225 m). Finally, an ANOVA was performed respecting the number of recruit per quadrat during the whole course of the study.

**Response of symbiotic nitrogen fixation to fertilisation.** The %N<sub>dfa</sub> values were normalised with the logit transformation following Warton and Hui (2011). Type II ANOVAs for non orthogonal samples (because of missing values) were performed to test the effect of the year, the class of size and the fertilisation treatment on the %N<sub>dfa</sub> and N content. Nonparametric multiple comparisons of means were made ('nparcomp' package) for differences respecting P content because of a small number of observation per class.

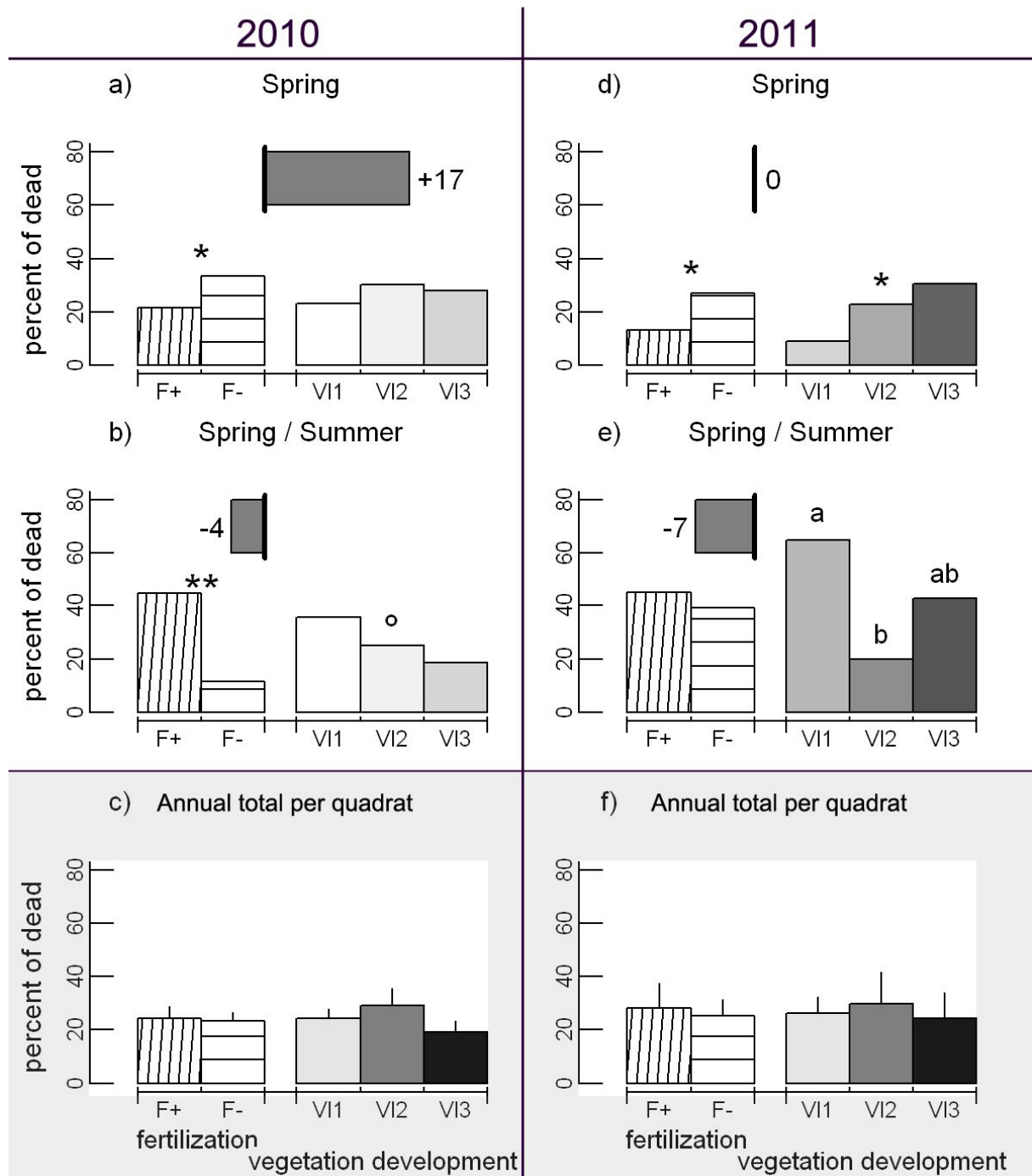


**Figure 3.** Relationship between seedling death, fertilization, and vegetation development during the interval following the emergence of the seedlings, and in regards to meteorological conditions.

a,b,d,e) On the top of the panels, an index of water availability is shown for the month following the emergence. Data regarding potential evapotranspiration (PET) were not available, thus the index was calculated as in climographs (rainfall/2 – mean temperature). Negative values indicate a deficit. For each panel, the three classes of vegetation development (VI1, VI2, VI3) were made grouping the seedlings according to the tertiles of their refined vegetation indexes at their last monitoring before death. Thus, the values of the vegetation indexes in each class are different for each panel (higher for late dates). A grey scale is used to indicate this increase of the development of the vegetation during the course of the study (the darker, the higher the median value of the vegetation indexes in the class). The significant results of the multiple regressions are shown (\*\*,  $P < 0.01$ ; \*,  $P < 0.05$ ; °,  $P < 0.1$ ). In e) different lowercase letters indicate significant difference of mortality between classes ( $P < 0.05$ ).

c, f) Mean annual proportion of death during the interval following emergence and per quadrat is shown in regards to fertilization and vegetation development. The three classes of vegetation development were calculated from the tertiles of the annual dry biomass weighted per quadrat. The grey colors used are arbitrary. Bars on the rectangle are standards errors of the mean. Each year, quadrats are included in analysis only if they contain a minimum of 3 new seedlings, and the mean values are weighted given the corresponding number of new seedlings per quadrat.

---

## Results.

*General observations.* The climograph of the period of the study showed marked seasonal variations. The most noticeable meteorological events were: two periods of low rainfall and high temperature suggest shortage of water (summer 2010 and spring-summer 2011), important rainfall both autumns, and winter mean temperatures close to 0°C (Fig. 1a). Colonisation of the overall surface of the stand by the vegetation was almost complete by the end of the study, and reached 80% in fertilised area the first year (Fig. 1a). Seedling emergence was strong in spring both years, and an important peak of emergence in autumn 2010 coincided with the period of high rainfall (Fig. 1a,b). Mortality was stronger in summer both year, with an important peak in summer 2011 which coincided with three month with low rainfall in a row (Fig. 1a,c). Periods of recruitment, when the size threshold was reached, extended from spring until the end of summer. A peak of recruitment occurred in spring 2011, before a decline simultaneous with the third successive dry month (Fig. 1a,d). A total of 612 gorse seedlings appeared during the study, 54% died and 27% were recruited. The remaining 19% formed a seedling bank with uncertain future by the end of the study (Fig. 1e).

*Seedlings emergence.* In unsown areas, no explanatory variable significantly influenced the frequencies of emergence, at any analysed scale. On the contrary, in sown areas, microtopography influenced the emergence. Wide variations of frequencies were mainly observed in micro-pits (i.e. class of cells 'Bottom'). When rainfall was moderate, the observed frequencies were often higher in the corresponding kind of cells than those observed elsewhere (Fig. 2a, b, d and g). When rainfall was very abundant, the trend was opposite, but not significant (Fig. 2e). The number of seedlings per quadrat was significantly influenced by the microtopography in 2010 but not in 2011 (Fig. 2f, i).

*Mortality.* The immediate period following emergence formed a critical stage for the development of the seedlings. Indeed 153 of the 333 death events (i.e. 46%) were recorded the first monitoring following emergence. Two main variables influenced this precocious mortality, and the effect varied depending on the date of emergence (i.e the cohort; Fig. 3). In springs 2010 and 2011, mortality was higher in unfertilised areas (Fig. 3a, d). In summer 2010, simultaneously with the long period of low rainfall, mortality was higher in fertilised areas (Fig. 3b).

In summer 2010 and 2011, mortality was higher when vegetation development was low (non significant trend in 2010) (Fig. 3b, e). In spring 2011, the opposite effect occurred (Fig.3d). Concerning the proportion of dead seedlings per quadrat, immediately following emergence, this different effects compensated each other over a full year (Fig. 3c,f).

Regarding seedlings that survived precocious mortality, i.e. present the next monitoring after emergence, the main effect detected is due to fertilisation. Indeed seedlings often showed higher mortality rates in fertilised areas (in summer 2010 together with spring and summer 2011, not shown). Other significant effects were identified occasionally (not shown). In summer 2011, mortality was higher in cells with a high relative elevation. In addition, for the first cohort appeared in spring 2010, mortality increased with the number of seedling in the quadrat, and decreased with the interaction of the number of seedlings and vegetation indexes.

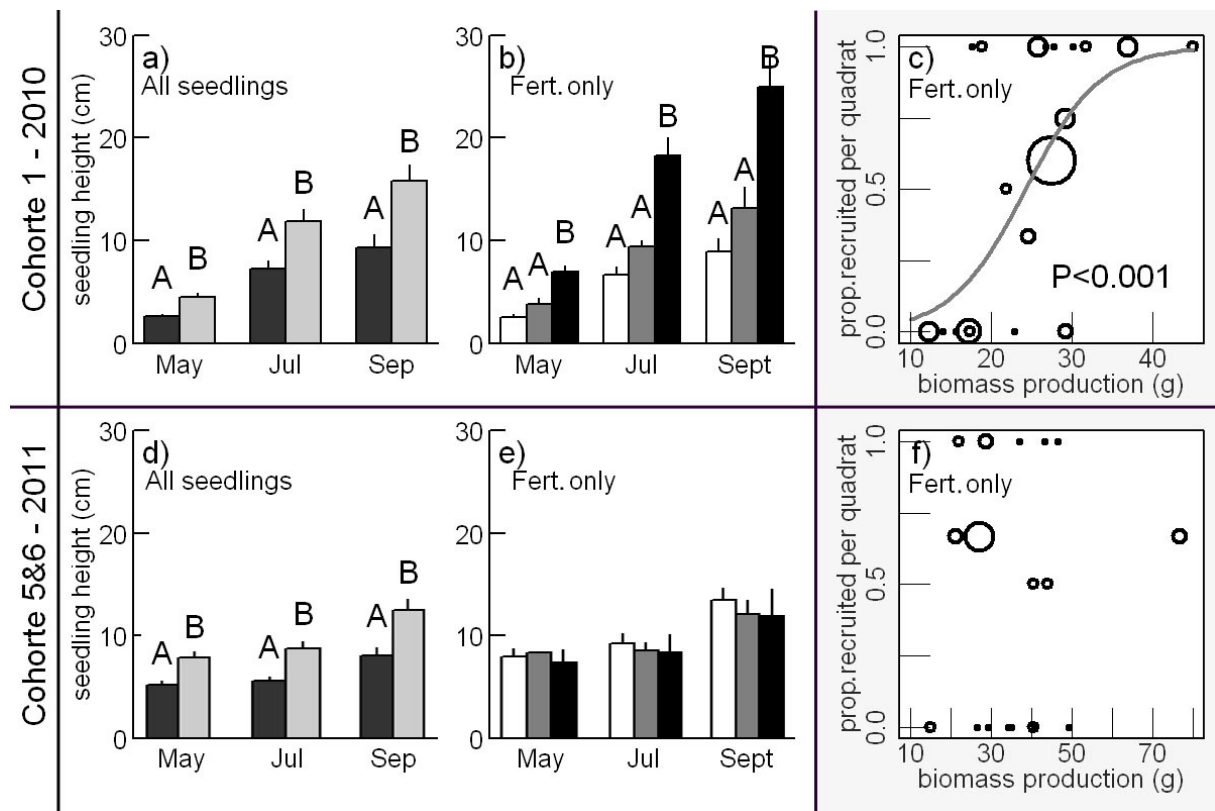


**Figure 4.** Relationships between seedling growth (and recruitment), fertilization, and vegetation development for early and late cohorts of seedlings.

Panels a,b concern the first cohort of seedlings appeared in spring 2010 and their growth this same year. Seedlings in fertilised and unfertilised areas are shown respectively with grey and black bars. Panels d,e concern seedlings appeared in late autumn 2010 or early spring 2011 and their growth in 2011. Different uppercase letters indicate significant differences between different classes of seedlings. Panels b,e concern seedling in fertilized areas. They are grouped given three classes of vegetation development. The sum of all their refined vegetation indexes of all monitoring made during the corresponding year was made, and the tertiles were calculated to make the classes (low in white; medium in grey; high in black).

Panels c,f show the proportion of the seedlings of the same cohorts recruited per quadrat located in fertilized area. Annual dry biomass of vegetation weighted per quadrat is given on the x axis. Size of the circular points indicates the number of seedlings of the different cohorts in the quadrats. In c, the grey line corresponds to the significant result of the logistic regression.

*Growth and recruitment.* For seedlings that survived until the end of the study, growth constantly increased in fertilised areas, for all observed cohorts (Fig. 4a,d) indicating that the size threshold was reached faster. In these areas, the observed growth of early emergent seedlings (first and second cohorts) was higher where vegetation development was also higher over the whole year (Fig. 4b). For these cohorts, the proportion of recruits per quadrat increased with the vegetation dry biomass weighted per quadrat (Fig. 4c). For the next cohorts (e.g. Fig. 4d) in fertilised areas, and for all seedlings that appeared in unfertilised areas, there was no noticeable difference in regards to vegetation indexes or biomass weighted per quadrat (Fig. 4f).

#### *Phosphorus fertilisation and symbiotic nitrogen fixation*

The sampled year influenced the measured %N<sub>dfa</sub> of the young gorse plants (Table 1a). In addition, we observed a mean increase of 20% of the %N<sub>dfa</sub> in fertilised areas in 2010. Reversely, in 2011, the %N<sub>dfa</sub> was 10 % lower in case of fertilisation than in control areas. However this intra-annual differences were only marginally significant. No difference was observed between the different classes of size.

Regarding N content in the plant tissues (Table 1b), we observed a non significant increased with individual size in 2010. Reversely, in 2011, a significant decrease of the N content for the largest sizes was found. Both years, we found an increase of the P content with the size of the individuals (Table 1b). This increase was significant on the whole sample, and only in 2010 regarding intra-annual analyses. Moreover, we found P content values significantly higher on the whole sample in fertilised areas ( $P < 0.05$ ), but not during intra-annual analyses.

**Table 1.** Variations of the rate of symbiotic nitrogen fixation (%N<sub>dfa</sub>), N and P content with year of the study, fertilization and class of size.

| a) | Year (***) |      |       | Fertilization treatment (n.s) |             |      |       |      |
|----|------------|------|-------|-------------------------------|-------------|------|-------|------|
|    |            | Mean | ± SE  | n                             |             | Mean | ± SE  | n    |
|    | 2010       | 54.5 | ± 6.2 | 22                            | Fertisation | 62.8 | ± 8.4 | b 12 |
|    |            |      |       |                               | Control     | 41.9 | ± 7.4 | a 10 |
|    | 2011       | 77.3 | ± 2.8 | 65                            | Fertisation | 72.7 | ± 4.0 | a 35 |
|    |            |      |       |                               | Control     | 82.6 | ± 3.8 | b 30 |

%Ndfa measured per year, and depending on the fertilisation treatments each year. Information given in brackets indicate the result of the ANOVA in the whole sample (\*\*\*, P<0,001). Different lowercase letter indicate only marginal differences (P<0.1) between classes performing within-year tests

| b) | N (mg.g <sup>-1</sup> ) |      |       |    |                     |      |       |       | P (mg.g <sup>-1</sup> ) |      |        |    |                    |      |        |      |
|----|-------------------------|------|-------|----|---------------------|------|-------|-------|-------------------------|------|--------|----|--------------------|------|--------|------|
|    | Year (n.s)              |      |       |    | Class of size (n.s) |      |       |       | Year (n.s)              |      |        |    | Class of size (**) |      |        |      |
|    |                         | Mean | ± SE  | n  |                     | Mean | ± SE  | n     |                         | Mean | ± SE   | n  |                    | Mean | ± SE   | n    |
|    |                         |      |       |    |                     |      |       |       |                         |      |        |    |                    |      |        |      |
|    | 2010                    | 15.7 | ± 0.5 | 52 | C1                  | 14.4 | ± 0.9 | 17    | 2010                    | 0.61 | ± 0.07 | 26 | C1                 | 0.11 | ± 0.02 | A 2  |
|    |                         |      |       |    | C2                  | 16.5 | ± 0.8 | 17    |                         |      |        |    | C2                 | 0.43 | ± 0.09 | B 6  |
|    |                         |      |       |    | C3                  | 16.2 | ± 1.0 | 18    |                         |      |        |    | C3                 | 0.73 | ± 0.08 | B 18 |
|    | 2011                    | 15.9 | ± 0.4 | 70 | C1                  | 18.5 | ± 1.0 | b 16  | 2011                    | 0.57 | ± 0.03 | 61 | C1                 | 0.44 | ± 0.06 | 8    |
|    |                         |      |       |    | C2                  | 16.6 | ± 1.0 | ab 18 |                         |      |        |    | C2                 | 0.59 | ± 0.07 | 17   |
|    |                         |      |       |    | C3                  | 14.7 | ± 0.5 | a 18  |                         |      |        |    | C3                 | 0.57 | ± 0.05 | 18   |
|    |                         |      |       |    | C4                  | 14.1 | ± 0.6 | a 18  |                         |      |        |    | C4                 | 0.62 | ± 0.06 | 18   |

N and P content measured per year, and depending on the class of size each year. Information given in brackets indicate the result of the ANOVA in the whole sample (\*\*, P<0,01). Different uppercase letter indicate significant differences between classes performing within-year tests (P<0.05). The number of values of P content is reduced for the small classes of size, because sampled were grouped to have enough material for analysis (at least 300 mg).



*Correlation between demographic events within each quadrat and between years.*

In all quadrats, correlation was strong between the number of emergences and the number of deaths (Table 2). The number of recruits were also correlated, but less strongly, to the number of emergences. Regarding unsown areas, demographic events were also correlated between the two years of the study. However in sown areas, high variability appeared between the two years as shown by non significant coefficients of correlations (Table 2).

**Table 2.** Partial coefficients of correlation between the number of new seedlings per quadrat and the other demographic events, and between the same kind of demographic event the two years of the study (\*\*\*,  $P < 0.001$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ).

| Treatment<br>Step in<br>recruitment<br>/ year | Unsown        |         |        |              | Sown             |         |         |              |
|-----------------------------------------------|---------------|---------|--------|--------------|------------------|---------|---------|--------------|
|                                               | New seedlings |         | Death  | Suc-<br>cess | New seedlings    |         | Death   | Suc-<br>cess |
|                                               | 2010          | 2011    | 2010   | 2010         | 2010             | 2011    | 2010    | 2010         |
| New<br>seedlings                              |               |         |        |              | New<br>seedlings |         |         |              |
| 2010                                          |               |         |        |              | 2010             |         |         |              |
| 2011                                          | 0.44**        |         |        |              | 2011             | 0.18    |         |              |
| Death                                         |               |         |        |              | Death            |         |         |              |
| 2010                                          | 0.65***       |         |        |              | 2010             | 0.59*** |         |              |
| 2011                                          | 0.72***       | 0.50*** | 0.41** |              | 2011             | 0.56*** | 0.56*** | 0.21         |
| Success                                       |               |         |        |              | Success          |         |         |              |
| 2010                                          | 0.28          |         |        |              | 2010             | 0.38    |         |              |
| 2011                                          | 0.51***       | 0.52*** |        | 0.25         | 2011             | 0.31    | 0.52*** | -0.07        |

*The overall ANOVA*

Regarding the number of recruits per quadrat over the two years of the study, the only significant results of the ANOVA ( $P < 0.05$ ) related to, was the effect of the sowing treatment. The effect of the heterogeneity of the microtopography was only marginal, and no effect related to the fertilisation treatment was detected.

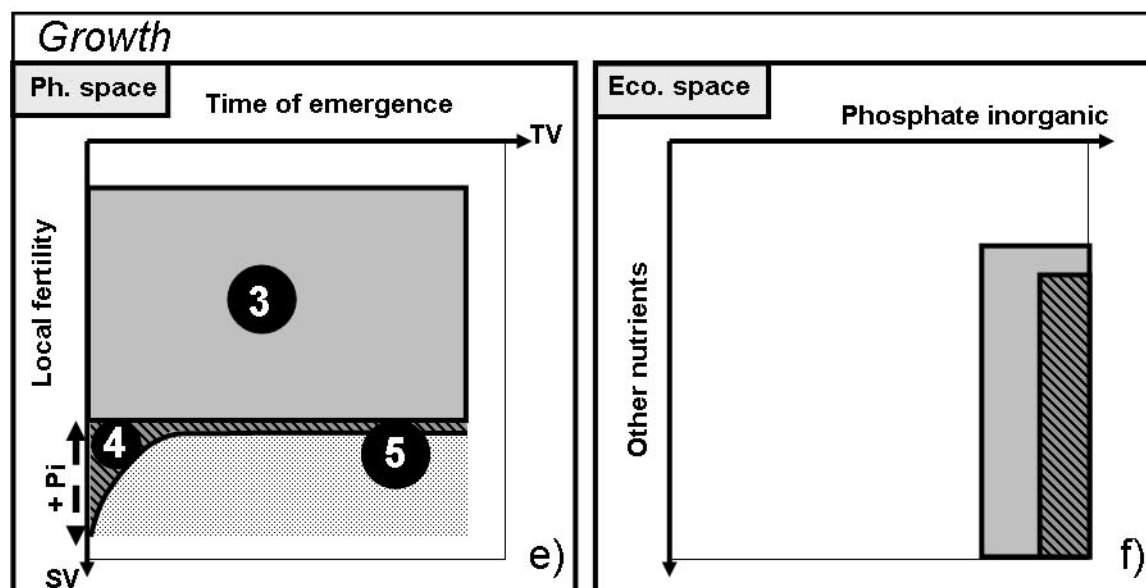
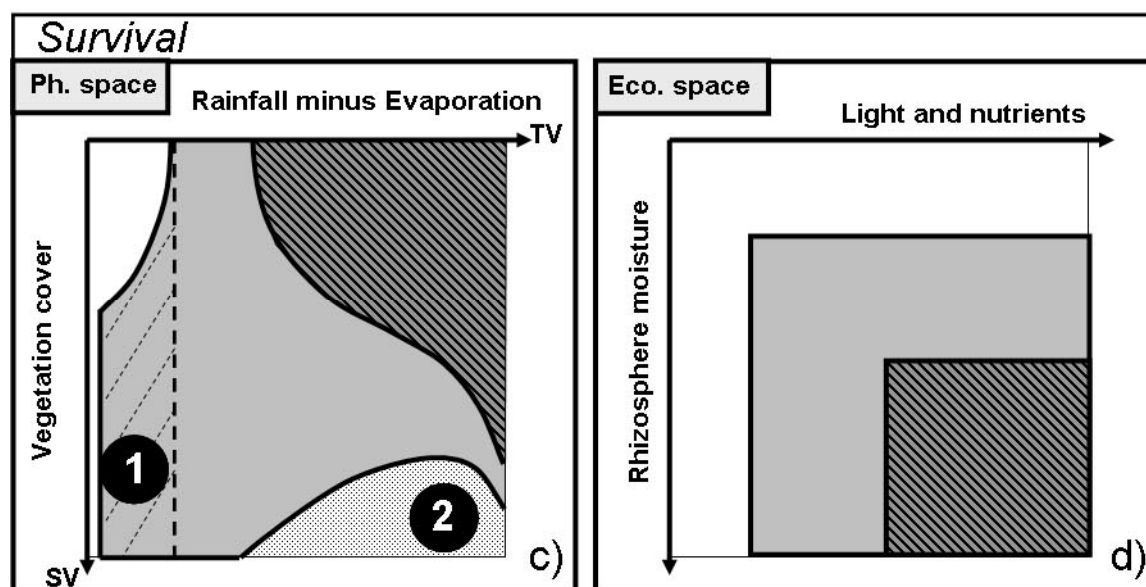
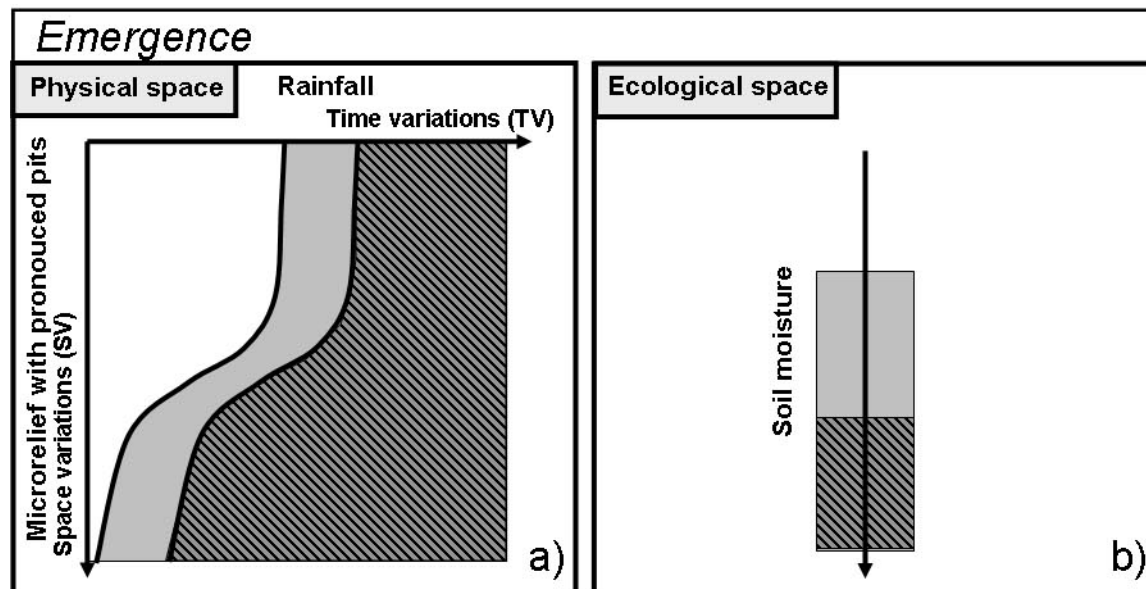


**Figure 5.** Interpretation of the regeneration niche of the species showing the proposed ecological factors in the ecological space (b,d,f on the right), and their corresponding realisation and source of variation in the physical space (a,c,e, on the left). Hatched areas indicate optimal situations for regeneration, grey areas indicate possible situations for regeneration. Regeneration is not possible in white areas. Explanations for the different labelled areas (1 to 5) are given in the main text. e), the double arrow indicates the case of phosphorus fertilisation.

---

## Discussion.

### *Spatiotemporal variability of the regeneration niche of the studied species*

Fine-grained analyses of the emergence and development of the seedlings showed a high spatiotemporal variability. An interpretation of these results is proposed regarding the duality of the ecological niche (Colwell and Rangel, 2009). The different ecological factors which are likely to be involved are defined in the ecological space, and their realisation in the real physical space, as observed during the course of the study, is indicated in the Figure 5.

The high frequency of *emergences* in cells forming micro-pits in case of moderate or low rainfall suggests the distinct role of soil moisture (Fig. 5b). The increase of soil moisture in micro-topographic pit is well described in farming system where ridges and furrows are created during soil preparation (e.g. Ren et al., 2010). In addition, in our region, during dry periods, soil surface becomes hydrophobic, which may result in runoff of rainfall towards micro-pits. Thus, topsoil layer in these pits may have higher moisture in such conditions, which could favour germination of gorse seeds. When rainfall is abundant, the whole topsoil layer may be equivalently moist, and micro-pits could lose their advantage for germination (Fig. 5a).

The influence of vegetation indexes suggests that soil moisture in the rhizosphere of the seedlings is an important factor controlling *seedlings survival* (Fig. 5c). During dry periods, the presence of an important vegetation cover may limit evaporation and result in higher soil moisture (Brooker et al., 2008). Such a facilitative effect could widen the realised niche of the seedlings (Michalet et al., 2006), whose maintenance during periods of high water deficit may be favoured by the presence of the vegetation cover (Figure 5c, zone 1). On the contrary, during wet periods, an important development of the vegetation may compete for the resources with gorse seedlings, which could shrink the realised niche of the seedlings, as initially proposed by Hutchinson (Figure 5c, zone 2).

Results that indicate an increase of *mortality* in fertilised areas, mainly during dry periods, strengthen the proposition of soil moisture in the rhizosphere as an important ecological factor. Indeed, plants in fertilised areas have a root system less developed and/or more superficial concentrated in areas rich in nutrients (Gleeson and Tilman, 1994; Neatrour et al., 2007). Consequently they may be more sensible to drought which results in decrease of soil moisture first in the topsoil layers. In addition, the higher mortality observed in summer 2011 in cells having a high relative elevation may be explained by reduced soil moisture in these topographic positions. Finally, the negative effect of seedlings density at the beginning of the study, in areas with low vegetation cover, may indicate an attraction of herbivores by an important number of seedlings visible, or remote from less attractive neighbours (Callaway et al., 2000).

Regarding *seedling growth*, it is unlikely that the increase of size observed in fertilised areas, and where vegetation production was high, is the result of etiolation. Indeed, mean height of the vegetation layer in spring 2011 was only 13 cm (Supplementary S1), and internodes elongation of gorse seedlings in shade is limited (Valladares et al., 2003). Two ecological factors are proposed to interpret these results (Fig. 5f): 1) the availability in phosphorus,

which, when low, may represent a major limitation to growth, and 2) the availability in other nutrients, or local fertility, and which may be indicated by the vegetation indexes.

In unfertilised areas, low availability in phosphorus may have limited the growth of the seedlings. Whatever the local fertility regarding other nutrients, seedling development may have not changed because of this limitation (Fig. 5e, zone 3). In case of fertilisation in phosphorus, the limitation may have been released and growth of the seedlings increased constantly. Then, two distinct cases may explain our results: 1) In case of early emergence after the clear cut of the stand, interspecific competition for the resources was low. The corresponding seedlings may have been little sensitive to interspecific competition that increased latter thanks to their early establishment of root and shoot systems. Once the limitation in phosphorus was released, development of seedlings may have been optimal where local fertility was highest (Fig. 5e, zone 4). In case of late emergence, the rest of the vegetation was already well developed when the seedlings appeared. Thus, development of the seedlings may have been constant whatever the local fertility, because in more fertile areas, higher interspecific competition may have counterbalanced the higher availability in nutrients (Fig. 5e, zone 5).

It is important to keep in mind that the different ecological factors proposed to explain our results are assumed, and were not measured *in situ*. This inherently limits our interpretation. Nevertheless, factors like soil moisture or availability in nutrients are important in the whole plant kingdom, which made us confident to propose a consistent explanation of our results relying on these factors.

#### *Impact of fertilisation on symbiotic nitrogen fixation of young gorse plants*

Gorse seedlings showed low growth rate until they reach the size threshold for successful recruitment (Supplementary S1). Consequently, small gorse plants sampled in 2011 may have emerged in 2010, when the majority of the seedlings appeared. This may explain the observed differences of  $\%N_{dfa}$  between the two years of the study. Indeed, the measures made in 2010 may correspond to the period of the establishment of the symbiosis, while in 2011, the measures may correspond to symbiotic nitrogen fixation over a longer lapse of time, during which the symbiosis was functionally mature. The measures of the  $\%N_{dfa}$  in 2010 are smaller than those found in the literature for mature gorse plants in the region (Cavard et al., 2007), while the measures in 2011 are consistent with the literature. This comparison supports our interpretation.

*In 2010*, we found a marginal positive effect of fertilisation on the  $\%N_{dfa}$ . Fertilisation may have actually slightly favoured the establishment of the symbiosis, and a larger sample might have enabled a clearer conclusion. Following the assumption of McLaughlin et al. (1990), the overall increase of P content in fertilised areas is consistent with this interpretation.

*In 2011*, the slight decrease of the fixation rate in fertilised areas may be explained by a more superficial rooting of gorse plants. These plants may have uptaken part of their nitrogen from the soil solution with higher  $^{15}N$  content because of the labelling of the stand, and as a consequence, they may have higher isotopic ratios. However this difference of isotopic ratios should be similar for the non legume plants harvested in fertilised areas, and this should not influence the estimation of the  $\%N_{dfa}$ . Whatever the reason of this difference, the  $\%N_{dfa}$  were close in the different treatments, and they are consistent with the values published for mature gorse plants (Cavard et al., 2007). Furthermore, N content in the small plants may be high because of an optimal symbiotic nitrogen fixation in 2011. The decrease of N content with the size of the plants may result from a dilution effect of the nitrogen mineral mass in the overall plant biomass (Augusto et al., 2009). The increase of the P content with the size of the plants suggests an increase of the capacity of phosphorus uptake with the development of root system of the plants.

### *Habitat and regeneration niche of the species*

In unsown areas, the different demographic events were highly correlated each other, and between years. This suggests that in the context of the study, spatiotemporal variability of the species regeneration is strongly linked with dispersal of seeds and their abundance in soil. These results are consistent with other studies that have already shown the distinct role of dispersal in the regeneration phase of woody plants (Jacquemyn et al., 2001; Pulliam, 2000). In addition, in sown areas, where seedbank was more homogeneous, the strength of the correlations decreased, and interannual variability was high. Thus, the different steps related to the emergence of seedlings and their development are actually subject to environmental constraints, which plays a role in the variability of the recruitment in space and time.

Because of the correlation between the demographic events, the number of recruits observed during the whole study seems to be higher in quadrats where the microtopography is more variable, however this trend is not significant. The effect of fertilisation on regeneration is contrasted as indicated in former studies (e.g. Ceccon et al., 2003). On the one hand the increase of the availability in phosphorus release an important limitation for growth, on the other hand, mortality is often higher in fertilised areas. Consequently, the overall effect of fertilisation on the number of recruits observed is null. Moreover, the increase of phosphorus availability might improve the establishment of the symbiosis, enabling higher %N<sub>dff</sub> soon after emergence (visible only in 2010). However if such an effect occurred, it was weak, as it is the case for most mature legumes (Augusto et al., submitted).

Finally, even if it is possible to propose a definition of the regeneration niche of the species in the ecological space, as regards to emergence and development of seedlings (Figure 5), no habitat or micro-habitat seems to be particularly beneficial for the regeneration of the species.

### *Duality of the regeneration niche and implications for the local coexistence of woody plants within a community.*

The multiplication of the definitions and the vocabulary used in studies related to ecological niches is a constant source of ambiguity and misunderstanding (McInerney and Etienne, 2012; Whittaker et al., 1973). For instance, in the definition proposed initially by Grubb (1977), an essential part of the niche of regeneration is the '*habitat niche*' or '*the physical and chemical limits tolerated by the mature plant in nature*'. This statement is very close to the definition of the fundamental niche in the ecological space proposed by Hutchinson (1957). Even if Grubb specified the importance to distinguish between the potential and the realised *habitat niche*, the ambiguity maintained between niche and habitat may explain why many studies have focused on the regeneration of woody plants in distinct habitats.

The analysis of the regeneration niche, taking into account explicitly the duality of the ecological niche may bring fresh thinking to the difficulty to identify species specific regeneration niches, to the high spatiotemporal variability in the regeneration of woody plants, and to their local coexistence within a community. Considering the high temporal variability of physico-chemical conditions in a given location (as suggested by the present study), the realised regeneration niches of several species, functionally relatively similar, are likely to largely overlap in space. Consequently, a distinction of the regeneration niches based on the difference of habitat or micro-habitat may often be vain. In many cases, spatial and temporal fine-grained scales of observation may be necessary to point out differences of regeneration niches. However, if the differences of fundamental niches are marked, preferences for distinct habitats may actually appeared, but the species involved in this case are likely to show important functional differences (e.g shade tolerant and light demanding species), which leaves part of the question of woody plants coexistence within a community unanswered (Laurans et al., 2012). This interpretation may explain the discrepancy of the results in the literature, as stated in the introduction, about the identification of distinct regeneration niches. Furthermore, our interpretation is consistent with the storage theory (Kelly and Bowler, 2002; Kelly and Bowler, 2005), as driver of the maintenance of woody plants coexistence. This theory states that recruitment of a species with lower competitiveness is ensured by the

stochastic occurrence of periods more favourable for its recruitment than for the recruitment of a more competitive species. The existence of periods more or less favourable to one or the other species is supported by the strong variability in the realisation of the regeneration niche of the studied species. However, niche-based determinism of the recruitment as proposed here requires a very important sampling effort, to characterise seedlings environment at very fine scales. While focusing on this niche-based determinism of the regeneration, it is important to recognize that the variability observed as a strong stochastic part: it is related to seasonal climatic variations and to the occurrence of period of water deficit more or less pronounced. Finally, if the probability that the regeneration niches of different species overlap in the physical space is strong, these regeneration niches are likely to appear ecologically neutral (Hubbell, 2006). Indeed, the related species will have *in fine* equivalent probability to regenerate in the community. Thereby, without conflicting with the existence of distinct fundamental niche of regeneration, this could contribute to the success of neutralist models to describe woody plants coexistence in some tropical forest ecosystems (Hubbell et al., 1999). The present study focused on a limited segment of the whole regeneration process: the influence of environmental variation on the path from the seed to the new plant recruited. The importance of upstream processes on the assemblage of woody plants communities, particularly of dispersal, is beyond the scope of this discussion. We only remind that dispersal is of prime importance in all models describing the difference of species composition between different communities (Leibold et al., 2004). Indeed our results support that recruitment of the model species was locally limited by seed dispersal. Yet, what is most relevant here, is that within a community, niche-based differences could actually take part to the process of the community assemblage, particularly at the seed and seedlings stages, without being opposite to apparent stochasticity or neutrality of the regeneration process observed locally.

## Conclusion

Emergence and development of gorse seedlings are influenced by microtopography, biotic interactions with neighbouring vegetation, and by availability in phosphorus and other nutrients. However, these effects are strongly dependent on seasonal and stochastic climatic variations. Opposite effects appear in time, and between the different steps of new plants recruitment. Consequently, in a given location, periods favourable and unfavourable may succeed each other, and no specific habitat appear to correspond with the regeneration niche of the studied species.

The duality of the ecological niche, as defined by Hutchinson, leads to the proposition of an interpretation consistent with the variability observed. If the species is likely to have a defined fundamental niche of regeneration, its realisation in the physical environment is strongly variable in space and time. This may imply that different woody species, with different fundamental regeneration niches, regenerate in the same habitat, given the occurrence of periods more or less favourable (storage theory), or even that their probability of recruitment are equivalent (neutralist theory). No general pictures can be drawn from this single study on a single species. However we believe the formal distinction between ecological and physical spaces to highlight processes occurring during woody species recruitment within a community is valuable, as it can form a conceptual link to help unify the different leading theories about woody species coexistence, which are often presented as opposite with no possible overlapping.

**Supplementary information 1.** Determination of the size threshold for the end of the regenerative phase.

#### *Justification*

The development of the shoot and roots of seedlings is reduced. In comparison with mature plants, their ability to capture resources and their nutritive and energetic reserves are limited. Consequently, woody seedlings have high mortality and low growth rates (Closset-Kopp et al., 2007). When access to resources increases, due to an increase of shoot and roots size, and particularly thanks to a better access to light, growth rate increases too (Closset-Kopp et al., 2007). As a consequence, young woody plants show a phase of exponential growth (e.g. Tremblay et al., 2011). Three criterions were used to characterise a successful recruitment: 1) a size threshold from which the number of death events observed was almost zero, 2) a size threshold from which growth rates of gorse plants increased sharply, and 3) the measurement of the mean height of the herbaceous layer in the stand, as an indicator of the height to reach by gorse plants to get a better access to light.

#### *Method*

1) *The decrease of mortality*: the distribution of frequency of deaths was observed in function of the last size recorded before death (Figure S1a).

2) *Increase of growth rate*: The growth of young gorse plants during the interval from March to May 2011 was analysed in function of their initial size (Figure S1b). This interval was chosen because: 1) in 2010, too few individuals had reached the mature phase to be able to observe a difference of growth rate from a size threshold, and 2) in 2011, drought strongly disrupt growth of gorse plants that occurred later.

3) *The mean height of the vegetation layer*: This measure was made in summer 2011, outside the quadrats of observation, using a framework horizontally placed in alignment with 30 new emergent seedlings (half in fertilised areas). This framework includes 25 holes, at the intersections of a square grid with a mesh size of 5 cm. For each hole, the height of the vegetation is measured with a graduated stick, at the contact between the stick and the vegetation.

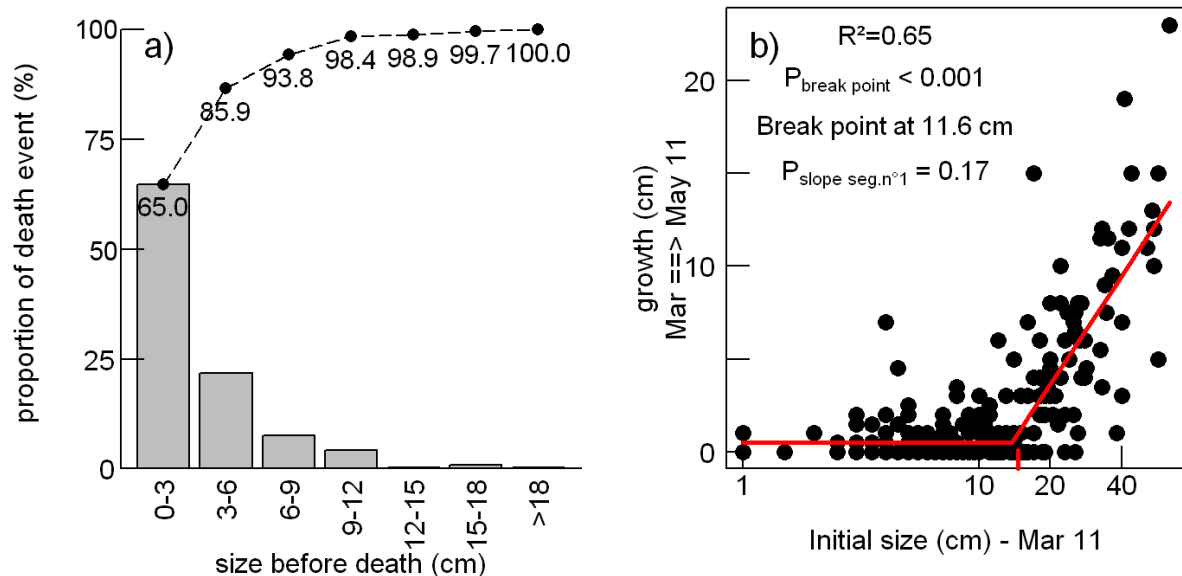


**Figure S1.** Size threshold for a successful recruitment. a) The accumulated percentage of death is indicated by the dotted line according to the last size recorded before death.  $N = 328$  (333 death events less 5 events with unrecorded size before death). b) The initial size of plants is shown with a logarithmic scale on the x-axis for ease of visualisation (many points between 5 and 15 cm), but results remain strictly unchanged using natural scale. Break point is highly significant ( $P < 0.001$ ), and its value is indicated based upon the segmented regression in the natural scale. Red lines correspond to the two segmented regression relationships. Slope of the first segment is not significantly different from 0.

*The size threshold selected:*

The mortality observed during the study was strongly dependant upon the size of the seedlings. Only 1.6 % of deaths were observed after seedlings had reached a size 12 cm (Fig S1a).

Between March and May 2011, below a size of 11.6 cm at the beginning of the interval, growth was very low. Above this size, growth increased significantly with the initial size (fig. S1b).

Finally, the mean height of the vegetation measured in 2011 was 13.5 cm, with no significant difference between fertilised areas and control. This indicates that close to this height, access to light was likely to be improved.

Based on these three consistent results, a size of 12 cm was selected to identify plants that were successfully recruited



## Supplementary 2. Method of determination of the rate of symbiotic nitrogen fixation (%N<sub>dfa</sub>) and N and P contents.

### Isotopic dilution

when a comparison is made between a legume, and a neighbouring plant that does not fix atmospheric nitrogen, and whose rhizospheres are located in the same soil volume, their difference of isotopic ratios [<sup>15</sup>N]/[<sup>14</sup>N] is indicator of the proportion of nitrogen derived from atmosphere in the tissues of the legume (Handley and Raven, 1992). Calculations to determine the %N<sub>dfa</sub> are indicated in the equations 1 and 2 below. They require the intermediate calculation of the <sup>15</sup>N enrichment (δ<sup>15</sup>N, équation 1) of legumes and plants used for reference relative to the atmosphere, as well as the <sup>15</sup>N enrichment of a legume whose 100 % of the nitrogen comes from atmosphere (δ<sup>15</sup>N<sub>fix</sub>):

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{plant}} = ([^{15}\text{N}]/[^{14}\text{N}]_{\text{plant}} - [^{15}\text{N}]/[^{14}\text{N}]_{\text{atm}}) / [^{15}\text{N}]/[^{14}\text{N}]_{\text{atm}} \times 1000 \quad (1)$$

$$\%N_{\text{dfa}} = [(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{leg}}) / (\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fix}})] \times 100 \quad (2)$$

With %N<sub>dfa</sub>: nitrogen fixation rate of the legume, δ<sup>15</sup>N<sub>ref</sub>: δ<sup>15</sup>N of the plant used for reference, and δ<sup>15</sup>N<sub>leg</sub>: δ<sup>15</sup>N of the legume. The δ<sup>15</sup>N<sub>fix</sub> of gorse is -0,55 ‰ (Cavard et al., 2007). This isotopic method is considered to give reliable results when there is large difference between δ<sup>15</sup>N<sub>leg</sub> and δ<sup>15</sup>N<sub>ref</sub> (Hogberg, 1997). Therefore, The whole surface of the stand was labelled at the end of the winter that followed the clear cut (i.e before vegetation started to grow) by homogeneous spray of <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>Cl corresponding to a non fertilising dose of 0.07 kg.<sup>15</sup>N.ha<sup>-1</sup> (isotopic dilution method *per se* (Oberson et al., 2007)).

### Choice of the non legume plants for reference

It has been shown that *Erica scoparia* and *Calluna vulgaris* were appropriate to serve as non legume plant for the use of the method, and that the δ<sup>15</sup>N was constant in the different tissues of gorse plants (Augusto et al., 2005). Therefore, for each sample, we harvested aerial tissues of the gorse plant, and a non legume plant which had a similar size and was distant from less than 0.5m. *E. scoparia* and *C. vulgaris* were chosen preferentially, but they were scarce in the stand (which vegetation was mainly herbaceous). Therefore, we had to reduce the number of replicates in a few plots.

*Measures of the δ<sup>15</sup>N, N and P contents.* The samples were dried, weighted, ground in a ball mill (Retsch PM4 planetary grinder, Retsch, Haan, Germany), before N content and δ<sup>15</sup>N determination by spectrometry ("sector field" ICP mass spectrophotometer). Their P content was determined by mineralisation with nitric acid (Van Veldhoven and Mannaerts, 1987). When the dry weight of plant material was inferior to 300 mg (small samples, for the smallest seedlings), P content could not be determined individually. Then, sampled were pulled together according to the class of size and fertilisation level.

### Correction of the %N<sub>dfa</sub>

As far as plants of small size are considered, the initial stock of nitrogen in the seed is an important part of their nitrogen mineral mass (e.g. 37.7 et 10.9 % for individuals of the two first classes of size in our sample, based on the determination of nitrogen mineral mass in 10 seeds). Therefore their isotopic ratio is influenced by this initial stock of nitrogen, and a correction of the %N<sub>dfa</sub> was made for the two classes of C1 and C2. Gorse plants maintain high fixation rate, even when the N content of soils increases (Drake, 2011). Moreover, measurements of the %N<sub>dfa</sub> of mature gorse plant in the region were always high (between 60 and 100% (Cavard et al., 2007)). Therefore, we assumed that the isotopic ratio of the gorse seeds was close to that of a gorse plant with a %N<sub>dfa</sub> of 100% (i.e. δ<sup>15</sup>N<sub>seed</sub> ≈ δ<sup>15</sup>N<sub>fix</sub>). N content and mineral mass of gorse seeds were measured (n= 10 seeds), as well as the mean Root: Shoot of gorse seedlings corresponding to the classes of size C1 and C2 (n= 13 seedlings; unpublished data). Then, from the δ<sup>15</sup>N<sub>seed</sub>, we calculated the quantities of <sup>15</sup>N and <sup>14</sup>N in the shoot of the seedlings that came from the seed. For each sample, we calculated a new isotopic ratio [<sup>15</sup>N]/[<sup>14</sup>N] by subtracting the nitrogen from the seed, and the values of δ<sup>15</sup>N<sub>leg</sub> and of the %N<sub>dfa</sub> were corrected accordingly.

## **Chapitre 4: MODELE CONCEPTUEL, CHOIX DES FORMALISMES ET DEFINITION DES PARAMETRES**

---

Lors de la présentation des objectifs de modélisation (chapitre 1, partie D), nous avons vu que le modèle préexistant (Mathieu 2008) nécessitait des évolutions importantes. Dans ce chapitre, nous présentons le modèle conceptuel proposé à l'issue du travail de thèse, dont la structure générale, mais aussi le formalisme pour décrire les différentes étapes du cycle de vie, sont en très grande partie complètement nouveaux. Nous présentons dans un premier temps une vue d'ensemble de ce nouveau modèle conceptuel. Dans un second temps, le choix des formalismes pour les différentes étapes du modèle est présenté, ainsi que la définition des paramètres correspondants.

### **A. Présentation du modèle conceptuel**

---

#### **1 *Rappel du cahier des charges et description générale***

Le modèle doit rendre compte de l'effet de différentes pratiques de sylviculture du pin maritime sur la dynamique de population d'une espèce du sous-bois, l'ajonc d'Europe. Pour cela il doit prévoir la dynamique de l'espèce cible, au cours de deux rotations sylvicoles successives, selon des itinéraires sylvicoles prédéfinis. Le modèle est d'abord prévu pour une parcelle située en lande humide, où l'espèce accompagnatrice principale présente dans le sous-bois est la molinie.

La simulation démarre suite à une coupe rase et labour du sol. L'initialisation du modèle commence donc par la détermination du stock de graines dans le sol, pour permettre la régénération de l'espèce suite à la coupe rase. Ensuite la dynamique de population de l'espèce suit les différentes étapes de son cycle de vie dont l'évolution est décrite avec un pas de temps annuel.

Le choix d'un IPS (Interacting Particule System) spatialement explicite a été fait. L'espace est représenté de manière discrète avec un treillis composé de cellules de 1 m<sup>2</sup>. Le stock de graines contenu dans chaque cellule est prédit par le modèle, ainsi que la quantité de plantules émergentes à partir de ce stock de graines. Plusieurs individus d'ajoncs peuvent être recrutés dans chaque cellule à partir de ces plantules (cf chapitre 1).

Chaque cellule est donc définie par:

- sa composition en ajoncs décrivant le stock de graines, les plantules et les plantes matures qu'elle contient
- son environnement: la quantité de lumière disponible après interception par la canopée des pins, sa position par rapport à la ligne de pins (déterminant l'occurrence des perturbations), et la composition en ajoncs des cellules voisines (pour rendre compte de la compétition intra-spécifique)

Le modèle doit décrire de manière précise l'évolution des différents états de l'espèce cible (graines, plantules, et individus matures) au cours des rotations sylvicoles, mais aussi de manière plus sommaire les autres espèces végétales présentes dans la parcelle qui interagissent avec l'ajonc (les pins maritimes qui interceptent la lumière et la végétation présente dans le sous-bois (e.g. la molinie) qui peut en particulier influencer la mortalité des



### **3      *Interaction du reste de la végétation avec les ajoncs***

#### **3.1.1    *Interaction avec les ajoncs adultes***

Pour les ajoncs adultes, l'interaction principale dont le modèle rend compte est l'interception de la lumière par la canopée de pins maritimes (Fig. 21). Cette interception influence de nombreuses étapes du cycle de vie au stade adulte de cette espèce héliophile (cf chapitre 1, et chapitre résultats, parties 1 et 2).

La compétition pour la lumière entre les ajoncs adultes et le reste du sous-bois est faible car l'ajonc domine en hauteur le sous-bois. De plus le modèle considère que le développement des ajoncs adultes est peu influencé par la compétition pour les nutriments avec le reste du sous-bois, l'espèce étant une légumineuse bien adaptée aux sols pauvres en éléments nutritifs (Clements et al., 2001). Le modèle rend bien compte de la compétition intra-spécifique pour les ressources, mais pas de la compétition interspécifique avec le reste du sous-bois.

#### **3.1.2    *Interaction avec les plantules d'ajoncs:***

Pour les ajoncs au stade plantule, ce sont les interactions de proximité qui sont prises en compte (i.e. avec le sous-bois). L'impact du sous-bois sur la mortalité des plantules d'ajoncs indique la compétition interspécifique pour l'ensemble des ressources (dont la lumière), mais l'interception de la lumière par la canopée des pins n'influence pas la réussite des plantules d'ajoncs dans le modèle. En effet, l'interception par les pins reste modérée comparée à l'interception par le sous-bois dont la surface foliaire par unité de surface est bien plus importante que celle du pin maritime en (environ 2 fois plus importantes pour la fougère, et 3 fois plus importantes pour la callune et la molinie dans la région (Gonzalez et al., 2013, cf Annexe 5)). De plus les plantules d'ajoncs sont tolérantes à une interception modérée de la lumière (Valladares et al., 2003).

### **4      *La prise en compte des différentes pratiques sylvicoles***

#### **4.1      *Description générale***

Le modèle doit rendre compte de l'effet de différents types de pratiques sylvicoles: le labour, le choix du schéma de plantation, et la fertilisation phosphatée à l'installation de la parcelle; les différentes perturbations aériennes au cours de la rotation (éclaircie, et contrôle du sous-bois) (cf chapitre 1).

La figure 22 suivante présente de manière simplifiée la prise en compte de ces pratiques grâce à la représentation discrète de l'espace sous forme de treillis dans le modèle.

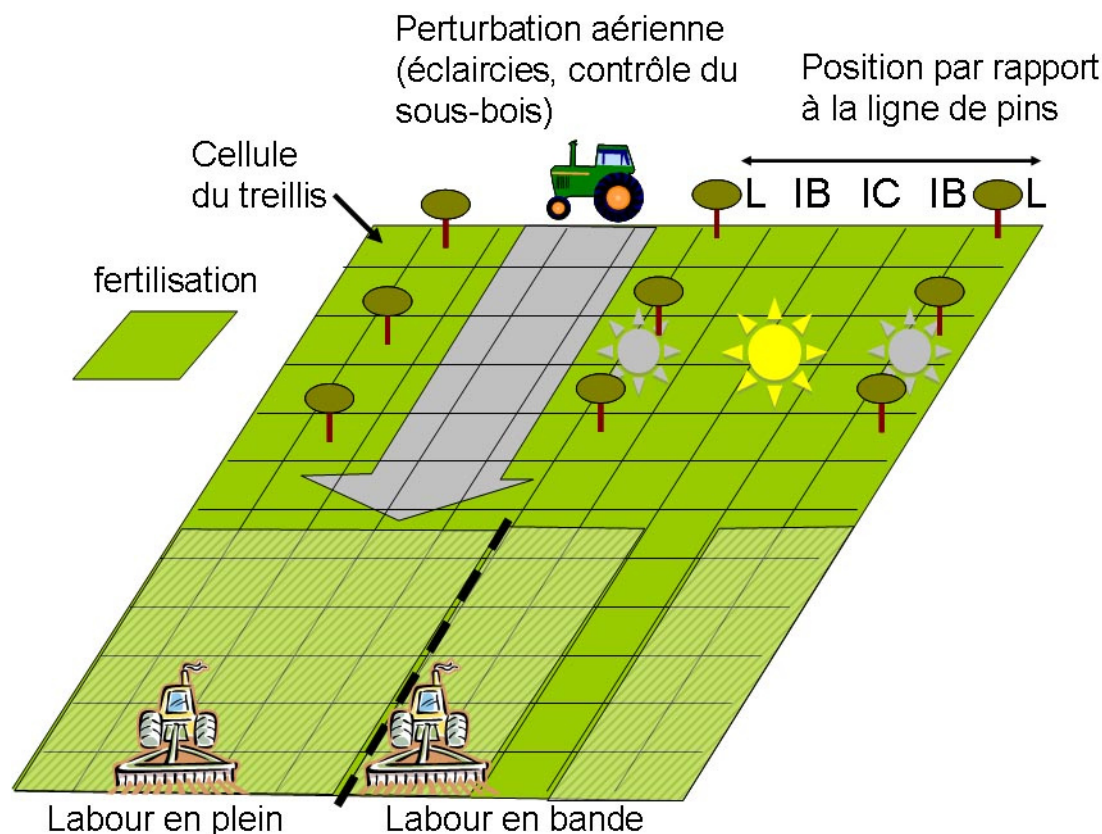


**Figure 22.** Les différentes opérations sylvicoles au sein de la parcelle. Exemple pour un interligne de 4 m.

Le schéma initial de plantation, en particulier la largeur de l'interligne permet de caractériser la position des cellules par rapport à la ligne de pins. Dans la figure 22, avec un interligne de 4 m, les cellules 'Ligne (L)', 'Interligne Bordure (IB)' et 'Interligne Centre (IC)' sont distinguées. Le labour en plein et la fertilisation impactent toutes les cellules de manière indifférenciée, la luminosité peut augmenter dans l'interligne (en position IB et IC) par rapport à la ligne de pins (position L), et les perturbations aériennes sont localisées dans les cellules de l'interligne (IB et IC).

#### 4.2 Définition des différents itinéraires sylvicoles en lande humide

Sur la base des évolutions de pratiques sylvicoles envisagées (cf tableau 1, Chapitre 1), 4 scénarios sont proposés définissant la fréquence des principales opérations sylvicoles indiquées sur la figure 22 (Tableau 7).

| Itinéraires<br>(objectif de<br>production)             | Durée<br>de la<br>rotation | Labour                           | Fertilisation<br>initiale                                                                                                                                          | Densité<br>initiale de<br>plantation<br>(tiges par<br>ha)                                                            | Eclaircies                                                                                                                                                           | Contrôle<br>mécanique<br>du sous-<br>bois                       |
|--------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>I1:<br/>Référence –<br/>Bois<br/>d'œuvre</b>        | 40 ans                     | En plein ( <i>en<br/>bande</i> ) | 80<br>kg.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .ha <sup>-1</sup><br>( <i>dose<br/>variable<br/>entre 0 et<br/>120 kg.<br/>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.ha<sup>-1</sup></i> ) | 1250 t.ha <sup>-1</sup> .<br>Interligne:<br>4m<br>Espacement<br>sur la ligne:<br>2 m                                 | - 12 ans<br>(850 t.ha <sup>-1</sup> .)<br>- 17 ans<br>(560 t.ha <sup>-1</sup> .)<br>- 22 ans<br>(410 t.ha <sup>-1</sup> .)<br>- 27 ans<br>(300 t.ha <sup>-1</sup> .) | Tous les 4<br>ans jusqu'à<br>la première<br>éclaircie           |
| <b>I2: Bois<br/>d'œuvre<br/>très haute<br/>qualité</b> | 60 ans                     | En plein ( <i>en<br/>bande</i> ) | Nulle ( <i>dose<br/>variable<br/>entre 0 et<br/>120 kg.<br/>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.ha<sup>-1</sup></i> )                                                       | Identique à l'itinéraire de référence.<br>Eclaircies possibles après 27 ans selon le<br>développement du peuplement. |                                                                                                                                                                      |                                                                 |
| <b>I3:<br/>Petit sciage</b>                            | 25 ans                     | En plein                         | 120<br>kg.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .ha <sup>-1</sup>                                                                                                          | 1666 t.ha <sup>-1</sup> .<br>Interligne:<br>3m<br>Espacement<br>sur la ligne:<br>2 m                                 | 10 ans (833<br>t.ha <sup>-1</sup> .)                                                                                                                                 | A 4 ans,<br>puis 10 ans<br>lors de la<br>première<br>éclaircie. |
| <b>I4:<br/>Biomasse</b>                                | 10 ans                     | En plein                         | 120<br>kg.P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .ha <sup>-1</sup>                                                                                                          | 2500 t.ha <sup>-1</sup> .<br>Interligne: 2<br>m<br>Espacement<br>sur la ligne:<br>2 m                                | Non                                                                                                                                                                  | Non (pas de<br>passage<br>possible<br>d'engins).                |

**Tableau 7.** Proposition de 4 scénarios sylvicoles représentant des objectifs de gestion contrastés dans la lande humide sur la base de ONF (2003) et CRPF (2009). En italique, des variantes possibles de certaines étapes de ces scénarios sont présentées.

L'impact de ces 4 scénarios devra être testé en priorité par le modèle, mais la combinaison des différentes pratiques qui peuvent être prise en compte (Fig. 22) peut conduire à la définition de nombreux itinéraires différents.

## 5 Présentation générale du cycle de vie de l'ajonc d'Europe:

La dynamique de population de l'espèce repose sur la représentation des différentes étapes du cycle de vie. La figure 23 présente les 9 étapes prise en compte dans le modèle, de l'apparition d'une nouvelle plantule à partir de la banque de graines, jusqu'au réapprovisionnement de la banque de graines par des ajoncs reproducteurs. Le formalisme utilisé pour chacune des étapes y est schématisé brièvement, il sera précisé par la suite pour chacune des 9 étapes. Trois types d'informations justifient le choix des différents formalismes: 1) les résultats présentés dans le chapitre précédent (utilisation d'encadrés rouges sur la figure), 2) les données issues de la littérature (encadrés jaunes) et 3) des résultats complémentaires obtenus au cours de cette thèse correspondant aux expérimentations présentées en annexes 1 à 3 (encadrés verts).

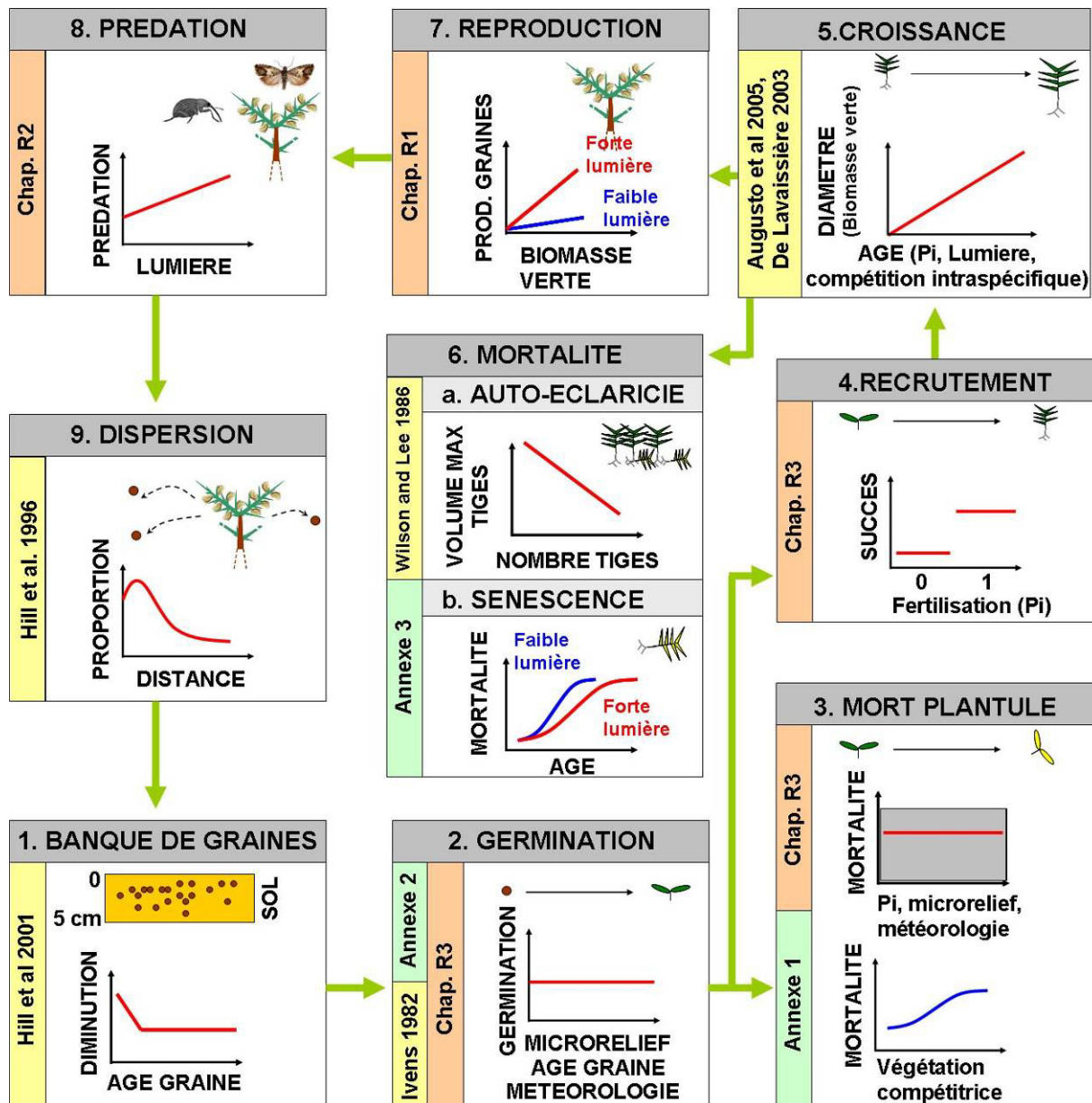


**Figure 23.** Principales étapes du cycle de vie de l'ajonc d'Europe et choix des formalismes pour le modèle écodynamique. Chap. R1, R2 et R3 désignent respectivement les parties 1, 2 et 3 du chapitre de résultats précédent.



## Etapes suivies par l'algorithme

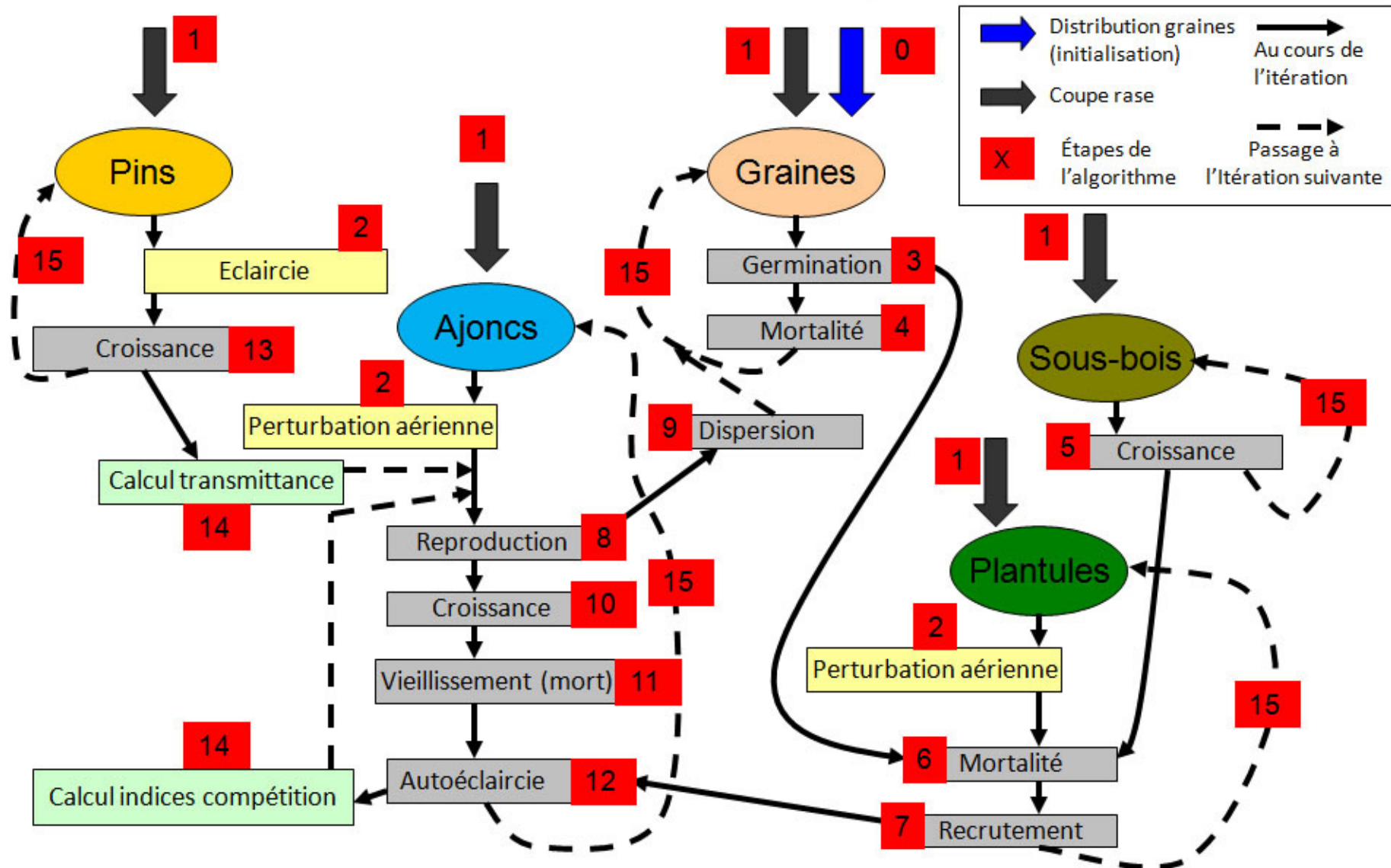


Figure 24. Ordre chronologique des différentes étapes suivies par l'algorithme du modèle.



La disponibilité en phosphate inorganique (Pi), et la lumière disponible au niveau du sous-bois sont dépendants des itinéraires sylvicoles suivis et de la croissance des pins maritimes. En plus des différentes étapes décrites sur la figure 23 ci-dessus, un rejet de souche de l'espèce sera autorisé en cas de perturbation aérienne liée à la sylviculture. Pour cela, le modèle suivra les résultats obtenus par Reyes et al (2009), montrant une probabilité de rejeter de souche de l'espèce toujours forte, maximale vers 3 ans, puis diminuant légèrement avec l'âge des ajoncs.

## **6 *Chronologie et lien entre les différentes étapes à modéliser***

Les étapes à modéliser sont nombreuses, et concernent différents objets: les graines, les plantules, les ajoncs adultes, les pins maritimes et le sous-bois. Un schéma récapitulatif (Figure 24) présente l'ordre chronologique qui devrait être suivi par l'algorithme du modèle à chaque pas de temps, et la position des étapes qui permettent de passer d'un état à un autre.

## B. Description du modèle étape par étape: choix des formalismes et définition des paramètres:

Les différentes étapes du cycle de vie de l'ajonc d'Europe sont d'abord présentées. Leur modélisation repose sur les principaux enseignements du chapitre de résultats précédent, et sur des résultats complémentaires issus du travail de thèse. La numérotation des étapes reprend celle indiquée sur la figure 23. Dans un second temps, nous préciserons les paramètres nécessaires à la prise en compte des différentes pratiques sylvicoles. A la suite de la présentation de chaque étape du modèle, des encadrés gris rappellent les principaux choix effectués, ainsi que les valeurs des paramètres correspondants.

### 1 *Le cycle de vie de l'ajonc d'Europe*

#### 1.1 *La diminution du stock de graines dans le sol et le taux d'émergence (étapes 1 et 2)*

##### 1.1.1 *Modélisation de la dynamique d'un stock de graines.*

Trois paramètres sont impliqués dans la dynamique de la banque de graines: le taux d'émergence ( $p_g$ , i.e. le taux de graines germant et émergeant en surface), le taux de mortalité dans le sol ( $p_d$ , comprenant les graines germant sans donner lieu à une émergence), et le taux de diminution total du stock de graines dans le sol ( $p_d$ ). La mesure ou l'estimation de ces paramètres posent deux problèmes (Figure 25). D'abord si l'émergence est visible en surface ( $n_g$ ), la mortalité dans le sol est difficilement observée ( $n_d$ ). Ensuite, l'émergence et la mortalité sont des processus continus dans le temps. Pour faciliter le calcul de l'évolution du stock de graines dans le temps ( $S_t$ ), les différents taux sont calculés sur des tranches de temps discrètes (e.g. annuelles, Figure 25). Lorsque le nombre d'émergences est suivi, il y a 2 possibilités: soit l'évolution du stock de graine est connue, alors  $p_d$  et  $p_g$  sont simplement exprimés en fonction du stock de graines initial au pas de temps ( $p_d$  et  $n_d$  sont déduits, Figure 25a); soit l'évolution du stock de graines est inconnue, l'émergence est alors considérée une fois la mortalité intervenue (Figure 25b, e.g. Magda et al., 2009), ou inversement (Rees and Long, 1993). Mais la détermination de l'évolution du stock nécessite dans les deux cas de fixer à priori l'évolution d'un des deux autres taux ( $p_g$  ou  $p_d$ ) dans le temps (e.g. constance de  $p_d$ , Magda et al., 2009).

Dans notre cas, la majorité des données issues de la littérature (Hill et al., 2001; Ivens, 1982) fournissent des valeurs de stock de graines dans le sol. De plus une expérience d'enfouissement de graines et de suivi de l'émergence a eu lieu pendant 1 an (annexe 2), permettant d'estimer  $n_g$ ,  $S_{init}$  et  $S_{fin}$  sur la durée de l'expérience. La modélisation de la dynamique du stock de graines sera donc basée sur l'utilisation d'un taux annuel de diminution du stock ( $p_d$ ), et l'utilisation d'un taux d'émergence aussi annuel ( $p_g$ ), tel que défini par les équations 1 et 2 indiquées sur la figure 25a.

La détermination des paramètres  $p_g$  et  $p_d$ , dont il est question dans les paragraphes suivants, concernent le stock de graines situé à faible profondeur (0-5 cm). En effet, c'est à partir de ces graines de surface que l'émergence de nouveaux individus a lieu (Rees and Hill, 2001).

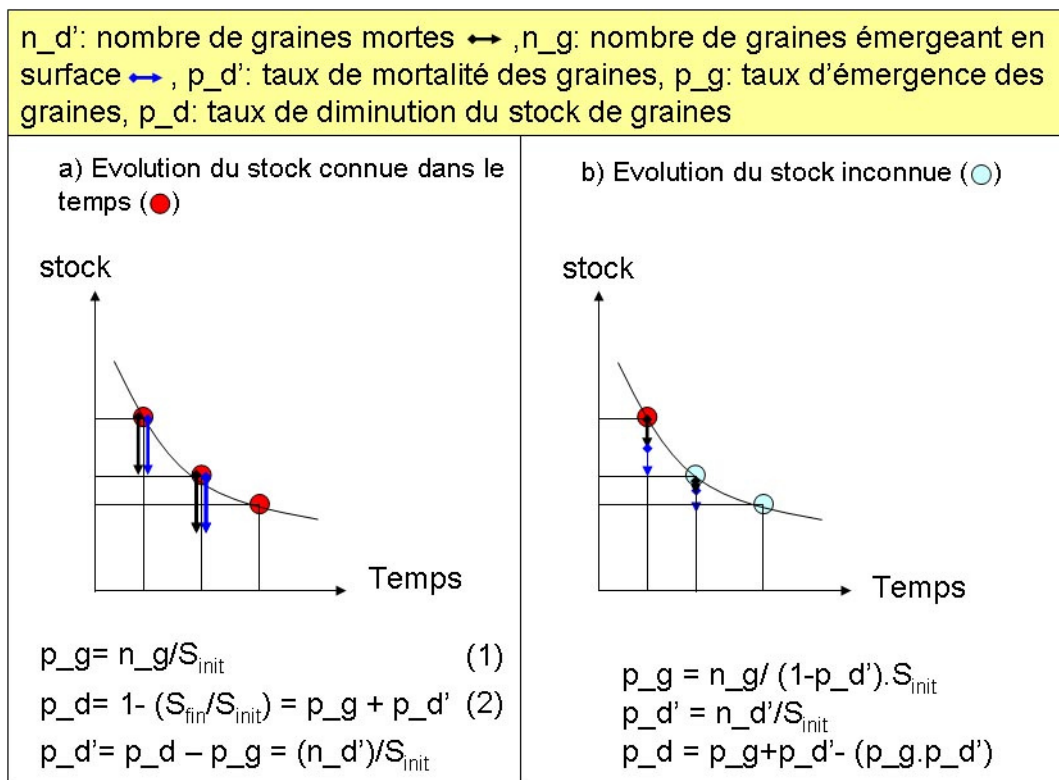


**Figure 25** Evolution du stock de graines dans le sol et estimation des paramètres associés

### 1.1.2 Estimation de $p_g$ (taux d'émergence des graines)

#### 1.1.2.1 D'après l'expérience d'enfouissement (annexe 2)

A partir de 1000 graines enfouies pendant 1 an de novembre 2010 à novembre 2011, 98 plantules sont apparues permettant une première estimation de  $p_g$  de **9.8%**. Cependant, des observations de fourmis, sûrement attirées par la concentration importante de graines avec un élaiosome dans le dispositif, et les transportant en dehors des zones d'enfouissement, ont été faites au mois de Mai. Cela suggère que ce taux est sous-estimé.

#### 1.1.2.2 D'après les données de la littérature

En considérant que  $p_d$  est constant dans le temps pour l'ajonc d'Europe (Hill et al., 2001), une estimation d'un  $p_g$  annuel de **8,8%** est possible à partir des observations de Ivens (Ivens, 1982). De plus, Reyes et al (2009) indiquent un  $p_g$  de **10%** au Nord de l'Espagne.

#### 1.1.2.3 D'après l'observation de l'émergence au Rousset (chapitre Résultats, partie 3)

A partir des différents taux d'émergence précités, les stocks de graines nécessaires pour l'observation du nombre d'émergences ayant eu lieu au Rousset sont déterminés. Un taux d'émergence supérieur de 30% à celui mesuré lors de l'expérience d'enfouissement des graines (i.e. 12.7 %) est aussi utilisé en raison d'un possible impact des fourmis. Les taux de diminution de la banque de graines sont recalculés conjointement.

Les résultats des calculs sont présentés dans le tableau 8. Leur cohérence est jugée par rapport à : 1) une différence initiale connue de 100 graines par  $m^2$  (correspondant au traitement de semis), 2) des densités de graines après un an, estimée à l'occasion d'un stage de Master 1 (Munar, 2011) , qui indiquent une densité de graines comprise entre 20 et 30  $gr/m^2$  en zones non semées, et entre 25 et 40  $gr/m^2$  en zone semées, et 3) la faible émergence

observée à l'automne après 2 années de suivi (Figure 1b du chapitre Résultats, partie 3) qui suggère un épuisement du stock.

| p_g    | stock initial (gr/m <sup>2</sup> ) |                     | différence<br>initiale (gr/m <sup>2</sup> ) | stock après 1 an (gr/m <sup>2</sup> ) |                     |
|--------|------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|
|        | zones<br>semées                    | zones non<br>semées |                                             | zones semées                          | zones non<br>semées |
| 8,80%  | 162                                | 64                  | 98                                          | 45                                    | 29                  |
| 9,80%  | 126                                | 50                  | 76                                          | 40                                    | 26                  |
| 12,70% | 112                                | 44                  | 68                                          | 30                                    | 20                  |

**Tableau 8.** Différents taux d'émergence utilisés pour le calcul du stock de graines au cours de l'expérience du Rousset.

Le seul taux qui permet d'obtenir des densités initiales et après un an cohérentes avec les observations est celui calculé à partir de Ivens (1982). De plus, les taux de diminution du stock de graines dans le sol correspondants sont de 54% en zone non semées, et 72% en zones semées, aboutissant à seulement 10 à 20 graines par m<sup>2</sup> sur l'ensemble de la parcelle à la fin du suivi.

#### 1.1.2.4 Choix d'un p\_g constant dans le temps et dans l'espace

Les taux estimés à partir de la littérature indiquent un p\_g annuel autour de 9 et 10%. Sur la base des observations au Rousset (Tableau 8), un **p\_g** de **9%** est retenu pour la modélisation. Ce taux est légèrement inférieur à celui mesuré lors de l'expérience d'enfouissement de graines. Cependant, les conditions expérimentales lors de l'enfouissement sont différentes de celles du Rousset, qui correspondent plus à une situation en conditions naturelles, et cela pourrait en partie expliquer cette différence. Par exemple, la végétation est constamment retirée dans l'expérience d'enfouissement pour faciliter les observations.

##### *Constance dans le temps*

Il est possible d'envisager que ce taux varie avec l'âge de la graine. Par exemple, les embryons contenus dans les jeunes graines peuvent être moins déshydratés, provoquant une dormance plus facile à lever chez ces graines (Harper, 1977). Sur la parcelle du Rousset, cela pourrait se traduire par un taux d'émergence plus élevé dans les zones semées (avec des graines nouvellement produites récoltées sur des ajoncs en fin de période de reproduction). De plus, les conditions climatiques pourraient modifier le p\_g dans le temps. La pluviométrie au printemps, période de forte émergence, a été supérieure en 2010 au Rousset par rapport à 2011, et des taux d'émergences supérieurs en 2010 pourraient avoir eu lieu.

Cependant, les résultats des deux modifications suggérées ici aboutiraient à des estimations des stocks de graines initiaux au Rousset dont les différences seraient bien inférieures à 100 gr.m<sup>-2</sup>. Au contraire, un p\_g constant semble nécessaire pour expliquer les observations du Rousset.

Hill et al. (2001) mesurent un p\_d relativement constant sur une dizaine d'année, et quel que soit l'âge de la graine. Considérant l'équation 2, cela impliquerait que des variations de p\_g seraient compensées par des variations contraires de même amplitude de p\_d'. Hors ces mêmes auteurs indiquent que le p\_d' est essentiellement lié à des germinations ne donnant pas lieu à des émergences en surface. Ce qui favorise le p\_g, favoriserait aussi, au moins en partie le p\_d'. La constance du p\_d pourrait alors avoir une explication plus simple: la constance du p\_g, et du p\_d'.

##### *Constance dans l'espace*

Les résultats du Chapitre Résultats (partie 3) ont montré que le microrelief pouvait influencer l'émergence des plantules. Mais cet effet n'est pas constant dans le temps, et à l'échelle du quadrat de 1m<sup>2</sup>, il influence peu le nombre de plantules émergentes. Une simplification est proposée, en ne considérant pas l'effet du microrelief dans la parcelle. Ce microrelief ne sera donc pas représenté dans le modèle et le taux d'émergence sera appliqué de manière uniforme sur l'ensemble de la surface.

Un **p<sub>g</sub>** annuel de **9%**, constant dans le temps et l'espace, est choisi pour la modélisation. Dans chaque cellule de 1 m<sup>2</sup>, le nombre de plantules émergentes est déterminé par un tirage dans la loi de Poisson dont la moyenne  $\mu$  est égale au nombre de graines présentes dans le sol au début de l'intervalle, multiplié par le taux d'émergence ( $\mu = S_{init} * p_g$ ).

### 1.1.3 Estimation de $p_d$ (diminution du stock de graines)

#### 1.1.3.1 D'après l'expérience d'enfouissement (annexe 2)

Un an après l'enfouissement de 1000 graines, seules 17 sont retrouvées. Le taux de diminution correspondant (98%) n'est pas réaliste considérant la capacité de l'espèce à former une banque de graines persistante dans le sol (Hill et al., 2001). Le transport des graines par les fourmis en dehors des zones d'enfouissement est sûrement responsable de ce résultat. D'autres sources d'informations sont utilisées pour estimer le  $p_d$  dans notre milieu.

#### 1.1.3.2 D'après les données de la littérature (en Nouvelle-Zélande)

Les résultats d'une expérience de suivi de ce taux, pendant 10 ans, au niveau de 3 sites néo-zélandais, et à une profondeur d'environ 3 cm (Hill et al., 2001) sont présentés sur la figure 26 suivante.

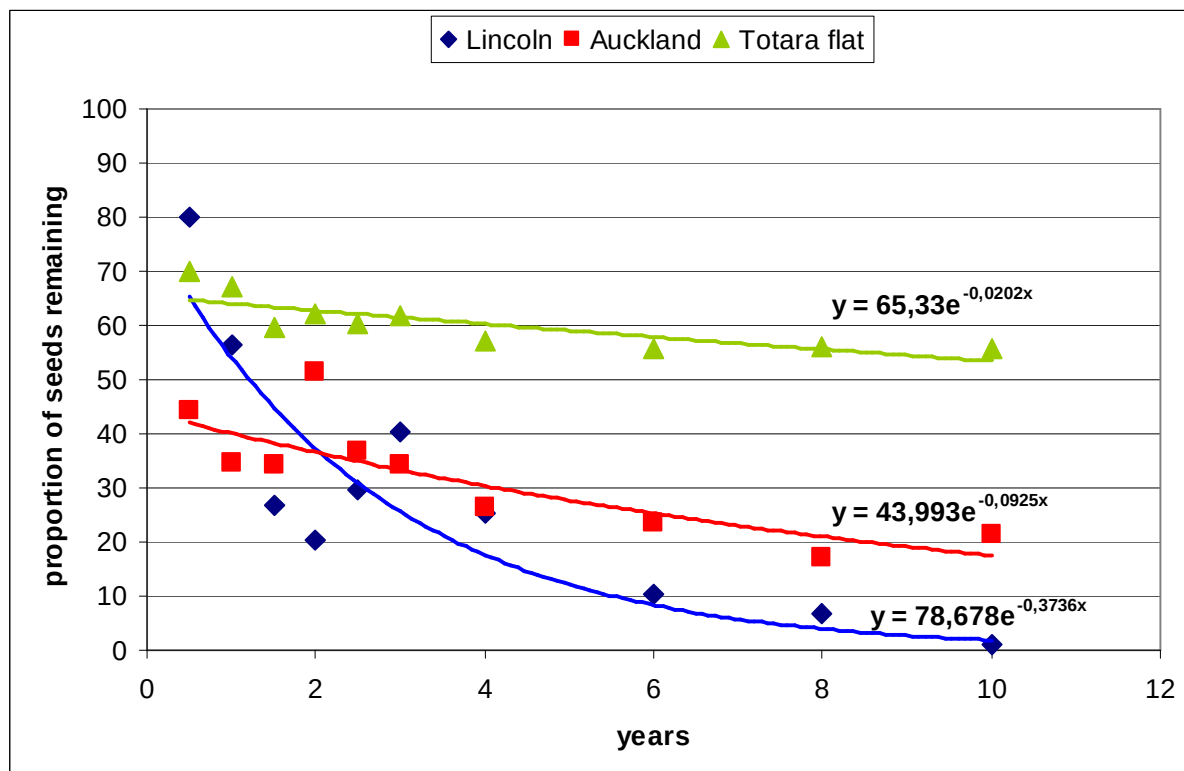


**Figure 26.** Diminution du stock de graines avec le temps, d'après Hill et al (2001).

Des relations exponentielles s'ajustent mieux aux données que des fonctions linéaires ou puissance (excepté pour le site de Totara flat où une relation linéaire donne un ajustement similaire). Ces fonctions exponentielles impliquent que le  $p_d$  annuel est constant. Le taux moyen obtenu à partir des Sites de Auckland et Lincoln (21%) correspond à celui utilisé dans le modèle de dynamique de l'ajonc d'Europe en Nouvelle Zélande (Rees and Hill, 2001).

Cependant, ces fonctions exponentielles ne permettent pas de rendre compte de la plus forte diminution du stock de graines observée la première année après enfouissement. En effet les interceptions avec l'axe des ordonnées (à  $t_0$ ) devraient être à 100%, contrairement à ce qu'indiquent les relations exponentielles.

En conséquence, le  $p_d$  peut être mieux estimé pour la première année comme le résultat de :  $p_{d_{an1}} (\%) = (100 - \text{proportion restante}_{fin\_an1})/100$ .

Ainsi les  $p_d$  correspondants à la figure 26 peuvent être représentés comme indiqué par la figure 27 avec: 1) un  $p_d$  élevé la première année, puis 2) un  $p_d$  constant avec le temps.

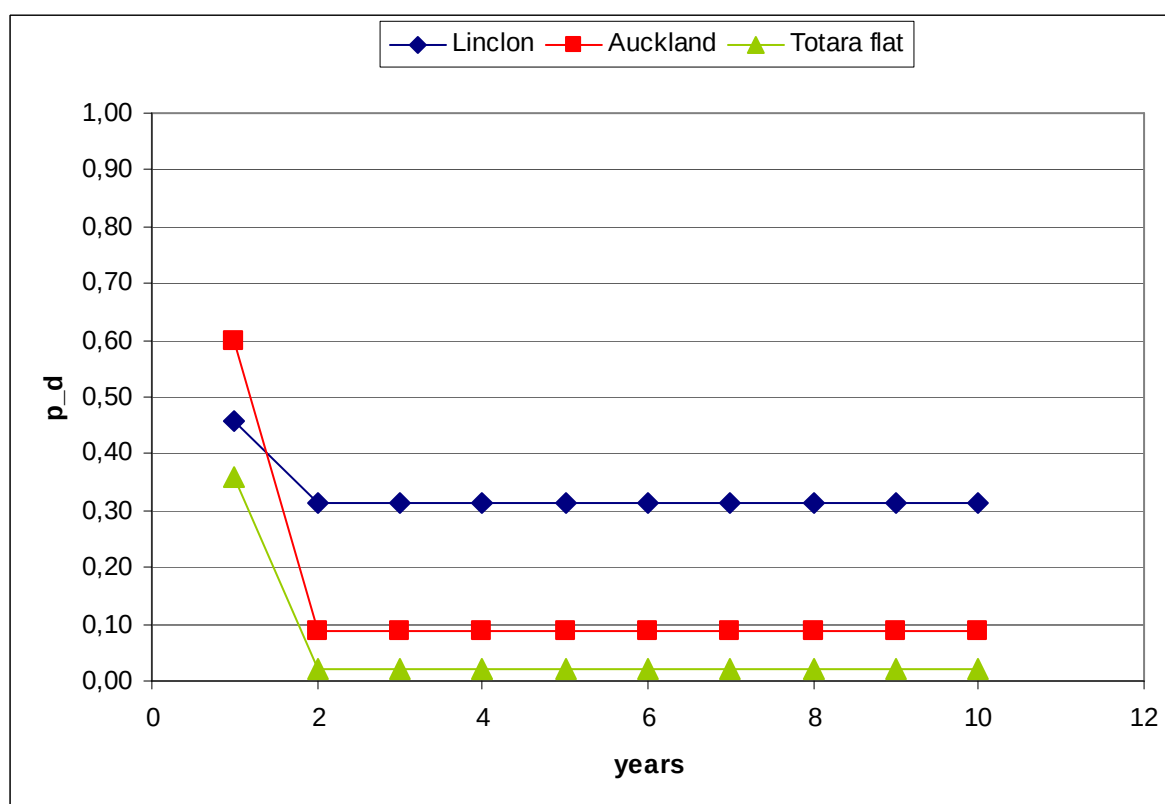


**Figure 27.** Evolution des  $p_d$  dans le temps estimés à partir de Hill et al (2001).

Cette dualité du  $p_d$  pourrait indiquer que la première année après la production des graines, un fort filtre environnemental détermine les graines qui survivent, et qui vont constituer la banque de graines effective. Ensuite, les graines restantes peuvent rester viables et en dormance sur des temps longs.

### 1.1.3.3 D'après les observations au Rousset

Les calculs du tableau 8 ci-dessus impliquent également 2  $p_d$  différents: 1) pour les zones semées ( $p_d=72\%$ ), et pour les zones non semées ( $p_d = 54\%$ ). Dans les zones non semées, ce  $p_d$  correspond à des graines produites avant la coupe rase, il pourrait correspondre à un  $p_d$  constant dans le temps, une fois les graines intégrées au stock du sol. Avec un  $p_g$  de 9%, le stock initial calculé est de 62 gr.m<sup>-2</sup> en zone non semées, et 159 gr. m<sup>-2</sup> en zone semées. Dans ces zones semées, le stock initial serait donc constitué de 62 graines

anciennes par m<sup>2</sup> et de 97 graines semées, correspondant à des graines nouvellement produites. Au bout d'un an, le stock calculé dans les zones semées est de 44 gr/m<sup>2</sup>. En utilisant un p<sub>d</sub> de 54% pour les graines anciennes, on peut calculer le p<sub>d</sub> pour les graines nouvellement produites:

$$S_{fin\_an1}(44) = (1 - p_{d\_semées}) \cdot S_{init} = 62 \cdot (1 - p_{d\_gr\_anciennes}) + 97 \cdot (1 - p_{d\_gr\_nouvelles})$$

$$\text{Ainsi } p_{d\_gr\_nouvelles} = 0.85.$$

Même si ces 2 valeurs (0.85 puis 0.54) sont supérieures à celles obtenues en Nouvelle-Zélande (Fig. 4), on retrouve une différence importante de p<sub>d</sub> entre les graines nouvellement produites et les graines plus anciennes. D'après l'équation 2 (Fig. 25), on peut déduire que la mortalité dans le sol la première année pour les graines nouvellement produites correspond à:

$$p_{d'}_{gr\_nouvelles} = p_{d\_gr\_nouvelles} - p_g = 0.76$$

#### **1.1.3.4 D'après la connaissance des densités de graines maximales atteintes dans la région**

D'après les résultats des deux premiers chapitres de résultats concernant la production et la prédation des graines avant la dispersion, on peut estimer la quantité maximale de graines produite et dispersée par m<sup>2</sup> par l'ajonc d'Europe. Cette estimation est faite dans les zones les plus denses en ajoncs, en pleine lumière (Chapitre Résultats, partie 1 & 2), et indique une pluie de graines annuelle de 2280 graines par m<sup>2</sup>.

Les graines d'ajoncs produites au printemps doivent subir une période froide hivernale avant de pouvoir germer (stratification). Ainsi, une part importante des graines dispersées (i.e. p<sub>d'</sub><sub>gr\_nouvelles</sub>) serait perdues au cours du processus d'entrée dans la banque de graine, avant même de pouvoir germer. Il est alors possible de considérer que l'alimentation annuelle maximale de la banque de graine effective (i.e. pouvant germer) est seulement de :

$$Alim_{max} = 2280 \cdot (1 - 0.76) = 547 \text{ gr.m}^{-2}.\text{an}^{-1}$$

Puis, les années suivantes, 54% des graines restantes (i.e. p<sub>d</sub><sub>gr\_anciennes</sub>) disparaissent. Dans ces conditions, la densité maximale de graines possible est atteinte au bout de 7 ans et correspond à 1011 gr/m<sup>2</sup>. Ce résultat est cohérent avec l'étude de Gonzalez et al. (2010), qui indique des valeurs de densités de graines en surface pouvant atteindre 900 gr.m<sup>2</sup>, sous couvert d'ajoncs d'Europe matures.

Deux valeurs seront utilisées au cours de la modélisation relative à la diminution du stock de graine. D'abord, 76% des graines seront perdues l'année correspondant à leur production (**p<sub>d'</sub><sub>gr\_nouvelles</sub>**), sans pouvoir germer. Cette proportion ne sera pas considérée dans la banque de graines active. Les 24% restant alimenteront le stock de graine du sol. Chaque année, le stock de graines final dans la cellule sera déterminé par un tirage dans la loi de poisson de moyenne  $\mu = S_{init} \cdot (1 - p_{d\_gr\_anciennes})$ , soit  $\mu = S_{init} \cdot 0.46$ .

## **1.2 La mortalité des plantules et le recrutement de nouveaux individus (étapes 3 et 4)**

Sur des pas de temps annuels, dans l'expérience du Rousset, les variables environnementales semblent peu influencer les chances de réussite de l'apparition d'une nouvelle plante adulte (Chapitre Résultats, partie 3). Les taux de mortalité sont très variables dans le temps et l'espace, et aucun habitat préférentiel n'a été détecté pour la survie des plantules. Cependant, pour les plantules non éliminées, la fertilisation phosphatée améliore la croissance, et la rapidité du recrutement.

Des résultats complémentaires sont apportés dans les paragraphes suivants pour observer les différences de taux de mortalité et de recrutement des plantules entre les 2 années de l'étude, entre les différentes cohortes, et selon la fertilisation phosphatée.

### **1.2.1 La mortalité (étape 3)**

#### **1.2.1.1 Correction des taux de mortalité des plantules observés au Rousset**

En fin d'expérience au Rousset, une partie des jeunes ajoncs constitue encore un stock de plantules au devenir incertain (Figure 1e, Chapitre Résultats, partie 3). Certaines d'entre elles vont probablement mourir, i.e. les taux de mortalités observés sur l'ensemble des suivis fait au rousset sont incomplets. Une estimation plus précise des taux de mortalité nécessite de prendre en compte une possible mortalité au-delà de la période d'observation.

Si l'on considère seulement les mortalités observées, aucune différence significative n'est observée entre les plantules apparues en 2010 et en 2011, composant différentes cohortes, ou localisées dans différents traitement de fertilisation. Par contre la mortalité est très liée à la taille des plantules (Figure 2a, Chapitre Résultats, partie 3). En conséquence, une régression logistique est effectuée entre la taille de tous les jeunes ajoncs présents au rousset à la fin de la première année d'observation (variable explicative) et la mortalité observée au cours de l'année suivante (variable dépendante). L'effet de taille est confirmée ( $P < 0.001$ ).

Puis cette relation obtenue entre la taille en fin d'année 1 et la mortalité l'année 2 est utilisée pour prendre en compte la mortalité non observée des plantules présentes en fin d'expérience au Rousset (i.e. en fin d'année 2) l'année suivante (i.e l'année 3). Une mortalité ultérieure n'est pas considérée. Finalement, cette correction de la mortalité concerne 23% des plantules qui étaient présentes lors de la dernière observation au Rousset.

#### **1.2.1.2 Effet année, cohorte et fertilisation**

Après la correction indiquée au paragraphe précédent, une faible différence, non significative, est observée entre les taux de mortalité des plantules apparues en 2010 (61%) et en 2011 (53%) (Figure 28), malgré des différences météorologiques marquées. Le traitement de fertilisation a eu aussi peu d'effet sur la mortalité de l'ensemble de l'échantillon (taux de 60% en zones fertilisées, et de 57% en zones non fertilisées). Par rapport au taux de mortalité moyen observé sur l'ensemble de l'étude (59%), les seules différences significatives concernent les plantules apparues au début de l'été 2010 (taux de mortalité plus faibles (38%)), et celles apparues avant l'hiver 2010-2011 (taux plus élevées (71%)) (Figure 5). On notera en particulier que les plantules apparues pendant la période sèche du printemps-été 2011 ne présentent pas, au final, des taux de mortalités supérieurs (57%).



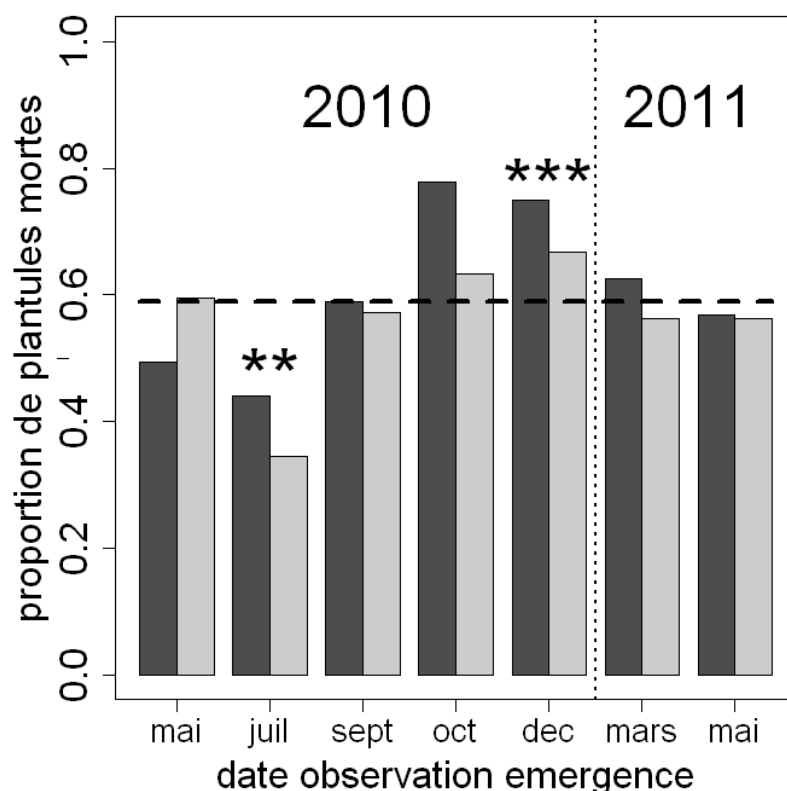


**Figure 28.** Taux de mortalité des plantules au Rousset, en fonction des cohortes et de la fertilisation. Les plantules des zones fertilisées sont indiquées en gris foncé, celles en zones non fertilisées en gris clair. Le trait en pointillé indique le taux de mortalité sur l'ensemble des plantules suivies (59%). Le nombre de plantules dans les cohortes apparues après Mai 2011 est très faible (<15 par cohorte). En conséquence leur taux de mortalité sont peu représentatifs, et ne sont pas présentés. Les étoiles indiquent les cohortes pour lesquelles les taux de mortalité sont significativement différents du taux moyen (test binomial, \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ).

Si des différences de conditions météorologiques, à la date d'apparition, mais aussi par la suite lors du développement des plantules, peuvent être responsables des quelques différences observées, elles apparaissent difficilement prédictibles. De plus, l'utilisation, au sein du modèle, de probabilités de mourir différentes en fonction de la date ou saison d'apparition obligerait à affiner les quantités de plantules émergentes sur des pas de temps infra-annuel (au cours de différentes périodes ou saisons). Si une pluviométrie saisonnière importante semble favoriser l'émergence de nouvelles plantules (Chapitre Résultats, partie 3), cela pourrait aussi être le cas de températures chaudes (Ivens, 1982).

Finalement, peu d'informations sont disponibles quant aux relations entre les variations météorologiques et l'émergence saisonnière des plantules, puis quant à un possible impact sur leur survie ultérieure. Les résultats obtenus lors de l'étude sur la parcelle du Rousset suggèrent l'utilisation d'un simple taux de mortalité, constant pour toutes les plantules, sur l'ensemble de la surface modélisée.

### 1.2.1.3 Mortalité et lien avec le développement du sous-bois:

Malgré le développement plus avancé de la végétation herbacée (dominée par la molinie) au Rousset en 2011 par rapport à 2010, les taux de mortalités des plantules apparues les deux années sont similaires. D'autres observations des taux de mortalité ont été faites, pour des plantules d'ajoncs transplantées au printemps 2012 1) sous un couvert très dense de molinie, et 2) en l'absence totale et maintenue de la végétation (Annexe 1). Ces taux sont

corrigés de manière identique à celle présentée pour les données du Rousset, en prenant en compte une mortalité possible non observée après la fin de l'expérimentation.

Cela permet d'obtenir une relation entre le taux de mortalité des plantules et le développement de la molinie dans une gamme beaucoup plus large (Figure 29). Le développement de la Molinie est exprimé en  $\text{g.m}^{-2}$  de matière sèche aérienne en fin de saison de croissance de la végétation, pour l'année où la plantule apparaît, à partir des différents prélèvements effectués au Rousset mais aussi dans le dispositif présenté en Annexe 1.

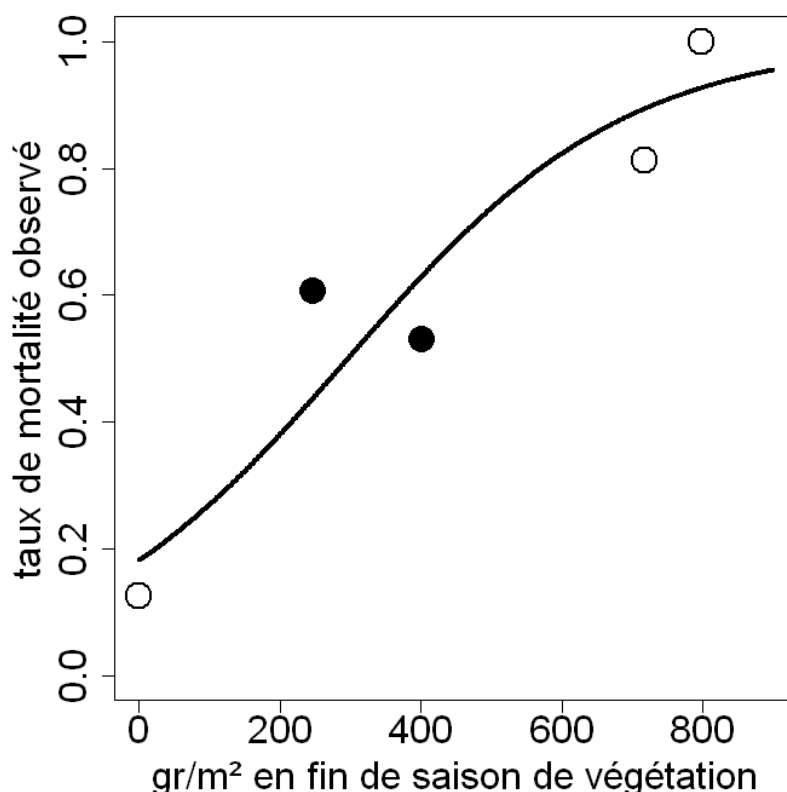


**Figure 29.** Taux de mortalité des plantules, selon le développement de la molinie l'année de leur apparition. Les points noirs correspondent aux observations de la parcelle du Rousset, les points blancs correspondent aux observations après transplantation de plantules sous couvert contrôlé de molinie, et au témoin correspondant exempt de végétation (Annexe 1). La ligne noire indique le résultat de la régression logistique où l'effet de la végétation est très significatif ( $P < 0.001$ ) (avec  $p\_death_{seedlings}$ , probabilité de mourir d'une plantule,  $logit(p\_death_{seedling}) = -1.50 + 51.10^{-2} poids_{veg}$ )

Chaque année, une probabilité de mourir sera utilisée ( $p\_death_{seedlings}$ ) pour les nouvelles plantules émergentes. Elle dépendra du développement de la végétation l'année de l'apparition de la plantule. D'éventuelles différences interannuelles d'origine climatiques ne seront pas prises en compte. Cette probabilité sera comparée pour chaque plantule à un tirage aléatoire dans la loi uniforme  $[0,1]$ . Si  $p\_death_{seedling}$  est supérieur au résultat du tirage, la plantule meurt.

#### 1.2.1.4 Ce qu'il reste à faire pour modéliser la mortalité des plantules:

Pour la construction d'un modèle écodynamique en lande humide, la relation présentée sur la figure 29 sera directement utilisée. Le modèle devra prévoir des courbes de développement de la molinie après la coupe rase, à l'échelle de la parcelle, avec un pas de

temps annuel, selon les pratiques de fertilisation. Les phytovolumes mesurés de la molinie au cours de la rotation, dans le cadre du projet ALTerNative aux HERbicides (ALTER) en forêt (<http://www6.nancy.inra.fr>) pourront être utilisés, de pair avec les relations liant la biomasse aérienne aux phytovolumes (Gonzalez et al., 2013, cf Annexe 5).

Pour une utilisation du modèle dans d'autres types de landes, des relations devront être établies pour la callune et la Fougère. Les résultats du dispositif présenté en annexe 1 pourront y contribuer.

### *1.2.2 Le recrutement des nouveaux individus (étape 4)*

L'analyse de la mortalité au Rousset présentée ci-dessus ayant pris en compte les morts probables non observées à la suite de l'expérimentation, la probabilité de recrutement pour les individus restant est de 1. D'après les résultats présentés dans le Chapitre Résultats (partie 3), un recrutement réussi correspond à un ajonc dépassant un seuil de taille de 12 cm.

#### *1.2.2.1 Fertilisation et rapidité de recrutement*

Si le recrutement est assuré pour les individus survivants, la rapidité d'atteinte du seuil est influencée par la fertilisation, qui favorise la croissance (Chapitre Résultats, partie 3). Mais quelle que soit la fertilisation dans la zone d'émergence des premières cohortes apparues au Rousset, la proportion de plantules ayant atteint le seuil de recrutement en fin d'expérience est très élevée (i.e. 94% pour la première cohorte, et 79% pour la deuxième cohorte). Pour la modélisation nous considérerons donc: 1) que l'année d'émergence d'une plantule, la probabilité d'atteindre le seuil de recrutement est supérieure en cas de fertilisation, et 2) en fin de deuxième année, la probabilité de recrutement est de 1, indépendamment de la fertilisation.

Pour l'ensemble des plantules apparues en 2010, les proportions recrutées en fin d'année étaient de 44 et 23% en zones fertilisées et non fertilisées. Pour les plantules apparues en 2011, elles étaient de 47% et 33%. Ces proportions sont proches et une valeur moyenne sera utilisée pour la modélisation.

Pour les plantules non mortes, les probabilités de recrutement la première année d'apparition des plantules sont fixées à 45% en cas de fertilisation ( $p_{R_{an1\_fert}}$ ), sans distinction de la dose appliquée, et à 25% sans fertilisation ( $p_{R_{an1\_nonfert}}$ ). Ces probabilités seront comparées à un tirage dans la loi uniforme  $[0,1]$  pour déterminer la réussite du recrutement. les plantules restantes seront automatiquement recrutées la deuxième année après leur apparition.

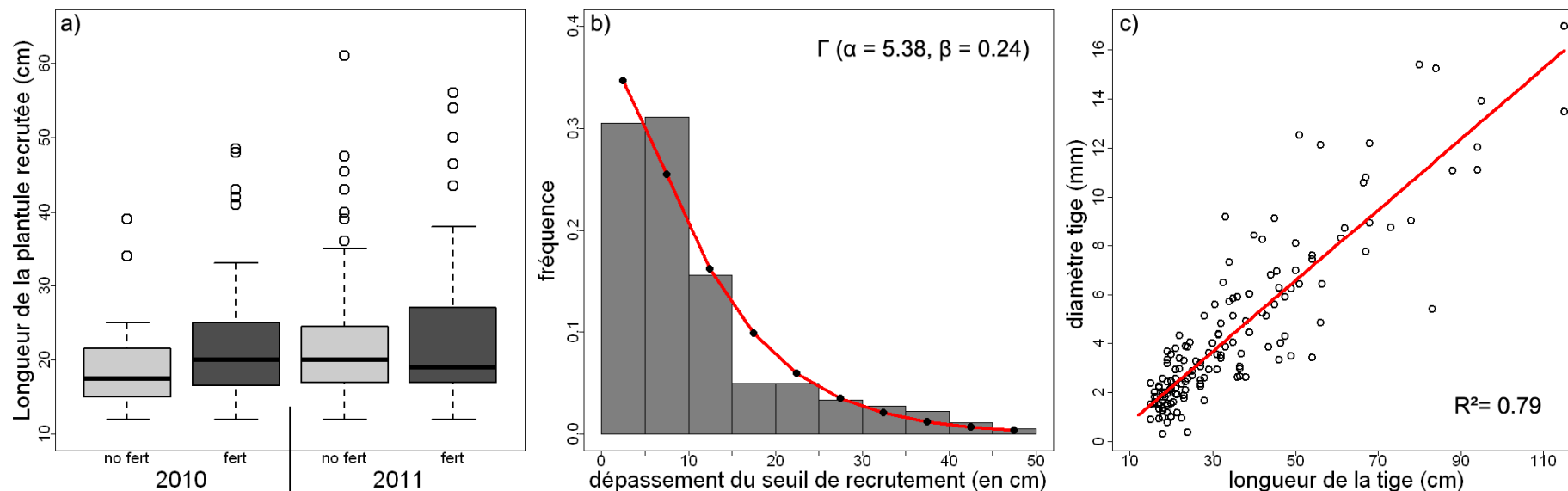


**Figure 29.** Longueur de la tige en fin de saison de croissance et diamètre des nouveaux ajoncs l'année de leur recrutement. a). Aucune différence de longueur de tige n'est observée entre années et traitements de fertilisation. b) Le dépassement du seuil de recrutement suit une loi Gamma. Les fréquences observées (rectangles gris) ne sont pas statistiquement différentes des fréquences théoriques attendues (ligne rouge) (test du  $\chi^2$ ,  $P = 0.32$ ). c) Une relation linéaire existe entre la longueur de la tige et son diamètre ( $diam = -0.67 + 0.15 \text{ long}$ ).

### 1.2.2.2 Définition d'un individu recruté

Lorsque l'on considère l'ensemble des plantules recrutées au Rousset au cours des 2 années de l'étude, il apparaît que: 1) les plantules ont une croissance plus rapide en zone fertilisées et atteignent le seuil de recrutement plus rapidement (cf Figure 4 p122). Cependant, l'année où le recrutement a lieu, en fin de saison de croissance (i.e. peu après le dépassement du seuil de recrutement), aucune différence de taille n'est observée entre les nouvelles plantes recrutées en zones fertilisées et non fertilisées (Figure 19a), et 2) en fin de saison de croissance, les individus recrutés en 2010 et 2011 ont des tailles similaires (Figure 29a). La taille des nouvelles plantes, l'année de leur recrutement, sera donc indépendante des pratiques de fertilisation et du temps dans le modèle.

Pour l'ensemble des nouvelles plantes recrutées une année donnée, la distribution du dépassement du seuil de recrutement en fin de saison de croissance (i.e. taille de l'individu – 12 cm, cf Chapitre Résultats, partie 3) est comparée à deux types de distribution: à une loi Gamma et à une loi exponentielle (Figure 29b). La loi Gamma est retenue car son ajustement est meilleur (statistique  $\chi^2$  plus faible). Enfin, la mesure des diamètres de tous les jeunes ajoncs recrutés en fin d'expérience permet d'obtenir une relation significative entre le diamètre de la tige et sa longueur (Figure 29c).

Pour chaque nouvel ajonc recruté, un tirage dans la loi uniforme [0,1] déterminera son percentile de croissance (**per\_c**). Sa hauteur sera déterminée selon ce percentile et la fonction de répartition de la loi Gamma.

Chaque nouvel ajonc recruté sera défini par sa hauteur et son diamètre. Sa hauteur sera déterminée grâce à la fonction de répartition de la loi Gamma ajustée. Son diamètre sera calculé grâce à la relation entre la hauteur et le diamètre.

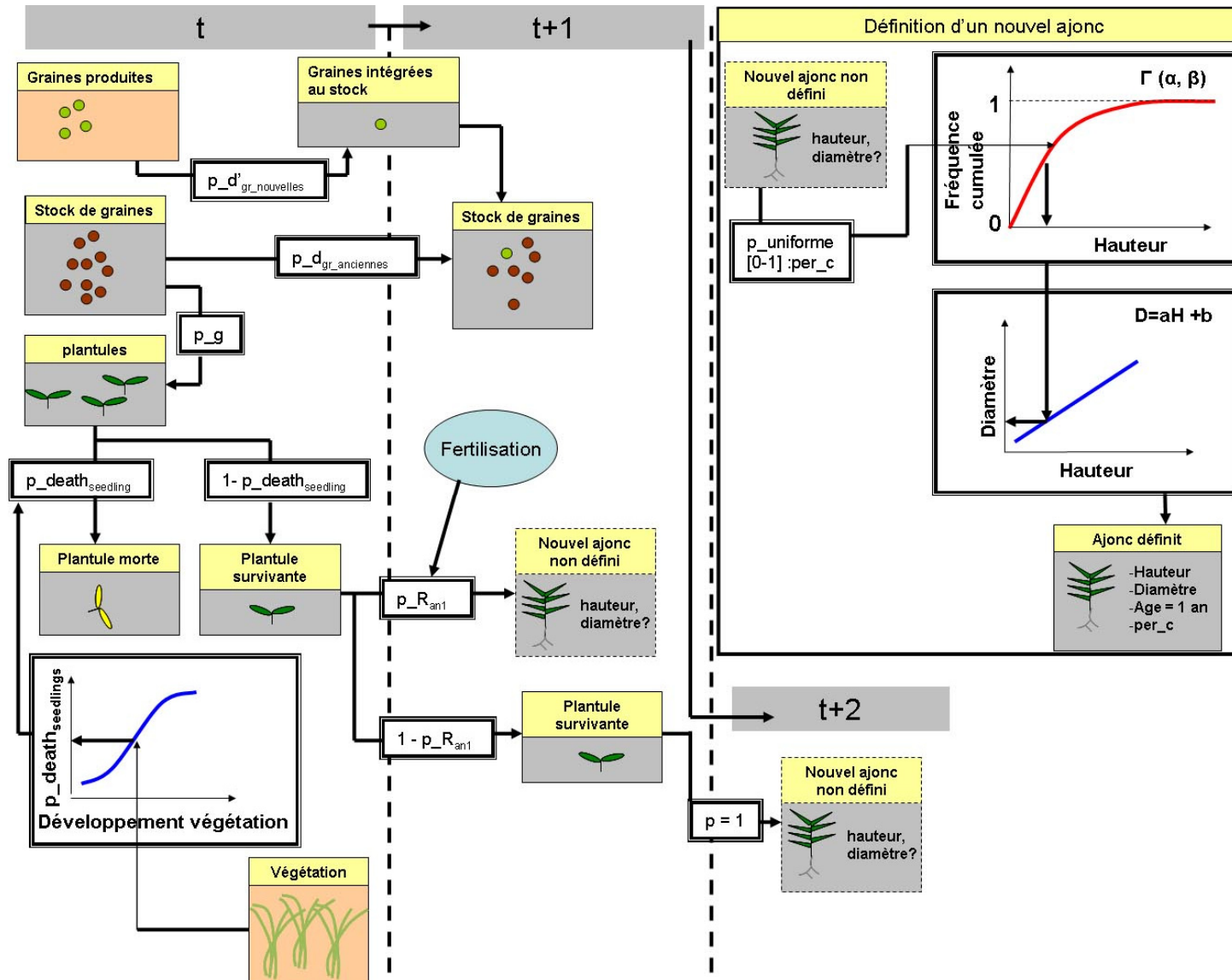


**Figure 30.** Synthèse de la modélisation de la dynamique de banque de graines et du recrutement de nouveaux individus. Les encadrés en gris correspondent aux différents états concernés, les encadrés rouges correspondent à des états décrits en amont au cours de la modélisation. Les différents paramètres ou fonctions utilisés par le modèle sont indiqués par des encadrés blancs.

### *1.2.3 Synthèse des différentes étapes pour la dynamique du stock de graines et le recrutement de nouveaux individus*

A partir du stock de graines, dont les paramètres d'évolution à chaque pas de temps annuel sont connus, des nouveaux ajoncs apparaissent. Ils sont caractérisés par une hauteur et un diamètre individuel, permettant de faire le lien avec la modélisation de la croissance des ajoncs adultes (cf paragraphe suivant). Leur âge en tant qu'adulte est fixé à 1 an.

Le schéma présenté sur la figure 30 synthétise les différentes étapes de la modélisation présentées jusqu'ici.

### 1.3 Croissance des ajoncs (étape 5)

#### 1.3.1 Lien entre la modélisation de la croissance et le reste du modèle

Lors de la présentation des objectifs de la thèse, la croissance individuelle des ajoncs a été présentée comme un résultat attendu permettant de calculer le flux de fixation symbiotique d'azote. En plus de cet objectif, la croissance des ajoncs doit permettre la prédiction de plusieurs variables nécessaires à la modélisation d'autres étapes du cycle de vie de l'ajonc (e.g. la prédiction de la quantité de biomasse verte est nécessaire à la prédiction de la quantité de graines produite, cf Chapitre Résultats, partie 1).

La modélisation du diamètre des individus à 10 cm du niveau du sol ( $D_{10}$ ) est suffisante pour la prédiction des autres variables d'intérêt (Figure 31). En particulier, la hauteur des individus et différents 'compartiments' de biomasse peuvent être calculés grâce à l'existence de relations allométriques basées sur le diamètre des tiges (Augusto et al., 2009).

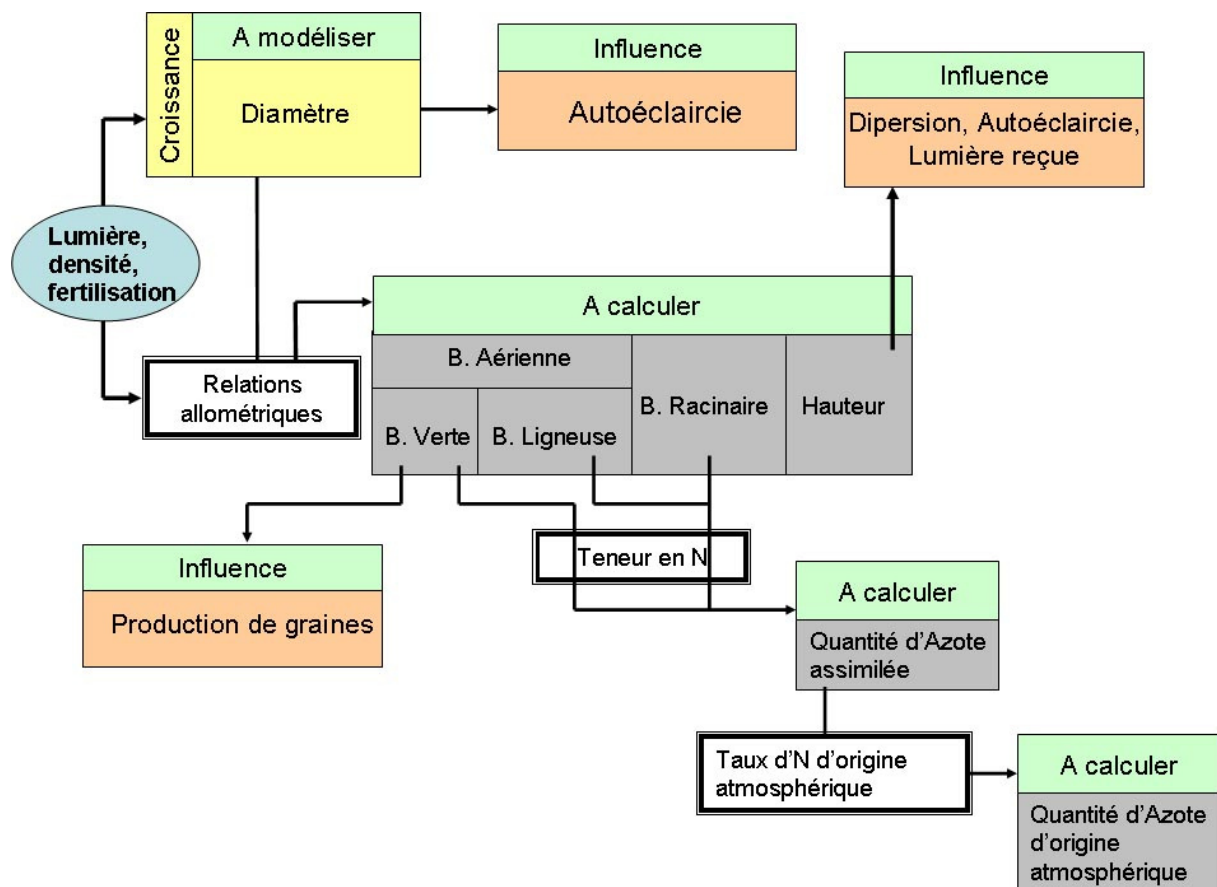


**Figure 31.** Lien entre la modélisation de la croissance (en jaune), le calcul de la quantité d'azote atmosphérique fixé (en gris), et le fonctionnement du reste du modèle (en rouge, abordé plus loin dans ce chapitre).

#### 1.3.2 Modélisation de la croissance en diamètre

Le choix d'une modélisation basée sur un pas de temps annuel est cohérent avec l'existence périodique de saisons de croissance actives, et de pauses hivernales. Aussi des relations entre l'âge et le diamètre des ajoncs ont déjà été montrées (Augusto et al., 2005; De Lavaissière, 2003) et sont linéaires dans un contexte donné (i.e. cela implique une croissance annuelle monotone en diamètre).

Pour la démarche de modélisation, on s'attachera dans un premier temps à décrire ces relations entre l'âge et le diamètre, et les facteurs les plus susceptibles de les faire varier. Puis



des taux de croissance annuels en sont déduits (i.e. équivalents à la pente des relations âge-diamètre). Pour cela, les informations déjà publiées concernant l'ajonc d'Europe dans la région sont utilisées, ainsi que les mesures des dimensions et du nombre de cernes de nombreux ajoncs effectuées pour l'étude de la fécondité des ajoncs (Chapitre Résultats, partie 1). La détermination de l'âge des ajoncs à partir du nombre de cernes compté est indiquée en annexe 4.

#### **1.3.2.1 Variabilité individuelle**

Dans les différentes relations concernant la croissance décrites ci-dessous, une forte variabilité individuelle est observée. Cette variabilité est d'origine extrinsèque aux ajoncs (nombreux facteurs de variations possibles non contrôlés lorsque des individus sont échantillonnés dans différents sites, différentes années), mais aussi certainement d'origine intrinsèque (différences de génotypes).

Par ailleurs, lorsqu'une régression est ajustée pour la prédiction d'une variable (e.g. diamètre, hauteur), les différents coefficients de la régression suivent une loi normale dont la moyenne et l'écart-type dans la population théorique sont déterminés par les modèles statistiques. Pour rendre compte de la variabilité entre ajoncs, des valeurs individuelles des coefficients des régressions seront déterminés par: 1) la fonction de répartition des coefficients, et 2) les percentiles de croissance, déterminés lors du recrutement. En d'autres termes, un individu recruté plus grand (percentile élevé) continuera à avoir une croissance plus élevée tout au long de sa vie.

#### **1.3.2.2 Les relations âge-diamètre**

L'étude de Augusto et al. (2005) montre que la pente de cette relation augmente avec la fertilisation, et diminue en cas d'ombrage par la canopée des pins. La figure 32 reprend ces résultats, en y intégrant les nouvelles données issues de l'étude de la fécondité.

L'effet de la fertilisation est marqué, il est maximum à 160 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.ha<sup>-1</sup>, puis n'augmente plus avec la dose (Augusto et al., 2005). Il correspond à une augmentation de pente par rapport à un contexte non fertilisé de 18% (Fig. 32a). Mais dans l'étude correspondante, la fertilisation est accompagnée d'une forte densité en ajoncs. Comparé à une situation dense en pleine lumière (Fig. 32c), l'augmentation de pente est de 44%.

L'interception de la lumière par la canopée des pins réduit constamment la croissance (Fig. 32 a,b). Il correspond à une diminution de pente d'environ 10%. Cependant un effet quantifié de la lumière est difficile à mettre en évidence, car l'accès à la lumière évolue au cours de la croissance des ajoncs dans la parcelle de pins maritimes. Par exemple, dans notre étude de la fécondité, le sous-bois dans la parcelle la plus sombre ne reçoit que 20% de la lumière. Mais plusieurs années auparavant, avant fermeture complète de la canopée, cet accès était sûrement supérieur.

L'effet de la densité (i.e. compétition intraspécifique pour les ressources) est aussi significatif avec une diminution de 10% de la pente dans les zones les plus denses. Cependant, là aussi, la densité et la compétition intra-spécifique évolue au cours du temps avec la croissance des individus et l'auto-éclaircie possible.

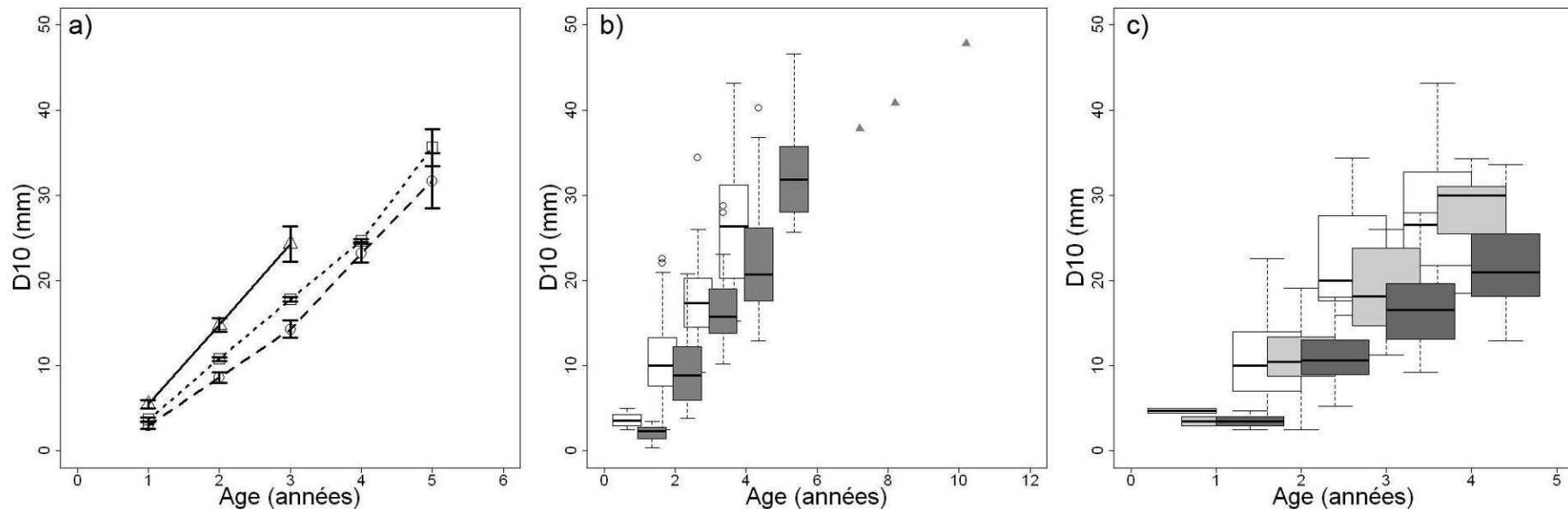


**Figure 32.** Différentes relations âge-diamètre obtenues en lande humide.

a) Triangles et trait plein: en pleine lumière, avec fertilisation initiale de  $160 \text{ kg de P}_2\text{O}_5.\text{ha}^{-1}$ , et forte densité populationnelle ( $>10 \text{ ind.m}^{-2}$ ) (pente =  $9.4 \text{ mm.an}^{-1}$ , issu de Augusto et al. (2005)); carrés et pointillés fins: en pleine lumière et sans fertilisation, densité variable (pente =  $8.0 \text{ mm.an}^{-1}$ , étude de la fécondité); ronds et pointillés longs: avec fertilisation et interception de 25 à 50% de la lumière, densité variable (pente =  $7.2 \text{ mm.an}^{-1}$ , issu de Augusto et al. (2005). Les erreurs standards sont indiquées par les barres verticales à chaque point.

b) En blanc, ensemble des individus mesurés dans le site en plein lumière (étude fécondité) ( $n = 15, 146, 26, 41$  individus pour les âges 1 à 4). Coefficient de la pente:  $6.85 \text{ mm.an}^{-1}$ . Gris: ensemble des individus mesurés avec interception de la lumière de 10 à 80% (étude fécondité) ( $n = 8, 90, 42, 76, 5$  individus pour les âges 1 à 5). Pour les âges supérieurs, les valeurs individuelles disponibles sont indiquées (triangles gris). Coefficient de la pente:  $5.98 \text{ mm.an}^{-1}$ . La différence de pente entre les 2 groupes est significative ( $P < 0.001$ ).

c) Ensemble des individus mesurés dans le site en pleine lumière (étude fécondité). En blanc: individus isolés ( $n = 2, 51, 4, 19$  pour les âges 1 à 4). En gris clair: individus en zones moyennement denses ( $n = 2, 39, 9, 13$  pour les âges 1 à 4). En gris foncé, individus en zones denses ( $n = 12, 74, 24, 28$  pour les âges 1 à 4). Il y a une différence significative de pentes ( $P < 0.001$ ) entre les individus en zones denses (pente =  $6.67 \text{ mm.an}^{-1}$ ) et le reste des individus (pente =  $7.46 \text{ mm.an}^{-1}$ ).

### 1.3.2.3 Formalisme pour la croissance annuelle en diamètre

Un accroissement annuel de référence est choisi, selon les individus en pleine lumière, qui ne sont pas en situation de forte densité (Figure 32c;  $D_{\text{anr\`e f}_i} \sim \mathcal{N}(\mu = 7.46, \sigma = 0.33)$ ). Chaque individu  $i$  aura un  $D_{\text{anr\`e f}_i}$  particulier, selon son percentile de croissance, et la fonction de répartition de la loi  $\mathcal{N}(\mu = 7.46, \sigma = 0.33)$ .

Ensuite l'effet des différents facteurs identifiés est indiqué dans l'équation 3 suivante:

$$D_{\text{an}_i t} = D_{\text{anr\`e f}_i} [1 + p_{\text{dose}} (\text{dose}/\text{dose}_{\text{max}}) + [1 - (100 - \% \text{PAR}/p_{\text{light}})] + p_{\text{dens}} \cdot \text{STI}_{t-1}] \quad (3).$$

Avec:

$D_{\text{an}_i t}$ : accroissement annuel en diamètre de l'individu  $i$ , l'année  $t$ .

$p_{\text{dose}}$ : l'effet de la fertilisation, fixé à 0.3 (i.e. une augmentation de 30% du taux de référence est prévu en cas d'application d'une dose maximale ( $\text{dose}_{\text{max}}$ : 160 kg  $\text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{ha}^{-1}$ )).

$\text{dose}$ : dose de  $\text{P}_2\text{O}_5$  appliquée (en kg.  $\text{ha}^{-1}$ ). Si  $\text{dose} > \text{dose}_{\text{max}}$ ,  $\text{dose} = \text{dose}_{\text{max}}$ .

$p_{\text{light}}$ : effet de l'interception de la lumière, fixé à 3 (i.e. une interception de 50% de lumière provoque une diminution de 17 % du taux de croissance en diamètre).

$\% \text{PAR}$ : % du PAR (Photosynthetic Active Radiation) reçu l'année  $t$ .

$p_{\text{dens}}$ : effet de la densité, fixé à 0.15 (i.e. lorsque la densité est maximale (i.e.  $\text{STI} = 1$ ), l'accroissement est diminué de 15%).

$\text{STI}_{t-1}$ : Self Thining Index en fin d'année précédente  $t-1$  (voir paragraphe 1.4.1.). Cet indice est compris entre 0 et 1. Il est indicateur de la densité du peuplement par rapport à la densité maximale atteignable par l'espace sur une surface donnée.

### 1.3.2.4 Vieillesse et accroissement

La courbe de croissance sigmoïde des ligneux (e.g. Birch, 1999) implique un ralentissement des taux de croissance chez les individus les plus grands et les plus vieux.

Cependant, l'ajonc semble maintenir des taux de croissance élevés, même à des âges avancés comme indiqué sur la figure 32b, et par l'observation *in situ* de très grands individus âgés (15 ans et 120 mm de diamètre, soit un accroissement moyen de  $8 \text{ mm} \cdot \text{an}^{-1}$ ; 10 ans et 100 mm, soit un accroissement moyen de  $10 \text{ mm} \cdot \text{an}^{-1}$ ).

Même si un ralentissement de la croissance en fin de vie est présent chez l'ajonc, il a probablement lieu peu avant la mort des individus, et ne sera pas pris en compte dans le modèle.

Chaque ajonc possède un accroissement annuel de référence ( $D_{\text{anr\`e f}_i} \sim \mathcal{N}(\mu=7.46, \sigma = 0.33)$ ) permettant de distinguer des individus plus vigoureux que d'autres. La fertilisation augmente cet accroissement, alors que l'ombrage et la densité le diminuent. Une croissance asymptotique pour les individus âgés n'est pas prévue.

### 1.3.3 Les relations allométriques basées sur le diamètre

#### 1.3.3.1 Les relations diamètre-hauteur

Elles sont construites à partir des individus mesurés lors de l'étude de la fécondité, et présentées sur la figure 33.

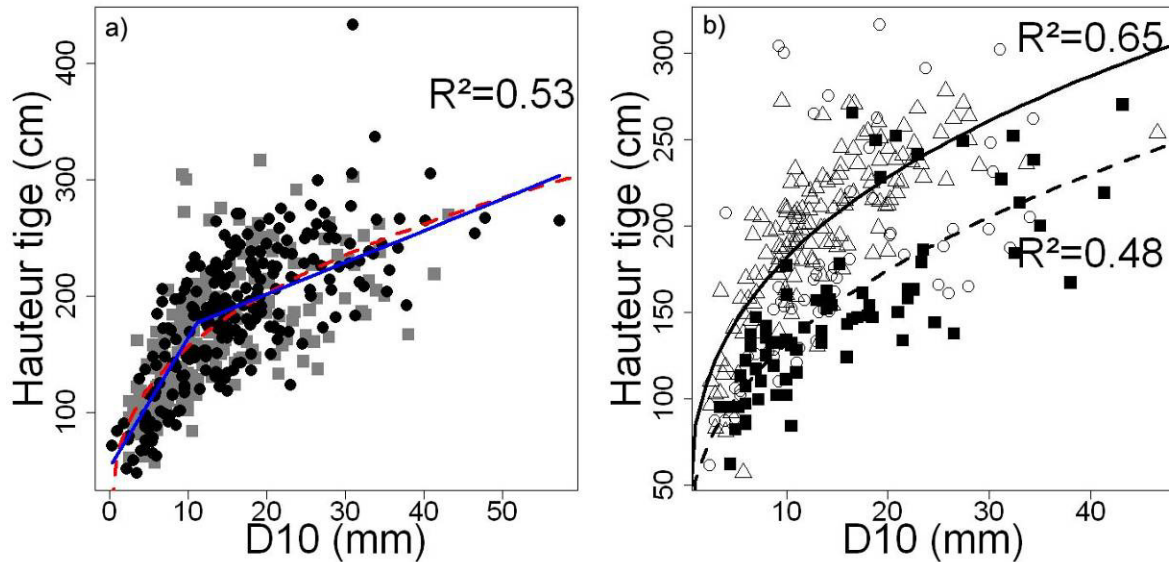


**Figure 33.** Relations diamètre-hauteur pour l'ensemble des sites échantillonnés au cours de l'étude de la fécondité (a), et pour le site en pleine lumière seulement (b).

a) les individus du site en pleine lumière sont indiqués en gris, les individus sous couvert de pins maritimes sont indiqués en noir. Les deux nuages de points se superposant, des relations générales sont modélisées, par une relation puissance ( $haut = 67 \text{ diam}^{0.37}$ , courbe rouge) ou une régression segmentée (segments bleus,  $haut = 53 + 11.2 \text{ diam}_{[0; 11.2[} + 2.73 \text{ diam}_{[11.2; \infty[}$ ). Les 2 méthodes aboutissent au même  $R^2$ .

b) Pour le site en pleine lumière, les individus isolés (carrés noirs), en zone moyennement denses (rond blancs) et denses (triangles blancs) sont distingués. La régression segmentée est non significative pour les individus isolés. En conséquence, seules des relations puissances sont ajustées. Les relations sont montrées pour les individus isolés (pointillés,  $haut = 53 \cdot \text{diam}^{0.40}$ ) et en zones denses (trait plein,  $haut = 85 \cdot \text{diam}^{0.33}$ ). Une différence importante de pente apparaît entre les différentes classes de densités lorsque les relations sont linéarisées en échelle logarithmique (non montré,  $P < 0.001$ ).

Alors que l'accroissement en diamètre reste constant avec l'âge, ces relations indiquent une diminution importante de l'accroissement en hauteur des individus, déjà observé par ailleurs (De Lavaissière, 2003). Cela correspond à une croissance sans dominance apicale prononcée, et à la répartition de la croissance sur des branchaisons de plus en plus nombreuses (Clements et al., 2001; Hely and Forgeard, 1998). En conséquence, les ajoncs adoptent un port en 'rosier' de plus en plus marqué au cours de leur croissance. L'effet de la lumière est peu visible (Figure 10a), alors que celui de la densité populationnelle semble plus marqué (Figure 10b). La dominance apicale est sûrement renforcée dans les zones denses où la croissance verticale est stimulée (i.e. effet de 'gainage').

#### 1.3.3.2 Modélisation de la hauteur

La modélisation de l'effet de la densité est priorisée. Les relations puissances sont utilisées, car elles sont applicables aux relations dans toutes les conditions. Elles sont de la

forme: Hauteur =  $a \cdot D_{10}^b$ . Pour la relation indiquée sur la figure 33a, la puissance est de 0.37. Pour la figure 10b, les puissances sont respectivement de 0.40 pour les individus isolés, et de 0.33 pour ceux situés en zone denses. Les coefficients d'allométrie (i.e les puissances) étant peu variables, la hauteur est surtout déterminée par la valeur du paramètre  $a$ . Celui-ci varie de 53 à 85 sur la figure 10b, et a une valeur intermédiaire de 67 sur la figure 10a.

En conséquence, un coefficient d'allométrie fixe est choisi. Sa valeur est de 0.37, correspondant à la valeur de la relation générale (Fig. 10a), et à la valeur moyenne des relations présentées sur la figure 10b. La valeur du coefficient  $a$  de l'échantillon global est aussi utilisé comme référence:  $H_{ref} \sim \mathcal{N} (\mu=66.9, \sigma=3.4)$ . Chaque individu aura une valeur de référence  $H_{ref\_i}$ , selon son percentile de croissance. Les individus ayant les plus fort taux de croissance en diamètre, seront donc aussi les plus hauts. L'effet de la densité sera pris en compte en distinguant: 1) les individus en conditions de faibles densité, leur coefficient de référence ( $H_{ref\_i}$ ) sera diminué pour correspondre à la relation décrite sur la figure 33b (trait pointillé; 2) les individus en conditions de densité moyenne à forte, pour lesquels le coefficient de référence augmentera progressivement jusqu'à la situation décrite sur le Figure 33b en condition de très forte densité (trait plein). Le calcul de la hauteur de l'individu  $i$  l'année  $t$  ( $H_{it}$ ) suivra donc l'équation 4 suivante.

$$H_{it} = \begin{cases} [H_{ref\_i} - (67-53)] \cdot D_{10}^{0.37} & \text{if } STI_{t-1} = 0 \\ [H_{ref\_i} + STI_{t-1} \cdot (85-67)] \cdot D_{10}^{0.37} & \text{if } STI_{t-1} > 0 \end{cases} \quad (4)$$

Suite à une diminution importante de la densité autour de l'individu d'une année sur l'autre, il pourrait arriver que  $H_{it} < H_{it-1}$ . Dans ce cas, on fixera  $H_{it} = H_{it-1}$ .

La prédiction de la hauteur est basée sur une relation allométrique avec le diamètre. Cette relation est décrite par un coefficient de référence déterminée pour chaque ajonc ( $H_{ref\_i} \sim \mathcal{N} (\mu=66.9, \sigma=3.4)$ ). La densité diminue la croissance en diamètre (paragraphe précédent), mais favorise la croissance en hauteur.

### 1.3.3.3 Les relations diamètre-biomasses:

Pour la prédiction de la biomasse verte photosynthétique, des relations allométriques pour l'espèce cible sont déjà connues mais la part de variabilité non expliquée reste importante (Augusto et al., 2009). Au cours de l'étude de la fécondité, des relations non linéaires sont observées entre la biomasse verte et: 1) le diamètre (i.e. relation d'allométrie classique), 2) la lumière (la production de biomasse verte de l'ajonc héliophile est très fortement accrue dans les environnements les plus lumineux), et 3) l'âge des individus. En effet la production de biomasse verte chute plus fortement pour les individus les plus âgées. Cela peut être indicateur de l'investissement important des ressources dans les tissus de supports ligneux pour les individus grands et âgés (cf discussion chapitre Résultats, partie 1), mais aussi du vieillissement des individus.

Les résultats obtenus à partir de l'étude de la fécondité sont présentés dans la figure 34.

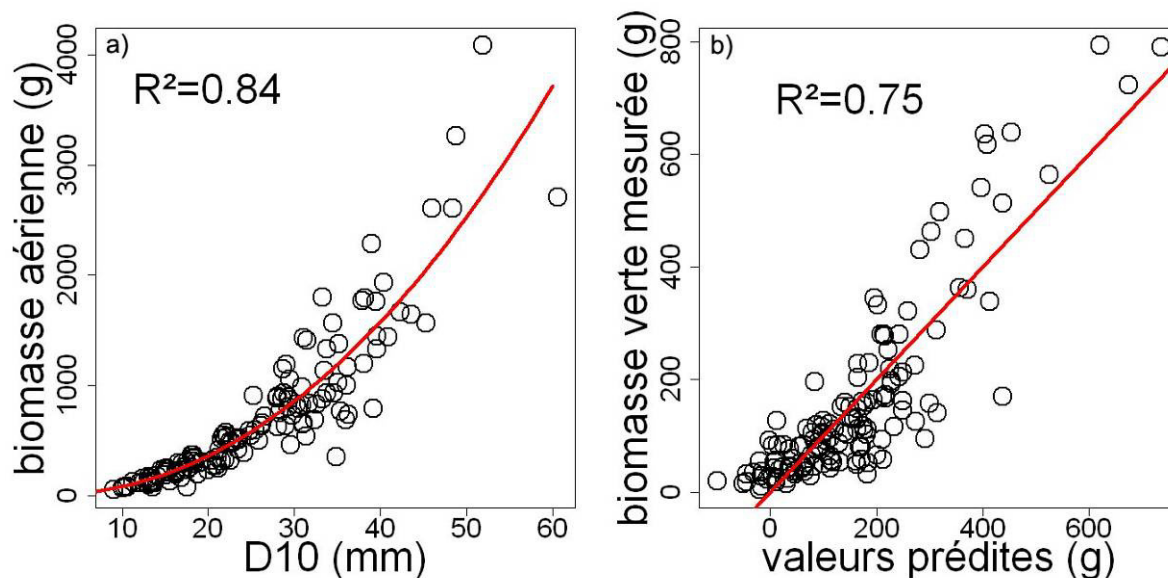


**Figure 34.** Prédiction de la biomasse aérienne totale, et de la biomasse verte.

a) Une relation allométrique classique est obtenue entre le diamètre et la biomasse aérienne totale ( $biom_{aer} = 0.64.D_{10}^{2.12}$ ). b) La prédiction de la biomasse verte à l'aide d'une régression multiple est présentée. Les effets non linéaires (diamètre, lumière, âge), sont représentés à l'aide de polynômes d'ordre 2, un effet linéaire de la compétition intra-spécifique, est aussi pris en compte. Un léger biais systématique des prédictions du modèle est observé pour les plus faibles valeurs, mais aucun autre modèle de régression ne permet de l'éviter.

La prédiction de la biomasse verte suit l'équation 5 suivante:

$$Biom_{verte} (g) = 104 + D_{10} (mm) [-10.9 + 0.49.D_{10} (mm)] + PAR(\%) [-4.2 + 0.05 PAR(\%)] + age [42.3 - 8.5.age] - 58.3 DI^{Hegy} \quad (5)$$

Avec  $DI^{Hegy}$  l'indice de compétition, tel que définis dans le chapitre de résultats (partie 1).

Dans le chapitre de résultats,  $DI^{Hegy}$  est calculé jusqu'à une distance de 1.5m. Il a été proposé par ailleurs que tous les ajoncs compris dans une même cellule de 1m<sup>2</sup> soient localisés au centre de la cellule. Pour le calcul de l'indice de compétition, les ajoncs compétiteurs situés dans la même cellule seront considérés distants de 25 cm. L'indice prendra en compte aussi les ajoncs présents dans les 8 cellules voisines à une distance de 1m (4 cellules alignées) et 1.41 m (4 cellules en diagonale), correspondant aux distances entre les centres des cellules.

La modélisation utilisera les relations présentées sur la figure 34. Quelques valeurs prédites de biomasse vertes étant négatives, le modèle sera borné à la valeur minimale de biomasse verte mesurée (i.e 5g). La biomasse verte produite l'année t-1 servira à prédire la production de graines l'année t (chapitre Résultats, partie 1), puis sera considérée comme totalement lignifiée.

La biomasse aérienne non photosynthétique sera obtenue par différence entre la biomasse aérienne totale et la biomasse verte. Pour la prédiction de la biomasse racinaire, la relation avec le diamètre de la tige présentée par De Lavaissière (2003) sera utilisée ( $B_{rac} = 0.53 * D_{10}(mm)^{1.82}$ ).

La variabilité individuelle étant déjà prise en compte lors de la modélisation des diamètres, les valeurs moyennes des différents coefficients seront appliquées à tous les individus.

### 1.3.4 La teneur en azote dans les tissus de la plante et proportion d'azote d'origine atmosphérique

A chaque pas de temps, après la modélisation de la croissance, la quantité d'azote contenue dans chaque plante (puis dans toute la parcelle) pourra être estimée selon les teneurs connues dans les différents tissus. Le tableau 9 suivant précise les valeurs correspondantes indiquées dans de la littérature:

| Variable                                   | Compartiment               | Valeur                                   | Source                |
|--------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------|-----------------------|
| Teneur en azote                            | Biomasse verte             | 16.7 ± 0.3 mg.g <sup>-1</sup> (CV = 5%)  | Augusto et al. (2009) |
|                                            | Biomasse aérienne ligneuse | 5.9 ± 0.3 mg.g <sup>-1</sup> (CV = 13 %) | Augusto et al. (2009) |
|                                            | Biomasse racinaire         | 8.1 ± 1.14 mg.g <sup>-1</sup> (CV = 28%) | De Lavaissière (2003) |
| Proportion d'azote d'origine atmosphérique | Tous                       | 70 ± 3 % (CV = 28%)                      | (Cavard et al., 2007) |

**Tableau 9.** Teneurs en azote des différents tissus et taux de fixation d'azote d'origine atmosphérique d'après la littérature. CV: Coefficient de variation.

L'erreur standard (et CV) des teneurs en azote sont faibles pour les parties aériennes, et un peu plus élevées pour les parties souterraines (en lien avec un faible nombre de répétition, n=4). De plus, la variabilité des taux de fixation d'azote atmosphérique est aussi modérée, et elle n'apparaît pas liée aux différents traitements appliqués (différents doses de fertilisation en phosphate) (Cavard et al., 2007).

En comparaison des variations individuelles de croissance observées dans les paragraphes précédents, les teneurs en azote dans les différents compartiments de la plante, ainsi que les taux de fixation d'azote d'origine symbiotique, apparaissent peu variables entre différents individus.

Le modèle utilisera des valeurs fixes pour les teneurs en azote et taux de fixation symbiotique d'azote. Les valeurs utilisées sont les valeurs moyennes indiquées dans le tableau 9.

## 1.4 Mortalité des ajoncs (étape 6)

### 1.4.1 Compétition intra-spécifique et auto-éclaircie (étape 6a)

Une loi d'auto-éclaircie est montrée pour l'ajonc en Nouvelle-Zélande (Wilson and Lee, 1988). La cartographie des peuplements d'ajonc au sein de surface de 64 m<sup>2</sup>, dans le site en pleine lumière, lors de l'étude de la fécondité permet de vérifier si cette même loi s'applique à l'ajonc dans notre région. La position des peuplements d'ajoncs des zones denses et moyennement denses par rapports à la droite d'auto-éclaircie permet de créer un indice de densité (Self Thinning Index, STI) compris entre 0 et 1, comme illustré sur la figure 35 suivante.

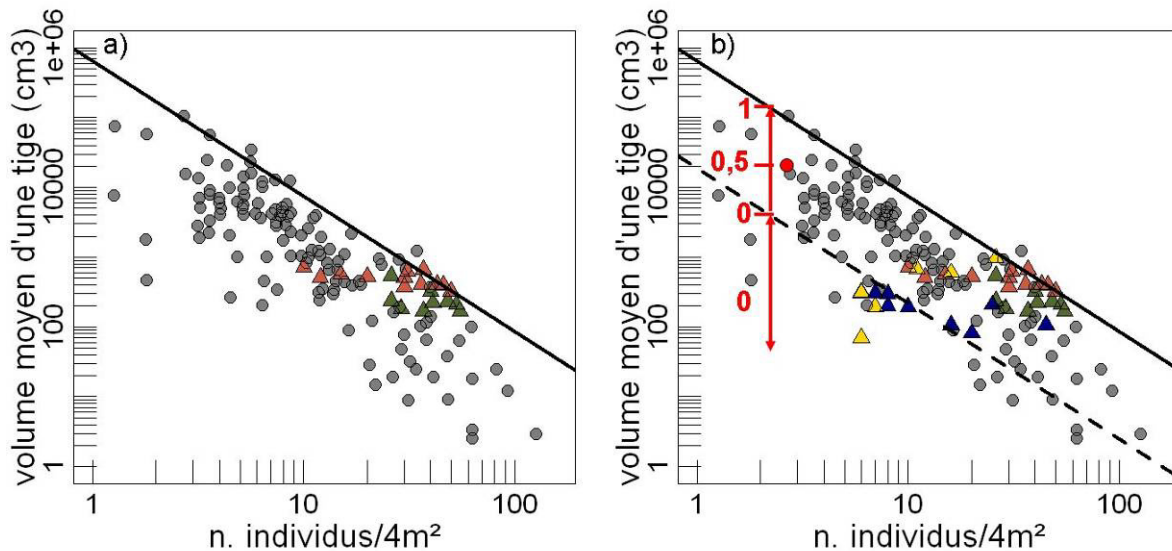


**Figure 35.** Droite d'auto-éclaircie de l'ajonc d'Europe, et Self Thinning Index.

a) les données issues de Wilson et Lee (1988) sont indiquées par des ronds gris. Les données issues des zones denses de l'étude de la fécondité sont indiquées par des triangles verts (2010) et rouge (2011). La droite d'auto-éclaircie est indiquée par le trait noir

$(\ln_{10}(\text{vol}_{\text{moy}}) = 5.82 - \ln_{10}(1.94 n_{\text{individus}}))$ .

b) les données issues des zones moyennement denses sont ajoutées en bleu (2010) et jaune (2011). Une droite parallèle à la droite d'auto-éclaircie est tracée en pointillée

$(\ln_{10}(\text{vol}_{\text{moy}}) = 4.28 - \ln_{10}(1.94 n_{\text{individus}}))$ . La distance à cette droite, par rapport à la distance de la droite d'auto-éclaircie permet de créer le STI compris entre 0 et 1.

Les ajoncs des zones denses se superposent bien avec le nuage de point obtenu en contexte invasif. La loi d'auto-éclaircie semble s'appliquer de manière identique dans notre région. L'équation de la droite indiquée dans Wilson et Lee (1988) est recalculée suivant Bi and Turvey (1997). La gamme de densité est découpée en intervalles (suivant la distribution des déciles). La valeur maximale de volume dans chaque intervalle est retenue, puis une régression linéaire est appliquée pour ces 10 valeurs donnant la droite d'auto-éclaircie. La pente obtenue ne correspond pas à la pente théorique de  $-3/2$  (Yoda et al., 1963), mais est proche de  $-2$ . Cette différence pourrait s'expliquer par la modification du rapport entre le volume de la tige et la biomasse totale de l'individu le long de la gamme de densité (Lonsdale, 1990a).

Les données concernant les zones moyennement denses sont utilisées pour construire le STI. Dans ces zones, la densité en ajoncs est très variable (de faible à forte, cf figure 14 dans le matériel et méthode, chapitre 2). Une droite parallèle à la droite d'auto-éclaircie est construite qui sépare l'échantillon moyennement dense en 2 lots de taille identique. Vers le haut, les données correspondent à des situations assez denses voire très denses. Vers le bas,



les données correspondent à des situations peu voire très peu denses. L'ensemble des valeurs situées sous cette droite ont un STI de 0 (densité faible). Un STI de 1 indique que le peuplement d'ajoncs correspondant se trouve sur la droite d'auto-éclaircie. Entre les deux droites, le STI est croissant lorsque le peuplement se rapproche de la droite d'auto-éclaircie.

La modélisation utilisera des groupes de 4 cellules de 1 m<sup>2</sup> pour représenter l'auto-éclaircie. Si le peuplement modélisé dépasse la droite d'auto-éclaircie, des individus sont éliminés, en commençant pas les plus petits en diamètre, jusqu'à ce que le peuplement repasse sous la droite. Le STI est calculé comme indiqué sur la figure 35b en fin d'année t-1. Cet indice permet de réguler la croissance en diamètre et en hauteur l'année suivante (cf paragraphes précédents). Si le nombre de tiges sur la surface est égal à 1, le STI est fixé à 0 et l'auto-éclaircie n'est pas considérée.

#### 1.4.2 Sénescence et mortalité

La mortalité avec l'âge croissant des ajoncs est étudiée grâce à la répartition de l'âge des individus morts au sein de trois peuplements, tous situés en landes humides, exposés à des quantités de lumière différentes (31, 56 et 95 % du PAR disponible, Annexe 3). Pour cela, l'âge de tous les individus morts et encore sur pied dans ces peuplements est déterminé par la lecture des cernes de croissance (Annexe 4, Figure 36a). La quantité d'individus ayant atteint chacun des âges est alors calculée, ainsi que les probabilités 'instantanées' de mourir, sur l'intervalle entre l'âge t et l'âge t+1 (Figure 36b).

##### *Modélisation et variabilité individuelle*

Le modèle statistique ajusté reproduit bien la capacité de l'espèce à atteindre un âge maximal approximatif de 15 ans. Selon le modèle, dans des conditions maintenues constamment en pleine lumière, en moyenne 1 individu sur 18 000 peut atteindre l'âge de 14 ans, et 1 individu sur 300 000 peut atteindre 15 ans. Cependant, la forte interaction entre l'âge et la lumière provoque une augmentation importante des probabilités de mort dès que la lumière reçue par les ajoncs chute. Ainsi selon le même modèle logistique, avec 80% du PAR reçu, la probabilité pour un individu d'atteindre l'âge de 10 ans est infinitésimale. Pourtant l'observation de nombreuses populations d'ajoncs au cours de cette thèse a confirmé la possibilité, même rare, d'atteindre des âges supérieur ou égal à 10 ans dans les vieilles parcelles de pins maritimes faiblement ombragées.

Pour éviter une mortalité systématiquement très importante de tous les ajoncs dès que la lumière diminue, des variations individuelles dans le calcul des probabilités de mourir seront utilisées, de manière analogue aux variations individuelles de croissance. Chaque ajonc sera défini par un percentile de mortalité (**p<sub>m</sub>**, issu d'un tirage dans la loi uniforme [0,1]). Tout en conservant la forme de la régression logistique, le coefficient d'interception pourra varier, selon la fonction de répartition de ce coefficient, et le percentile de mortalité de l'individu. Les individus ayant un percentile élevé auront un âge de mortalité plus tardif (Figure 36c). Cette variabilité peut aussi être interprétée comme une différence de longévité des individus d'origine génétique.

La probabilité de mourir sera calculée pour chaque individu (**p<sub>death<sub>i,t</sub></sub>**), à chaque pas de temps en fonction de son âge et de la lumière reçue. Cette probabilité sera comparée à un tirage aléatoire dans la loi uniforme. Si **p<sub>death<sub>i,t</sub></sub>** est supérieur au résultat, l'individu meurt. Comme pour la modélisation de la croissance individuelle, une variabilité individuelle sera prise en compte grâce à un percentile de mortalité, qui agira sur le paramètre d'interception de la régression logistique.

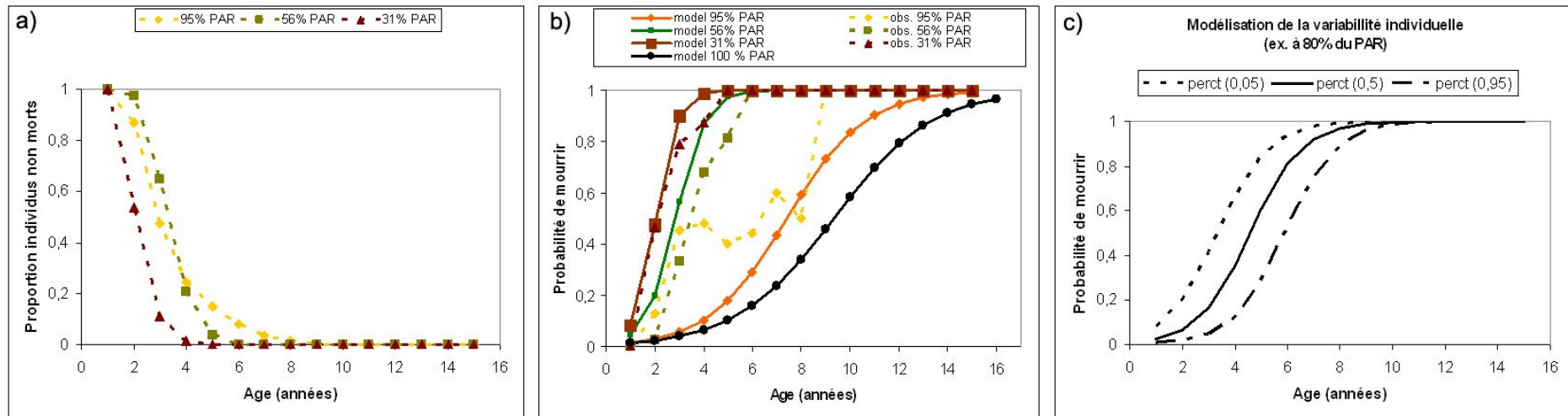


**Figure 36.** Proportions observées d'individus non morts en fonction de l'âge (i.e. morts à un âge supérieur) (a), probabilité correspondante de mourir à un âge donné (b), et prise en compte de la variabilité individuelle dans le modèle.

b) Une régression logistique analyse la probabilité de mourir en fonction de l'âge et de l'interaction entre l'âge et la lumière ( $\text{logit}(p_{\text{death}}) = -4.68 - 26.10^{-3}(\text{PAR}(\%)\text{age}) + 3.10 \text{ age}$ ). Ces 2 variables sont très significatives ( $P < 0.001$ ). Les probabilités observées sont représentées en pointillés, les probabilités estimées par la régression logistique sont indiquées en traits plein.

c) Les résultats de la régression logistique sont indiqués pour 80% du PAR disponible. Différentes valeurs de coefficient d'interception de la régression sont utilisées selon la fonction de répartition de la loi normale définissant ce coefficient.

## 1.5 Production et prédation des graines (étape 7 et 8):

Les résultats présentés dans le chapitre Résultats (partie 1 et 2) sont directement exploitables. La production des graines sera modélisée en 2 étapes successives: 1) une relation est établie entre le nombre de graines produites, la biomasse verte de l'individu, et la quantité de lumière reçue (Figure 37a), et 2) un taux de prédation de ces graines est appliqué, et dépendant de la lumière reçue (Figure 37b). L'effet de la densité populationnelle ne sera pas pris en compte car il n'influence que la production de biomasse verte (mais pas la relation entre la biomasse verte et la quantité de graines, Chapitre Résultats, partie 1), et les variations de la prédation le long du gradient de densité d'ajoncs étudié sont faibles (Chapitre Résultats, partie 2).

### 1.5.1.1 Modélisation de la production des graines (étape 7):

La relation entre la biomasse verte, la lumière et la production des graines est ajustée en échelle naturelle pour obtenir les coefficients exacts de la relation. Le meilleur modèle obtenu est la régression linéaire simple, passant par l'origine, entre la production de graines et l'interaction entre la biomasse verte et la lumière reçue ( $n_{graines} = 40.10^{-2} (Biom_{verte}(g) * PAR(\%))$ ). Le paramètre du modèle sera donc la pente de la relation, **p\_fert**, qui suit une loi normale  $\mathcal{N}$  ( $\mu = 40.10^{-2}$ ,  $\sigma = 30.10^{-3}$ ). Comme pour la croissance et la mortalité, une forte variabilité individuelle est observée. Elle sera prise en compte grâce à un percentile de fécondité attribué à chaque plante (**p\_r**). Son paramètre de production de graine  $p_{fert_i}$  sera estimée à partir de la fonction de répartition de **p\_fert**, et la valeur de son percentile **p\_r**.

Il a été observé qu'un jeune ajonc produit des graines dès l'année qui suit la réussite de son recrutement, mais la quantité d'organes reproducteurs est très faible. La production des graines ne sera donc envisagée qu'à partir de l'année suivante dans la modèle.

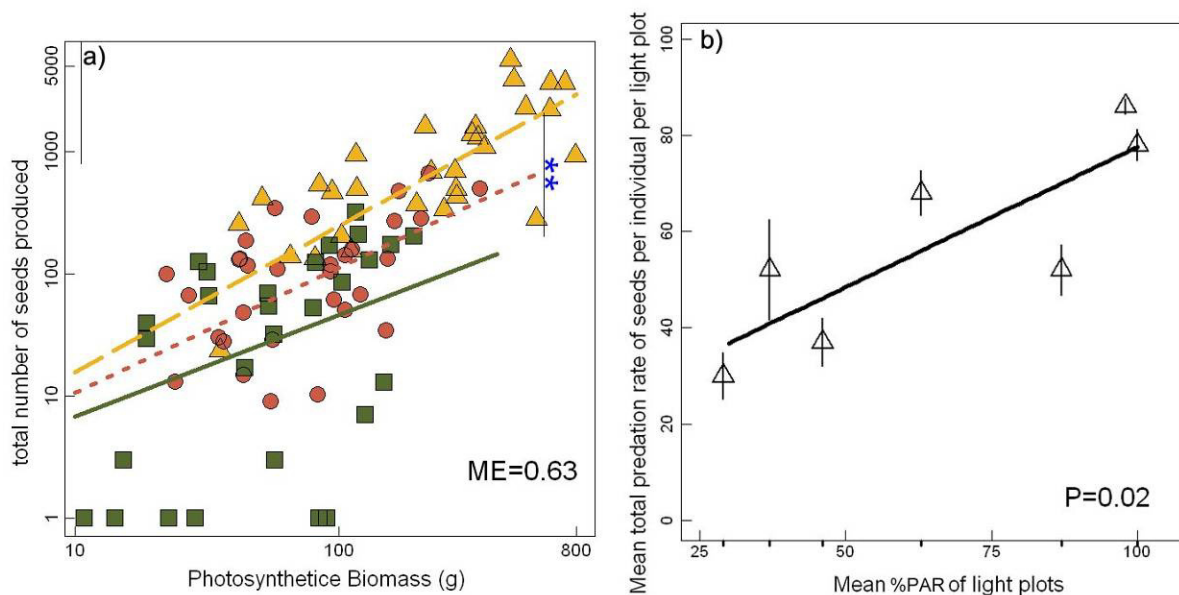


**Figure 37.** Principaux résultats concernant la production et la prédation des graines utilisés par le modèle.

a) La figure est issue du manuscrit publié dans Annals of Forest Sciences (Fig 3b). La pente de la relation entre la biomasse verte et le nombre de graines produites augmente avec la lumière reçue (Shady, Moderate et Full Light class respectivement en vert, rouge, et jaune). La statistique ME indique le Modelling Efficiency.

b) La figure est issue du manuscrit soumis à Biological Control (Fig. 6c). Le taux de prédation des graines par plante augmente le long du gradient de lumière ( $P=0.02$ ,  $pred_{rate}(\%) = 27.1 + 0.51 PAR(\%)$ ).

#### **1.5.1.2 Modélisation de la prédation des graines (étape 8):**

Il a été montré que l'impact de la prédation est d'abord déterminé par la position des peuplements d'ajoncs le long du gradient de lumière, et que les variations des taux de prédation entre individus au sein d'un même peuplement sont limitées par l'action conjointe des 2 prédateurs de graines (chapitre Résultats, partie 2). De plus, des différences de taux de prédation n'entraînent que des modifications relatives de la quantité de graines qui sera finalement dispersée, i.e. les individus qui produisent le plus de graines sont aussi ceux qui en dispersent le plus (cf figure 6a, b du manuscrit soumis à Biological Control).

En conséquence, la prédation sera prise en compte de manière simplifiée dans le modèle. Les taux de prédation des graines intégreront l'action combinée des deux prédateurs, et utiliseront la régression linéaire simple présentée sur la figure 37b.

Comme pour la croissance et la mortalité, la variabilité individuelle de la production de graines sera prise en compte grâce à l'attribution d'un percentile de fécondité à chaque individu. Le taux de graines détruites par la prédation (**pred\_rate**) sera déterminé par une simple relation linéaire avec la quantité de lumière moyenne reçue par le sous-bois dans la parcelle (%PAR).

## 1.6 Dispersion des graines (étape 9):

L'étude de Hill et al. (1996) fournit un profil de dispersion des graines selon la distance à la plante productrice, dont la hauteur est connue (1.3 m en moyenne). Considérant la dispersion autochore de l'espèce, l'explosion des gousses pour des plantes plus hautes permet la dispersion jusqu'à des distances plus élevées. Les distances de projection les plus lointaines supposées dans la littérature sont de 5m (Hill et al., 1996).

La démarche de modélisation cherche dans un premier temps à ajuster une loi de probabilité reliant la fréquence des graines dispersées à la distance au pied mère, d'après le profil de Hill et al. (1996). Dans un second temps, la modification des paramètres de cette loi par la hauteur de l'individu est envisagée, pour atteindre des distances de dispersion plus élevées.

Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 38 suivante.

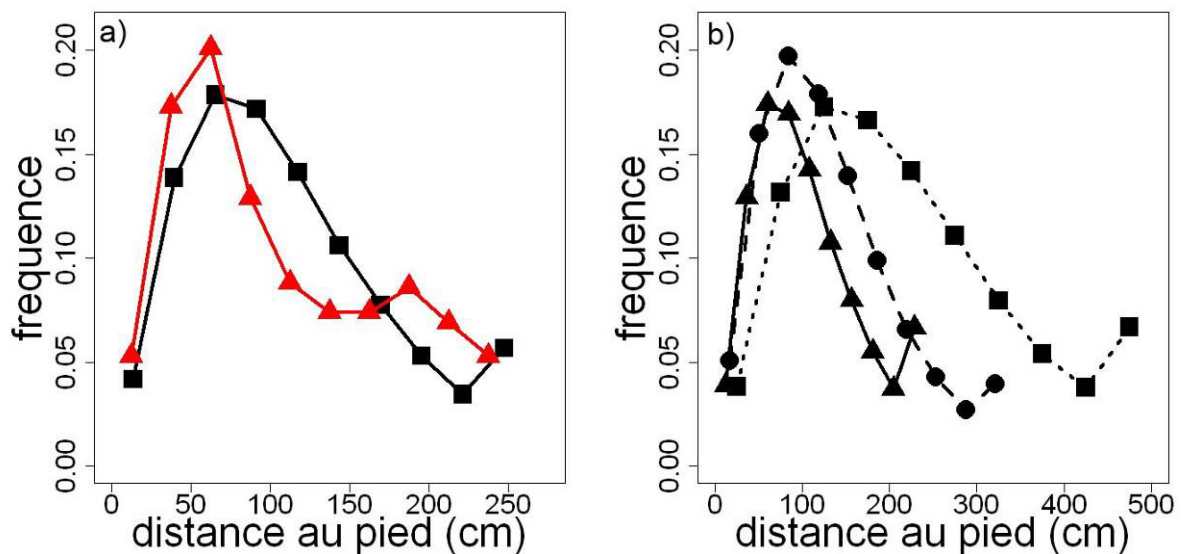


**Figure 38.** Profil de dispersion des graines selon la distance au pied mère dans la littérature et modélisation.

a) En rouge, le profil issu de Hill et al (1996) pour des individus d'environ 1.3 m de haut. Les fréquences sont indiquées pour 10 classes de distances de projection (de 0 à 250 cm, par intervalles de 25 cm). En noir, ajustement d'une loi  $\Gamma$  ( $\alpha$  (forme) = 2.73,  $\beta$  (intensité = 0.0244)) au profil de dispersion. Les fréquences observées ne sont pas statistiquement différentes des fréquences prédites par la loi ajustée ( $P > 0.1$ ). 96% des graines sont dispersés jusqu'à une distance égale à 2 fois la hauteur du pied (i.e. 2.6 m) selon la loi  $\Gamma$ , mais selon cette loi, quelques graines pourraient être projetées à des distances plus importantes. En conséquence, la distance de dispersion maximale est bornée à 2.6 m, provoquant le rehaussement de la courbe à cette distance.

b) Profils de dispersion modélisés pour des individus de hauteur 1 m (trait plein), 2.5 m (pointillés longs), 5 m (pointillés courts). Le paramètre de forme de la loi  $\Gamma$  est inchangé, le paramètre d'intensité varie avec la hauteur.

### 1.6.1.1 Modification du profil de dispersion selon la hauteur du pied mère

Sur la base de la loi gamma ajustée au profil issu de la littérature (Figure 38a), deux modifications sont proposées pour la modélisation des profils de dispersion avec des hauteurs variables du pied mère:

1) *Le paramètre d'intensité ( $\beta$ ):* Avec 1.3 m de hauteur, la distance de dispersion maximale est le double de la hauteur (Fig. 38a). Avec un individu très grand de 5m (cas exceptionnel dans la région), la distance maximale considérée d'après la littérature est égale à

la hauteur de l'individu (5m). Le paramètre d'intensité de la loi gamma est donc divisé par 2 par rapport à celui utilisé sur la figure 38a. En conséquence, pour la modélisation, le paramètre d'intensité suit la relation linéaire entre 0.0244 pour une hauteur de 1.3m, et 0.0122 pour une hauteur de 5m (i.e.  $\beta = 28.10^{-3} + 33.10^{-6} \times \text{hauteur (cm)}$ , Fig. 38b). Cette diminution de l'intensité de la dispersion peut s'expliquer dans la réalité par la diminution de la vitesse de la graine projetée avec la distance au pied mère due aux frottements avec l'air.

2) *La distance de projection maximale (dist\_max)*. Elle suit la relation linéaire entre 2.6m pour une hauteur de 1.3m, et 5m pour une hauteur de 5m (i.e.  $\text{dist\_max (cm)} = 175 + 0.65 \times \text{haut(cm)}$ ). Les profils de dispersion sont bornés selon cette distance maximale (Fig. 38b)

#### 1.6.1.2 Justification du formalisme choisi

Différentes lois de probabilités sont couramment utilisées pour représenter des profils de dispersion à faible distance du pied mère (e.g. loi exponentielle (Weiblen and Thomson, 1995), gamma (Baack, 2005), loi exponentielle et loi log normale (Malo, 2004)). L'avantage de ces lois est de former un pic de dispersion proche de la plante mère, tout en permettant des dispersions à plus grandes distances grâce à des distributions avec des queues allongées. Dans notre cas, le pic proche du pied mère peut correspondre à une dispersion en partie barochore (les gousses s'ouvrent sans explosion importante, les graines tombent verticalement) (Malo, 2004). Une loi gamma est choisie car 1) elle s'ajuste bien aux données observées (Figure 15a), et 2) la modification simple du paramètre d'intensité permet de limiter les distances de dispersions pour les grands individus, sans changer la forme du profil.

La distance de dispersion des graines par rapport au pied mère  $i$  suivra une loi  $\Gamma$  ( $\alpha = 2.73$ ,  $\beta = 28.10^{-3} + 33.10^{-6} \times \text{hauteur}_i \text{ (cm)}$ ). Une distance de projection maximale ( $\text{dist\_max (cm)} = 175 + 0.65 \times \text{haut (cm)}$ ) ne pourra pas être dépassée. De plus, un tirage aléatoire d'un angle compris entre 0 et 359° sera nécessaire pour déterminer la cellule de 1m<sup>2</sup> de côté où tombe la graine.

## 2 Impact des opérations sylvicoles sur le cycle de vie de l'ajonc d'Europe

### 2.1 La coupe rase et l'initialisation du modèle

Le modèle est initialisé par une coupe rase suivi d'un labour. Même en cas de labour en bande, il est considéré que la totalité des ajoncs qui vont apparaître au début de la simulation est issue d'une régénération à partir du stock de graines dans le sol. Suite à cette coupe rase, un stock de graines doit donc être défini (i.e. quantité de graines contenues dans chacune des cellules de 1 m de côté).

#### 2.1.1 1. Initialisation de la banque de graines

Comme dans la première version du modèle (Mathieu, 2008), un premier paramètre (**p\_cover**) indique le pourcentage de recouvrement de la parcelle en ajonc d'Europe avant la coupe rase. Ce pourcentage est utilisé pour déterminer le nombre de cellules de la grille du modèle, choisies aléatoirement, où est distribuée une banque de graines.

Pour la détermination de la quantité de graines dans ces cellules, nous utilisons deux sites du jeu de données en lande humide publiée dans Gonzalez et al. (2010): 1) un site après coupe rase, mais avant labour, précédemment occupé par des ajoncs, et 2) une parcelle âgée de pins maritimes aussi occupée par des ajoncs.

La distribution des stocks des graines observés dans les deux sites de l'étude est présentée sur la figure 39 suivante, après la prise en compte du taux de viabilité des graines de 89% indiqué dans l'étude.

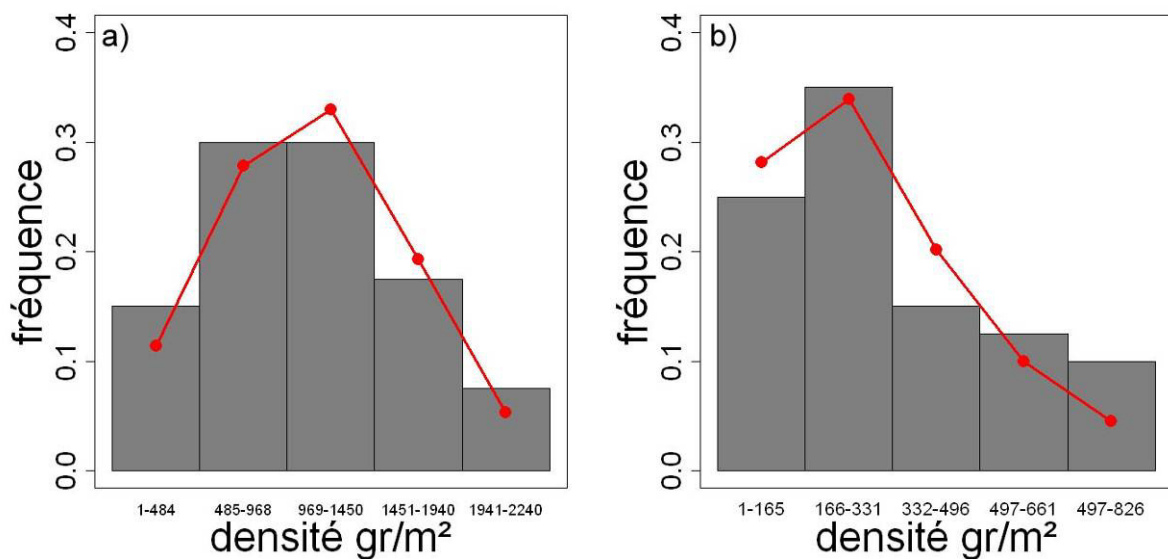


**Figure 39.** Distribution des densités de banques de graines sur l'ensemble des horizons échantillonnés (0 – 15 cm (a), et dans le seul horizon de surface (0 - 5 cm) (b) d'après Gonzalez et al (2010).

a) La distribution observée (rectangles gris) suit une loi normale  $\mathcal{N}$  ( $\mu = 1084$ ,  $\sigma = 552$ ) (ligne rouge, pas de différence significative de distribution,  $P = 0.59$ ).

b) La distribution observée (rectangles gris) suit une loi  $\Gamma$  ( $\alpha = 2.00$ ,  $\beta = 0.0064$ ) (ligne rouge,  $P = 0.17$ ).

La distribution de la densité de graines en surface dans les deux sites de l'étude est asymétrique (peu de valeurs moyennes et élevées, Figure 39b), et s'ajuste bien à une loi

Gamma. Cela est sûrement lié à un nombre de situations réduit où l'approvisionnement de la banque de graines est très important avec une densité élevée d'ajoncs mûres.

Deux cas de figure se présentent pour estimer la quantité initiale de graines dans les cellules où une banque de graines est distribuée. Si un labour en plein est prévu dans le modèle, une dilution du stock de graines de toutes les cellules doit être considérée sur la profondeur du labour. En cas de labour en bande, les horizons de surface des cellules non labourées ne sont pas perturbés.

En conséquence:

- Dans une cellule labourée, pour déterminer le nombre initial de graines en surface (0-5 cm,  $S_{0-5}$ ) suite à la perturbation: 1) un tirage dans la loi normale indiquée sur la figure 39 a indique une première quantité de graines  $S_{TOT}$  dans la cellule (les résultats de la loi normale sont bornées à 0 pour éviter les valeurs négatives). Puis, considérant la profondeur de labour **prof<sub>labour</sub>** (dans la plupart des cas égale à 30 cm),  $S_{0-5}$  après labour est calculée comme :  $S_{TOT} \times \text{dilution du labour} \Leftrightarrow S_{TOT} \times 5/\text{prof}_{labour}$ .
- Dans une cellule non labourée, seules les graines situées dans l'horizon 0-5 cm des deux sites sont considérées pour déterminer  $S_{0-5}$ . Pour cela un tirage dans la loi gamma indiquée dans la figure 39b est effectué.

Le taux de diminution du stock de graines ( $p_d$ ) est connu pour être moins important en profondeur en contexte invasif. Mais même à 10 cm de profondeur, le stock de graines est vidé en 20 à 30 ans dans la plupart des sites (Hill et al., 2001). Dans notre contexte, les taux de diminution de la banque de graines sont plus importants (cf paragraphe 1.1.3. de ce chapitre). Alors nous faisons l'hypothèse que la grande majorité des graines situées à plus de 5 cm de profondeur après la coupe rase sont éliminées avant la coupe rase suivante, et un stock de graine plus profond n'est pas considéré dans le modèle.

Lors de l'initialisation du modèle, le paramètre **p\_cover** détermine le nombre de cellules qui contiennent une banque de graines. Deux situation sont considérée pour la modélisation de la densité initiale,  $\mathcal{N}$  ( $\mu = 1084$ ,  $\sigma = 552$ ) est utilisée si la cellule est labourée, suivi d'une dilution d'un facteur  $5/\text{prof}_{labour}$ . Si la cellule n'est pas labourée, la loi  $\Gamma$  ( $\alpha = 2.00$ ,  $\beta = 0.0064$ ) est utilisée. Après labour, les graines qui se retrouvent à une profondeur supérieure à 5 cm sont considérées comme perdues. Lors de la coupe rase suivante, le stock de graines situé en surface dans chaque cellule est dilué en cas de labour par le facteur  $5/\text{prof}_{labour}$ . Par défaut,  $\text{prof}_{labour}$  est égale à 30 cm.

A l'initialisation, quel que soit le type de labour pratiqué, la totalité des ajoncs qui apparaissent sont issus de graines. Lors de la coupe rase suivante, en cas de labour en bande, des rejets de souches d'ajoncs d'Europe seront aussi autorisés dans les cellules non labourées.



## 2.2 Le schéma de plantation et la localisation des perturbations :

Le schéma de plantation prévu par le scénario sylvicole choisi est déterminé par: 1) l'espacement entre les lignes de pins et 2), l'espacement des pins sur la ligne. Les différentes cellules de 1 m<sup>2</sup> qui composent la parcelle sont alors définies selon leur position par rapport à la ligne de pins, ce qui détermine les perturbations possibles au cours de la rotation forestière, comme indiqué sur la figure 40 ci-après. Le labour en bande n'est considéré que si l'interligne est de 4 m, avec un labour de 3 m de large. La perturbation lors du nettoyage mécanique du sous-bois prend en compte la largeur du rouleau landais (2m). Pour la localisation des perturbations lors des éclaircies, l'écrasement de la végétation par les roues du tracteur tirant le porte-grumes et de l'abateuse est pris en compte. Cet écrasement est décrit plus précisément sur la figure 41.

Les différentes probabilités de perturbation du système aérien et racinaire des ajoncs qui en découlent sont indiquées dans le tableau 10 suivant.

| Largeur<br>l'interligne | de                        | Coupe rase + |    |    | Coupe rase + |    |    | Eclaircie |      |    | Nettoyage du |     |    |
|-------------------------|---------------------------|--------------|----|----|--------------|----|----|-----------|------|----|--------------|-----|----|
|                         |                           | labour       |    |    | labour       |    |    |           |      |    | sous-bois    |     |    |
|                         |                           | plein        |    |    | bande        |    |    |           |      |    |              |     |    |
|                         |                           | L            | IB | IC | L            | IB | IC | L         | IB   | IC | L            | IB  | IC |
| 2 m                     | perturbation<br>aérienne  | 1            | 1  |    |              |    |    |           |      |    |              |     |    |
|                         | perturbation<br>racinaire | 1            | 1  |    |              |    |    |           |      |    |              |     |    |
| 3 m                     | perturbation<br>aérienne  | 1            | 1  |    |              |    |    | 0         | 0.55 |    | 0            | 1   |    |
|                         | perturbation<br>racinaire | 1            | 1  |    |              |    |    | 0         | 0.55 |    | 0            | 1   |    |
| 4 m                     | perturbation<br>aérienne  | 1            | 1  | 1  | 1            | 1  | 1  | 0         | 0.68 | 0  | 0            | 0.5 | 1  |
|                         | perturbation<br>racinaire | 1            | 1  | 1  | 1            | 1  | 0  | 0         | 0.68 | 0  | 0            | 0.5 | 1  |

**Tableau 10.** Probabilités des différentes perturbations des ajoncs dans le sous-bois en fonctions de la largeur de l'interligne, de la position par rapport à la ligne de pins, et du type d'opération sylvicole.

|                                     | Schéma plantation        | Labour en bande                      | Eclaircies (tracteur plus porte grumes) | Nettoyage sous-bois (rouleau landais) |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------|
| 1250 tiges.ha <sup>-1</sup> (4x2 m) | <p>1 m L IB IB L</p>     | <p>IB L IB IC IB L IB</p> <p>3 m</p> | <p>IB L IB IC IB L IB</p> <p>0.68 m</p> | <p>IB L IB IC IB L IB</p> <p>2 m</p>  |
| 1667 tiges.ha <sup>-1</sup> (3x2 m) | <p>L IB IB L IB IB L</p> |                                      | <p>L IB IB L IB IB L</p> <p>0.55 m</p>  | <p>L IB IB L IB IB L</p>              |
| 2500 tiges.ha <sup>-1</sup> (2x2 m) | <p>L IB L IB L IB L</p>  |                                      |                                         |                                       |

**Figure 40.** Différents schémas de plantation prévus par les différents scénarios sylvicoles, et perturbations associées. Les pins sont indiqués par des ronds verts. Les différentes cellules de la grille sont définies selon la position par rapport à la ligne de pins: L: cellule sur la Ligne, IB: cellule en Interligne et Bordure de la ligne, IC: cellule au Centre de l'Interligne. La localisation des perturbations est indiquée par les zones colorées

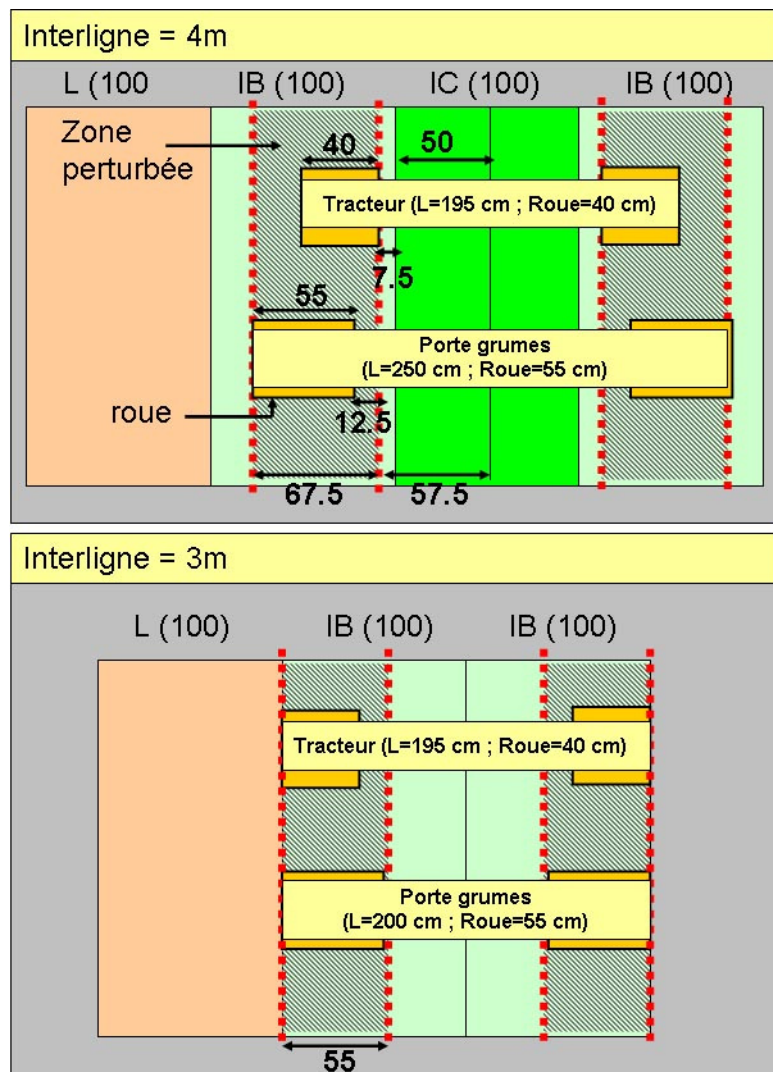


**Figure 41.** Localisation des perturbations lors des éclaircies selon la largeur de l'interligne. Cette localisation est déterminée par la mesure de la largeur des engins et de leurs roues (Mathieu, 2008). On considère que les roues de l'abateuse passent aux mêmes endroits que les roues du tracteur et du porte-grumes.

Une largeur d'interligne de 3 m est encore peu pratiquée dans la région. Lorsqu'elle est prévue dans les évolutions des itinéraires sylvicoles, on considère que la pratique des éclaircies nécessite des engins moins larges que ceux couramment utilisés à l'heure actuelle. En conséquence, la largeur du porte-grumes est diminuée afin de ne pas dépasser sur la ligne de pins.

Lorsque la perturbation est totale, à la fois aérienne et racinaire, l'ajonc meurt. Si la perturbation est seulement aérienne, un rejet de souche peut intervenir dans le modèle. Lorsque la probabilité de perturbation est différente de 0 ou 1, la perturbation est appliquée si cette probabilité est supérieure ou égale à un tirage aléatoire dans la loi uniforme [0,1]. Les probabilités s'appliqueront de manière identique aux plantules présentes dans chaque type de cellules. La probabilité de rejeter de souche dans le modèle est nulle pour les plantules dont le système racinaire et les réserves sont peu développés.

### 2.3 Le rejet de souche en cas de perturbation aérienne

Les informations disponibles quant à la capacité de rejet de souche de l'espèce indiquent toutes que les taux de rejets sont importants. En pleine lumière et dans des peuplements denses (Ivens, 1979), en pleine lumière en jardin expérimental (Anne Atlan, *comm. pers.*) les taux observés sont supérieurs à 90%. En sous-bois de pins maritimes, Reyes et al. (2009) ont mesuré des taux compris entre 78 et 100 % de rejets. Au cours de l'étude de la fécondité, les parties aériennes des individus suivis ont été coupées au début de l'été. Pour la première année de cette étude, les taux de rejet trois mois plus tard ont été observés. Ils étaient de 92 % dans le site en pleine lumière (toutes situations de densité confondues,  $n=36$ ), et de 89% dans les sites ombragés ( $n=36$ ). Dans le site en pleine lumière, les peuplements détruits pour la cartographie étaient âgés de 3 ans. Une visite 2 ans plus tard a montré que les peuplements avaient retrouvé leur hauteur initiale (approchant les 2 m).

Les conditions environnementales semblent donc peu influencer la capacité de rejet de l'espèce. Cependant, Reyes et al. (Reyes et al., 2009) indiquent une influence de l'ontogénie de la plante. Ils observent des taux de rejets de 78%, 100% et 92% pour des ajoncs respectivement de 1 an, d'âge intermédiaire (approximativement 3 à 4 ans), et plus âgés. Cependant la détermination de l'âge des individus dans cette étude est imprécise.

En conséquence, la modélisation proposée prend en compte une probabilité de rejeter de souche qui augmente puis diminue avec l'âge des l'individus, basée sur les taux mesurés par Reyes et al (2009), et en cohérence avec la littérature sur le sujet (cf Chapitre 2, partie 2). La précision de l'âge avancé où les taux de rejet diminuent (jusqu'à 92%) est dépendant de l'environnement lumineux, pour prendre en compte le caractère héliophile de l'espèce et l'impact possible de l'environnement lumineux sur la capacité des ajoncs à constituer des réserves énergétiques et nutritives utiles pour le rejet de souche.

Le formalisme choisi est indiqué dans la figure 42 ci-dessous. Il prend en compte:

- Une probabilité de rejeter de souche à un an ( $p_{\text{sprout}_{\text{young}}} = 0.78$ )
- Une probabilité maximale de rejet ( $p_{\text{sprout}_{\text{max}}} = 1$ ) atteinte à 3 ans.
- Une probabilité de rejet pour les individus âgés ( $p_{\text{sprout}_{\text{old}}} = 0.92$ ). Cette probabilité est atteinte à l'âge l'âge  $A_{75}$  (voir figure 42 suivante), sous influence de la lumière.
- Une croissance accrue des ajoncs ayant rejeté de souche, jusqu'à ce que la taille initiale avant la perturbation ait été atteinte.
- L'âge de l'individu continu a être incrémenté sans discontinuité en cas de perturbation. Les relations entre le diamètre et les autres variables de la tige (e.g. hauteur, biomasse verte) sont inchangées. L'année suivant le rejet, la production de graines est nulle, car une production de biomasse verte doit avoir lieu auparavant.

La compétition intraspécifique n'influence pas la probabilité de rejet. Cependant, la croissance en diamètre des rejets est diminuée par l'indice de densité STI, similairement à l'effet du STI sur la croissance (cf paragraphe 1.3.2), et la loi d'auto-éclaircie prend en compte la présence des rejets.

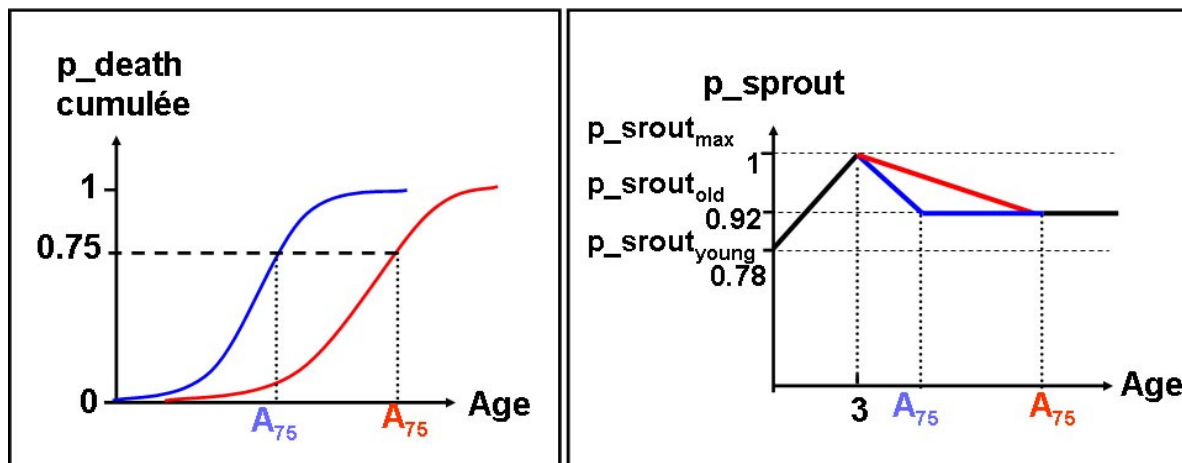


**Figure 42.** Modélisation de la fonction de rejet de souche dans deux environnements lumineux distincts (bleu: faible lumière, rouge: forte lumière). La modélisation de la mortalité (cf paragraphe 1.4.2) permet de déterminer pour chaque niveau de lumière un âge à partir duquel en moyenne 75% des individus sont morts ( $A_{75}$ ). A 1 an, la probabilité de rejet est de 0.78, elle augmente linéairement pour atteindre 1 à 3 ans (i.e. elle est de 0.89 à 2 ans). Puis elle diminue linéairement pour atteindre 0.92 à l'âge  $A_{75}$ . Si  $A_{75} \leq 3$  ans (en cas d'ombrage fort), la probabilité de rejet est fixée à 0.92 dès 3 ans.

La réalisation d'un rejet de souche est une réponse binaire. La modélisation de ce type de réponse utilise habituellement la régression logistique, et les courbes d'évolution des probabilités ont une forme sigmoïdale. Considérant que les probabilités de rejet de l'espèce semblent toujours fortes, et donc relativement peu variables, le modèle prend en compte de manière simplifiée, linéaire, l'évolution de ces probabilités avec l'âge de la plante.

La probabilité de rejeter dans le modèle est toujours forte. Elle varie linéairement entre 0.78 ( $p_{sprout\_young}$ ) à un an, 1 ( $p_{sprout\_max}$ ) à 3 ans, et 0.92 ( $p_{sprout\_old}$ ) à un âge dépendant de la lumière. En cas de perturbation aérienne d'un ajonc, le rejet a lieu si cette probabilité est supérieure ou égale à un tirage aléatoire dans la loi uniforme  $[0,1]$ , sinon l'ajonc meurt. En cas de réussite du rejet, le taux annuel de croissance de l'individu (i.e.  $D_{an\_it}$ ) est multiplié par 1,5, jusqu'à récupération du diamètre avant la perturbation. L'âge de l'individu continue à être incrémenté (i.e. il n'est pas réinitialisé).

## 2.4 Fertilisation: impact sur le sous-bois et durée de l'effet

### 2.4.1 impact sur le sous-bois

Nous avons vu au paragraphe 1.2.1 que le développement du sous-bois influençait la mortalité des plantules d'ajoncs. Or, la fertilisation en  $P_2O_5$  accélère le développement du sous-bois (Figure 43a). En conséquence, le modèle doit intégrer des courbes de développement du sous-bois au cours de la rotation forestière, en fonction des pratiques de fertilisation. Ces courbes doivent être établies en priorité pour la molinie pour finaliser le modèle en contexte de lande humide. Secondairement des courbes de développement de la fougère et de la callune seront nécessaires pour effectuer des simulations dans d'autres types de landes. La figure 43 présente un formalisme possible pour rendre compte du développement du sous-bois suite à une coupe rase.

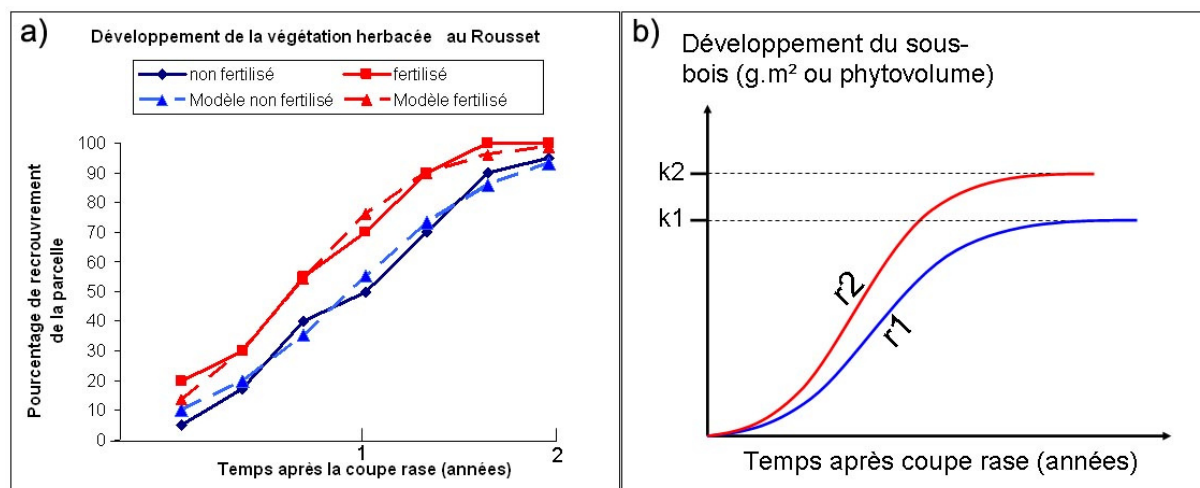


**Figure 43.** Développement du sous bois observé au Rousset, et possibilité de modélisation par l'équation logistique de Verhulst-Pearl ( $dN/dt = rN \cdot ((K-N)/K)$ ). Les couleurs rouges et bleues correspondent respectivement à des situations fertilisées et non fertilisées.

a) Le développement de la végétation au Rousset, exprimé en pourcentage de recouvrement de la parcelle, suit une croissance logistique bien reproduite par l'équation de Verhulst-Pearl. Cependant si un recouvrement de 100% est atteint en 2 ans, le développement de la végétation n'est pas encore maximal, comme le montre la comparaison du poids de matière sèche au Rousset à celui obtenu dans d'autres contextes de landes humides (cf. Figure 29, paragraphe 1.2.1).

b) Le poids de matière sèche pourrait-être un meilleur indicateur du développement de la végétation. En particulier, les données recueillies dans le cadre du projet ALTER pourraient permettre de connaître le développement de la molinie (en  $g.m^{-2}$ ) au cours de la rotation forestière en lande humide. L'utilisation d'équations de Verhulst-Pearl nécessite la connaissance de 2 paramètres: K (la valeur maximale atteignable), et r: le taux de croissance (cf Chapitre 1, partie 3).

## 2.4.2 Durée de l'effet

Le développement du sous-bois et la croissance des pins maritimes profitent initialement de l'apport en phosphate effectué à la plantation. Cet avantage initial (i.e. croissance plus rapide) est conservé jusqu'à la coupe rase.

Par ailleurs le pouvoir tampon des sols vis-à-vis du phosphore dans la région est faible à nul (Achat et al., 2011). Pour les ajoncs d'Europe apparaissant plusieurs années après l'installation, il est peu probable qu'ils profitent d'une disponibilité en phosphore supérieure. Dans l'étude de Augusto et al. (2005) en lande humide, 5 ans après la fertilisation, les ajoncs qui apparaissent des les zones initialement fertilisées ont encore une croissance améliorée. 6 ans après la fertilisation, cet effet n'est plus visible. En conséquence nous considérons un effet de la fertilisation sur la croissance des ajoncs qui apparaissent pendant les 5 ans après la fertilisation initiale. Cet effet est conservé toute leur vie. Aucun effet n'est considéré pour des ajoncs apparaissant 6 ans après l'apport en phosphate.

## 2.5 La croissance des pins maritimes et l'interception de la lumière

### 2.5.1 Croissance des pins et scénarios sylvicoles

Le choix des itinéraires sylvicoles influence la croissance de la canopée des pins maritimes. L'objectif de la modélisation de la croissance des pins maritimes est uniquement la prédiction de la quantité de lumière non interceptée qui est transmise au sous-bois. La croissance des pins est donc envisagée de manière simple: tous les pins sont identiques en



taille, et lors des éclaircies, les arbres récoltés sont répartis de manière équitable entre les lignes de pins, et sur la ligne de pin.

Les variables nécessaires à la prédiction de la lumière atteignant le sous-bois sont l'âge, le diamètre, la hauteur totale des pins et la hauteur du houppier (cf paragraphe suivant). Des modèles déjà existants, comme le modèle Pinus Pinaster 3 (PP3) dans la plateforme CAPSIS ([www.capsis.cirad.fr](http://www.capsis.cirad.fr)), sont capables de prédire ces variables, selon les scénarios présentés dans le tableau 3 ci-dessus, i.e. en fonction des densités initiales, de l'intensité et la fréquence des éclaircies, et des apports en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. L'utilisation du modèle PP3 est donc proposée pour la prédiction de la croissance des pins maritimes.

## 2.5.2 Prédiction de la lumière disponible au niveau du sous-bois

### 2.5.2.1 Distinction de 3 phases pour l'accès à la lumière

Dans la jeune plantation, l'accès à la lumière est important. Dans les parcelles âgées, la canopée des pins est très en hauteur par rapport au sous-bois, et la quantité de lumière transmise sous la canopée est assez homogène. Par exemple, dans l'étude de la fécondité, pour les parcelles de pins âgées de plus de 20 ans ( $n = 3$  sites), les coefficients de variations des indices de lumière mesurés pour les différents ajoncs (cf Chapitre Résultats, partie 1) sont compris entre 3 et 5%. Entre ces deux phases, la quantité de lumière reçue au niveau du sous-bois est plus variable, et dépendante de la position par rapport à la ligne de pins. Les ajoncs les plus proches de la ligne sont dans les positions les plus ombragés, les ajoncs situés au centre de l'interligne ont un meilleur accès à la lumière. Dans les sites correspondants de l'étude de la fécondité ( $n = 3$  sites), les coefficients de variation des indices de lumière sont compris entre 11 et 17% (moyenne égale à 14%). La modélisation proposée est basée sur la distinction de ces 3 phases, comme indiqué dans la figure 44 ci-dessous.

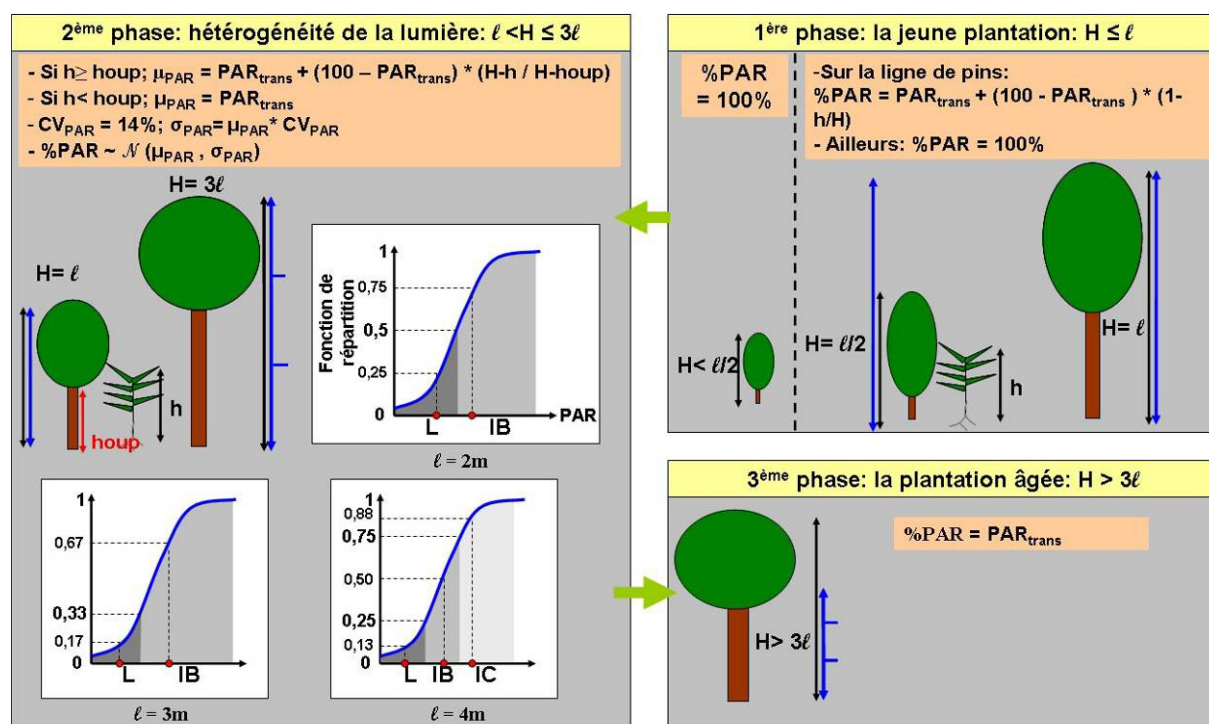


**Figure 44.** Modélisation de la lumière disponible pour les ajoncs au cours de la rotation forestière. La discrimination entre les 3 phases est basée sur la comparaison de la hauteur des pins maritimes avec la largeur de l'interligne ( $\ell$ ).  $\text{PAR}_{\text{trans}}$  indique la quantité de lumière transmise au sous-bois calculé selon la loi de Beer Lambert (voir ci-dessous). Les notations L, IB, IC indique la position de la cellule par rapport à la ligne de pins, comme indiqué sur les figures 22 et 40. Avec un interligne de 4m, en lande humide, les trois phases correspondent approximativement aux périodes 0-4 ans; 5-16 ans et  $> 16$  ans.

Au cours de la première phase, une diminution de la lumière reçue n'est possible que sur la ligne de pins. Le calcul du ratio entre la hauteur des ajoncs et la hauteur des pins est effectué dans chaque cellule de la ligne, en utilisant la taille de l'ajonc le plus grand.

Au cours de la deuxième phase, on considère que la distribution de la lumière dans la parcelle suit une loi normale. Le coefficient de variation utilisé est issu des mesures faites lors de l'étude de la fécondité. La lumière transmise dans chaque type de cellule est déterminée selon la fréquence des cellules, et la fonction de répartition de la loi normale, en considérant une lumière croissante de la ligne de pins jusqu'au centre de l'interligne. La hauteur médiane de tous les ajoncs de la parcelle est comparée à celle de la base du houppier des pins. Si la hauteur des ajoncs est supérieure à celle du houppier des pins, la quantité moyenne de lumière interceptée par les pins sur l'ensemble de la parcelle ( $\mu_{PAR}$ ) diminue.

Au cours de la troisième phase, un PAR uniforme est appliqué pour l'ensemble de la parcelle.

### 2.5.3 La loi de Beer-Lambert

La loi de Beer Lambert permet de calculer la quantité de lumière transmise après interception par un couvert végétal (e.g. Gaudio et al., 2010). Elle a été appliquée avec succès pour l'estimation du PAR transmis à travers une canopée de pins maritimes, selon l'équation 6 suivante:

$$PAR_{trans} = e^{-k.LAI} \quad (6)$$

Avec  $k$ , le coefficient d'extinction du pin maritime ( $k = 0.32$ , Berbigier and Bonnefond, 1995), et  $LAI$  l'indice de surface foliaire (en  $m^2.m^{-2}$ ). Cet indice foliaire est calculé à partir du diamètre et de l'âge des pins tel que décrit dans Porté et al. (2000).

L'estimation des quantités de lumière transmise au sous-bois repose sur la loi de Beer-Lambert. L'interception de la lumière est appliquée de manière différenciée selon 3 phases au cours de la rotation forestière. Dans les jeunes plantations, elle n'est considérée que sur la ligne de pins. Dans les plantations d'âge intermédiaires, elle est appliquée sur l'ensemble de la parcelle, de manière hétérogène, avec un accès à la lumière facilité au centre de l'interligne. Dans les parcelles âgées, elle est appliquée sur l'ensemble de la parcelle, de manière homogène.



## **Chapitre 5: DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

---

Ce dernier chapitre s'articule autour de quatre parties. Dans un premier temps, nous reviendrons sur la question de l'impact de la sylviculture du pin maritime sur la dynamique de l'ajonc d'Europe, et sur les avancements souhaitables pour une utilisation du modèle dans l'ensemble du massif landais. Dans un second temps, la production de connaissances concernant l'ajonc d'Europe est présentée comme permettant d'aborder d'autres problématiques en écologie. Puis nous verrons en quoi le travail présenté contribue à l'avancement de la connaissance concernant la reproduction et la régénération des ligneux. Enfin les perspectives de travail pour répondre aux pistes de recherches présentées dans la discussion sont rapidement introduites.

### **A. La dynamique des populations d'ajoncs dans la parcelle de pins maritimes, originalité et avancement de la démarche de modélisation**

---

#### **1 *La révision de l'hypothèse quant au cycle de vie de l'espèce dans la parcelle de pins maritimes***

L'hypothèse présentée concernant le cycle de vie de l'ajonc d'Europe dans notre contexte (cf. Figure 10, Chapitre 1) repose beaucoup sur la longévité de la banque de graines dans le sol. La production importante de graines en phase pionnière de la rotation forestière permettrait ainsi de constituer un stock de graines qui perdurerait jusqu'à la coupe rase suivante, et permettrait par la suite l'installation d'une nouvelle population d'ajoncs. Cependant, la longévité du stock qui a été estimé dans cette étude (cf estimation de  $p_d$ , Chapitre 4, partie 2) semble moins importante que celle initialement supposée sur la base de résultats obtenus en contexte invasif (Hill et al., 2001). Une forte variabilité entre sites est observée en contexte invasif (Hill et al., 2001), et une variabilité importante de la longévité des banques de graines entre différents sites dans la forêt landaise n'est pas à exclure. Néanmoins, si le taux de diminution de la banque de graines estimé dans cette étude est représentatif de nombreuses situations dans la région, le processus de maintien de l'espèce dans le massif forestier doit être reconsidéré.

L'importance de la constitution du stock de graines pour la régénération de l'espèce est confirmée (Chapitre Résultats, partie 3). Une production de graines importante est bien assurée en pleine lumière dans les jeunes plantations (Chapitre Résultats, partie 1), mais le stock de graines constitué pourrait être éliminé avant la coupe rase et l'installation de la parcelle suivante. La production de graines dans les parcelles plus âgées de pins maritimes, même diminuée par l'ombrage de la canopée des arbres, pourrait alors être une des clés du maintien de l'espèce dans notre milieu.

L'ajonc d'Europe est considéré comme une espèce pionnière héliophile. Ce caractère n'est pas remis en question, mais les résultats présentés au cours de cette thèse montrent une importante capacité de l'espèce à s'adapter à une diminution, au moins modérée, de la lumière reçue. D'abord la relation entre la croissance et la reproduction est constante jusqu'à des interceptions de lumière assez importantes (Chapitre Résultats, partie 1). Puis la rupture de cette relation en cas d'ombrage fort est interprétée comme un moyen d'augmenter les chances de survie de l'espèce à l'ombre (Chapitre Résultats, partie 1). De plus les relations âge-

diamètre, dans les peuplements situés en sous-bois de pins âgés, semblent aussi indiquer une capacité à maintenir la croissance à l'ombre (Chapitre 4, partie 2). Un autre élément important mis en évidence au cours de la thèse est la diminution de la prédation des graines d'ajonc à l'ombre, facilitant l'alimentation de la banque de graines dans les parcelles âgées de pins maritimes (Chapitre Résultats, partie 2).

Cependant la mortalité à l'ombre de l'espèce intervient de manière précoce (Chapitre 4, partie 2), et l'espèce ne pourrait pas se maintenir en cas d'interception forte de la lumière sur de longues périodes. Si la banque de graines importante constituée en phase pionnière ne peut pas perdurer jusqu'à la coupe rase suivante, elle pourrait augmenter les chances de régénération de l'espèce après les premières éclaircies, une fois la période de fort ombrage passée. Un autre élément important pour le maintien de l'espèce dans le massif pourrait être la présence refuge des ajoncs en bordures des parcelles les plus sombres, dans des conditions d'ombrage là aussi plus modérées, en combinaison avec une dispersion secondaire des graines vers le centre de la parcelle par agestochorie ou myrmecochorie.

L'ajonc d'Europe est connu à travers le monde comme étant capable de s'adapter à des conditions environnementales très variables (e.g. photopériode, rythme des saisons) comme indiqué par sa présence dans une large gamme de latitudes (de 5° à plus de 50° Nord et Sud) et d'altitudes (de 0 à plus de 3500 m) (Holm et al., 1997). Notre étude suggère que l'adaptation à des ombrages modérés fait aussi partie des capacités d'adaptation de l'espèce, et contribue fortement à sa présence dans le massif landais, où une proportion importante de la lumière incidente est transmise au sous-bois (Berbigier and Bonnefond, 1995). Ceci est cohérent avec la reconnaissance que beaucoup d'espèces ne sont pas strictement héliophiles ou sciaphiles, mais sont plutôt organisées le long d'un continuum 'héliophilie - tolérance à l'ombre' (Alvarezbuylla and Martinezramos, 1992; Laurans et al., 2012).

## ***2 L'impact des scénarios sylvicoles sur la dynamique de l'espèce et sur le maintien de la fertilité des sols landais***

### **2.1 Impact sur la dynamique de l'ajonc d'Europe**

Suite à la révision de l'hypothèse concernant le cycle de vie de l'espèce, l'impact des différents scénarios sylvicoles proposés (Chapitre 4, partie 1) peut être discuté au regard de l'espacement entre les périodes favorables à l'alimentation du stock de graines, que ce soit en phase pionnière lumineuse, ou en phase avancée de la rotation avec un ombrage modéré. C'est l'objectif du tableau 11 ci-après:

| Itinéraires                                | Bref rappel                                                                                    | Incidence                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>I1. Référence – Bois d'œuvre</b>        | 40 ans, densité moyenne, fertilisation, 300 tiges.ha <sup>-1</sup> en fin de rotation          | Production de graines possibles en fin de rotation (densité de pins faible et ombrage modéré), sauf si le recrutement de l'espèce échoue en raison de la forte compétition interspécifique au niveau du sous-bois. Si l'ajonc peut se maintenir dans la parcelle, la longue période d'ombrage modéré pourrait entraîner une abondance moyenne de l'espèce                                                                                                   |
| <b>I2. Bois d'œuvre très haute qualité</b> | 60 ans, absence de fertilisation puis identique à l'itinéraire de référence                    | Densité de pins faible en fin de rotation, mais grands pins avec surface foliaire importante et ombrage fort. Risque de disparition des ajoncs et d'épuisement du stock de graines sauf si la densité finale de pins maritimes est plus réduite que théoriquement par l'itinéraire.                                                                                                                                                                         |
| <b>I3. Petit sciage</b>                    | 25 ans, fertilisation, densité initiale forte et 833 tiges.ha <sup>-1</sup> en fin de rotation | Densité et ombrage maintenus forts jusqu'à la fin de la rotation. Risque de disparition des ajoncs et d'épuisement du stock de graines                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>I4. Biomasse</b>                        | 10 ans, densité très forte, fertilisation                                                      | Compétition forte pour la lumière entre les jeunes pins et les ajoncs. L'espèce pourrait être:<br>- très défavorisée si la compétition avec les pins empêche l'installation d'une population mature après la coupe rase.<br>- très favorisée par cet itinéraire et devenir abondante si l'installation est réussie après la coupe rase car la durée de la rotation est idéale pour assurer une banque de graines importante lors de la coupe rase suivante. |

**Tableau 11.** Incidence supposée des scénarios sylvicoles proposés sur la dynamique de l'ajonc d'Europe.

La fertilisation ne semble pas être déterminante pour la régénération de l'espèce (Chapitre Résultats, partie 3). Mais elle pourrait avoir 2 effets contraires sur la dynamique de l'espèce: 1) *un effet positif* grâce à une amélioration de la croissance des ajoncs en début de rotation, qui s'accompagnerait d'une augmentation de la production de graines et du flux de fixation symbiotique d'azote; 2) *un effet négatif* via l'augmentation de la croissance des pins (la phase initiale d'accès important à la lumière pourrait être réduite) et du sous-bois (qui pourrait limiter le recrutement de l'espèce au cours de la rotation).

Un contrôle mécanique du sous-bois est prévu dans les itinéraires I1 à I3. Lorsqu'ils interviennent tôt après la coupe rase, la lumière reçue par le sous-bois est encore élevée, et la croissance des rejets devrait être forte, avec un recouvrement rapide de la taille initiale. Lorsqu'ils interviennent tardivement, l'ombrage est plus fort, et la croissance des rejets est plus lente. Le recouvrement de la taille initiale est plus incertain, car la mortalité des individus est précoce. Le nettoyage du sous-bois provoque certainement un arrêt et une diminution temporaire de la production de graines, qui pourrait cependant se rétablir rapidement en cas d'accès important à la lumière.

## 2.2 Impact sur le maintien de la fertilité des sols landais

Des différences de pratiques sylvicoles peuvent aussi entraîner une modification des flux d'azote entrants et sortants de la parcelle forestière qui ont été présentés dans le premier

chapitre (Figure 5). En particulier les itinéraires qui prévoient des rotations courtes et/ou qui sont dédiés à la production de biomasse pourraient provoquer:

- Une augmentation des flux sortants:
  - o La production primaire diminue dans les parcelles forestières âgées, en lien avec la fermeture de la canopée (Long and Smith, 1992; Murty et al., 1996). De plus les teneurs en nutriments, dont l'azote, dans les branches et troncs des pins maritimes sont plus élevées dans les jeunes arbres de petites tailles que dans les grands arbres âgés (Augusto et al., 2008). Les itinéraires courts s'intéressent particulièrement aux jeunes plantations où la productivité est forte, et où les teneurs en nutriments dans la biomasse produite sont élevées. Dans ce cas, le flux d'azote sortant de la parcelle via les exportations de biomasse, et exprimé par unité de temps, pourrait augmenter. De plus, dans les itinéraires courts où l'objectif est la production de biomasse forestière, la récolte de l'ensemble des parties aériennes pourrait intervenir, en particulier des jeunes branchages et du feuillage, où les teneurs en azote sont particulièrement élevées (Augusto et al., 2008). Cela augmenterait d'avantage le flux d'azote sortant.
  - o Les pertes par lessivages augmentent ponctuellement après la coupe rase et le travail du sol (Dambrine et al., 2000; Weston and Attiwill, 1996). Ces pertes peuvent être faibles lorsqu'elles sont rapportées à une durée de rotation importante. Mais avec des itinéraires plus courts, ces pertes par lessivage sont plus fréquentes et le flux sortant d'azote de la parcelle pourrait augmenter.
- Une diminution des dépôts atmosphériques: La surface foliaire des arbres détermine la surface d'interception des dépôts atmosphériques (Augusto et al., 2002). Les dépôts atmosphériques par unité de temps sont donc plus importants dans les parcelles de pins âgés où la surface foliaire par unité de surface est plus importante. Le flux entrant d'azote d'origine atmosphérique serait réduit dans les itinéraires courts où la surface foliaire des pins maritimes est faible en comparaison à celle des parcelles âgées.

En conséquence, il apparaît que les itinéraires I3 et I4 présentés dans le tableau 11 ci-dessus pourraient provoquer conjointement une augmentation des sorties d'azote de la parcelle forestière, et une diminution des apports. Ces itinéraires pourraient donc à long terme conduire à une diminution de la fertilité chimique des sols.

L'itinéraire I3 semble défavorable au maintien de l'ajonc d'Europe dans la parcelle. Dans ce cas, les pertes d'azote dans la parcelle ne pourraient pas être compensées par la fixation symbiotique d'azote. Concernant l'itinéraire I4, deux situations sont envisageables (cf. Tableau 11):

- si l'ajonc d'Europe est éliminé, une perte de fertilité pourrait intervenir, en particulier avec une augmentation importante des exportations d'azote contenu dans la biomasse récoltée.
- si l'ajonc devient abondant, et avec les pratiques de fertilisation phosphatée, la production de biomasse d'ajonc pourrait être très importante et le flux de fixation symbiotique d'azote correspondant pourrait dépasser les  $50 \text{ kg ha}^{-1}\text{an}^{-1}$  (Augusto et al., 2005). Ce flux entrant d'azote pourrait compenser les pertes via l'exportation de biomasse, mais il pourrait aussi être en partie contrebalancé par une augmentation de l'azote minéralisé et lessivé vers les eaux souterraines, comme cela est observé dans les zones particulièrement denses en ajoncs en contexte invasif (Drake, comm. pers.).

L'incidence des pratiques sylvicoles sur la dynamique de l'ajonc d'Europe est d'autant plus importante lorsque l'on considère la possibilité de la diminution de la fertilité des sols landais dans les itinéraires les plus courts et intensifs qui sont envisagés à l'heure actuelle. Cependant seule l'implémentation du modèle présenté dans le Chapitre 4 permettrait une critique détaillée quant à la dynamique de l'espèce dans notre contexte, et quant au flux d'azote d'origine atmosphérique associé.

### 3 Le modèle *WOody Understory DYnamic in FORestry* (*WOUDYFOR*)

Un début d'implémentation du modèle conceptuel a eu lieu, sous le nom de WOUDYFOR (Fig. 45). Ce travail est effectué au sein de la plateforme de modélisation en sylviculture CAPSIS ([www.capsis.cirad.fr](http://www.capsis.cirad.fr)). Les avantages de cette plateforme sont nombreux: utilisation possible de modèles déjà existants (e.g. le modèle Pinus Pinaster 3), l'existence d'une base de modélisation spatialement explicite, basée sur un treillis, l'existence d'outils adaptés à la description d'itinéraires sylvicoles (schémas de plantations, éclaircies...), une interface graphique élaborée pour la visualisation et l'interprétation des sorties des modèles, la disponibilité de personnes ressources pour aider à l'écriture de l'algorithme. Si la représentation du cycle de vie de l'espèce, tel que présenté dans le chapitre 4 (partie 2) est bien avancée (Fig. 45), l'interaction avec la sylviculture n'est pas encore prise en compte.

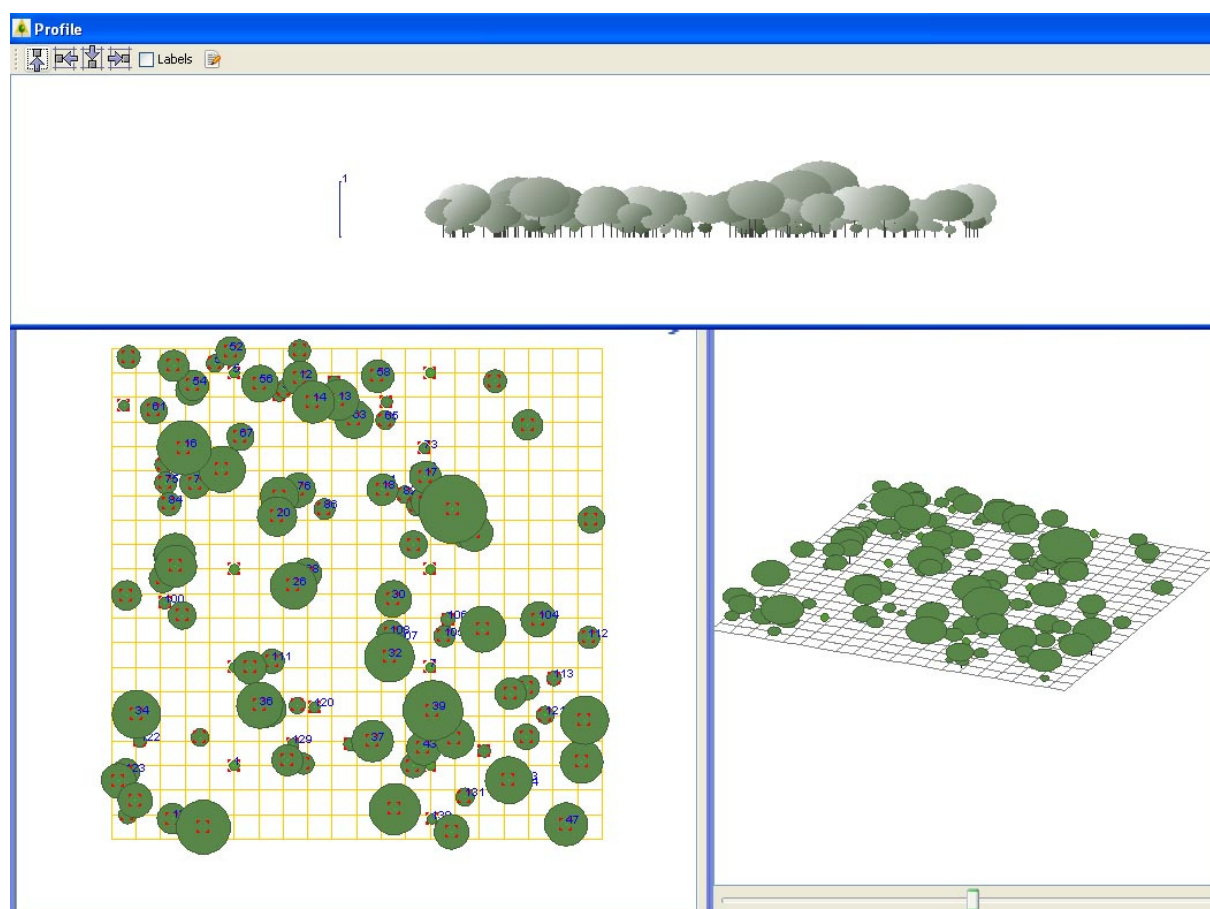


**Figure 45.** Différentes vues d'une scène du modèle WOUDYFOR dans CAPSIS. Chaque ajonc est défini par les variables présentées dans le chapitre 4 (dimensions, biomasses). Chaque cellule est défini par sa banque de graines, le nombre de plantules, d'ajoncs mûres, la position par rapport à la ligne de pins.

## **4 Originalité de la démarche de modélisation et développement des modèles de dynamique du sous-bois**

Le sous-bois, souvent absent des modèles de sylviculture, commence à être explicitement décrit et son influence prise en compte. Citons par exemple les modèles RReShar (Regeneration and Resource Sharing, Gaudio, 2010) et GRAECO (Loustau et al., 2001) qui s'intéressent respectivement à l'impact du sous-bois sur la régénération naturelle du pin sylvestre et aux flux d'eau et de carbone dans la parcelle de pins maritimes, déterminant la croissance de cette essence. Mais la prise en compte du sous-bois est le plus souvent simplifiée, parce que les objectifs de recherche sont d'abord centrés sur les arbres de production.

La démarche développée ici apparaît comme le pendant des ces modèles centrés sur l'arbre (et prenant en compte sommairement le sous-bois). Ici l'attention est portée sur le sous-bois tout en prenant en compte l'arbre (décrit de manière simplifiée, cf Chapitre 4, partie 2). L'importance du sous-bois pour le fonctionnement des écosystèmes forestier est reconnu (Dickie et al., 2011; Gonzalez et al., 2013, cf Annexe 5). Dans les forêts de production, il peut faciliter la régénération ou le développement des plants (Heinemann and Kitzberger, 2006), mais aussi être compétiteur pour les ressources pour les jeunes arbres (Coll et al., 2003; Wagner et al., 2006). Son rôle dans le cycle des éléments nutritifs peut aussi être important, empêchant par exemple un fort lessivage suite à la coupe rase grâce à une fixation rapide des nutriments par la végétation qui se réinstalle (Dambrine et al., 2000). Ce rôle est dépendant des espèces en jeu, de leurs relations directes, mais aussi indirectes (e.g facilitation indirecte), et de leurs évolutions dans le temps (Pages et al., 2003; Brooker et al., 2006). Alors, il est étonnant qu'aucun modèle de dynamique du sous-bois, en lien avec des pratiques sylvicoles n'ait été trouvé dans la littérature (Cf Chapitre 1). Il est probable que dans le futur, d'autres démarches de modélisation similaires à celle présentée ici seront développées autour de questions scientifiques centrées sur des espèces du sous-bois.

Parce que la structure spatiale est relativement simple dans la parcelle de pins maritimes modélisée ici, et parce que la l'hétérogénéité de la lumière y est modérée, la prise en compte de la lumière s'est faite de manière simplifiée, basée sur la loi de Beer-Lambert (Chapitre 4). Cependant, l'amélioration et la multiplication récente des modèles d'interception de la lumière par la canopée des arbres dominants (e.g. Courbaud et al., 2003; Stadt and Lieffers, 2000) rend disponible des outils utiles pour des avancées futures dans la modélisation de la dynamique du sous-bois.

Enfin, l'amélioration de la connaissance des interactions entre les différentes strates de la végétation, et l'avancement des démarches de modélisation associées, pourraient aussi aboutir à l'existence de modèles dont les compartiments canopée et sous-bois sont considérés avec une importance équivalente, et dont l'influence de l'un sur l'autre serait constamment réévaluée.

## **5 Le modèle conceptuel dans les autres types stationnels**

Le travail de thèse s'est principalement intéressé à des situations en lande humide. L'utilisation du modèle dans d'autres types de landes nécessiterait quelques adaptations. Ces modifications concernent: 1) un changement possible des pratiques de sylviculture, 2) la modification des espèces dominantes du sous-bois, et 3) la modification de la fertilité stationnelle.

## 5.1 Les pratiques sylvicoles

Les techniques utilisées dans la lande mésophile et sèche sont similaires à celles de la lande humide, ne nécessitant pas d'adaptations particulière du modèle conceptuel. La principale différence tient à l'allongement de la durée des rotations en landes sèches où la croissance du pin maritime est moins rapide (ONF, 2003). En dune, les pratiques sont moins interventionnistes (peu de contrôle du sous-bois, préparation du sol réduit, régénération naturelle) et plus diversifiées (cf Chapitre 1, partie 1). La diminution du nombre et de la fréquence des opérations peut être facilement traduite par la diminution des perturbations dans le modèle. La principale adaptation tiendrait plutôt à la modification du mode de régénération du pin maritime (par régénération naturelle ou semis). Mais la structure en treillis de l'espace parcellaire est suffisamment souple pour pouvoir représenter des répartitions variées de pins maritimes dans la parcelle. Par exemple la présence de pins peut-être considéré dans l'ensemble des cellules après un semis, puis un dépressage peut-être appliqué sur des bandes de largeurs variées.

## 5.2 Le type de sous-bois

L'impact du type de sous-bois sur la dynamique de population de l'ajonc est d'abord à considérer pour les jeunes stades plantules (Chapitre Résultats, partie 3). L'analyse des résultats des transplantations de plantules d'ajonc sous couvert de fougère aigle et de callune (Annexe 1) permettra d'approfondir les relations entre le sous-bois et les plantules de l'espèce respectivement pour la lande mésophile et la lande sèche.

Nous pouvons déjà indiquer que les taux de mortalité observés sous couvert de fougères sont faibles. L'interception de la lumière étant forte par cette espèce (Gaudio et al., 2010), cela semble confirmer la tolérance des plantules d'ajoncs à l'ombre, déjà montré par ailleurs (Valladares et al., 2003). Au contraire, la mortalité sous couvert de callune est très importante. L'interception de la lumière par la callune étant faible (Gaudio et al., 2010), cela pourrait indiquer un effet allélopathique (Jalal et al., 1982), mais aussi une compétition racinaire importante pour l'eau et les nutriments.

Des peuplements installés de molinie ou de fougère aigle sont probablement peu perturbés lors du contrôle mécanique du sous-bois, car ils peuvent se reformer rapidement à partir des réserves contenues dans les rhizomes (Aerts et al., 1991; Marrs and Watt, 2006). Mais la callune est une espèce ligneuse qui ne rejette pas de souche (Calvo et al., 2002). Le développement de la callune dans la parcelle doit-donc être considéré dans le modèle après la coupe rase, mais aussi dans certaines cellules, après perturbation aérienne.

En dune, la composition du sous-bois est plus variée que dans les autres types de landes, et il semble peu réaliste d'envisager une interaction entre l'ajonc d'Europe et une seule espèce caractéristique du sous-bois dans le modèle. De plus, les espèces ligneuses dominent le sous-bois dunaire (*Arbustus unedo* L. (arbousier commun), jeunes chênes (*Quercus ilex* L., *Quercus suber* L.)) (Jolivet et al., 2007; Sardin, 2009) et l'ajonc d'Europe au stade adulte ne domine plus en hauteur le reste du sous-bois comme dans les autres types de landes. Les interactions à prendre compte dans le modèle pourraient concerner les relations entre l'ajonc d'Europe et un type fonctionnel (petit ligneux), au stade plantule, mais aussi au stade adulte.

## 5.3 Différence de fertilité entre stations

En l'absence d'argiles minéralogiques dans les sols de la région, les oxydes de fer et d'aluminium, ainsi que la matière organique du sol, sont les phases réactives du sol, permettant de réapprovisionner la solution du sol en nutriments (Achat et al., 2011). En particulier, les teneurs en oxydes des sols de la région sont indicateurs de la disponibilité en

phosphore. Les plus faibles teneurs en oxydes en lande sèche et en dune par rapport aux autres types de landes sont en partie responsables d'une fertilité moindre (Chapitre 1, partie 1) (Augusto et al., 2010). Cette différence de fertilité provoque une différence de vitesse moyenne de croissance des pins maritimes, et donc une évolution différente de la lumière transmise au sous-bois. Cet effet peut-être pris en compte directement par l'utilisation du modèle de croissance du pin maritime *Pinus Pinaster* 3.

L'ajonc est une espèce adaptée aux sols pauvres (Clements et al., 2001), mais dont la croissance est limitée par la disponibilité en phosphore (Chapitre Résultats, partie 3, Augusto et al., 2005). Une utilisation du modèle en lande sèche et en dune pourrait en particulier prendre en compte une diminution de la croissance des ajoncs.

#### **5.4 Le modèle conceptuel et les arbustes fixateurs d'azote de la forêt landaise**

Les deux autres arbustes fixateurs d'azote présents dans la forêt des Landes de Gascogne, le genêt à balais (*Cytisus scoparius* L.) et l'ajonc nain (*Ulex minor* L.) sont fonctionnellement proches avec l'ajonc d'Europe et ont des cycles de vie similaires: espèces héliophiles plus présentes en phase pionnière, production annuelle de graines, dispersion par déhiscence explosive des gousses, prédation des graines avant la dispersion (Peterson and Prasad, 1998; Stokes et al., 2003). En particulier, *Cytisus scoparius* et *Ulex europaeus* sont tous les deux des fixateurs obligés d'azote (Drake, 2011), ont des tailles et taux de croissance comparables (Augusto et al., 2005; Prevosto et al., 2004), et ont des phénologies de floraison et croissance dans la région semblables. *Cytisus scoparius* est une espèce invasive au même titre que l'ajonc d'Europe et est fréquemment rencontré dans les zones aussi envahies par l'ajonc d'Europe (Peterson and Prasad, 1998). En plus des similitudes des modes d'introduction, cela suggère la similarité fonctionnelle des deux espèces. Le modèle de dynamique de l'ajonc d'Europe en Nouvelle Zélande (Rees and Hill, 2001) est d'ailleurs dérivé du modèle initialement conçu pour le genêt à balais (Rees and Paynter, 1997).

Des deux autres arbustes fixateurs d'azote, le genêt à balais est celui pour laquelle la perspective de l'adaptation du modèle semble la plus justifiée car:

- C'est l'espèce qui semble avoir la plus grande similarité fonctionnelle avec l'ajonc d'Europe
- Les informations disponibles dans la littératures sont nombreuses et concernent toutes les étapes de vie du genêt à balais (e.g. dynamique de la banque de graines, émergence et développement des plantules (Magda et al., 2009; Paynter et al., 1998); croissance (Prevosto et al., 2004); sénescence (Paynter et al., 2003); production des graines (Prider et al., 2011); prédation des graines (Rodriguez et al., 2012); dispersion (Malo, 2004)). En particulier, deux modèles de dynamique de population du genêt à balais sont déjà existants, en milieu natif (Chambon Dubreuil, 2007), et invasif (Rees and Paynter, 1997).

Le genêt à balais est majoritairement concentré sur la dune forestière dans le massif. L'adaptation du modèle à cette espèce permettrait d'apporter des éléments de réponses concernant deux questions importantes: 1) qu'est-ce qui est déterminant dans le succès supérieur de l'ajonc d'Europe dans la forêt landaise par rapport au genêt à balais? 2) En quoi les résultats de la modélisation pour les deux espèces peuvent contribuer à la connaissance concernant leurs capacités invasives particulières, et la problématique des espèces végétales invasives en général?



## B. L'ajonc d'Europe, un modèle d'étude pour la recherche en écologie

### 1 Apports possibles de la démarche de modélisation du cycle de vie de l'espèce à d'autres contextes

Le modèle présenté se situe dans un contexte de sylviculture. Cependant, l'effort d'acquisition de connaissance et de modélisation effectué pour la description du cycle de vie de l'espèce (Chapitre 4) permet d'envisager une ouverture de la démarche de modélisation à d'autres problématiques liées à la dynamique de l'espèce. Ces problématiques sont indiquées dans le tableau 12 suivant.

| Contexte                             | Problématique                                                                                                                                                                                                                         | Localisation                                                         | Apports de la démarche de modélisation                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Envahissement des landes à Ericacées | Abandon de l'élevage extensif traditionnel. Envahissement par l'ajonc et menace pour ces écosystèmes fragiles (Gallet and Roze, 2001)                                                                                                 | Milieu natif (Bretagne et Grande-Bretagne)                           | Modèle permettant:<br>- de prendre en compte les interactions ajoncs-éricacées au stade plantule<br>- de rendre compte d'un effet lié au pâturage (mortalité plantules, perturbation croissance et reproduction des adultes) |
| Propagation des incendies            | Teneur en eau des tissus ligneux faible, accumulation sur pied et en litière de matière morte inflammable. L'ajonc participe à la propagation des incendies (Anderson and Anderson, 2009; Hely and Forgeard, 1998)                    | Milieus natifs et invasifs, climats plutôt à tendance méditerranéens | Prédiction des différents types de biomasse dans un modèle spatialisé                                                                                                                                                        |
| Contrôle de l'espèce invasive        | La combinaison de plusieurs méthodes de lutte semble indispensable pour son contrôle (Rees and Hill, 2001)                                                                                                                            | Milieus invasifs                                                     | Modèle adapté à la prise en compte des perturbations, permettant de représenter différentes actions sur différentes étapes du cycle de vie                                                                                   |
| Eutrophisation des bassins versants  | Les flux de fixations d'azote atmosphérique sont très importants en contexte invasif (de 100 à 200 kg-N ha <sup>-1</sup> an <sup>-1</sup> ) participent à l'eutrophisation de bassins versants entiers (Drake, 2011; Egunjobi, 1971a) | Milieu invasif                                                       | Modèle permettant de prédire des flux d'azote d'origine atmosphérique.                                                                                                                                                       |

**Tableau 12.** Principales problématiques liées à l'ajonc d'Europe qui pourraient profiter de la démarche de modélisation développée au cours de la thèse.

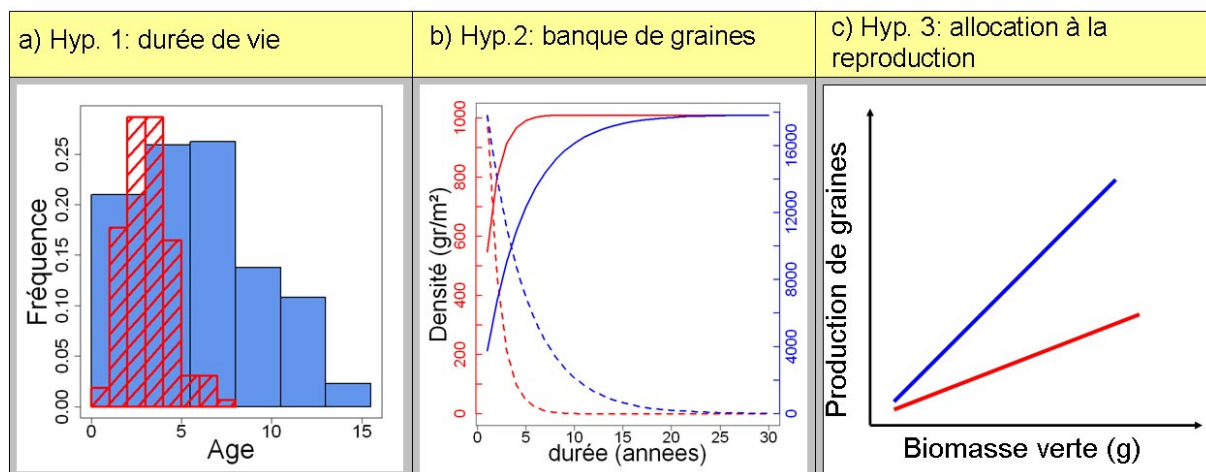


**Figure 46.** Trois hypothèses pour expliquer le caractère invasif de l'ajonc d'Europe. Les situations correspondant au contexte natif sont en rouges, celles au contexte invasif en bleu.

a) Différence de structure d'âge. En rouge, données issues de De Lavaissière (2003) (n= 164). En bleu, données issues de Lee et al (1986) (n= 305).

b) Différence de taille et de longévité des banques de graines. En traits pleins: densité de graines dans le sol, en considérant un stock initial nul, et une production annuelle de graines maximale (voir ci-dessous). En traits pointillés: diminution de la banque de graines à partir de la densité maximale (indiquée par les traits pleins) et arrêt complet de la production. Les axes des ordonnées à gauche et à droite indiquent les densités de graines calculées en milieu natif et invasif respectivement.

Les valeurs utilisées pour les calculs sont issues de l'étude de la fécondité et de la prédation (Chapitre Résultats, partie 1 et 2) et de Hill et al (2001) (cf Chapitre 4). Production maximale de graines d'un peuplement d'ajoncs mûres: 7970 gr.m<sup>-2</sup>. Prédation en milieu natif: 71%, Milieu invasif sans prédation (0%). p\_d année 1 milieu natif: 76%, milieu invasif: 53%. p\_d autres années: milieu natif: 54%, milieu invasif: 21%.

c) Allocation des ressources à la reproduction supérieure pour les ajoncs en milieu invasif et modification des relations R-V (cf Chapitre Résultats, partie 1).

## **2 Hypothèses quant au caractère invasif de l'ajonc d'Europe**

Les traits identifiés pouvant conférer un avantage compétitif à une espèce exotique introduite par rapport aux espèces natives sont nombreux (Gurevitch et al., 2011). En particulier, plusieurs traits sont souvent impliqués dans le succès de l'espèce introduite (Urgenson et al., 2012), ce qui semble aussi le cas pour l'ajonc d'Europe (Hornoy et al., 2011). La comparaison des résultats obtenus au cours du travail de thèse avec les données de la littérature concernant l'ajonc en contexte invasif permet la formulation de 3 hypothèses non exclusives pouvant participer au caractère invasif de l'ajonc d'Europe, et qui sont présentées sur la figure 46.

### **2.1 Hypothèse 1: durée de vie rallongée**

L'âge maximal atteint par l'espèce semble en contexte natif et invasif se situer autour de 15 ans (Lee et al., 1986, cette étude). Mais derrière cette apparente constance de l'âge maximal de l'espèce, les structures d'âges de la population peuvent être très différentes, et la mortalité pourrait intervenir en majorité de manière plus précoce en milieu natif. Dans notre région, les individus âgés de plus de 10 ans sont très rares (De Lavaissière, 2003, cette étude) alors qu'ils sont fréquemment rencontrés en contexte invasif (Lee et al., 1986; Fig. 46a). La comparaison suggérée par la figure 46a doit cependant être faite avec précaution, car il n'est pas possible de savoir si les données présentées ont été obtenues dans des conditions de luminosité comparables, et une diminution de la lumière provoque une mortalité précoce des ajoncs (Chapitre 4, partie 2). Si la proportion d'individus âgés (et grands) est supérieure en contexte invasif, une quantité plus importante de graines pourrait être produite au cours de la vie de la plante, et le maintien dans la succession végétale serait favorisé.

### **2.2 Hypothèse 2: longévité de la banque graines dans le sol rallongée**

Les taux de diminution de la banque de graines estimés dans cette étude sont supérieurs à ceux mesurés en Nouvelle-Zélande (Hill et al., 2001). En considérant l'absence possible de prédateur de graines en contexte invasif, les banques de graines maximales atteignables en milieu natif et invasif sont comparées, ainsi que leur longévité dans le sol après arrêt de la production (Fig. 46b). Les valeurs obtenues sont cohérentes avec celle de la littérature, où la densité de graines en surface peut atteindre respectivement 900 gr.m<sup>-2</sup> et 20 000 gr.m<sup>-2</sup>, dans la région (Gonzalez et al., 2010) et en contexte invasif (Zabkiewicz and Gaskin, 1978). Aussi une longévité maximale des graines dans le sol supérieure à 20 ans est reportée en Nouvelle Zélande (Moss, 1959). La cohérence de la figure 46b avec la littérature suggère qu'une différence de longévité des banques de graines dans le sol, en association avec une pluie de graines plus importante, participe à la constitution d'un stock de graines plus important et durable dans le sol en milieu invasif.

### **2.3 Hypothèse 3: modification des relations R-V et augmentation de l'allocation à la reproduction**

Les pluies de graines maximales annoncées dans la littérature en Nouvelle-Zélande sont supérieures à 30 000 gr.m<sup>-2</sup> (Rees and Hill, 2001). Elles dépassent largement la production de graines maximale calculée dans notre contexte à partir de l'étude de la fécondité (environ 8 000 gr.m<sup>-2</sup>). Pourtant, les individus d'ajoncs en milieu natif et invasif ont des taux de croissance comparables (Augusto et al., 2005; Lee et al., 1986). La manière dont est estimée la pluie de graines dans la littérature n'est pas indiquée, et une surestimation n'est pas à écarter, mais les différences importantes notées pourraient suggérer que l'allocation à la reproduction est supérieure en milieu invasif. Ainsi, une modification importante des relations R-V en milieu invasif, par rapport au contexte d'origine pourrait avoir lieu (Fig

46c). Le fait que l'ajonc d'Europe accomplisse 2 cycles de reproduction par an en Nouvelle- Zélande (Hill et al., 1991), contre 1 seul cycle annuel dans son aire d'origine (Tarayre et al., 2007), pourrait contribuer à une augmentation importante de l'allocation à la reproduction.

## **2.4 L'ajonc d'Europe et l'hypothèse EICA**

L'hypothèse EICA (Evolution of Increased Competitive Ability) indique que lorsqu'une espèce est introduite en l'absence de ses prédateurs naturels, l'allocation de ressources dans les mécanismes de défense serait superflue, permettant la sélection de génotypes allouant plus de ressources à la croissance et la reproduction et étant très compétitifs par rapports aux espèces locales (Blossey and Notzold, 1995; te Beest et al., 2009). L'ajonc a été introduit dans de nombreuses régions en l'absence des prédateurs spécifiques des graines (Chap. R2), mais aussi en l'absence d'autres insectes pathogènes ou phytophages, pouvant réduire la croissance des ajoncs (Davies et al., 2007; Ireson et al., 2008). Les hypothèses 1 et 3 ci-dessus seraient alors totalement en accord avec l'hypothèse EICA et la sélection en zones introduites de génotypes plus féconds, et dont la longévité de vie est supérieure. Concernant la longévité accrue des graines dans le sol, elle pourrait être aussi due à l'introduction de l'espèce en l'absence de certains pathogènes contenus dans le sol, et à des différences d'origine climatique et édaphique.

## C. Apports pour l'écologie de la régénération des ligneux

---

### 1 *Plasticité de l'allocation à la reproduction*

Une forte variabilité génétique des traits déterminant le succès de la reproduction, en association avec une forte plasticité phénotypique de ces traits, est considérée comme un élément majeur ayant favorisé l'établissement, puis l'évolution du caractère invasif de l'ajonc d'Europe dans des conditions environnementales diverses à travers le monde (Atlan et al., submitted, cf Annexe 5). Aussi, nous avons suggéré que la plasticité de l'allocation à la reproduction de l'ajonc d'Europe lui permettait de se maintenir plus longtemps dans la succession végétale. En effet la plasticité de l'allocation à la reproduction est un trait majeur de la stratégie de vie des plantes (Stearns, 1992), pouvant permettre le maintien dans une gamme d'environnements plus large sur le court terme, et une adaptation à un environnement changeant sur le long terme (Weiner, 2004).

L'étude de la plasticité de l'allocation à la reproduction (Chapitre Résultats, partie 1) représente donc un apport important à l'écologie de la reproduction des ligneux. En particulier, une démarche permettant de détecter cette plasticité est présentée, adaptée à partir des relations R-V couramment employées pour les espèces herbacées (Weiner et al., 2009a). Un cadre théorique d'étude de cette plasticité est posé, permettant d'éviter deux écueils rencontrés dans la littérature:

- l'interprétation des relations R-V basées sur la taille totale des individus, en termes d'allocation à la reproduction dans les conditions environnementales actuelles (LaDeau and Clark, 2001)
- l'interprétation de l'allocation à la reproduction basée sur des observations partielles des parties aériennes (e.g. à l'échelle de la branche, Suzuki, 2001), alors que des mécanismes compensatoires à l'échelle de l'individu sont probables (Banuelos and Obeso, 2004).

Maintenant que ce cadre théorique est établi, trois axes de recherches peuvent être identifiés pour mieux comprendre les implications possibles de cette plasticité.

#### 1.1 **Vérification de la plasticité de l'allocation à la reproduction des ligneux**

Il est indiqué à la fin du chapitre de résultats (partie1) que des suivis de la croissance, de la survie et de la reproduction sont nécessaires sur plusieurs épisodes reproductifs (idéalement sur l'ensemble de la vie de la plante) et ceci pour 2 raisons qui sont interdépendantes: 1) le bénéfice des individus plastiques en termes de survie et de croissance, et sur la production de graines cumulée tout au long de la vie doit-être vérifié, 2) une forte allocation dans la reproduction lors d'un épisode pourrait-être compensé par une allocation réduite par la suite (i.e. la reproduction peut avoir un coût ultérieur, (Obeso, 2002)). De plus, aucune généralisation n'est possible tant que la plasticité de ce trait n'est pas montrée pour d'autres espèces dans d'autres contextes variés.

#### 1.2 **Plasticité et succession végétale**

L'étude de la plasticité a porté sur une espèce pionnière héliophile. En conséquence, la plasticité détectée lorsque la lumière disponible chute de manière importante a été proposée comme partie intégrante d'une réponse d'évitement de l'ombrage, et permettant de prolonger la

présence de l'espèce dans la succession végétale. La question de la plasticité de la reproduction des espèces plus tardives dans la succession, notamment des espèces très tolérantes à l'ombre voire sciaphiles qui effectuent l'ensemble de leur cycle de vie à l'ombre, est une extension logique de la réflexion. Mais la caractéristique des espèces est justement de maintenir leur survie, croissance et reproduction à l'ombre (Valladares and Niinemets, 2008). Il est donc probable que leur allocation à la reproduction soit peu influencée par une diminution de la lumière. Cependant, la disponibilité en lumière et en nutriments sont souvent négativement corrélés au cours de la succession (Coomes and Grubb, 2000; Portsmouth and Niinemets, 2007). En particulier, la disponibilité en azote est souvent plus élevée dans les phases tardives de la succession (Garnier et al., 2004).

En conséquence, de nombreuses espèces qui se développent à l'ombre, i.e. présente tardivement dans la succession, sont peu performantes sur des sols peu fertiles (Franklin et al., 1993; Kobe, 2006). Une des raisons possible est le coût important en nutriment de la construction d'une surface foliaire importante (Lusk and Contreras, 1999). En effet la teneur en azote des tissus chlorophylliens des espèces tolérantes à l'ombre est élevée (Valladares and Niinemets, 2008). Ainsi, la plasticité de l'allocation à la reproduction des espèces très tolérantes à l'ombre ou sciaphile pourrait être d'abord étudiée le long d'un gradient de disponibilité en nutriments, et particulièrement en azote.

### 1.3 Plasticité et variation interannuelle de la reproduction

Les relations R-V observées chez l'ajonc d'Europe sont stables d'une année sur l'autre (Chapitre Résultats, partie1), ce qui facilite leur observation à partir d'un seul épisode reproductif. Cependant, une variation interannuelle de la reproduction est couramment observée chez les ligneux, un cas extrême étant l'absence de reproduction pendant plusieurs années, suivi d'une reproduction abondante (i.e. '*mast year*', (Kelly, 1994)). L'influence des variations environnementales sur cette variabilité est sujette à débat. L'intensité de la reproduction pourrait simplement suivre la disponibilité variable en ressource d'une année sur l'autre, comme indiqué par la corrélation entre la croissance annuelle et la reproduction (i.e. '*resource-matching*', (e.g. Houle, 1999)). Mais cette corrélation n'est pas toujours observée. La reproduction peut-être faible pendant plusieurs années, même si la croissance est continue. De plus, une corrélation négative est aussi rapportée (Norton and Kelly, 1988). D'autres hypothèses sont donc avancées pour expliquer cette variabilité et sont liées au succès de la reproduction qui en découlerait. La pollinisation serait plus efficace avec une production très abondante de pollen certaines années pour les gymnospermes, l'attractivité des insectes pollinisateurs serait augmentée en cas de floraison abondante pour les angiospermes, et une production abondante de graines provoquerait la satiété des prédateurs (Herrera et al., 1998; Kelly and Sork, 2002).

L'absence de corrélation entre la reproduction et la croissance annuelle pour certaines espèces est donc utilisée pour réfuter l'hypothèse de '*resource-matching*'. Aussi cela questionne directement l'existence des relations R-V pour ces espèces. Mais si l'on considère ces relations R-V sur des cycles pluriannuels, elles pourraient être plus facilement observées comme indiqué par la Figure 47.

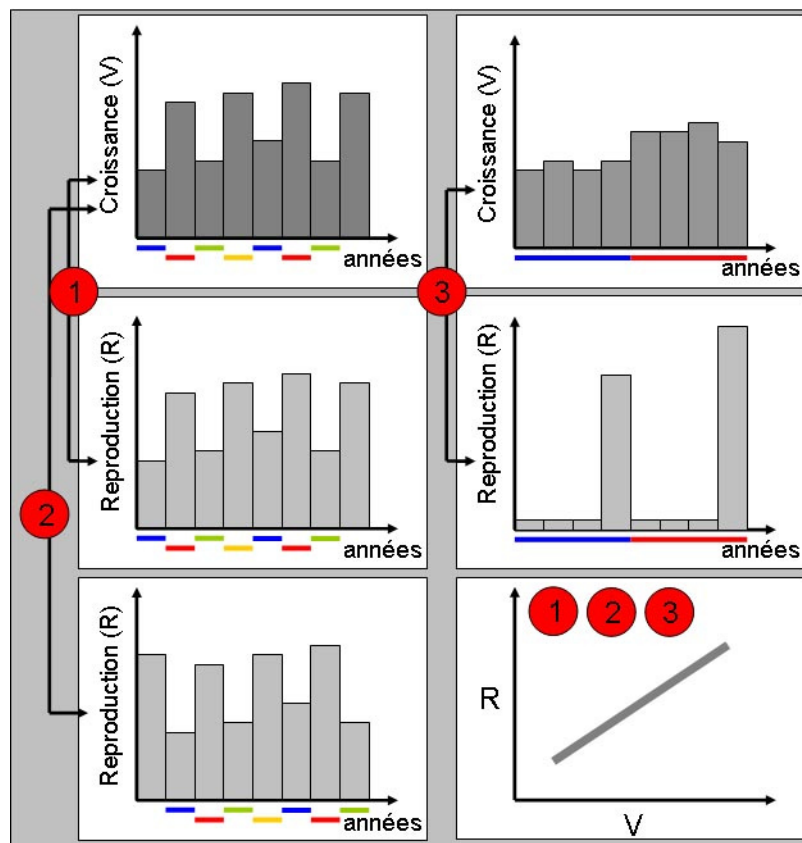


**Figure 47.** Variations interannuelles de la croissance et de la reproduction, relations R-V et hypothèse de '*resource matching*'.

Trois cas de figures cités dans la littérature sont représentés (cf texte): 1) corrélation positive entre la croissance annuelle et la reproduction, 2) corrélation négative entre la croissance annuelle et la reproduction, 3) reproduction faible puis '*mast-year*' à forte reproduction. Les traits de couleurs sous l'axe des abscisses indiquent sur quelles périodes peuvent être comparées la croissance et la reproduction. Si ces périodes de comparaison sont respectées, des relations R-V peuvent apparaître dans tous les cas, supportant l'hypothèse de '*resource matching*'.

Sur la figure ci-dessus, le cas numéro 1 correspond à celui supportant l'hypothèse de '*resource matching*' dans la littérature. Le cas numéro 2, montrant une corrélation négative entre la croissance et la reproduction, est indiqué comme réfutant cette hypothèse ("good years for reproduction are bad for growth", Kelly and Sork, 2002). Cependant, si l'on prend exemple sur le cycle de reproduction de l'ajonc, la biomasse produite l'année  $n$  permet la reproduction l'année suivante. La corrélation négative ne pourrait être due qu'à un cycle de croissance-reproduction étalée sur 2 ans. Un coût de la reproduction sur la croissance ultérieure (Obeso, 2002) pourrait aussi entraîner ce décalage d'un an entre croissance et reproduction. Le cas numéro 3, correspond à l'occurrence de '*mast-years*' bien distinctes. Considérant la capacité des ligneux à stocker des ressources énergétiques et nutritives, il est possible que des ressources soient constituées les années à faible reproduction. Ces ressources seraient remobilisées certaines années entraînant une reproduction forte (Rees et al., 2002), qui pourrait être corrélée avec la croissance cumulée des années passées depuis la dernière '*mast year*'.

S'il est accepté que la croissance ( $V$ ) réponde aux variations environnementales, et qu'une relation R-V est détectée sur des périodes cohérentes avec le rythme de reproduction des espèces considérées, cela suggère que le '*resource matching*' a bien lieu. Cependant les périodes de comparaison utilisées dans la littérature pourraient parfois ne pas être adaptées à

l'étude de ces relations. Notons que leur existence dans le cas numéro 3 ci-dessus n'est pas incompatible avec l'avantage évolutif possible décrit dans la littérature (e.g. satiété du prédateur).

L'utilisation des relations R-V chez des espèces à forte variations interannuelles de la reproduction pourrait donc permettre: 1) de réévaluer le déterminisme environnemental de cette variabilité, et 2) de permettre l'étude de la plasticité de l'allocation à la reproduction chez ces espèces.



## **2 Différence de niches, stochasticité et neutralité du recrutement des ligneux**

L'existence de niches de régénération différenciées au sein d'une communauté végétale, proposé initialement par Grubb (1977) pour expliquer le maintien de la diversité des ligneux, est remise en cause dans la littérature pour deux raisons: 1) la difficulté d'identifier des différences de niches importante *in situ*, et 2) le succès des modèles stochastiques (Kelly and Bowler, 2005) et neutralistes (Hubbell et al., 1999) à décrire la diversité ligneuses des écosystèmes forestiers, en particulier tropicaux. Cependant il apparaît que les différentes théories, basées sur des différences de niches ou non, sont toutes capables de décrire la distribution et la diversité des espèces dans différents contextes (cf Kraft et al. (2008) pour un exemple basé sur les différences de niches). Ce débat a occupé une place importante de l'écologie des communautés ligneuses ces 10 dernières années, et des tentatives de formulation de théories plus intégratives, permettant de réconcilier les différentes approches ont vue le jour (Adler et al., 2007; Stokes and Archer, 2010). C'est aussi l'objectif de la discussion de la partie 3 du chapitre de résultats, en se focalisant seulement sur les étapes conduisant du stock de graines dans le sol au recrutement de nouveaux individus. La figure 48 suivante conceptualise davantage l'idée amorcée dans cette discussion.

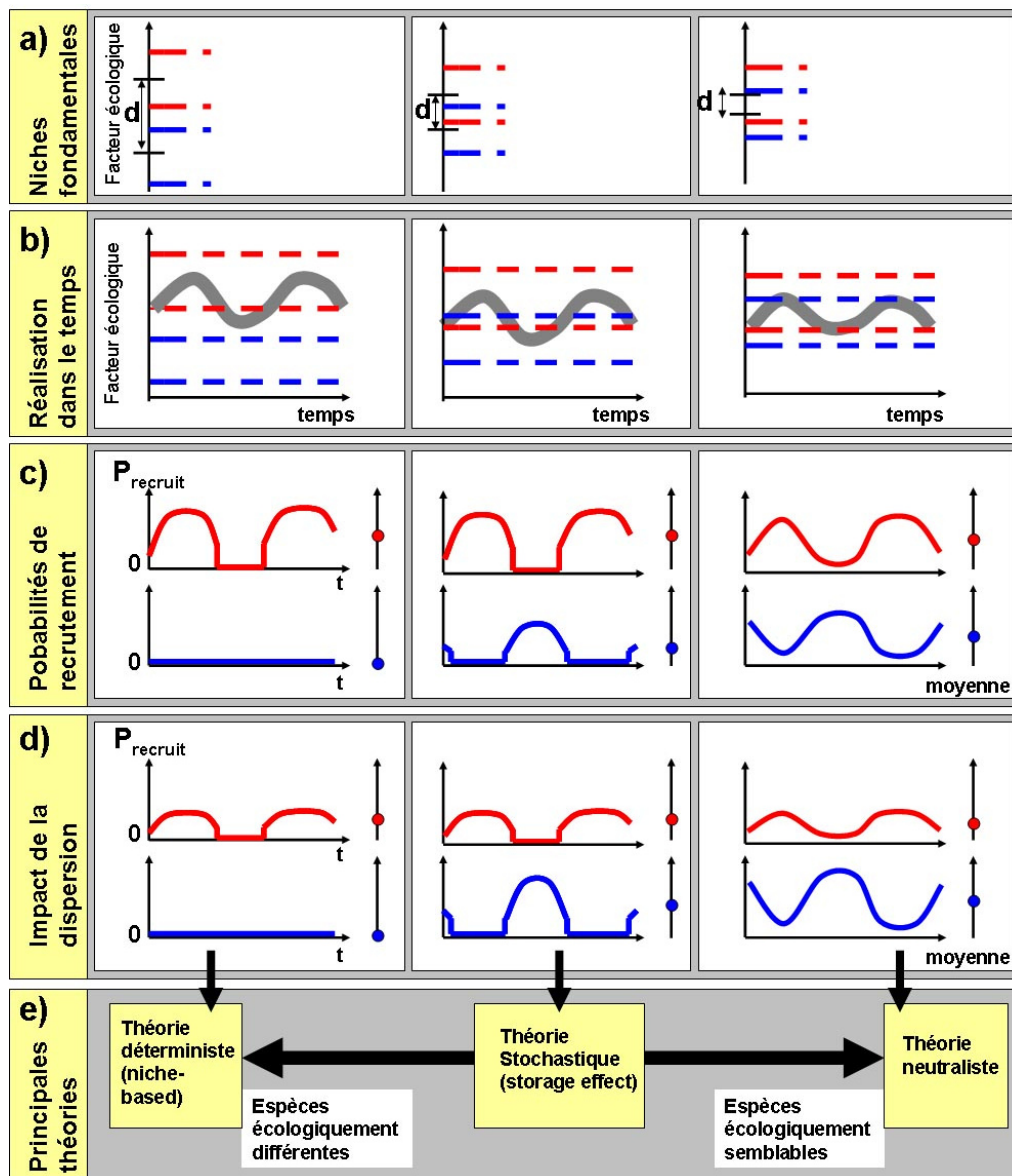


**Figure 48.** Des différences plus ou moins marquées de niches dans l'espace écologique pourraient produire des résultats cohérents avec les différentes théories du maintien de la diversité des ligneux au sein d'une communauté.

a) la niche fondamentale de deux espèces (rouge et bleu) est représentée pour un seul facteur écologique pour simplifier la figure.  $d$  indique la distance entre leur niche écologique (e.g. la distance euclidienne entre l'optimum des facteurs écologiques).

b) dans l'espace physique, en un lieu donné, le niveau du facteur écologique en question varie dans le temps (trait gris).

c)  $P_{\text{recruit}}$ : probabilité de recrutement. Le recrutement n'est possible que lorsque le niveau réalisé du facteur écologique correspond à la niche fondamentale de l'espèce.

d) le recrutement de l'espèce rouge est limité par une faible dispersion locale de graines, la dispersion locale de graines de l'espèce bleue est abondante.

e) Lorsque  $d$  est grand, le recrutement de l'espèce bleue ne peut se faire que dans un lieu différent. Cela est cohérent notamment avec le '*gap partitionning*' et la caractérisation d'habitats différenciés pour la régénération de certaines espèces. Lorsque  $d$  est faible, les espèces apparaissent écologiquement neutres dans l'espace réel. La théorie du '*storage effect*' implique que la majorité du temps, les conditions sont favorables au recrutement de l'espèce rouge, plus compétitrice. Mais des périodes de recrutement plus favorables à l'espèce bleue sont aussi nécessaires, sinon elle serait éliminée. L'occurrence de ces périodes est stochastique, cependant cela indique une sensibilité différente du recrutement des espèces à l'environnement. Dans le modèle stochastique, les espèces sont assez semblables, mais ne sont donc pas écologiquement neutres ( $d$  moyen).

Dans la conceptualisation proposée dans la figure 48, trois éléments sont déterminants pour le recrutement des différentes espèces au sein d'une communauté végétale: la distance entre les niches dans l'espace écologique, l'ampleur des variations des facteurs écologiques dans l'espace physique, et enfin la limitation plus ou moins importante du recrutement par la dispersion, la composition de certaines communautés végétales étant particulièrement dépendante de la dispersion (Leibold et al., 2004).

La contribution majeure de Hutchinson par rapport aux définitions antérieures de la niche écologique est la distinction de l'espace physique réel de l'espace écologique où sont définis les facteurs écologiques nécessaires au développement et à la survie de l'espèce, indépendamment de leur réalisation dans l'espace physique (Hutchinson 1957). L'utilisation explicite de la dualité de la niche de Hutchinson pour caractériser la régénération des espèces ligneuses pourrait confirmer l'existence de différences de niches entre espèces dans l'espace écologique, et expliquer leur apparente neutralité dans l'espace physique réel. Le modèle neutraliste ne correspondrait alors qu'à un cas particulier, où les différences de niches dans l'espace écologique sont faibles à nulles.

Si l'on considère que les facteurs écologiques les plus importants au recrutement des ligneux sont en nombre limité (par exemple: eau, nutriments majeur (N,P,K), lumière, température, pH, intensité de prédation, et pathogénicité), l'espace écologique où sont définies les niches fondamentales de chaque espèce ( $V$ ) à un nombre de dimensions ( $D$ ) aussi limité ( $D$  = nombre de facteurs écologiques importants). En considérant  $n$  le nombre d'espèces présentes, l'hypervolume moyen disponible dans l'espace écologique pour que chaque espèce occupe une niche particulière, non sécante avec celle des autres espèces, est de  $V/n$ . Si  $n \gg D$ , les niches sont forcément chevauchantes, et la distance moyenne entre ces niches ( $d$ , voir Figure 48) est faible.

Les modèles neutralistes et stochastiques ont été conçus et testés dans des écosystèmes forestiers tropicaux, où la richesse spécifique est très élevée. Dans ces systèmes les espèces strictement héliophiles et sciaphiles ont des distances de niche importantes. Mais entre ces deux extrêmes, les niches de nombreuses espèces sont certainement chevauchantes ( $d$  faible). D'après la figure 48, cela pourrait en partie expliquer le succès de ces modèles dans un tel contexte.

## D. Perspectives

---

### **1 Finalisation et développement du modèle WOULDYFOR dans le cadre de la sylviculture du pin maritime**

Dans un premier temps, la finalisation et l'implémentation du modèle WOULDYFOR aidera à valider ou infirmer l'hypothèse concernant les processus de maintien de l'espèce dans la parcelle de pins maritimes au cours de plusieurs rotations, en particulier quant à la nécessité d'avoir une production de graines en phase avancée de la rotation (partie 1 de ce chapitre, paragraphe 1), et reste nécessaire pour répondre à la question de l'impact des pratiques sylvicoles sur la dynamique de population de l'ajonc d'Europe.

La finalisation du modèle devra être suivie de:

- la comparaison des sorties du modèle à une situation réelle de référence (données issues de Mathieu, 2008): abondance globale, distribution des âges, des tailles, de la banque de graines, indice d'agrégation des ajoncs dans la parcelle (e.g indice de Ripley, (Ripley, 1981)), en lien avec la position par rapport à la ligne de pins.
- une analyse de sensibilité pour confirmer les paramètres les plus importants de la dynamique de l'espèce
- une comparaison des sorties du modèle en fonction des différents scénarios définis.

Dans un second temps, une adaptation du modèle à d'autres types de landes est envisagée, ainsi qu'à une autre espèce, le genêt à balais. Pour le changement d'espèce cible, les informations disponibles dans la littérature pourraient être utilisées directement. Par la suite, des vérifications empiriques ou compléments d'informations dans notre contexte pourraient intervenir.

### **2 L'ajonc d'Europe, un modèle d'étude en écologie**

L'ouverture de la démarche de modélisation de l'ajonc d'Europe à d'autres contextes est aussi envisageable pour répondre à différentes problématiques en écologie appliquée liées à cette espèce (cf Tableau 11). Les questions qui seraient abordées étant différentes de celle traitée au cours de ce travail de thèse, la possibilité d'adapter le modèle conceptuel présenté au cours de ce travail devra cependant être vérifiée au préalable.

Par ailleurs, trois hypothèses ont été formulées pouvant expliquer le caractère invasif de l'espèce. Une première vérification de ces hypothèses pourraient être basée sur des comparaisons empiriques entre des résultats obtenus en milieu natifs et invasifs. Concernant *la durée de vie de l'espèce*, la structure d'âge de populations en milieu natif, exposées à la pleine lumière, et dont on a l'assurance qu'elles n'ont pas été perturbées depuis plusieurs années, pourrait être comparée à la structure d'âge indiquée par Lee et al. (1986) en Nouvelle Zélande. Les *différences de longévité des banques de graines* dans le sol pourraient être vérifiées grâce à une expérience d'enfouissement de graines, dans plusieurs sites, en milieu natif, et une comparaison aux résultats obtenus en milieu invasif par Hill et al. (2001). Enfin, concernant *l'allocation à la reproduction*, des relations R-V pourraient être construites en zones invasive, en conditions de pleine lumière, et comparées aux relations obtenues dans notre contexte (Chapitre Résultats, partie 1).

Concernant l'allongement de la durée de vie et la modification de l'allocation à la reproduction, les résultats de ces comparaisons pourront renforcer ou infirmer les hypothèses proposées. Mais elles ne permettront pas déterminer si les différences qui apparaissent sont liés à des processus évolutifs ayant eu lieu suite à l'introduction de l'espèce dans différentes

régions, et à la sélection de génotypes plus féconds et compétitifs (i.e. hypothèse EICA), ou à des différences liées au contexte environnemental. Pour cela, la comparaison des performances de différentes populations issues de zones natives et introduites doit être effectuée, dans des conditions environnementales similaires. La culture de ces différentes populations, en jardin expérimental, en région native et invasive, de manière comparable au protocole suivi par Hornoy et al. (2011) serait nécessaire.

### **3 *Plasticité de l'allocation à la reproduction***

#### **3.1 *Vérification de la plasticité de l'allocation à la reproduction***

L'étude d'espèces arbustives, à durée de vie courte comparée à celui d'arbres plus grands, et commençant à reproduire à un âge moins avancé, pourrait faciliter l'observation des relations R-V sur plusieurs épisodes reproductifs, voire sur l'ensemble de la vie de la plante. Pour palier à d'éventuelles sources de variations influençant la reproduction en populations naturelles (e.g. la pollinisation), la culture de ces arbustes dans des jardins expérimentaux pourrait aussi être utile. Les espèces choisies pourraient être des espèces pionnières, mais aussi des espèces dont la place est plus tardive dans la succession végétale. La constitution de jardins expérimentaux permettrait de manipuler plus facilement le gradient de ressources étudié (e.g. lumière, nutriments).

#### **3.2 *Relations R-V et déterminisme environnemental des variations interannuelles de la reproduction***

Beaucoup d'études ont été publiées caractérisant la variabilité interannuelle de la reproduction des espèces ligneuses, permettant d'alimenter plusieurs synthèses bibliographiques (Herrera et al., 1998; Kelly and Sork, 2002). Ainsi, la vérification du déterminisme environnemental de cette variabilité, grâce aux relations R-V, pourrait être abordée par une démarche de méta-analyse de la littérature. Les publications qui pourraient être retenues pour cette méta-analyse devraient contenir des données concernant les croissances et les reproductions annuelles sur des durées couvrant au moins un cycle reproductif complet (e.g. période entre 2 '*mast years*' comme indiquée pour le cas numéro 3, Fig. 47).

### **4 *L'importance des différences de niches de régénération pour le maintien de la diversité des ligneux***

La vérification de l'hypothèse formulée dans la Figure 48 pourrait être entreprise par une démarche similaire à celle développée en modélisation de la distribution spatiale des espèces végétales (i.e. Species Distribution Models, (Kearney and Porter, 2009; Pearman et al., 2008)) à des échelles très larges (paysages, régions). Cette démarche comprend: 1) la détermination de la niche fondamentale des espèces pour un nombre de facteurs écologiques limité (e.g. la niche 'thermique', 2) la caractérisation des variables environnementales dans l'espace physique (e.g. l'évolution des températures dans le temps, et spatialement localisée), 3) la projection grâce à la modélisation de la niche fondamentale des espèces dans l'espace physique pour prédire ou décrire la probabilité de présence ou d'absence des espèces, et 4) l'analyse de la corrélation entre les prédictions du modèle, et les observations empiriques de la distribution des espèces. Dans notre cas, la principale différence tiendrait au changement important d'échelle nécessaire pour se replacer dans un cadre intra-communautaire, et caractériser les variables environnementales à des échelles fines adaptés à la 'perception' de l'environnement par les graines et les plantules (cf Chapitre Résultats, partie 3)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Abe, S., Motai, H., Tanaka, H., Shibata, M., Kominami, Y., Nakashizuka, T., 2008. Population maintenance of the short-lived shrub *Sambucus* in a deciduous forest. *Ecology* 89, 1155-1167.
- Achat, D., Augusto, L., Morel, C., Bakker, M.R., 2011. Predicting available phosphate ions from physical-chemical soil properties in acidic sandy soils under pine forests. *Journal of Soils and Sediments*.
- Achat, D.L., Bakker, M.R., Augusto, L., Saur, E., Dousseron, L., Morel, C., 2009. Evaluation of the phosphorus status of P-deficient podzols in temperate pine stands: combining isotopic dilution and extraction methods. *Biogeochemistry* 92, 183-200.
- ADEME, 2006. Biomasse, de nouveaux marchés! Comment mobiliser la ressource? Actes du séminaire. ADEME.
- Adler, P.B., HilleRisLambers, J., Levine, J.M., 2007. A niche for neutrality. *Ecology Letters* 10, 95-104.
- Aerts, R., Boot, R.G.A., P.J.M., V.D.A., 1991. The relation between above- and belowground biomass allocation patterns and competitive ability. *Oecologia* 87.
- Alexander, H.M., Price, S., Houser, R., Finch, D., Tourtellot, M., 2007. Is there reduction in disease and pre-dispersal seed predation at the border of a host plant's range? Field and herbarium studies of *Carex blanda*. *Journal of Ecology* 95, 446-457.
- Alvarezbuyla, E.R., Martinezramos, M., 1992. Demography and allometry of *cecropia-obtusifolia*, a neotropical pioneer tree. An evaluation of the climax pioneer paradigm for tropical rainforests. *Journal of Ecology* 80, 275-290.
- Anderson, S.A.J., Anderson, W.R., 2009. Predicting the elevated dead fine fuel moisture content in gorse (*Ulex europaeus* L.) shrub fuels. *Canadian Journal Of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39, 2355-2368.
- Anderson, S.A.J., Anderson, W.R., 2010. Ignition and fire spread thresholds in gorse (*Ulex europaeus*). *International Journal of Wildland Fire* 19, 589-598.
- Atlan, A., Barat, M., Legionnet, A.S., Parize, L., Tarayre, M., 2010. Genetic variation in flowering phenology and avoidance of seed predation in native populations of *Ulex europaeus*. *Journal of Evolutionary Biology* 23, 362-371.
- Atlan, A., Hornoy, B., Delerue, F., Gonzalez, M., Parize, L., Pierre, J.S., Tarayre, M., submitted. Phenotypic plasticity in reproductive traits of a worldwide invasive shrub, *Ulex europaeus*, under different light conditions. *Evolutionary Ecology*.
- Augusto, L., 2003. Programme de recherche initial "cycles biogéochimiques des éléments minéraux" dans les écosystèmes forestiers. INRA Bordeaux Aquitaine - UMR TCEM, pp. 28.
- Augusto, L., Badeau, V., Arrouays, D., Trichet, P., Flot, J.L., Jolivet, C., Merzeau, D., 2006. Caractérisation physico-chimique des sols à l'échelle d'une région naturelle à partir d'une compilation de données. Exemple des sols du massif forestier landais. *Etude et gestion des sols* 13, 7-22.
- Augusto, L., Bakker, M.R., De Lavaissiere, C., Jordan-Meille, L., Saur, E., 2009. Estimation of nutrient content of woody plants using allometric relationships: quantifying the difference between concentration values from the literature and actuals. *Forestry* 82, 463-477.
- Augusto, L., Bakker, M.R., Morel, C., Meredieu, C., Trichet, P., Badeau, V., Arrouays, D., Plassard, C., Achat, D., Galley-Budynek, A., 2010. Is 'grey literature' a reliable source of data to characterize soils at the scale of a region? – A case study in a maritime Pine forest in south-western France. *European Journal of Soil Science* 61, 807-822.
- Augusto, L., Banos, V., Brunet, Y., Colin, S., Corcket, E., Delzon, S., Jactel, H., Kramer, A., Loustau, D., Loustau, M.L., Malfait, J.J., Meredieu, C., Mora, Moreaux, V., Piou, D.,

- Regolini, M., Trichet, P., in press. Forêts et changements climatiques en Aquitaine. Rapport pour le Conseil Régional d'Aquitaine. INRA, pp. 44.
- Augusto, L., Crampon, N., Saur, E., Bakker, M.R., Pellerin, S., de Lavaissiere, C., Trichet, P., 2005. High rates of nitrogen fixation of *Ulex* species in the understory of maritime pine stands and the potential effect of phosphorus fertilization. *Canadian Journal of Forest Research* 35, 1183-1192.
- Augusto, L., Delerue, F., Budynek, A., Achat, D., submitted. Global assessment of limitation to symbiotic nitrogen fixation by phosphorus availability in terrestrial ecosystems using a meta-analysis approach. *Global Biogeochemical Cycles*.
- Augusto, L., Meredieu, C., Bert, D., Trichet, P., Porte, A., Bosc, A., Lagane, F., Loustau, D., Pellerin, S., Danjon, F., Ranger, J., Gelpe, J., 2008. Improving models of forest nutrient export with equations that predict the nutrient concentration of tree compartments. *Annals of Forest Science* 65.
- Augusto, L., Ranger, J., Binkley, D., Rothe, A., 2002. Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility. *Annals of Forest Science* 59, 233-253.
- Baack, E.J., 2005. To succeed globally, disperse locally: effects of local pollen and seed dispersal on tetraploid establishment. *Heredity* 94, 538-546.
- Balster, H., 2000. Markov chain models for vegetation dynamics. *Ecological Modelling* 126, 139-154.
- Balster, H., Braun, P.W., Kohler, W., 1998. Cellular automata models for vegetation dynamics. *Ecological Modelling* 107, 113-125.
- Banuelos, M.J., Obeso, J.R., 2004. Resource allocation in the dioecious shrub *Rhamnus alpinus*: the hidden costs of reproduction. *Evolutionary Ecology Research* 6, 397-413.
- Barat, M., Tarayre, M., Atlan, A., 2007. Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Brittany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124, 167-176.
- Battaglia, M., Reid, J., 1993. The Effect of Microsite Variation on Seed-Germination and Seedling Survival of *Eucalyptus delegatensis*. *Australian Journal of Botany* 41, 169-181.
- Beckage, B., Clark, J.S., 2003. Seedling survival and growth of three forest tree species: The role of spatial heterogeneity. *Ecology* 84, 1849-1861.
- Beckage, B., Lavine, M., Clark, J.S., 2005. Survival of tree seedlings across space and time: estimates from long-term count data. *Journal of Ecology* 93, 1177-1184.
- Bekker, R.M., Bakker, J.P., Grandin, U., Kalamees, R., Milberg, P., Poschlod, P., Thompson, K., Willems, J.H., 1998. Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Functional Ecology* 12, 834-842.
- Berbigier, P., Bonnefond, J.M., 1995. Measurement and modeling of radiation transmission within a stand of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *Annals of Forest Science* 52, 23-42.
- Berglund, H., O'Hara, R.B., Jonsson, B.G., 2009. Quantifying Habitat Requirements of Tree-Living Species in Fragmented Boreal Forests with Bayesian Methods. *Conservation Biology* 23, 1127-1137.
- Bi, H.Q., Turvey, N.D., 1997. A method of selecting data points for fitting the maximum biomass-density line for stands undergoing self-thinning. *Australian Journal of Ecology* 22, 356-359.
- Binkley, D., Senock, R., Bird, S., Cole, T.G., 2003. Twenty years of stand development in pure and mixed stands of *Eucalyptus saligna* and nitrogen-fixing *Acacia mouluccana*. *Forest Ecology and Management* 182, 93-102.
- Birch, C.P.D., 1999. A new generalized logistic sigmoid growth equation compared with the Richards growth equation. *Annals of Botany* 83, 713-723.
- Blossey, B., Notzold, R., 1995. Evolution of increased competitive ability in invasive non indigenous plants. A hypothesis. *Journal of Ecology* 83, 887-889.
- Bosc, A., 2011.

- Quantification des impacts du changement climatique sur les forêts à l'échelle régionale et identification des sources d'incertitude Vulnérabilités des forêts au changement climatique, Paris, pp. 26.
- Bossuyt, B., Cosyns, E., Hoffmann, M., 2007. The role of soil seed banks in the restoration of dry acidic dune grassland after burning of *Ulex europaeus* scrub. *Applied Vegetation Science* 10, 131-138.
- Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Goncalves, J.L.M., Moreira, M., Trivelin, P.C.O., Jourdan, C., Silva, E.V., Piccolo, M.C., Tsai, S.M., Galiana, A., 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil - 2: Nitrogen accumulation in the stands and biological N-2 fixation. *Forest Ecology and Management* 255, 3918-3930.
- Bowman, G., Tarayre, M., Atlan, A., 2008. How is the invasive gorse *Ulex europaeus* pollinated during winter? A lesson from its native range. *Plant Ecology* 197, 197-206.
- Bravo, D., Hill, A.R., 2012. The Effect of Chronic High Groundwater Nitrate Loading on Riparian Forest Growth and Plant-Soil Processes. *Water Air and Soil Pollution* 223, 73-84.
- Brooker, R.W., Maestre, F.T., Callaway, R.M., Lortie, C.L., Cavieres, L.A., Kunstler, G., Liancourt, P., Tielboerger, K., Travis, J.M.J., Anthelme, F., Armas, C., Coll, L., Corcket, E., Delzon, S., Forey, E., Kikvidze, Z., Olofsson, J., Pugnaire, F.I., Quiroz, C.L., Saccone, P., Schiffrers, K., Seifan, M., Touzard, B., Michalet, R., 2008. Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology* 96, 18-34.
- Brown, C., 2000. The global outlook for future wood supply from forest plantations. *Global Forest Products Outlook Study Working Paper Series*. FAO, Rome.
- Bucket, E., Meredieu, C., Labbé, T., 2005. Modélisation du bilan "Carbone" pour un système "forêt de Pin maritime - produits bois": comparaison pour 3 scénarios sylvicoles contrastés., VIIIème colloque ARBORA: Carbone, Forêt, Bois: Impacts du changement climatique, Stratégies pour la filière? Arbora, Talence, pp. 209 - 216.
- Busse, M.D., Jurgensen, M.F., Page-Dumroese, D.S., Powers, R.F., 2007. Contribution of actinorhizal shrubs to site fertility in a Northern California mixed pine forest. *Forest Ecology and Management* 244, 68-75.
- CAFSA, 2010. État des réflexions sur la conduite des peuplements de pin maritime. pp. 4.
- Callaway, R.M., Kikvidze, Z., Kikodze, D., 2000. Facilitation by unpalatable weeds may conserve plant diversity in overgrazed meadows in the Caucasus Mountains. *Oikos* 89, 275-282.
- Callaway, R.M., Walker, L.R., 1997. Competition and facilitation: A synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* 78, 1958-1965.
- Calvo, L., Tarrega, R., De Luis, E., 2002. The dynamics of mediterranean shrubs species over 12 years following perturbations. *Plant Ecology* 160, 25-42.
- Campagne, F., 1997. Caractérisation de la conductivité hydraulique de surface et sa répartition sur le bassin versant du Tagon. . Bordeaux 3, Bordeaux, pp. 62.
- Cariboni, J., Gatelli, D., Liska, R., Saltelli, A., 2007. The role of sensitivity analysis in ecological modelling. *Ecological Modelling* 203, 167-182.
- Cavard, X., Augusto, L., Saur, E., Trichet, P., 2007. Field effect of P fertilization on N-2 fixation rate of *Ulex europaeus*. *Annals of Forest Science* 64, 875-881.
- Ceccon, E., Huante, P., Campo, J., 2003. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on the survival and recruitment of seedlings of dominant tree species in two abandoned tropical dry forests in Yucatan, Mexico. *Forest Ecology and Management* 182, 387-402.
- Chambon Dubreuil, E., 2007. Modélisation de la dynamique de population d'un petit ligneux dominant pâturé (*Cytisus scoparius*) pour la gestion de l'embroussaillage des zones pastorales. Pau et Pays de l'Adour, Pau, pp. 194.
- Christie, D.A., Armesto, J.J., 2003. Regeneration microsites and tree species coexistence in temperate rain forests of Chiloe Island, Chile. *Journal of Ecology* 91, 776-784.



- Cibula, D.A., Zimmerman, M., 1984. The effect of plant density on departure decisions. Testing the marginal value theorem using bumblebees and *Delphinium Nelsonii*. *Oikos* 43, 154-158.
- Cipollini, M.L., Wallacesenft, D.A., Whigham, D.F., 1994. A model of patch dynamics, seed dispersal, and sex-ratio in the dioecious shrub *Lindera benzolin* (Lauraceae). *Journal of Ecology* 82, 621-633.
- Clark, J.S., Macklin, E., Wood, L., 1998. Stages and spatial scales of recruitment limitation in southern Appalachian forests. *Ecological Monographs* 68, 213-235.
- Clarke, P.J., Knox, K.J.E., Wills, K.E., Campbell, M., 2005. Landscape patterns of woody plant response to crown fire: disturbance and productivity influence sprouting ability. *Journal of Ecology* 93, 544-555.
- Clauss, M.J., Aarssen, L.W., 1994. Phenotypic plasticity of size-fecundity relationships in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology* 82, 447-455.
- Clements, D.R., Peterson, D.J., Prasad, R., 2001. The biology of Canadian weeds. 112. *Ulex europaeus* L. *Canadian Journal of Plant Science* 81, 325-337.
- Closset-Kopp, D., Chabrierie, O., Valentin, B., Delachapelle, H., Decocq, G., 2007. When Oskar meets Alice: Does a lack of trade-off in r/K-strategies make *Prunus serotina* a successful invader of European forests? *Forest Ecology and Management* 247, 120-130.
- Colasanti, R.L., Grime, J.P., 1993. Resource Dynamics And Vegetation Processes - A Deterministic Model Using 2-Dimensional Cellular Automata. *Functional Ecology* 7, 169-176.
- Colasanti, R.L., Hunt, R., Askew, A.P., 2001. A self-assembling model of resource dynamics and plant growth incorporating plant functional types. *Functional Ecology* 15, 676-687.
- Colwell, R.K., Rangel, T.F., 2009. Hutchinson's duality: The once and future niche. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 19651-19658.
- Connell, J.H., 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. In: den Boer, P.J., Gradwell, J.R., (Eds.), *Dynamics of Population*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, pp. 298-312.
- Coomes, D.A., Grubb, P.J., 2000. Impacts of root competition in forests and woodlands: A theoretical framework and review of experiments. *Ecological Monographs* 70, 171-207.
- Coquillard, P., Hill, D.R.C., 1997. *Modélisation et simulation d'écosystèmes: des modèles déterministes aux simulations à événements discrets*. Masson, Paris.
- Courbaud, B., de Coligny, F., Cordonnier, T., 2003. Simulating radiation distribution in a heterogeneous Norway spruce forest on a slope. *Agricultural and Forest Meteorology* 116, 1-18.
- Cowley, J.M., 1983. Life cycle of *Apion ulicis* (Coleoptera: Apionidae), and gorse seed attack around Auckland, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology* 10, 83-85.
- Crawley, M.J., May, R.M., 1987. Population-Dynamics And Plant Community Structure - Competition Between Annuals And Perennials. *Journal of Theoretical Biology* 125, 475-489.
- CRPF, 2005. *Schema Regional de Gestion Sylvicole d'Aquitaine 2005. Annexes*. pp. 63.
- CRPF, 2009. *Tempête du 24 janvier 2009: Éléments de réflexion pour aborder la reconstitution forestière du Massif des Landes de Gascogne*.
- Czárán, T., 1998. *Spatio-temporal models of population and community dynamics*. Chapman & Hall, London.
- Dahlgren, J.P., Ehrlén, J., 2011. Incorporating environmental change over succession in an integral projection model of population dynamics of a forest herb. *Oikos* 120, 1183-1190.

- Dahlgren, R.A., Driscoll, C.T., 1994. The effects of whole-tree clear-cutting on soil processes at the Hubbard Brook experimental forest, New Hampshire, USA. . Plant and Soil 158, 239-262.
- Dambrine, E., Vega, J.A., Taboada, T., Rodriguez, L., Fernandez, C., Macias, F., Gras, J.M., 2000. Budgets of mineral elements in small forested catchments in Galicia (NW Spain). Annals of Forest Science 57, 23-38.
- Davies, J.T., Ireson, J.E., Allen, G.R., 2007. The impact of the gorse spider mite, *Tetranychus lintearius*, on the growth and development of gorse, *Ulex europaeus*. Biological Control 41, 86-93.
- Davies, J.T., Ireson, J.E., Allen, G.R., 2008. The phenology and impact of the gorse seed weevil, *Exapion ulicis*, on gorse, *Ulex europaeus*, in Tasmania. Biological Control 45, 85-92.
- de la Cruz, M., Romao, R.L., Escudero, A., Maestre, F.T., 2008. Where do seedlings go? A spatio-temporal analysis of seedling mortality in a semi-arid gypsophyte. Ecography 31, 720-730.
- De Lavaissière, C., 2003. Estimation du flux d'azote atmosphérique fixé par l'ajonc d'Europe (*Ulex. Europaeus* L.) dans le massif forestier des Landes de Gascogne. ENSA Rennes, Rennes, pp. 118.
- De Luis, M., Raventos, J., Wiegand, T., Gonzalez-Hidalgo, J.C., 2008. Temporal and spatial differentiation in seedling emergence may promote species coexistence in Mediterranean fire-prone ecosystems. Ecography 31, 620-629.
- Debain, S., Curt, T., Lepart, J., Prevosto, B., 2003. Reproductive variability in *Pinus sylvestris* in southern France: Implications for invasion. Journal of Vegetation Science 14, 509-516.
- Degos, 2011.  
L'association Aquitaine Carbone, l'innovation financière pour soutenir le reboisement.  
. L'innovation au service de la forêt Aquitaine : mesures d'urgence et perspectives., Bordeaux pp. 7.
- Delerue, F., Gonzalez, M., Atlan, A., Pellerin, S., Augusto, L., 2013. Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability Annals of Forest Science 70, 219-228.
- Delerue, F., Gonzalez, M., Atlan, A., Pellerin, S., Augusto, L., in press. Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability Annals of Forest Science.
- Demounen, R., 1968. Influence du type de sol forestier sur la croissance des espèces arbustives du sous-bois des Landes de Gascogne. C.R. Acad. Sc. Paris 266, 1501-1504.
- Denslow, J.S., 1987. Tropical rain-forest gaps and tree species diversity. Annual Review of Ecology and Systematics 18, 431-451.
- Dickie, I.A., Yeates, G.W., St John, M.G., Stevenson, B.A., Scott, J.T., Rillig, M.C., Peltzer, D.A., Orwin, K.H., Kirschbaum, M.U.F., Hunt, J.E., Burrows, L.E., Barbour, M.M., Aislabie, J., 2011. Ecosystem service and biodiversity trade-offs in two woody successions. Journal of Applied Ecology 48, 926-934.
- Dodd, M.E., Silvertown, J., 2000. Size-specific fecundity and the influence of lifetime size variation upon effective population size in *Abies balsamea*. Heredity 85, 604-609.
- DRAAF Aquitaine (Coord Bonotaux J.), 2010. La filière forêt-bois d'Aquitaine. pp. 43.
- Drake, D.C., 2011. Invasive legumes fix N-2 at high rates in riparian areas of an N-saturated, agricultural catchment. Journal of Ecology 99, 515-523.
- Dufour-Kowalski, S., Courbaud, B., Dreyfus, P., Meredieu, C., de Coligny, F., 2012. Capsis: an open software framework and community for forest growth modelling. Annals of Forest Science 69, 221-233.
- Egunjobi, J.K., 1971a. Ecosystem processes in a stand of *Ulex europaeus* L. II: The cycling of chemical elements in the ecosystem. Journal of Ecology 59, 669-678.

- Egunjobi, J.K., 1971b. Ecosystem Processes in a Stand of *Ulex Europaeus* L.: I. Dry Matter Production, Litter Fall and Efficiency of Solar Energy Utilization. *Journal of Ecology* 59, 31-38.
- Ellner, S.P., Rees, M., 2006. Integral projection models for species with complex demography. *American Naturalist* 167, 410-428.
- Eriksson, O., 2002. Ontogenetic niche shifts and their implications for recruitment in three clonal *Vaccinium* shrubs: *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium vitis-idaea*, and *Vaccinium oxycoccos*. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 80, 635-641.
- FAO, 2010. Global Forest Resources Assessment 2010. FAO, Rome.
- Favennec, J., 1999. Aménagement des forêts littorales: cas des forêts dunaires du littoral atlantique français. *Revue Forestière Française Special*, 217-229.
- Fortin, M., Ningre, F., Robert, N., Mothe, F., 2012. Quantifying the impact of forest management on the carbon balance of the forest-wood product chain: A case study applied to even-aged oak stands in France. *Forest Ecology and Management* 279, 176-188.
- Franklin, S.B., Robertson, P.A., Fralish, J.S., Kettler, S.M., 1993. Overstory vegetation and successional trends of land between the lakes, USA. *Journal of Vegetation Science* 4, 509-520.
- Froberg, H., Eriksson, O., 2003. Predispersal seed predation and population dynamics in the perennial understorey herb *Actaea spicata*. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 81, 1058-1069.
- Gallet, S., Roze, F., 2001. Conservation of heathland by sheep grazing in Brittany (France): Importance of grazing period on dry and mesophilous heathlands. *Ecological Engineering* 17, 333-344.
- Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S.P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R., Vorosmarty, C.J., 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70, 153-226.
- Garnier, E., Cortez, J., Billes, 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.
- Gassmann, F., Klotzli, F., Walther, G.R., 2000. Simulation of observed types of dynamics of plants and plant communities. *Journal of Vegetation Science* 11, 397-408.
- Gaudio, N., 2010. Interactions pour la lumière au sein d'un écosystème forestier entre les arbres adultes, les jeunes arbres et la végétation du sous-bois. Application à la régénération du pin sylvestre en peuplement mélangé chêne sessile – pin sylvestre Université d'Orléans, pp. 196.
- Gaudio, N., Balandier, P., Dumas, Y., Ginisty, C., 2011. Growth and morphology of three forest understorey species (*Calluna vulgaris*, *Molinia caerulea* and *Pteridium aquilinum*) according to light availability. *Forest Ecology and Management* 261, 489-498.
- Gaudio, N., Balandier, P., Philippe, G., Dumas, Y., Jean, F., Ginisty, C., 2010. Light-mediated influence of three understorey species (*Calluna vulgaris*, *Pteridium aquilinum*, *Molinia caerulea*) on the growth of *Pinus sylvestris* seedlings. *European Journal Of Forest Research*, 1-13.
- Gehu-Franck, J., 1974. Contribution à l'étude auto- et synécologique de l'ajonc d'Europe (*Ulex europaeus* L.). *Lille II, Lille*, pp. 372.
- Gendron, F., Messier, C., Comeau, P.G., 1998. Comparison of various methods for estimating the mean growing season percent photosynthetic photon flux density in forests. *Agricultural and Forest Meteorology* 92, 55-70.
- George, L.O., Bazzaz, F.A., 1999. The fern understory as an ecological filter: Growth and survival of canopy-tree seedlings. *Ecology* 80, 846-856.

- Ghazoul, J., 2002. Seed predators and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 308-308.
- Gilliam, F.S., 2007. The ecological significance of the herbaceous layer in temperate forest ecosystems. *Bioscience* 57, 845-858.
- Gleeson, S.K., Tilman, D., 1994. Plant allocation, growth rate and successional status. *Functional Ecology* 8, 543-550.
- Gonzalez, M., Augusto, L., Gallet-Budynek, A., Xue, J., Yauschew-Raguenes, N., Guyon, D., Trichet, P., Delerue, F., Niollet, S., Andreasson, F., Achat, D.L., Bakker, M.R., 2013. Contribution of understory species to total ecosystem aboveground and belowground biomass in temperate *Pinus pinaster* Ait. forests. *Forest Ecology and Management* 289, 38-47.
- Gonzalez, M., Mathieu, A., Augusto, L., Gire, C., Bakker, M.R., Budynek, A., 2010. Gorse seed bank variability in maritime pine stands. *Seed Science Research* 20, 31-38.
- Gourlay, A.H., Partridge, T.R., Hill, R.L., 2003. Interactions between the gorse seed weevil (*Exapion ulicis*) and the gorse pod moth (*Cydia succedana*) explored by insecticide exclusion in Canterbury, New Zealand. XI International Symposium on Biological Control of Weeds, Canberra, Australia, pp. 520-522.
- Graham, P.H., Rosas, J.C., 1979. Phosphorus fertilization and symbiotic nitrogen-fixation in common bean. *Agronomy Journal* 71, 925-926.
- Grime, J.P., 2001. *Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties*. Second Edition. John Wiley & Sons.
- Grime, J.P., Hodgson, J.G., Hunt, R., 2007. *Comparative Plant Ecology. A functional approach to common British species*. Second Edition. Castelpoint Press.
- Gripenberg, S., Mayhew, P.J., Parnell, M., Roslin, T., 2010. A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13, 383-393.
- Grubb, P.J., 1977. Maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 52, 107-145.
- Gurevitch, J., Fox, G.A., Wardle, G.M., Inderjit, Taub, D., 2011. Emergent insights from the synthesis of conceptual frameworks for biological invasions. *Ecology Letters* 14, 407-418.
- Gutierrez, D., Menendez, R., Obeso, J.R., 1996. Effect of ovule position on seed maturation and seed weight in *Ulex europaeus* and *Ulex gallii* (Fabaceae). *Canadian Journal Of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 74, 848-853.
- Handley, L.L., Raven, J.A., 1992. The Use Of Natural Abundance Of Nitrogen Isotopes In Plant Physiology And Ecology. *Plant Cell and Environment* 15, 965-985.
- Hanley, M.E., 2009. Thermal shock and germination in North-West European Genisteae: implications for heathland management and invasive weed control using fire. *Applied Vegetation Science* 12, 385-390.
- Harper, J.L., 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London, New York, San Francisco.
- Hartgerink, A.P., Bazzaz, F.A., 1984. Seedling scale environmental heterogeneity influences individual fitness and population structure. *Ecology* 65, 198-206.
- Hartley, M.J., Thai, P.H., 1982. Effects of pasture species, fertiliser, and grazing management on the survival of gorse seedlings. *New Zealand Journal Of Experimental Agriculture* 10, 193-196.
- Hegyi, F., 1974. A simulation model for managing jack-pine stands. In: Fries, J., (Ed.), *Growth model for tree and stands simulation*. Royal College of Forestry, Stockholm, Stockholm, pp. 74-90.
- Heinemann, K., Kitzberger, T., 2006. Effects of position, understorey vegetation and coarse woody debris on tree regeneration in two environmentally contrasting forests of north-western Patagonia: a manipulative approach. *Journal of Biogeography* 33, 1357-1367.

- Hely, C., Forgeard, F., 1998. Heterogeneity of a high *Ulex europaeus* health with respect to relation to fire propagation (Brittany, France). *Canadian Journal Of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 76, 804-817.
- Herrera, C.M., 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: Flowering plants are more than their flowers. *Ecology* 76, 1516-1524.
- Herrera, C.M., 2002. Topsoil properties and seedling recruitment in *Lavandula latifolia*: stage-dependence and spatial decoupling of influential parameters. *Oikos* 97, 260-270.
- Herrera, C.M., Jordano, P., Guitian, J., Traveset, A., 1998. Annual variability in seed production by woody plants and the masting concept: Reassessment of principles and relationship to pollination and seed dispersal. *American Naturalist* 152, 576-594.
- Herrera, C.M., Jordano, P., Lopezsofia, L., Amat, J.A., 1994. Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: Bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological Monographs* 64, 315-344.
- Hill, L.R., Gourlay, A.H., Fowler, S.V., 2000. The biological program against gorse in New Zealand. X international symposium on biological control of weeds Neal R. Spencer, Montana State University, Bozeman, Montana, USA, pp. 909-917.
- Hill, R.L., 1982. The phytophagous fauna of gorse, *Ulex europaeus* L., and host plant quality. Imperial College. University of London, London.
- Hill, R.L., Gourlay, A.H., 2002. Host-range testing, introduction, and establishment of *Cydia succedana* (Lepidoptera : Tortricidae) for biological control of gorse, *Ulex europaeus* L., in New Zealand. *Biological Control* 25, 173-186.
- Hill, R.L., Gourlay, A.H., Barker, R.J., 2001. Survival of *Ulex europaeus* seeds in the soil at three sites in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 39, 235-244.
- Hill, R.L., Gourlay, A.H., Lee, W.G., Wilson, J.B., 1996. Dispersal of seeds under isolated gorse plants and the impact of seed feeding insects. 49th New Zealand Plant Protection Conference, pp. 114-118.
- Hill, R.L., Gourlay, A.H., Martin, L., 1991. Seasonal and geographic variation in the predation of gorse seed, *Ulex europaeus* L., by the seed weevil *Apion ulicis* Forst. *New Zealand Journal of Zoology* 18, 37-43.
- Hoch, G., Richter, A., Korner, C., 2003. Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment* 26, 1067-1081.
- Hoddle, M.S., 1991. Gorse pod susceptibility and oviposition preference to the gorse seed weevil, *Apion ulicis* (Forster) (Coleoptera, Apionidae). *New Zealand Journal of Zoology* 18, 31-35.
- Hogberg, P., 1997. Tansley review No 95 - N-15 natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist* 137, 179-203.
- Holm, L.G., Doll, J., Holm, E., Pancho, J.V., Herberger, J.P., 1997. *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. Wiley, J. & Sons, New York.
- Hornoy, B., 2012. Evolutionary processes contributing to the invasive success of common gorse, *Ulex europaeus* [in french]. Rennes 1, Rennes, pp. 216.
- Hornoy, B., Atlan, A., Tarayre, M., Dugravot, S., Wink, M., 2012. Alkaloid concentration of the invasive plant species *Ulex europaeus* in relation to geographic origin and herbivory. *Naturwissenschaften* 99, 883-892.
- Hornoy, B., Tarayre, M., Hervé, M., Gigord, L., Atlan, A., 2011. Invasive Plants and Enemy Release: Evolution of Trait Means and Trait Correlations in *Ulex europaeus*. *PLoS ONE* 6, e26275.
- Hough-Goldstein, J., LaCoss, S.J., 2012. Interactive effects of light environment and herbivory on growth and productivity of an invasive annual vine, *Persicaria perfoliata*. *Arthropod-Plant Interactions* 6, 103-112.
- Houle, G., 1998. Seed dispersal and seedling recruitment of *Betula alleghaniensis*: Spatial inconsistency in time. *Ecology* 79, 807-818.

- Houle, G., 1999. Mast seeding in *Abies balsamea*, *Acer saccharum* and *Betula alleghaniensis* in an old growth, cold temperate forest of north-eastern North America. *Journal of Ecology* 87, 413-422.
- Hubbell, S.P., 2006. Neutral theory and the evolution of ecological equivalence. *Ecology* 87, 1387-1398.
- Hubbell, S.P., Foster, R.B., O'Brien, S.T., Harms, K.E., Condit, R., Wechsler, B., Wright, S.J., de Lao, S.L., 1999. Light-gap disturbances, recruitment limitation, and tree diversity in a neotropical forest. *Science* 283, 554-557.
- Huffman, D.W., Moore, M.M., 2008. Dynamics of Buckbrush Populations Under Simulated Forest Restoration Alternatives. Us Dept Agr, Forest Serv Rocky Mt Forest & Range Exptl Stn, Ft Collins.
- Hunziker, U., Brang, P., 2005. Microsite patterns of conifer seedling establishment and growth in a mixed stand in the southern Alps. *Forest Ecology and Management* 210, 67-79.
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding Remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 22, 415-427.
- Iason, G.R., Hester, A.J., 1993. The response of heather (*Calluna vulgaris*) to shade and nutrients - Predictions of the carbon-nutrient balance hypothesis. *Journal of Ecology* 81, 75-80.
- Ireson, J.E., Holloway, R.J., Chatterton, W.S., 2008. Phenology and development of the gorse thrips, *Sericothrips staphylinus* Haliday (Thysanoptera : Thripidae), a biological control agent for gorse, *Ulex europaeus* L. (Fabaceae), in Tasmania. *Biological Control* 45, 64-71.
- Ivens, G.W., 1978. Some aspects of seed ecology of gorse. 53\_57.
- Ivens, G.W., 1979. Effect of sprays on gorse regrowth at different growth stages. *Proceedings of the NZ Weed and Pest Control Conference* 32, 303-306.
- Ivens, G.W., 1982. Seasonal germination and establishment of gorse. 35th New Zealand weed and pest control conference [Hartley, M.J. (Editor)], pp. 152-156.
- Ivens, G.W., 1983. The influence of temperature on germination of gorse (*Ulex europaeus* L.). *Weed Research* 23, 207-216.
- Ivens, G.W., Mlowe, F., 1980. A Study Of Competition Between Seedlings Of Gorse (*Ulex-Europaeus* L) And Perennial Ryegrass (*Lolium-Perenne* L) By Means Of A Replacement Series Experiment. *Weed Research* 20, 183-191.
- Ives, A.R., Cardinale, B.J., Snyder, W.E., 2005. A synthesis of subdisciplines: predator-prey interactions, and biodiversity and ecosystem functioning. *Ecology Letters* 8, 102-116.
- Jacquemyn, H., Butaye, J., Hermy, M., 2001. Forest plant species richness in small, fragmented mixed deciduous forest patches: the role of area, time and dispersal limitation. *Journal of Biogeography* 28, 801-812.
- Jactel, H., Barbaro, L., 2009. Impacts de la production intensive de biomasse sur la biodiversité dans les forêts de plantations ; l'exemple des futaies à courte révolution de pin maritime — Bio 2 : Biomasse et biodiversité forestière, coord. Landmann (G.), Gosslin (F.), Bohême (I.) MEEDM - ECOFOR, pp. chap. 8, p. 89-97.
- Jactel, H., Brockerhoff, E., 2007. Pourquoi les forêts mélangées sont plus résistantes aux attaques d'insectes ravageurs ? , séminaire REGEFOR, Nancy, 2p.
- Jaenike, J., 1978. Optimal oviposition behaviour in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14, 350-356.
- Jalal, M.A.F., Read, D.J., Haslam, E., 1982. Phenolic composition and its seasonal variation in *Calluna vulgaris*. *Phytochemistry* 21, 1397-1401.
- Jambert, C., Delmas, R.A., Labroue, L., Chassin, P., 1994. Nitrogen compound emissions from fertilized soils in a maize field pine tree forest agrosystem in the southwest of France. . *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 99, 16523-16530.

- Janzen, D.H., 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist* 104, 501-528.
- Jennings, S., Baima, A.M.V., 2005. The influence of population and forest structure on fruit production in mahogany (*Swietenia macrophylla* King) and their consequences for sustainable management. *International Forestry Review* 7, 363-369.
- Jensen, A.L., 1997. Matrix population model with density-dependent recruitment for assessment of age-structured wildlife populations. *Bulletin of Mathematical Biology* 59, 255.
- Johnson, C.E., Johnson, A.H., Siccama, T.G., 1991. Whole tree clear cutting effects on exchangeable cations and soil acidity. *Soil Science Society of America Journal* 55, 502-508.
- Jolivet, C., Augusto, L., Trichet, P., Arrouays, D., 2007. Les sols du massif forestier des Landes de Gascogne: formation, histoire, propriétés et variabilité spatiale. *Revue Forestière Française* 1, 7-30.
- Jones, F.A., Comita, L.S., 2010. Density-dependent pre-dispersal seed predation and fruit set in a tropical tree. *Oikos* 119, 1841-1847.
- Kawano, K., Iwasa, Y., 1993. A lattice structured model for beech forest dynamics. The effect of understory dwarf bamboo. *Ecological Modelling* 66, 261-275.
- Kaye, T.N., Blakeley-Smith, M., Thies, W.G., 2008. Long-term effects of post-harvest stump removal and N-fertilization on understory vegetation in Western USA forests. *Forest Ecology and Management* 256, 732-740.
- Kearney, M., Porter, W., 2009. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecology Letters* 12, 334-350.
- Kelly, C.K., Bowler, M.G., 2002. Coexistence and relative abundance in forest trees. *Nature* 417, 437-440.
- Kelly, C.K., Bowler, M.G., 2005. A new application of storage dynamics: Differential sensitivity, diffuse competition, and temporal niches. *Ecology* 86, 1012-1022.
- Kelly, D., 1994. The evolutionary ecology of mast seeding. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 465-470.
- Kelly, D., Sork, V.L., 2002. Mast seeding in perennial plants: Why, how, where? *Annual Review of Ecology and Systematics* 33, 427-447.
- Kimmins, J.P., Blanco, J.A., Seely, B., Welham, C., Scoullar, K., 2008. Complexity in modelling forest ecosystems: How much is enough? *Forest Ecology and Management* 256, 1646-1658.
- Kisanuki, H., Nakasu, M., Nakai, A., Yurugi, Y., 2008. Predicting the population dynamics of three understory broad-leaved evergreen species under the influence of Sika deer in primary and secondary forests of mid-western Japan. *Journal of Forest Research* 13, 52-58.
- Klinkhamer, P.G.L., Meelis, E., Dejong, T.J., Weiner, J., 1992. On the analysis of size-dependent reproductive output in plants. *Functional Ecology* 6, 308-316.
- Knox, K.J.E., Clarke, P.J., 2006. Response of resprouting shrubs to repeated fires in the dry sclerophyll forest of Gibraltar Range National Park. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 127, 49-56.
- Kobe, R.K., 2006. Sapling growth as a function of light and landscape-level variation in soil water and foliar nitrogen in northern Michigan. *Oecologia* 147, 119-133.
- Kraft, N.J.B., Valencia, R., Ackerly, D.D., 2008. Functional traits and niche-based tree community assembly in an amazonian forest. *Science* 322, 580-582.
- Kreutzweiser, D.P., Hazlett, P.W., Gunn, J.M., 2008. Logging impacts on the biogeochemistry of boreal forest soils and nutrient export to aquatic systems: A review. *Environmental Reviews* 16, 157-179.
- Krivan, V., Cressman, R., Schneider, C., 2008. The ideal free distribution: A review and synthesis of the game-theoretic perspective. *Theoretical Population Biology* 73, 403-425.

- Krivtsov, V., Vigy, O., Legg, C., Curt, T., Rigolot, E., Lecomte, I., Jappiot, M., Lampin-Maillet, C., Fernandes, P., Pezzatti, G.B., 2009. Fuel modelling in terrestrial ecosystems: An overview in the context of the development of an object-orientated database for wild fire analysis. *Ecological Modelling* 220, 2915-2926.
- Kubo, M., Sakio, H., Shimano, K., Ohno, K., 2005. Age structure and dynamics of *Cercidiphyllum japonicum* sprouts based on growth ring analysis. *Forest Ecology and Management* 213, 253-260.
- Laclau, J.P., Ranger, J., Deleporte, P., Nouvellon, Y., Saint-Andre, L., Marlet, S., Bouillet, J.P., 2005. Nutrient cycling in a clonal stand of *Eucalyptus* and an adjacent savanna ecosystem in Congo 3. Input-output budgets and consequences for the sustainability of the plantations. *Forest Ecology and Management* 210, 375-391.
- LaDeau, S.L., Clark, J.S., 2001. Rising CO<sub>2</sub> levels and the fecundity of forest trees. *Science* 292, 95-98.
- Laurans, M., Martin, O., Nicolini, E., Vincent, G., 2012. Functional traits and their plasticity predict tropical trees regeneration niche even among species with intermediate light requirements. *Journal of Ecology* 100, 1440-1452.
- Ledgard, N.J., 2006. The effect of competition and use of fertiliser on the seedling emergence of introduced gorse (*Ulex europaeus*) and Scotch broom (*Cytisus scoparius*). *New Zealand Plant Protection* 59, 8-11.
- Lee, W.G., Allen, R.B., Johnson, P.N., 1986. Succession And Dynamics Of Gorse (*Ulex-Europaeus* L) Communities In The Dunedin Ecological District South-Island, New-Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 24, 279-292.
- Legignan, P., 1979. L'élaboration de la formation du sable des Landes, dépôt résiduel de l'environnement sédimentaire pliocène-pléistocène centre aquitain. . Bordeaux 1, Bordeaux, pp. 429.
- Leibold, M.A., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, J.M., Hoopes, M.F., Holt, R.D., Shurin, J.B., Law, R., Tilman, D., Loreau, M., Gonzalez, A., 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters* 7, 601-613.
- Leslie, P.H., 1945. The use of matrices in certain population mathematics. *Biometrika* 33, 183-212.
- Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Hogberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611-620.
- Long, J.N., Smith, F.W., 1992. Volume increment in *Pinus Contorda* var *Latifolia*. The influence of stand development and crown dynamics. *Forest Ecology and Management* 53, 53-64.
- Lonsdale, W.M., 1990a. The self thinning rule: dead or Alive? *Ecology* 71, 1373-1388.
- Lonsdale, W.M., 1990b. The Self-Thinning Rule: Dead or Alive? *Ecology* 71, 1373-1388.
- Loustau, D., Bert, D., Trichet, P., 1999. Fonctionnement primaire et productivité de la forêt landaise: implications pour une gestion durable. *Revue Forestière Française*, 571-591.
- Loustau, D., Pluviaud, F., Bosc, A., Porte, A., Berbigier, P., Deque, M., Perarnaud, V., 2001. Sub-regional climate change impacts on the water balance, carbon balance and primary productivity of maritime pine in south-west France. In: Carnus, J.M., Dewar, R., Loustau, D., Tome, M., Orazio, C., Eds.), *Models for the Sustainable Management of Temperate Plantation Forests*, Proceedings. European Forest Institute, Joensuu, pp. 45-57.
- Louveaux, J., Albisetti, M., Delangue, M., Theurkau, M., 1966. Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica* L.) au milieu naturel. *Annales de l'Abeille* 9, 323-350.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., De Poorter, M., 2000. 100 of the world's worst invasive species A selection from the global invasive species database. The Invasive Species Specialist Group a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN).



- Lusk, C.H., Contreras, O., 1999. Foliage area and crown nitrogen turnover in temperate rain forest juvenile trees of differing shade tolerance. *Journal of Ecology* 87, 973-983.
- Maddox, D.M., Joley, D.B., Pitcairn, M.J., 2007. Studies on the biology of the Gorse Seed Weevil, *Exapion ulicis* (Forster 1771), in Northern California (Coleoptera : Curculionidae). *Pan-Pacific Entomologist* 83, 32-40.
- Magda, D., Chambon-Dubreuil, E., Agreil, C., Gleizes, B., Jarry, M., 2009. Demographic analysis of a dominant shrub (*Cytisus scoparius*): Prospects for encroachment control. *Basic And Applied Ecology* 10, 631-639.
- Magesan, G.N., Wang, H., Clinton, P., 2012. Nitrogen cycling in gorse-dominated ecosystems in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology* 36, 21:28.
- Major, J.E., Mosseler, A., Barsi, D.C., Clouthier, A., Campbell, M., 2009. Impact of three silvicultural treatments on weevil incidence, growth, phenology, and branch-level dynamics of *Pinus strobus* from large and small populations. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39, 12-25.
- Malo, J.E., 2004. Potential ballistic dispersal of *Cytisus scoparius* (Fabaceae) seeds. *Australian Journal of Botany* 52, 653-658.
- Marrs, R.H., Watt, A.S., 2006. Biological flora of the british isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Journal of Ecology* 94, 1272-1321.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants: second edition. Academic Press Harcourt Brace & Compagny, Publishers.
- Masaki, T., Suzuki, W., Niiyama, K., Iida, S., Tanaka, H., Nakashizuka, T., 1992. Community structure of a species-rich temperate forest, Ogawa Forest Reserve, central Japan. *Vegetatio* 98, 97-111.
- Massada, A.B., Carmel, Y., Koniak, G., Noy-Meir, I., 2009. The effects of disturbance based management on the dynamics of Mediterranean vegetation: a hierarchical and spatially explicit modeling approach. *Ecological Modelling* 220, 2525-2535.
- Mathieu, A., 2008. Modélisation de la dynamique de la population d'ajonc d'Europe et du genêt à balais dans le massif forestier cultivé des landes de Gascogne. Bordeaux 1, Bordeaux, pp. 34.
- Mayer, D.G., Butler, D.G., 1993. Statistical validation. *Ecological Modelling* 68, 21-32.
- McConnaughay, K.D.M., Coleman, J.S., 1999. Biomass allocation in plants: Ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80, 2581-2593.
- McCoy, M.W., Stier, A.C., Osenberg, C.W., 2012. Emergent effects of multiple predators on prey survival: the importance of depletion and the functional response. *Ecology Letters* 15, 1449-1456.
- McInerny, G.J., Etienne, R.S., 2012. Ditch the niche - is the niche a useful concept in ecology or species distribution modelling? *Journal of Biogeography* 39, 2096-2102.
- McLaughlin, M.J., Malik, K.A., Memon, K.S., Idris, M., 1990. The role of phosphorus in nitrogen fixation in upland crops. In: (IRRI), I.R.R.I., (Ed.), *Phosphorus requirements for sustainable agriculture in Asia and Oceania*, Low Banos, Philippines, pp. 295-305.
- Messiga, A.J., Ziadi, N., Belanger, G., Morel, C., 2012. Process-based mass-balance modeling of soil phosphorus availability in a grassland fertilized with N and P. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 92, 273-287.
- Michalet, R., Brooker, R.W., Cavieres, L.A., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Pugnaire, F.I., Valiente-Banuet, A., Callaway, R.M., 2006. Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecology Letters* 9, 767-773.
- Moody, M.E., Mack, R.N., 1988. Controlling the spread of plant invasions: the importance of nascent foci *Journal of Applied Ecology* 25, 1009-1021.
- Mora, Banos, V., Carnus, J.M., Regolini, M., 2012. Le massif des Landes de Gascogne à l'horizon 2050. Rapport de l'étude prospective, Conseil régional d'Aquitaine-INRA. pp. 290.

- Moravie, M.A., Borer, M., Bacher, S., 2006. Neighbourhood of host plants influences oviposition decisions of a stem-boring weevil. *Basic and Applied Ecology* 7, 545-554.
- Morel, C., Tunney, P., Plenet, D., Pellerin, S., 2000. Transfer of phosphate ions between soil and solution: Perspectives in soil testing. *Journal of Environmental Quality* 29, 50-59.
- Moss, G.R., 1959. The gorse seed problem. Departement of agriculture, New Plymouth.
- Munar, T., 2011. Etude de la banque de graines de l'ajonc d'europe Etude de la banque de graines de l'ajonc d'europe (*Ulex europaeus*) en lande humide. Pau et Pays de l'Adour, pp. 24.
- Murty, D., McMurtrie, R.E., Ryan, M.G., 1996. Declining forest productivity in aging forest stands: A modeling analysis of alternative hypotheses. *Tree Physiology* 16, 187-200.
- Nakashizuka, T., 2001. Species coexistence in temperate, mixed deciduous forests. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 205-210.
- Naulin, J.M., 2002. A contribution of sparse matrices tools to matrix population model analysis. *Mathematical Biosciences* 177, 25-38.
- Neatrou, M.A., Jones, R.H., Golladay, S.W., 2007. Response of three floodplain tree species to spatial heterogeneity in soil oxygen and nutrients. *Journal of Ecology* 95, 1274-1283.
- Newton, P.F., Jolliffe, P.A., 1998. Assessing processes of intraspecific competition within spatially heterogeneous black spruce stands. *Canadian Journal of Forest Research* 28, 259-275.
- Niklas, K.J., Enquist, B.J., 2003. An allometric model for seed plant reproduction. *Evolutionary Ecology Research* 5, 79-88.
- Nilsson, M.C., Wardle, D.A., 2005. Understory vegetation as a forest ecosystem driver: evidence from the northern Swedish boreal forest. *Frontiers in Ecology and the Environment* 3, 421-428.
- Norambuena, H., Piper, G.L., 2000. Impact of *Apion ulicis* Forster on *Ulex europaeus* L. seed dispersal. *Biological Control* 17, 267-271.
- Norton, D.A., Kelly, D., 1988. Mast seeding over 33 years by *Dacrydium cupressinum* Lamb. (rimu) (Podocarpaceae) in New Zealand: the importance of economies of scale. *Functional Ecology* 2, 399-408.
- O'Hara, K.L., Stancioiu, P.T., Spencer, M.A., 2007. Understory stump sprout development under variable canopy density and leaf area in coast redwood. *Forest Ecology and Management* 244, 76-85.
- Oberson, A., Nanzer, S., Bosshard, C., Dubois, D., Mader, P., Frossard, E., 2007. Symbiotic N-2 fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by N-15 dilution and N-15 natural abundance. *Plant and Soil* 290, 69-83.
- Obeso, J.R., 2002. The costs of reproduction in plants. *New Phytologist* 155, 321-348.
- ONF, 2003. Guide de Sylviculture du Pin Maritime de Lande. pp. 62.
- Pacala, S.W., Rees, M., 1998. Models suggesting field experiments to test two hypotheses explaining successional diversity. *American Naturalist* 152, 729-737.
- Parker, I.M., 2000. Invasion dynamics of *Cytisus scoparius*: A matrix model approach. *Ecological Applications* 10, 726-743.
- Pascarella, J.B., Horvitz, C.C., 1998. Hurricane disturbance and the population dynamics of a tropical understory shrub: Megamatrix elasticity analysis. *Ecology* 79, 547-563.
- Pausas, J.G., 1999. Mediterranean vegetation dynamics: modelling problems and functional types. *Plant Ecology* 140, 27-39.
- Paynter, Q., Downey, P.O., Sheppard, A.W., 2003. Age structure and growth of the woody legume weed *Cytisus scoparius* in native and exotic habitats: implications for control. *Journal of Applied Ecology* 40, 470-480.
- Paynter, Q., Fowler, S.V., Memmott, J., Sheppard, A.W., 1998. Factors affecting the establishment of *Cytisus scoparius* in southern France: implications for managing both native and exotic populations. *Journal of Applied Ecology* 35, 582-595.

- Paynter, Q., Gourlay, A.H., Oboyski, P.T., Fowler, S.V., Hill, R.L., Withers, T.M., Parish, H., Hona, S., 2008. Why did specificity testing fail to predict the field host-range of the gorse pod moth in New Zealand? *Biological Control* 46, 453-462.
- Pearman, P.B., Guisan, A., Broennimann, O., Randin, C.F., 2008. Niche dynamics in space and time. *Trends in Ecology & Evolution* 23, 149-158.
- Perry, G.L.W., Enright, N.J., 2002. Spatial modelling of landscape composition and pattern in a maquis-forest complex, Mont Do, New Caledonia. *Ecological Modelling* 152, 279.
- Perry, G.L.W., Enright, N.J., 2007. Contrasting outcomes of spatially implicit and spatially explicit models of vegetation dynamics in a forest-shrubland mosaic. *Ecological Modelling* 207, 327-338.
- Peters, R.H., Cloutier, S., Dube, D., Evans, A., Hastings, P., Kaiser, H., Kohn, D., Sarwerfoner, B., 1988. The allometry of the weight of fruit on trees and shrubs in Barbados. *Oecologia* 74, 612-616.
- Peterson, D.J., Prasad, R., 1998. The biology of Canadian weeds. 109. *Cytisus scoparius* (L.) Link. *Canadian Journal of Plant Science* 78, 497-504.
- Piou, D., Jactel, H., 2010. L'avenir du massif forestier des Landes de Gascogne ; Rapport d'expertise sur l'évaluation des risques biotiques — Rapport d'expert critère C4 risques sanitaires dans le cadre de l'expertise sur l'avenir du massif forestier des Landes de Gascogne. GIP ECOFOR, pp. 19.
- Plotnick, R.E., Gardner, R.H., 2002. A general model for simulating the effects of landscape heterogeneity and disturbance on community patterns. *Ecological Modelling* 147, 171-197.
- Poorter, H., Niklas, K.J., Reich, P.B., Oleksyn, J., Poot, P., Mommer, L., 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* 193, 30-50.
- Porte, A., Bosc, A., Champion, I., Loustau, D., 2000. Estimating the foliage area of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Annals of Forest Science* 57, 73-86.
- Porte, A.J., Samalens, J.C., Dulhoste, R., Du Cros, R.T., Bosc, A., Meredieu, C., 2009. Using cover measurements to estimate aboveground understorey biomass in Maritime pine stands. *Annals of Forest Science* 66.
- Portsmouth, A., Niinemets, U., 2007. Structural and physiological plasticity in response to light and nutrients in five temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Functional Ecology* 21, 61-77.
- Powers, M.D., Pregitzer, K.S., Palik, B.J., 2008. Physiological performance of three pine species provides evidence for gap partitioning. *Forest Ecology and Management* 256, 2127-2135.
- Prevosto, B., Robert, A., Coquillard, P., 2004. Development of *Cytisus scoparius* L. at stand and individual level in a mid-elevation mountain of the French Massif Central. *Acta Oecologica-International Journal Of Ecology* 25, 73-81.
- Prider, J.N., Facelli, J.M., Watling, J.R., 2011. Multispecies interactions among a plant parasite, a pollinator and a seed predator affect the reproductive output of an invasive plant, *Cytisus scoparius*. *Austral Ecology* 36, 167-175.
- Puentes, A., Basanta, M., 2002. Architecture of *Ulex europaeus*: Changes in the vertical distribution of organs in relation to plant height and season. *Journal of Vegetation Science* 13, 793-802.
- Puentes, M.A., Pereiras, J., Casal, M., 1988. The Seed Bank Of *Ulex-Europaeus* L In Shrublands Of Galicia (Nw Spain) .1. Initial Results. *Revue D Ecologie Et De Biologie Du Sol* 25, 215-224.
- Pulliam, H.R., 2000. On the relationship between niche and distribution. *Ecology Letters* 3, 349-361.

- Quero, J.L., Herrero, A., Zamora, R., 2011. Linking stochasticity to determinism of woody plant recruitment in a mosaic landscape: A spatially explicit approach. *Basic and Applied Ecology* 12, 161-171.
- R Development Core Team, 2010. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-0051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Randall, C.K., Duryea, M.L., Vince, S.W., English, R.J., 2005. Factors influencing stump sprouting by pondcypress (*Taxodium distichum* var. *nutans* (Ait.) Sweet). *New Forests* 29, 245-260.
- Ranger, J., Allie, S., Gelhay, D., Pollier, B., Turpault, M.P., Granier, A., 2002. Nutrient budgets for a rotation of a Douglas-fir plantation in the Beaujolais (France) based on a chronosequence study. *Forest Ecology and Management* 171, 3-16.
- Rees, M., Condit, R., Crawley, M., Pacala, S., Tilman, D., 2001. Long-term studies of vegetation dynamics. *Science* 293, 650-655.
- Rees, M., Ellner, S.P., 2009. Integral projection models for populations in temporally varying environments. *Ecological Monographs* 79, 575-594.
- Rees, M., Hill, R.L., 2001. Large-scale disturbances, biological control and the dynamics of gorse populations. *Journal of Applied Ecology* 38, 364-377.
- Rees, M., Kelly, D., Bjornstad, O.N., 2002. Snow tussocks, chaos, and the evolution of mast seeding. *American Naturalist* 160, 44-59.
- Rees, M., Long, M.J., 1993. The Analysis And Interpretation Of Seedling Recruitment Curves. *American Naturalist* 141, 233-262.
- Rees, M., Paynter, Q., 1997. Biological control of Scotch broom: modelling the determinants of abundance and the potential impact of introduced insect herbivores. *Journal of Applied Ecology* 34, 1203-1221.
- Ren, X., Chen, X., Jia, Z., 2010. Effect of Rainfall Collecting with Ridge and Furrow on Soil Moisture and Root Growth of Corn in Semiarid Northwest China. *Journal of Agronomy and Crop Science* 196, 109-122.
- Reyes, O., Casal, M., Rego, F.C., 2009. Resprouting Ability of Six Atlantic Shrub Species. *Folia Geobotanica* 44, 19-29.
- Ribbens, E., Silander, J.A., Jr., Pacala, S.W., 1994. Seedling Recruitment in Forests: Calibrating Models to Predict Patterns of Tree Seedling Dispersion. *Ecology* 75, 1794-1806.
- Richardson, R.G., Hill, R.L., 1998. The biology of Australian weeds 34. *Ulex europaeus* L. *Plant Protection Quarterly* 13, 46-58.
- Ripley, B.D., 1981. *Spatial statistics*. Wiley & Sons, New York.
- Rizopoulos, D., 2010. JM: An R Package for the Joint Modelling of Longitudinal and Time-to-Event Data. *Journal of Statistical Software* 35, 1-33.
- Rodriguez, E., Peco, B., Gurrea, M.P., 2012. Effect of Scotch broom, *Cytisus scoparius*, pod size and patch density on *Exapion fuscirostre* (Coleoptera, Apionidae) seed weevil oviposition. *Australian Journal of Entomology* 51, 127-132.
- Rodriguez-Calcerrada, J., Nanos, N., del Rey, M.C., de Heredia, U.L., Escribano, R., Gil, L., 2011. Small-scale variation of vegetation in a mixed forest understorey is partly controlled by the effect of overstory composition on litter accumulation. *Journal of Forest Research* 16, 473-483.
- Roggy, J.C., Prevost, M.F., 1999. Nitrogen-fixing legumes and silvigenesis in a rain forest in French Guiana: a taxonomic and ecological approach. *New Phytologist* 144, 283-294.
- Rosindell, J., Hubbell, S.P., Etienne, R.S., 2011. The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography at Age Ten. *Trends in Ecology & Evolution* 26, 340-348.
- Roze, F., 1988. *Ulex-Europaeus* Nitrogen-Fixation Characteristics In Brittany Heathlands. *Revue D Ecologie Et De Biologie Du Sol* 25, 279-286.
- Saltelli, A., 2002. Making best use of model evaluations to compute sensitivity indices. *Computer Physics Communications* 145, 280-297.

- Sanborn, P., Preston, C., Brockley, R., 2002. N<sub>2</sub>-fixation by Sitka alder in a young lodgepole pine stand in central interior British Columbia, Canada. *Forest Ecology and Management* 167, 223-231.
- Sardin, T., 2009. Guide des sylvicultures: Forêt littorales atlantiques dunaires. ONF.
- Schleuning, M., Huaman, V., Matthies, D., 2008. Flooding and canopy dynamics shape the demography of a clonal Amazon understory herb. *Journal of Ecology* 96, 1045-1055.
- Schmitz, O.J., 2007. Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* 88, 2415-2426.
- Schulze, E.D., 2000. Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems. Springer - Verlag, Berlin.
- Schumacher, P., Weyeneth, A., Weber, D.C., Dorn, S., 1997. Long flights in *Cydia pomonella* L (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: Influence of sex, mated status and age. *Physiological Entomology* 22, 149-160.
- Shibata, M., Nakashizuka, T., 1995. Seed and seedling demography of four co-occurring *Carpinus* species in a temperate deciduous forest. *Ecology* 76, 1099-1108.
- Shigesada, N., Kawasaki, K., Takeda, Y., 1995. Modeling stratified diffusion in biological invasions. *American Naturalist* 146, 229-251.
- Silander, J.A., Pacala, S.W., 1985. Neighborhood predictors of plant performance. *Oecologia* 66, 256-263.
- Sipe, T.W., Bazzaz, F.A., 1995. Gap partitioning among maples (*Acer*) in central New-England: survival and growth. *Ecology* 76, 1587-1602.
- Sixtus, C.R., Scott, R.R., Hill, G.D., 2006. Infestation of gorse pods by *Cydia ulicetana* and *Exapion ulicis* in the South Island of New Zealand. *Plant Protection Quarterly* 21, 39:42.
- Sixtus, C.R., Scott, R.R., Hill, G.D., 2007. The phenology of *Cydia succedana* on gorse in Canterbury. *New Zealand Plant Protection* 60, 146-151.
- Smethurst, P., Holz, G., Moroni, M., Baillie, C., 2004. Nitrogen management in *Eucalyptus nitens* plantations. *Forest Ecology and Management* 193, 63-80.
- Sprugel, D.G., Rascher, K.G., Gersonde, R., Dovciak, M., Lutz, J.A., Halpern, C.B., 2009. Spatially explicit modeling of overstory manipulations in young forests: Effects on stand structure and light. *Ecological Modelling* 220, 3565-3575.
- Stadt, K.J., Lieffers, V.J., 2000. MIXLIGHT: a flexible light transmission model for mixed-species forest stands. *Agricultural and Forest Meteorology* 102, 235-252.
- Stearns, S.C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.
- Stokes, C.J., Archer, S.R., 2010. Niche differentiation and neutral theory: an integrated perspective on shrub assemblages in a parkland savanna. *Ecology* 91, 1152-1162.
- Stokes, K.E., Allchin, A.E., Bullock, J.M., Watkinson, A.R., 2004. Population responses of *Ulex* shrubs to fire in a lowland heath community. *Journal of Vegetation Science* 15, 505-514.
- Stokes, K.E., Bullock, J.M., Watkinson, A.R., 2003. *Ulex gallii* Planch. and *Ulex minor* Roth. *Journal of Ecology* 91, 1106-1124.
- Strange, J.P., Garnery, L., Sheppard, W.S., 2007. Persistence of the Landes ecotype of *Apis mellifera mellifera* in southwest France: confirmation of a locally adaptive annual brood cycle trait. *Apidologie* 38, 259-267.
- Streng, D.R., Glitzenstein, J.S., Harcombe, P.A., 1989. woody seedling dynamics in an east texas floodplain forest. *Ecological Monographs* 59, 177-204.
- Sullivan, J.J., Williams, P.A., Timmins, S.M., 2007. Secondary forest succession differs through naturalised gorse and native kānuka near Wellington and Nelson. *New Zealand Journal of Ecology* 31, 22:38.
- Suzuki, A., 2001. Resource allocation to vegetative growth and reproduction at shoot level in *Eurya japonica* (Theaceae): a hierarchical investment? *New Phytologist* 152, 307-312.
- Tang, Y., Jiang, D.M., 2011. The exponent of self-thinning law varied: a model linking population spatial distribution and individual growth. In: Zhou, X., (Ed.), 2011

- International Conference on Energy and Environmental Science-Icees 2011. Elsevier Science Bv, Amsterdam, pp. 2321-2326.
- Tarayre, M., Bowman, G., Schermann-Legionnet, A., Barat, M., Atlan, A., 2007. Flowering phenology of *Ulex europaeus*: ecological consequences of variation within and among populations. *Evolutionary Ecology* 21, 395-409.
- Taylor, K., Rowland, A.P., Jones, H.E., 2001. *Molinia caerulea* (L.) Moench. *Journal of Ecology* 89, 126-144.
- te Beest, M., Stevens, N., Olff, H., van der Putten, W.H., 2009. Plant-soil feedback induces shifts in biomass allocation in the invasive plant *Chromolaena odorata*. *Journal of Ecology* 97, 1281-1290.
- Thiviolle-Cazat, A., Najar, M., 2001. Evolution de la productivité et de la récolte du pin maritime dans le massif landais. Evaluation de la disponibilité future en gironde. *Revue Forestière Française*, 317-322.
- Thompson, K., Band, S.R., Hodgson, J.G., 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* 7, 236-241.
- Ticktin, T., Nantel, P., 2004. Dynamics of harvested populations of the tropical understory herb *Aechmea magdalenae* in old-growth versus secondary forests. *Biological Conservation* 120, 461-470.
- Tomimatsu, H., Ohara, M., 2010. Demographic response of plant populations to habitat fragmentation and temporal environmental variability. *Oecologia* 162, 903-911.
- Tremblay, M.J., Rossi, S., Morin, H., 2011. Growth dynamics of black spruce in stands located between the 51st and 52nd parallels in the boreal forest of Quebec, Canada. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 41, 1769-1778.
- Trichet, P., Bakker, M.R., Augusto, L., Alazard, P., Merzeau, D., Saur, E., 2009. Fifty Years of Fertilization Experiments on *Pinus pinaster* in Southwest France: The Importance of Phosphorus as a Fertilizer. *Forest Science* 55, 390-402.
- Trichet, P., Jolivet, C., Arrouays, D., Loustau, D., Bert, D., Ranger, J., 1999. Le maintien de la fertilité des sols forestiers landais dans le cadre de la sylviculture intensive du pin maritime: revue bibliographique et identification des pistes de recherche. *Etude et gestion des sols* 6, 197-214.
- Trichet, P., Loustau, D., Lambrot, C., Linder, S., 2008. Manipulating nutrient and water availability in a maritime pine plantation: effects on growth, production, and biomass allocation at canopy closure. *Annals of Forest Science* 65.
- Twigg, L.E., Lowe, T.J., Taylor, C.M., Calver, M.C., Martin, G.R., Stevenson, C., How, R., 2009. The potential of seed-eating birds to spread viable seeds of weeds and other undesirable plants. *Austral Ecology* 34, 805-820.
- Ulrich, E., Lanier, M., Scheinder, A., 1998. Depots atmospheriques et concentrations des solutions du sol. Rapport scientifique sur les années 1993 et 1994. Rapport RENECOFOR, pp. 135.
- Urgenson, L.S., Reichard, S.H., Halpern, C.B., 2012. Multiple competitive mechanisms underlie the effects of a strong invader on early- to late-seral tree seedlings. *Journal of Ecology* 100, 1204-1215.
- Uriarte, M., Bruna, E.M., Rubim, P., Anciaes, M., Jonckheere, I., 2010. Effects of forest fragmentation on the seedling recruitment of a tropical herb: assessing seed vs. safe-site limitation. *Ecology* 91, 1317-1328.
- Valladares, F., Hernandez, L.G., Dobarro, I., Garcia-Perez, C., Sanz, R., Pugnaire, F.I., 2003. The ratio of leaf to total photosynthetic area influences shade survival and plastic response to light of green-stemmed leguminous shrub seedlings. *Annals Of Botany* 91, 577-584.
- Valladares, F., Niinemets, U., 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, pp. 237-257.

- Valverde, T., Silvertown, J., 1997. A metapopulation model for *Primula vulgaris*, a temperate forest understorey herb. *Journal of Ecology* 85, 193-210.
- Van Couwenberghe, R., Collet, C., Lacombe, E., Pierrat, J.C., Gegout, J.C., 2010. Gap partitioning among temperate tree species across a regional soil gradient in windstorm-disturbed forests. *Forest Ecology and Management* 260, 146-154.
- Van Veldhoven, P.P., Mannaerts, G.P., 1987. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. *Analytical Biochemistry* 161, 45-48.
- Vaupel, A., Matthies, D., 2012. Abundance, reproduction, and seed predation of an alpine plant decrease from the center toward the range limit. *Ecology* 93, 2253-2262.
- Vila, M., 1997. Effect of root competition and shading on resprouting dynamics of *Erica multiflora* L. *Journal of Vegetation Science* 8, 71-80.
- Vila, M., Terradas, J., 1998. Neighbour effects on *Erica multiflora* (Ericaceae) reproductive performance after clipping. *Acta Oecologica-International Journal Of Ecology* 19, 139-145.
- Vitousek, P.M., Cassman, K., Cleveland, C., Crews, T., Field, C.B., Grimm, N.B., Howarth, R.W., Marino, R., Martinelli, L., Rastetter, E.B., Sprent, J.I., 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* 57, 1-45.
- Vitousek, P.M., Howarth, R.W., 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry* 13, 87-115.
- Voisin, A.S., Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Ney, B., 2002. Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant and Soil* 243, 31-42.
- Warton, D.I., Hui, F.K.C., 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92, 3-10.
- Weiblen, G.D., Thomson, J.D., 1995. Seed dispersal in *Erythronium Grandiflorum* (Liliaceae). *Oecologia* 102, 211-219.
- Weiner, J., 1984. Neighborhood interference amongst *Pinus rigida* individuals. *Journal of Ecology* 72, 183-195.
- Weiner, J., 1990. Asymmetric competition in plant populations. *Trends in Ecology & Evolution* 5, 360-364.
- Weiner, J., 2004. Allocation, plasticity and allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 6, 207-215.
- Weiner, J., Campbell, L.G., Pino, J., Echarte, L., 2009a. The allometry of reproduction within plant populations. *Journal of Ecology* 97, 1220-1233.
- Weiner, J., Rosenmeier, L., Massoni, E.S., Vera, J.N., Plaza, E.H., Sebastia, M.T., 2009b. Is reproductive allocation in *Senecio vulgaris* plastic? *Botany-Botanique* 87, 475-481.
- Weston, C.J., Attiwill, P.M., 1996. Clearfelling and burning effects on nitrogen mineralization and leaching in soils of old-age *Eucalyptus regnans* forests. *Forest Ecology and Management* 89, 13-24.
- White, J., Harper, J.L., 1970. Correlated Changes in Plant Size and Number in Plant Populations. *Journal of Ecology* 58, 467-485.
- Whittaker, R.H., Levin, S.A., Root, R.B., 1973. Niche, Habitat, and Ecotope. *The American Naturalist* 107, 321-338.
- Wild, J., Winkler, E., 2008. Krummholz and grassland coexistence above the forest-line in the Krkonose Mountains: Grid-based model of shrub dynamics. *Ecological Modelling* 213, 293-307.
- Wilson, J.B., Lee, W.G., 1988. The -3/2 Law Applied To Some Gorse Communities, With Consideration Of Line Fitting. *New Zealand Journal of Botany* 26, 193-196.
- Wright, S.J., 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence. *Oecologia* 130, 1-14.
- Yoda, K., Kira, T., Ogawa, H., Hozumi, K., 1963. Self thinning in overcrowded pure stands under cultivated and natural conditions. *Journal of Biology, Osaka City University* 14, 106-129.

- Zabkiewicz, J.A., Gaskin, R.E., 1978. Effect of fire on gorse seeds. 31st New Zealand weed and pest control conference.
- Zeide, B., 1987. Analysis of the  $3/2$  Power Law of Self-Thinning. *Forest Science* 33, 517-537.
- Zuur, A.F., Leno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer.



# ANNEXES

---

Les annexes suivantes sont de trois types:

- Les annexes 1 à 3 concernent la démarche expérimentale complémentaire mise en place au cours de la thèse:
  - o l'annexe 1 concerne l'étude de l'effet des différentes espèces du sous-bois sur le recrutement des ajoncs dans notre milieu, en phase avancée de la rotation forestière, et dont les résultats ne sont pas encore disponibles,
  - o les annexes 2 et 3 concernent l'identification des paramètres de certaines étapes du modèle de dynamique de population de l'ajonc d'Europe (taux de germination et de diminution de la banque de graines, mortalité des ajoncs selon leur âge et la lumière disponible).
- L'annexe 4 est un point méthodologique: comment déterminer l'âge des ajoncs à partir de la lecture du nombre de cernes de croissance.
- En annexe 5, la liste des articles publiés ou soumis en tant que premier auteur et en co-auteur au cours de la thèse est fournie, ainsi que les PDF des articles publiés. Les articles soumis en co-auteurs sont aussi présentés.



# Annexe 1: Etude de l'effet des différentes espèces du sous-bois sur le recrutement des ajoncs en phase avancée de la rotation forestière

---

## 1 Principe général

Nous avons vu dans le chapitre 1 que ces effets pouvaient dépendre du type de compétiteurs, du type de compétition, mais aussi de la fertilité stationnelle. Le dispositif correspondant prévoit donc:

- de se placer dans des conditions de fertilité distincte correspondant à la lande sèche et aux landes méso-hydrophiles,
- d'utiliser les principales espèces du sous-bois (callune, molinie, fougère aigle),
- d'utiliser différents traitements d'exclusion partielle de la compétition pour distinguer les mécanismes de compétition aérienne et souterraine.

Le dispositif est mis en place en milieu semi-controlé car: 1) les sites situés dans différents types de landes, et où les trois principales espèces du sous-bois sont abondantes sont rares, 2) des peuplements spontanés en sous-bois et dans différents sites ont des caractéristiques différentes (e.g. développement de la végétation, structurations spatiales) pouvant rendre difficile les comparaisons des effets entre compétiteurs, et 3) cela permet de réduire la probabilité d'occurrence d'événements stochastiques (e.g. herbivorie, différence de climat) distincts entre sites.

Le dispositif est installé en 'bâche' de pépinière, sur la station de l'INRA de Pierroton. Ces bâches font 1m de large, 30 cm de profondeur et plusieurs dizaines de mètres de long. Elles sont remplies avec 2 types de sols, dont la fertilité chimique correspond aux landes sèches (i.e. traitement 'sol pauvre') et méso-hydrophiles (i.e. traitement 'sol riche'). Pour reproduire une situation de phase avancée de la rotation forestière, le dispositif nécessite 2 années d'expérimentation. En année 1 (2011), le développement des compétiteurs dans les bâches est assuré (à partir d'individus prélevés *in situ*). Puis des plantules d'ajoncs, produites en serres, sont transplantées sous le couvert déjà en place de ces compétiteurs en début d'année 2 (2012), et dans des zones témoins sans compétiteurs. La moitié des plantules d'ajonc est transplantée dans des tubes en PVC permettant l'exclusion de la compétition racinaire interspécifique.

## 2 Schéma général du dispositif

Un dispositif en split plot est utilisé pour la distribution des sols et des types de compétiteurs. Deux blocs sont formés. Dans chacun d'eux, le type de sol occupe la moitié de la surface, puis ces surfaces sont divisées en 4 aires de 1 m<sup>2</sup>, correspondant aux 3 espèces compétitrices et la zone une zone témoin. Une distance tampon de 1m est prévue entre chaque aire. Les plantules d'ajoncs occupent les 4 interlignes centraux entre les compétiteurs (Figure A1). 16 plantules sont transplantées dans chaque aire (dont 8 sont plantées au centre des tubes en PVC placés initialement). Le nombre total d'ajoncs suivi est donc de 256 (8 pseudo-répétitions, 2 types de compétition, 4 types de compétiteurs, 2 types de sols, et 2 blocs).

L'ensemble du dispositif est marqué au <sup>15</sup>N peu avant la transplantation des ajoncs, par aspersion de <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>Cl correspondant à un apport de 0.2 kg.ha<sup>-1</sup> d'azote. Des plantules de pins maritimes sont produites en serre et transplantées dans le dispositif, simultanément avec les plantules d'ajoncs, afin de servir de plantes de référence pour la détermination des taux de fixation symbiotique (i.e. %N<sub>dfa</sub>, cf partie 3 du chapitre de résultats pour la méthode de détermination des %N<sub>dfa</sub>).

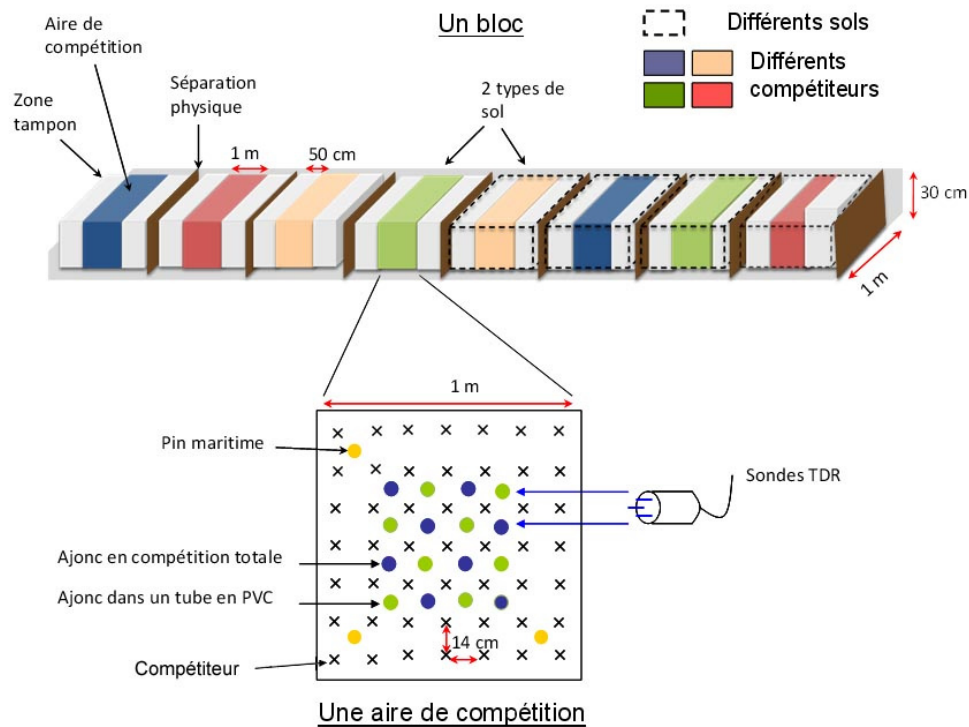


**Figure A1.** Représentation schématique d'un bloc et d'une aire de compétition dans le dispositif.

### 3 Les différents types de sols

Des analyses des teneurs en C, N et phosphore total ( $P_{TOT}$ ) ainsi que en oxydes de fer ( $Ox_{Fe}$ ) et d'aluminium ( $Ox_{Al}$ ) sont effectuées dans plusieurs sites du domaine de l'INRA de l'Hermitage à Pierroton et à plusieurs profondeurs: 0-15; 15-30 et 30-45 cm. La constitution du sol riche du dispositif est obtenue par le mélange en proportions égales des horizons superficiels (0-15 cm) de deux sites échantillonnés. Le sol pauvre est obtenu en utilisant un horizon plus profond (15-30 cm) d'un des deux sites. Les analyses de ces sols riches et pauvres, faites après mise en place dans les bâches de pépinière, confirment leur représentativité par rapport aux sols des landes sèches et méso-hygrophiles dans le massif (Tableau A1). Les volumes de sols nécessaires étant importants, l'utilisation d'un tractopelle a été requise pour le prélèvement et le transport des sols dans les bâches (Figure A2).

| Station/sol            | C (mg.g <sup>-1</sup> ) | N (mg.g <sup>-1</sup> ) | P <sub>TOT</sub> (mg.g <sup>-1</sup> ) | Ox <sub>Al</sub> (mg.g <sup>-1</sup> ) | Ox <sub>Fe</sub> (mg.g <sup>-1</sup> ) |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| Lande 'més-hygrophile' | [13.1 – 25.3]           | [0.83 – 1.23]           | [0.045 - 0.066]                        | [0.32 - 0.97]                          | [0.20 - 0.91]                          |
| Sol riche 'bâche'      | [33.9 – 52.9]           | [1.27 – 2.08]           | [0.038 - 0.067]                        | [0.60 – 1.39]                          | [0.31 – 0.50]                          |
| Lande 'sèche'          | [5.9 – 12.7]            | [0.40 – 0.67]           | [0.026 - 0.030]                        | [0.13 - 0.19]                          | [0.08 - 0.15]                          |
| Sol pauvre en 'bâche'  | [16.9 – 26.9]           | [0.46 – 0.78]           | [0.018 - 0.022]                        | [0.22 – 0.36]                          | [0.15 – 0.18]                          |

**Tableau A1.** Comparaison des gammes de teneurs en C, N, P<sub>TOT</sub>, Ox<sub>Al</sub>, et Ox<sub>Fe</sub> mesurées en landes sèches et méso-hygrophile (d'après Augusto et al.(2010)), et dans les différentes aires de compétition du dispositif. L'ensemble des valeurs indiquées concernent l'horizon [0 – 15 cm]. Concernant le premier élément nutritif limitant dans la région, le phosphore (Trichet et al., 2009), les teneurs en P<sub>TOT</sub> et en oxydes (indicateurs de la disponibilité en P) dans les sols 'riches' et 'pauvres' du dispositif correspondent bien aux teneurs rencontrées respectivement en lande méso-hygrophile et en lande sèche. Les teneurs en C et N dans le dispositif sont légèrement supérieures à celles mesurées dans le massif.

#### 4 Les différents types de compétiteurs

Les compétiteurs sont prélevés dans des parcelles de pins maritimes, peu de temps après une coupe rase afin de: 1) prélever des jeunes molinies ou callunes dont la reprise dans le dispositif est facilitée, et 2) permettre l'extraction plus aisée de rhizomes de fougère dans un sol meuble peu enraciné. Ces compétiteurs sont prélevés au début du printemps (début avril 2011) avec des mottes de sols (Figure A3). Puis leur système racinaire est lavé avant transplantation dans les bâches. Des regarnissages des individus dont la reprise a échoué sont effectués en Mai et Juin.

A partir du phytovolume attendu de ces 3 espèces dans des conditions expérimentales très proches (Gaudio et al., 2010), et à partir des relations entre les densités de peuplements *in situ* de ces espèces et leur phytovolume (Porte et al., 2009), une densité de plantation dans les bâches proche de 50 individus.m<sup>-2</sup> est choisie pour représenter des couverts denses de ces 3 espèces. Finalement, la transplantation a lieu dans des aires de compétition carrées de 1 m de côté et avec une densité de 49 pieds (7x7) (Figure A1 et A3).

#### 5 Les différents types de compétition

Le dispositif ne prévoit pas de traitement d'exclusion de la compétition aérienne. En effet, un dispositif de retrait de la végétation, selon un angle de 45° autour de plantules d'ajonc, nécessiterait des surfaces expérimentales trop importantes. En conséquence, le traitement appliqué est l'exclusion (ou non) de la compétition racinaire. Pour cela des tubes en PVC de 10 cm de diamètre et 25 cm de profondeur sont mis en place au sein des aires de compétition, avant la transplantation des espèces du sous-bois. Les dimensions des tubes sont choisies en fonction de 1) l'intégration dans des aires de 1m<sup>2</sup> ou 49 compétiteurs sont transplantés (Figure A2), et 2) le volume de sol qu'elles délimitent (i.e. 1963 cm<sup>3</sup>), qui correspond à celui occupé en moyenne par le système racinaire d'ajoncs en lande humide, mesuré après une saison de croissance végétative (1942 ± 594 cm<sup>3</sup>, n=6).



**Figure A2.** Préparation des différents types de sols dans les bâches. 1. L'horizon [15-30 cm] d'un site est utilisé pour le sol 'pauvre'. 2. Les débris organiques grossiers sont exclus par tamisage. 3. Dans chaque type de sol, le piquetage prépare la transplantation des compétiteurs.



**Figure A3.** Transplantation des compétiteurs dans les bâches. 1. Callunes prélevées *in situ*. 2. Une aire de compétition à callune après transplantation. Les cylindres en PVC permettent l'exclusion racinaire (voir paragraphe suivant). 3. Trois aires de compétitions au début de l'automne 2011 (de gauche à droite: fougère, molinie, callune).

## 6 Les plantules d'ajoncs

La mesure des minéralomasses d'azote contenues dans des plantules de différentes tailles (avec un nombre d'étages foliaires plus ou moins grands), et leur comparaison avec la quantité d'azote contenue dans la graine, indique que les plantules d'ajoncs sont autotrophes pour l'azote à partir de 4 étages foliaires mis en place (données non publiées). Les plantules d'ajoncs utilisées dans le dispositif sont produites en début d'année 2011 en serre, et sont transplantées au stade de développement approprié (i.e. 4 étages foliaires) début avril 2011 dans le dispositif (Figure A4).



**Figure A4.** Les plantules d'ajoncs utilisées dans le dispositif. 1. Production de plantules dans des cylindres de 2 cm de diamètre et 5 cm de profondeur. 2. Retrait de la motte du cylindre pour transplantation. 3. Plantule transplantée.

## 7 Variables dépendantes suivies

Après transplantation début avril 2012 des plantules d'ajonc, leur survie, ainsi que leur croissance (longueur de la tige principale, et de l'ensemble des tiges si la dominance du bourgeon apicale est réduite) sont suivies mensuellement, jusqu'à fin septembre 2012, couvrant la période de croissance végétative de l'espèce. En fin d'expérience, les ajoncs restants sont récoltés, puis leur diamètre basal, et leur biomasse aérienne et racinaire sont mesurés. Leur teneur en N et P sont déterminées dans les parties aériennes ainsi que leur enrichissement isotopique en  $^{15}\text{N}$  (i.e.  $\delta^{15}\text{N}$ ) nécessaire au calcul des  $\%N_{\text{dfa}}$  (cf partie 3 du chapitre de résultats pour les méthodes de mesure des teneurs en N et P et du  $\delta^{15}\text{N}$ ).

## 8 Variables explicatives mesurées

A chaque suivi mensuel, le développement des espèces du sous-bois est noté (hauteur, recouvrement et nombre de frondes pour la fougère). Une mesure ponctuelle du flux photonique reçu à l'apex des ajoncs est faite, ainsi qu'une mesure simultanée hors du couvert. Dans chaque aire de compétition deux sondes TDR, mises en place avant la transplantation des ajoncs, enregistrent pendant toute la durée de l'expérience l'humidité du sol à 6 cm de profondeur, à l'aplomb du collet de 2 ajoncs. Une sonde est placée dans un tube en PVC, la deuxième est placée à l'aplomb d'une plantule d'ajonc soumise à la compétition racinaire.

Lors de la récolte finale, les parties aériennes de l'ensemble des compétiteurs sont récoltées, séchées, pesées et analysées (teneurs en N et P). A l'emplacement de chaque ajonc sans tube en PVC, une carotte de sol de même dimension que les tubes est prélevée, puis les racines sont triées (ajonc ou compétiteurs), séchées et pesées. Pour les sols contenus dans les tubes, et dans les carottes récoltées, la disponibilité en ions phosphate est estimée par la cinétique de Freudlich (Messiga et al., 2012; Morel et al., 2000).



## Annexe 2: Estimation des taux de germination et de diminution de la banque de graines dans notre contexte

---

Hill et al. (2001) ont montré que la proportion de graines qui disparaissait de la banque de graine de l'ajonc d'Europe est constante dans le temps. Aussi la viabilité des graines n'est pas dépendante de leur âge. Le dispositif présenté ici n'a pas pour objectif de vérifier ces informations obtenues en contexte invasif (Nouvelle-Zélande). Son but est de mesurer une valeur annuelle des taux de germination et de diminution du stock dans notre contexte.

### *Description du dispositif:*

Dans un site récemment labouré, en lande humide, un volume de sol est prélevé puis tamisé à 1 mm pour retirer les éventuelles graines d'ajoncs qui pourraient y être contenues. Puis, 10 cadres en bois de 20 cm de côté, et 10 cm de profondeur, sont installés au niveau du site en position affleurante. Les 5 centimètres en profondeur sont remplis avec le sol tamisé. Puis 10 lots d'un mélange de sol tamisé contenant 100 graines d'ajonc sont préparés. Ils servent à remplir le volume restant dans les cadres, dans les 5 centimètres en surface, i.e. dans la zone où la germination de l'ajonc d'Europe permet l'émergence des plantules (Figure A5). L'installation du dispositif a lieu en Novembre 2010. A partir du mois de Février 2011, tous les 15 jours, une visite du dispositif est effectuée permettant de dénombrer puis de retirer les plantules d'ajoncs ayant germé, et de limiter la colonisation des cadres par le reste de la végétation. Au bout d'un an, le contenu des cadres est excavé et tamisé pour dénombrer les graines restantes dans le sol.

La proportion des 100 graines par cadre ayant germé en surface indique le taux de germination annuel. La proportion des graines restantes dans le sol après 1 an permet de calculer la proportion annuelle qui a disparu du sol (en tenant compte des graines ayant germé).

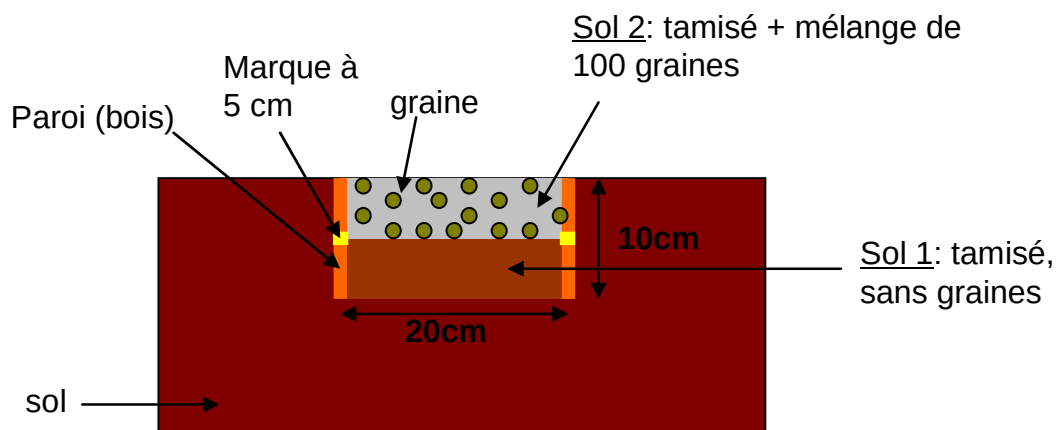


**Figure A5.** Représentation schématique du principe de la méthode d'enfouissement d'une quantité contrôlée de graines d'ajoncs d'Europe.



### Annexe 3: Estimation de la mortalité des ajoncs adultes en fonction de leur âge et de la lumière incidente au niveau du sous-bois

L'ajonc étant héliophile, il est supposé que la mortalité des ajoncs adultes intervient de manière précoce lorsque leur accès à la lumière est réduit. Pour étudier la mortalité des ajoncs adulte, en fonction de leur âge et de la lumière reçue, trois populations âgées, où de nombreux individus morts sur pied sont visibles, et situées dans trois parcelles de pins maritimes, sont étudiées. Dans ces parcelles, aucune perturbation du sous-bois n'est intervenue depuis de nombreuses années.

La lumière incidente au niveau du sous-bois est déterminée dans chaque site par l'estimation de la surface foliaire des pins maritimes, et l'utilisation de la loi de Beer-Lambert (cf Chapitre 2, partie 1 pour une description de la méthode). Cette méthode indique que dans les 3 sites étudiés, la lumière transmise au sous-bois est respectivement de 31, 56 et 95 % du PAR disponible.

Puis, dans chaque population, l'ensemble des individus qui sont morts sur pied est coupé à la base de la tige, et l'âge qu'ils ont atteint est déterminé à partir du comptage des cernes de croissance (cf annexe 4 ci après). A partir de la quantité d'individus ayant atteint chacun des âges, les probabilités 'instantanées' de mourir à un âge donné sont calculées en suivant la méthode décrite sur la figure A5 suivante.

Par la suite, l'analyse des résultats utilise une régression logistique multiple, prenant en compte l'influence de l'âge des individus et de la lumière du sous-bois dans chacun des sites sur la probabilité de mourir à un âge donné.

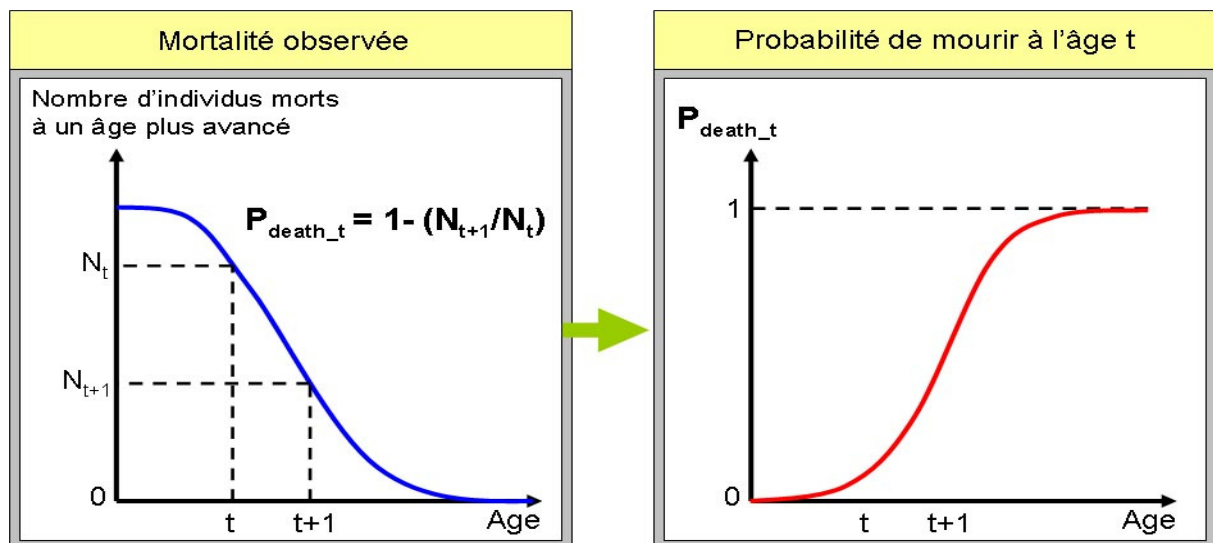


**Figure A5.** Observation de l'âge des individus morts, et déduction des probabilités de mourir à un âge donné ( $P_{\text{death}_t}$ ).

## Annexe 4: Nombre de cernes de croissance et détermination de l'âge des ajoncs

Dans la littérature, ainsi que dans le recueil de données effectué au cours de cette thèse, le nombre de cernes de croissance des ajoncs est souvent indiqué ou mesuré (e.g. Augusto et al., 2005, étude de la fécondité (cf Chapitre Résultats, partie 1), étude de la mortalité (Annexe 3); Lee et al., 1986). Pour déterminer l'âge correspondant des ajoncs, il est nécessaire de vérifier la relation entre le nombre de cernes de croissance et l'âge des ajoncs.

Pour cela, 2 méthodes ont été suivies:

- D'abord l'observation des plus grands ajoncs présents dans 6 parcelles de pins maritimes d'âge connus (2, 2, 4, 5, 8, et 15 ans) montre que leur nombre de cernes est proche ou égal au double de celui de l'âge de la parcelle.
- Par ailleurs, l'ajonc produit chaque année des nouveaux rameaux à partir des parties supérieures des rameaux de l'année précédente. Il est donc possible, jusqu'à un âge approximatif de 5 à 6 ans de déterminer l'âge des ajoncs par observation de leurs ramifications aériennes (Figure A6). Pour 15 individus d'ajoncs, l'observation du nombre de cernes de croissance à 10 cm du sol est exactement le double de leur âge déterminé par comptage de leurs ramifications aériennes.

Ces deux éléments indiquent que chaque année, l'ajonc d'Europe produit 2 cernes distincts. Ces deux cernes correspondent sûrement à la formation d'un bois de printemps, puis d'un bois d'été.

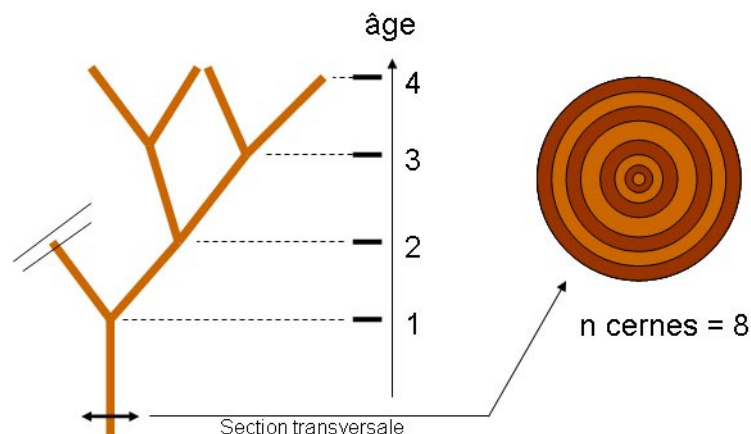


**Figure A6.** Correspondance entre l'âge déterminé selon les ramifications aériennes, et le nombre de cernes qui est observé à la base de la tige. Exemple d'un ajonc de 4 ans.

Par ailleurs, les diamètres mesurés des ajoncs ayant 1 seul cerne (3-5 mm) au cours de l'étude de la fécondité sont proches de ceux identifiés pour les jeunes plants venants d'être recrutés (cf Chapitre 4, Figure 29c). Les plantules d'ajoncs peuvent avoir des taux de croissances faibles à nuls pendant des périodes de durées variables, parfois supérieures à un an. Puis lorsque leur recrutement est réussi, leur croissance s'accélère (cf Chapitre Résultats, partie 3). En conséquence, nous considérons qu'un ajonc ayant 1 cerne de croissance est un ajonc nouvellement recruté, et son âge est fixé à 1 an, même si le temps passé dans la 'banque de plantules' peut-être plus important (mais aussi plus court).

L'âge des ajoncs peut alors être estimé à partir du nombre de cernes de croissance, comme indiqué sur la figure A7 suivante.

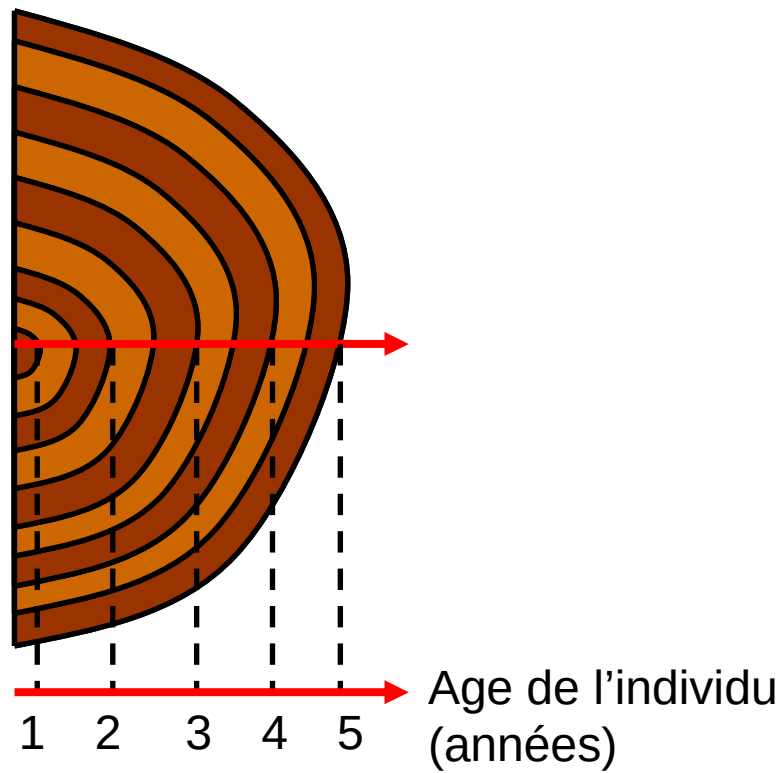


**Figure A7.** Demi-section transversale de la tige d'un ajonc à 10 cm du sol, et détermination de l'âge d'après le comptage du nombre de cernes. En cas d'un nombre de cerne compté pair (cernes clairs sur le schéma), l'âge est arrondi au nombre entier supérieur.

## Annexe 5: Les articles publiés ou soumis

---

Les PDF des articles publiés, ainsi que les articles soumis en tant que co-auteurs sont fournis à la suite.

### **1 Articles en premier auteur**

#### *Publié*

Delerue F, Gonzalez M, Atlan A, Pellerin S, Augusto L (2013) Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability. *Annals of Forest Science*. doi: 10.1007/s13595-012-0260-x

#### *Soumis*

Delerue F, Gonzalez M, Atlan A, Pellerin S, Augusto L (submitted) Multi-scale analysis of pre-dispersal seed predation of gorse (*Ulex europaeus*) by the weevil *Exapion ulicis* and the moth *Cydia succedana* along a light and a density gradient: implications for biological control. *Biological Control*.

### **2 Articles en co-auteur**

#### *Publié*

Gonzalez M, Augusto L, Gallet-Budynek A, Xue J, Yauschew-Raguenes N, Guyon D, Trichet P, Delerue F, Niollet S, Andreasson F, Achat DL, Bakker MR (2013) Contribution of understory species to total ecosystem aboveground and belowground biomass in temperate *Pinus pinaster* Ait. forests. *Forest Ecology and Management*. 289:38-47. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.026>

Augusto L, Delerue F, Budynek A, Achat D (2013) Global assessment of limitation to symbiotic nitrogen fixation by phosphorus availability in terrestrial ecosystems using a meta-analysis approach. *Global Biogeochemical Cycles*. 27:1-12. doi: <http://dx.doi.org/10.1000/gbc.2012.20069>

#### *Soumis*

Atlan, A., Hornoy, B., Delerue, F., Gonzalez, M., Parize, L., Pierre, J.S., Tarayre, M., submitted. Phenotypic plasticity in reproductive traits of a worldwide invasive shrub, *Ulex europaeus*, under different light conditions. *Plant Biology*.

# Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability

Florian Delerue · Maya Gonzalez · Anne Atlan ·  
Sylvain Pellerin · Laurent Augusto

Received: 8 October 2012 / Accepted: 27 December 2012 / Published online: 17 January 2013  
© INRA and Springer-Verlag France 2013

## Abstract

• **Context** While many woody perennials grow and reproduce in varying environments, their ability to modify their reproductive allocation under varying resource availability is unclear.  
• **Aims** This study aimed to demonstrate the occurrence of plasticity of reproductive allocation in a pioneer woody species (*Ulex europaeus*).  
• **Methods** We studied seed production in 144 plants under different irradiance and population densities. We measured their basal area, their whole shoot biomass and photosynthetic biomass, and their reproductive output (number of fruits per individual and number of seeds per fruit).  
• **Results** We found that newly produced photosynthetic biomass was influenced by environmental variation, which in turn determined plants' reproductive output. In addition, in low light conditions investment in reproduction was more

reduced than investment in growth indicating plasticity of reproductive allocation.

• **Conclusion** These results provide the first evidence for plasticity of reproductive allocation of a woody plant. It may lead to the ability of this pioneer species to survive and to continue to reproduce even at low rates in non-optimal shady habitats and to maintain a non-empty seed bank in forest systems with long unfavourable periods between two disturbances.

**Keywords** Woody perennials · Reproductive ecology · Size-dependent reproductive output · Light · Density · Pioneer woody shrub · Forest succession · Successional niche hypothesis · *R-V* relationship · Allometric relationship · Shade avoidance

**Handling Editor:** Erwin Dreyer

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s13595-012-0260-x) contains supplementary material, which is available to authorized users.

**Contribution of the co-authors** F.D, M.G and L.A designed the experiment. F.D ran the data analysis. All the authors participated in interpreting the results and writing the paper.

F. Delerue · M. Gonzalez (✉) · S. Pellerin · L. Augusto  
UMR 1220, TCEM, Institut National de la Recherche  
Agronomique, 33140 Villenave d'Ornon, France  
e-mail: maya.gonzalez@agro-bordeaux.fr

F. Delerue · M. Gonzalez  
UMR 1220 TCEM, Université de Bordeaux,  
33883 Gradignan, France

A. Atlan  
UMR 6553 ECOBIO, Centre National de la Recherche  
Scientifique, Université de Rennes 1, 35042 Rennes, France

## 1 Introduction

Many polycarpic woody plants go through successive growing and reproductive episodes in varying environments. For example, pioneer woody shrubs establish early in the forest succession and some of them persist until competition increases and tree canopy closure strongly decreases light availability (e.g. Abe et al. 2008).

When resource availability is limited, allocation to reproduction or growth may interfere, and high investment in reproduction may be hazardous (Obeso 2002). Thus, to maximise offspring production without jeopardising further growth and survival, it could be advantageous for a woody perennial to adjust the amount of resource allocated to reproduction to the availability of resource. Reproducing within a large gradient of resource availability, some pioneer shrubs species could particularly benefit from plasticity of their reproductive allocation.

Reproduction consumes carbohydrates and nutrients provided by vegetative tissues. As a consequence, plants show species-specific relationships between reproductive output ( $R$ ) and vegetative ( $V$ ) biomass. These relationships (hereafter referenced to as ' $R$ - $V$  relationships') can be linear, allometric (i.e.  $R = kV^a$ ) or involve more complex shapes (Klinkhamer et al. 1992). Therefore, when individuals of the same species are exposed to different resource availability, they grow to different sizes and their reproductive output is mainly determined by their position on the  $R$ - $V$  relationship. 'True' plasticity of reproductive allocation implies a change in the  $R$ - $V$  relationship and differs from 'apparent' plasticity that just involves a change in the growth rate (i.e. 'apparent plasticity') (Weiner 2004).

In woody plants, the main size parameter used to fit these  $R$ - $V$  relationships was tree diameter (e.g. Dodd and Silvertown 2000). In resource-rich environments (e.g. higher irradiance (Jennings and Baima 2005), lesser density of neighbours (Debain et al. 2003)), trees with the same initial diameter show higher reproductive output. But any conclusion on the ability of woody plants to modify their reproductive allocation is premature. With the same initial diameter, if trees with a higher reproductive output also had a higher growth rate, the proportion of resource allocated to reproduction would simply remain unchanged. Therefore, to address the question of reproductive allocation of woody plants, the actual reproductive output and the actual or recent growth rate in relation with the actual availability of resource should be considered explicitly in the  $R$ - $V$  relationships (Weiner et al. 2009a).

Niklas and Enquist (2003) showed that leaf biomass is a more efficient predictor of reproductive output than stem or root biomass. Indeed, photosynthetic biomass (PB) is well correlated with the carbohydrates available for all plant functions including reproduction. Consequently, we assumed that using the relationship between PB and reproductive output is an appropriate approach to track modifications in the reproductive allocation of woody plants (see Fig. 1).

However, resource allocation is expected to evolve with plant development (McConnaughay and Coleman 1999). For example, as woody plants grow, their proportion of PB in the whole shoot biomass (hereafter referred to as the  $PB/shoot$  ratio) decreases. The proportion of non-photosynthetic support tissue correspondingly increases. The cost to maintain support tissue could increase too and decrease reproductive allocation (Peters et al. 1988). Thus, to demonstrate occurrence of 'true' plasticity of reproductive allocation, changes in  $R$ - $V$  relationships using PB must be independent to changes due to plant development (Online resource 1). Therefore, the influence of other variables related to ontogeny (e.g. the  $PB/shoot$  ratio, the number of wood rings) on the  $R$ - $V$  relationships have to be taken into account.

In the present study, we took advantage of the spontaneous presence of a pioneer shrub of moderate size (*Ulex europaeus* L.), in a wide range of irradiance conditions and intra-specific competition in the understory of a planted forest, to investigate if its reproductive allocation was plastic along the gradients of resource and competition studied. We fitted different  $R$ - $V$  relationships, using BA or PB as main proxies for vegetative tissues, and we examined the influence of environmental variations on these  $R$ - $V$  relationships to disentangle apparent and true plasticity of reproductive allocation (see Fig. 1).

## 2 Materials and methods

### 2.1 Model species and region of the study

*U. europaeus* L. (common gorse, hereafter referred to as gorse) is an evergreen leguminous shrub native to the Atlantic European coast. The study was conducted in 2010 and 2011 in the 'Landes de Gascogne' forest of planted maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) in southwest France. This forest is characterised by poor acidic sandy soils, forming an oligotrophic environment. In this forest, gorse shrubs often grow and reproduce in a high intra-specific and relatively low inter-specific understory since: (1) gorse is taller than the other understory species, and (2) as a pioneer and light-demanding species (Lee et al. 1986), it commonly forms dense mono-specific thickets in very young pine stands with full light exposure. However gorse can maintain itself in old forest stands where less light reaches the understory because of interception by the tree stratum. Thus, it can also grow and reproduce under different light conditions.

After two growing seasons, gorse reproduces once a year. Its onset and duration of reproduction is variable. This polymorphism is under genetic control (Atlan et al. 2010) and is expressed through: (1) plants with a long flowering period from winter to spring or (2) plants with a short and abundant flowering period in spring. In this study, we focused on the plants of the second group which are by far the most frequent in our study area. Their flowering involves a cycle of two successive years (Online Resource 2). In year 1, new photosynthetic shoots (i.e. green stems with prickly leaves) are produced at the end of the previous year's shoots, the latter being transformed into non-photosynthetic supporting tissues. Thus, the proportion of non-photosynthetic support tissue increases as the plant grows (Puentes and Basanta 2002). Flowering occurs in early spring after winter dormancy in year 2. Pods mature and seeds are filled from May to the beginning of July before their dispersal by explosive dehiscence of pods. New shoots grow at the end of the reproductive season. The species is self-compatible but visit of flowers by

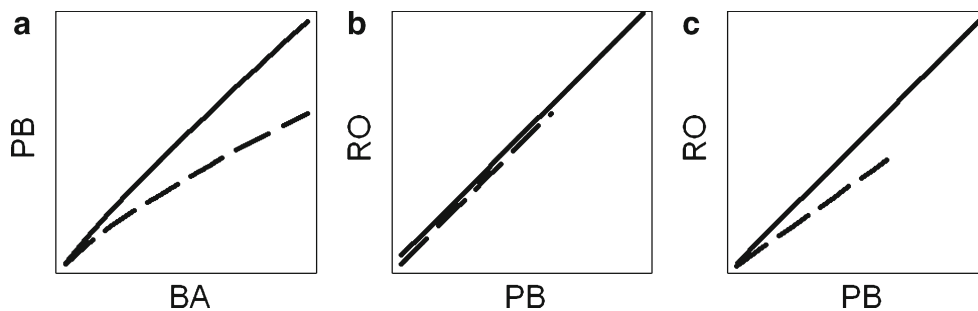


**Fig. 1**  $R$ - $V$  relationships using PB as an appropriate tool to distinguish between ‘apparent’ and ‘true’ plasticity of the reproductive allocation for woody plants growing in low (broken lines) and rich (solid lines) resource availability. *BA* basal area, *PB* photosynthetic biomass, *RO* reproductive output. The production of PB increases with plant size (*BA*) but decrease in case of low resource availability (**a**). In a first scenario, allocation to reproduction is equal in both poor and rich

environments. Thus the  $R$ - $V$  relationships between PB and RO remain unchanged (**b**). Because of differences in the production of PB (**a**), the  $R$ - $V$  relationships using *BA* will differ in low and rich resource availability (i.e. apparent plasticity of reproductive allocation). In a second scenario, allocation to reproduction is plastic (lower in poor environments). Thus the  $R$ - $V$  relationships between PB and RO show two distinct lines (**c**) as indicator of this true plasticity.

bees or bumblebees is needed for fecundation. In its native area, gorse flower visitation is not limited (Bowman et al. 2008) because of the abundance of pollinators (Louveau et al. 1966).

## 2.2 Experimental design and measurement of variables

### 2.2.1 Selection of sites and individuals

We took advantage of light interception by the pine overstory to build our first experimental gradient of light availability. In addition, we studied plants along a second gradient of density and intra-specific competition for resource. The two gradients studied were not crossed in our experimental design.

We repeated the following steps during the two successive years. First, we selected three sites with different light availability after a coarse estimation of light interception by the pine canopy (based on pine leaf area index calculated using tree dimensions (Porte et al. 2000)). Another site was selected in full light conditions. Avoiding winter flowering individuals, we selected 12 isolated gorse bushes per site (i.e. with no or few conspecific neighbours within a radius of 2.5 m). We chose individual plants representing a wide range of sizes to study reproductive allocation of the species over its whole size range (Online Resource 3). However, we avoided very small bushes (height <1.0 m). At the site with full light conditions, we identified each year two plots with moderate and high densities of gorse bushes in addition to the 12 isolated shrubs. In the densest plot, we opened a narrow access path to the centre of the plot where we selected 12 individuals of different sizes.

In practice, our sampling was split between (Online Resource 3): (1) the light gradient composed of eight plots (six in the understorey and two outside the forest). Twelve gorse bushes were monitored in 400 m<sup>2</sup> plots, except in the

shadiest plot where we found only eight individuals, i.e. a total of 92 individuals composed the light gradient; (2) the density gradient composed of 72 gorse bushes all located under full light conditions (i.e. 3 levels of density  $\times$  2 years  $\times$  12 plants). The ‘low density’ level referred to isolated gorse bushes (see above) scattered throughout the site. The ‘medium density’ and ‘high density’ levels were studied in two 64 m<sup>2</sup> plots (8  $\times$  8 m). On the whole, a total of 140 individuals were sampled in the study (144–4 exclusions because of obvious operator mistakes).

### 2.2.2 Heterogeneity of sites and years sampled

A few plots showed differences in soil nutrient contents (determined from three soil samples) or in the understory composition (Online Resource 3, plots Li-4, Li-5 and De-4). However, these differences were not organised in the same way as the light or density gradients. ‘Non-gorse’ understory biomass (in gram per square metre) decreased under low light availability and in dense gorse thickets (Online resource 3). Rainfall and temperatures were similar in the two seasons of PB production, whereas the spring was drier and hotter in 2011 (Online resource 3).

### 2.2.3 Measurement of reproductive variables

Each year, we measured the two main components of the reproductive output of shrubs: the *number of fruits* produced and the *number of seeds per fruit*. We visited all sites every 2 weeks from complete maturation of the first pods (end of May) until the end the reproductive period (beginning of July). We counted all the ripe (brown to black) pods on each shrub sampled and harvested them before the pod opened. To estimate the number of seeds per pod, we randomly opened 20 pods per harvesting date and per individual if available (otherwise we opened all the pods we had



collected), i.e. a total of 4,169 pods opened. The number of seeds per pod used in this paper refers to seed production before predation by the gorse seed weevil (*Exapion ulicis*) and the gorse pod moth (*Cydia succedena*). As each weevil larvae generally feeds on one seed (Barat et al. 2007), we estimated the original number of seeds per pod by adding the number of larvae and the number of undamaged seeds. After predation by the pod moth larvae, we were often not able to estimate the original number of seeds.

#### 2.2.4 Measurement of size variables

We harvested the whole shoot of sampled individuals soon after reproduction ended. We measured their stem basal area (BA) at 10 cm from the soil surface with a calliper and counted their total number of wood rings as a proxy of their age. Their BA during dormancy the preceding winter was obtained by subtracting the width of their last ring from their stem diameter at harvesting time. Then, their shoot biomass was split between PB and the rest of supporting biomass, dried and weighed.

#### 2.2.5 Determination of light and density indexes

**Light index** Selection of sites was based on a first coarse estimate of light interception by the canopy (see above). A light index (LI) was determined using a more accurate method after the ending of reproduction. Following Gendron et al. (1998), under a completely overcast sky, one-off comparison of the photosynthetically active radiation (PAR) received simultaneously by the understory and at a nearby canopy-free area provides a reliable estimation of the seasonal mean percentage of PAR received by the understory. We used this ‘overcast’ method both years in summer, within the same 2 weeks period. Two operators simultaneously measured the signal of two PAR sensors during two series of 30-s measurements under adequate cloud cover. One sensor was placed at the apex of the sampled shrub; the other one was placed at the same height in a close open area. Finally, the ratio of the two signals (understory/open area) was expressed in percent to create the LI (Online Resource 3).

**Density index** By the end of summer, we had cut, measured (stem basal area) and mapped all gorse plants growing in the density plots. Conspecific neighbours at all sites located within a 2.5-m radius of targeted individuals were also measured and mapped (Online Resource 3), i.e. a total of 3,089 gorse plants mapped in the whole study. The width of the last wood ring was measured in a subsample in each plot. Then, we used the relationship between the BA measured and the width of the last wood ring in each plot to estimate the BA of all competitors in the preceding winter. Finally we calculated a density index (DI) using the distance

between competitors and target individuals and the BAs in the preceding winter.

We selected Hegyi’s density index (Hegyi 1974, stated in Eq. 1, Online Resource 4) because it takes into account (1) population spatial heterogeneity (it is distance dependent) and (2) size-asymmetric competition (it compares the size of the target individual with that of the competitor). Many competitors concentrated on the same side of one individual provide preferential access to resource on the opposite side. To account for the spatial distribution of competitors, we modified Hegyi’s index according to Newton and Jolliffe (1998), given the position of the centre of mass of the competitors (Online Resource 4). Other spatialised density indexes were also built and tested during analyses but did not perform better (Online Resource 4).

#### 2.3 Data analysis

First, we verified the influence of the environment on the production of PB and on ontogenic variables (e.g. the PB/shoot ratio). Then,  $R$ - $V$  relationships were built for (1) the *number of pods* produced by each plant and (2) the *total number of seeds* produced by each shrub (as the number of pods multiplied by the mean number of seeds per pod). All  $R$ - $V$  relationships were fitted on a log–log scale to normalise the variables. Thus, they correspond to standard allometric  $R$ - $V$  relationships (i.e.  $R = k V^\alpha \Leftrightarrow \ln R = \alpha \ln V + \ln k$ ,  $\alpha$  being the scaling exponent). To test for modifications in the  $R$ - $V$  relationships under different levels of LI or DI (i.e. changes in the scaling exponent ( $\alpha$ )), we split our sample into three LI and DI classes of equal size, respecting the distribution of the tertiles (LI ranging from 15 to 42 %—*shady* class; 43 to 88 %—*medium light* class and 89 to 100 %—*full light* class). Equivalently, DI classes were named *sparse*, *medium density* and *dense*.

For relationships predicting the *production of pods*, we used both BA and PB as the main explanatory variables.

- $R$ - $V$  relationships using BA were as follows (Eq. 1):

$$\ln R_i = \alpha_j \ln BA_i + \ln k_j + \varepsilon_i \quad (1)$$

where  $\alpha_j$  is the scaling exponent (and  $\ln k_j$  the intercept) for the  $j$ th LI or DI class and  $\varepsilon_i$  is the residual of the allometric model for the  $i$ th individual. Using Eq. 1, we expected strongly significant differences between the scaling exponent of the LI and DI classes (i.e. strong apparent plasticity of the reproductive output). Indeed, this first kind of  $R$ - $V$  relationships does not take into account the influence of the environment on the production of PB, and thus on the availability of carbohydrates.

- $R$ - $V$  relationships using PB, with additional variables related to ontogeny (the PB/shoot ratio or the number



of wood rings), were also fitted (Eq. 2; example with PB/shoot ratio):

$$\ln R_i = \alpha_j \ln PB_i + b \ln (PB/shoot)_i + \ln k_j + \varepsilon_i \quad (2)$$

Equation 2 takes into account (1) the modification of PB production with environment variation and (2) the possible modification of the  $R$ - $V$  relationship due to ontogeny. Thus, we expected much less significant differences between the scaling exponents of the different LI and DI classes than in Eq. 1, and significant differences between the  $\alpha_j$  indicate true plasticity of reproductive allocation.

For relationships predicting the *production of seeds*, we investigated if the LI and DI class, or any other explanatory variable, had an effect on the mean number of seeds per pod. Plants for which we were not able to count the number of seeds per fruit in a minimum of 15 pods were excluded from this analysis. Finally, we reanalysed the  $R$ - $V$  relationships for the total number of seeds produced by each individual shrub.

## 2.4 Statistical analyses

Light and density datasets were analysed independently. In the density plots, some targeted individuals were competitors of other sampled individuals, causing non-independence between observations. Therefore, we performed 1,000 random permutations of the DI of individuals within the density plots to estimate the significance of the models using DI.

We performed all data analyses using R software (R Development Core Team 2010). We used the ‘nlme’ package to fit non-linear mixed models and the ‘lme4’ package for general linear mixed models. We used random effects when we suspected uncontrolled effects (e.g. site effect) or to control for dependence between observations (the same shrub used for several measurements of the number of seeds per pod). ANCOVA analysis was used to test differences of the scaling exponent  $\alpha$  in Eqs. 1 and 2 between different LI or DI classes. The effect of the year of the study was tested similarly. The non-significant intercepts in Eqs 1 and 2 ( $\ln k$ ) were removed from analyses. Reduced major axis regression (RMA) is generally more suitable than ordinary least square regression (OLS) to fit allometric relationship in a log–log scale. However, RMA regressions were not used in our study because available procedures in R software (1) do not enable to fit random effects for the different sites samples, (2) are not designed for multiple regressions (like in Eq. 2) and (3) OLS and RMA regressions gave consistent results when performing the latter approach was possible (data not shown).

We modelled the number of seeds per pod with a generalised linear mixed model with Poisson distribution and log link function.

Nested mixed models with different fixed or random effects were fitted respectively with maximum likelihood and restricted estimation of maximum likelihood. They were compared with likelihood ratio tests, correcting the  $P$  values following Zuur et al. (2009). Modelling efficiency (ME, the ratio of the sum of squares of the model residuals to that of the null model using the sample mean as a predictor) was used to compare the models for continuous response variables.

## 3 Results

### 3.1 Effect of the environment on the production of PB and on the PB/shoot ratio

We found significant allometric relationships between PB and individual BA (Online Resource 5). Light positively influenced this relationship. The random permutation test of shrubs DI within density plots gave a marginal result ( $P < 0.1$ , Online Resource 5). On the whole, these relationships are consistent with our Fig. 1a. Correspondingly, the PB/shoot ratio decreased with increasing individual BA, decreasing irradiance and increasing conspecific densities (Online Resource 5) consistently with our figure in Online Resource 1.

### 3.2 Comparison of the $R$ - $V$ relationships using BA and PB (Eqs. 1 and 2)

In Eq. 2, the explanatory variables related to ontogeny were not significant (e.g.  $P=0.24$  and  $P=0.47$  in the light and density samples respectively for the PB/shoot ratio) and this equation was simplified to:  $\ln R_i = a_j \ln PB_i + \ln k_j + \varepsilon_i$ .

In the light sample, the ME of both  $R$ - $V$  relationships using either BA or PB were improved when LI class was taken into account, but the relationship using PB was much less influenced (Fig. 2a, b). ANCOVA revealed highly significant differences between the slopes of the different light classes using BA (Fig. 2a), while these differences were less pronounced using PB (Fig. 2b). In the density sample, adding DI class to the relationships did not improve model predictions (Fig. 2c, d). On the whole, using PB rather than BA led to better ME. Moreover, using BA, we found a significant difference of slopes between the 2 years of the study in the density sample ( $P=0.002$ , Fig. 2c), while with PB, the difference disappeared (Fig. 2d).

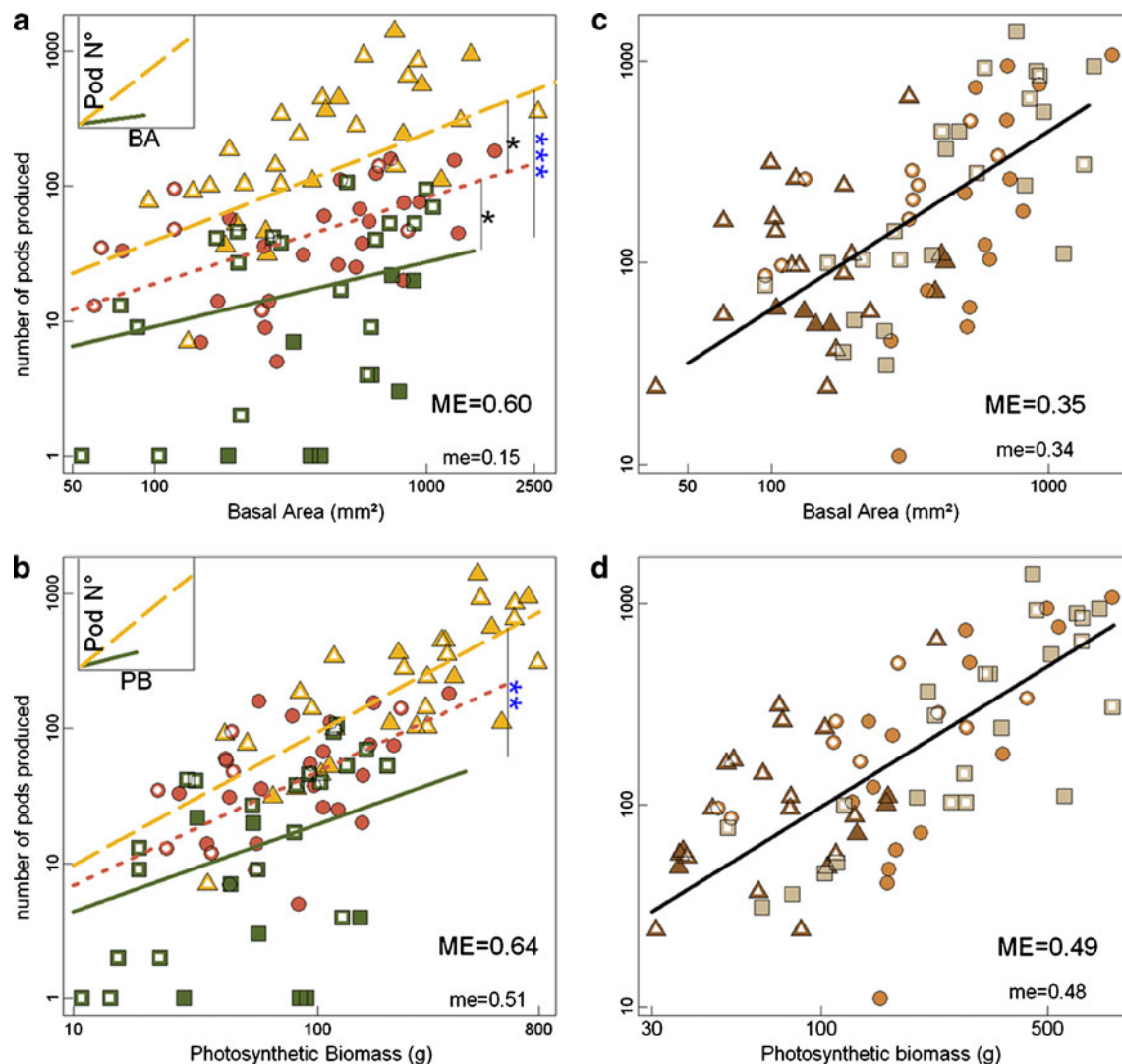


**Fig. 2** Different  $R-V$  relationships (using basal area (**a**, **c**) or photosynthetic biomass (**b**, **d**)) to explain pod production under different levels of light (**a**, **b**) and of density (**c**, **d**). We added one to the number of pods produced by each shrub before log transformation because some individuals did not produce any pod. In the *top left corner* (**a**, **b**), the slope of the relationships on the natural scale are given for the shady and full light class. Stars indicate differences in the slope parameters (\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ). Black stars show differences between adjacent slopes, blue stars between the most distant slopes. In the *bottom right corner*, the ME of the fitted relationships taking environmental variables into account (belonging to LI or DI classes) or not are given respectively in *capital and lowercase letters*. Individuals sampled in 2010 and 2011 are indicated

### 3.3 Changes in the $R-V$ relationships using PB (Eq. 2) due to environmental variation

In the light sample, the slopes of the  $R-V$  relationships between PB and pod production differed significantly between the shady and full light classes (Fig. 2b). As a continuous variable, LI also significantly influenced the slope of the  $R-V$  relationship (Online Resource 5).

respectively by *empty and filled symbols*. **a**, **b** Relationships for each LI class are represented by different types of line. **c**, **d** In the density sample, we present the overall relationship as a *black solid line* (no differences of slopes between classes). **a**, **b** Green filled squares, green empty squares and solid line: the shady class ( $N=28$  (30–2 operator mistakes)), orange filled circles, orange empty circles and dotted line: the medium light class ( $N=30$  (31–1 operator mistake)), yellow filled triangles, yellow empty triangles and dashed line: the full light class ( $N=31$ ). **c**, **d** Light brown filled squares, light brown empty squares: the sparse density class ( $N=24$ ), brown filled circles, brown empty circles: the medium density class ( $N=24$ ), dark brown filled triangles, dark brown empty triangles: the dense class ( $N=23$  (24–1 operator mistake))

Moreover, the number of seeds per pod increased with LI (Online Resource 5), with more seeds per pod in the full light class (Fig. 3a). However, using pod or total seed production led to similar results (Fig. 2b, Fig. 3b).

In the density sample, we did not observe any difference in  $R-V$  relationships between DI classes for pod production (Fig. 2d). When we analysed the number of

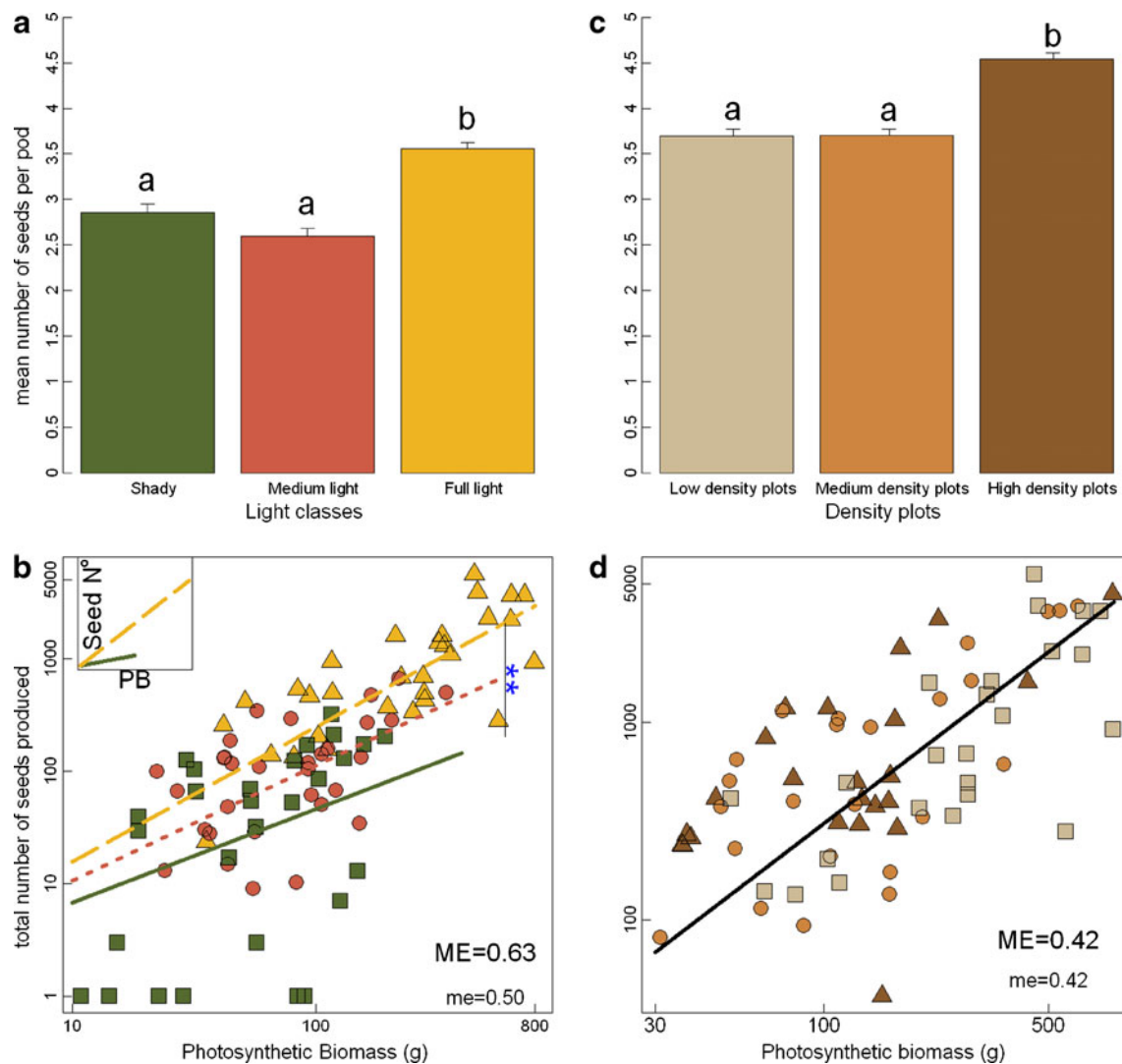


**Fig. 3** Number of seeds per fruit (**a**, **c**) and  $R$ - $V$  relationships between total seed production per individual and photosynthetic biomass (**b**, **d**) under different levels of light (**a**, **b**) and of density (**c**, **d**). **a**, **c** Lowercase letters indicate a significant difference in the number of seeds per pod between LI classes and density plots. Vertical lines are standard errors. Three hundred, 359 and 847 pods were opened on 11, 15 and 27 individuals in the shady, medium light and full light classes, respectively. Six hundred thirty-six, 675 and 641 pods were opened on 21, 23 and 21 individuals in the low density plots, medium density plots and high density plots, respectively. **b**, **d** We added one to the number of seeds produced by each shrub before log transformation because some individuals did not

produce any seed. **b** Symbols, legend, meaning of the top left and the bottom-right graph labels and number of individuals per LI class are the same as in Fig. 2b. **c**, **d** We classified the individuals per density plots and not per DI classes because the observed response is independent of the close neighbourhood (represented by the DI) within plots. **d** We show the overall relationship represented by the solid black line (no significant difference of slope between classes). The ME of the fitted relationship taking into account environmental variables (density plots) or not are shown as in Fig. 2. Light brown squares low density plots ( $N=24$ ), brown circle medium density plots ( $N=24$ ), dark brown triangle high density plots ( $N=23$  (24–1 operator mistake))

seeds per pod, random permutations within density plots indicated a marginal effect of the DI (Online Resource 5). Indeed the number of seeds per pod was more influenced by the density of the whole plot (Fig. 3c) than by the immediate vicinity of individual gorse bushes represented by the DI. However, when the total number of seeds produced was used (Fig. 3d), we found no difference in the  $R$ - $V$  relationships among density plots.

## 4 Discussion

### 4.1 On the use of $R$ - $V$ relationships to study reproductive allocation of woody plants

Using BA (Eq. 1), it is tempting to conclude that reproductive allocation was strongly modified by light availability and reduced by the dry spring in 2011 (Fig. 2a, c). However, using PB (Eq. 2), the influence of environment variation on

reproductive allocation was less obvious. Like in herbaceous plants, the main response to resource availability we identified was plasticity of growth (i.e. apparent plasticity), which in turn determined the reproductive output (Weiner et al. 2009a). Thus, future studies of size-dependent fecundity of woody plants should consider that  $R$ - $V$  relationships should be related to recent growth, and relationships using PB appeared appropriate according to our results.

We found a decreased in the PB/shoot ratio with plant size and in resource-poor environments (Online Resource 5). The proportion of support tissue increased correspondingly. This could have two opposite consequences: (1) an increase of the respiration cost to maintain support tissue which could reduce reproductive allocation (Online resource 1, Peters et al. 1988) and (2) an increase of the amount of carbohydrates and nutrients stored in the sapwood and inner bark (Hoch et al. 2003) that could be remobilized and represent an additional resource for reproduction. However, we found no significant effect on the  $R$ - $V$  relationships using PB neither of the PB/shoot ratio nor of any variable related to ontogeny. Therefore, the opposite consequences stated above may (1) have counterbalanced each other, (2) have only impacted the production of PB, not directly the allocation to reproduction and (3) be stronger and detectable only for taller trees. Even though, changes due to ontogeny should be constantly taken into account in future studies of reproductive allocation of woody plants, and the PB/shoot ratio could be an indicator of these changes.

#### 4.2 Plasticity of reproductive allocation of the model species

Analysis of the *light gradient* produced two results which suggested true plasticity in reproductive allocation: a modification in the  $R$ - $V$  slope for pod production in Eq. 2 (Fig. 2b), and a modification in the number of seeds per pod (Fig. 3a). However, alternative explanations need to be explored. *First*, uncontrolled effects that influence individuals sampled in different sites are likely to play a role. However no differences between plots were in conflict with our interpretation. For instance, when species composition of the understory varied (Online Resource 3), the encountered species were all typical of the same regional level of fertility (Augusto et al. 2010), and the decrease of reproductive allocation in shade did not concern these plots. Moreover, the effect of light was still significant after taking into account a random effect due to sampling in different locations (Online Resource 5, Fig. 2b). *Second*, a limitation in pollination in shade could be involved. However, pollinators of gorse are not influenced by the irradiance in forest stands (Herrera 1995). In addition the few species that bloom simultaneously with gorse are not abundant locally suggesting a low inter-specific competition for pollinators'

service. Finally, Hornoy (2012) confirmed, in an experimental garden, that a decrease in light led to a decrease in flower initiation of gorse but did not change the fruit/flower ratio. Therefore, the most likely explanation of Figs. 2b and 3b is plasticity of reproductive allocation. However, some individuals remained tied to the main  $R$ - $V$  relationship. Genetic differences may explain this variability of plasticity (e.g. Clauss and Aarssen 1994).

When analysing the *density sample*, we observed an increase in the number of seeds per pod (Fig. 3c) in the densest plots. Plant-pollinator interactions may explain this result. When shrubs are isolated, one single pollinator may visit more flowers per plant thus leading to higher abortion of self-fecundated ovules to avoid genetic depression (Cibula and Zimmerman 1984). In dense areas, cross-pollination is more likely and would increase the number of viable fecundated ovules per fruit, which would be consistent with our findings. In general, the response to increased intra-specific competition did not involve plasticity of reproductive allocation. The corresponding depletion of resource may be limited because (1) photosynthetic biomass is concentrated at the apex of the plant in dense thickets (i.e. in good light conditions) and (2) gorse is tolerant to poor nutrient availability (Drake 2011).

From our whole experimental design, we found evidence that our model species can display plasticity of reproductive allocation, limited to the response to light availability. To our knowledge, no previous studies have characterised the plasticity of this trait in woody plants.

#### 4.3 Plasticity of reproductive allocation and shade avoidance

We observed that gorse bushes in shady sites showed modification associated with shade avoidance: thinner branches and longer internodes. The quantity of carbon-based constituents and biomass allocated to functions other than photosynthesis is reduced in cases of shade avoidance (Iason and Hester 1993; Poorter et al. 2012). Our results suggest a similar trade-off in the most limiting environments, making the production of photosynthetic tissues a priority, enabling the individual to survive and continue reproducing in the future. Moreover, green stems are the main component of PB of gorse. The structural and chemical modifications of the green stems associated with etiolation (Iason and Hester 1993) may results in the observed plasticity. While nutrient concentration may be reduced in the PB, it is likely to be less variable in the reproductive organs to ensure the viability of the offspring. Therefore, a higher amount of PB may be needed to provide the necessary material and energy to build a single reproductive organ with fixed composition (Weiner et al. 2009b).



#### 4.4 Ecological significance of the plasticity of reproductive allocation

Like in herbaceous plants, plasticity was only observed by comparing the two extremes of the resource gradient (light in our study) (Weiner et al. 2009a). It is thus unlikely that plasticity is expressed in the case of small inter-annual variations in the environment. The successional niche hypothesis (Pacala and Rees 1998) is helpful to explore the ecological significance of our findings. Indeed the extreme variations in irradiance involved only occur during changes from the pioneer to late successional stages in forest or suddenly after a disturbance of the canopy. The successional niche hypothesis states that pioneer species (like gorse) should be excluded by over-competitors (trees in our case) but are maintained thanks to the short window of access to a high level of resource after a disturbance. This hypothesis is in agreement with the life cycle of gorse in our context. After a clear cut and the plantation of the next pine stand, when competition is low, the emergence of new individual gorse bushes is favoured. The new recruits mature and produce a large seed bank in full light conditions as we showed here. Because this seed bank can remain dormant for a long time, the species' ability to regenerate is stored in its seed bank (Beckage et al. 2005) until a new disturbance occurs. If plasticity of reproductive allocation is followed by improved survival in the forest succession, it could lead to a higher probability of maintaining a seed bank in the gap between two disturbances. However, to fit the  $R$ - $V$  relationships, we had to perform a single destructive harvest. Thus, we did not observe the fates of the plastic individuals. Answering the question of their future survival and of their reproductive output during the course of their lifetime is crucial to understand the ecological significance of plasticity of reproductive allocation.

#### 5 Conclusion

We showed that the whole size of woody plants does not provide enough information to detect true plasticity of their reproductive allocation. Using a more appropriate variable, photosynthetic biomass, we demonstrated that the reproductive allocation of the studied species can indeed be plastic. Depending on their distribution along wide gradients of resource, other woody species may express this kind of plasticity. Pioneer species may be able to modify their reproductive allocation under different light regimes because they are known to develop mechanisms of shade avoidance, and plasticity of reproductive allocation may be part of this response. Particularly, species with green stems may show similar plasticity because shade avoidance response results in strong modification of their PB composition

and may in turn modify the ability of PB to provide energy for reproduction. If plasticity of reproductive allocation confers higher survival in the shade, it could increase the ability of these pioneer species to maintain in forest systems with long unfavourable periods between two disturbances. Long-term studies are needed to better understand the ecological importance of plasticity of reproductive allocation of woody plants.

**Acknowledgments** We thank Mr. Jean Michel Beau from the French Forest National Office and Mr. Castagnet for giving us access to additional sampling sites. We are grateful to the INRA-UE570 Forêt Pierroton and UMR1202 BIOGECO teams, especially Laurent Severin, Luc Puzos and Celine Merdieu for their help in identification of sites and support in the field. We thank Alexandre Bosc for advice on measuring light and Alain Mollier, Christophe Nguyen, André Schneider and Frédérique Pellerin for discussion about statistical methods. We also thank David Achat, Mark Bakker, Jean Christophe Domec, Nathalie Gallegos, Céline Gire, Sylvie Millin, Sylvie Niollet, Loïc Prudhomme and Stéphane Thunot for technical help. We are also grateful for the suggestions made by the anonymous reviewers and editors.

#### References

- Abe S, Motai H, Tanaka H, Shibata M, Kominami Y, Nakashizuka T (2008) Population maintenance of the short-lived shrub *Sambucus* in a deciduous forest. *Ecology* 89:1155–1167. doi:10.1890/06-2009.1
- Atlan A, Barat M, Legionnet AS, Parize L, Tarayre M (2010) Genetic variation in flowering phenology and avoidance of seed predation in native populations of *Ulex europaeus*. *J Evol Biol* 23:362–371. doi:10.1111/j.1420-9101.2009.01908.x
- Augusto L, Bakker MR, Morel C, Meredieu C, Trichet P, Badeau V, Arrouays D, Plassard C, Achat D, Galley-Budynek A (2010) Is 'grey literature' a reliable source of data to characterize soils at the scale of a region?—a case study in a maritime Pine forest in south-western France. *Eur J Soil Sci* 61:807–822. doi:10.1111/j.1365-2389.2010.01286.x
- Barat M, Tarayre M, Atlan A (2007) Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Brittany (France). *Entomol Exp Appl* 124:167–176. doi:10.1111/j.1570-7458.2007.00565.x
- Beckage B, Lavine M, Clark JS (2005) Survival of tree seedlings across space and time: estimates from long-term count data. *J Ecol* 93:1177–1184. doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01053.x
- Bowman G, Tarayre M, Atlan A (2008) How is the invasive gorse *Ulex europaeus* pollinated during winter? A lesson from its native range. *Plant Ecol* 197:197–206. doi:10.1007/s11258-007-9370-1
- Cibula DA, Zimmerman M (1984) The effect of plant density on departure decisions. Testing the marginal value theorem using bumblebees and *Delphinium nelsonii*. *Oikos* 43:154–158. doi:10.2307/3544763
- Clauss MJ, Aarssen LW (1994) Phenotypic plasticity of size–fecundity relationships in *Arabidopsis thaliana*. *J Ecol* 82:447–455. doi:10.2307/2261254
- Debain S, Curt T, Lepart J, Prevosto B (2003) Reproductive variability in *Pinus sylvestris* in southern France: implications for invasion. *J Veg Sci* 14:509–516. doi:10.1111/j.1654-1103.2003.tb02177.x
- Dodd ME, Silvertown J (2000) Size-specific fecundity and the influence of lifetime size variation upon effective population size in *Abies balsamea*. *Heredity* 85:604–609. doi:10.1046/j.1365-2540.2000.00822.x

- Drake DC (2011) Invasive legumes fix N-2 at high rates in riparian areas of an N-saturated, agricultural catchment. *J Ecol* 99:515–523. doi:[10.1111/j.1365-2745.2010.01787.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01787.x)
- Gendron F, Messier C, Comeau PG (1998) Comparison of various methods for estimating the mean growing season percent photosynthetic photon flux density in forests. *Agric For Meteorol* 92:55–70. doi:[10.1016/S0168-1923\(98\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(98)00082-3)
- Hegyí F (1974) A simulation model for managing jack-pine stands. In: Fries J (ed) Growth model for tree and stands simulation, vol Research, Note 30. Royal College of Forestry, Stockholm, pp 74–90
- Herrera CM (1995) Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology* 76:1516–1524. doi:[10.2307/1938153](https://doi.org/10.2307/1938153)
- Hoch G, Richter A, Körner C (2003) Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell Environ* 26:1067–1081. doi:[10.1046/j.0016-8025.2003.01032.x](https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01032.x)
- Hornoy B (2012) Evolutionary processes contributing to the invasive success of common gorse, *Ulex europaeus* [in French]. PhD, University of Rennes 1, Rennes
- Iason GR, Hester AJ (1993) The response of heather (*Calluna vulgaris*) to shade and nutrients—predictions of the carbon–nutrient balance hypothesis. *J Ecol* 81:75–80. doi:[10.2307/2261225](https://doi.org/10.2307/2261225)
- Jennings S, Baima AMV (2005) The influence of population and forest structure on fruit production in mahogany (*Swietenia macrophylla* King) and their consequences for sustainable management. *Int For Rev* 7:363–369. doi:[10.1505/for.2005.7.4.363](https://doi.org/10.1505/for.2005.7.4.363)
- Klinkhamer PGL, Meelis E, Dejong TJ, Weiner J (1992) On the analysis of size-dependent reproductive output in plants. *Funct Ecol* 6:308–316. doi:[10.2307/2389522](https://doi.org/10.2307/2389522)
- Lee WG, Allen RB, Johnson PN (1986) Succession and dynamics of gorse (*Ulex europaeus* L.) communities in the Dunedin Ecological District South-Island, New-Zealand. *N Z J Bot* 24:279–292
- Louveaux J, Albisetti M, Delangue M, Theurkau M (1966) Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica* L.) au milieu naturel. *Annales de l'Abeille* 9:323–350
- McConnaughay KDM, Coleman JS (1999) Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80:2581–2593. doi:[10.2307/177242](https://doi.org/10.2307/177242)
- Newton PF, Jolliffe PA (1998) Assessing processes of intraspecific competition within spatially heterogeneous black spruce stands. *Can J For Res* 28:259–275. doi:[10.1139/cjfr-28-2-259](https://doi.org/10.1139/cjfr-28-2-259)
- Niklas KJ, Enquist BJ (2003) An allometric model for seed plant reproduction. *Evol Ecol Res* 5:79–88
- Obeso JR (2002) The costs of reproduction in plants. *New Phytol* 155:321–348. doi:[10.1046/j.1469-8137.2002.00477.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00477.x)
- Pacala SW, Rees M (1998) Models suggesting field experiments to test two hypotheses explaining successional diversity. *Am Nat* 152:729–737. doi:[10.1086/286203](https://doi.org/10.1086/286203)
- Peters RH, Cloutier S, Dube D, Evans A, Hastings P, Kaiser H, Kohn D, Sarwerfner B (1988) The allometry of the weight of fruit on trees and shrubs in Barbados. *Oecologia* 74:612–616. doi:[10.1007/bf00380061](https://doi.org/10.1007/bf00380061)
- Poorter H, Niklas KJ, Reich PB, Oleksyn J, Poot P, Mommer L (2012) Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytol* 193:30–50. doi:[10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x)
- Porte A, Bosc A, Champion I, Loustau D (2000) Estimating the foliage area of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Ann For Sci* 57:73–86
- Puentes A, Basanta M (2002) Architecture of *Ulex europaeus*: changes in the vertical distribution of organs in relation to plant height and season. *J Veg Sci* 13:793–802. doi:[10.1111/j.1654-1103.2002.tb02109.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2002.tb02109.x)
- R Development Core Team (2010) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. ISBN 3-0051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Weiner J (2004) Allocation, plasticity and allometry in plants. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 6:207–215. doi:[10.1078/1433-8319-00083](https://doi.org/10.1078/1433-8319-00083)
- Weiner J, Campbell LG, Pino J, Echarte L (2009a) The allometry of reproduction within plant populations. *J Ecol* 97:1220–1233. doi:[10.1111/j.1365-2745.2009.01559.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01559.x)
- Weiner J, Rosenmeier L, Massoni ES, Vera JN, Plaza EH, Sebastia MT (2009b) Is reproductive allocation in *Senecio vulgaris* plastic? *Botany-Botanique* 87:475–481. doi:[10.1139/b09-012](https://doi.org/10.1139/b09-012)
- Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R, Statistics for Biology and Health. Springer, New York



## Contribution of understory species to total ecosystem aboveground and belowground biomass in temperate *Pinus pinaster* Ait. forests

Maya Gonzalez<sup>a,b</sup>, Laurent Augusto<sup>b,a</sup>, Anne Gallet-Budynek<sup>b,a</sup>, Jianming Xue<sup>c</sup>, Nathalie Yauschew-Raguenes<sup>d</sup>, Dominique Guyon<sup>d</sup>, Pierre Trichet<sup>d</sup>, Florian Delerue<sup>a,b</sup>, Sylvie Niollet<sup>b,a</sup>, Frida Andreasson<sup>a,b</sup>, David L. Achat<sup>a,b</sup>, Mark R. Bakker<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Univ. Bordeaux, UMR1220 TCEM, F-33883 Gradignan, France

<sup>b</sup> INRA, UMR1220 TCEM, F-33140 Villenave d'Ornon, France

<sup>c</sup> Scion, Private Bag 29237, Christchurch, New Zealand

<sup>d</sup> INRA, UR1263 EPHYSE, F-33140 Villenave d'Ornon, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 12 July 2012

Received in revised form 4 October 2012

Accepted 15 October 2012

Available online 26 November 2012

#### Keywords:

Understory

Biomass

Roots

Allometry

Pine forest

Phytovolume

### ABSTRACT

By overemphasizing the role of overstory trees in forest studies, researchers, managers and policy makers could well ignore an important functional component of the forest ecosystem: the understory. This could be particularly true in forests with relatively open canopies. In maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) plantation forests in the southwest of France, a considerable amount of the direct radiation is transmitted through the canopy and is available for the growth of understory species. This study focused on five dominant understory species, including three woody species (*Calluna vulgaris* L., *Erica cinerea* L. and *Cytisus scoparius* L.) and two herbaceous perennials species (*Molinia caerulea* L. (Moench) and *Pteridium aquilinum* L. Khun). For each species five pine stands with varying amounts of understory were selected to predict biomass for a wide range of values. The number of pine trees and their dimensions were recorded enabling us to estimate the aboveground and root biomass of the pines using allometric relationships. Biometrical measurements of the understory and destructive harvests were carried out in each stand to measure aboveground, coarse and fine root biomass. The results showed that the understory represented an average of 6.8% of total ecosystem aboveground biomass and 27.4% of total ecosystem root biomass, underlining the need for a broader view of this component of the forest ecosystem. Allometric relationships derived from the biometrical data enabled satisfactory predictions of aboveground biomass for all five understory species and for belowground biomass of three species (*M. caerulea*, *P. aquilinum*, *C. scoparius*); allometric relationships failed to predict root biomass for two woody understory species (*E. cinerea* and *C. vulgaris*).

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Although understory species usually represent less than 1% of the aboveground biomass of typical forests in the northern hemisphere, they are of greater ecological importance for five main reasons (Gilliam, 2007): (1) their contribution to forest biodiversity, (2) their competitive interactions with the regeneration stage of dominant trees (e.g. Wagner et al., 2006; Parker et al., 2010; McCarthy et al., 2011), (3) their ability to create links with the overstory (e.g. with mycorrhizae), (4) their influence on energy fluxes and nutrient cycling (e.g. Yarie, 1980), and (5) their different responses to disturbances. In the light of recent public awareness of the role of forest ecosystems in providing ecosystem services

to mankind (Millennium Ecosystem Assessment, 2005), understory vegetation clearly deserves more attention (Dickie et al., 2011) from researchers, managers and policy makers. Previous studies assessed the relative contribution of understory vegetation to total ecosystem biomass to be less than 1% in most of the stands of an age sequence of *Pinus strobus* in Canada (Peichl and Arain, 2006), and 4% in French forests (Dupouey et al., 2000). However, this relative contribution based on gross primary productivity or ecosystem respiration (Misson et al., 2007), nutrient fluxes (Yarie, 1980) or carbon fluxes (Yarie, 1980; Powell et al., 2008) can be far larger than it is part in terms of biomass. In general, under higher light conditions such as when stand density is low (Ares et al., 2010), or when canopy openings occur more frequently, understory standing biomass will be higher (Jagodzynski and Oleksyn, 2009; Sabo et al., 2009).

Although national forest inventory data combined with the use of models and expansion functions enable certain calculations or

\* Corresponding author at: Univ. Bordeaux, UMR1220 TCEM, F-33883 Gradignan, France. Tel.: +33 5 57 12 25 23; fax: +33 5 57 12 25 15.

E-mail address: [Mark.Bakker@bordeaux.inra.fr](mailto:Mark.Bakker@bordeaux.inra.fr) (M.R. Bakker).

broad estimations of understory biomass (Shepashenko et al., 1998; Dupouey et al., 2000), these do not usually provide easily accessible information at local to regional scales that would be useful for managers. And all these approaches only estimate the aboveground biomass of the understory.

Overall, roots have been estimated to represent between 20% and 40% of total forest biomass with roots contributing 42% of root C to the total belowground C pool (Brunner and Godbold, 2007). For understory species the belowground part was shown to represent 73% of fine root biomass in humid moorlands versus 66% in dry moorlands in *Pinus pinaster* forests in south-western France (Bakker et al., 2006), 94% of total fine root production in undrained peat soils, and 64% in drained peat soils in central Finland (Murphy et al., 2009).

Under such conditions, it is clearly indispensable to take both the aboveground and belowground compartments of understory species into account when evaluating ecosystem functioning. Hitherto, only a few authors have reported on both above and belowground production in conifer stands (Grier et al., 1981; Albaugh et al., 1998; Helmisaari et al., 2002; Zerihun and Montagu, 2004; Zianis et al., 2005) and the understory was rarely included (Sebei et al., 2001). The potential contribution of the aboveground or belowground parts of the understory to ecosystem functioning is partly related to their size as a compartment of the ecosystem. As a first simple approach, there is thus need for tools to easily estimate biomass. Classical allometric relationships based on simple biometrical measurements have proven to be useful in predicting biomass. The most commonly used scales are individual plants using data such as diameter, height or crown projected area, and stand level, and characteristics such as ground cover or stand projected area (Baskerville, 1972; Ter Mikaelian and Korzukhin, 1997; Muukkonen et al., 2006; Porté et al., 2009; Heinrichs et al., 2010). In recent studies on coniferous forests in Scandinavia (Muukkonen et al., 2006), Germany (Heinrichs et al., 2010) and *P. pinaster* forests in south-western France (Porté et al., 2009), allometric tools successfully assessed the contribution of the understory by combining measurements of the vegetation cover, destructive harvests and upscaling methods, but in most cases, only the aboveground part of the understory biomass was taken into consideration (Li and Xiao, 2007). The objectives of our study were thus to:

- (i) assess the relative contribution of aboveground and belowground understory vegetation to total forest ecosystem biomass;
- (ii) test whether simple allometric tools could enable managers and foresters to improve carbon budgeting at the stand level and to explore the role of understory vegetation in nutrient management.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study area

The forest stands used in the present study are located in the *Landes de Gascogne* in south-western France (total area of 0.9 Mha). This forest is mainly composed of even-aged stands of maritime pine intensively managed for timber production. The canopies of these maritime pine stands aged  $\geq 10$  years are rather open, as evidenced by low leaf area indices of 1.8–3.7 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> (Bergier and Bonnefond, 1995; Porté et al., 2000; Delzon and Loustau, 2005). High solar radiation transmitted (Table 1) to the forest floor in this ecosystem often enables the growth of abundant understory species. However, the development of the understory biomass is periodically reduced by managers who use bladed rollers between the lines of trees every three to five years.

The parent material of the soils is almost completely composed of coarse sand (Augusto et al., 2010). Soils are poor, acidic, and have varying organic matter content. Most are classified as podzols or, in the dunes, as arenosols (Jolivet et al., 2007; Augusto et al., 2010). Soils are severely deficient in phosphorus and, to a lesser extent, in nitrogen and water (Achat et al., 2009; Trichet et al., 2008, 2009). The climate is oceanic with a mean annual temperature of 12.5 °C and mean annual rainfall of 930 mm (1951–1990).

### 2.2. Target understory species

The study was conducted on five different understory species all of which dominate along a gradient in the plantation forests of maritime pine (*P. pinaster*) from humid moorlands to dunes. Following this gradient the main understory species are respectively, purple moor-grass (*Molinia caerulea*), bracken fern (*Pteridium aquilinum*), common heather (*Calluna vulgaris*), bell heather (*Erica cinerea*) and Scotch broom (*Cytisus scoparius*). Except *E. cinerea* and *C. scoparius*, all three species are recognized to be highly efficient competitors in European forests and to be able to dominate the understory layer (McCarthy et al., 2011).

*M. caerulea* is a light-demanding, perennial and deciduous grass species which forms dense mono-specific layers, culminating in tussocks with a maximum plant height of 1 m. Rooting can be particularly dense under such tussocks, but in our context, maximum rooting depth was not more than 0.9 m (Severac, 1952; Taylor et al., 2001; Bakker et al., 2006).

*P. aquilinum* is a perennial deciduous fern species which forms fronds and rhizomes. Maximum recorded heights range from 2 to 4.4 m (Marrs and Watt, 2006). Roots go deeper than those of *M. caerulea*, i.e. down to 2.3 m (Severac, 1952).

*C. vulgaris* is a dwarf woody evergreen shrub which grows to a height of 1.25 m (Gimingham, 1960) and whose roots extend to a depth of 3 m (Severac, 1952). The species is long-lived and the life span of an individual can reach 30 years (Gimingham, 1960).

*E. cinerea* is a dwarf woody evergreen shrub which grows to a height of 0.8 m (Bannister, 1965). *Erica cinerea* can form a woody rhizome beneath the primary plant (Poser, 1983) and its roots can penetrate to a depth of 3.5 m (Severac, 1952; Bakker et al., 2006). Life spans of up to 19 years have been recorded (Bannister, 1965).

*C. scoparius* is a perennial leguminous deciduous woody nitrogen fixing shrub that can grow to a height of 4.0 m (Peterson and Prasad, 1998). Its usual life span is from 10 to 15 years, but some individuals may live for over 20 years.

### 2.3. Sampling scheme

Each understory species was investigated in five different stands with varying densities of the understory species of interest for this study (from a sparse to a dense cover of understory vegetation; Table 1). Stands with one understory species were selected for the purposes of this study. This was the case for 23 out of the 24 stands chosen as one stand was selected both for *P. aquilinum* and *C. vulgaris*. Overstory pines ranged from 15 to 97 years in age. In each stand, the investigation was carried out at two different scales: the plot scale (six 1 m<sup>2</sup> squares selected within an area of 100 m<sup>2</sup> (10 × 10 m) representative of both the understory and of the stand), and the stand scale (a 400–2500 m<sup>2</sup> square, see below). The plot scale was used for precise measurements of understory biometrical variables and destructive harvests, and the stand scale for biometric assessments of the trees.

### 2.4. Biometrical measurements of pine trees and the understory

Three randomly selected belonging to the five target understory species, were measured per square meter, along with the height of



**Table 1**Description of the 25 pine stands under study ( $n = 5$  stands per species<sup>a</sup>).

| Stand             | Target understory species | Pine age (years) | Basal area (m <sup>2</sup> /ha) | Leaf area index (Pine trees) (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> ) | Direct radiation transmittance (%) | Pine trees density (ind/ha) | Understory cover (%) in 10 × 10 m | Mean height of target understory species | Age of understory species (years) | Understory disturbance £ |
|-------------------|---------------------------|------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Mol1              | <i>M. caerulea</i>        | 30               | 30.6                            | 1.8                                                            | 57                                 | 400                         | 100                               | 50.77                                    | –                                 | 1                        |
| Mol2              | <i>M. caerulea</i>        | 31               | 33.4                            | 1.8                                                            | 56                                 | 455                         | 98                                | 38.14                                    | –                                 | 2                        |
| Mol3              | <i>M. caerulea</i>        | 96               | 38.2                            | 0.7                                                            | 79                                 | 164                         | 100                               | 69.94                                    | –                                 | 3                        |
| Mol4              | <i>M. caerulea</i>        | 50               | 30.5                            | 1.2                                                            | 68                                 | 181                         | 100                               | 58.96                                    | –                                 | 3                        |
| Mol5              | <i>M. caerulea</i>        | 25               | 35.1                            | 2.6                                                            | 44                                 | 444                         | 88                                | 40.31                                    | –                                 | 1                        |
| Pte1              | <i>P. aquilinum</i>       | 30               | 29.4                            | 1.7                                                            | 59                                 | 411                         | 99                                | 197.2                                    | –                                 | 3                        |
| Pte2 <sup>a</sup> | <i>P. aquilinum</i>       | 37               | 18.4                            | 0.8                                                            | 77                                 | 266                         | 22                                | 39.68                                    | –                                 | 2                        |
| Pte3              | <i>P. aquilinum</i>       | 18               | 11.8                            | 1.1                                                            | 71                                 | 322                         | 71                                | 92.04                                    | –                                 | 3                        |
| Pte4              | <i>P. aquilinum</i>       | 30               | 31.4                            | 1.8                                                            | 56                                 | 422                         | 89                                | 93.8                                     | –                                 | 1                        |
| Pte5              | <i>P. aquilinum</i>       | 50               | 23.9                            | 0.9                                                            | 74                                 | 135                         | 96                                | 133.82                                   | –                                 | 3                        |
| Cal1 <sup>a</sup> | <i>C. vulgaris</i>        | 37               | 18.4                            | 0.8                                                            | 77                                 | 266                         | 95                                | 48.75                                    | 5.06 (SE = 0.23)                  | 2                        |
| Cal2              | <i>C. vulgaris</i>        | 28               | 16.3                            | 0.8                                                            | 77                                 | 467                         | 99                                | 66.81                                    | 7.33 (SE = 0.12)                  | 3                        |
| Cal3              | <i>C. vulgaris</i>        | 30               | 18.8                            | 0.9                                                            | 75                                 | 464                         | 88                                | 10.95                                    | 7.06 (SE = 0.06)                  | 3                        |
| Cal4              | <i>C. vulgaris</i>        | 13               | 11.1                            | 1.0                                                            | 74                                 | 1950                        | 95                                | 73.29                                    | 7.1 (SE = 0.10)                   | 3                        |
| Cal5              | <i>C. vulgaris</i>        | 30               | 25.4                            | 1.2                                                            | 69                                 | 725                         | 42                                | 22.93                                    | 4.2 (SE = 0.19)                   | 1                        |
| Eri1              | <i>E. cinerea</i>         | 28               | 31.0                            | 1.7                                                            | 58                                 | 675                         | 56                                | 39.84                                    | 4.8 (SE = 0.16)                   | 1                        |
| Eri2              | <i>E. cinerea</i>         | 29               | 20.5                            | 0.9                                                            | 75                                 | 775                         | 93                                | 48.91                                    | 5.63 (SE = 0.20)                  | 2                        |
| Eri3              | <i>E. cinerea</i>         | 29               | 26.2                            | 1.3                                                            | 66                                 | 725                         | 49                                | 37.46                                    | 5.33 (SE = 0.06)                  | 1                        |
| Eri4              | <i>E. cinerea</i>         | 30               | 23.6                            | 0.9                                                            | 74                                 | 1175                        | 68                                | 43.63                                    | 5.53 (SE = 0.09)                  | 2                        |
| Eri5              | <i>E. cinerea</i>         | 30               | 20.3                            | 0.9                                                            | 74                                 | 620                         | 28                                | 30.39                                    | 4.2 (SE = 0.09)                   | 1                        |
| Cyt1              | <i>C. scoparius</i>       | 12               | 17.2                            | 1.6                                                            | 59                                 | 3200                        | 24                                | 126.29                                   | 4.12 (SE = 0.62)                  | 3                        |
| Cyt2              | <i>C. scoparius</i>       | 12               | 19.3                            | 2.1                                                            | 50                                 | 2000                        | 14                                | 100.31                                   | 3.58 (SE = 0.49)                  | 3                        |
| Cyt3              | <i>C. scoparius</i>       | 30               | 29.0                            | 1.8                                                            | 57                                 | 311                         | 4                                 | 47.24                                    | 2.82 (SE = 0.43)                  | 2                        |
| Cyt4              | <i>C. scoparius</i>       | 12               | 5.8                             | 0.6                                                            | 83                                 | 900                         | 30                                | 138.59                                   | 7.45 (SE = 1.12)                  | 3                        |
| Cyt5              | <i>C. scoparius</i>       | 11               | 14.5                            | 2.1                                                            | 51                                 | 850                         | 20                                | 95.18                                    | 5.75 (SE = 0.83)                  | 3                        |

£ Disturbance classes: 1 = high, 2 = medium, 3 = low disturbance frequency.

<sup>a</sup> One stand was common to *P. aquilinum* and *C. vulgaris* co-occurring, i.e. Cal1 = Pte2.

the tallest individual, and an estimation of species cover (as a percentage) of the plot. Specific records were kept for the following species:

- For *M. caerulea*, we counted the number of tussocks and their relative surface area per m<sup>2</sup>.
- For *P. aquilinum* we counted the number of fronds per m<sup>2</sup>.
- For *C. scoparius* the number and diameter of individual plants (measured 10 cm from their base) and their height (Prévosto et al., 2004) were measured and the age of these individuals was estimated by counting tree rings.
- For *C. vulgaris* and *E. cinerea* the age of the individual plants was determined by counting yearly growth nodes on five individuals per square meter (Mohamed and Gimingham, 1970).

For pine trees, diameter at breast height (DBH, at 1.30 m) was measured on all individuals in a square of variable size including at least 25 trees (dimensions of the squares varied from 20 × 20 to 50 × 50 m). This larger square always included in its centre the 10 × 10 m area previously used for the inventory of understory species. These measurements enabled us to estimate the above-ground and belowground (except fine roots) biomass and leaf area index (LAI) of pine trees using existing allometric relationships (Porté et al., 2000; Bert and Danjon, 2006; Shaiek et al., 2011).

We first calculated the crown foliage area using the following equation (Porté et al., 2000):

$$\text{CrLA} = b_1 \times \frac{D^{b_2}}{\text{age}^{b_3}} \quad (1)$$

with crown foliage estimated according to the age class of the needles (1, 2 and 3 years-old), DBH: Diameter at breast height in cm, and for needle age class 1:  $b_1 = 0.546$ ,  $b_2 = 2.508$  and  $b_3 = 1.18$ ; for needle age class 2:  $b_1 = 0.234$ ,  $b_2 = 2.708$  and  $b_3 = 1.16$ ; and for needle age class 3:  $b_1 = 7.854$ ,  $b_2 = 2.308$  and  $b_3 = 2.308$ .

- Then, we calculated LAI of the pine stand as follow (Porté et al., 2000):

$$\text{LAI} = ((\text{CrLA} \times \text{Density})/1000)/(1 + (\pi/2)) \quad (2)$$

where LAI is expressed in m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>, Density in tree/ha and CrLA in m<sup>2</sup> per tree

- Direct radiation transmission ( $T_{\text{light}}$ ) was then calculated as follow (Berbigier and Bonnefond, 1995):

$$T_{\text{light}} = e^{-k \times \text{LAI}} \quad (3)$$

where  $T_{\text{light}}$  is expressed as a percentage, LAI in m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> and  $k = 0.32$  ( $k$  = coefficient of extinction of *P. pinaster*).

- To calculate the pine trees total aboveground biomass ( $W$ ) for each stand we used the equation of Shaiek et al. (2011):

$$W = a \times D^b \quad (4)$$

where  $W$  is expressed in kg,  $D$  is diameter at breast height in m,  $a = 5013$  and  $b = 2.48$ .

We also estimated foliage, branches and stem biomass separately using the following equations also developed by Shaiek et al. (2011):

$$\text{Foliage : } W = a \times D^b \quad (5)$$

where  $W$  is expressed in kg,  $D$  is diameter at breast height in m,  $a = 142$  and  $b = 1.65$ .

$$\text{Branches : } W = a \times D^b \quad (6)$$

where  $W$  is expressed in kg,  $D$  is diameter at breast height in m,  $a = 509$  and  $b = 2.19$ .

$$\text{Stem : } W = a \times D^b \quad (7)$$

where  $W$  is expressed in kg,  $D$  is diameter at breast height in m,  $a = 5041$  and  $b = 2.70$ .

The coarse root biomass CRB (without considering the fine roots component) of pine trees was estimated using the equation of Bert and Danjon (2006):

$$\text{CRB} = a \times \text{GBH}^b \quad (8)$$

where biomass CRB is expressed in kg, girth at breast height (GBH) in m, and  $a = 84.7$  and  $b = 2.37$ .

## 2.5. Understory biomass at the plot scale

In each stand studied, among one hundred 1 m<sup>2</sup> squares in the 10 × 10 m area previously described and used to determine the abundance of the target understory species, six were chosen based on the presence of the target species, its abundance and height (as being representative of the 10 × 10 m<sup>2</sup> area), and the absence of visible disturbances. In each of these 1 m<sup>2</sup> plots, we collected both aboveground biomass (in an area of 1 m<sup>2</sup>) and belowground biomass using destructive methods.

For *C. vulgaris*, *E. cinerea* and *P. aquilinum*, the biomass of coarse roots (>2 mm in diameter) was sampled by digging a central pit (0.25 m<sup>2</sup> soil pit dug to a depth of 30 cm in the soil). To do so, we first cut coarse roots and rhizomes by forcing specially designed guillotine blades down into the soil at the borders of the future pit. The soil was then removed using hand tools and the roots were retrieved by passing the soil consecutively through two sieves (one of 4 mm and a second of 2 mm mesh size). The fine root biomass of the three species and of the maritime pine was sampled near the corners of the square concerned (four 8 cm diameter soil cores dug to a depth of 30 cm). For each target understory species, 12 root samples were prepared for image analysis using WINRHIZO Version 2005a (Regent Instruments Inc., Nepean, ON, Canada), enabling the determination of fine root area and specific root area (SRA). All samples were placed in plastic bags, transported to the laboratory the same day and stored at +1 °C until processing.

For *M. caerulea*, as coarse roots are not formed by this species, sampling was restricted to soil cores to a depth of 30 cm in the soil. When no or only very small tussocks were present in the square, six soil cores were sampled based on systematic spatial distribution. When several tussocks were present, nine soil cores were sampled (three under tussocks, three from flat sub-areas and three from intermediate zones).

For *C. scoparius*, whose woody individuals were easy to separate, we used a combination of soil cores to a depth of 30 cm to assess fine roots at some distance from the stems and a pit to assess the coarse root system and accompanying fine roots of each individual.

The total amounts of fine roots to a depth of 120 cm for all species using existing depth distributions (Bakker et al., 2006; Achat et al., 2008).

In the laboratory, the aboveground biomass harvested in each plot was separated into different compartments: stems and leaves for *P. aquilinum*, and green and brown needles and stems for *C. scoparius*. For *C. vulgaris* and *E. cinerea*, we separated yearly foliage production from the remaining standing aboveground biomass (Table 5). All the biomass (above and belowground) was dried to constant weight in an oven and then weighed.

From four supplementary sites in the Landes de Gascogne sampled also in 2008, a selected number of leaf samples (see Table 2) was prepared for each understory species to measure their specific leaf area (SLA, in m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). First, portions of leaves were cut out. Then, the area of the samples was measured using a planimeter, except for *M. caerulea* (whose area was measured with a digital caliper). Finally, the samples were dried to constant weight in an oven and then weighed.

## 2.6. Leaf area index and root area index

For each understory species, we calculated the LAI by multiplying values of SLA measured in the Landes de Gascogne forest (Table 2), using the mean of the biomass in one-square metre plots ( $n = 6$ ) computed for each pine stand (in five stands per species). We also calculated the leaf area index for pine trees (see Eq. (2) above), and compared the relative contributions of the understory and the overstory to the total LAI of the ecosystem. Total amounts of fine root biomass for pine and for each of the five understory species (values expressed in g m<sup>-2</sup> for soil profiles dug to a depth of 120 cm) were multiplied by average SRA values (Table 2) to compute a root area index (RAI, m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup>). Again, this was done for the six one square metre plots investigated in each pine stand (five stands per understory species). For each *M. caerulea* plot the sum of fine root biomass was calculated using the weighted contributions of each cover category, i.e. tussocks, between tussocks and border zones.

## 2.7. Data analysis and allometry modelling

We used linear regressions to examine the relationships between the aboveground and belowground biomass (coarse and fine roots) in the five target understory species, and between the root:shoot ratio (with root value = coarse + fine roots) and the age of the woody understory species (*C. vulgaris*, *E. cinerea* and *C. scoparius*). The root:shoot ratio was calculated at the scale of the one square metre plots. Thus, we used the mean age of the five individuals sampled in each square metre plot to perform our linear regression with root:shoot.

We also searched for linear, power and polynomial models for the five target species to predict above and belowground biomass from height and cover measured on understory species using the 'phytovolume index' (Porté et al., 2009).

The phytovolume index was calculated according to the following formula:

$$\text{Phytovolume} = (\text{Cover}/100) \times (10,000 \times H_{\text{average}}) \quad (9)$$

where  $H_{\text{average}}$  is the mean of height in the plot in metres, Cover is the mean cover of the species in the plot expressed as a percentage and Phytovolume is expressed in m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>.

These models were developed using the mean value of the six square metres harvested in each stand. The forms of the model examined were:

$$\text{Aboveground biomass} = a \times \text{Phytovolume} + b \quad (10)$$

**Table 2**

Mean specific leaf area (in m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) and mean specific root area (in m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) of the five understory species measured in the Landes de Gascogne, with the number of samples used to get each value given in the second and fourth column.

| Species             | Specific leaf area               | <i>n</i> | Specific root area | <i>n</i> |
|---------------------|----------------------------------|----------|--------------------|----------|
| <i>M. caerulea</i>  | 0.02412                          | 36       | 0.0263             | 12       |
| <i>P. aquilinum</i> | 0.01102                          | 20       | 0.0261             | 12       |
| <i>C. vulgaris</i>  | 0.01776                          | 7        | 0.0436             | 12       |
| <i>E. cinerea</i>   | 0.00913                          | 7        | 0.0396             | 12       |
| <i>C. scoparius</i> | 0.0080 (leaf) and 0.00017 (stem) | 5        | 0.0859             | 12       |

$$\text{Aboveground biomass} = a \times \text{Phytovolume}^b \tag{11}$$

$$\begin{aligned} \text{Aboveground biomass} = & a \times \text{Phytovolume}^2 + b \\ & \times \text{Phytovolume} + c \end{aligned} \tag{12}$$

The same kinds of models were developed for fine root and coarse root biomass for all five target understory species.

For *C. scoparius* we also tried to find a model to estimate the biomass in each stand from the height and the diameter (measured 10 cm from the ground) measured on each individual found in the plot, and then by summing all the individual biomass measured in the plot. Again, the mean value of biomass per stand was then used to build the model. We also tested linear, power and polynomial models. Only plants which have the base of their shoot inside the sampled square meter were harvested. Two plots with plants whose crowns were outside the square meter surveyed (due to strongly leaning stems) were not included in the biomass–phytovolume relationships.

For *C. vulgaris*, *E. cinerea* and *C. scoparius*, we also investigated if the phytovolume was correlated with the mean age of the understory species per plot. We performed the same analysis using the mean value of six plots per stand.

The goodness of fit of these three kinds of models (linear, power and polynomial), tested to predict aboveground and belowground biomass from phytovolume index, was compared based on modelling efficiency (ME), calculated as follows:

$$ME = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \tag{13}$$

where  $y_i$  is the observed value  $i$ ,  $\hat{y}_i$  is the predicted value  $i$ , and  $\bar{y}$  is the mean of observed values. A value of ME near one indicate a good fit of the model while a value near zero indicate no good fit between observed and predicted values.

We also calculated the relative contribution of each understory species to aboveground and belowground biomass to total ecosystem biomass corresponding to the pine biomass plus each target understory biomass.

All the statistical analyses were performed in SYSTAT® v9.0 (SYSTAT, 1999).

### 3. Results

#### 3.1. Relationships between aboveground and belowground biomass of understory species

Contrasting relationships between aboveground biomass and fine root biomass were found in the five dominant understory species (Fig. 1). In the two herbaceous species (*M. caerulea* and *P. aquilinum*), aboveground biomass was significantly linearly correlated with fine root biomass In the two ericaceous woody species, no significant relationship was found between the two biomasses (Table 3). In the third woody species (*C. scoparius*), there was a significant correlation between the two biomasses. Different relationships between the aboveground biomass and the coarse root biomass were observed in the four understory species (*M. caerulea* was excluded as it has no coarse roots). The coarse root biomass was positively correlated with the aboveground biomass in *C. vulgaris*, *C. scoparius* and *P. aquilinum*. No significant relationship was found between the coarse root and aboveground biomass in *E. cinerea*.

##### 3.1.1. Root:shoot ratios

Average root:shoot ratios were 0.59 (±SD = 0.37) for *C. scoparius*, 3.15 (±SD = 1.72) for *E. cinerea*, 3.25 (±SD = 3.26) for *C. vulgaris*, 8.36 (±SD = 5.53) for *P. aquilinum* and 9.49 (±SD = 4.31) for *M. caerulea*.

When we investigated the relationship between the three woody understory species (*C. vulgaris*, *E. cinerea* and *C. scoparius*) and

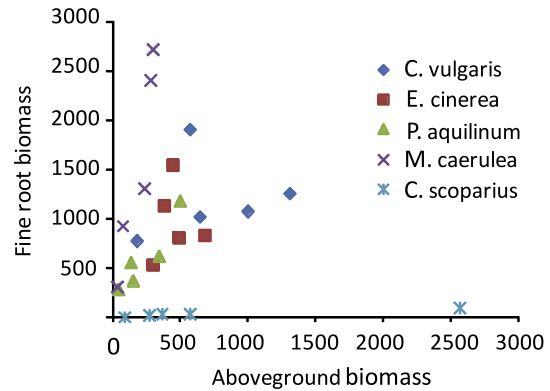


**Fig. 1.** Relationships between aboveground and fine root biomass (in g m<sup>−2</sup>) for the four dominant understory species.

**Table 3**

Relationships between root biomass (split in fine (FRB) and coarse (CRB) root biomasses) and aboveground biomass ( $W$ ). Parameters of the model are given, as well as  $R^2$  and  $p$ -value.

| Species             | Model                                   | $R^2$  | $p$ -Value |
|---------------------|-----------------------------------------|--------|------------|
| <i>M. caerulea</i>  | FRB = $130.43 + 7.715 \times W$         | 0.821  | 0.022      |
| <i>P. aquilinum</i> | FRB = $197.98 + 1.78 \times W$          | 0.862  | 0.023      |
|                     | CRB = $32.294 + 3.33 \times W$          | 0.909  | 0.012      |
| <i>C. vulgaris</i>  | FRB = $1078.4 + 0.1833 \times W$        | 0.0341 | 0.766      |
|                     | CRB = $96.606 + 0.2282 \times W$        | 0.8214 | 0.034      |
| <i>E. cinerea</i>   | FRB = $894 + 0.1815 \times W$           | 0.0045 | 0.915      |
|                     | CRB = $111.49 + 0.3768 \times W$        | 0.3016 | 0.338      |
| <i>C. scoparius</i> | FRB = $17.675 + 0.0331 \times W$        | 0.9498 | 0.005      |
|                     | CRB = $0.512 \times W - 29.36 \times W$ | 0.9933 | 0.0001     |

age, we found that the mean root:shoot ratio in *C. vulgaris* decreased significantly with the age of the individual ( $r^2 = 0.82$ ,  $P = 0.021$ ), whereas no significant relationship was found between the root:shoot ratio and age in *E. cinerea* ( $r^2 = 0.02$ ,  $P = 0.206$ ), or *C. scoparius* ( $r^2 = 0.00$ ,  $P = 0.980$ ).

#### 3.2. Allometric relationships between phytovolume indices and above and belowground biomass

The phytovolume index showed good power relationships with measured aboveground biomass in the five species tested (with (*M. caerulea*, *C. vulgaris*, *C. scoparius*)  $\geq$  *P. aquilinum* > *E. cinerea*, see ME in Table 4 and Fig. 2). Significant relationships were also found between the phytovolume index and belowground biomass in *M. caerulea* (fine roots), *P. aquilinum* (coarse roots) and *C. scoparius* (both fine and coarse roots), whereas no relationship was found in the two ericaceous species, *C. vulgaris* and *E. cinerea*.

The phytovolume of the ericaceous woody species was positively correlated with the mean age of the individuals when each plot within a stand was considered separately ( $r^2 = 0.48$  ( $P < 0.001$ ) and  $r^2 = 0.65$  ( $P < 0.001$ ) for *E. cinerea* and *C. vulgaris*, respectively). These relationships were no longer significant when mean values per stand were used ( $r^2 = 0.19$  ( $P = 0.260$ ) and  $r^2 = 0.46$  ( $P = 0.127$ ) for *E. cinerea* and *C. vulgaris*, respectively).

For *C. scoparius* we found a significant relationship between basal area or diameter measured 10 cm above the ground or basal area combined with height, and aerial biomass, and also for belowground biomass (Table 4).

#### 3.3. Contribution of the understory biomass to the total biomass of the ecosystem

The aboveground biomass of the five understory species ranged from 183 g m<sup>−2</sup> (average for *M. caerulea*) to 771 g m<sup>−2</sup> (average for

**Table 4**

Relationships, for the five understory species, between phytovolume index, and for *C. scoparius* between diameter measured at 10 cm (D10) and basal area (BA), and aboveground or belowground biomasses (destructive harvest) which were split into coarse and fine root biomass by fitting of a power model:  $Y = aX^b$  (where  $Y$  is the biovolume index and  $X$  is the biomass; ME = modelling efficiency).

| Species                    | Method estimating biomass | <i>a</i> | <i>b</i>   | ME   |
|----------------------------|---------------------------|----------|------------|------|
| <b>Aboveground biomass</b> |                           |          |            |      |
| <i>M. caerulea</i>         | Phytovolume               | 0.11     | 0.90***    | 0.99 |
| <i>P. aquilinum</i>        | Phytovolume               | 0.04     | 0.95*      | 0.90 |
| <i>C. vulgaris</i>         | Phytovolume               | 0.09     | 1.06**     | 0.97 |
| <i>E. cinerea</i>          | Phytovolume               | 2.28     | 0.67*      | 0.74 |
| <i>C. scoparius</i>        | Phytovolume               | 0.19     | 1.13**     | 0.98 |
|                            | Individual (D10)          | 0.05**   | 2.64***    | 0.99 |
|                            | Individual (BA)           | 0.07**   | 1.32***    | 0.99 |
| <b>Fine root biomass</b>   |                           |          |            |      |
| <i>M. caerulea</i>         | Phytovolume               | 1.17     | 0.87*      | 0.86 |
| <i>P. aquilinum</i>        | Phytovolume               | 12.1     | 0.44       | 0.55 |
| <i>C. vulgaris</i>         | Phytovolume               | 239.97   | 0.19       | 0.17 |
| <i>E. cinerea</i>          | Phytovolume               | 0.08     | 0.020.0005 |      |
| <i>C. scoparius</i>        | Phytovolume               | 0.10     | 0.59*      | 0.95 |
|                            | Individual (D10)          | 2.49     | 0.81**     | 0.26 |
|                            | Individual (BA)           | 2.63     | 0.41**     | 0.26 |
| <b>Coarse root biomass</b> |                           |          |            |      |
| <i>P. aquilinum</i>        | Phytovolume               | 0.25     | 0.90*      | 0.92 |
| <i>C. vulgaris</i>         | Phytovolume               | 2.25     | 0.57       | 0.69 |
| <i>E. cinerea</i>          | Phytovolume               | 10.88    | 0.42       | 0.26 |
| <i>C. scoparius</i>        | Phytovolume               | 0.01     | 1.39*      | 0.96 |
|                            | Individual (D10)          | 0.01     | 2.91***    | 0.96 |
|                            | Individual (BA)           | 0.02     | 1.46***    | 0.96 |

°  $p < 0.05$ .\*  $p < 0.01$ .\*\*  $p < 0.001$ .\*\*\*  $p < 0.0001$ .

*C. scoparius*) ranked in increasing order: *M. caerulea* < *P. aquilinum* < *E. cinerea* < *C. vulgaris* and *C. scoparius* (Table 5). This rank changed when the belowground part of understory species was considered. The fine root biomass of the five understory species ranged from 43 g m<sup>-2</sup> to 1541 g m<sup>-2</sup> ranked in increasing order: *C. scoparius* < *P. aquilinum* < *E. cinerea* < *C. vulgaris* < *M. caerulea*, while the coarse root biomass ranged from 265 g m<sup>-2</sup> to 802 g m<sup>-2</sup> ranked in increasing order: *C. vulgaris*, *E. scoparia* < *C. scoparius* < *P. aquilinum*.

Dominant understory species represented an average of 6.8% (range 0.2–54.3%) of total ecosystem aboveground biomass in the ecosystem and 27.4% (0.6–57.7%) of total ecosystem root biomass in the ecosystem, with an average of 54.4% of fine root biomass (2.4–78.9%). The percentage of aboveground biomass in the total ecosystem biomass varied significantly depending on the dominant understory species, but not the percentage of belowground biomass (Fig. 3).

The maximum contribution of fine root biomass (78.9%) was by a *C. vulgaris* understory in a young pine plantation (pines aged 15 years). Although there was a tendency to a negative relationship

**Table 5**

Mean aboveground and belowground biomasses of pine and each dominant understory species (mean ± standard error; g/m<sup>2</sup>).

| Biomass | Species             | <i>P. pinaster</i> (n = 24) | <i>M. caerulea</i> (n = 5) | <i>P. aquilinum</i> (n = 5) | <i>C. vulgaris</i> (n = 5) | <i>E. cinerea</i> (n = 5) | <i>C. scoparius</i> (n = 5) |
|---------|---------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Above   | Foliage             | 503 ± 63                    | 183 ± 25                   | 162 ± 24                    | 27 ± 2 <sup>a</sup>        | 16 ± 1 <sup>a</sup>       | 292 ± 89                    |
|         | Branches            | 962 ± 153                   |                            |                             |                            |                           |                             |
|         | Stems               | 5440 ± 1051                 |                            | 69 ± 11                     | 712 ± 87 <sup>a</sup>      | 441 ± 32 <sup>a</sup>     | 479 ± 182                   |
|         | Total               | 6866 ± 1105                 | 183                        | 231                         | 739                        | 457                       | 771                         |
| Below   | Coarse <sup>b</sup> | 1974 ± 338                  |                            | 802 ± 115                   | 265 ± 37                   | 284 ± 31                  | 366 ± 140                   |
|         | Fine                | 499 ± 41                    | 1541 ± 201                 | 609 ± 80                    | 1214 ± 152                 | 977 ± 85                  | 43 ± 9                      |
|         | Total               | 3151                        | 1541                       | 1411                        | 1479                       | 1261                      | 409                         |
| Total   |                     | 12,456                      | 1724                       | 1642                        | 2218                       | 1718                      | 1180                        |

<sup>a</sup> For *E. cinerea* and *C. vulgaris*, foliage = annual growth; and stems = old-growth.

<sup>b</sup> Coarse roots (*P. pinaster*, *E. cinerea*, *C. vulgaris*) and rhizomes (for *P. aquilinum*).

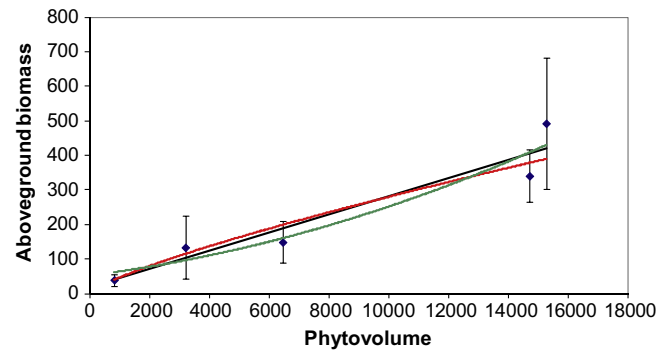
**P. aquilinum**

**Fig. 2.** Relationship between phytovolume index and aboveground biomass, with linear (black line), power (red line) and polynomial (blue line) adjustments tested. Each point is the mean value of six plots per stand; standard error is also given for aboveground biomass. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

between the relative contributions of the understory to the total biomass of the ecosystem with an increase in the age of the pines, the correlation was not significant for either the aboveground or belowground compartment of the understory. No significant correlation with the percentage of solar radiation transmitted by the pine canopy was found for any of the understory species considered used in this study.

### 3.4. Potential contribution of the understory species to ecosystem functioning

The mean LAI of understory species ranged from 0.7 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> for *C. scoparius*, to 4.2 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> for *M. caerulea* (Table 6). On average (all the understory species taken together), the understory species represented 35% of the total LAI of the pine forest. Understory species represented up to 81% (for a *P. aquilinum* understory) of the LAI in the ecosystem of a pine stand with a high percentage of diffuse photosynthetic active radiation (70% PAR).

The contribution of the understory compartment to ecosystem functioning was even higher for the belowground part of the forest ecosystem with mean RAI ranging from 4.4 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> (for *C. scoparius*) to 70.6 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> (for *M. caerulea*) (Table 6). Understory species represented an average of 69.5% of the RAI of the pine forest.

## 4. Discussion

The present study showed that the contribution of the belowground compartment of understory species to total forest ecosystem biomass is particularly high, mainly due to fine root biomass. In temperate forests, it has been shown that the under-



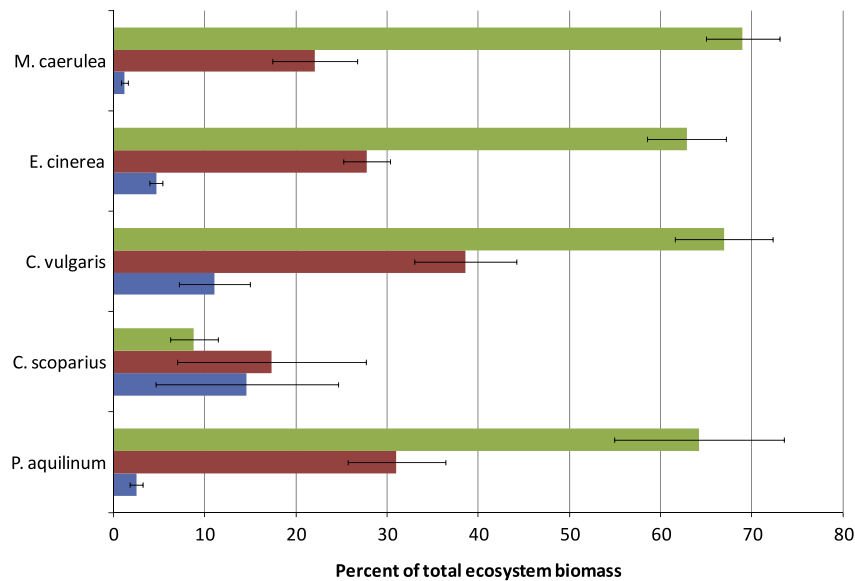


**Fig. 3.** Percentage of total ecosystem biomass for the aerial (blue bars) and the belowground part (total roots: red bars; fine roots: green bars) represented by the dominant understory species. Belowground biomass corresponds to the sum of coarse and fine roots biomasses except data for *M. caerulea* where it corresponds only to fine roots biomass.

**Table 6**

Mean leaf area index (in  $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$ ) (standard error, and min and max values) and root area index (with only fine roots considered) of each dominant understory species ( $n = 5$ ).

| Species             | LAI                      | RAI                         |
|---------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <i>P. pinaster</i>  | $1.4 \pm 0.09$ (0.6–2.6) | $7.7 \pm 2.2$ (2.9–15.2)    |
| <i>M. caerulea</i>  | $4.2 \pm 1.2$ (0.7–6.7)  | $40.6 \pm 13$ (8.3–72)      |
| <i>P. aquilinum</i> | $2.6 \pm 0.9$ (0.4–5.4)  | $15.9 \pm 5.1$ (7.6–31)     |
| <i>C. vulgaris</i>  | $3.9 \pm 0.5$ (0.9–6.9)  | $52.9 \pm 16.2$ (34.1–83.6) |
| <i>E. cinerea</i>   | $1.3 \pm 0.2$ (0.8–1.9)  | $38.7 \pm 8.3$ (21.1–61.7)  |
| <i>C. scoparius</i> | $0.7 \pm 0.3$ (0.2–1.6)  | $3.7 \pm 1.9$ (0.7–16.4)    |

story can represent an average of 20% of total fine root biomass (Finér et al., 2011). In a previous work in the *Landes de Gascogne*, Bakker et al. (2006) showed that *Pinus pinaster* comprised only 27–34% of total fine root biomass, suggesting that understory species contributed significantly to the fine root biomass of the whole ecosystem. The biomass values we obtained for understory species are more or less in the range as those reported in the literature for undergrowth production (e.g. aboveground biomass ranging from 40 to 230  $\text{g m}^{-2}$  in a wide range of forest types in the Smoky Mountains (Whittaker, 1966) and from 44 to 399  $\text{g m}^{-2}$  in Mountain Hemlock (Yarie, 1980). In this study, the aboveground biomass found for the understory species *C. vulgaris*, and *P. aquilinum* (ranging from 30 to 847  $\text{g m}^{-2}$ ) are in good agreement with values (ranging from 15 to 892  $\text{g m}^{-2}$ ) reported in the literature for these two species (Pearsall and Gorham, 1956; Paterson et al., 1997; Le Duc et al., 2000). Thus, with the proposed allometric relationships presented here, we are able to predict the aboveground and belowground biomass for *Molinia* and *Pteridium* for a wide range of values. Field data are very rare for *M. caerulea* biomass (and the corresponding root:shoot ratio). Comparison with the results obtained by Aerts (1990) showed that for root biomass, we covered a wider range of values (from 56 to 3316  $\text{g m}^{-2}$  in our study and from 1080 to 1380  $\text{g m}^{-2}$  in Aerts study) whereas concerning the corresponding aboveground biomass we were far below the range found by Aerts: from 9 to 550  $\text{g m}^{-2}$  (in our study) and from 670 to 980  $\text{g m}^{-2}$  (in Aerts, 1990). These discrepancies are probably linked to the type of ecosystems investigated in Aerts' study (heathlands

without trees), and our study which was conducted in a forest with frequent disturbances of understory species. In the same ecosystem, Bakker et al. (2006), found a mean value of 933  $\text{g m}^{-2}$  of fine root biomass for *M. caerulea*, i.e. a value found in our range. The root biomass of *P. aquilinum*, with a mean value of 803  $\text{g m}^{-2}$  for total rhizome dry weight, was below the average value reported in the literature (about 1978  $\text{g m}^{-2}$  with highest values reaching 5460 and 10,626  $\text{g m}^{-2}$ ) (Paterson et al., 1997; Le Duc et al., 2003). This may be due to the wide range of values explored in our study including low biomass values (from 154  $\text{g m}^{-2}$  to 1642  $\text{g m}^{-2}$ ). For *C. vulgaris*, root biomass values cited in the literature ranged from 220 to 8800  $\text{g m}^{-2}$  depending on the volume of soil sampled, the nature of the roots (fine, coarse, or all), the sampling time, and the contribution of *C. vulgaris* to the total biomass of the ecosystem (Chapman, 1970; Berendse, 1990; Aerts et al., 1991).

Overall, comparing the values we found for belowground biomass (for example) with other data from conifer stands under a temperate climate (Finér et al., 2011), we can conclude that in our stands, understory species contributed disproportionately to forest biomass. This could be partly explained by the age of the stands: relatively young stands (our mean stand age was 30 years) are overrepresented in our study, which could lead to a bias towards higher understory biomass, but it could also be principally explained by the low LAI of *P. pinaster* compared to other tree species. However, this also suggests that the understory compartment plays a crucial role in the early stages of stand development.

Our mean root:shoot ratio (3.25) for *C. vulgaris*, is consistent with the 3.18 found for a *C. vulgaris* heathland in England (Chapman et al., 1975), and this ratio apparently depends on the age of the *C. vulgaris* understory. The root:shoot values we found for *P. aquilinum* were also in the same range as data reported in the literature (Paterson et al., 1997). For *C. scoparius* we found a mean root:shoot ratio of 0.50, which is consistent with values observed in young broom by Peterson and Prasad (1998) with allocation of 50% of weight gain to roots when the broom was growing under full light. However, for *M. caerulea*, we found a very high mean root:shoot ratio (9.49) compared with the 2.89 found by Aerts (1989). We hypothesize that this difference is due both to lower aboveground biomass in our study (183  $\text{g m}^{-2}$ ) compared with

the value found by Aerts et al. (1991) ( $296 \text{ g m}^{-2}$  probably due to the lack of disturbance in their study, and to a lower value for belowground biomass ( $856 \text{ g m}^{-2}$  in Aerts' study).

As mentioned by other authors in the case of trees (Finér et al., 2007), the relationships between above and belowground biomass (particularly fine root biomass), depends on the understory species concerned. This confirms the importance of developing species-specific allometric relationships for the precise estimation of nutrient or carbon budgets at the ecosystem scale (Moore et al., 2007; Porté et al., 2009; Schmidt et al., 2009). In particular, our study indicates that the age of the individuals is an important parameter in woody understory species, and needs to be taken into account when estimating carbon budgets (Li and Xiao, 2007). Generally, the age of the woody species is assessed using the aboveground part of the plants, but for clonal species there may be discrepancies between the age of the shoots and the age of the main root. This is mostly true in disturbed habitats like our industrial pine plantations, where management activities can disrupt the forest understory compartment, and where woody species are often more affected than perennial herbs (Gonzalez-Alday et al., 2009). Erica species have been shown to be more responsive to disturbances (Gallet et al., 2004). This calls for detailed information about human interventions and the history of stand disturbances in addition to information on canopy structure, as suggested by Suchar and Crookston (2010). However, in our study we found no relationship between understory biomass and variables that describe the overstory (age, density, etc.).

Nonetheless, satisfactory relationships were found between the phytovolume index and above and belowground biomass in *M. caerulea* and *P. aquilinum*. This is an interesting result as few recent works reported such a relationship between easily measurable parameters (cover and mean height) and data that is difficult to access like root biomass and root area index (but see Li and Xiao, 2007), particularly when several different understory species are concerned, as was the case in the present study. Past studies have mainly focused on trees and found poor relationships between basal area and fine root biomass, at the stand scale, with  $r^2$  values ranging from 0.10 to 0.28 (Chen et al., 2004). More complex multi-variable non-linear models gave satisfactory results for understory tree saplings (Cheng, 2007). Concerning understory species, allometric relationships have mainly been developed for aboveground biomass using a combination of cover and mean shoot length (Heinrichs et al., 2010; Pearce et al., 2010), which was also the case in our study. The relationships with belowground biomass are especially important for estimating carbon budgets at the stand scale (Peichl and Arain, 2007; Schmidt et al., 2009), as in forest biomass, the carbon in the belowground compartment is about double that in the aboveground part of the biomass (Dixon et al., 1994). One interesting result of our study is that such relationships are a function of the architecture of both the above and belowground parts of the dominant plant species in the understory, with a better statistical fit between phytovolume and biomass for ferns and herbaceous species than for woody species, with the exception of *C. scoparius*. For woody understory species like *C. scoparius*, which have clearly distinguishable individuals, we showed that aboveground and belowground biomass can be predicted more accurately using an individual approach (i.e. using the sum of biomasses estimates obtained for each individual in the plot) than using the phytovolume index (as previously suggested by Porté et al., 2009). The best model combining height and basal diameter (with a power model) found in our study for *C. scoparius* is in line with previous models developed for predicting both above and belowground biomass in saplings (Schmidt et al., 2009). But given the small gain in prediction compared with the phytovolume index, we suggest that forest managers should use the phytovolume approach, for the managers, as the variables are easier to measure.

The functional contribution of the understory compartment is crucial in pine forests with a high level of light transmittance through the tree overstory, because it represents a large surface area for the exchange of gasses and light (above the ground), and water and nutrients (below the ground). Concerning *M. caerulea*, even if its contribution to total forest aboveground biomass is not as high, this may be compensated for by a high SLA (Aerts et al., 1991), implying that this species makes an important functional contribution to the forest ecosystem, for example to water transpiration, through an increase in the LAI in relation to increasing light availability in old pine stands (Delzon and Loustau, 2005).

#### 4.1. Practical implications

The evaluation of understory biomass in the Pine forest through our study indicates that understory vegetation can potentially be an effective competitor with trees particularly for nutrients and water, given the high biomass values found for fine root biomass. This confirms and extends the results of previous works in this Pine forest (Achat et al., 2008; Bakker et al., 2006) for a higher number of forest stands and for a wider number of understory species.

Managers have thus to deal with this non-negligible forest stand compartment and to adjust the biomass of these competitors to the environmental conditions which could exert nutritional stresses on pine trees. Managers could think about working on tree density to reduce light reaching the forest floor in order to indirectly control understory growth. However, as it has been previously shown experimentally by Gaudio et al. (2011) for three species out of the five studied here (i.e. *C. vulgaris*, *M. caerulea* and *P. aquilinum*), it is not possible to control the growth of these species when light values are above 20% of full sunlight. The problem is that light level values found in the studied forest are on the majority above 30% of full sunlight (Berbigier and Bonnefond, 1995; in our study >40%). Managers are thus constrained to have a direct control of this compartment, probably through a mechanical control, as less and less herbicides are now used and allowed in forestry. This control has to be done at the critical phases of pine plantation and under environmental hard conditions.

Understory layer may also be considered as a beneficial compartment by foresters as it can favour carbon sequestration in soil, both through the return as organic matter both by aboveground biomass decay and through fine root turnover. Managers could use the proposed allometric relationships for *M. caerulea*, *P. aquilinum* and *C. scoparius* to establish carbon budgets in their forest including the contribution of understory. They will only have to measure in their stand the simple variables, mean height and cover of the understory, in order to estimate the aboveground and belowground biomasses of the understory. Furthermore, such approaches can be completed by analyzing the mineral contents in the understory when nutrient budgets – in particular in nutrient poor sites – are a serious problem for forest management.

#### 5. Conclusion

In the relatively open pine forests in our study area, understory species contribute significantly to carbon sequestration and nutrient cycling as they represent a high proportion of aboveground stocks in forest ecosystems (biomass; 6.8%) and their belowground parts represent an even higher proportion (27.4%; objective 1). With the simple biometrical approach described here, we achieved our second objective of predicting both aboveground and belowground understory biomass. Although, for some species, more information concerning disturbances linked to forestry activity will be needed to better predict their biomass.

## Acknowledgments

The authors would like to thank Céline Gire, Stéphane Thunot (technical personal from TCEM team) and Luc Puzos, Guillaume Daugey and Jean-Luc Denou (from INRA, UE0570 UEH, F-33612, Cestas, France) for their technical help in the field, Daphne Good-fellow for revising the English, and two anonymous reviewers who helped to improve the manuscript. They are also indebted to Etienne Saur, Céline Meredieu and Annabel Porté for stimulating this work through discussions on allometric relationship in pine forests. This work has received a financial support from the Regional council of Aquitaine through the program ("Multifonctionnalité des feuillus dans la forêt landaise"), from Bordeaux Sciences Agro and from the Tranzfor program for the stay of J. Xue.

## References

- Achat, D.L., Bakker, M.R., Trichet, P., 2008. Rooting patterns and fine root biomass of *Pinus pinaster* assessed by trench wall and core methods. *J. For. Res.* 13, 165–175.
- Achat, D.L., Bakker, M.R., Augusto, L., Saur, E., Dousseron, L., Morel, C., 2009. Evaluation of the phosphorus status of P-deficient podzols in temperate pine stands: combining isotopic dilution and extraction methods. *Biogeochemistry* 92, 183–200.
- Aerts, R., 1989. Aboveground biomass and nutrient dynamics of *Calluna vulgaris* and *Molinia caerulea* in a dry heathland. *Oikos* 56, 31–38.
- Aerts, R., 1990. Nutrient use efficiency in evergreen and deciduous species from heathlands. *Oecologia* 84, 391–397.
- Aerts, R., Boot, R.G.A., van der Aart, P.J.M., 1991. The relation between above- and belowground biomass allocation patterns and competitive ability. *Oecologia* 87, 551–559.
- Albaugh, T.J., Allen, H.L., Dougherty, P.M., Kress, L.W., King, J.S., 1998. Leaf area and above- and below-ground growth responses of loblolly pine to nutrient and water additions. *For. Sci.* 44, 317–328.
- Ares, A., Neill, A.R., Puettmann, K.J., 2010. Understory abundance, species diversity and functional attribute response to thinning in coniferous stands. *For. Ecol. Manage.* 260, 1104–1113.
- Augusto, L., Bakker, M.R., Morel, C., Meredieu, C., Trichet, P., Badeau, V., Arrouays, D., Plassard, C., Achat, D.L., Gallet-Budynek, A., Merzeau, D., Canteloup, D., Najjar, M., Ranger, J., 2010. Is 'grey literature' a reliable source of data to characterize soils at the scale of a region? A case study in a maritime pine forest in southwestern France. *Eur. J. Soil Sci.* 61, 807–822.
- Bakker, M.R., Augusto, L., Achat, D.L., 2006. Fine root distribution of trees and understory in mature stands of maritime pine (*Pinus pinaster*) on dry and humid sites. *Plant Soil* 286, 37–51.
- Bannister, P., 1965. Biological flora of the British isles: *Erica cinerea* L. *J. Ecol.* 53, 527–542.
- Baskerville, G.L., 1972. Use of logarithmic regression in the estimation of plant biomass. *Can. J. For. Res.* 2, 49–53.
- Berbigier, P., Bonnefond, J.M., 1995. Measurement and modelling of radiation transmission within a stand of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Ann. For. Sci.* 52, 23–42.
- Berendse, F., 1990. Organic matter accumulation and nitrogen mineralization during secondary succession in heathland ecosystems. *J. Ecol.* 78, 413–427.
- Bert, D., Danjon, F., 2006. Carbon concentration variations in the roots, stem and crown of mature *Pinus pinaster* (Ait.). *For. Ecol. Manage.* 222, 279–295.
- Brunner, I., Godbold, D.L., 2007. Tree roots in a changing world. *J. For. Res.* 12, 78–82.
- Chapman, S.B., 1970. The nutrient content of the soil and root system of a dry heath ecosystem. *J. Ecol.* 58, 445–452.
- Chapman, S.B., Hibble, J., Rafarel, C.R., 1975. Net aerial production by *Calluna vulgaris* on lowland heath in Britain. *J. Ecol.* 63, 233–258.
- Chen, W., Zhang, Q., Cihlar, J., Bauhus, J., Price, D.T., 2004. Estimating fine-root biomass and production of boreal and cool temperate forests using aboveground measurements: A new approach. *Plant Soil* 265, 31–46.
- Cheng, S., 2007. Lorentzian model of roots for understory yellow birch and sugar maple saplings. *J. Theor. Biol.* 246, 309–322.
- Delzon, S., Loustau, D., 2005. Age-related decline in stand water use: sap flow and transpiration in a pine forest chronosequence. *Agric. For. Meteorol.* 129, 105–119.
- Dickie, I.A., Yeates, G.W., St. John, M.G., Stevenson, B.A., Scott, J.T., Rillig, M.C., Peltzer, D.A., Orwin, K.H., Kirschbaum, M.U.F., Hunt, J.E., Burrows, L.E., Barbour, M.M., Aislabie, J., 2011. Ecosystem service and biodiversity trade-offs in two woody successions. *J. Appl. Ecol.* 48, 926–934.
- Dixon, R.K., Brown, S., Houghton, R.A., Solomon, A.M., Trexler, M.C., Wisniewski, J., 1994. Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science* 263, 185–190.
- Dupouey, J.-L., Pignard, G., Badeau, V., Thimonier, A., Dhote, J.-F., Nepveu, G., Berges, L., Augusto, L., Belkacem, S., Nys, C., 2000. Stocks et flux de carbone dans les forêts françaises. *Rev. For.* 52, 139–154.
- Finér, L., Helmsaari, H.S., Lohmus, K., Majdi, H., Brunner, I., Børja, I., Eldhuset, E., Godbold, D., et al., 2007. Variation in fine root biomass of three European tree species: Beech (*Fagus sylvatica* L.), Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant Biosyst.* 141, 394–405.
- Finér, L., Ohashi, M., Noguchi, K., Hirano, Y., 2011. Factors causing variation in fine root biomass in forest ecosystems. *For. Ecol. Manage.* 261, 265–277.
- Gallet, S., Lemauiel, S., Rozé, F., 2004. Responses of three heathland shrubs to single or repeated experimental trampling. *Environ. Manage.* 33, 821–829.
- Gaudio, N., Balandier, P., Dumas, Y., Ginisty, C., 2011. Growth and morphology of three forest understorey species (*Calluna vulgaris*, *Molinia caerulea* and *Pteridium aquilinum*) according to light availability. *For. Ecol. Manage.* 261, 489–498.
- Gilliam, F.S., 2007. The ecological significance of the herbaceous layer in temperate forest ecosystems. *Bioscience* 57, 845–858.
- Gimingham, C.H., 1960. Biological flora of the British Isles: *Calluna vulgaris* (L.) Hull. *J. Ecol.* 48, 455–483.
- Gonzalez-Adad, J., Martinez-Ruiz, C., Bravo, F., 2009. Evaluating different harvest intensities over understory plant diversity and pine seedlings in a *Pinus pinaster* Ait. natural stand of Spain. *Plant Ecol.* 201, 211–220.
- Grier, C.C., Vogt, K.A., Keyes, M.R., Edmonds, R.L., 1981. Biomass distribution and above-ground and below-ground production in young and mature abies-amabilis zone ecosystems of the Washington cascades. *Can. J. For. Res.* 11, 155–167.
- Heinrichs, S., Bernhardt-Roemermann, M., Schmidt, W., 2010. The estimation of aboveground biomass and nutrient pools of understory plants in closed Norway spruce forests and on clearcuts. *Eur. J. For. Res.* 129, 613–624.
- Helmsaari, H.S., Makkonen, K., Kellomaki, S., Valtanen, E., Malkonen, E., 2002. Below- and above-ground biomass, production and nitrogen use in Scots pine stands in eastern Finland. *For. Ecol. Manage.* 165, 317–326.
- Jagodzinski, A.M., Oleksyn, J., 2009. Ecological consequences of silviculture at variable stand densities. III. Stand stability, phytoclimate and biodiversity. *Sylvan* 153, 219–230.
- Jolivet, C., Augusto, L., Trichet, P., Arrouays, D., 2007. Les sols du massif forestier des Landes de Gascogne: formation, histoire, propriétés et variabilité spatiale. *Rev. For. Fr.* LIX-30.
- Le Duc, M.G., Pakeman, R.J., Putwain, P.D., Marrs, R.H., 2000. The variable responses of bracken fronds to control treatments in Great Britain. *Ann. Bot.* 85, 17–29.
- Le Duc, M.G., Pakeman, R.J., Marrs, R.H., 2003. Changes in the rhizome system of bracken subjected to long-term experimental treatment. *J. Appl. Ecol.* 40, 508–522.
- Li, C.P., Xiao, C.W., 2007. Above- and belowground biomass of *Artemisia ordosica* communities in three contrasting habitats of the Mu Us desert, northern China. *J. Arid. Environ.* 70, 195–207.
- McCarthy, N., Bentsen, N.S., Willoughby, I., Balandier, P., 2011. The state of forest vegetation management in Europe in the 21st century. *Eur. J. For. Res.* 130, 7–16.
- Marrs, R.H., Watt, A.S., 2006. Biological flora of the British Isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *J. Ecol.* 94, 1272–1321.
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Misson, L., Baldocchi, D.D., Black, T.A., Blanken, P.D., Brunet, Y., Curiel Yuste, J., Dorsey, J.R., Falk, M., Granier, A., Irvine, M.R., Jarosz, N., Lamaud, E., Launiainen, S., Law, B.E., Longdoz, B., Loustau, D., McKay, M., Paw, U.K.T., Vesala, T., Vickers, D., Wilson, K.B., Goldstein, A.H., 2007. Partitioning forest carbon fluxes with overstory and understory eddy-covariance measurements: a synthesis based on FLUXNET data. *Agric. For. Meteorol.* 144, 14–31.
- Mohamed, B.F., Gimingham, C.H., 1970. The morphology of vegetative regeneration in *Calluna vulgaris*. *New Phytol.* 69, 743–750.
- Moore, P.T., van Miegroet, H., Nicholas, N.S., 2007. Relative role of understory and overstory in carbon and nitrogen cycling in a southern Appalachian spruce-fir forest. *Can. J. For. Res.* 37, 2689–2700.
- Murphy, M., Laiho, R., Moore, T.R., 2009. Effects of water table drawdown on root production and aboveground biomass production in a boreal bog. *Ecosystems* 12, 1268–1282.
- Muukkonen, P., Makipaa, R., Laiho, R., Minkkinen, K., Vasander, H., Finér, L., 2006. Relationship between biomass and percentage cover in understory vegetation of boreal coniferous forests. *Silv. Fenn.* 40, 231–245.
- Parker, W.C., Pitt, D.G., Morneau, A.E., 2010. Influence of woody and herbaceous vegetation control on leaf gas exchange, water status, and nutrient relations of eastern white pine (*Pinus strobus* L.) seedlings planted in a central Ontario clearcut. *For. Ecol. Manage.* 260, 2012–2022.
- Paterson, S., Pakeman, R.J., Marrs, R.H., 1997. Evaluation of a bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) growth model in predicting the effects of control strategies across a range of climatic zones in Great Britain. *Ann. Appl. Biol.* 130, 305–318.
- Pearce, H.G., Anderson, W.R., Fogarty, L.G., Todoroki, C.L., Anderson, S.A.J., 2010. Linear mixed-effects models for estimating biomass and fuel loads in shrublands. *Can. J. For. Res.* 40, 2015–2026.
- Pearsall, W.H., Gorham, E., 1956. Production ecology. I. Standing crops of natural vegetation. *Oikos* 7, 193–201.
- Peichl, M., Arain, A.A., 2006. Above- and belowground ecosystem biomass and carbon pools in an age-sequence of temperate pine plantation forests. *Agr. For. Meteorol.* 140, 51–63.
- Peichl, M., Arain, A.A., 2007. Allometry and partitioning of above- and belowground tree biomass in an age-sequence of white pine forests. *For. Ecol. Manage.* 253, 68–80.
- Peterson, D.J., Prasad, R., 1998. The biology of Canadian weeds. 109. *Cytisus scoparius* (L.) Link. *Can. J. Plant Sci.* 78, 497–504.

- Porté, A., Bosc, A., Champion, I., Loustau, D., 2000. Estimating the foliage area of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Ann. For. Sci.* 57, 73–86.
- Porté, A.J., Samalens, J.C., Dulhoste, R., Teissier du Cros, R., Bosc, A., Meredieu, C., 2009. Using cover measurements to estimate aboveground understory biomass in Maritime pine stands. *Ann. For. Sci.* 66, 307–317.
- Poser, I., 1983. Essai d'évaluation de la biomasse de la Lande sèche à *Calluna vulgaris* (L.) Hull et *Erica cinerea* L. (Landes de Gascogne). Master report, University of Bordeaux I, pp. 93.
- Powell, T.L., Gholz, H.L., Clark, K.L., Starr, G., Cropper, W.P., Martin, T.A., 2008. Carbon exchange of mature, naturally regenerated pine forest in north Florida. *Glob. Chang. Biol.* 14, 2523–2538.
- Prévosto, B., Robert, A., Coquillard, P., 2004. Development of *Cytisus scoparius* L. at stand and individual level in a mid-elevation mountain of the French Massif Central. *For. Ecol. Manage.* 25, 73–81.
- Sabo, K.E., Sieg, C.H., Hart, S.C., Bailey, J.D., 2009. The role of disturbance severity and canopy closure on standing crop of understory plant species in ponderosa pine stands in northern Arizona, USA. *For. Ecol. Manage.* 257, 1656–1662.
- Schmidt, A., Poulain, M., Klein, D., Krause, K., Peña-Rojas, K., Schmidt, H., Schulte, A., 2009. Allometric above-belowground biomass equations for *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) natural regeneration in the Chilean Patagonia. *Ann. For. Sci.* 55, 1–8.
- Sebei, H., Albouchi, A., Rapp, M., El Aouni, M.H., 2001. Evaluation of the overstory and understory biomasses in a damaging sequence of *Cytisus* cork oak forest in Kroumirie (Tunisia). *Ann. For. Sci.* 58, 175–191.
- Severac, G., 1952. Observations sur l'écologie et le phytodynamisme des plantes de la Lande, de la forêt et des prairies dans les Landes de Gascogne. Rapport de stage. Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agronomiques Appliquées, 70.
- Shaiek, O., Loustau, D., Trichet, P., Meredieu, C., Bachtobji, B., Garchi, S., El Aouni, M.H., 2011. Generalized biomass equations for the main aboveground biomass components of maritime pine across contrasting environments. *Ann. For. Sci.* 68, 443–452.
- Shepashenko, D., Shvidenko, A., Nilsson, S., 1998. Phytomass (live biomass) and carbon of Siberian forests. *Biom. Bioen.* 14, 21–31.
- Suchar, V.A., Crookston, N.L., 2010. Understory cover and biomass indices predictions for forest ecosystems of the Northwestern United States. *Ecol. Ind.* 10, 602–609.
- Taylor, K., Rowland, A.P., Jones, H.E., 2001. *Molinia caerulea* (L.) Moench. *J. Ecol.* 89, 126–144.
- Ter Mikaelian, M., Korzukhin, M.D., 1997. Biomass equations for sixty-five North American tree species. *For. Ecol. Manage.* 97, 1–24.
- Trichet, P., Loustau, D., Lambrot, C., Linder, S., 2008. Manipulating nutrient and water availability in a maritime pine plantation: effects on growth, production, and biomass allocation at canopy closure. *Ann. For. Sci.* 65, 814.
- Trichet, P., Bakker, M.R., Augusto, L., Alazard, P., Merzeau, D., Saur, E., 2009. Fifty years of fertilization experiments on *Pinus pinaster* in southwest France. The importance of phosphorus as a fertilizer. *For. Sci.* 55, 390–402.
- Wagner, R.G., Little, K.M., Richardson, B., McNabb, K., 2006. The role of vegetation management for enhancing productivity of the world's forests. *Forestry* 79, 57–79.
- Whittaker, R.H., 1966. Forest dimensions and production in the great smoky mountains. *Ecology* 47, 103–121.
- Yarie, J., 1980. The role of understory vegetation in the nutrient cycle of forested ecosystems in the mountain hemlock biogeoclimatic zone. *Ecology* 61 (6), 1498–1514.
- Zerihun, A., Montagu, K.D., 2004. Belowground to aboveground biomass ratio and vertical root distribution responses of mature *Pinus radiata* stands to phosphorus fertilization at planting. *Can. J. For. Res.* 34, 1883–1894.
- Zianis, D., Muukkonen, P., Mäkipää, R., Mencuccini M., 2005. Biomass and stem volume equations for tree species in Europe. *Silva Fennica Monographs* 4, 63.



# Global assessment of limitation to symbiotic nitrogen fixation by phosphorus availability in terrestrial ecosystems using a meta-analysis approach

Laurent Augusto,<sup>1</sup> Florian Delerue,<sup>1,2</sup> Anne Gallet-Budynek,<sup>1</sup> and David L. Achat<sup>2</sup>

Received 20 June 2012; revised 21 May 2013; accepted 13 July 2013.

[1] Symbiotic nitrogen fixation (SNF) is the main natural source of nitrogen (N) in terrestrial ecosystems worldwide. Previous studies have shown that fixation of N by plants can be limited by the availability of phosphorus (P) in soils. We used global meta-analysis to investigate how P availability controls SNF. In experiments in which plants were grown in an artificial medium, severe P deficiencies in the nutritive solution ( $[\text{PO}_4] < 5\text{--}42\ \mu\text{M}$ ) depressed SNF flux through both a direct decrease in the plant fixation rate (i.e., decreased N fixed per unit of plant biomass) and an indirect effect (i.e., through plant biomass). In most experiments with plants grown in soils, SNF was proportional to plant biomass and was consequently only indirectly limited by P. Some cases using unfertilized and weathered soils (ultisols or oxisols), where plants were particularly P stressed, were an exception with both direct and indirect P limitations. Our global analysis of the P-SNF relationship indicated that P bioavailability commonly limited SNF flux. We conclude that the main driver of in situ P limitation is indirect via limitation of plant growth, except in certain cases where both indirect and direct constraints may play a role. These cases of severe P deficiency may be mainly found in weathered tropical soils of Africa and South America, probably in unfertilized croplands which are depleted in P due to repeated biomass harvests.

**Citation:** Augusto, L., F. Delerue, A. Gallet-Budynek, and D. L. Achat (2013), Global assessment of limitation to symbiotic nitrogen fixation by phosphorus availability in terrestrial ecosystems using a meta-analysis approach, *Global Biogeochem. Cycles*, 27, doi:10.1002/gbc.20069.

## 1. Introduction

[2] Nitrogen (N) is an essential element for all living organisms as it is a component of vital molecules such as proteins and nucleic acids [Marschner, 1995]. Because N is not present in the original Earth's crust, one major challenge for organisms is to access a sufficient supply of N [e.g., Hedin et al., 2009]. As a consequence, N limits the productivity of terrestrial ecosystems in large areas in the world [Elser et al., 2007; Vitousek and Howarth, 1991]. Nitrogen is not present in most soil parent materials, but  $\text{N}_2$  is the major component of the atmosphere. However, only a relatively small number of species of microorganisms have the ability to use atmospheric  $\text{N}_2$  for their own metabolism [Mylona et al., 1995]. These microorganisms use specific enzymes (i.e., nitrogenase) to break the triple chemical bond of atmospheric  $\text{N}_2$  and transform this molecule into bioavailable  $\text{NH}_3$

[Hartwig, 1998; Mylona et al., 1995; Reed et al., 2011; Vitousek et al., 2002]. When performed by free-living microorganisms, this reaction is called *asymbiotic  $\text{N}_2$  fixation* [Reed et al., 2011]. Due to the very high energetic cost of the reaction [Hartwig, 1998; Rastetter et al., 2001; Schulze, 2004; Vitousek et al., 2002], fluxes of asymbiotic  $\text{N}_2$  fixation are generally low [e.g., Barkmann and Schwintzer, 1998; Jurgensen et al., 1992; Son, 2001] (see Reed et al., [2011] for exceptions) because microorganisms first need to find enough energy (i.e., carbohydrates and phosphorus (P) for ATP) [Reed et al., 2011]. Evolution provided a much more efficient way to break down atmospheric  $\text{N}_2$  molecules by associating specialized microorganisms with plants in a symbiotic relationship. These microorganisms are located inside nodules on roots of vascular plants [Hartwig, 1998], or in the tissues of other plants like mosses [DeLuca et al., 2002], and supply available N in exchange for energy, phosphorus, and small quantities of other nutrients necessary for nitrogenase activity, like iron (Fe) or molybdenum (Mo) that is provided by the plants [Finzi and Rodgers, 2009; Hartwig, 1998; Vitousek et al., 2002]. *Symbiotic  $\text{N}_2$  fixation* (SNF) represents a flux of available N to terrestrial ecosystems that is of the same order of magnitude as fertilization in agriculture (i.e., about a hundred  $\text{Tg N yr}^{-1}$  depending on the method of estimation) [Galloway et al., 2004; Herridge et al., 2008]. SNF is a process of major importance at the global scale because the global carbon cycle is tightly coupled with the

Additional supporting information may be found in the online version of this article.

<sup>1</sup>INRA, UMR 1220 TCEM, CS 20032, Villenave d'Ornon, France.

<sup>2</sup>Bordeaux Sciences Agro, UMR 1220 TCEM, Gradignan, France.

Corresponding author: L. Augusto, INRA, UMR 1220 TCEM, 71 Ave. Edouard Bourlaux, BP81, FR-33883 Villenave d'Ornon, France. (laugusto@bordeaux.inra.fr)

©2013. American Geophysical Union. All Rights Reserved.  
0886-6236/13/10.1002/gbc.20069

N cycle [Finzi *et al.*, 2011b; Galloway *et al.*, 2004; Gruber and Galloway, 2008; Hungate *et al.*, 2003; Thornton *et al.*, 2007; van Groenigen *et al.*, 2006]. How SNF is limited (or not) is consequently a major question to be addressed in the context of global change.

[3] In aquatic ecosystems, SNF is probably limited, among other factors like temperature or sunlight, by the concentrations of P and Fe in the water [Dutkiewicz *et al.*, 2012; Hutchins *et al.*, 2009; Mills *et al.*, 2004; Sanudo-Wilhelmy *et al.*, 2001; Vitousek *et al.*, 2002]. In terrestrial ecosystems, soil content in Fe appears to be a much less limiting factor of SNF [Finzi and Rodgers, 2009; Vitousek *et al.*, 2002] than P availability which has long been recognized to be a limiting condition [e.g., Graham and Rosas, 1979]. Although the interactions between P and SNF have been identified as one of the few important research areas in N<sub>2</sub> fixation [Finzi *et al.*, 2011a; Graham and Vance, 2000], the way P controls SNF is still a source of controversy [e.g., Israel, 1987] and is not yet clear [Hartwig, 1998; Vitousek *et al.*, 2002]: Do plants respond to P by increasing their growth (with a constant specific fixation rate:  $N_{\text{fixed}} g_{\text{plant}}^{-1}$ ) and hence indirectly fix more N, or do they directly adjust the relative amount of N<sub>2</sub> fixation per unit biomass? Some experiments in laboratory conditions indicated that nutritive solutions highly deprived of P can have direct negative effects on plant fixation [Reddell *et al.*, 1997; Ribet and Drevon, 1996] mainly by disturbing nodulation or nodule functioning [O'Hara, 2001]. Conversely, some field experiments showed only indirect effects of P supply on SNF via plant growth [e.g., Robson *et al.*, 1981]. Considering the importance of SNF for most terrestrial ecosystems, our aim was to elucidate the dependence of the process on P availability.

[4] In practice, we studied the relative importance of direct and indirect effects of P supply on SNF by meta-analysis. To this end, we compiled published studies that measured the SNF of plants under different levels of P supply. Direct effects were assessed through the specific plant fixation rates. Following the hypothesis of McLaughlin *et al.* [1990], we assumed that direct effects of P availability on SNF would also be visible through altered N content of plants ( $\mu\text{g N } g_{\text{plant}}^{-1}$ ), because in this case plants would not be able to satisfy their requirement for N (through SNF or uptake of available N from the soil) and consequently N content would be low.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Compilation of Symbiotic Nitrogen Fixation Studies With Different Levels of P Supply

#### 2.1.1. Collection of Published Studies and Definition of a Case Study

[5] We used the ISI Web of Science database to locate *published studies* on the effect of P supply on SNF. Following the protocol of Pullin and Stewart [2006], we entered holistic nonspecific queries to cover a large proportion of the literature related to our subject. Most of the published studies were (1) “nutritive solution experiments,” i.e., plants grown in an artificial substrate in which the concentration of P (in phosphates [PO<sub>4</sub>] forms) in solution was maintained constant (unit used:  $\mu\text{M P}$ ), or (2) “soil experiments,” i.e., plants grown in soil (in pots or in the field) with an initial P supply (unit used:  $\mu\text{g P } g_{\text{soil}}^{-1}$ ). In all cases, at least two different levels of P supply were used in the experimental design of each study.

Obviously duplicate studies (i.e., studies by the same team of researchers and using a similar experimental design) were excluded (study with the largest data set was retained). Other experimental approaches (e.g., starvation experiments or experiments using both soils and constant P supply) were rare and were consequently not included in our meta-analysis.

[6] In the studies we retained, we selected treatments that enabled us to quantify the effect of P supply. In practice, when factors other than the level of P supply were tested (e.g., atmospheric CO<sub>2</sub> concentration or N supply), we chose the control and ignored the other factors; i.e., we selected the measurements made when only P supply varied. If there was no control treatment for factors other than P, we selected the minimum constant treatment related to these factors. The experimental designs of the selected studies are summarized in Table S1 (supporting information A).

[7] A crucial point when performing a meta-analysis is the way a *case study* is defined [Gurevitch and Hedges, 1999]. Indeed, the quantity of data varies considerably among studies, and assuming that each value is an independent case study leads to different statistical weights. However, the values reported in a study may be repeated measurements (e.g., several sampling dates or several similar sites) and consequently bias the meta-analysis. Here, one case study reporting results on the effects of P supply on SNF was considered as the unique combination of one team of researchers, one species, one growth medium (artificial substrate or one type of soil), and one sampling date. When several results corresponded to only one case study, we selected a single mean value to avoid pseudoreplications (additional details on the method are available in the supporting information A).

#### 2.1.2. Description of the Database

[8] The final database on SNF experiments contained data from 68 references (Table S1). Among them, 25 used an artificial growing medium and a nutritive solution and 43 used at least one type of soil (14 pot experiments; 29 field experiments).

[9] We identified 88 case studies to build the database. The compilation included results on 36 plant species grouped in three different types (annual plant species, nonwoody perennial plant species, and woody perennial plant species) from most biomes, climates (snowy to tropical), land uses (croplands, forests, grasslands, and savannas), and soil types (see below for a description of the soil classification). Case studies using nutritive solution ( $N=34$ ; [PO<sub>4</sub>]=0–3229  $\mu\text{M}$ ) or soil ( $N=54$ ; P dose=0–1852  $\mu\text{g P } g_{\text{soil}}^{-1}$ ) were both well represented. Soil experiments were well distributed worldwide (Figure S1).

[10] The database had the following responding variables, when available: plant biomass (aboveground, belowground, total biomass), nodules (number, specific biomass ( $\text{mg nodule}^{-1}$ ), biomass ( $\text{mg plant}^{-1}$ )), plant N or P content (foliage or aboveground, belowground, nodules), specific N<sub>2</sub> fixation rate of plants ( $N_{\text{fixed}} g_{\text{plant}}^{-1}$ ) or nodules ( $N_{\text{fixed}} g_{\text{nodule}}^{-1}$ ), and N<sub>2</sub> fixation flux. In addition to the dose of P supplied, other potential explanatory variables were recorded including soil order (see below), climate (sensu Kottek *et al.* [2006]), biome (adapted from Melillo *et al.* [1993]), plant type (annual, nonwoody perennial, or woody perennial), type of ecosystem (forest, cropland, grassland, or savanna), or symbiont genus (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, or *Frankia*). We also recorded data on *soil available P* content as determined by chemical extraction, when this variable was measured in the case study.

The pool of soil available P depends on soil type [Batjes, 2011b] and more precisely on soil total content in P [Messiga *et al.*, 2010] and soil physical-chemical properties which control the P buffering capacity [Stroia *et al.*, 2007]. Therefore, we needed to group case studies based on a soil classification and a buffering capacity classification.

[11] We used the USDA soil classification which has the advantage of being usable for all soils in the world and has a relatively low number of macroclasses of soils (12 orders of classification): alfisols, andisols, aridisols, entisols, gelisols, histosols, inceptisols, mollisols, oxisols, spodosols, ultisols, and vertisols (see <http://soils.usda.gov/technical/classification>). When not provided in the reference, the soil order was defined based on the available soil description, soil geographical location, and correspondences among systems of soil classification [Batjes, 2011a; Esu, 2010; Gerasimov, 1962]. The P buffering capacity of a soil refers to its ability to not only fix P on its solid phase but also control and maintain the PO<sub>4</sub> concentration in the soil solution: the higher the P buffering capacity, the lower and more stable the PO<sub>4</sub> concentration. We based our classification of the P buffering capacity of soils on physical-chemical properties and specific references [Achat *et al.*, 2009; Batjes, 2011b; Sanchez *et al.*, 2003; Smeck, 1985]: *very high* buffering capacity (andisols (soils rich in allophanes) and oxisols (soils rich in oxides)), *high* (ultisols (soils rich in secondary minerals)), *moderate* (alfisols, aridisols, gelisols, inceptisols, mollisols, and vertisols), *low* (entisols (young soils) and spodosols (topsoil horizons with low P affinity)), and *very low* (histosols and typical holorganic soil horizons like the forest floor or the organic top layer of tundra soils).

### 2.1.3. Methods of Quantification of SNF Flux and Processes

[12] SNF is generally quantified using isotopic methods (with <sup>15</sup>N) or the acetylene reduction assay for nitrogenase activity (ARA method). Less common methods, based on measuring ureides in sap, natural abundance of <sup>15</sup>N or total nitrogen pools, are also found in the literature. We ranked results in three level of confidence (*low*, *moderate*, or *high*; all details are provided in the supporting information A in Table S2 and related text) because all these methods have some drawbacks, depending on the experimental design and context [e.g., Shearer and Kohl, 1986]. Briefly, <sup>15</sup>N methods are integrative as they measure N<sub>2</sub> fixed in the biomass produced throughout the course of the experiment and are generally considered as reliable, provided that the <sup>15</sup>N signature of the N<sub>2</sub> fixing plant is different enough from that of a nonfixing plant (*high* level of confidence). Conversely, the ARA method measures nodule activity over a short period of time, but estimation of nodule weight may be subject to serious bias. Therefore, we considered the results at the plant scale (N<sub>fixed</sub> g<sub>plant</sub><sup>-1</sup>) obtained by ARA method with variable level of confidence, depending on the context (Tables S2). In all cases, the ARA method was assumed to be adequate (*high* level) to assess physiological aspects of SNF at the nodule scale (e.g., specific activity at the nodule scale in N<sub>fixed</sub> g<sub>nodule</sub><sup>-1</sup> or the nutrient content of nodules).

## 2.2. Data Analysis and Statistics

### 2.2.1. Characterization of Plant P Availability

[13] In nutritive solution experiments, P supply values were grouped into logarithmic classes (e.g., 0–10, 11–100,

and >100 μM) to be able to compare plant responses under P supplies that vary by several orders of magnitude between studies. This classification enabled us to emphasize plant responses under a very low P supply where we suspected that strong P limitation could result in nodule dysfunction. P supply was also used as a continuous variable during analyzes.

[14] In soil experiments, it was not appropriate to quantify the P supply using the dose of P-fertilizer applied because the dose effect strongly interacts with the soil P buffering capacity and initial soil P content [Batjes, 2011b]. Because the latter variables were not provided in the majority of soil experiments, instead we used the response of the N<sub>2</sub> fixing plant to P fertilization. To do so, we used the combination of the biomass *relative response* of N<sub>2</sub> fixing plants and the plant *foliar P index* to assess the local P limitation of N<sub>2</sub> fixing plants (see below).

### 2.2.2. Characterization of Plant Response to P Supply

[15] To ensure comparability among studies which were not originally designed to be compared, we used three statistics:

[16] 1. In all soil experiments that included an unfertilized control treatment, we used the concept of the effect size metric (hereafter referred to as *relative response*) calculated as follows:

$$\text{relative response} = \log[(\text{fertilization treatment})/(\text{control treatment})] \quad (1)$$

Values close to 0 are associated with a negligible effect of the treatment, while negative and positive values indicate negative and positive effects of the treatment, respectively. Confidence intervals were calculated with the bootstrap method in MetaWin-2.1 software (Rosenberg *et al.*: [www.metawinsoft.com](http://www.metawinsoft.com)). The relative response is a reliable approach to quantify the effects of a binary experimental design, like effects on plant biomass of fertilization versus control [Elser *et al.*, 2007].

[17] 2. We estimated the *foliar P index* of plants:

$$\text{foliar P index} = (\text{foliage content in P})/(\text{critical foliage P content}) \quad (2)$$

The critical P content of foliage is the value below which a defined plant species cannot grow at optimal rate due to P stress. The values of critical P were recorded from a plant analysis manual which compiled data on a wide range of plants species from all types of ecosystems in the world [Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 1997]. When several values of critical P were indicated, we selected the value obtained with experimental designs comparable to those of our SNF experiments or used a mean value. Values of *foliar P index* below 1 indicate P-stressed plants, whereas values  $\geq 1$  indicate an adequate or high P foliage content.

[18] 3. We normalized data to the maximum value of each case study (e.g., plant fixation rate):

$$\text{normalized value} = (\text{treatment value})/(\text{maximum value}) \quad (3)$$

Each value is then a proportion of the maximum response, ranging from 1 (highest response in the experiment) to values closer to 0 (low responses). This approach is widely used to

**Table 1.** Effect of Improved P Supply on Biomass, N-P Contents, and SNF Flux of Plants

| Growth Medium                           | Variable              | Increase Resulting From Enhanced P Supply <sup>a</sup> |               |                      |
|-----------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------|---------------|----------------------|
|                                         |                       | N                                                      | Mean Increase | Test of Significance |
| Artificial medium (nutritive solutions) | plant biomass         | 19                                                     | +286 ± 74%    | <i>P</i> < 0.001     |
|                                         | [N] <sub>shoot</sub>  | 11                                                     | +42 ± 12%     | <i>P</i> = 0.003     |
|                                         | [N] <sub>nodule</sub> | 6                                                      | +58 ± 19%     | <i>P</i> = 0.005     |
|                                         | [P] <sub>shoot</sub>  | 10                                                     | +277 ± 64%    | <i>P</i> < 0.001     |
|                                         | [P] <sub>root</sub>   | 5                                                      | +354 ± 140%   | <i>P</i> = 0.022     |
|                                         | [P] <sub>nodule</sub> | 6                                                      | +113 ± 41%    | <i>P</i> = 0.004     |
|                                         | SNF flux              | 13                                                     | +980 ± 419%   | <i>P</i> < 0.001     |
| Soil                                    | plant biomass         | 44                                                     | +106 ± 40%    | <i>P</i> < 0.001     |
|                                         | [N] <sub>shoot</sub>  | 24                                                     | +6 ± 2%       | <i>P</i> = 0.020     |
|                                         | [P] <sub>shoot</sub>  | 19                                                     | +41 ± 10%     | <i>P</i> < 0.001     |
|                                         | [P] <sub>root</sub>   | 8                                                      | +52 ± 28%     | <i>P</i> = 0.018     |
|                                         | SNF flux              | 41                                                     | +176 ± 54%    | <i>P</i> < 0.001     |

<sup>a</sup>Values = mean ± 1 standard error. Significant differences were tested with paired *t* test between *high* and *low* P supply; *low* supply was 0–10 μM (artificial growth medium) or 0 μg P g<sub>soil</sub><sup>-1</sup> (growth medium = soil). Calculations were not performed when there were less than five replicates. More results about soil studies are presented in Table S3 (supporting information C).

compile experiments, even without a true control treatment [Houlton *et al.*, 2008].

[19] Relative response values were calculated only in soil experiments because nutritive solution experiments were lacking the necessary control treatment. Foliar P index values and normalized values were calculated for all experiments.

### 2.2.3. Testing the Significance of Plant Response to P Availability and Other Explanatory Variables

[20] Meta-analysis is a useful tool because it enables aggregation of data [Ainsworth *et al.*, 2007; Ioannidis, 2010], but the aggregation is subject to several potential biases and hence requires a careful a priori protocol for data compilation [Gurevitch and Hedges, 1999; Ioannidis, 2010]. More methodological information on the meta-analysis is provided in the supporting information B.

[21] Differences among classes of explanatory variables (e.g., P supply, type of vegetation, or climate) were tested with a Bonferroni *t* test (or paired *t* test). Beforehand, the variables were transformed if they did not fit normality and variance homogeneity assumptions (Shapiro-Wilk test and Bartlett test). The normalized values were transformed with the logit function suitable for proportions comprised between 0 and 1 [Warton and Hui, 2011]:

$$y = \log [(x + e)/((1-x) + e)] \quad (4)$$

[22] Following Warton and Hui,  $\epsilon$  was set as the smallest difference between 1 and values (not equal to 1) of the data set (0.005 and 0.002 for nutritive solution experiments and soil experiments, respectively). The relative response was already log transformed and fitted the normality and variance homogeneity assumptions. For other variables, values were log transformed, if necessary.

[23] Finally, regression analyses were used to study the relationship between PO<sub>4</sub> concentration and plant response (normalized specific fixation rate and plant biomass) in nutritive solution experiments. The equations used in our study were linear-plateau, bilinear, logarithmic, or of the Mitscherlich form [cf. Alivelu *et al.*, 2003]. We only kept the fitted regressions which displayed realistic values (e.g., normalized values ≤ 1). The best model was selected using the modeling efficiency index [Mayer and Butler, 1993].

## 3. Results

[24] The N<sub>2</sub> fixing activity of the studied plants was generally high, as shown by the plant percentage of nitrogen derived from the atmosphere (first quartile, median, and third quartile values = 59%, 71%, and 81%, respectively; mean value = 68% ± 2%).

[25] Increasing P supply resulted in increased plant biomass, plant P content, and SNF flux (Table 1). These results were more pronounced in experiments using artificial growth medium (with nutritive solution) than in soil experiments (see Table 1 and below).

### 3.1. Symbiotic Nitrogen Fixation Studies Using a Nutritive Solution as Growing Media

[26] Plant biomass increased with an increase in P concentration in the nutritive solution up to an approximate value of 200–350 μM (75%, 85%, and 95% of optimal growth at 113, 175, and 368 μM, respectively; Figure S4 in the supporting information C).

[27] Values of *foliar P index* indicated that plants were highly P stressed, slightly P deprived, and well P fed at PO<sub>4</sub> concentration in the nutritive solution of ≤ 10, 11–100, and > 100 μM, respectively (Figure 1a). Increasing P supply often resulted in a high increase in plant N content (Table 1).

[28] The specific fixation rate of plants (N<sub>fixed</sub> g<sub>plant</sub><sup>-1</sup>) was highly dependent on the P concentration (in PO<sub>4</sub>) in the nutritive solution. Most of the positive effect of increasing P concentration in the solution on the plant fixation rate occurred between 0 and 100 μM (Figure 2a). The slope of the relationship was very steep in this range of values (Figure 2b), and it was difficult to fit a satisfactory regression because the beginning of the plateau section depended much on the case study concerned, with no clear influence of any of our other explanatory variables (data not shown). Nevertheless, it appeared that a close to optimal fixation rate (i.e., ≥ 75% of N<sub>2</sub> fixing efficiency) was possible for P values higher than 5–42 μM, depending of the curve equation used (see methodological comments about this problem in Alivelu *et al.* [2003]). The Mitscherlich regression (see Figure 2b) had the highest modeling efficiency (ME = 0.33 versus 0.28–0.32 for other equations).

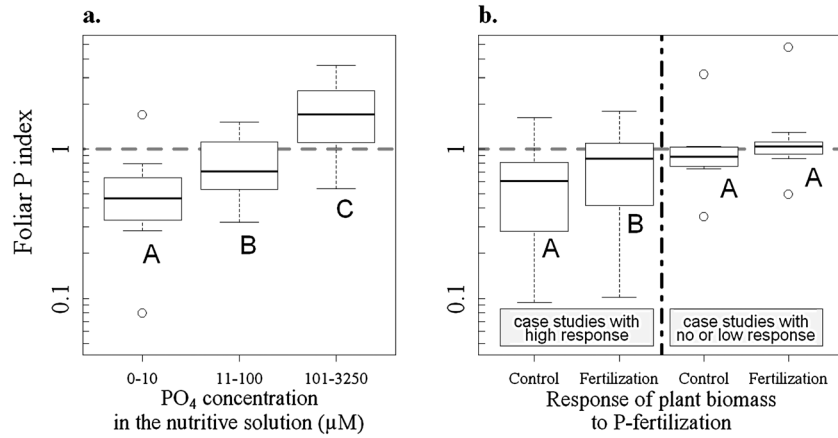


**Figure 1.** Foliar nutritive status of plants under different P supply. The *foliar P index* was calculated as the foliar P:critical P ratio. Foliar P = P content of foliage of the studied plants ( $\text{mg g}^{-1}$ ); critical P = P content of foliage ( $\text{mg g}^{-1}$ ) below which a defined plant species cannot grow at optimal rate due to P stress (see main text for full explanations). Values of foliar P index below 1 indicate P-stressed plants, whereas values  $\geq 1$  indicate adequate or excessive P foliage content. Classes of P supply followed by different letters differed significantly according to a Bonferroni *t* test ( $N = 8\text{--}34$  per class). (a) Plants growing in artificial medium with a nutritive solution (constant PO<sub>4</sub> concentration). (b) Plants growing in soil with no P-fertilizer (Control treatment) or one initial dose of P-fertilizer (Fertilized treatment). Soil experiments were split in two classes: case studies with *high response* of plants to P application in terms of plant growth (i.e., gain in plant biomass  $> 30\%$  compared to control treatment); case studies with *no or low plant response* (i.e., gain  $\leq 30\%$ ).

[29] The increase in the specific fixation rate of plants via an increase in P supply was the consequence of a concomitant enhancement of the proportion of biomass allocated to nodules and their N<sub>2</sub> fixing activity (Figure S5a in the supporting information C). A further increase in the P concentration did affect the specific fixation rate of plants, but the effect was of much lower amplitude as most cases ranged between 80% and 100% of N<sub>2</sub> fixing efficiency above 100  $\mu\text{M}$  (Figure 2a; see also Figure S5b for results on nodules). This result

was consistent among all plant types tested (i.e., *annual* versus *perennial* species or *nonwoody* versus *woody* species; Figure 2b).

### 3.2. Symbiotic Nitrogen Fixation Studies Using a Soil as Growing Media

[30] In more complex and realistic conditions, i.e., in soil experiments, the response of plants to P supply displayed a somewhat different pattern compared to nutritive solutions experiments.

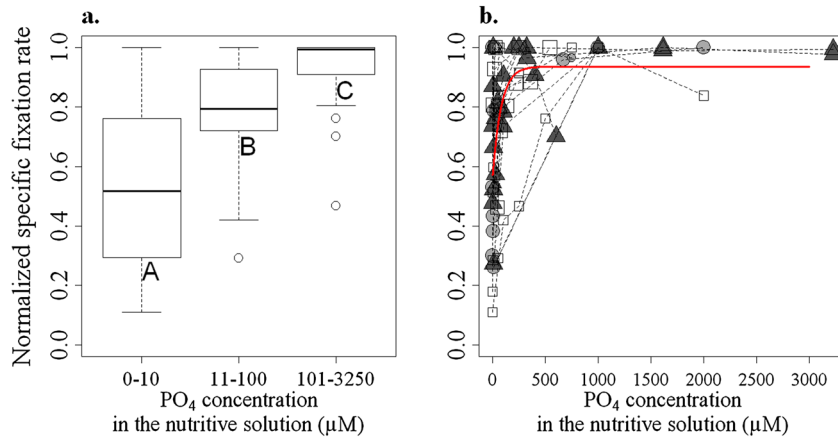


**Figure 2.** Effect of P concentration in the nutritive solution on the specific fixation rate of plants. Normalized specific fixation rate values were calculated at the plant scale and as follows: *normalized value* = (treatment value) / (maximum value of each case study). (a) Boxplot: classes of P supply followed by different letters differed significantly according to a Bonferroni *t* test. (b) Scatterplot: open square = annual plant species; gray circle = nonwoody perennial plant species; closed triangle = woody perennial plant species. Large symbol = fixation rate value obtained using a method with a *high* level of confidence; moderate-size symbol = value with a *moderate* level of confidence (see main text). Red line: regression curve (Mitscherlich equation;  $r = 0.58$ ,  $P < 0.001$  with all points having the same statistical weight).

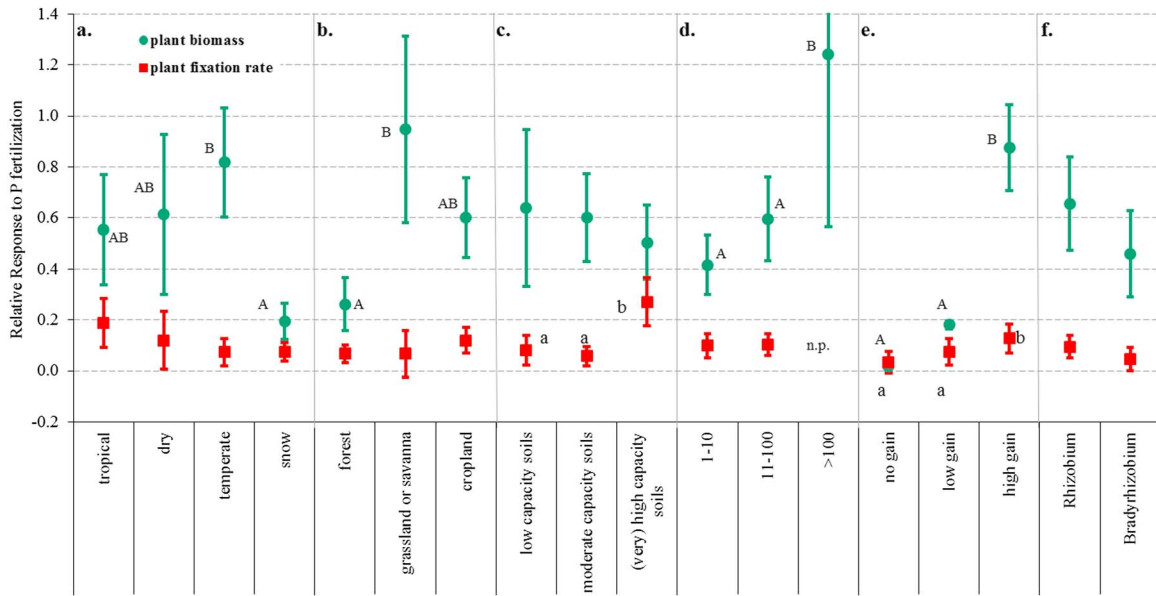


**Figure 3.** Response of plant fixation rates and plant biomass to P application. Green circle: plant biomass gain; red square: gain in specific fixation rate (fixation rate per plant biomass:  $N_{\text{fixed}} g_{\text{plant}}^{-1} d^{-1}$ ). Values are relative response ratios [ $\log(\text{fertilized treatment}/\text{control treatment})$ ] with confidence interval calculated with the bootstrap approach ( $N \geq 5$ ; classes with less than five replicates are not presented (n.p.) or are merged with another class; in some cases, mean values were used to avoid pseudoreplications within each class). Results are presented based on classifications from global scale to local scale: (a) climate (insufficient replicates for the polar class), (b) ecosystem (grasslands and savannas merged), (c) soil P buffering capacity (insufficient replicates for the *very low* class; *high* class and *very high* class merged), (d) dose of P-fertilizer, (e) gain in plant biomass due to improved P supply (*no gain*: biomass gain  $\leq 10\%$  compared to control treatment; *low gain*: biomass gain between 10% and 30%; *high gain*: biomass gain  $> 30\%$ ), and (f) symbiont genus (insufficient replicates for the *Frankia* genus). Classes followed by different letters differed significantly according to a Bonferroni *t* test (upper case for plant biomass; lower case for plant fixation rate).

[31] P fertilization enhanced plant growth as shown by biomass values (Table 1 and Figure 3). There was a more or less pronounced effect depending on climate, ecosystem, soil type, or P dose (Figures 3a–3d). Conversely, the specific fixation rate of plants was generally not significantly modified by P fertilization. Only a moderate, though significant, increase (+14 to +31%) in plant specific fixation rate was observed when plant growth was strongly P limited (Figure 3e), or in soils with high—or very high—P buffering capacity (Figure 3c). These cases appeared to occur more frequently at low latitudes (*tropical* and *dry* climates) than at high latitudes (*temperate* and *snow* climates; Figure 3a), but this was not statistically confirmed. In our data set, the fixation rate of plants growing in soils did not depend on the type of ecosystem, P dose, or symbiont genus, even if plant growth was often severely P limited (Figures 3b, 3d, and 3f).

[32] The response of plant to P fertilization depends on the local soil P supply, which itself depends on the initial soil P availability and the soil P buffering capacity. We wanted to understand the effect of soil P supply on the specific fixation rate of plants. Data on soil available P, as estimated by chemical extractions, were very scarce: whereas 88% of soil experiments had at least one value of soil available P, only 16% (i.e.,  $N=7$  experiments) had values for their P fertilization treatments. These seven experiments used all different methods of analysis (e.g., Bray, resins, and bicarbonate). Moreover, we recorded at least 13 analytical methods among the 72% of studies which analyzed only the control treatment

(the method was not even indicated in nine references). Consequently, data on soil available P was hardly exploitable to interpret results on plant response (see below, however).

[33] Since we did not find enough data on soil P availability in the references compiled in our database, we used the combination of the biomass relative response and the foliar P index as a proxy to assess the degree to which specific N<sub>2</sub> fixation rate of plants was limited by soil P availability. In soil experiments, for almost all the categories of biomass responses to P fertilization, plants showed an unchanged specific fixation rate. Only plants which had a strong response to P fertilization in terms of biomass had a significant increase of their plant fixation rate (Figure 4a). But within the group of plants having a high biomass response to fertilization, not all plants showed an increase of fixation rate. As a result, we recorded three different types of soil P limitation:

[34] 1. *Plants which were extremely P limited*: these plants were severely P deficient, as shown by their foliar P index which remained below 1, even after fertilization (*high response* studies in Figure 1b). They responded strongly to P fertilization, with a concomitant increase in biomass and specific fixation rate (Figure 4b). This significant effect on the specific fixation rate was related to a few experiments with soils mainly characterized by a *high*—or *very high*—soil P buffering capacity (i.e., ultisol or oxisols). This was confirmed by some of the few data on soil available P: control values of references using the same soil extraction method suggested that specific fixation rate of plants was



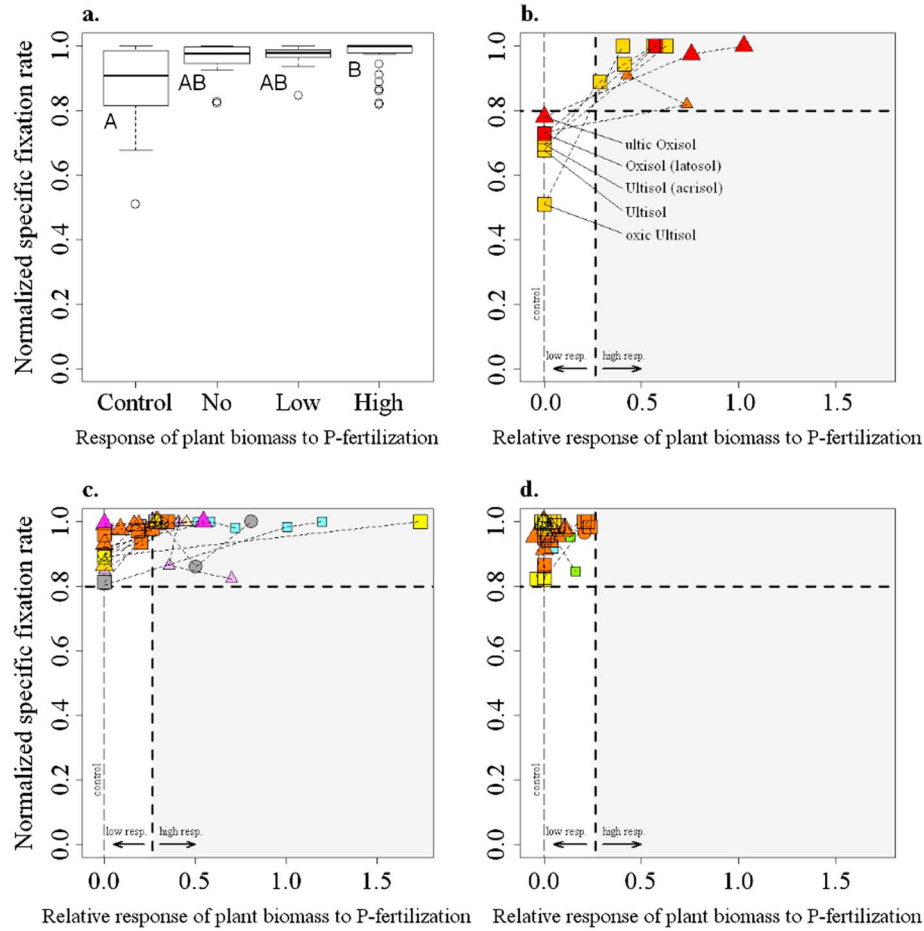


**Figure 4.** Interactive effects of soil type and initial P application on the specific fixation rate of plants. Normalized specific fixation rate values were calculated at the plant scale and as follows:  $normalized\ value = (treatment\ value) / (study\ maximum\ value)$ . (a) Boxplot: classes of biomass gain induced by P fertilization (control = no P application; no gain = biomass gain  $\leq 10\%$  compared to control treatment; low gain = biomass gain between  $10\%$  and  $30\%$ ; high gain = biomass gain  $> 30\%$ ) followed by different letters differed ( $P < 0.05$ ) according to a Bonferroni  $t$  test. (b–d) Scatterplots: square = annual plant; circle = nonwoody perennial plant; triangle = woody perennial plant. Large symbol = fixation rate value obtained with a *high* level of confidence; moderate-size symbol = value with a *moderate* level of confidence (see main text). See Figure S1 for explanation of colors (soil type). Plants with a relative response = 0 are from control treatments (most cases) or from fertilized treatment with no biomass response. Background color indicates the magnitude of plant response as classified in Figure 4a: white = no or low relative response (left part of the graph) and gray = high relative response. Three types of plant response to P fertilization were observed: (b) increased fixation rate and high biomass gain, (c) unchanged fixation rate and high biomass gain, (d) unchanged fixation rate and no—or low—biomass gain. For the sake of clarity, cases with a high level of confidence have their soil type indicated in Figure 4b.

suboptimal for soils known to be highly deficient in P, like ultisols (Figure S6).

[35] 2. *Plants which were highly P limited*: as for the former type of plant response, these plants were P deficient, as shown by their foliar P index which remained lower than 1, even after fertilization (*high response* studies in Figure 1b) and responded to fertilization by a high increase in biomass. Conversely, no change in specific plant fixation rate was recorded (Figure 4c). These cases corresponded to soils with only moderate—or lower—P buffering capacity, or andisols (i.e., soils known to have high P buffering capacity but also very high P content).

[36] 3. *Plants which were only slightly P limited*: these plants had their foliar P index slightly below 1 without fertilization and adequate (close to 1) after fertilization (*no or low response* studies in Figure 1b). Fertilization of these plants resulted in no—or low—biomass response and an unchanged specific fixation rate (Figure 4d).

[37] For most of the experiments where there was no effect of P supply on specific fixation rate of plants (types 2 and 3), both the nodule:plant biomass ratio and the specific fixation rate of nodules ( $N_{fixed} g_{nodule}^{-1}$ ) remained stable (Figure S5b). In a few other experiments showing a stable plant fixation rate, the pattern seemed to be different as there was a decrease

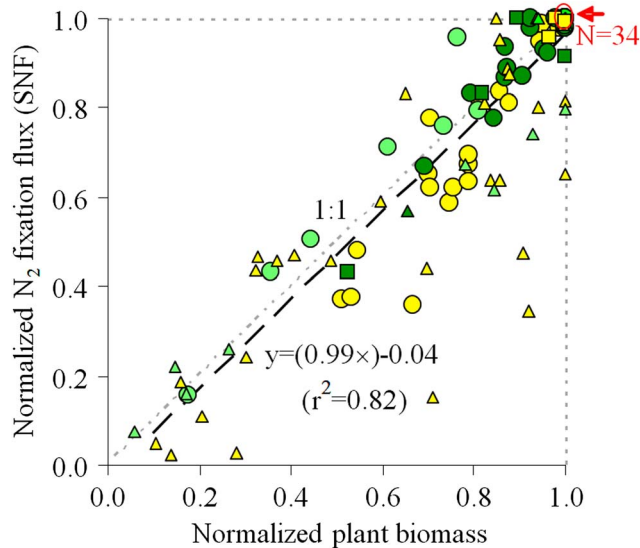


**Figure 5.** Linear relationship between plant biomass and flux of symbiotic N<sub>2</sub> fixation. Normalized values were calculated at the plant scale and as follows: *normalized value* = (*treatment value*) / (*maximum value of each case study*). Yellow = cropland; green = grassland or savanna; khaki = forest. Large-size circle, moderate-size square, and small-size triangle = fixation flux value obtained using a method with a *high*, *moderate*, and *low* level of confidence, respectively (see main text). Thirty-four plots have the same coordinates ( $x = 1$ ;  $y = 1$ ). The linear regression did not significantly differ from slope = 1 and intercept = 0, both conditions being tested simultaneously [Mayer and Butler, 1993].

in the nodule fixation rate, but this was offset by an increase in the nodule:plant biomass ratio (Figure S5c).

[38] All in all, it appeared that plant fixation rate was not, or only moderately, modified by P fertilization (Figure 4a). In most of the cases, plants showing a positive biomass response to P fertilization had their N<sub>2</sub> fixation rate unchanged, especially for plants which were only slightly P limited. The few cases where plants had their specific fixation rate improved by P fertilization were all initially extremely P limited, as shown by their biomass gain, foliage nutritive status, and soil P availability. Because plant fixation rate was at most moderately modified by P fertilization (Figures 3 and 4), the SNF flux of plants growing in soil was proportional to the increase in plant biomass (Figure 5). In soil experiments, improving P supply mainly resulted in an enhancement of plant biomass, which in turn, increased SNF flux. This result did not depend on plant type (e.g., *annual* versus *woody*) or ecosystem (Figure 5).

[39] Because the majority of experiments were carried out at the plant scale (e.g., plant biomass expressed as g plant<sup>-1</sup>), we finally investigated to which extent our results were applicable at the ecosystem scale (e.g., plant biomass expressed as Mg ha<sup>-1</sup>). We tested this by comparing experiments designed at the plant scale to experiments designed at the ecosystem scale. We found no significant difference of relative response for plant growth ( $P = 0.36$ ) or plant fixation rate ( $P = 0.86$ ) with no influence of any explanatory variables (like type of ecosystem, climate, or continent; data not shown). We interpreted this lack of difference as a negligible

effect of P fertilization on the relative abundance of N<sub>2</sub> fixing plants in the ecosystem over the course of the experiments. Consequently, we assumed that the entire data set was representative of short term responses of ecosystems to P supply. Medium- and long-term effects of P supply on N<sub>2</sub> fixers abundance remained untested. In the same way, there was no clear difference between field studies and pot studies (Table S3 in the supporting information C).

## 4. Discussion

[40] Our main aim was to understand if and how P availability limits global SNF. We achieved this goal by compiling published results on SNF under different P supply. To our knowledge, the present study is the first attempt to link at the global scale SNF of terrestrial plants with P supply.

### 4.1. Direct and Indirect Effects of P Bioavailability on SNF

[41] The analysis of plant response to P bioavailability in experiments based on a *nutritive solution* confirmed that it is physiologically possible for a wide range of symbiotic N<sub>2</sub> fixers (from diverse ecosystems) to demonstrate both direct and indirect limitation of SNF when the PO<sub>4</sub> concentration in the nutritive solution was extremely low [Sa and Israel, 1991]. High P deficiencies, e.g., at [PO<sub>4</sub>] lower than 5–42 μM, had direct effects on SNF. Concretely, both the nodule:plant biomass ratio and the specific fixation rate of nodules were reduced in conditions of severe PO<sub>4</sub> scarcity. With increasing PO<sub>4</sub> concentrations in the nutritive solution, the plant fixation rate increased considerably up to an optimum plateau. The shape of the response curve of the specific fixation rate of plants to the concentration of PO<sub>4</sub> in the nutritive solution is common to the terrestrial plant species we studied but also appears to be applicable to aquatic higher plants [Kitoh and Shiomi, 1991; Sah et al., 1989; Watanabe and Cholikhul, 1990] and free-living cyanobacteria [Liengen, 1999].

[42] It could thus be concluded from data based on experiments using a nutritive solution that P availability can constrain SNF through both direct (e.g., plant fixation rate) and indirect effects (e.g., plant biomass). McLaughlin et al. [1990] argued that possible direct effects of P bioavailability on SNF should be also visible through the N content of plants. This hypothesis is in line with our results, which showed a +42% increase in shoot N content. Two interpretations may explain direct P limitation of SNF. First, extreme P scarcity may disturb nodulation or nodule functioning [O'Hara, 2001] which in turn decreases plant fixation rate. From this point of view, direct limitation must be related to a disturbance of plant physiology [Sa and Israel, 1991]. Alternatively, it could be stated that high P deficiency does not physiologically disturb nodules but that plants adopt a particular strategy to face very unbalanced N-P limitations. In this frame, it would be more profitable for plants to allocate their internal resources for the acquisition of the most lacking nutrient (here P) through root growth rather than spending these valuable resources in a process of N acquisition (here SNF) which is more expansive than N uptake by roots [Bloom et al., 1985; Wang et al., 2007]. Our data set was not suitable to determine what really happens in N<sub>2</sub> fixing plants under extreme P limitation, and this question



requires specific research. Indirect P limitation of SNF through the limitation of plant biomass appeared much easier to interpret. In this case, plants are both moderately N and P limited. Plants are P limited as demonstrated by the fertilization effect of increasing PO<sub>4</sub> concentration. At the same time, plants are N limited; otherwise, the plant fixation rate would have been low [Vitousek and Field, 1999; Voisin et al., 2002; Wang et al., 2007], at least for facultative N<sub>2</sub> fixing species [Menge et al., 2009], which was not the case for most of the studies.

[43] The analysis of plant response to P bioavailability in soil experiments revealed similarities but also discrepancies with nutritive solution experiments. Like in experiments using a nutritive solution, plants grown in soil increased their biomass and N<sub>2</sub> fixation flux under improved P supply. But, contrary to the plants used in the former experimental approach, their fixation rate remained constant in the majority of cases. P availability mostly influenced the SNF flux only by modifying plant biomass (Figure 5). Our results were consistent with the hypothesis of McLaughlin et al. [1990] as plant N content remained almost unchanged in the soil experiments we compiled (i.e., +6%). Our results were both valid at the plant scale and at the ecosystem scale, suggesting that plant biomass and fixation flux are linearly linked when comparing ecosystems of the same type (e.g., croplands) from different sites. This hypothesis is supported by large-scale studies which already showed that SNF flux was strongly and linearly influenced by plant biomass [Herridge et al., 2008; Unkovich et al., 2010]. What our results showed in addition is that the variability of plant fixation rates observed in these large-scale studies was probably not caused by different levels of P availability in soils. Variations in the specific fixation rate of plants in the field was probably the result of other factors, like plant N status [Hartwig, 1998; Rastetter et al., 2001; Schulze, 2004; Soussana and Tallec, 2010; Voisin et al., 2002] rather than the level of P supply. There were, however, some noticeable exceptions to this linear relationship. In some soil experiments, the plant fixation rate was sometimes also directly constrained by P availability. The soils used in these field trials were weathered soils (mainly ultisols and oxisols).

#### 4.2. Symbiotic Nitrogen Fixation Linked With P Availability in Soils

[44] The discrepancy between the results presented here (i.e., experiments based on nutritive solutions versus experiments using soils) is in line with the occasional controversy reflected in the scientific literature [e.g., Israel, 1987; Robson et al., 1981]. The discrepancy would be explained if soil available P was most of the time high enough to enable a high fixation rate [Cavard et al., 2007]. We could not test this hypothesis because soil P availability data were very scarce, and the few studies in which soil P availability was measured used different soil P extraction methods. Nevertheless, this hypothesis is consistent with current knowledge on global soil chemistry and plant strategies for nutrient acquisition:

[45] 1. Our global analysis of SNF soil experiments showed that only plants growing on weathered soils, like ultisols or oxisols, might display a direct effect of P fertilization on plant fixation rate. These soil classes are well known to be severely P deficient. More precisely, ultisols and oxisols are likely to be

in average the soil classes with the lowest P content [Yang et al., 2013] and among the soils with the highest P buffering capacities. It means that soil available P content might be low enough to induce a decrease of the plant fixation rate in certain soils, like some oxisols, but that most soils would be in general above this theoretical threshold.

[46] 2. Strategies of plants to acquire nutrients may also help explaining the apparent discrepancy between nutritive solution experiments and soil experiments. Most plants are adapted to limiting resources [Bloom et al., 1985]. More specifically, N<sub>2</sub> fixing species can develop compensatory strategies [Vance, 2001], for example, P mining strategies. The production of phosphatases is higher in N<sub>2</sub> fixing species than in other plants [Houlton et al., 2008; Venterink, 2011] and is enhanced when the PO<sub>4</sub> concentration in the soil solution is low [Kouas et al., 2009; Venterink, 2011], for instance, below 40 μM [Araujo et al., 2008]. In addition, N<sub>2</sub> fixing species can benefit from soil heterogeneity. Nutrient availability in soils varies both in space and over time [Johnson et al., 2010; McClain et al., 2003]. High concentrations of soluble PO<sub>4</sub> can be observed over short periods [van der Salm et al., 2009] or in fertile patches [Jonard et al., 2009]. N<sub>2</sub> fixing plants can take advantage of such heterogeneities [Gentili and Huss-Danell, 2003] to store P and subsequently use their reserves to maintain a high fixation rate when P is deficient [Hogh-Jensen et al., 2002; Sah et al., 1989; Teixeira et al., 1999], particularly in nodules which are the plant compartment where P content is best maintained [Le Roux et al., 2006; McLaughlin et al., 1990] (Table 1). We assume that all these strategies developed by N<sub>2</sub> fixing species enable them to maintain a sufficient P supply in most environments, except the very poorest soils in P.

[47] We conclude that our results are consistent with the literature and thus reconcile previous conflicting studies as they indicate that all the statements regarding the effects of P availability on SNF are valid but depend on the experimental conditions concerned: P scarcity in the nutritive solution can have a direct negative effect on the plant fixation rate, but soil available P may be often high enough to enable a plant fixation rate that is close to optimal. On the other hand, this pattern was not validated in the most P deficient soils of the world, e.g., certain oxisols, where the plant fixation rate may be moderately depressed. Beyond its possible, but minor, direct effects on plant fixation rates, soil P availability predominantly constrained SNF flux via the limitation of plant growth (Figure 5), mainly under warm or temperate climates, indicating that effect of P availability on plant growth was the main driver of the SNF flux at the global scale.

#### 4.3. Toward a World Map of SNF Limitation by P: Uncertainties and Need for Further Research

##### 4.3.1. Direct P Limitation of SNF

[48] Ultisols and oxisols orders are known to have intrinsic low total P contents [Smeck, 1985; Yang et al., 2013] along with a high P buffering capacity. From our results, it appeared that ecosystems with this kind of weathered and P deficient soils which are not fertilized may display such a low level of P bioavailability that N<sub>2</sub> fixing plants cannot acquire enough PO<sub>4</sub> for the correct functioning of their nodules, despite a wide range of compensatory strategies [Vance, 2001]. However, some points require further investigation

before a reliable map of areas subjected to direct limitation can be drawn:

[49] 1. First, there is a wide range of P soil contents within each USDA soil order. Larger differences within soil profiles of the same order than among soil orders are frequently reported [Smeck, 1985; Yang *et al.*, 2013]. Indeed, the total P content of soils initially depends on the composition of the parent material and the geological context may vary considerably for the same kind of soil order [Jenny, 1941; Smeck, 1985].

[50] 2. There is a huge methodological heterogeneity regarding the practical quantification of the soil pool in available P [e.g., Condrón and Newman, 2011; Morel *et al.*, 2000], making it difficult to build a global and coherent database of soil available P.

[51] 3. The fertilization regime of the soil has to be taken into account. Indeed, P pools of soils are strongly dependent on their P fertilization history [Sharpley *et al.*, 2004]. Unfortunately, fertilization regimes are rarely well documented at the subnational scale.

[52] 4. Finally, the beginning of the plateau section of the relationship between the fixation rate of plants and soil available P remains unknown and may vary to a certain extent with the plant species, soil order, or with environmental conditions.

[53] Despite these uncertainties, some general trends can be identified based on the global distribution of soils, geology, land management, and fertilization statistics. Looking at soil orders distribution at the globe scale (see map at <http://soils.usda.gov/use/worldsoils/mapindex/order.html>), it appeared that soils poor in P (ultisols, oxisols, and to a lesser extent vertisols) are mostly in tropical or subtropical regions (latitudes < 30–40°). However, from a geological point of view, Asian soils are much younger, and somewhat more fertile, than soils in South America or Africa [Huston, 2012; Huston and Wolverton, 2009]. Therefore, Asian soils might be not so P deficient. In addition, most Asian soils, and some South American soils, are fairly well supplied with P fertilizers, while soils are P depleted in many regions of Africa [Bouwman *et al.*, 2009; MacDonald *et al.*, 2011; Sattari *et al.*, 2012]. In terrestrial ecosystems subjected to repeated biomass harvests, like croplands, not fertilizing would cause a very negative input-output budget of P which would exacerbate the natural P deficiency of some soils [Gilbert, 2012]. Based on these patterns, we speculate that cases of direct P constraining of SNF mainly occur in certain type of soils, mostly in tropical regions of Africa—and to a lesser extent in South America—and probably under cropland land use.

#### 4.3.2. Limitation of SNF Through Limitation of Plant Growth

[54] The global distribution of indirect P constraining of SNF is mainly related to the question of plant growth limitation by nutrients [Fisher *et al.*, 2012]. It is commonly accepted that soils at low latitudes are often P limited whereas other regions are N limited or NP colimited [Wang *et al.*, 2010]. However, many reports suggest that the real pattern is much more complex [Cleveland *et al.*, 2011; Elser *et al.*, 2007; Harpole *et al.*, 2011], particularly in tropical regions where different nutrient colimitation may occur [Baribault *et al.*, 2012; Townsend *et al.*, 2011; Vitousek and Sanford, 1986; Wright *et al.*, 2011; Wurzbarger *et al.*, 2012]. Moreover, the nutrient status of soils may be not stationary. In certain industrial regions of the world, N—but not P—is

continuously deposited from the atmosphere at high rates [Dentener *et al.*, 2006; Elser, 2011; Mahowald *et al.*, 2008; Okin *et al.*, 2004]. In regions like Europe, Eastern North America, or Eastern Asia, previous N limitation might be replaced by a P limitation [Braun *et al.*, 2010; Gradowski and Thomas, 2008; Thayer *et al.*, 2008]. Therefore, P limitation of vegetation growth, and hence SNF, is likely to be an important and widespread process [Elser *et al.*, 2007], except at high to very high latitudes where P limitation seems to be of low magnitude [Elser *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2010]. Unfortunately, the spatial distribution of P limitation in terrestrial ecosystems remains, up to now, quite unclear [Fisher *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2013] and should be investigated before attempting to draw any global map of SNF limitation by P.

## 5. Conclusion

[55] The contribution of our study was to show that (1) direct limitation of SNF by P is negligible, except in certain terrestrial ecosystems characterized by particularly P deficient soils, and (2) global SNF is mostly indirectly limited by P availability through plant productivity. The influence of P availability on global SNF flux is primarily dependent on the capacity of ecosystems N<sub>2</sub> fixing vegetation to grow in more or less P depleted environments. However, the process by which the production of plant biomass, including N<sub>2</sub> fixing species, is limited by nutrients remains poorly defined at the global scale [Fisher *et al.*, 2012]. Our study thus confirms that improving our knowledge of soils and understanding the role of P in the global productivity are two of the main challenges that will face the scientific community in coming decades [Korner, 2011; McNeill and Winiwarter, 2004; Tilman *et al.*, 2002]. In particular, it remains unclear to which extent terrestrial ecosystems are P limited and what are the determinants of this limitation within a defined region. In our opinion, large-scale and multidisciplinary studies [e.g., Quesada *et al.*, 2012] are necessary to address this issue.

[56] **Acknowledgments.** We sincerely thank Xavier Cavard, Jean-Christophe Domec, Hervé Jactel, Alain Mollier, Christian Morel, Sylvain Pellerin, Etienne Saur, and particularly Mark Bakker and André Schneider for their fruitful comments, advice, and encouragement. We also thank Daphne Goodfellow and Simeon Smail for revising the English. Finally, we are grateful for the very pertinent suggestions made by the Editor and three anonymous reviewers.

## References

- Achat, D. L., M. R. Bakker, L. Augusto, E. Saur, L. Dousseron, and C. Morel (2009), Evaluation of the phosphorus status of P-deficient podzols in temperate pine stands: Combining isotopic dilution and extraction methods, *Biogeochemistry*, 92(3), 183–200.
- Ainsworth, E. A., M. S. Rosenberg, and X. Z. Wang (2007), Meta-analysis: The past, present and future, *New Phytol.*, 176(4), 742–745.
- Alivelu, K., S. Srivastava, A. S. Rao, K. N. Singh, G. Selvakumari, and N. S. Raju (2003), Comparison of modified Mitscherlich and response plateau models for calibrating soil test based nitrogen recommendations for rice on Typic Ustropept, *Commun. Soil Sci. Plan.*, 34(17–18), 2633–2643.
- Araujo, A. P., C. Plassard, and J. J. Drevon (2008), Phosphatase and phytase activities in nodules of common bean genotypes at different levels of phosphorus supply, *Plant Soil*, 312(1–2), 129–138.
- Baribault, T. W., R. K. Kobe, and A. O. Finley (2012), Tropical tree growth is correlated with soil phosphorus, potassium, and calcium, though not for legumes, *Ecol Monogr.*, 82(2), 189–203.
- Barkmann, J., and C. R. Schwintzer (1998), Rapid N<sub>2</sub> fixation in pines? Results of a Maine field study, *Ecology*, 79(4), 1453–1457.

- Batjes, N. H. (2011a), Overview of soil phosphorus data from a large international soil database. *Rep.*, Report 2011/01, ISRIC - World Soil Information, Wageningen, [www.isric.org/projects/overview-soil-phosphorus-data-large-international-soil-database](http://www.isric.org/projects/overview-soil-phosphorus-data-large-international-soil-database).
- Batjes, N. H. (2011b), Global distribution of soil phosphorus retention potential. *Rep.*, Report 2011/06, ISRIC - World Soil Information, Wageningen, [www.isric.org/projects/global-assessment-soil-phosphorus-retention-potential](http://www.isric.org/projects/global-assessment-soil-phosphorus-retention-potential).
- Bloom, A. J., F. S. Chapin, and H. A. Mooney (1985), Resource limitation in plants—An economic analogy, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 16, 363–392.
- Bouwman, A. F., A. H. W. Beusen, and G. Billen (2009), Human alteration of the global nitrogen and phosphorus soil balances for the period 1970–2050, *Global Biogeochem. Cycles*, 23, GB0A04, doi:10.1029/2009GB003576.
- Braun, S., V. F. D. Thomas, R. Quiring, and W. Fluckiger (2010), Does nitrogen deposition increase forest production? The role of phosphorus, *Environ. Pollut.*, 158(6), 2043–2052.
- Cavard, X., L. Augusto, E. Saur, and P. Trichet (2007), Field effect of P fertilization on N<sub>2</sub> fixation rate of *Ulex europaeus*, *Ann. For. Sci.*, 64, 875–881.
- Cleveland, C. C., et al. (2011), Relationships among net primary productivity, nutrients and climate in tropical rain forest: A pan-tropical analysis, *Ecol. Lett.*, 14(9), 939–947.
- Condon, L. M., and S. Newman (2011), Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils, *J. Soil Sediment.*, 11(5), 830–840.
- Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (1997), *Plant Analysis: An Interpretation Manual*, edited by D. J. Reuter and J. B. Robinson, CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
- DeLuca, T. H., O. Zackrisson, M. C. Nilsson, and A. Sellstedt (2002), Quantifying nitrogen-fixation in feather moss carpets of boreal forests, *Nature*, 419(6910), 917–920.
- Dentener, F., et al. (2006), Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: A multimodel evaluation, *Global Biogeochem. Cycles*, 20, GB4003, doi:10.1029/2005GB002672.
- Dutkiewicz, S., B. A. Ward, F. Monteiro, and M. J. Follows (2012), Interconnection of nitrogen fixers and iron in the Pacific Ocean: Theory and numerical simulations, *Global Biogeochem. Cycles*, 26, GB1012, doi:10.1029/2011GB004039.
- Elsner, J. J. (2011), A world awash with nitrogen, *Science*, 334(6062), 1504–1505.
- Elsner, J. J., M. E. S. Bracken, E. E. Cleland, D. S. Gruner, W. S. Harpole, H. Hillebrand, J. T. Ngai, E. W. Seabloom, J. B. Shurin, and J. E. Smith (2007), Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems, *Ecol. Lett.*, 10(12), 1135–1142.
- Esu, I. E. (2010), *Soil Characterization, Classification and Survey*, Heinemann Educational Books, Nigeria.
- Finzi, A. C., and V. L. Rodgers (2009), Bottom-up rather than top-down processes regulate the abundance and activity of nitrogen fixing plants in two Connecticut old-field ecosystems, *Biogeochemistry*, 95(2–3), 309–321.
- Finzi, A. C., J. J. Cole, S. C. Doney, E. A. Holland, and R. B. Jackson (2011a), Research frontiers in the analysis of coupled biogeochemical cycles, *Front. Ecol. Environ.*, 9(1), 74–80.
- Finzi, A. C., A. T. Austin, E. E. Cleland, S. D. Frey, B. Z. Houlton, and M. D. Wallenstein (2011b), Responses and feedbacks of coupled biogeochemical cycles to climate change: Examples from terrestrial ecosystems, *Front. Ecol. Environ.*, 9(1), 61–67.
- Fisher, J. B., G. Badgley, and E. Blyth (2012), Global nutrient limitation in terrestrial vegetation, *Global Biogeochem. Cycles*, 26, GB3007, doi:10.1029/2011GB004252.
- Galloway, J. N., et al. (2004), Nitrogen cycles: Past, present, and future, *Biogeochemistry*, 70(2), 153–226.
- Gentili, F., and K. Huss-Danell (2003), Local and systemic effects of phosphorus and nitrogen on nodulation and nodule function in *Alnus incana*, *J. Exp. Bot.*, 54(393), 2757–2767.
- Gerasimov, I. P. (1962), New American soil classification, *Sov. Soil Sci.*, 6, 601–609.
- Gilbert, N. (2012), Dirt poor, *Nature*, 483, 525–527.
- Gradowski, T., and S. C. Thomas (2008), Responses of *Acer saccharum* canopy trees and saplings to P, K and lime additions under high N deposition, *Tree Physiol.*, 28(2), 173–185.
- Graham, P. H., and J. C. Rosas (1979), Phosphorus fertilization and symbiotic nitrogen fixation in common bean, *Agron. J.*, 71(6), 925–926.
- Graham, P. H., and C. P. Vance (2000), Nitrogen fixation in perspective: An overview of research and extension needs, *Field Crop Res.*, 65(2–3), 93–106.
- van Groenigen, K. J., J. Six, B. A. Hungate, M. A. de Graaff, N. van Breemen, and C. van Kessel (2006), Element interactions limit soil carbon storage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(17), 6571–6574.
- Gruber, N., and J. N. Galloway (2008), An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle, *Nature*, 451(7176), 293–296.
- Gurevitch, J., and L. V. Hedges (1999), Statistical issues in ecological meta-analyses, *Ecology*, 80(4), 1142–1149.
- Harpole, W. S., et al. (2011), Nutrient co-limitation of primary producer communities, *Ecol. Lett.*, 14(9), 852–862.
- Hartwig, U. (1998), The regulation of symbiotic N<sub>2</sub> fixation: A conceptual model of N feedback from the ecosystem to the gene level, *Perspect. Plant Ecol. Evol. Systemat.*, 1, 92–120.
- Hedin, L. O., E. N. J. Brookshire, D. N. L. Menge, and A. R. Barron (2009), The nitrogen paradox in tropical forest ecosystems, *Annu. Rev. Ecol. Evol. S.*, 40, 613–635.
- Herridge, D. F., M. B. Peoples, and R. M. Boddey (2008), Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems, *Plant Soil*, 311(1–2), 1–18.
- Hogh-Jensen, H., J. K. Schjoerring, and J. F. Soussana (2002), The influence of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of white clover plants, *Ann. Bot. London*, 90(6), 745–753.
- Houlton, B. Z., Y. P. Wang, P. M. Vitousek, and C. B. Field (2008), A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere, *Nature*, 454(7202), 327–330.
- Hungate, B. A., J. S. Dukes, M. R. Shaw, Y. Q. Luo, and C. B. Field (2003), Nitrogen and climate change, *Science*, 302(5650), 1512–1513.
- Huston, M. A. (2012), Precipitation, soils, NPP, and biodiversity: Resurrection of Albrecht's curve, *Ecol. Monogr.*, 82(3), 277–296.
- Huston, M. A., and S. Wolverton (2009), The global distribution of net primary production: Resolving the paradox, *Ecol. Monogr.*, 79(3), 343–377.
- Hutchins, D. A., M. R. Mulholland, and F. X. Fu (2009), Nutrient cycles and marine microbes in a CO<sub>2</sub>-enriched ocean, *Oceanography*, 22(4), 128–145.
- Ioannidis, J. P. A. (2010), Meta-research: The art of getting wrong, *Res. Synth. Meth.*, 1, 169–184.
- Israel, D. W. (1987), Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation, *Plant Physiol.*, 84(3), 835–840.
- Jenny, H. (1941), *Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology*, McGraw-Hill, New York, USA.
- Johnson, D. W., D. W. Glass, J. D. Murphy, C. M. Stein, and W. W. Miller (2010), Nutrient hot spots in some Sierra Nevada forest soils, *Biogeochemistry*, 101(1–3), 93–103.
- Jonard, M., L. Augusto, C. Morel, D. L. Achat, and E. Saur (2009), Forest floor contribution to phosphorus nutrition: Experimental data, *Ann. Forest Sci.*, 66(5), 510.
- Jurgensen, M. F., R. T. Graham, M. J. Larsen, and A. E. Harvey (1992), Clear-cutting, woody residue removal, and nonsymbiotic nitrogen fixation in forest soils of the Inland Pacific Northwest, *Can. J. Forest Res.*, 22(8), 1172–1178.
- Kitoh, S., and N. Shiomi (1991), Effect of mineral nutrients and combined nitrogen sources in the medium on growth and nitrogen fixation of the *Azolla-Anabaena* association, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 37(3), 419–426.
- Korner, C. (2011), The grand challenges in functional plant ecology, *Front. Plant Sci.*, 2, 1–3.
- Kottek, M., J. Grieser, C. Beck, B. Rudolf, and F. Rubel (2006), World map of the Köppen-Geiger climate classification updated, *Meteorol. Z.*, 15(3), 259–263.
- Kouas, S., J. Louche, A. Debez, C. Plassard, J. J. Drevon, and C. Abdellly (2009), Effect of phosphorus deficiency on acid phosphatase and phytase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under symbiotic nitrogen fixation, *Symbiosis*, 47(3), 141–149.
- Le Roux, M. R., C. L. Ward, F. C. Botha, and A. J. Valentine (2006), Routes of pyruvate synthesis in phosphorus-deficient lupin roots and nodules, *New Phytol.*, 169(2), 399–408.
- Liengen, T. (1999), Environmental factors influencing the nitrogen fixation activity of free-living terrestrial cyanobacteria from a high arctic area, Spitsbergen, *Can. J. Microbiol.*, 45(7), 573–581.
- MacDonald, G. K., E. M. Bennett, P. A. Potter, and N. Ramankutty (2011), Agronomic phosphorus imbalances across the world's croplands, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(7), 3086–3091.
- Mahowald, N., et al. (2008), Global distribution of atmospheric phosphorus sources, concentrations and deposition rates, and anthropogenic impacts, *Global Biogeochem. Cycles*, 22, GB4026, doi:10.1029/2008GB003240.
- Marschner, H. (1995), *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed., 889 pp., Academic Press Limited, London, UK.
- Mayer, D. G., and D. G. Butler (1993), Statistical validation, *Ecol. Model.*, 68(1–2), 21–32.
- McClain, M. E., et al. (2003), Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems, *Ecosystems*, 6(4), 301–312.
- McLaughlin, M. J., K. A. Malik, and M. Idris (1990), The role of phosphorus in nitrogen fixation in upland crops, in *Phosphorus Requirements for Sustainable Agriculture in Asia and Oceania*, edited by IIRRI,

- pp. 295–305, International Rice Research Institute (IRRI), Low Banos, Philippines.
- McNeill, J. R., and A. Winiwarter (2004), Breaking the sod: Humankind, history, and soil, *Science*, 304(5677), 1627–1629.
- Melillo, J. M., A. D. McGuire, D. W. Kicklighter, B. Moore, C. J. Vorosmarty, and A. L. Schloss (1993), Global climate change and terrestrial net primary production, *Nature*, 363(6426), 234–240.
- Menge, D. N. L., S. A. Levin, and L. O. Hedin (2009), Facultative versus obligate nitrogen fixation strategies and their ecosystem consequences, *Am. Nat.*, 174(4), 465–477.
- Messiga, A. J., N. Ziadi, D. Plenet, L. E. Parent, and C. Morel (2010), Long-term changes in soil phosphorus status related to P budgets under maize monoculture and mineral P fertilization, *Soil Use Manage.*, 26(3), 354–364.
- Mills, M. M., C. Ridame, M. Davey, J. La Roche, and R. J. Geider (2004), Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic, *Nature*, 429(6989), 292–294.
- Morel, C., P. Tunney, D. Plenet, and S. Pellerin (2000), Transfer of phosphate ions between soil and solution: Perspectives in soil testing, *J. Environ. Qual.*, 29(1), 50–59.
- Mylona, P., K. Pawlowski, and T. Bisseling (1995), Symbiotic nitrogen fixation, *Plant Cell*, 7(7), 869–885.
- O'Hara, G. W. (2001), Nutritional constraints on root nodule bacteria affecting symbiotic nitrogen fixation: A review, *Aust. J. Exp. Agr.*, 41(3), 417–433.
- Okin, G. S., N. Mahowald, O. A. Chadwick, and P. Artaxo (2004), Impact of desert dust on the biogeochemistry of phosphorus in terrestrial ecosystems, *Global Biogeochem. Cycles*, 18, GB2005, doi:10.1029/2003GB002145.
- Pullin, A. S., and G. B. Stewart (2006), Guidelines for systematic review in conservation and environmental management, *Conserv. Biol.*, 20(6), 1647–1656.
- Quesada, C. A., et al. (2012), Basin-wide variations in Amazon forest structure and function are mediated by both soils and climate, *Biogeoscience*, 9(6), 2203–2246.
- Rastetter, E. B., P. M. Vitousek, C. Field, G. R. Shaver, D. Herbert, and G. I. Agren (2001), Resource optimization and symbiotic nitrogen fixation, *Ecosystems*, 4(4), 369–388.
- Reddell, P., Y. Yun, and W. A. Shipton (1997), Do *Casuarina cunninghamiana* seedlings dependent on symbiotic N<sub>2</sub> fixation have higher phosphorus requirements than those supplied with adequate fertilizer nitrogen?, *Plant Soil*, 189(2), 213–219.
- Reed, S. C., C. C. Cleveland, and A. R. Townsend (2011), Functional ecology of free-living nitrogen fixation: A contemporary perspective, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 42, 489–512.
- Ribet, J., and J. J. Drevon (1996), The phosphorus requirement of N<sub>2</sub>-fixing and urea-fed *Acacia mangium*, *New Phytol.*, 132(3), 383–390.
- Robson, A. D., G. W. Ohara, and L. K. Abbott (1981), Involvement of phosphorus in nitrogen-fixation by subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.), *Aust. J. Plant Physiol.*, 8(4–5), 427–436.
- Sa, T. M., and D. W. Israel (1991), Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules, *Plant Physiol.*, 97(3), 928–935.
- Sah, R. N., S. S. Goyal, and D. W. Rains (1989), Interactive effects of exogenous combined nitrogen and phosphorus on growth and nitrogen fixation by azolla, *Plant Soil*, 117(1), 1–8.
- van der Salm, C., W. J. Chardon, G. F. Koopmans, J. C. van Middelkoop, and P. A. I. Ehler (2009), Phytoextraction of phosphorus-enriched grassland soils, *J. Environ. Qual.*, 38(2), 751–761.
- Sanchez, P. A., C. A. Palm, and S. W. Buol (2003), Fertility capability soil classification: A tool to help assess soil quality in the tropics, *Geoderma*, 114(3–4), 157–185.
- Sanudo-Wilhelmy, S. A., A. B. Kustka, C. J. Gobler, D. A. Hutchins, M. Yang, K. Lwiza, J. Burns, D. G. Capone, J. A. Raven, and E. J. Carpenter (2001), Phosphorus limitation of nitrogen fixation by *Trichodesmium* in the central Atlantic Ocean, *Nature*, 411(6833), 66–69.
- Sattari, S. Z., A. F. Bouwman, K. E. Giller, and M. K. van Ittersum (2012), Residual soil phosphorus as the missing piece in the global phosphorus crisis puzzle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(16), 6348–6353.
- Schulze, J. (2004), How are nitrogen fixation rates regulated in legumes?, *J. Plant Nutr. Soil Sc.*, 167(2), 125–137.
- Sharpley, A. N., R. W. McDowell, and P. J. A. Kleinman (2004), Amounts, forms, and solubility of phosphorus in soils receiving manure, *Soil Sci Soc Am J*, 68(6), 2048–2057.
- Shearer, G., and D. H. Kohl (1986), N<sub>2</sub>-fixation in field settings—Estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance, *Aust. J. Plant Physiol.*, 13(6), 699–756.
- Smeck, N. E. (1985), Phosphorus dynamics in soils and landscapes, *Geoderma*, 36(3–4), 185–199.
- Son, Y. (2001), Non-symbiotic nitrogen fixation in forest ecosystems, *Ecol. Res.*, 16(2), 183–196.
- Soussana, J. F., and T. Tallec (2010), Can we understand and predict the regulation of biological N<sub>2</sub> fixation in grassland ecosystems?, *Nutr. Cycl. Agroecosys.*, 88(2), 197–213.
- Stroia, C., C. Morel, and C. Jouany (2007), Dynamics of diffusive soil phosphorus in two grassland experiments determined both in field and laboratory conditions, *Ag. Ecosyst Environ.*, 119(1–2), 60–74.
- Teixeira, M. G., J. Guilherme, M. Guerra, D. L. de Almeida, A. P. Araujo, and A. A. Franco (1999), Effect of seed phosphorus concentration on nodulation and growth of three common bean cultivars, *J. Plant Nutr.*, 22(10), 1599–1611.
- Thayer, S. S., S. B. St. Clair, C. B. Field, and S. C. Somerville (2008), Accentuation of phosphorus limitation in *Geranium dissectum* by nitrogen: An ecological genomics study, *Global Change Biol.*, 14(8), 1877–1890.
- Thornton, P. E., J. F. Lamarque, N. A. Rosenbloom, and N. M. Mahowald (2007), Influence of carbon-nitrogen cycle coupling on land model response to CO<sub>2</sub> fertilization and climate variability, *Global Biogeochem. Cycles*, 21, GB4018, doi:10.1029/2006GB002868.
- Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor, and S. Polasky (2002), Agricultural sustainability and intensive production practices, *Nature*, 418(6898), 671–677.
- Townsend, A. R., C. C. Cleveland, B. Z. Houlton, C. B. Alden, and J. W. C. White (2011), Multi-element regulation of the tropical forest carbon cycle, *Front. Ecol. Environ.*, 9(1), 9–17.
- Unkovich, M. J., J. Baldock, and M. B. Peoples (2010), Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N<sub>2</sub> fixation by crop and pasture legumes, *Plant Soil*, 329(1–2), 75–89.
- Vance, C. P. (2001), Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources, *Plant Physiol.*, 127(2), 390–397.
- Venterink, H. O. (2011), Legumes have a higher root phosphatase activity than other forbs, particularly under low inorganic P and N supply, *Plant Soil*, 347(1–2), 137–146.
- Vitousek, P. M., and C. B. Field (1999), Ecosystem constraints to symbiotic nitrogen fixers: A simple model and its implications, *Biogeochemistry*, 46(1–3), 179–202.
- Vitousek, P. M., and R. W. Howarth (1991), Nitrogen limitation on land and in the sea—How can it occur, *Biogeochemistry*, 13(2), 87–115.
- Vitousek, P. M., and R. L. Sanford (1986), Nutrient cycling in moist tropical forest, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 17, 137–167.
- Vitousek, P. M., et al. (2002), Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation, *Biogeochemistry*, 57(1), 1–45.
- Voisin, A. S., C. Salon, N. G. Munier-Jolain, and B. Ney (2002), Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.), *Plant Soil*, 243(1), 31–42.
- Wang, Y. P., B. Z. Houlton, and C. B. Field (2007), A model of biogeochemical cycles of carbon, nitrogen, and phosphorus including symbiotic nitrogen fixation and phosphatase production, *Global Biogeochem. Cycles*, 21, GB1018, doi:10.1029/2006GB002797.
- Wang, Y. P., R. M. Law, and B. Pak (2010), A global model of carbon, nitrogen and phosphorus cycles for the terrestrial biosphere, *Biogeoscience*, 7, 2261–2282.
- Warton, D. I., and F. K. C. Hui (2011), The arcsine is asinine: The analysis of proportions in ecology, *Ecology*, 92(1), 3–10.
- Watanabe, I., and W. Cholitkul (1990), Phosphorus as a factor limiting nitrogen fixation in flooded rice soils, in *Phosphorus Requirements for Sustainable Agriculture in Asia and Oceania*, edited by IRRI, pp. 281–293, International Rice Research Institute (IRRI), Low Banos, Philippines.
- Wright, S. J., et al. (2011), Potassium, phosphorus, or nitrogen limit root allocation, tree growth, or litter production in a lowland tropical forest, *Ecology*, 92(8), 1616–1625.
- Wurzburger, N., J. P. Bellenger, A. M. L. Kraepiel, and L. O. Hedin (2012), Molybdenum and phosphorus interact to constrain asymbiotic nitrogen fixation in tropical forests, *PLoS One*, 7, e33710.
- Yang, X., W. M. Post, P. E. Thornton, and A. Jain (2013), The distribution of soil phosphorus for global biogeochemical modeling, *Biogeoscience*, 10, 2525–2537.

## Supporting Information A:

### Compilation of symbiotic nitrogen fixation studies under different levels of P supply

**Table S1.** Experiments on the effect of P supply on symbiotic N<sub>2</sub> fixation

| Supplementary Reference                             | Type of Experiment       | Growth Medium ♦        | P Added ◇                                           | Method of measuring N <sub>2</sub> -fixation rate † | Plant Species ○                      | Plant Type          | Vegetation Type ★ |
|-----------------------------------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|-------------------|
| [Adugyamfi et al., 1989]                            | Field                    | INCE                   | 1.1* - 5.4<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>  | ARA                                                 | <i>Cajanus cajan</i>                 | woody perennial     | cropland          |
|                                                     |                          |                        |                                                     |                                                     | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Almeida et al., 2000]                              | Pots (artificial medium) | Q                      | 2.7 - 2000<br>μM-P                                  | e15N                                                | <i>Trifolium repens</i>              | non-woody perennial | grassland         |
| [Amanuel et al., 2000]                              | Field                    | ALFI                   | 0 - 4.5<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>     | e15N                                                | <i>Vicia faba</i>                    | annual              | cropland          |
| [Ankomah et al., 1996]                              | Pots (soil)              | INCE                   | 0 - 50<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>      | e15N                                                | <i>Vigna unguiculata</i>             | annual              | cropland          |
| [Badarneh, 1995]                                    | Field                    | VERT                   | 4.9* - 14.8<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup> | ARA                                                 | <i>Lens culinaris</i>                | annual              | cropland          |
| [Bethenfalvy and Yoder, 1981]                       | Pots (artificial medium) | Si                     | 4 - 500<br>μM-P                                     | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Binkley et al., 2003]                              | Pots (soil)              | ANDI                   | 0 - 1852<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | e15N - ARA                                          | <i>Falcataria moluccana</i>          | woody perennial     | forest            |
| [Bremer et al., 1989]                               | Field                    | MOLL                   | 0 - 3<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>       | e15N                                                | <i>Lens culinaris</i>                | annual              | cropland          |
| [Cadisch et al., 1993]                              | Field                    | OXIS                   | 1.2* - 18.7<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup> | e15N - ARA                                          | <i>Centrosema acutifolium</i>        | woody perennial     | savanna           |
| [Cassman et al., 1980]                              | Pots (artificial medium) | So                     | 0.2 - 64.6<br>μM-P                                  | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Cavard et al., 2007]                               | Field                    | SPOD                   | 0 - 22.2<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | n15N                                                | <i>Ulex europaeus</i>                | woody perennial     | forest            |
| [Chagas et al., 2010]                               | Pots (soil)              | OXIS                   | 0 - 80<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>      | e15N                                                | <i>Phasoleus vulgaris</i>            | annual              | cropland          |
| [Chaudhary and Fujita, 1998]                        | Field                    | INCE                   | 2.8* - 45.4<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup> | ARA                                                 | <i>Vigna aconitifolia</i>            | annual              | cropland          |
|                                                     |                          |                        |                                                     |                                                     | <i>Vigna radiata</i>                 | annual              | cropland          |
|                                                     |                          |                        |                                                     |                                                     | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Chien et al., 1993]                                | Pots (soil)              | ULTI                   | 12.5 - 100<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>  | e15N                                                | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Collins et al., 1986]                              | Field                    | ENTI                   | 0 - 12.7<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | ARA                                                 | <i>Medicago sativa</i>               | non-woody perennial | grassland         |
| [Crews, 1993]                                       | Pots (soil)              | ANDI, ARID, ENTI, MOLL | 0 - 130<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>     | ARA                                                 | <i>Medicago sativa</i>               | non-woody perennial | grassland         |
| [Dhingra et al., 1988]                              | Field                    | ALFI                   | 0 - 5.9<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>     | ARA                                                 | <i>Lens culinaris</i>                | annual              | cropland          |
| [Djumaeva et al., 2013]                             | Field                    | ARID                   | 0 - 19.1<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | n15N                                                | <i>Robinia p. &amp; Elaeagnus a.</i> | woody perennial     | forest            |
| [Drevon and Hartwig, 1997]                          | Pots (artificial medium) | Q                      | 50 - 750<br>μM-P                                    | ARA                                                 | <i>Medicago sativa</i>               | non-woody perennial | grassland         |
|                                                     |                          |                        |                                                     |                                                     | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Ekblad and Huss-Danell, 1995; Ekblad et al., 1995] | Pots (artificial medium) | Q                      | 1 - 9.3<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>     | e15N                                                | <i>Alnus incana</i>                  | woody perennial     | forest            |
| [Elabbadi et al., 1996]                             | Pots (soil)              | So                     | 0 - 16.3<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | e15N                                                | <i>Medicago trunculata</i>           | non-woody perennial | grassland         |
| [Gan et al., 2002]                                  | Field                    | ENTI                   | 0 - 10.0<br>μg-P g <sub>soil</sub> <sup>-1</sup>    | SaUr                                                | <i>Glycine max</i>                   | annual              | cropland          |
| [Gentili and Huss-Danell, 2003]                     | Pots (artificial medium) | Si                     | 1 - 300<br>μM-P                                     | ARA                                                 | <i>Alnus incana</i>                  | woody perennial     | forest            |

Table S1. (continued)

| Supplementary Reference             | Type of Experiment       | Growth Medium ◇ | P Added ◇                                          | Method of measuring N <sub>2</sub> -fixation rate † | Plant Species ○                 | Plant Type          | Vegetation Type ★ |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------|-------------------|
| [Giller et al., 1998]               | Field                    | ULTI            | 0 - 5.9<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | e15N                                                | <i>Phaseolus vulgaris</i>       | annual              | cropland          |
| [Gokkaya et al., 2006]              | Field                    | HIST            | 0 - 10.6<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | ARA                                                 | <i>Alnus incana</i>             | woody perennial     | forest            |
| [Graham and Rosas, 1979]            | Field                    | INCE            | 0 - 31.2<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | ARA                                                 | <i>Phaseolus vulgaris</i>       | annual              | cropland          |
| [Gunawardena et al., 1992]          | Pots (soil)              | INCE            | 0 - 90<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$     | e15N                                                | <i>Vigna radiata</i>            | annual              | cropland          |
| [Gunawardena et al., 1993]          | Pots (soil)              | INCE            | 0 - 90<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$     | e15N                                                | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Habtegebrial and Singh, 2006]      | Field                    | .               | 0 - 6.8<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | e15N                                                | <i>Pisum sativum</i>            | annual              | cropland          |
| [Haque and Lupwayi, 1999]           | Field                    | VERT            | 0 - 11.4<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | e15N                                                | <i>Trifolium quartinianum</i>   | annual              | grassland         |
| [Hart, 1989]                        | Hydroponics              | L               | 0.4 - 37<br>$\mu\text{M-P}$                        | ARA                                                 | <i>Trifolium repens</i>         | non-woody perennial | grassland         |
| [Hogh-Jensen and Schjoerring, 2010] | Field                    | INCE            | 0 - 5<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$      | e15N                                                | <i>Trifolium repens</i>         | non-woody perennial | grassland         |
| [Idris et al., 1989]                | Field                    | ARID            | 0 - 7.9<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | ARA                                                 | <i>Cicer arietinum</i>          | annual              | cropland          |
| [Isaac et al., 2011]                | Pots (artificial medium) | 0.9Q – 0.1Si    | 200 - 600<br>$\mu\text{M-P}$                       | e15N                                                | <i>Acacia senegal</i>           | woody perennial     | savanna           |
| [Islam and Ali, 2009]               | Field                    | So              | 0 - 18.1<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | n15N                                                | <i>Cicer arietinum</i>          | annual              | cropland          |
| [Israel, 1987]                      | Pots (artificial medium) | Si              | 0 - 2000<br>$\mu\text{M-P}$                        | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Kouas et al., 2009]                | Hydroponics              | L               | 15 - 250<br>$\mu\text{M-P}$                        | .                                                   | <i>Phaseolus vulgaris</i>       | annual              | cropland          |
| [Kouas et al., 2005]                | Hydroponics              | L               | 15 - 250<br>$\mu\text{M-P}$                        | ARA                                                 | <i>Phaseolus vulgaris</i>       | annual              | cropland          |
| [Nguyen et al., 2006]               | Pots (artificial medium) | Si              | 323 - 3229<br>$\mu\text{M-P}$                      | e15N                                                | <i>Acacia mangium</i>           | woody perennial     | forest            |
|                                     |                          |                 |                                                    |                                                     | <i>Acacia auriculiformis</i>    | woody perennial     | forest            |
| [Peoples et al., 1995]              | Field                    | MOLL            | 0 - 5<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$      | n15N                                                | <i>Trifolium subterraneum</i>   | annual              | grassland         |
| [Pongsakul and Jensen, 1991]        | Pots (soil)              | INCE            | 0 - 90<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$     | e15N                                                | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Reddell et al., 1997]              | Hydroponics              | L               | 0.1 - 250<br>$\mu\text{M-P}$                       | ARA                                                 | <i>Casuarina cunninghamiana</i> | woody perennial     | forest            |
| [Rennie et al., 1988]               | Field                    | ULTI            | 0 - 2.4<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | e15N                                                | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Reid, 1973]                        | Pots (artificial medium) | 0.5Q – 0.5Si    | 0 - 29.5<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | ARA                                                 | <i>Ulex europaeus</i>           | woody perennial     | forest            |
| [Remans et al., 2007]               | Pots (artificial medium) | Si–L            | 1 - 100<br>$\mu\text{M-P}$                         | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Ribet and Drevon, 1995]            | Hydroponics              | L               | 50 - 250<br>$\mu\text{M-P}$                        | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |
| [Ribet and Drevon, 1996]            | Hydroponics              | L               | 1 - 100<br>$\mu\text{M-P}$                         | ARA                                                 | <i>Acacia mangium</i>           | woody perennial     | forest            |
| [Robson et al., 1981]               | Pots (soil)              | ALFI            | 33.3 - 400<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$ | ARA                                                 | <i>Trifolium subterraneum</i>   | annual              | grassland         |
| [Rotaru and Sinclair, 2009]         | Pots (artificial medium) | Q               | 50 - 500<br>$\mu\text{M-P}$                        | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>              | annual              | Cropland          |
| [Sa and Israel, 1991]               | Pots (artificial medium) | Si              | 50 - 1000<br>$\mu\text{M-P}$                       | ARA                                                 | <i>Glycine max</i>              | annual              | cropland          |

Table S1. (continued)

| Supplementary Reference        | Type of Experiment       | Growth Medium ◇ | P Added ✧<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$ | Method of measuring $\text{N}_2$ -fixation rate + | Plant Species ○                                 | Plant Type          | Vegetation Type ★ |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------|-------------------|
| [Sanginga, 1992]               | Pots (soil)              | INCE            | 0 - 80<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | e15N                                              | <i>Leucaena leucocephala</i>                    | woody perennial     | forest            |
|                                |                          |                 |                                                   |                                                   | <i>Leucaena diversifolia</i>                    | woody perennial     | forest            |
|                                |                          |                 |                                                   |                                                   | <i>Gliricidia sepium</i>                        | woody perennial     | forest            |
| [Sanginga et al., 1989]        | Pots (soil)              | INCE            | 0 - 90<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | TND                                               | <i>Casuarina equisetifolia</i>                  | woody perennial     | forest            |
| [Sanginga et al., 1995]        | Field                    | ALFI            | 0 - 18.1<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$  | e15N                                              | <i>Gliricidia sepium</i>                        | woody perennial     | cropland          |
| [Schulze et al., 2006]         | Pots (artificial medium) | Q               | 0 - 500<br>$\mu\text{M-P}$                        | e15N                                              | <i>Lupinus albus</i>                            | annual              | cropland          |
| [Shabaev et al., 1998]         | Pots (soil)              | ALFI            | 0 - 87<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | ARA                                               | <i>Glycine max</i>                              | annual              | cropland          |
| [Somado et al., 2006]          | Field                    | ULTI            | 0 - 13.6<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$  | e15N                                              | <i>Crotalaria micans</i>                        | woody perennial     | cropland          |
| [Ssali and Keya, 1986]         | Field                    | ULTI            | 0 - 34<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$    | e15N                                              | <i>Phaseolus vulgaris</i>                       | annual              | cropland          |
| [Tang et al., 2001a]           | Hydroponics              | L               | 1 - 15<br>$\mu\text{M-P}$                         | ARA                                               | <i>Medicago trunculata</i>                      | non-woody perennial | grassland         |
| [Tang et al., 2001b]           | Hydroponics              | L               | 5 - 25<br>$\mu\text{M-P}$                         | ARA                                               | <i>Phaseolus vulgaris</i>                       | annual              | cropland          |
| [Uliassi and Ruess, 2002]      | Field                    | GELI            | 0 - 45.6<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$  | ARA                                               | <i>Alnus incana</i> (subsp. <i>tenuifolia</i> ) | woody perennial     | forest            |
| [Vadez and Drevon, 2001]       | Hydroponics              | L               | 45 - 540<br>$\mu\text{M-P}$                       | ARA                                               | <i>Phaseolus vulgaris</i>                       | annual              | cropland          |
| [Vadez et al., 1995]           | Pots (artificial medium) | Q-Si            | 22 - 300<br>$\mu\text{M-P}$                       | ARA                                               | <i>Acacia mangium</i>                           | woody perennial     | forest            |
| [Vankessel and Roskoski, 1983] | Pots (soil)              | ANDI            | 0 - 1500<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$  | ARA                                               | <i>Inga jinicuil</i>                            | woody perennial     | forest            |
| [Vesterager et al., 2008]      | Field                    | ALFI            | 0 - 4.5<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | e15N                                              | <i>Vigna unguiculata</i>                        | annual              | cropland          |
| [Wall et al., 2000]            | Hydroponics              | L               | 10 - 1000<br>$\mu\text{M-P}$                      | ARA                                               | <i>Alnus incana</i>                             | woody perennial     | forest            |
|                                |                          |                 |                                                   |                                                   | <i>Trifolium pratense</i>                       | non-woody perennial | grassland         |
| [Yakubu et al., 2010]          | Field                    | ENTI            | 0 - 9.1<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | TND                                               | <i>Arachis hypogaea</i>                         | annual              | cropland          |
|                                |                          |                 |                                                   |                                                   | <i>Vigna unguiculata</i>                        | annual              | cropland          |
|                                |                          |                 |                                                   |                                                   | <i>Vigna subterranea</i>                        | annual              | cropland          |
| [Yahiya et al., 1995]          | Field                    | ALFI            | 0 - 5.9<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | ARA                                               | <i>Cicer arietinum</i>                          | annual              | cropland          |
| [Zingore et al., 2008]         | Field                    | ALFI            | 0 - 6.8<br>$\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$   | n15N                                              | <i>Glycine max</i>                              | annual              | cropland          |

◇ – Growth medium:

L=liquid; Q=quartz; Si=silicates (often perlite, sometimes vermiculite); So=undetermined soil class. Soil classes were the orders used in the USDA classification: ALFI=alfisol, ANDI=andisol, ARID=aridisol, ENTI=entisol, GELI=gelisol, HIST=histosol, INCE=inceptisol, MOLL=mollisol, OXIS=oxisol, SPOD=spodosol, ULTI=ultisol, VERT=vertisol.

#### ✧ – P Added:

In  $\mu\text{M-P}$  for constant P supply; in  $\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$  for initial P application.

When initial P fertilizer was applied in field experiments, the authors gave the dose in  $\text{kg-P ha}^{-1}$  whereas in pot experiments, the levels of phosphorus supply were expressed in  $\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$ . We standardized these different P doses in order to have only one dataset of soil experiments as follows:

In natural environments, plant roots are mostly distributed in the topsoil. Jackson *et al.* [1996] found that around two thirds of total roots are distributed in the first 30 cm of topsoil at the global scale. Also, in croplands, the plowed layer (Ap) in which most roots are found, broadly corresponds to the first 30 cm of topsoil. Therefore, we considered that all field plants in our database prospected a layer of 30 cm, i.e.  $3000 \text{ m}^3$  of soil per hectare. Using other layer thickness (i.e. 10 cm or 50 cm) did not change much final results (data not shown).

Based on the work of Ruehlmann and Korschens [2009], who reviewed soil bulk density in a wide range of soils on different continents, we calculated a soil bulk density of 1.34, 1.47 and  $1.57 \text{ g cm}^{-3}$  for grassland, cropland and forest, respectively. We used the grassland value for savanna. Finally, we converted all doses from  $\text{kg-P ha}^{-1}$  into  $\mu\text{g-P g}_{\text{soil}}^{-1}$ .

In one study, many levels of P were tested by the author in a narrow range of P concentrations. We averaged these results into a few concentration classes to avoid giving a too high statistical weight to this particular study.

Some studies reported toxic effects of the highest doses of P. We used the P content of plants and the diagnosis threshold value of the species studied for foliar P content [CSIRO, 1997] to exclude treatments with a toxic effect. When the diagnosis threshold value was not available, the mean value of the other species was used instead ( $10.3 \pm 1.8 \text{ mg-P g}_{\text{plant}}^{-1}$ ;  $N=10$ ). When the P content of the plant was not reported in the study, we assumed that when a sharp fall in primary production was observed at the highest P dose, this was a sign of toxicity.

\*: the lowest dose was assumed to be the control because the amount applied was extremely low.

#### ✚ – Method of measuring N<sub>2</sub> fixation rate:

ARA: nodule activity from acetylene reduction assay;  $^{15}\text{N}$ : ratio of  $^{15}\text{N}$  to  $^{14}\text{N}$  isotopes in plant biomass and %N derived from the atmosphere (e15N: method using an environment enriched in  $^{15}\text{N}$  tracer; n15N: method using the natural abundance of  $^{15}\text{N}$ ); SaUr: ureides concentration in sap; TND: total nitrogen difference.

We ranked methods into three classes of confidence: *low*, *moderate* and *high* (see Table S2 and text below).

**Table S2.** Level of confidence of results about SNF at the plant scale

| Type of experiment | Growth medium            | Method used to quantify SNF at the plant scale |                                          |                    |                          |                                 |
|--------------------|--------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|--------------------------|---------------------------------|
|                    |                          | $^{15}\text{N}$ tracer (e15N)                  | $^{15}\text{N}$ natural abundance (n15N) | sap ureides (SaUr) | total N difference (TND) | acetylene reduction assay (ARA) |
| pot                | artificial (liquid: L)   | <i>high</i>                                    | <i>context</i>                           | <i>high</i>        | <i>low</i>               | <b>high</b>                     |
|                    | artificial (solid: Q–Si) | <b>high</b>                                    | <i>context</i>                           | <i>high</i>        | <i>low</i>               | <b>moderate</b>                 |
|                    | soil                     | <b>high</b>                                    | <i>context</i>                           | <i>high</i>        | moderate                 | low                             |
| field              | soil                     | <b>high</b>                                    | <i>context</i>                           | <i>high</i>        | moderate                 | <b>low</b>                      |

*low*, *moderate* and *high*: level of confidence of the results; *context*: level of confidence is dependent on the context (see text below). Bold = case representing 10–20% of our entire dataset; grey italic = case not encountered in our dataset.



- Methods using  $^{15}\text{N}$  as a tracer are generally considered as efficient to quantify both the SNF flux and processes [Chalk, 2000; Danso *et al.*, 1993; Hardarson and Danso, 1993]. The less common method based on sap was also considered as reliable, provided that the method was previously tested and calibrated for the studied plant species [Herridge *et al.*, 1996].
- ARA method requires that the weight of nodule biomass of the whole root system is estimated to calculate the specific fixation rate at the plant scale ( $N_{\text{fixed}} g_{\text{plant}}^{-1}$ ). But estimation of nodule weight is subject to serious bias [Herridge *et al.*, 2008] because of practical considerations (e.g. loss of nodules during extraction of roots from soil [Chalk, 2000; Fisher and Binkley, 2000; Visser *et al.*, 2012]). We gave a *high* level of confidence to plant scale results only in nutritive solution experiments where the weighing of nodules is reliable. ARA method was considered as having a *low* and *moderate* level of confidence for soil experiment and solid artificial growing medium, respectively.
- Method based on total nitrogen pools was also considered not as reliable as  $^{15}\text{N}$  tracer studies and was used with a *low* level of confidence (see [Hardarson and Danso, 1993; Herridge *et al.*, 2008]).
- Method based on natural abundance of  $^{15}\text{N}$  has a level of confidence which depends on the local context. Indeed, the reliability of the results increases with an increasing difference of  $^{15}\text{N}$  natural abundance between the studied  $\text{N}_2$  fixing plant and a neighboring non-fixing plant [Hogberg, 1997; Shearer and Kohl, 1986]. Following Hogberg [1997], we considered studies as having a *low*, *moderate*, and *high* level of confidence when the difference of  $\delta^{15}\text{N}$  values was  $<1\text{‰}$ ,  $1\text{--}5\text{‰}$ , and  $>5\text{‰}$ , respectively. When the difference of  $\delta^{15}\text{N}$  values was not mentioned in the reference, the level of confidence was assumed to be *low*. We found all those cases in our dataset.
- Finally, we considered ARA method as very adequate to assess physiological aspects of SNF at the nodule scale [Fisher and Binkley, 2000].

#### ○ – Plant species:

To avoid any possible effect of heterotrophy due to the storage of nutrients in the seed, we disregarded data related to plants sampled at the early seedling stage. We chose the date just before the reproductive stage (if available) to avoid competition between pod filling and SNF. In the same way, sampling dates at senescence were rejected in favor of an earlier date.

As natural soils contain many symbiotic bacteria, in studies where the authors used soil and also applied an inoculation treatment, we used the non-inoculated treatment. Conversely, in the case of artificial substrates and hydroponics, we used the inoculated treatment.

One study was discarded because symbiotic  $\text{N}_2$  fixation was not effective, even after application of P.

#### ★ – Vegetation type:

Grasslands include pastures and forage production areas

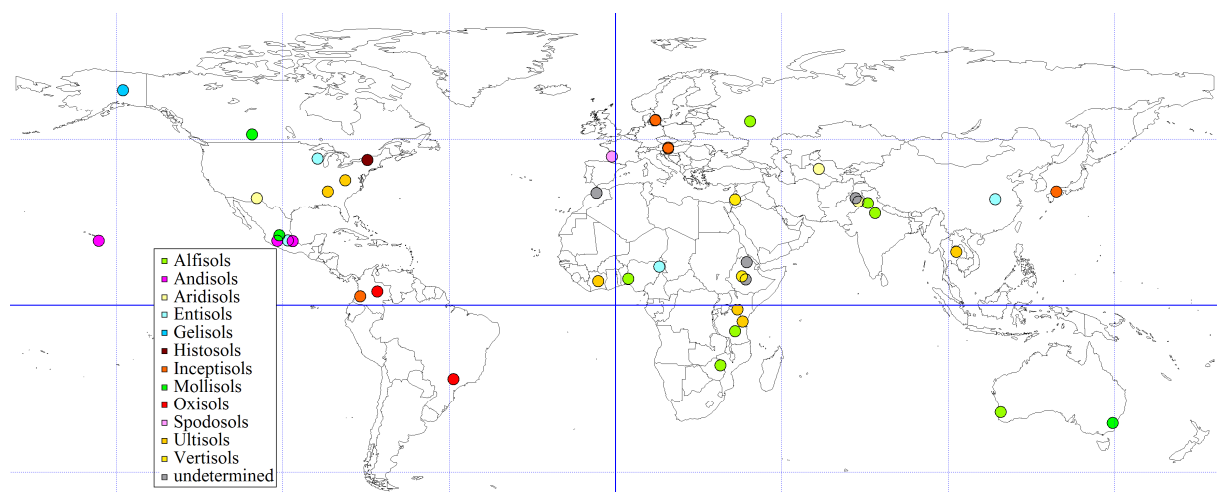


**Figure S1.** Global distribution of soil experiments on P–SNF relationship.

Explanation of colors is in the map. Some locations contain multiple data entries (different species growing in the same soil; different soil orders analyzed for their P content but found almost at the same location).

## References

- Adugyamfi, J., K. Fujita, and S. Ogata (1989), Phosphorus absorption and utilization efficiency of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in relation to dry matter production and dinitrogen fixation, *Plant Soil*, 119(119), 315-324.
- Almeida, J. P. F., U. A. Hartwig, M. Frehner, J. Nosberger, and A. Luscher (2000), Evidence that P deficiency induces N feedback regulation of symbiotic N<sub>2</sub> fixation in white clover (*Trifolium repens* L.), *J Exp Bot*, 51(348), 1289-1297.
- Amanuel, G., R. F. Kuhne, D. G. Tanner, and P. L. G. Vlek (2000), Biological nitrogen fixation in faba bean (*Vicia faba* L.) in the Ethiopian highlands as affected by P fertilization and inoculation, *Biol Fert Soils*, 32(5), 353-359.
- Ankomah, A. B., F. Zapata, G. Hardarson, and S. K. A. Danso (1996), Yield, nodulation, and N<sub>2</sub> fixation by cowpea cultivars at different phosphorus levels, *Biol Fert Soils*, 22(1-2), 10-15.
- Badarneh, D. M. D. (1995), Magnitude of Nitrogen-fixation by lentil at different rates of phosphorus using <sup>15</sup>N technique, *J Agron Crop Sci*, 175(1), 7-14.
- Bethenfalvay, G. J., and J. F. Yoder (1981), The *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. 1. phosphorus effect on nitrogen-fixation and mycorrhizal infection, *Physiol Plantarum*, 52(1), 141-145.
- Binkley, D., R. Senock, and K. Cromack (2003), Phosphorus limitation on nitrogen fixation by *Facaltaria* seedlings, *Forest Ecol Manag*, 186(1-3), 171-176.
- Bremer, E., C. Vankessel, and R. Karamanos (1989), Inoculant, phosphorus and nitrogen responses of lentil, *Can J Plant Sci*, 69(3), 691-701.
- Cadisch, G., R. Sylvesterbradley, B. C. Boller, and J. Nosberger (1993), Effects of phosphorus and potassium on N<sub>2</sub> fixation (<sup>15</sup>N dilution) of field-grown *Centrosema acutifolium* and *Centrosema macrocarpum*, *Field Crop Res*, 31(3-4), 329-340.
- Cassman, K. G., A. S. Whitney, and K. R. Stockinger (1980), Root-growth and dry-matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation, and nitrogen-source, *Crop Sci*, 20(2), 239-244.
- Cavard, X., L. Augusto, E. Saur, and P. Trichet (2007), Field effect of P fertilization on N<sub>2</sub> fixation rate of *Ulex europaeus*, *Ann Forest Sci*, 64, 875-881.
- Chagas, E., A. P. Araujo, B. J. R. Alves, and M. G. Teixeira (2010), Seeds enriched with phosphorus and molybdenum improve the contribution of biological nitrogen fixation to common bean as estimated by <sup>15</sup>N isotope dilution, *Rev Bras Cienc Solo*, 34(4), 1093-1101.
- Chalk, P. M. (2000), Integrated effects of mineral nutrition on legume performance, *Soil Biol Biochem*, 32(4), 577-579.
- Chaudhary, M. I., and K. Fujita (1998), Comparison of phosphorus deficiency effects on the growth parameters of mashbean, mungbean, and soybean, *Soil Sci Plant Nutr*, 44(1), 19-30.
- Chien, S. H., G. Carmona, R. G. Menon, and D. T. Hellums (1993), Effect of phosphate rock sources on biological nitrogen-fixation by soybean, *Fert Res*, 34(2), 153-159.
- Collins, M., D. J. Lang, and K. A. Kelling (1986), Effects of phosphorus, potassium, and sulfur on alfalfa nitrogen-fixation under field conditions *Agron J*, 78(6), 959-963.
- Crews, T. E. (1993), Phosphorus regulation of nitrogen-fixation in a traditional mexican agroecosystem, *Biogeochemistry*, 21(3), 141-166.
- CSIRO (1997), *Plant analysis: an interpretation manuel.*, CSIRO Publishing, Reuter, D. J. and Robinson, J. B. (Eds), Collingwood, Australia.
- Danso, S. K. A., G. Hardarson, and F. Zapata (1993), Misconceptions and practical problems in the use of <sup>15</sup>N soil enrichment techniques for estimating N<sub>2</sub> fixation, *Plant Soil*, 152(1), 25-52.
- Dhingra, K. K., H. S. Sekhon, P. S. Sandhu, and S. C. Bhandari (1988), Phosphorus rhizobium interaction studies on biological nitrogen fixation and yield of lentil, *Journal of Agricultural Science*, 110, 141-144.
- Djumaeva, D., J. P. A. Lamers, A. Khamzina, and P. L. G. Vlek (2013), The benefits of phosphorus fertilization of trees grown on salinized croplands in the lower reaches of Amu Darya, Uzbekistan, *Agroforest Syst*, 87(3), 555-569.
- Drevon, J. J., and U. A. Hartwig (1997), Phosphorus deficiency increases the argon-induced decline of nodule nitrogenase activity in soybean and alfalfa, *Planta*, 201(4), 463-469.

- Ekblad, A., and K. Huss-Danell (1995), Nitrogen fixation by *Alnus incana* and nitrogen transfer from *Alnus incana* to *Pinus sylvestris* influenced by macronutrients and ectomycorrhiza, *New Phytol*, 131, 453-459.
- Ekblad, A., H. Wallander, R. Carlsson, and K. Huss-Danell (1995), Fungal biomass in roots and extramatrical mycelium in relation to macronutrients and plant biomass of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* and *Alnus incana*, *New Phytol*, 131, 443-451.
- Elabbadi, K., M. Ismaili, and L. A. Materon (1996), Competition between *Medicago truncatula* and wheat for  $^{15}\text{N}$  labeled soil nitrogen and influence of phosphorus, *Soil Biol Biochem*, 28(1), 83-88.
- Fisher, R. F., and D. Binkley (2000), *Ecology and management of forest soils*, Wiley, New York, USA.
- Gan, Y. B., I. Stulen, H. van Keulen, and P. J. C. Kuiper (2002), Physiological changes in soybean (*Glycine max*) Wuyin9 in response to N and P nutrition, *Ann Appl Biol*, 140(3), 319-329.
- Gentili, F., and K. Huss-Danell (2003), Local and systemic effects of phosphorus and nitrogen on nodulation and nodule function in *Alnus incana*, *J Exp Bot*, 54(393), 2757-2767.
- Giller, K. E., F. Amijee, S. J. Brodick, and O. T. Edje (1998), Environmental constraints to nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in Tanzania: II. Response to N and P fertilizers and inoculation with rhizobium, *African Crop Science Journal*, 6(2), 171-178.
- Gokkaya, K., T. M. Hurd, and D. J. Raynal (2006), Symbiont nitrogenase, alder growth, and soil nitrate response to phosphorus addition in alder (*Alnus incana* ssp *rugosa*) wetlands of the Adirondack Mountains, New York State, USA, *Environmental and Experimental Botany*, 55(1-2), 97-109.
- Graham, P. H., and J. C. Rosas (1979), Phosphorus fertilization and symbiotic nitrogen-fixation in common bean, *Agron J*, 71(6), 925-926.
- Gunawardena, S., S. K. A. Danso, and F. Zapata (1992), Phosphorus requirements and nitrogen accumulation by 3 mungbean (*Vigna radiata* (L) Welzek) cultivars, *Plant Soil*, 147(2), 267-274.
- Gunawardena, S., S. K. A. Danso, and F. Zapata (1993), Phosphorus requirements and sources of nitrogen in 3 soybean (*Glycine max*) genotypes, bragg, NTS-382 and chippewa, *Plant Soil*, 151(1), 1-9.
- Haque, I., and N. Z. Lupwayi (1999), Landform and phosphorus effects on nitrogen fixed by annual clovers and its contribution to succeeding cereals in the Ethiopian highlands, *Aust J Agr Res*, 50(8), 1393-1398.
- Hardarson, G., and S. K. A. Danso (1993), Methods for measuring biological nitrogen-fixation in grain legumes, *Plant Soil*, 152(1), 19-23.
- Hart, A. L. (1989), Nodule phosphorus and nodule activity in white clover, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 32, 145-149.
- Herridge, D. F., M. B. Peoples, and R. M. Boddey (2008), Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems, *Plant Soil*, 311(1-2), 1-18.
- Herridge, D. F., B. Palmer, D. P. Nurhayati, and M. B. Peoples (1996), Evaluation of the xylem ureide method for measuring  $\text{N}_2$  fixation in six tree legume species, *Soil Biol Biochem*, 28(3), 281-289.
- Hogberg, P. (1997), Tansley review No 95 -  $^{15}\text{N}$  natural abundance in soil-plant systems, *New Phytol*, 137(2), 179-203.
- Hogh-Jensen, H., and J. K. Schjoerring (2010), Interactions between nitrogen, phosphorus and potassium determine growth and  $\text{N}_2$ -fixation in white clover and ryegrass leys, *Nutr Cycl Agroecosys*, 87(3), 327-338.
- Idris, M., T. Mahmood, and K. A. Malik (1989), Response of field-grown chickpea (*Cicer arietinum* L.) to phosphorus fertilization for yield and nitrogen-fixation, *Plant Soil*, 114(1), 135-138.
- Isaac, M. E., J. M. Harmand, and J. J. Drevon (2011), Growth and nitrogen acquisition strategies of *Acacia senegal* seedlings under exponential phosphorus additions, *J Plant Physiol*, 168(8), 776-781.
- Islam, M., and S. Ali (2009), Effect of integrated application of sulphur and phosphorus on nitrogen fixation and nutrient uptake by chickpea (*Cicer Arietinum* L.), *Agrociencia-Mexico*, 43(8), 815-826.
- Israel, D. W. (1987), Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation, *Plant Physiol*, 84(3), 835-840.

- Jackson, R. B., J. Canadell, J. R. Ehleringer, H. A. Mooney, O. E. Sala, and E. D. Schulze (1996), A global analysis of root distributions for terrestrial biomes, *Oecologia*, 108(3), 389-411.
- Kouas, S., N. Labidi, A. Debez, and C. Abdelly (2005), Effect of P on nodule formation and N fixation in bean, *Agronomy for Sustainable Development*, 25(3), 389-393.
- Kouas, S., A. Debez, C. Plassard, J. J. Drevon, and C. Abdelly (2009), Effect of phosphorus limiting on phytase activity, proton efflux and oxygen consumption by nodulated-roots of common bean (*Phaseolus vulgaris*), *Afr J Biotechnol*, 8(20), 5301-5309.
- Nguyen, N. T., P. K. Mohapatra, and K. Fujita (2006), Elevated CO<sub>2</sub> alleviates the effects of low P on the growth of N<sub>2</sub>-fixing *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium*, *Plant Soil*, 285(1-2), 369-379.
- Peoples, M. B., D. M. Lilley, V. F. Burnett, A. M. Ridley, and D. L. Garden (1995), Effects of surface application of lime and superphosphate to acid soils on growth and N<sub>2</sub> fixation by subterranean clover in mixed pasture swards, *Soil Biol Biochem*, 27(4-5), 663-671.
- Pongsakul, P., and E. S. Jensen (1991), Dinitrogen fixation and soil-N uptake by soybean as affected by phosphorus availability, *J Plant Nutr*, 14(8), 809-823.
- Reddell, P., Y. Yun, and W. A. Shipton (1997), Do *Casuarina cunninghamiana* seedlings dependent on symbiotic N<sub>2</sub> fixation have higher phosphorus requirements than those supplied with adequate fertilizer nitrogen?, *Plant Soil*, 189(2), 213-219.
- Reid, T. C. (1973), Nitrogen fixation by *Ulex europaeus* (gorse) and *Cytisus scoparius* (broom). 139 pp, Univ. Canterbury, New Zealand.
- Remans, R., A. Croonenborghs, R. T. Gutierrez, J. Michiels, and J. Vanderleyden (2007), Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on nodulation of *Phaseolus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition, *European Journal of Plant Pathology*, 119(3), 341-351.
- Rennie, R. J., D. A. Rennie, C. Siripaibool, P. Chaiwanakupt, N. Boonkerd, and P. Snitwongse (1988), N<sub>2</sub> fixation in Thai soybeans - Effect of tillage and inoculation on <sup>15</sup>N determined N<sub>2</sub> fixation in recommended cultivars and advanced breeding lines, *Plant Soil*, 112(2), 183-193.
- Ribet, J., and J. J. Drevon (1995), Phosphorus deficiency increases the Acetylene-induced decline in nitrogenase activity in soybean (*Glycine max* (L) Merr), *J Exp Bot*, 46(291), 1479-1486.
- Ribet, J., and J. J. Drevon (1996), The phosphorus requirement of N<sub>2</sub>-fixing and urea-fed *Acacia mangium*, *New Phytol*, 132(3), 383-390.
- Robson, A. D., G. W. Ohara, and L. K. Abbott (1981), Involvement of phosphorus in nitrogen-fixation by subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.), *Aust J Plant Physiol*, 8(4-5), 427-436.
- Rotaru, V., and T. R. Sinclair (2009), Interactive influence of phosphorus and iron on nitrogen fixation by soybean, *Environmental and Experimental Botany*, 66(1), 94-99.
- Ruehlmann, J., and M. Korschens (2009), Calculating the effect of soil organic matter concentration on soil bulk density, *Soil Sci Soc Am J*, 73(3), 876-885.
- Sa, T. M., and D. W. Israel (1991), Energy status and functioning of phosphorus-deficient soybean nodules, *Plant Physiol*, 97(3), 928-935.
- Sanginga, N. (1992), Early growth and N<sub>2</sub>-fixation of *Leucaena* and *Gliciridia* at different level of phosphorus application, *Fert Res*, 31, 165-173.
- Sanginga, N., S. K. A. Danso, and G. D. Bowen (1989), Nodulation and growth response of *Allocauarina* and *Casuarina* species to phosphorus fertilization, *Plant Soil*, 118, 125-132.
- Sanginga, N., S. K. A. Danso, F. Zapata, and G. D. Bowen (1995), Phosphorus requirements and nitrogen accumulation by N<sub>2</sub>-fixing and non-N<sub>2</sub>-fixing leguminous trees growing in low P soils, *Biol Fert Soils*, 20(3), 205-211.
- Schulze, J., G. Temple, S. J. Temple, H. Beschow, and C. P. Vance (2006), Nitrogen fixation by white lupin under phosphorus deficiency, *Ann Bot-London*, 98(4), 731-740.
- Shabaev, V. P., V. Y. Smolin, and L. T. Shirshova (1998), Fixation of molecular nitrogen and yield of soya inoculated by nodule bacteria and rhizosphere pseudomonades, *Eurasian Soil Sci+*, 31(8), 889-895.
- Shearer, G., and D. H. Kohl (1986), N<sub>2</sub>-fixation in field settings - Estimations based on natural <sup>15</sup>N abundance, *Aust J Plant Physiol*, 13(6), 699-756.
- Somado, E. A., K. L. Sahrawat, and R. F. Kuehne (2006), Rock phosphate-P enhances biomass and nitrogen accumulation by legumes in upland crop production systems in humid West Africa, *Biol Fert Soils*, 43(1), 124-130.

- Ssali, H., and S. O. Keya (1986), The effects of phosphorus and nitrogen-fertilizer level on nodulation, growth and dinitrogen fixation of three bean cultivars, *Trop Agr*, 63(2), 105-109.
- Tang, C., P. Hinsinger, J. J. Drevon, and B. Jaillard (2001a), Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago truncatula* L, *Ann Bot-London*, 88(1), 131-138.
- Tang, C., P. Hinsinger, B. Jaillard, Z. Rengel, and J. J. Drevon (2001b), Effect of phosphorus deficiency on the growth, symbiotic N<sub>2</sub> fixation and proton release by two bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes, *Agronomie*, 21(6-7), 683-689.
- Vadez, V., and J. J. Drevon (2001), Genotypic variability in phosphorus use efficiency for symbiotic N<sub>2</sub> fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*), *Agronomie*, 21(6-7), 691-699.
- Vadez, V., G. Lim, P. Durand, and H. G. Diem (1995), Comparative growth and symbiotic performance of four *Acacia mangium* provenances from Papua-New-Guinea in response to the supply of phosphorus at various concentrations, *Biol Fert Soils*, 19(1), 60-64.
- Vankessel, C., and J. P. Roskoski (1983), Nodulation and N<sub>2</sub> fixation by *Inga janucuil*, a woody legume in coffee plantations. 3. Effect of fertilizers and soil shading on nodulation and nitrogen-fixation (Acetylene reduction) of *Inga junicuil* seedlings, *Plant Soil*, 72(1), 95-105.
- Vesterager, J. M., N. E. Nielsen, and H. Høgh-Jensen (2008), Effects of cropping history and phosphorus source on yield and nitrogen fixation in sole and intercropped cowpea-maize systems, *Nutr Cycl Agroecosys*, 80(1), 61-73.
- Visser, M., P. Collin, A. O. Belgacem, and M. Neffati (2012), *Argyrolobium uniflorum* seedlings respond strongly to small doses of phosphorus: Consequences for rehabilitating degraded arid fallows in presaharian Tunisia, *Arid Land Res Manag*, 26(3), 261-269.
- Wall, L. G., A. Hellsten, and K. Huss-Danell (2000), Nitrogen, phosphorus, and the ratio between them affect nodulation in *Alnus incana* and *Trifolium pratense*, *Symbiosis*, 29(2), 91-105.
- Yahiya, M., Samiullah, and A. Fatma (1995), Influence of phosphorus on nitrogen fixation in chickpea cultivars, *J Plant Nutr*, 18(4), 719-727.
- Yakubu, H., J. D. Kwari, and M. K. Sandabe (2010), Effect of phosphorus fertilizer on nitrogen fixation by some grain legume varieties in Sudano - Sahelian zone of North Eastern Nigeria., *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 18(1), 19-26.
- Zingore, S., H. K. Murwira, R. J. Delve, and K. E. Giller (2008), Variable grain legume yields, responses to phosphorus and rotational effects on maize across soil fertility gradients on African smallholder farms, *Nutr Cycl Agroecosys*, 80(1), 1-18.

## Supporting Information B:

### Analyzing the potential biases of meta-analyses

According to Gurevitch and Hedges [1999] and Ioannidis [2010], the main biases encountered in meta-analyses are research bias, publication bias, significance-chasing bias and bias due to subjective inclusion-exclusion criteria. In the present supporting information, we tried to evaluate the risk associated with each of those potential biases in our meta-analysis.

#### Research bias

The research bias is the consequence of a tendency to carry out studies on topics that are expected to produce significant differences among treatments. This potential bias may be particularly important when the conclusions of the meta-analysis are extrapolated beyond the context of the basic studies used [Gurevitch and Hedges, 1999]. For instance, a region where the effects of the process are high and significant may be overrepresented in the literature due to the research bias. In our study, data collected was not preferentially located in one region, country or biome (Figure S1). Moreover, one of the main results of our meta-analysis was that, in most cases, the specific  $N_2$  fixation rate of plants growing in soil was not modified by an improved P supply (Figures 3, 4, and 5). In our opinion, a research bias is not applicable here because far from all the publications were only focused on the effect of P supply on  $N_2$  fixation rates. In most cases, the authors rather reported effects of P supply (and other factors) on several variables, one of which was fixation rate. In other words, the publications we collected had very different objectives and, consequently, very different initial expectations. We thus assumed that this potential bias did not affect our study.

#### Publication bias

The publication bias could originate from the tendency that results which are statistically insignificant are less likely to be published than those which are significant. This potential bias is fairly easy to check visually. Indeed, when it occurs, the publication bias causes a bimodal distribution of the number of publications with a low frequency of studies with low values of relative response (see equation (1) in Material & Methods). We tested this for biomass and specific fixation rate of plants and on the contrary found unimodal distributions (Figures S2 and S3). Based on these results, we concluded that there was no obvious publication bias. Consequently, we assumed that our meta-analysis was not affected by this bias.

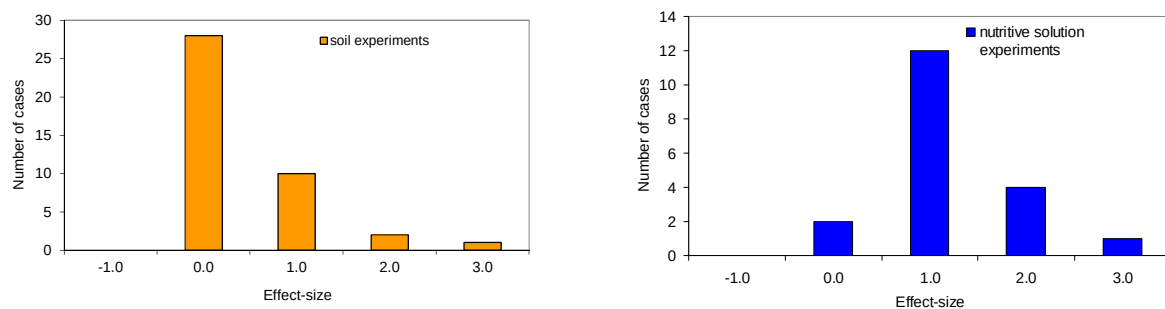


**Figure S2.** Distribution of the studies collected in the meta-analysis based on the growth response of plant to P supply.

**Left,** experiments using soil as growing medium; **right,** experiments using artificial growing medium and nutritive solutions. The effect-size is the  $\log(P\text{-fertilization/control})$  ratio. See main text for full explanations.

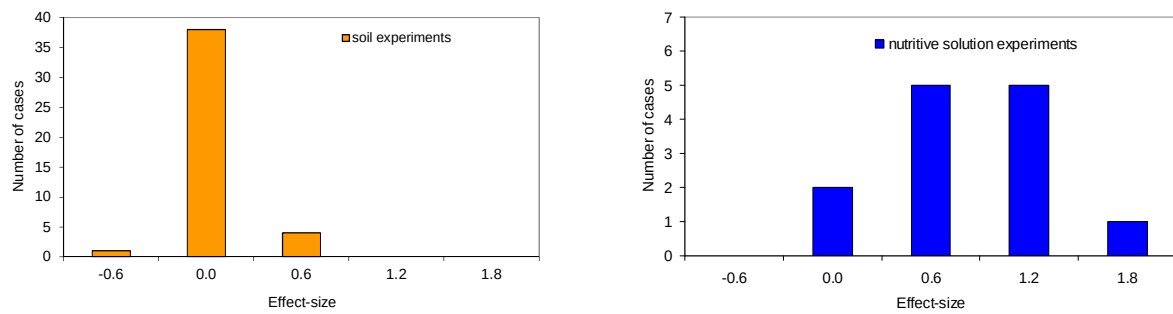


**Figure S3.** Distribution of the studies collected in the meta-analysis based on the specific fixation rate response of plant to P supply.

**Left**, experiments using soil as growing medium; **right**, experiments using artificial growing medium and nutritive solutions. The effect-size is the  $\log(P\text{-fertilization/control})$  ratio. See main text for full explanations.

### ***Significance-chasing bias***

The significance-chasing bias is the result of the tendency for authors to over highlight positive significant results at the expense of negative, or insignificant, results [Ioannidis, 2010]. In our meta-analysis, we deliberately did not take into account the conclusions of the publications we selected, limiting our main investigations to the description of the sections *Material & Methods* and *Results*. In practice, we did not collect datasets that were presented as significant in a different way from those which were insignificant in the publication: only the values of the variables we studied were collected (e.g. plant biomass or fixation rate). When several datasets with contrasted results were presented in the publication (e.g. strong interactions with factors other than P supply), we did not choose the “best” dataset but instead relied on the criteria which we set *a priori* (see Supplementary Material A for details on the criteria we used; see below for evaluation of the inclusion-exclusion bias).

### ***Inclusion-exclusion bias***

In all meta-analyses, authors have to set inclusion-exclusion rules. Indeed, basic publications on a given topic are not designed to be compared and, consequently, some of them could not be compared because one parameter differed too much and thus led to inconsistency.

The inclusion-exclusion bias is the consequence of the temptation for the author of a meta-analysis to include only publications that are consistent with the conclusions that he/she already intuitively reached before starting the meta-analysis [Ioannidis, 2010]. In this view, the author also excludes, more or less consciously and honestly, publications that are not in line with his/her opinion. The ways this can happen are 1) unwanted publications are ignored (and thus not cited) or 2) specific exclusion rules are enacted which in turn “allow” the author to discard the disturbing publications. Obviously, the inclusion-exclusion bias is related to honesty. In our opinion, it is more difficult to prove honesty than to find evidence of malpractice. Here we can only give the following arguments and certify that we collectively followed the deontologic rules of science:

First, we used holistic non-specific queries to cover a large proportion of the literature related to our subject. Such queries can easily be reproduced and the results compared with the list of publications we used. Secondly, the inclusion-exclusion criteria were collectively defined *a priori*. Finally, when a publication was not clearly in agreement with the inclusion-exclusion criteria, we showed the litigious case to colleagues who were not authors of the present study. The inclusion, or the exclusion, of the publication in the meta-analysis was then decided in accordance with this informal steering committee.

## **References**

- Gurevitch, J., and L. V. Hedges (1999), Statistical issues in ecological meta-analyses, *Ecology*, 80(4), 1142-1149.
- Ioannidis, J. P. A. (2010), Meta-research: The art of getting wrong, *Research Synthesis Methods*, 1, 169-184.

## Supporting Information C:

### Supplementary results

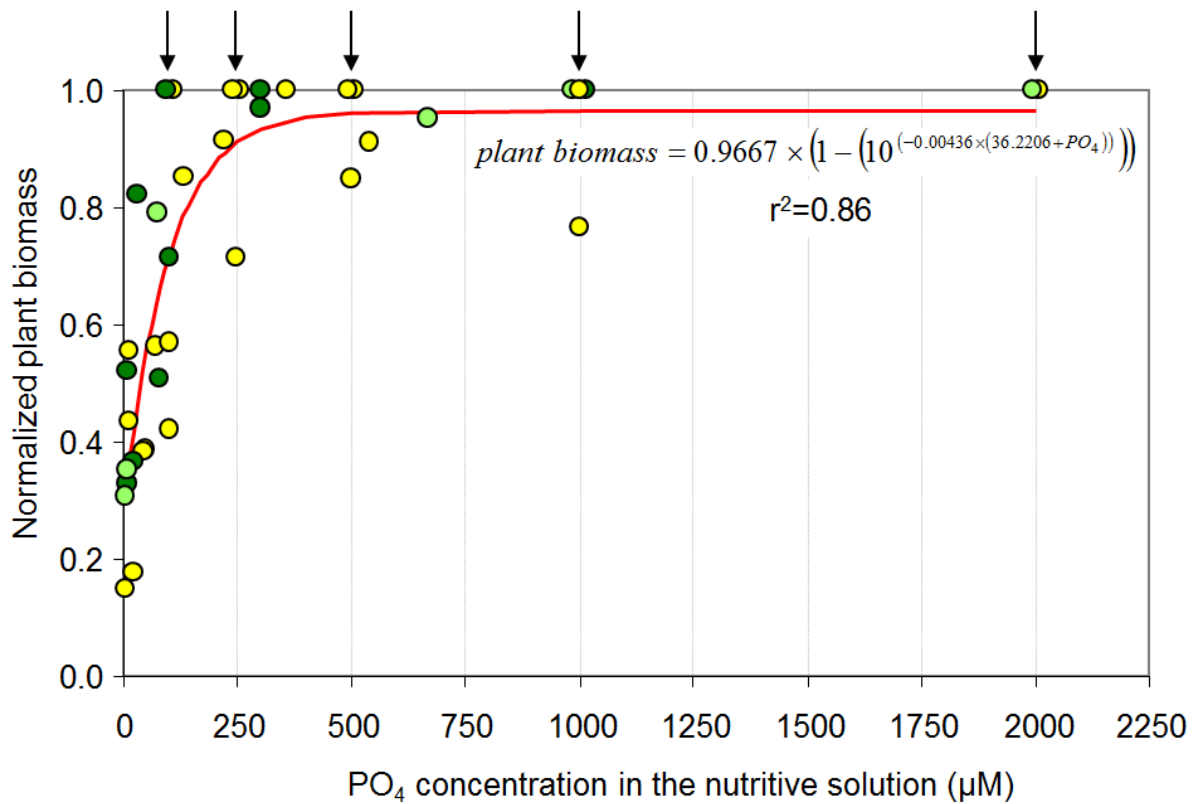


**Figure S4.** Effect of  $PO_4$  concentration in the nutritive solution on the normalized plant biomass.

Only studies having a sufficient large range of concentration values were retained (i.e. at least one order of magnitude of difference between the lowest and the highest value of  $PO_4$  concentration). Yellow = cropland; green = grassland or savanna; khaki = forest. Some plots had the same coordinates and were slightly moved in the graph for clarity (moved points are signalized by an arrow).



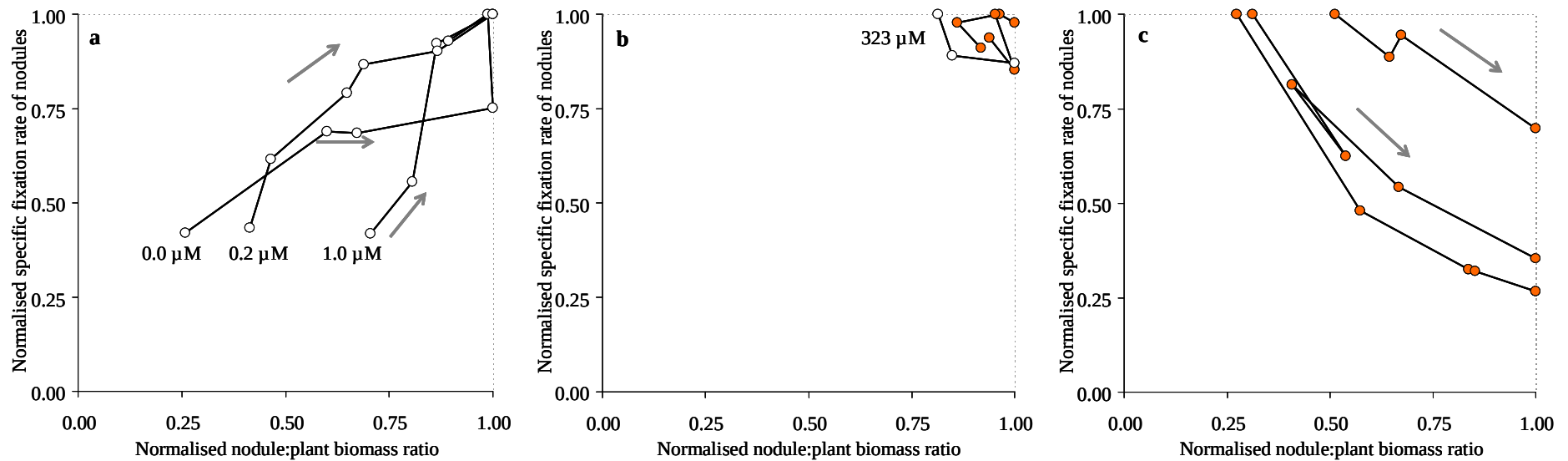


**Figure S5.** Effect of P supply on the normalised nodule: plant biomass ratio and normalised specific fixation rate of nodules.

Normalized values of both axes (i.e. abscisse axis: nodule:plant biomass ratio; ordinate axis: nodule specific fixation rate) were calculated as follows:

$normalized\ value = (treatment\ value) / (maximum\ value\ of\ each\ case\ study)$

**a.** concomitant increases. **b.** concomitant stability. **c.** compensatory adjustments. Arrows indicate an increasing P supply. For the sake of clarity, only three case studies are plotted in each graph. These case studies were chosen because they were representative of the most common cases observed and because they had at least three levels of P supply. Open symbol = nutritive solution experiment; closed symbol = soil experiment. For nutritive solution experiments, the lowest concentration of  $\text{PO}_4$  in the nutritive solution is indicated.

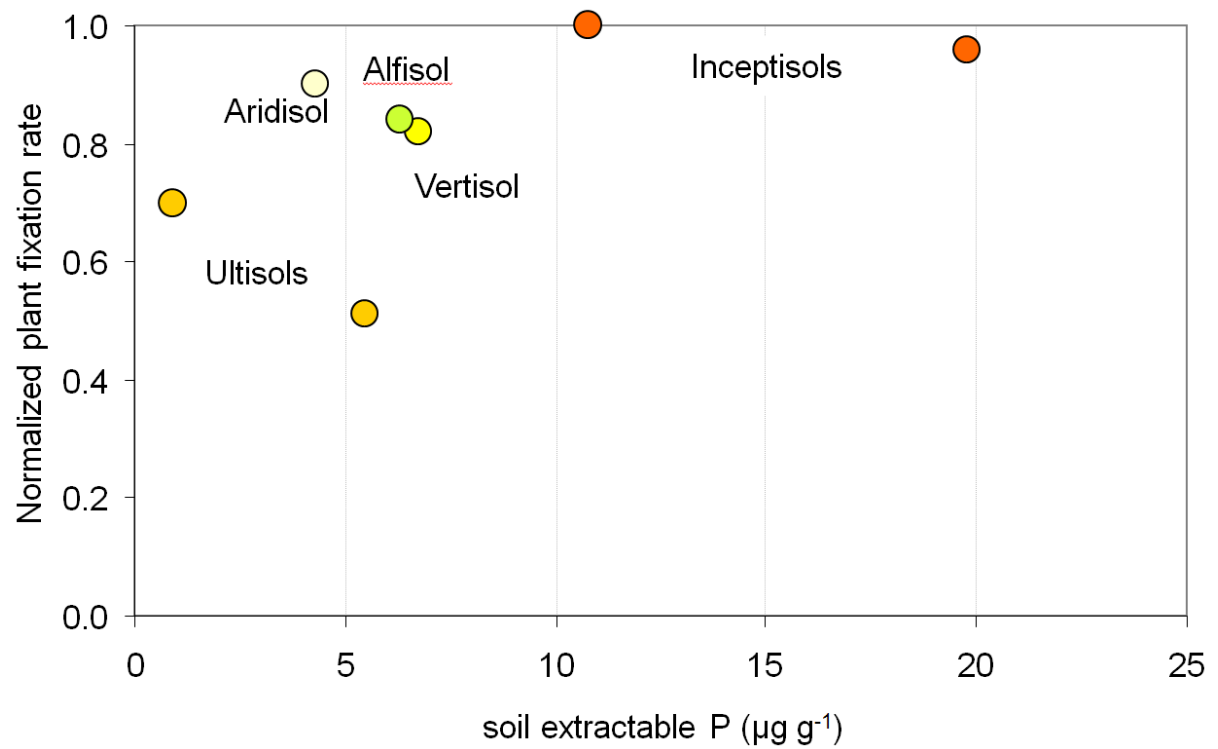


**Figure S6.** Soil extractable P in some soil experiments which studied the specific N<sub>2</sub> fixation rate of plants.

All points are control treatments of soil experiments (no soil P data for fertilized plants in most studies). All points shared the same method of soil P extraction (extractant = sodium bicarbonate).

**Table S3.** Effect of improved P supply on biomass, N–P contents and SNF flux of plants grown in soils.

| Growth medium                                 | Variable             | Increase resulting from enhanced P supply <sup>⬠</sup> |                      |
|-----------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------|----------------------|
|                                               |                      | mean increase                                          | test of significance |
| Pots filled with soil<br>(greenhouse studies) | plant biomass        | +163 ± 99%                                             | $P < 0.001$          |
|                                               | [N] <sub>shoot</sub> | +2 ± 2%                                                | $P = 0.330$          |
|                                               | [P] <sub>shoot</sub> | +36 ± 11%                                              | $P = 0.001$          |
|                                               | SNF flux             | +134 ± 74%                                             | $P < 0.001$          |
| Field                                         | plant biomass        | +62 ± 20%                                              | $P < 0.001$          |
|                                               | [N] <sub>shoot</sub> | +7 ± 4%                                                | $P = 0.228$          |
|                                               | [P] <sub>shoot</sub> | +52 ± 21%                                              | $P = 0.022$          |
|                                               | SNF flux             | +198 ± 83%                                             | $P < 0.001$          |

⬠: Values = mean ± 1 standard error. Significant differences were tested with paired *t*-test between *high* and *low* P supply; *low* supply was 0 µg-P g<sub>soil</sub><sup>-1</sup>. Calculations were not performed when there were less than 5 replicates.



# Phenotypic plasticity in reproductive traits of an invasive shrub, *Ulex europaeus*, in response to shading: a multi-year monitoring of cultivated clones.

---

Cette annexe est un article soumis à la revue Plant Biology par Anne ATLAN<sup>1</sup>, Benjamin HORNOY<sup>2</sup>, Florian DELERUE<sup>3</sup>, Maya GONZALEZ<sup>3</sup>, Louis PARIZE<sup>1</sup>, Jean-Sébastien PIERRE<sup>1</sup>, Michèle TARAYRE<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 6553 ECOBIO, Université Rennes 1, 35042 Rennes, France; <sup>2</sup> Present address: IBIS, Université Laval, Québec, Canada; <sup>3</sup> UMR 1220 TCEM, Université de Bordeaux, 33883 Gradignan, France

**Running title:** phenotypic plasticity in gorse

**Key words:** phenotypic plasticity - reproductive traits – light exposure - invasive species - woody species - *Ulex europaeus*

## Abstract

Phenotypic plasticity, i.e. the capacity of a genotype to change its phenotype in response to changes in the environment, is fundamental to the evolution of plant species' geographic distribution, to their adaptation to a new environment and hence to their invasiveness. This is especially true for perennial plants, because their genotypes respond less quickly to selection pressures than annuals. However, few studies have explored the plasticity of woody species, and most of them focused on seedling vegetative traits, while plasticity of adult reproductive traits is of key importance for adaptation to different climates. This study focuses on a woody invasive shrub, *Ulex europaeus*, and on the response of its reproductive traits to one environmental factor, shading. The study was performed on clones originating from western France (in the native range of the species) and grown for seven years. During four reproductive seasons we compared trait values in a shade-house and in full daylight. The traits monitored include fertility traits (pod production, seeds per pod and seed predation) and flowering phenology. Gorse exhibits a polymorphism of flowering strategies linked to the avoidance of seed predation. All the traits studied responded to shading, and the level of plasticity depended on the trait, on the genotype and on the year. We also compared responses to different levels of shade, and found that heavy shade induced a radical but reversible change in reproductive investment while light shade had little effect on trait expression. These results provide a new explanation for the determinant of gorse flowering strategies, and new evidence for the involvement of plasticity in plant distribution and invasiveness.

## Introduction

The ability to colonize environments with climatically contrasting conditions is fundamental to the evolution of a species' geographic distribution. It also plays a key role in adaptation to global changes and in biological invasions, both of which currently threaten biodiversity. Two main mechanisms can promote adaptation to a new environment - genetic evolution and phenotypic plasticity. Genetic evolution depends on the evolutionary potential of populations, which is mainly due to their genetic diversity (Lee 2002; Lavergne and Molofsky 2007; Calsbeek et al. 2011). When such diversity is present, genetic evolution can be very rapid, as shown by studies of geographical clines for invasive species present in a wide range of climates (eg Weber and Schmid 1998; Colautti et al. 2009; Alexander et al. 2012). However, the selection of a gene pool meeting the new conditions requires several generations, and cannot be the only factor in the adaptation of the first migrants.

In the first stages of colonization, phenotypic plasticity (i.e. the capacity of a single genotype to change its phenotype in response to changes in the environment) plays a fundamental role in the colonization success of a species, and is thus considered as an important determinant of the species invasiveness (Sexton et al. 2009; Dyer et al. 2010). In a meta-analysis of 75 pairs of species, Davidson et al. (2011) have shown that invasive species are generally more plastic than native species. Although this meta-analysis did not reveal any direct effect of this plasticity on fitness, such an effect has been demonstrated in other studies. Traits involved include the adaptation of flowering phenology to biotic and abiotic factors, or the ability to mobilize resources (eg Matesanz et al. 2012; Hahn et al. 2012). This adaptation can also affect the allocation of resources between functions. For example, when resources are limited it may be beneficial to invest more in growth than in reproduction (Obeso 2002; Weiner et al. 2004), or in the case of pollen limitation, it may be preferable to invest more in seed weight than in seed number (Galloway and Etterson 2007; Paul-Victor and Turnbull 2009).

Plasticity may also allow adaptations when genetic diversity is too low for selection to be effective, as is the case when the introduction is accompanied by a severe bottleneck (Meimberg et al. 2006) or for clonal species, such as *Spartina anglica* (Baumel et al. 2002), *Egeria densa* (Riis et al. 2010) and *Eichhornia crassipes* (Zhang et al. 2010). But plasticity can also increase the evolutionary potential provided by high genetic diversity, as in *Tamarix ramosissima* (Sexton et al. 2002). The role of plasticity in the colonization process in plants has been studied mainly in weeds (Sexton et al. 2002; Parker et al. 2003; Mal and Lovett-Doust 2005) while it is potentially even more crucial in woody species with long generation times, because their genetic evolution responds less quickly to selection pressures. However, the study of adult plasticity of woody species, and in particular the plasticity of their reproductive traits, has rarely been undertaken either in native or invasive populations (Davidson et al. 2011). Indeed, such studies are generally made on plants grown under controlled conditions, which is difficult in species of large size and which take a long time to reach sexual maturity. Yet invasive woody species can also be distributed over large geographical areas and pose serious ecological and economic problems. This is the case for example of *Robinia pseudoacacia*, *Albizia julibrissin*, *Miconia calvenscens*, *Triadica sebifera*, and the species studied here, *Ulex europaeus* (Holm et al. 1997).

Gorse, *Ulex europaeus*, is a hexaploid shrub, native to western Europe, and one of the 30 worst invasive plant species listed by the IUCN (McNeely et al. 2001). It is regarded as a noxious weed in more than 15 countries, including USA, Canada, Chile, South Africa, Australia and New Zealand (Holm et al. 1997). It was introduced in the 19th century to all continents, and forms successful populations in a wide range of latitudes (5 ° to 50 ° N and S) and altitudes (from 0 to more than 3500 meters). This indicates an ability to adapt to very different climatic conditions, with a large range of light intensity and temperature. Flowering phenology, in particular, has shown a remarkable adaptability, since the peak of flowering

occurs in the winter in tropical climates, in the spring in temperate climates and in the summer in the coldest climates (reviewed in Hornoy 2012).

Adaptation to such contrasting climates may result from selection within pre-existing variability, imported from the large genetic and phenotypic diversity present for reproductive traits in the native range (Tarayre et al. 2007; Atlan et al. 2010) and introduced into the invasive range (Hornoy et al. 2011). This large genetic and phenotypic diversity is thought to be maintained in the area of origin by selection pressures exerted by a seed predator that may attack up to 90% of the pods, *Exapion ulicis* (Barat et al. 2007; Rees and Hill 2001). Two strategies are involved in the avoidance of seed predation by gorse in its native range: 1) an "escape in time" strategy, corresponding to a long-flowering type (from winter until spring), that results in a fruiting spread out over time, mainly before the breeding periods of the seed predators, and 2) a "satiation of predators" strategy with an abundant flowering and fruiting during a short period of time in spring. Year-to-year variability of the relative success of these two strategies would have maintained the wide variety of reproductive traits observed in the native range (Tarayre et al. 2007; Hornoy et al. 2011). Although we have shown that these variations have a genetic basis (Atlan et al. 2010), phenotypic plasticity may also explain the wide range of trait values found in the area of origin and in the invaded areas (Hornoy 2012). Indeed, significant plasticity is often found in polyploid species (Jackson and Chen 2010). It is therefore likely that besides the significant evolutionary potential conferred by genetic diversity, plasticity contributes to further increase gorse's ability to adapt to a changing environment.

In the present study we explore by multi-year monitoring the plasticity of *Ulex europaeus* in controlled conditions. In order to investigate the genetic variability of plasticity, we developed a protocol to clone and compare plants with different genotypes. Like many woody species, gorse does not flourish in greenhouses, and the study was therefore carried out in a common garden. We chose to manipulate a single parameter, the light exposure, growing the clones in the light or in a shade-house for several years. The present study is, to our knowledge, the first multi-year monitoring of plasticity in reproductive traits of a woody species in such controlled conditions. However, it benefits from comparison with the recent study of Delerue et al. (2013) in the same species, who explored plasticity of growth and fertility in natural populations. Here, we focused both on fertility (pod and seed production, seed predation), and on flowering phenology, a trait of particular importance in adaptation to climatic variability (Wolkovich and Cleland 2011).

Our objective was to answer the following questions: 1/ What is the response to shading of traits related to fertility and what are the factors influencing their plasticity? 2/ What is the response to shading of flowering phenology and what are the factors influencing flowering plasticity? 3/ Does the plasticity of these traits depend upon the genotype? 4/ How can the plasticity of gorse reproductive traits play a role in gorse distribution and invasiveness?

## Materials and methods

### The biological model

*Ulex europaeus* (Fabaceae, Genisteae) is a thorny hermaphrodite shrub widespread along the European Atlantic coasts, from Portugal to the British Isles, and is very abundant in Brittany (western France). Its lifespan is about 15 years; plants begin to flower at the age of 3 and their adult height varies from 1 to 4 meters. The flowering season lasts from September to April. The earliest-flowering plants flower from autumn to spring, and the latest-flowering plants only flower in spring. Flowers are pollinated by bees or bumblebees. They remain open for up to three weeks, ensuring successful pollination even during winter (Bowman et al. 2008). Plants differ in their time of flowering onset, but the end of flowering is more synchronous, and occurs at the end of spring. Pod ripening is longer for the earliest pods, so that most ripe pods are produced in May-June (Tarayre et al. 2007; Atlan et al. 2010).

Gorse pods are infested by three types of insect (Barat et al. 2007): the weevil *Exapion ulicis* (Curculionidae) is a seed predator specific to *Ulex europaeus* that can infest up to 90% of the pods produced by the spring flowering (Hill et al. 1991). Females lay eggs inside the pods and larvae feed on the seeds. Adult weevils cannot leave the pod by themselves and are released together with the seeds when the mature pods open. The weevil can in turn be attacked by a parasitoid wasp, the hymenopteran *Pteromalus sequester* (Pteromalidae), that develops in the larvae of *Exapion ulicis* and is released at the same time. Its presence reveals previous infestation by a weevil. Larvae of the moth *Cydia succedana* (Tortricidae) also develop within pods, but they are able to bore a hole to get out of the pod by themselves. However, their past presence is typically indicated by a hole and excrement.

### Origin of the clones

Seeds were collected from natural populations in Brittany in 2001, germinated and planted in an experimental garden on the campus of the University of Rennes 1 in 2002 (see Atlan et al. 2010 for details). In 2005, five of these plants were sampled. Three of them, named L1, L2 and L3, had a long-flowering phenotype; the two others, named S1 and S2, had a short flowering phenotype.

Cloning was done in September 2005 by taking cuttings from the ends of un lignified shoots. To facilitate root development, we wetted the cut ends with 0.25%  $\beta$ -indole butyric acid (rooting hormone) before planting them in pots filled with an equal proportion of sand, soil and vermiculite. The pots were then placed in a growth chamber and subjected to a photoperiod of 18:6 (day:night) until rooting. Ten clones per genotype were transplanted into 10 cm diameter pots and grown in a greenhouse for one year. We limited the number of clones per genotype to 10 (50 clones in total), due to the size and the surface area covered by an adult gorse bush. For the 50 clones we used a garden of 200m<sup>2</sup> and a shade-house of 80m<sup>2</sup>.

In 2006, the cuttings were planted in a common garden on the campus of Rennes 1, at a minimum distance of 1.20m between plants, in two randomized blocks. Each block contained five clones of each of the five genotypes, i.e. 25 clones per block. In July 2007, before the first reproductive season of the clones, a shade-house excluding 65% of incident radiation was installed on one of the two blocks, the other being left uncovered. By August 2009 the plants in the shade had completely ceased to flourish and fructify, so the shade-house with 65% shading was replaced by one with 30% shading.

### Measurements

Monitoring was done from 2007 to 2012, with the exception of the 2010/2011 reproductive season. Four reproductive traits were measured: dates of flowering onset, pod density



(number of pods per shoot), number of seeds per uninfested pod and pod infestation rates (proportion of pods infested with *Exapion ulicis* and / or *Cydia succedana*) following the protocol used by Atlan et al. (2010). In addition, the flower density (number of flowers per shoot) was measured in 2009 and 2010; flower length was measured in 2009, and the height and width of the plants were measured in 2009.

*Flowering phenology.* In Brittany, gorse may begin to flower from September to April (Tarayre et al. 2007). The flowering stage of the plants was thus recorded every two weeks from September. The date of flowering onset corresponded with the appearance of the first flowers, associated with the presence of large flower buds. As in all previous studies we made on gorse in Brittany, the end of flowering occurred roughly at the same period (April/May) for all plants, so that flowering onset and flowering length were highly correlated ( $N=192$ ,  $R=0.91$ ,  $P<10^{-3}$ ), so we will only present the results of flowering onset.

*Pod and flower production.* When the plants were at their peak of flowering (in April), or at their peak of fruiting (in June) six shoots per plant were chosen at random. The number of open flowers or of ripe pods produced in each of the six shoots was counted as in Tarayre et al. (2007), and the plant mean of these six measurements was calculated. The number of flowers or pods per shoot will be referred to as flower density or pod density.

*Seed predation and number of seeds per uninfested pod.* At each visit we opened ripe pods to observe their contents. When enough ripe pods were available, 30 were opened at random. In each pod we counted the number of seeds and recorded the presence of the different predators. The proportion of pods infested by weevils was estimated by dividing the number of pods containing at least one weevil or one parasitoid by the total number of open pods. The proportion of pods infested by moths was estimated by dividing the number of pods containing a moth or moth traces by the total number of open pods. The number of seeds per uninfested pod was calculated from ten pods devoid of any parasite. Flat, rotten or chewed seeds were excluded from the counts.

The measurements used for comparisons were those made at the end of June, when the fruiting periods of all flowering types overlap. Measurements made at this time were found to provide good estimates of the overall infestation rate in spring and of the mean number of seeds per pod (Tarayre et al. 2007; Atlan et al. 2010).

*Flower length* was measured only once, in late June 2009. The mean flower length of each clone was estimated by measuring five flowers taken at random on five different shoots per plant. Previous studies had shown that this measurement is strongly correlated with other estimates of flower size (flower width, sepal length, Bowman et al. 2008).

*Plant height* was measured only once in September 2008. For each plant, we measured the height at the highest point. Because the angles of the main branches may vary depending on the plant, we also measured the length of the three longest branches and calculated their means. These means were highly correlated with plant height ( $N=48$ ,  $R=0.69$ ,  $P<10^{-3}$ ), so we will only present the results of plant height.

## Statistical analysis

Statistical analysis was done with SAS (SAS Institute 2005) and R (R Development Core Team 2010).

The effects of shading, genotype and year on the variables "flowering onset", "pod density", "seeds per pod" and "proportion of infested pods" were analysed with the type III ANOVA of the PROC GLM of SAS (after arcsine root transformation for "proportion of

infested pods"). The three factors were crossed. The correlation between flower density and pod density was tested with a Spearman nonparametric correlation.

Temporal dynamics of flowering onset was analysed by a Cox survival model in R. Since flowering onset is expressed as the number of days since September 1<sup>st</sup>, they can be analysed in a similar way to survival data. The tests were made by analysis of deviance: chi-square approximation of the likelihood ratio.

To test the influence of these three variables on flowering onset, we used the model devised by INRA (National Institute of Agronomic Research) under the name CRITICOR (Pierre et al. 1986). The data (mean daily temperature, hours of sunshine and precipitation) come from the Meteo-France weather station of Rennes. As climatic influences are often cumulative and delayed, the model explores systematically the sum or the average obtained for the tested weather variable on a large number of periods each year. It then calculates the correlation coefficient between the values obtained for the different periods and flowering onset for each year from 2007 to 2012. Significant correlation coefficients indicate which weather variables are influential and at what time of year. Statistical validation is performed by random sub-sampling (bootstrap, 500 permutations).

## Results

**Table 1a** ANOVAs made on main reproductive variables - years 2007/08 and 2008/09

| shade: 65%              | ddl | flowering onset |                   | pod density |                   | seeds / pod |                   | rate of infested |                   |
|-------------------------|-----|-----------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|------------------|-------------------|
|                         |     | F               | P                 | F           | P                 | F           | P                 | F                | P                 |
| genotype                | 4   | 37.4            | <10 <sup>-3</sup> | 3.32        | 0.01              | <b>54.9</b> | <10 <sup>-3</sup> | 3.92             | <10 <sup>-2</sup> |
| shade                   | 1   | 19.8            | <10 <sup>-3</sup> | <b>194</b>  | <10 <sup>-3</sup> | 52.6        | <10 <sup>-3</sup> | <b>116</b>       | <10 <sup>-3</sup> |
| year                    | 1   | <b>101</b>      | <10 <sup>-3</sup> | 36.1        | <10 <sup>-3</sup> | 3.85        | 0.054             | 101              | <10 <sup>-3</sup> |
| gen*shade               | 4   | 5.21            | <10 <sup>-3</sup> | 2.61        | 0.042             | 11.2        | <10 <sup>-3</sup> | 0.81             | ns                |
| gen*year                | 4   | 12.3            | <10 <sup>-3</sup> | 2.82        | 0.030             | 5.87        | <10 <sup>-3</sup> | 2.34             | 0.06              |
| shade*year              | 1   | 0.01            | ns                | 2           | ns                | 4.83        | 0.031             | 34.5             | <10 <sup>-3</sup> |
| model (R <sup>2</sup> ) | 94  | (0.82)          | <10 <sup>-3</sup> | (0.78)      | <10 <sup>-3</sup> | (0.85)      | <10 <sup>-3</sup> | (0.86)           | <10 <sup>-3</sup> |

**Table 1b** ANOVAs made on main reproductive variables – years 2009/10 and 2011/12

| shade: 30%              | ddl | flowering onset |                   | pod density  |                   | seeds / pod |                   | rate of infested |                   |
|-------------------------|-----|-----------------|-------------------|--------------|-------------------|-------------|-------------------|------------------|-------------------|
|                         |     | F               | P                 | F            | P                 | F           | P                 | F                | P                 |
| genotype                | 4   | 9.28            | <10 <sup>-3</sup> | <b>11.26</b> | <10 <sup>-3</sup> | <b>101</b>  | <10 <sup>-3</sup> | 4.09             | <10 <sup>-2</sup> |
| shade                   | 1   | 12.1            | <10 <sup>-3</sup> | 1.35         | ns                | 14.4        | <10 <sup>-3</sup> | <b>9.62</b>      | <10 <sup>-2</sup> |
| year                    | 1   | <b>594</b>      | <10 <sup>-3</sup> | 10           | <10 <sup>-2</sup> | 2.94        | 0.09              | 0.02             | ns                |
| gen*shade               | 4   | 2.40            | 0.06              | 1.74         | ns                | 0.99        | ns                | 2.07             | 0.09              |
| gen*year                | 4   | 6.93            | <10 <sup>-3</sup> | 7.67         | <10 <sup>-3</sup> | 3.14        | 0.02              | 2.28             | 0.07              |
| shade*year              | 1   | 2.02            | ns                | 3.09         | 0.083             | 1.04        | ns                | 1.57             | ns                |
| model (R <sup>2</sup> ) | 94  | (0.89)          | <10 <sup>-3</sup> | (0.54)       | <10 <sup>-3</sup> | (0.89)      | <10 <sup>-3</sup> | (0.41)           | <10 <sup>-3</sup> |

The last line gives the R<sup>2</sup> of the model and its significance.  
In bold, the most significant factor - ns: not significant (P<10%)

## ANOVA for the main reproductive variables

For variables measured during 4 years, the statistical model including the effects "genotype", "shade", and "year" and their interactions explains between 41 and 89% of the variance, depending on the trait (Table 1). The results are presented separately for the two levels of shading, but similar levels of significance were found when the data were pooled (Table S1 of the Appendix).

The effect of genotype was always significant for all traits, but the factor with the greatest influence (the one with the highest F value) depended on the trait. For the date of flowering onset, the most influential factor was the year. For the pod density, shading played a major role with 65% shade, but with only 30%, genotype was more influential. For seeds per pod, the main factor was the genotype, and for the rate of infested pods, the main factor was shade. The most important interactions were those between genotype and year for the date of beginning of flowering.

## Effects of shade on the main reproductive variables

*Flowering onset.* Shading tended to delay flowering onset, but this effect depended on the years more than on the shading levels (Fig. 1a and 1b). The effect of shading was related to the mean flowering onset date: large differences were observed when flowering started early (years 2007/2008 and 2011/12) while small or no differences were observed when flowering started late (2008/09 and 2009/10).

*Pod and flower densities.* Shading tends to decrease the production of pods and this effect depends mainly on the shading level: with 65% in 2008 and 2009, the number of pods per shoot declined in the first year and became almost zero in the second year (Fig. 1a). With 30%, in 2010 and 2012, pod production increased and reached the same level as in full daylight (Fig. 1b).

Flower density was measured in 2008 and 2009 with 65% shade. During these two years, shading decreased flower production much as it decreased pod production (Fig. 2): the number of flowers per shoot fell in the first year and became almost zero in the second year. The number of flowers per shoot was strongly correlated with the number of pods per shoot ( $N = 96$ ,  $R_{\text{Spearman}} = 0.88$ ,  $P < 10^{-3}$ ). In addition, analysis of covariance showed that the ratio pods / flowers depended on the shading conditions ( $N = 95$ ,  $F = 2.8$ ,  $P = 0.09$ ).

*Seeds per pod.* Shading tended to increase the number of seeds per pod: with 65% shade, the increase was considerable in the first year, and hard to estimate in the second year due to the small number of pods produced. With 30% the increase in the number of seeds per pods was rather small in the first year, and reached the values observed under daylight by the end of the experiment.

*Rate of infested pods.* Shading reduced the proportion of infested pods to an extent which depended on the degree of shading. With 65% shade, the percentage of infested pods was very low (0-10%). With 30% shade, it increased to 5-30%, but remained lower than in daylight. For the 4 years of observation, the percentage of pods infested by weevils was much higher than for those infested by moths, both in daylight (on average 27.8% of pods infested by weevils, 7.1% by moths) and in the shade (4.2% infested by weevils, 1.5% by moths).

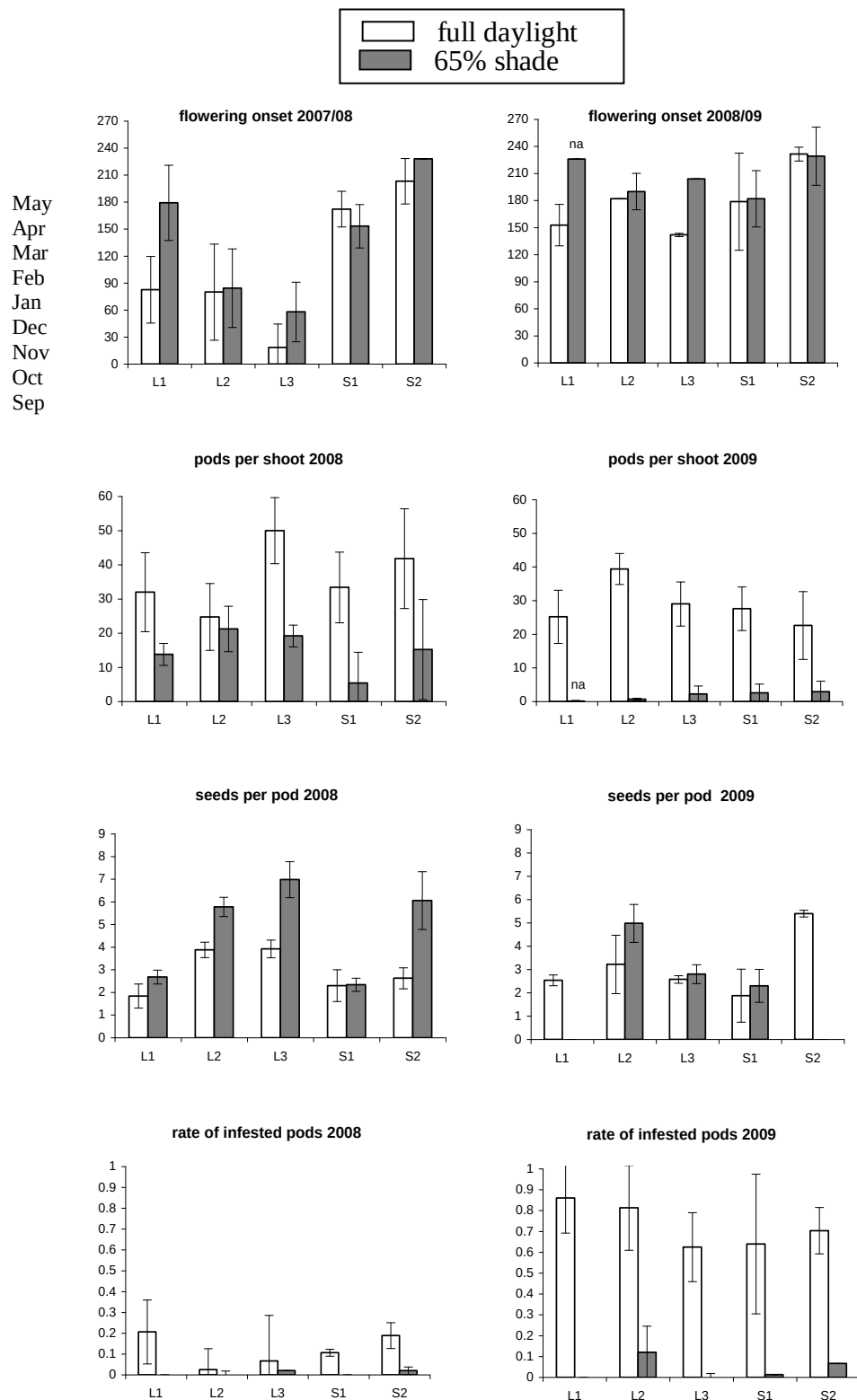


**Fig. 1a Comparison of trait values measured on *Ulex europaeus* in 2007/08 and 2008/09 in full daylight and under 65% shade.**

The mean value per genotype (mean of the 5 clones) is given with the standard deviation. The absence of SD means either that SD=0, or that SD could not be calculated because of missing data (na = not available). Dates of flowering onset are given in days, counted from September, 1 (the beginning of the flowering season), and the corresponding month are given for convenience. All other variables were measured in spring.

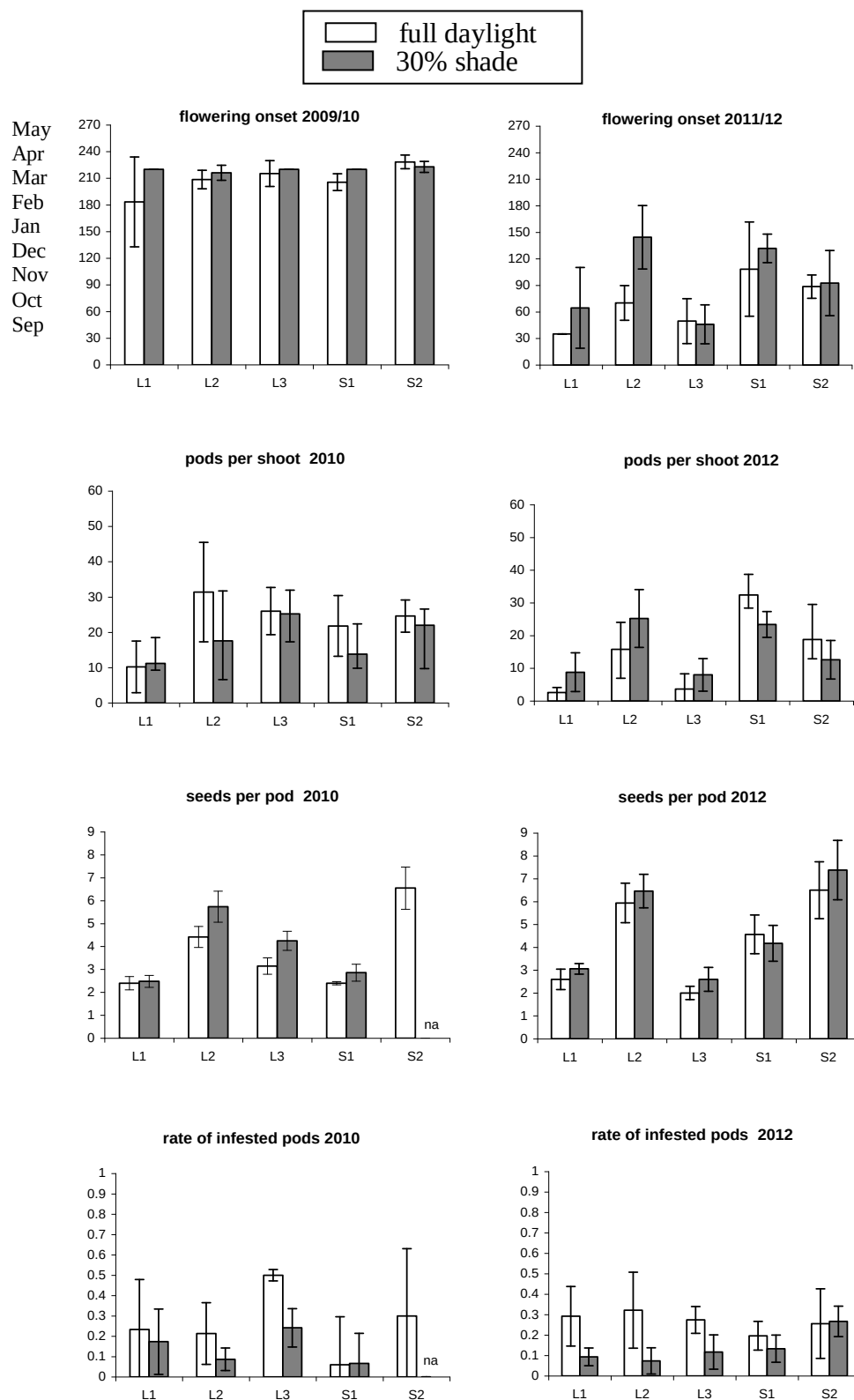


**Fig. 1b Comparison of trait values measured on *Ulex europaeus* in 2007/08 and 2008/09 in full daylight and under 30% shade.**  
 Same legend as Figure 1a.

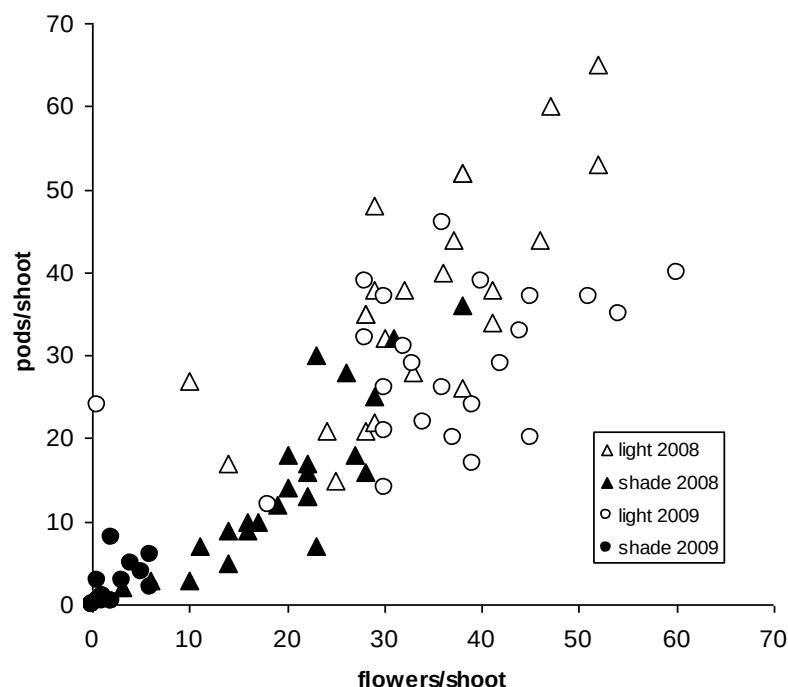


**Fig. 2** Number of flowers and pods per shoot on *Ulex europaeus* in 2008 and 2009 in full daylight and under 65% shade.

**Table 2** ANOVAs made on plant height and flower length measured in 2008/09

|                 | ddl | plant height |            | flower length |            |
|-----------------|-----|--------------|------------|---------------|------------|
|                 |     | F            | P          | F             | P          |
| genotype        | 4   | 45.04        | $<10^{-3}$ | 3.6           | 0.02       |
| shade           | 1   | 6.8          | 0.01       | 38.6          | $<10^{-3}$ |
| gen*shade       | 4   | 1.9          | 0.13       | 4.7           | $<10^{-2}$ |
| model ( $R^2$ ) | 39  | (0.83)       | $<10^{-3}$ | (0.74)        | $<10^{-3}$ |

The last line gives the  $R^2$  of the model and its significance.

### ANOVA for plant height and flower length

These measurements were made in 2008/09, with 65% shade. The effects of genotype and shade are significant for both variables (Table 2). For plant height, the effect of genotype is predominant, and the effect of shading, although significant, is not very large (plants in the shade were slightly taller than plants in the sun, see Fig. 3). For flower length, the effect of genotype is also significant, but the predominant effect is that of shading (flowers in the shade were larger than in the sun, see Fig. 3).

### Effects of genotypes in response to shading

Interactions between genotype and shade were significant for almost all the variables studied, with the exception of infestation rate and plant height (Tables 1 and 2). When significant, these interactions indicate that the response to shading depended on the genotype and the response of each genotype is plotted in Fig. 3. The level of plasticity of a genotype depended on the trait: for example, genotype L1 was the most plastic for the date of flowering onset but the least plastic for the number of seeds per pod, and genotype S2 was the most plastic for the number of seeds per pod, but the least plastic for flower length (Fig. 3).

The flowering type seems to be related to plasticity for two variables: long-flowering genotypes (L1, L2 and L3) respond more to shade than short-flowering genotypes (S1 and S2) for flowering onset (Fig. 3a) and infestation rate (Fig. 3d). Indeed these two variables appeared to be related in all previous studies. Here, the correlation is still high, but not significant due to the small number of genotypes (the latest the flowering onset, the lowest the infestation rate in spring:  $R=-0.62$ ,  $N=5$ ).

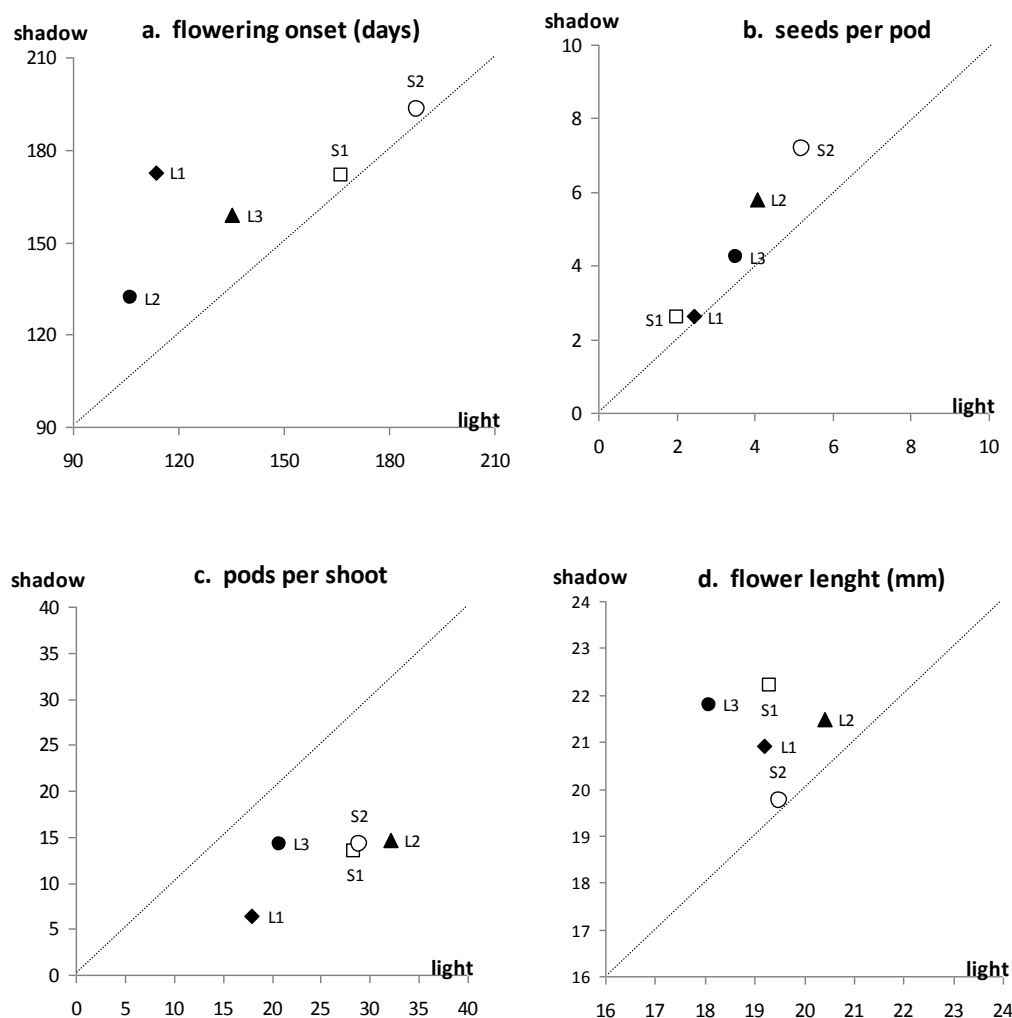


**Fig. 3** Relation between trait means measured on *Ulex europaeus* in full daylight and in the shade.

Each point represents the average of the values obtained for a given genotype for all years of measurement (4 years for a, b, c, one year for d). Dotted line:  $X=Y$  (equal values in daylight and shade).

#### Effects of year-to-year variations on flowering onset

The year was the factor with the greatest influence on flowering onset (Table 1), and the mean flowering onset varied strongly depending on the year, both in the light and in the shade (Fig. 1). Results of the Cox model (Fig. 4 and Table S2 of the Appendix) showed that the whole dynamics of flowering triggering depended on the year. In the years with the earliest flowering onsets (2007/08 and 2011/12), the triggering of flowering was gradual. By contrast, in the years with the latest flowering onsets (2008/09 and 2009/10) the triggering of flowering was abrupt and synchronized for all plants.

To explore the factors that could trigger flowering onset, we tested the relationship between the date of flowering onset and three climatic factors (average temperature, hours of sunshine and precipitation amount per day) measured over the year before each reproductive season. We focused on the correlations between climatic factors and the date of the beginning of flowering, that explained at least 25% of the variance ( $R^2 > 0.25$ ). These conditions were met at a single period: between March 8 and May 16 of the previous reproductive season. During this period, there was a correlation between the date of flowering onset and temperature ( $R < -0.5$ ,  $P < 10^{-3}$ ), rainfall ( $R > 0.6$ ,  $P < 10^{-3}$ ) and irradiance ( $R < -0.6$ ,  $P < 10^{-3}$ ). This means that the warmer, sunnier and drier the weather over this period, the earlier would be the flowering onset in the next reproductive season.

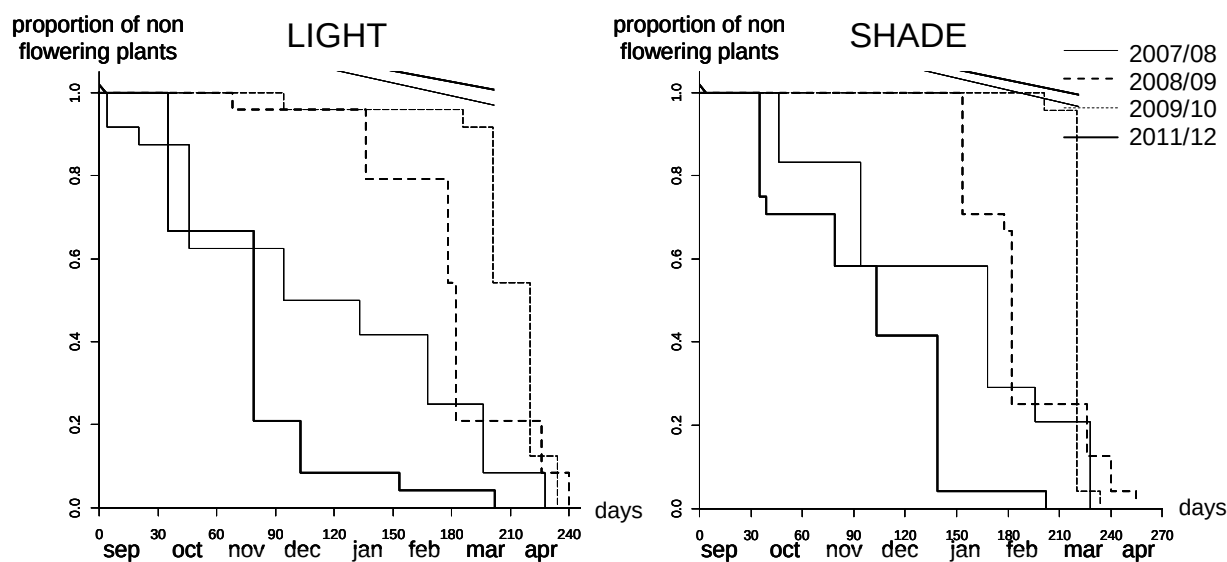


Fig. 4 Dynamics of flowering onset of *Ulex europaeus* in full daylight and in the shade.



## Discussion

All reproductive traits studied responded to shading, exhibiting various levels of plasticity. The use of clones showed that the level of plasticity depended not only on the trait studied but also on the genotype. The multi-year monitoring allowed us to explore year-to-year variability of trait plasticity and to reveal its role in flowering phenology. In addition, we could compare responses to different levels of shading and showed that heavy shade induced a radical but reversible change in reproductive investment, while light shade had little effect on trait expression.

### Effects of shading on variables linked to fertility

*A decrease in reproductive investment.* With 65% shade, pod density was strongly reduced. This reduction in pod production could be due 1/ to a lower production of flowers, resulting from a reduced investment in reproduction, 2/ to a lower success of flowers, resulting from pollen limitation. However, pod density appeared to be closely correlated to flower density - which was also strongly reduced in the shade - and the pod / flower ratio was similar in the shade and in daylight. This implies that reduction in pod production resulted primarily from a decrease in the number of flowers initiated, indicating a lower investment in reproduction.

In our experiment, the investment in growth could not be estimated, and it is likely that the slight elongation observed was only due to withering in response to shade avoidance (Franklin 2008). However, our results can benefit from a comparison with the study of Delerue et al. (2013) in gorse natural populations. Making destructive measurement incompatible with a multi-year monitoring, they could not estimate flower production, but could estimate total biomass and pod production at the plant level. Their results demonstrate that shading not only decreased the total number of pods produced – in agreement with our results at the shoot level - but also induced a change in the growth/reproduction relationship. The combination of the results of the two studies suggests that shading induces a change in the relative resource investment and that, by allowing the maintenance of growth and survival at the expense of reproduction, such plasticity is adaptive (Obeso 2002; Weiner 2004).

*A reversible effect with a threshold.* Shading had an effect on pod density only above a certain threshold. With 65% shade, pod density decreased dramatically from the first year and almost reached zero the following year. However, when the shading was reduced to 30%, pod production increased from the next reproductive season, and reached the same level as in full daylight. The existence of a threshold in the effect of shading on pod production is again in agreement with the results of Delerue et al. (2013), who showed that, in natural populations, shading of more than 60% reduced reproduction dramatically to the point of cessation, whereas with less shading, reproduction was only slightly affected and the growth / reproduction ratio was maintained.

The reversibility of the shading effect on fertility that was revealed by our multi-year monitoring confers even more adaptive capacity on the species than would the plasticity of resource allocation alone. Indeed, a pioneer species is generally disadvantaged during later successional stages due to the closing of the canopy (Pacal and Rees 1998). However clearings in the canopy can appear as a result of a disturbance. The ability of gorse to pause its reproductive effort when the canopy is too dense may thus be a "gap-opportunist" strategy (Closset-Kopp et al. 2007), allowing it to survive in shaded conditions and be ready to produce a large amount of pods if the canopy reopens.

*Consequences on seed production.* The decrease in the number of pods in the shade was partly compensated for by an increase in the number of seeds per pod, which can result from a re-allocation of resources (Leishman 2001). However, a change in the number of fruits per plant rarely compensates for the variation in the number of seeds per fruit (Herrera 1991). In

gorse, the effect of shading on seed production was also compensated for by a decrease in the extent of pod infestation observed in the shade. This decrease was very strong with 65% shade, when there was almost no pod infestation, but it was also observed with 30% shade.

The reduced pod infestation in the shade can be explained by the strong phototropism of weevils (Major et al. 2009; Hough-Goldstein and LaCoss 2012) added to a lower attractiveness of shaded plants. Shaded plants had a lower pod density while seed predators are attracted by the densest patches (Jones and Comita 2010). These direct and indirect effects of shading on weevils combined to reduce pod infestation, but could not restore seed production under heavy shade, since pod production almost ceased. However with light shading, where pod production was only slightly affected, the reduction of pod infestation may induced a similar – or even higher – seed production in the shade than in full daylight.

*The effect of genotype.* For all traits related to fertility (pod density, seeds per pod, flower length), the interaction between genotype and shade observed under 65% shade shows that different genotypes had different levels of plasticity. Such a genetic polymorphism of reproductive trait plasticity was found in many herbaceous species (reviewed in Scheiner 1993; van Kleunen and Fischer 2005), but is exemplified here for the first time in a woody species. Since the level of plasticity of a genotype depended on the trait, it was not possible to infer that some genotypes were more plastic than others. The interaction between genotype and shading was lower under 30% shade, suggesting that the ability to cope with moderate shading was present in all genotypes.

Year-to-year variation could hardly be explored for these traits, since the degree of shading, the genotypes and their interaction explained most of their variance. The situation is thus different for traits linked to fertility and for flowering onset, for which year-to-year variations had the stronger effect.

#### Effect of shading on flowering onset

*A delay with large year-to-year variations.* Shading delayed the average date of flowering onset, as observed in the majority of species (e.g. Benvenuti et al. 1994). However, whatever the level of shading, the year effect was the main determinant of flowering onset, being far greater than the effects of genotype or shading. It is interesting to note that big differences between environments (light vs. shade) and flowering types (long- versus short-flowering) were only observed in the years when the average flowering onset was early. By contrast, in years when plants flowered later, plants in full daylight initiated their flowers as late as those in the shade, and all genotypes tended to have a similar dynamics. As a consequence, year-to-year variations were higher in full daylight than in the shade, and among long-flowering plants than among short-flowering plants, a feature confirmed in natural populations by an ongoing long-term monitoring of reproductive phenology (Tarayre et al 2007 and unpublished results).

*The time of year* that seemed to have the strongest effect on the triggering of flowering was in March / April, when high temperature, abundant sunshine and low rainfall promote early flowering the following year. This period corresponds to the peak of flowering and to pod initiation (Tarayre et al. 2007), when reproductive effort is at its greatest. We can thus hypothesize that good weather, by favouring rapid maturation of pods, allows the plant to go faster to the vegetative growth phase, and thus to restart a reproductive season earlier. This relationship, although significant, should however be treated with caution, given the small number of years analysed, and many other parameters may explain these differences between years.

*The effect of genotype.* The interaction between genotype and shade shows that different genotypes have different levels of plasticity: long-flowering genotypes tend to initiate their

flowering later in the shade than in the light, while short-flowering genotypes show almost no difference between flowering onset in the shade and in the light. However, the delay of flowering onset under the shade was only observed in favourable years, when all plants tend to flower earlier. Plasticity could thus be considered as the main determinant of flowering strategies, the difference between long- and short-flowering plants lying primarily in their ability to respond to favourable environmental conditions by advancing their flowering onset. Plasticity being a form of bet-hedging (Meyers and Bull 2002), this result is in agreement with the assumption made by Tarayre et al. (2007), that the long-flowering strategy corresponds to a type of "bet-hedging " strategy.

### Consequences for gorse distribution and invasiveness

Although gorse cannot reproduce in deep shade, it is quite resistant to variations in light intensity. In its zone of origin, its preferred habitats are heathland and open environments, but it can also be found in the undergrowth (Augusto et al. 2005). The species seems thus to be able to adapt to a wide range of irradiation, which could explain why it is found at such a range of latitudes (from the equator to 54° S).

The phenology of gorses responds to differences in light, but even more to differences in annual weather patterns. The great phenotypic plasticity shown by the long-flowering genotypes could help the plant to optimise its reproductive system according to the weather conditions. In gorse, plasticity would thus not be an alternative to genetic diversity, but on the contrary, a complementary phenomenon in the implementation of adaptive strategies and of evolutionary changes (Thompson 1991).

The combination of great genetic diversity and great plasticity favours the invasiveness of a species (Sexton et al. 2002) and plays an important role in the capacity of gorse to thrive in a wide range of climates. Other woody species have invaded various environments, but the compilations made by Matesanz et al. (2010) and Davidson (2011) do not seem to show that the few woody species studied are any more plastic than the native species. However, with few recent exceptions (e.g. Pichancourt and van Klinken 2012) these studies were conducted on seedlings, whereas the variations in reproductive traits, and especially the phenology of flowering, are particularly important in the adaptation to various climates (Wolkovich and Cleland 2011). A study of the plasticity of the reproductive traits of other woody species would be desirable to see whether the case of gorse is exceptional and whether the plasticity of its reproductive traits is an important element in the invasiveness of these species.

### Acknowledgments

The authors thank Thierry Fontaine and Fouad Nassur for technical assistance, and Alan Scaife for English translation and editing.

### References

- Alexander M, van Kleunen M, Ghezzi R et al (2012) Different genetic clines in response to temperature across the native and introduced ranges of a global plant invader. *J Ecol* 100:771-781
- Atlan A, Barat B, Parize L et al (2010) Genetic variation in flowering phenology and avoidance of seed predation in native populations of *Ulex europaeus*. *J Evol Biol* 23:362-371
- Augusto L, Crampon N, Saur E et al (2005) High rates of nitrogen fixation of *Ulex* species in the understory of maritime pine stands and the potential effect of phosphorus fertilization. *Can J For Res* 35:1183-1192

- Barat M, Tarayre M, Atlan A (2007) Plant phenology and seed predation: interactions between gorse (Fabaceae) and weevils (Curculionoidea) in Brittany. *Ent Exp Appl* 124:167-176
- Baumel A, Ainouche M, Kalendar R et al (2002) Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* CE Hubbard (Poaceae). *Mol Ecol Biol* 19:1218-1227
- Benvenuti S, Macchia M, Stefani A (1994) Effects of shade on reproduction and some morphological-characteristics of *abutilon-theophrasti* medicos, *datuna-stramonium* and *sorghum-halepense* L. *Pers. Weed Res* 34:283-288
- Bowman G, Tarayre M, Atlan A (2008) How is the invasive gorse *Ulex europaeus* pollinated during winter? A lesson from its native range. *Plant Ecol* 197:197-206
- Calsbeek B, Lavergne S, Patel M et al (2011) Comparing the genetic architecture and potential response to selection of invasive and native populations of reed canarygrass. *Evol Appl* 4: 726–735
- Closset-Kopp D, Chabrierie O, Valentin B, Decocq G (2007) When Oskar meets Alice: does the lack of trade-off between *r* and *K* strategies make *Prunus serotina* a successful invader of European forests? *For Ecol Man* 247:120-130
- Colautti RI, Maron JL, Spencer CHB (2009) Common garden comparisons of native and introduced plant populations: latitudinal clines can obscure evolutionary inferences. *Evol Appl* 2:187-199
- Davidson AM, Jennions M, Nicotra AB (2011) Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecol Lett* 14:419–431
- Delerue F, Gonzalez M, Atlan A et al (2013) Plasticity of reproductive allocation of a woody species (*Ulex europaeus*) in response to variation in resource availability. *Ann For Sci.* *In press.*
- Dyer AR, Brown CS, Espeland EK et al (2010) The role of adaptive trans-generational plasticity in biological invasions of plants. *Evol Appl* 3:179–192
- Franklin KA (2008) Shade avoidance. *New Phytol* 179:930-944
- Galloway LF, Etterson JR (2007) Transgenerational plasticity is adaptive in the wild. *Science* 318: 1134–1136
- Hahn MA, van Kleunen M, Müller-Schärer H (2012) Increased Phenotypic Plasticity to Climate May Have Boosted the Invasion Success of Polyploid *Centaurea stoebe*. *PLoS ONE* 7:e50284
- Herrera CM (1991) Dissecting factors responsible for individual variation in plant fecundity. *Ecology* 72:1436-1448
- Hill RL, Gourlay AH, Martin L (1991) Seasonal and geographic variation in the predation of gorse seed, *Ulex europeaus* L., by seed weevil *Apion ulicis* Forst. *N Zeal J Zool* 18:37-43
- Holm LG, Doll J, Holm E, Pancho J et al (1997) *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. Wiley, J. & Sons, New York.
- Hornoy B, Tarayre M, Hervé M et al (2011) Invasive plants and Enemy Release: evolution of trait means and trait correlations in *Ulex europaeus*. *PLoS ONE* 6:e26275
- Hornoy H (2012) Processus évolutifs contribuant au succès envahissant de l'ajonc d'Europe *Ulex europaeus*. PhD – University of Rennes 1
- Hough-Goldstein J, LaCoss SJ (2012) Interactive effects of light environment and herbivory on growth and productivity of an invasive annual vine, *Persicaria perfoliata*. *Art-Plant Inter* 6:103-112
- Jackson S, Chen ZJ (2010) Genomic and expression plasticity of polyploidy. *Curr Opin Plant Biol* 13:153-9
- Jones FA, Comita LS (2010) Density-dependent pre-dispersal seed predation and fruit set in a tropical tree. *Oikos* 119:1841-1847

- Lavergne S, Molofsky J (2007) Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *PNAS USA* 104:3883-3888
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *TREE* 17:386–391
- Leishman MR (2001) Does the seed size/number trade-off model determine plant community structure? An assessment of the model mechanisms and their generality. *OIKOS* 93:294–302
- Major JE, Mosseler A, Barsi DC, Clouthier A, Campbell M (2009) Impact of three silvicultural treatments on weevil incidence, growth, phenology, and branch-level dynamics of *Pinus strobus* from large and small populations. *Can J For Res* 39:12-25
- Mal TK, Lovett-Doust J (2005) Phenotypic plasticity in vegetative and reproductive traits in an invasive weed, *Lythrum salicaria* (Lythraceae) in response to soil moisture. *Am J Bot* 92:819-825
- Matesanz S, Gianoli E, Valladares F (2010) Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann N Y Acad Sci*:35-55
- Matesanz S, Horgan-Kobelski T, Sultan SE (2012) Phenotypic plasticity and population differentiation in an ongoing species invasion. *PLOS ONE* 7:e44955
- McNeely JA, Mooney HA, Neville LE et al (eds) (2001) *A Global Strategy on Invasive Alien Species*. IUCN, Gland, Switzerland
- Meimberg H, Hammond JI, Jorgensen CM et al (2006). Molecular evidence for an extreme genetic bottleneck during introduction of an invading grass to California. *Biol Inv* 8:1355–1366
- Meyers LA and Bull JJ (2002) Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world. *TREE* 17:551-557
- Obeso JR (2002) The costs of reproduction in plants. *New Phytol* 155:321-348
- Pacala SW and Rees M (1998) Models suggesting field experiments to test two hypotheses explaining successional diversity. *Am Nat* 152:729-737.
- Parker IM, Rodriguez J, Loik ME (2003) An evolutionary approach to understanding the biology of invasions: local adaptation and general-purpose genotypes in the weed *Verbascum thapsus*. *Cons Biol* 17:1-15
- Paul-Victor C, Turnbull LA (2009) The Effect of Growth Conditions on the Seed Size/Number Trade-Off. *PLoS ONE*: e6917
- Pichancourt J-B, van Klinken RD (2012) Phenotypic Plasticity Influences the Size, Shape and Dynamics of the Geographic Distribution of an Invasive Plant. *PLoS ONE* 7:e32323
- Pierre JS, Guillome M, Querrien MT (1986) A statistical and graphic method for seeking in which periods of the year are the animal populations particularly sensitive to a given weather component (critical periods). *Act Oecol/Oecol Gen* 7:365-380
- R Development Core Team (2010) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria
- Rees M, Hill RL (2001) Large-scale disturbances, biological control and the dynamics of gorse populations. *J App Ecol* 38:364–377
- Riis T, Lambertini C, Olesen B et al (2010) Invasion strategies in clonal aquatic plants: are phenotypic differences caused by phenotypic plasticity or local adaptation? *Ann Bot* 106:813–822
- SAS Institute (2005) Version 9.1. SAS institute, Cary, NC
- Scheiner SM (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu Rev Ecol Syst* 24:35-68
- Sexton JP, McKay JK, Sala A (2002) Plasticity and genetic diversity may allow saltcedar to invade cold climates in North America. *Ecol App* 12:1652–1660
- Sexton JP, McIntyre PJ, Angert AL et al (2009) Evolution and Ecology of Species Range Limits. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40: 415–436
- Tarayre MG Vergnerie G, Schermann-Legionnet A et al (2007) Flowering phenology of *Ulex europaeus*: ecological consequences of large variability. *Evol Ecol* 21:395-409

- Thompson JD (1991) Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *TREE* 6: 246-249.
- vanKleunen M, Fischer M (2005) Constraints on the evolution of adaptive plasticity in plants. *New Phytol* 166:49-60
- Weber E, Schmid B (1998) Latitudinal population differentiation in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. *Am J Bot* 85:1110–1121
- Weiner J (2004) Allocation, plasticity and allometry in plants. *Pers Plant Ecol Evol Syst* 6:207-215
- Wolkovich EM, Cleland EE (2011) The phenology of plant invasions: a community ecology perspective. *Front Ecol Env* 9:287-294
- Zhang Y-Y, Zhang D-Y, Barrett SCH (2010) Genetic uniformity characterizes the invasive spread of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), a clonal aquatic plant. *Mol Ecol* 19:1774–1786

## APPENDIX

**Tableau S1 ANOVAs made on main reproductive variables.**

| 4 years                 | ddl | flowering onset |            | pod density |            | seeds / pod |            | rate of infested pods |            |
|-------------------------|-----|-----------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-----------------------|------------|
|                         |     | F               | P          | F           | P          | F           | P          | F                     | P          |
| genotype                | 4   | 32.8            | $<10^{-3}$ | 11.2        | $<10^{-3}$ | 130,0       | $<10^{-3}$ | 3,0                   | 0.02       |
| shade                   | 1   | 27.4            | $<10^{-3}$ | 114.6       | $<10^{-3}$ | 73.9        | $<10^{-3}$ | 114.1                 | $<10^{-3}$ |
| year                    | 3   | 197.6           | $<10^{-3}$ | 17,0        | $<10^{-3}$ | 11.7        | $<10^{-3}$ | 42.9                  | $<10^{-3}$ |
| gen*shade               | 4   | 3.9             | $<10^{-2}$ | 2.2         | 0.08       | 8.7         | $<10^{-3}$ | 1.8                   | 0.13       |
| gen*year                | 12  | 12.1            | $<10^{-3}$ | 4.2         | $<10^{-3}$ | 4.9         | $<10^{-3}$ | 3.1                   | $<10^{-3}$ |
| shade*year              | 3   | 0.9             | 0.46       | 30.3        | $<10^{-3}$ | 6.6         | $<10^{-3}$ | 24.5                  | $<10^{-3}$ |
| model (R <sup>2</sup> ) | 183 | (0.85)          | $<10^{-3}$ | (0.69)      | $<10^{-3}$ | (0.86)      | $<10^{-3}$ | (0.79)                | $<10^{-3}$ |

The last line gives the total number of ddl, the R<sup>2</sup> of the model and its significance.

ns: not significant (P<0.10)

**Tableau S2 Statistical analysis of Cox model for flowering onset.**

| 4 years                 | flowering onset |                      |                  |            |
|-------------------------|-----------------|----------------------|------------------|------------|
|                         | ddl             | loglik               | Chi <sup>2</sup> | P          |
| genotype                | 4               | -794.7               | 52.6             | $<10^{-3}$ |
| shade                   | 1               | -792.3               | 4.71             | 0.03       |
| year                    | 3               | -730.6               | 123.42           | $<10^{-3}$ |
| gen*shade               | 4               | -724.8               | 11.7             | 0.02       |
| gen*year                | 12              | -676.9               | 95.9             | $<10^{-3}$ |
| shade*year              | 3               | -674.3               | 5.22             | 0.16       |
| model (R <sup>2</sup> ) | 183             | R <sup>2</sup> =0.78 |                  | $<10^{-3}$ |

The last line gives the total number of ddl, the R<sup>2</sup> of the model and its significance.