HAL
open science

Mécanismes écophysiologiques impliqués dans les interactions antagonistes entre le jeune chêne sessile (quercus petraea (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (Molinia caerulea (Moench) L.) : rôles des transferts d'azote, des mycorhizes et des rhizodépôts allélochimiques

Marine Fernandez

To cite this version:

Marine Fernandez. Mécanismes écophysiologiques impliqués dans les interactions antagonistes entre le jeune chêne sessile (quercus petraea (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (Molinia caerulea (Moench) L.) : rôles des transferts d'azote, des mycorhizes et des rhizodépôts allélochimiques. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2019. Français. NNT : 2019CLFAC053 . tel-02513004

HAL Id: tel-02513004

https://theses.hal.science/tel-02513004

Submitted on 20 Mar 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.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ - AGRONOMIE – ENVIRONNEMENT

THÈSE

présentée par

Marine FERNANDEZ

pour obtenir le grade de

Docteur d'Université

spécialité **écologie et écophysiologie végétale**

Mécanismes écophysiologiques impliqués dans les interactions antagonistes entre le jeune chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue (*Molinia caerulea* (Moench) L.) : rôles des transferts d'azote, des mycorhizes et des rhizodépôts allélochimiques

---

Soutenue publiquement le **13 décembre 2019**, devant la commission d'examen.

Président du Jury

Jean-Louis JULIEN, Professeur des Universités, Université Clermont-Auvergne

Rapporteurs

Christiane GALLET, Professeur des Universités, Université de Savoie Mont-Blanc

Emmanuel CORCKET, MCU-HDR, Université de Bordeaux

Joëlle FUSTEC, Professeur, Ecole Supérieure d'Agriculture-Université Bretagne Loire

Examinatrice

Dominique GERANT, MCU-HDR, Université de Lorraine

Directeur de thèse

Philippe MALAGOLI, MCU-HDR, Université Clermont-Auvergne

Co-directeurs

Philippe BALANDIER, Directeur de recherche, IRSTEA Nogent-sur-Vernisson

Thierry AMEGLIO, Directeur de recherche, INRA Clermont-Ferrand

Résumé

Une meilleure connaissance des interactions entre plantes permettrait d'améliorer la gestion de la régénération forestière naturelle et artificielle. Il est bien établi que la molinie (*Molinia caerulea*), poacée monopoliste du sous-bois, a un effet particulièrement dépressif sur l'installation et la croissance du jeune chêne sessile (*Quercus petraea*). Son importante capacité à absorber l'eau et les nutriments du sol entraine une forte compétition par exploitation des ressources. Cependant, il semblerait que d'autres interactions soient impliquées dans les relations entre le jeune chêne et la molinie. Ainsi, les propriétés allélopathiques de la molinie ont été suggérées, mais aucune étude n'a mis en évidence un tel effet sur le chêne. À l'inverse, le jeune chêne semble faciliter la croissance de la molinie. L'interaction chêne-molinie présente donc la singularité d'être antagoniste : la molinie inhibe la croissance du chêne tandis que celui-ci favorise la croissance de la poacée, mais les mécanismes impliqués ne sont pas entièrement connus. L'objectif de cette thèse a été d'analyser les mécanismes fonctionnels et écophysiologiques impliqués dans les interactions entre le jeune chêne sessile et la molinie bleue. Les expérimentations réalisées dans la thèse démontrent que (i) le chêne rhizodépose et transfère rapidement de l'azote à la molinie par les voies souterraines (rhizodéposition de composés azotés dans le sol) favorisant la croissance de cette dernière, (ii) la présence de molinie dans le même pot entraine une diminution du taux de racines latérales et du taux d'ectomycorhization du chêne et que (iii) la molinie rhizodépose des métabolites secondaires différents de ceux du chêne et ayant un potentiel allélopathique. Dans la lignée de travaux actuels, la thèse met en perspective que les composés chimiques que les plantes émettent dans le sol agissent comme de véritables signaux directs ou indirects (*via* les communautés biologiques du sol) et induisent chez les voisins des modifications dans leur métabolisme et/ou leur croissance.

Mots clés : chêne sessile, molinie bleue, azote, interactions antagonistes (compétition et facilitation), allélopathie, mycorhizes, rhizodéposition

A better understanding of plant interactions would improve the management of natural and artificial forest regeneration. It is well established that Molinia (*Molinia caerulea*), a monopolist species of understory, has a particularly depressive effect on young sessile oak (*Quercus petraea*) establishment and growth. Large capacity of *Molinia* in water and soil nutrients uptake leads to strong competition by resources exploitation. However, it seems that other interactions are involved in the relationship between young oak and *Molinia*. Thus, the allelopathic properties of *Molinia* have been suggested, but no study has shown such an effect on oak. Inversely, young oak seems to facilitate *Molinia* growth. Oak-*Molinia* interaction thus has the singularity of being antagonistic: the *Molinia* inhibits oak growth while this one favors grass growth, but the mechanisms involved are not entirely known. The aim of this thesis was to analyze the functional and ecophysiological mechanisms involved in the interactions between young sessile oak and *Molinia*. The experiments carried out in the thesis show that (i) oak quickly transfers nitrogen to *Molinia* by the underground pathways (rhizodeposition of nitrogen compounds in the soil) favoring grass growth, (ii) *Molinia* presence in the same pot leads to a decrease in the lateral root rate and ectomycorhization rate of oak and (iii) *Molinia* rhizodeposes secondary metabolites different from those of oak and have an allelopathic potential. In line with current work, the thesis puts into perspective that the chemical compounds emitted by plants in the soil act as real direct or indirect signals (*via* the biological communities of the soil) and induce neighbors modifications in their metabolism and / or their growth.

Keywords: *Quercus petraea*, *Molinia caerulea*, nitrogen, antagonistic interaction (competition and facilitation), allelopathy, mycorrhizas, rhizodeposition

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent à mes encadrants **Philippe Malagoli**, **Philippe Balandier** et **Thierry Améglio**. Merci d'avoir pour la confiance que vous m'avez accordée en me permettant de réaliser cette thèse D'autant plus après avoir été mes encadrants durant les stages de Master 1 et de Master 2… Merci pour votre accompagnement, vos conseils et votre patience durant ces cinq années. Vous m'avez permis de découvrir le monde de la recherche, de m'approprier la thématique de rechercher et surtout de gagner en confiance en moi. Je crois aujourd'hui pouvoir parler d'interaction de facilitation, ou, pour être plus être précise, de commensalisme.

Je remercie ensuite les membres de mon jury de thèse : **Jean-Louis Julien**, **Joëlle Fustec**, **Emmanuel Corcket**, **Chritiane Gallet** et **Dominique Gérant**, qui ont accepté d'évaluer ces trois années de travail.

Je remercie également les membres de mon comité de thèse : **Claude Plassard**, **Catherine Fernandez**, **Lucie Vincenot** et **Emmanuel Corcket**, qui m'ont guidé et permis de réaxer les expérimentations de la thèse. Un grand merci à Lucie qui m'a appris à identifier les mycorhizes, et merci d'avoir rendu mon séjour à Rouen particulièrement agréable. Merci aussi Catherine et à **Stéphane Greff** pour m'avoir fait découvrir le vaste monde de la chimie.

Je remercie aussi **Antoine Vernay**, mon mentor, mon modèle (non pas tant calme-toi…). Merci de m'avoir inclus dans tous tes travaux, merci de m'avoir initié au ramassage de racines, merci pour ton aide et ta contribution et merci pour tes mails d'encouragements from Umeå !

Un grand merci à toutes les personnes sans qui les expérimentations de cette thèse seraient probablement encore en cours : **André Marquier**, **Christophe Serre**, **Pascal Walser**, **Camille Couteau**, **Aline Faure**, **Brigitte Saint-Joanis, Patrice Chaleil, Brigitte Girard, M. Charrier** et **Vincent Girard**. J'ai grandement apprécié votre participation, votre aide, votre humour et l'ambiance que vous avez su mettre durant des manips aussi passionnantes que gratifiantes. Merci aussi à **Dominique Tiziani** et **Sylvie Vayssie** pour avoir grandement faciliter la réalisation de mes commandes, mes réservations et autres petites galères administratives.

Merci aux stagiaires que j'ai encadrés… et réciproquement parfois : **Aline Buché** (pour ses heures passer à perfuser des chênes et à ramasser de « l'or », **Sirine Roumani** (pour ses heures à donner le bain aux racines), **Aurore Valex** (…), **Baptiste Vallet** (parce que tu as été beaucoup plus sérieux que moi dans la prise de note). Merci beaucoup pour votre aide et votre patience.

MERCI à tout le PIAF pour m'avoir accueilli dans ses locaux. Merci à **Bruno Moulia**, directeur du PIAF. Merci à **Marc Saudreau**, responsable de l'équipe MEA au sein de laquelle j'ai travaillé, pour ta bienveillance et ta gentillesse. Merci à toutes les personnes qui ont, je crois sans le savoir, permis de m'intégrer de me sentir bien au PIAF : **Nicolas Dones** (merci beaucoup ma belle), **Jérôme Ngao** (pour les échanges enrichissants) **Norbert Frizot** (merci d'avoir été si gentil et ce, depuis mon premier jour de stage en Master 1, tes taquineries me manqueront), **Hervé Cochard** (merci pour cette bonne vieille ch'touille), et à tous les autres qui m'ont donné le sourire au hasard d'un couloir : **Félix Hartmann**,

Éric Badel, **Stéphane Ploquin**, **Pierre Conchon**, **Romain Souchal**, **Guillaume Charrier**, **Têtè Barigah**…

J'ai aussi eu la chance d'avoir des collègues stagiaires, doctorants et Ludo qui ont rendu mon quotidien au PIAF plutôt oufissime (je vous le dis direct, vous êtes classés par ordre alphabétique) : **Benjamin,** pour ta gentillesse, ton calme apaisant et tes toutes petites astuces, **Cédric,** pour ta spontanéité qui m'a fait partir en fou-rire un bon nombre de fois, **Clémence**, pour avoir mis des paillettes et du soleil dans ma vie, **Erwan**, merci de m'avoir accompagné (d'avoir fait la sieste surtout) pendant mes longues heures de manips, de m'avoir aidé à être une grande hackeuse d'articles (oups) et d'avoir écouté mes plaintes surtout durant la rédaction de l'œuvre qui suit, **Lia**, merci pour tous ces fous rires et pour tes précieux encouragements ces derniers mois, n'oublie pas de rendre à César… ce que… César a fait…, **Lise-Marose** (qui a eu l'immense plaisir de partager mon bureau lol), merci pour ses heures de travail acharné de type trombones, élastiques, shopping... il est un fait avéré que tu m'as sacrément fait marrer, **Lucie**, parce que j'adore tes souliers, qui est ton chausseur (et pour toutes tes autres expressions qui me font rire rien que d'y penser), **Ludo**, merci beaucoup beaucoup de ne pas avoir eu peur de moi, de m'avoir rendue beaucoup plus sociable et j'espère que, comme tu me l'as répété de nombreuses fois, « ça va bien se passer », **Marylou**, because les manips aux labos avec toi c'est vraiment trop bien (isn't it isn't it, isn't it?) et que j'ai adoré nos racontages de vie sur Snapchat (et j'adore encore hihi), **Romain,** pour m'avoir supporté pendant 2 ans dans le bureau et pour ta raclette party enflammée. Bon courage à vous tous pour la suite des aventures !

Enfin, je remercie mes amis et autres potos sûrs pour m'avoir permis de décompresser, ou juste de passer des bonnes soirées autour d'une (ou 10) bière(s). **Aurore**, parce que sans toi je ne sais même pas si j'aurai tenu la première année, **Roxanne**, parce que tu es là depuis mes premiers pas en licence et que je sais que tu seras là quand je serai en gériatrie, **Connie**, pour tous tes snaps et tes visites qui donnent une pêche de ouf, **Sabine**, pour tes visites qui sont un vrai moment de fraîcheur et de rigolade, **Manon**, pour ces bons moments et le partage dans les galères de choré, **Régis**, parce que l'habit du moine ne fait pas tout et que bien mal à qui de droit, et tous les autres de la bande…! Merci aussi à la bande du canard pour toutes ces soirées !

MERCI à mon plus grand supporter (et surtout merci de m'avoir supporté), **Mathieu**, pour ton soutien, tes encouragements et ta participation artistique dans ma thèse. Veux-tu m'épouser ? (dans 10 ans, je précise). Merci aussi à **tes parents**, pour ces weekends de détente et pour tous ces moments autour de repas excellents !

Et bien sûr, merci à **ma famille**, parce que j'ai bien compris que les racines c'étaient fondamentales. Merci de m'avoir accompagnée dans mes choix, de m'avoir soutenu, d'avoir fait de moi une fille épanouie et pour tout le reste. Donc merci à ma mère, mon père, ma sœur, mes grands-parents, mes oncles et tantes et mes cousins !

Merci à ceux que j'oublie, merci à ceux qui ont lu ma thèse [**Marie-Claire Fernandez** (merci **Pauline Fernandez** de l'avoir aidée, **Pierre-Yves Fernandez**, d'avoir essayé…) et aussi **André Marquier**, pour avoir corrigé 1001 fautes]. Enfin, merci à ceux qui la liront (au moins en partie).

Valorisations

Articles académiques soumis

Fernandez, M., Malagoli, P., Vernay, A., Améglio, T., Balandier P., Belowground nitrogen transfer from oak seedlings facilitates *Molinia* growth: ^{15}N pulse-chase labelling *[Plant and soil, septembre 2019]*

Fernandez, M., Malagoli, P., Vincenot, L., Vernay, A., Améglio, T., Balandier P.*Molinia caerulea* reduced *Quercus petraea* seedling growth by depleting oak mycorrhizae *[Annals of forest science, octobre 2019]*

Articles académiques en preparation

Fernandez, M., Malagoli, P., Fernandez, C., Greff, S., Vernay, A., Améglio, T., Balandier P., Belowground interaction between oak seedling and purple moor grass does include root exudation of allelochemicals. *[relecture par les co-auteurs]*

Articles académiques en co-auteur

Vernay, A., Malagoli, P., Fernandez, M., Perot, T., Ameglio, T., Balandier, P., Improved *Deschampsia cespitosa* growth by nitrogen fertilization jeopardizes *Quercus petraea* regeneration through intensification of competition. *[Basic and applied ecology, 2018]*

Vernay, A., Malagoli, P., Fernandez, M., Perot, T., Ameglio, T., Balandier, P., Carry-over benefit of high internal N pool on growth and function of oak seedlings (*Quercus petraea*) competing with *Deschampsia cespitosa [Forest and ecology management, 2018]*

Vernay, A., Malagoli, P., Fernandez, M., Ameglio, T., Balandier, P., Régénération du chêne en compétition avec la molinie : un délicat dosage des ressources en eau et en lumière. *[soumis]*

Vernay, A., Malagoli, P., Fernandez, M., Henneron, L., Balandier, P., Biotic interactions as key drivers of plant nitrogen economics *[en cours]*

Posters

Fernandez, M., Régénération naturelle du chêne sessile en présence de molinie bleue : mécanismes de compétition et de facilitation aux niveaux racinaires et mycorhiziens *[Réunion plénière ONF, mai 2018]*

Fernandez, M., Malagoli, P., Améglio, T., Balandier P., Facilitation de la croissance de Molinie en présence de Chêne : implication des transferts d 'azote *[JED, mai 2019, 2ème prix]*

Communication orale

Fernandez, M., Régénération du chêne sessile en présence de molinie bleue : entre compétition et facilitation aux niveaux racinaire et mycorhizien. *[Journées PIAF-Département Santé des Forêts, mai 2019]*

Fernandez, M., Belowground interaction between plants does include exchange of nutrients. *[Functional Ecology Conference, décembre 2018]*

Fernandez, M., L'histoire de Ruben des bois *[MT180, mars 2018, 2ème au vote du public]*

Table des matières

Liste des figures *12*

Liste des tableaux *15*

Liste des photographies *17*

Préface ..... *i*

CHAPITRE I. Introduction générale *1*

1.1. Le chêne dans la forêt française **1**

1.2. Difficultés de régénération naturelle du chêne sessile **3**

1.3. Objectifs de la thèse **5**

Chapitre II. État de l'art *7*

2.1. Le système racinaire : description et fonctionnalité **7**

2.1.1. Description anatomique et histologique des racines 7

2.1.2. Évolution des racines 9

2.1.3. Fonctionnement racinaire 9

2.1.3.1. Reconnaissance des facteurs abiotiques extérieurs 9

2.1.3.2. Reconnaissance des facteurs biotiques extérieurs 11

2.1.3.3. Le mécanisme de rhizodéposition 12

2.1.3.4. L'absorption des nutriments : le cas de l'azote 15

2.2. Nature des interactions écologiques souterraines **18**

2.2.1. La compétition 19

2.2.1.1. La compétition pour les nutriments 19

2.2.1.2. L'allélopathie 21

2.2.2. La facilitation 24

2.2.2.1. Équilibre entre la compétition et la facilitation 24

2.2.2.2. Les « symbioses » mycorhiziennes 26

2.2.2.3. Les transferts entre plantes 30

2.2.3. Les autres interactions écologiques 32

2.3. Les interactions dans le sous-bois : relation herbacée/jeune arbre **34**

2.3.1. La compétition pour les ressources souterraines au détriment des jeunes arbres 35

2.3.2. La compétition *via* les composés allélochimiques des végétaux du sous-bois : effets directs et indirects (mycorhizes) 36

2.3.3. Les processus de transfert de nutriments entre végétaux du sous-bois 38

2.4. Espèces végétales étudiées **41**

2.4.1. Le chêne sessile (*Quercus petraea*) 41

2.4.2. La molinie bleue (*Molinia caerulea*) 43

2.5. Hypothèses générales de la thèse **44**

Chapitre III. Matériels et méthodes généraux *45*

3.1. Conditions expérimentales générales **45**

3.2. Les transferts d'azote entre le chêne et la molinie **47**

3.2.1. Dynamique des croissances aérienne et souterraine de la molinie : technique des rhizotrons 47
3.2.2. Le « cotton-wick » 48
3.2.3. L'urée 49
3.2.4. Principe de l'analyse $^{15}N/^{14}N$ au spectromètre de masse 50
3.2.5. Dispositifs expérimentaux 51
3.2.5.1. Les transferts d'azote du chêne vers la molinie 51
3.2.5.2. Les transferts d'azote de la molinie vers le chêne 51

3.3. Identification et comptage des mycorhizes 52

3.4. Production des exsudats racinaires et analyses des métabolites secondaires 53
3.4.1. Les exsudats racinaires : technique des macérats 53
3.4.2. Les exsudats racinaires : technique de l'hydroponie 54
3.4.3. L'analyse des composés par HPLC 55

Chapitre IV. Les transferts d'azote du chêne au bénéfice de la molinie 57

4.1. Le chêne facilite la croissance en longueur des parties aériennes de la molinie 57

4.2. Les échanges d'azote entre le chêne et la molinie 58
4.2.1. Below-ground nitrogen transfer from oak seedlings facilitates *Molinia* growth: ^{15}N pulse-chase labelling 58
Résumé 58
Abstract 59
Introduction 60
Materials and methods 62
Results 66
Discussion 70
Perspectives 75
4.2.2. Les transferts d'azote de la molinie vers le chêne 76
4.2.2.1. Biomasse des chênes et des molinies : effet antagoniste 76
4.2.2.2. La molinie transfère peu d'azote au chêne 78
4.2.2.3. Les teneurs en azote du chêne et de la molinie varient en fonction de la présence d'un voisin 80
4.2.3. Éléments généraux de discussion 82

Chapitre V. La molinie réduit le taux d'ectomycorhization du chêne 85

5.1. *Molinia caerulea* reduced *Quercus petraea* seedling growth by depleting oak mycorrhizae 85
Résumé 85
Abstract 86
Introduction 86
Materials and methods 88
Results 91
Discussion 96

5.2. Résultats préliminaires : effet du chêne sur les endomycorhizes de molinie 99

5.3. Éléments généraux de discussion 100

Chapitre VI. Rhizodéposition de composés allélochimiques par la molinie 101

6.1. Belowground interaction between oak seedling and purple moor grass does include root exudation of allelochemicals 101
Résumé 101
Abstract 102

Introduction 102
Materials and Methods 104
Results 109
Discussion 113

6.2. Résultats préliminaires : effet des macérats de molinie sur les ectomycorhizes du chêne 116

6.3. Métabolites secondaires dans les exsudats racinaires : différences interspécifique et méthodologique, mais pas d'identification de composés 116

6.4. Éléments généraux de discussion 118

Chapitre VII : Discussion générale et perspectives 119

7.1. Réponses écophysiologiques du chêne à la présence de molinie : effet de compétition de la poacée sur le jeune arbre 119
7.1.1. La croissance du chêne est ralentie en présence de molinie 119
7.1.2. Modification de l'allocation de l'azote en présence de molinie 122
7.1.3. Rhizodéposition de l'azote chez les non-fabacées 124
7.1.4. Diminution du taux d'ectomycorhization du chêne en présence de molinie 126
7.1.5. L'allélopathie est-elle une forme de compétition de la molinie sur le chêne ? 128

7.2. Réponses écophysiologiques de la molinie à la présence de chêne : effet de la facilitation du jeune arbre sur la poacée 130
7.2.1. Augmentation de la biomasse de molinie en présence de chêne 131
7.2.2. Absorption de l'azote rhizodéposé par le chêne 132
7.2.3. Les rhizodépôts azotés de la molinie 134
7.2.4. La molinie a-t-elle un effet auto-allélopathique ? 134

7.3. Les autres expérimentations menées durant la thèse 135
7.3.1. L'absorption d'azote minéral par les racines excisées : effet croisé de la présence d'un voisin et de fongicide 135
7.3.2. Expérimentation en forêt : effet croisé de la lumière et de la densité de molinie 136

7.4. Perspectives sur les facteurs et processus à considérer pour mieux comprendre les interactions écologiques entre le jeune chêne et la molinie 138
7.4.1. Les facteurs biotiques 139
7.4.1.1. Les mycorhizes 139
7.4.1.2. Les micro-organismes du sol 139
7.4.2. Les facteurs abiotiques 141
7.4.3. Les voies de transferts souterraines et aériennes 141
7.4.4. Les métabolites secondaires émis par les plantes 143
7.4.5. Les limites des conditions expérimentales 144
7.4.6. Les cas des agrosystèmes 146

..... 148

Conclusion générale 149

Références bibliographiques i

Liste des figures

Figure 1. Echelle des temps géologiques d'après www.jurassic-world.com/echelle-temps-geologiques. _____ *ii*
Figure 2. Carte de distribution du chêne sessile (Quercus petraea) dans le monde d'après EUFORGEN 2009. *1*
Figure 3. Indices de prix des grumes de chêne en France de 2010 à 2017 selon la catégorie. _____ *2*
Figure 4. Les différentes parties composant le système racinaire d'une jeune plante terrestre d'après www.plantes-botanique.org. _____ *8*
Figure 5. Coupe longitudinale sur la zone méristématique et la coiffe, d'après blog.vegenov.com. _____ *8*
Figure 6. Prolifération des racines latérales primaires et secondaire de l'orge (Hordeum vulgare) en présence d'une solution de culture de concentration en ions phosphate, nitrate, ammonium ou potassium 100 fois supérieure dans la section médiane du système racinaire. Le contrôle à reçu la même concentration dans toutes les zones. Abréviations : H, high (forte concentration) ; L, low (faible concentration), en référence à la concentration en nutriments appliqués en haut, au milieu et en bas du système racinaire. D'après Drew (1975) et Hodge (2004). _____ *10*
Figure 7. Rhizodéposition des racines vivantes (flux contrôlé de métabolites) et mortes (sénescence racinaire). Les principaux rhizodépôts sont représentés. _____ *13*
Figure 8. Flux bidirectionnel d'azote organique dissout (acides aminés) à l'interface racine/sol. D'après Jones et al. (2005). _____ *17*
Figure 9. Compétition entre plantes pour les ressources, d'après Goldberg (1990) modifié par Casper and Jackson (1997). _____ *20*
Figure 10. Effet des plantes sur la disponibilité des ressources (A) et réponses des plantes à la disponibilité des ressources (B), d'après Golberg (1990). _____ *20*
Figure 11. Stress Gradient Hypothesis : Modification des interactions positives et négatives entre plantes en fonction du niveau de contrainte de l'environnement. Les flèches rouges représentent les interactions négatives comme la compétition, et les flèches vertes représentent les interactions positives comme la facilitation. L'épaisseur des flèches représente l'intensité de ces interactions, d'après Houlès (2017). _____ *25*
Figure 12. Interactions indirectes (trait pointillé) et directes (trait plein) dans un système complexe. L'espèce A concurrence l'espèce B, qui affecte le potentiel effet négatif de l'espèce B sur l'espèce C. Interaction, d'après Brooker et al. (2008). _____ *26*
Figure 13. Caractéristiques structurelles des endomycorhizes à arbuscules (AM) et des ectomycorhizes (ECM) chez les angiospermes et les gymnospermes, d'après Bücking et al. (2012). _____ *27*
Figure 14. Principaux échanges ayant lieu dans une symbiose mycorhizienne. La mycorhize constitue une interface entre le sol et la plante. Elle permet le transfert de nombreuses molécules entre la plante et le champignon. _____ *29*
Figure 15. Voies de transferts souterrains entre deux plantes. Le cas des transferts d'une fabacée vers une non-fabacée est présenté en orange. Les molécules vertes représentent le transfert dans le sens opposé, de la non-fabacée vers la fabacée. Les molécules noires représentent les rhizodépôts non issus des nodules. _____ *32*
Figure 16. Diagramme représentant les différentes interactions écologiques et leur effet positif (+), négatif (-) ou neutre (0). Modifié d'après Zélé et al. 2018. _____ *33*
Figure 17. Les processus impliqués dans les problèmes de régénération de forêts boréales et subalpines de confières avec des éricacées dans le sous-bois, d'après Mallik 2003. _____ *37*
Figure 18. Dessin d'une branche de chêne sessile et de ses fruits. _____ *41*
Figure 19. Carte d'identité des chênes sessiles utilisés durant la thèse. _____ *42*
Figure 20. Dessin d'une molinie bleue. _____ *43*
Figure 21. Carte d'identité des molinies utilisées durant la thèse. _____ *43*
Figure 22. Schéma représentant les 6 principales hypothèses de la thèse. _____ *44*
Figure 23. Dispositif expérimental : chêne et molinie dans un même rhizotron ou en rhizotrons séparés. ____ *47*
Figure 24. Etapes de l'installation du cotton-wick sur la molinie. _____ *49*
Figure 25. Design expérimental : modalité des pots. _____ *51*
Figure 26. Etapes de décoloration des racines et de coloration des endomycorhizes. _____ *53*
Figure 27. Dynamique de la longueur (cm) des parties aériennes (A) et racinaires (B) de la molinie en absence (gris) et en présence (noir) de chêne. Les valeurs représentent les moyennes ± SE (erreur standard), n = 6. __ *57*

Figure 28. Experimental set-up. Oak was mixed-grown with either another oak plant or a Molinia tuft in one pot. When mixed-grown, belowground compartments were either fully intermingled (root contact; mixed-grown) or separated with a mesh of size 30 µM (Mesh30) or 1 µM (Mesh1). Mesh limits (cross in the table) the number of pathways of nutrient exchange between two root compartments: hyphae and molecules could go through (check mark in the table) for Mesh30 and only molecules for Mesh1 could cross the mesh. Oak was sole-grown beside another oak plant or a Molinia tuft with no root contact (sole-grown). Superscript ^{15}N indicates oak was labelled with ^{15}N urea through cotton wick application (see Materials and methods for details). 63
*Figure 29. Above-and belowground dry weight for donor oak and receiver Molinia, for each season (summer, autumn, winter and spring). Plants were grown with either no root contact (sole-grown, white bars) or root contact (mixed-grown, grey bars). Values are reported as means ± SE (n = 4). *, ** and *** correspond to p < 0.1, 0.05 and 0.01, respectively.* 66
Figure 30. ^{15}N allocation (expressed as % of total ^{15}N measured within all compartments) among shoot, root and soil in donor oak and receiver Molinia. Species were sole-grown (a, b, c and d) or mixed-grown (e, f, g and h). Values are reported as means ± SE (n = 4). 67
Figure 31. ^{15}N allocation (expressed as % of total ^{15}N measured within all compartments) among shoot, root and soil in donor oak and receiver oak. Species were sole-grown (a, b, c and d) or mixed-grown (e, f, g and h). Values are reported as means ± SE (n = 4). 68
Figure 32. Relative allocation of ^{15}N among shoots, roots and soil in donor oak mixed-grown with receiver oak plant (white filling) or receiver Molinia tuft (black filling) according to seasons (summer, autumn, winter and spring) and treatment of root separation (sole-grown, Mesh1, Mesh 30 and mixed-grown). Values are reported as means ± SE (n = 4). 69
Figure 33. Relative allocation of ^{15}N among shoots, roots and soil in receiver oak plant (white filling) and receiver Molinia tuft (black filling) according to seasons (summer, autumn, winter and spring) and treatment of root separation (sole-grown, Mesh1, Mesh 30 and mixed-grown). Values are reported as means ± SE (n = 4). 70
Figure 34. Correlation between dry weight and ^{15}N relative amount in receiver Molinia in summer (a), autumn (b), winter (c) and spring (d) and in receiver oak in summer (e), autumn (f), winter (g) and spring (h). Dark point and regression line represented shoot and grey triangle and regression line represented root. Equation line (y), r^2 and p-value are reported above each graph. 73
Figure 35. Biomasse sèche (g) des parties aériennes et racinaires des chênes et des molinies selon qu'ils soient en pots séparés (blanc) ou dans le même pot (noir), à chaque saison. Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6. 77
Figure 36. Quantité relative de ^{15}N dans les parties aériennes, les racines et le sol des molinies donneuses et des chênes receveurs en fonction de la modalité et des saisons. L'échelle des ordonnées a été adapté à l'espèce. Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6. 79
Figure 37. Pourcentage de ^{15}N (moyenne ± SE) dans les différents compartiments de la molinie donneuse et du chêne receveur, selon qu'ils soient en pots séparés ou dans un même pot, pour chaque saisons. 80
Figure 38. Teneur en azote (%) des parties aériennes et racinaires des chênes et des molinies selon qu'ils soient en pots séparés (blanc) ou dans le même pot (noir). Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6. 81
*Figure 39. Dry weight of oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, **, *** correspond to p < 0.05, 0.01 and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.* 91
*Figure 40. Number of lateral root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *** correspond to p < 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 120.* 92
*Figure 41. Ratio number of mycorrhizas:number of lateral root (b) when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *** correspond to p < 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 120.* 93
*Figure 42. Nitrogen amount in oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, *** correspond to p < 0.05, and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.* 94
*Figure 43. Nitrogen content in oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, *** correspond to p < 0.05, and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.* 95

Figure 44. Experimental design of Experiment 1 in 2017 (A) and Experiment 2 in 2018 (B) with the different treatments tested on oak seedlings and Molinia tufts: sole-grown (SG), SG + oak exudates, SG + Molinia exudates, and mixed-grown (competition by exploitation + allelopathy). 105
*Figure 45. Above- and belowground dry weights (g) of oak in Experiment 1 for the two different treatments: sole-grown (white bars) and SG + Molinia exudates (grey bars). Values are reported as means ± SE (n = 8). * corresponds to p < 0.05.* 109
Figure 46. Oak relative fresh weight increment in Experiment 1 for the two different treatments: sole-grown (white bars) and SG + Molinia exudates (grey bars). 110
Figure 47. Oak (a) and Molinia (b) relative fresh weight increment in Experiment 2 for the four different treatments: sole-grown (white bars), SG + oak exudates (light grey bars), SG + Molinia exudates (dark grey bars) and mixed-grown (dark bars). Values are reported as means ± SE (n = 6). Different letters indicate a significant difference between treatments. 111
Figure 48. Oak (a) and Molinia (b) root/shoot ratio in Experiment 2 for the four different treatments: sole-grown (white bars), SG + oak exudates (light grey bars), SG + Molinia exudates (dark grey bars) and mixed-grown (dark bars). Values are reported as means ± SE (n = 6). Different letters indicate a significant difference between treatments. 111
Figure 49. Partial Least Squares Discriminant (PLS-DA) based on secondary metabolite identity. CE: oak root exudates (red). ME: Molinia root exudates (green). 113
Figure 50. Analyse en composantes principales (ACP, A) et régression des moindres carrés partiels (PLS-DA, B) basés sur la composition en métabolites secondaires. CJ : macérat racinaire de chêne. MH : solution hydroponique de molinie. MJ : macérat racinaire de molinie. 117
Figure 51. Schéma bilan 1 122
Figure 52. Schéma bilan 2 124
Figure 53. Schéma bilan 3 126
Figure 54. Schéma bilan 4 128
Figure 55. Schéma bilan 5 130
Figure 56. Schéma bilan 6 132
Figure 57. Schéma bilan 7 133
Figure 58. Schéma bilan 8 135
Figure 59. Schéma bilan final 148

Liste des tableaux

Tableau 1. Données météorologiques générales des 3 années d'expérimentations. Les données de 2019 ont été prélevées de janvier à septembre. 46
Tableau 2. Liste des macro et micro-éléments, leur poids moléculaire, leur molarité et leur quantité (g/L), présents dans la solution nutritive. 55

Tables en annexe

Table S 1. Means ± SE (g) of shoot and root dry weight of donor oak and receiver Molinia when sole-grown or mixed-grown, for each season (n = 4). ii
Table S 2. Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment (sole-grown (SG) and mixed-grown (MG)) on shoot and root dry weight of donor oak and receiver Molinia, for each season (n = 4). ii
Table S 3 Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of shoot and root dry weight between donor oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4). iii
Table S 4. Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference between shoot and root dry weight of donor oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4). iii
Table S 5. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of shoot and root dry weight of donor oak and receiver Molinia among seasons (n = 4). iv
Table S 6. Means ± SE of 15N relative amount in shoot, root and soil of donor oak near oak neighbor or Molinia and of receiver oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4). v
Table S 7. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of donor oak near receiver oak or receiver Molinia among treatment, for each season (n = 4). vi
Table S 8. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of receiver oak and receiver Molinia among treatment, for each season (n = 4). vii
Table S 9. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of donor oak among neighbor species, for each treatment and season (n = 4). viii
Table S 10. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil between receiver oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4). ix
Table S 11. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among compartment (shoot, root and soil) in donor oak near receiver oak or receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4). x
Table S 12. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among compartment (shoot, root and soil) receiver oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4).....xi
Table S 13. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among season (shoot, root and soil) in donor oak near receiver oak or receiver Molinia, for each treatment (n = 4). xii
Table S 14. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil among season in receiver oak and receiver Molinia, for each treatment (n = 4). xiii
Table S 15. Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference between isotopic abundance and natural abundance in receiver neighbors (n = 4). xiv

Table S 16. Test statistic (F-value), and degrees of freedom (DF) assessing the correlation between dry weight and ^{15}N relative amount in neighbors (n = 4). xv
Table S 17. Mean ± SE of ^{15}N relative amount and ratio MG/SG in neighboring pot (soil, root and shoot of neighbor) in sole-grown treatment and in external compartments of donor oak (soil, root and shoot of neighbor) in M1, M30 and mixed-grown treatment (n = 4). xv
Table S 18. Means ± SE (g) of oak shoot and root dry weight (experiment 1) in control (Ctrl) and Molinia root exudates (ME) treatment. Test statistic (t-value), statistical significance (P-value (p-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on shoot and root dry weight of oak (n = 4). xvi
Table S 19. Means ± SE (g) of oak relative increment (experiment 1) in control (Ctrl) and Molinia root exudates (ME) treatment. Test statistic (t-value), statistical significance (P-value (p-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak relative increment (n = 4). xvii
Table S 20. Means ± SE (g) of oak and Molinia relative increment (experiment 2) in control (Ctrl), oak root exudates (OE), Molinia root exudates (ME) and competition (Comp) treatment (n = 6). xvii
Table S 21. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak and Molinia relative increment (n = 6). xvii
Table S 22. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (p-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak and Molinia root/shoot ratio (n = 6). xviii

Liste des photographies

Photo 1. Dispositif expérimental et récolte des chênes et des molinies. *46*
Photo 2. Dispositif expérimental : rhizotrons. *47*
Photo 3. Cotton-wick appliqué au chêne..... *48*
Photo 4. Echantillons de racines de chêne sur lame et observations des ectomycorhizes à la loupe binoculaire 52
Photo 5. Molinies en hydroponie. *54*
Photo 6. Microscope observation (x400) of oak ectomycorrhizas (surrounded in green). *90*
Photo 7. Observations des endomycorhizes (colorés à l'encre bleu) de la molinie au microscope optique (x400). *99*

Préface

• La forêt dans le monde

L'origine du mot forêt est complexe. En latin, « *silva* » désigne à la fois le bois, les arbres et la forêt. Au XIIème siècle, le terme « selve » (ancien français) a laissé place à « forest ». Une forest désigne alors une « vaste étendue de terrain peuplée d'arbres ». Aujourd'hui, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) définit la forêt comme étant un « territoire occupant une superficie d'au moins 50 ares, avec des arbres pouvant atteindre une hauteur supérieure à 5 mètres à maturité *in situ*, un couvert boisé de plus de 10 % et une largeur moyenne d'au moins 20 mètres. La forêt n'inclut pas les terrains pour lesquels l'utilisation prédominante du sol est agricole ou urbaine. ». Une forêt vierge est une forêt intacte (ou originelle) ou une forêt à haut degré de naturalité n'ayant jamais été détruite ni très exploitée, ni fragmentée ni directement ou manifestement influencée par l'homme. Dans le monde, il y a trois grands pôles de forêts tropicales dites primaires : l'Amazonie (Brésil, Pérou et Colombie), la République démocratique du Congo et l'Indonésie. La Patagonie (Chili et Argentine), la Tasmanie (Australie), l'État de Washington (États-Unis) et la Colombie-Britannique (Canada) possèdent l'essentiel des forêts primaires tempérées. La Guyane française représente l'une des zones les plus vastes avec 90% de forêts primaires. En Europe, seuls subsistent quelques massifs tels que ceux de Białowieża en Pologne et en Biélorussie, Perućica en Bosnie-Herzégovine ou dans l'extrême nord de la Scandinavie et de la Russie ou sur les reliefs de la Roumanie. En France métropolitaine, il n'en reste aucune.

La plus ancienne forêt fossile connue est celle de Gilboa, dans l'Etat de New-York (Stein et al. 2012). Elle a été découverte par des ouvriers creusant une carrière en 1870. Elle serait âgée de 385 millions d'années (Dévonien : - 416 à - 359 Ma) (**Figure 1**). Les fossiles d'un arbre, baptisé « Arbre de Gilboa », ont été découverts par deux chercheurs qui en ont dressé un portrait-robot (Meyer-Berthaud et al. 1999; Meyer-Berthaud and Decombeix 2007). Il ressemble aux fougères arborescentes actuelles (Cyatheacées), il appartient à l'espèce *Wattieza* et se reproduit grâce à des spores. Le tronc est long de plus de 6 mètres et couronné de branches à son sommet. Au total, l'arbre pouvait atteindre 9 mètres de haut. Jusqu'à présent l'arbre le plus ancien était l'*Archaeopteris*, qui date de la fin du Dévonien. Ce dernier ressemble davantage aux conifères actuels. Les racines et les branches de l'arbre de Gilboa étaient moins développées que celle de l'*Archaeopteris* et ses capacités de photosynthèse étaient limitées à

l'extrémité de ses branches. L'arbre de Gilboa aurait focalisé son énergie pour la croissance verticale. La reconstitution de la forêt de Gilboa montre déjà un écosystème complexe avec plusieurs étages de végétation.

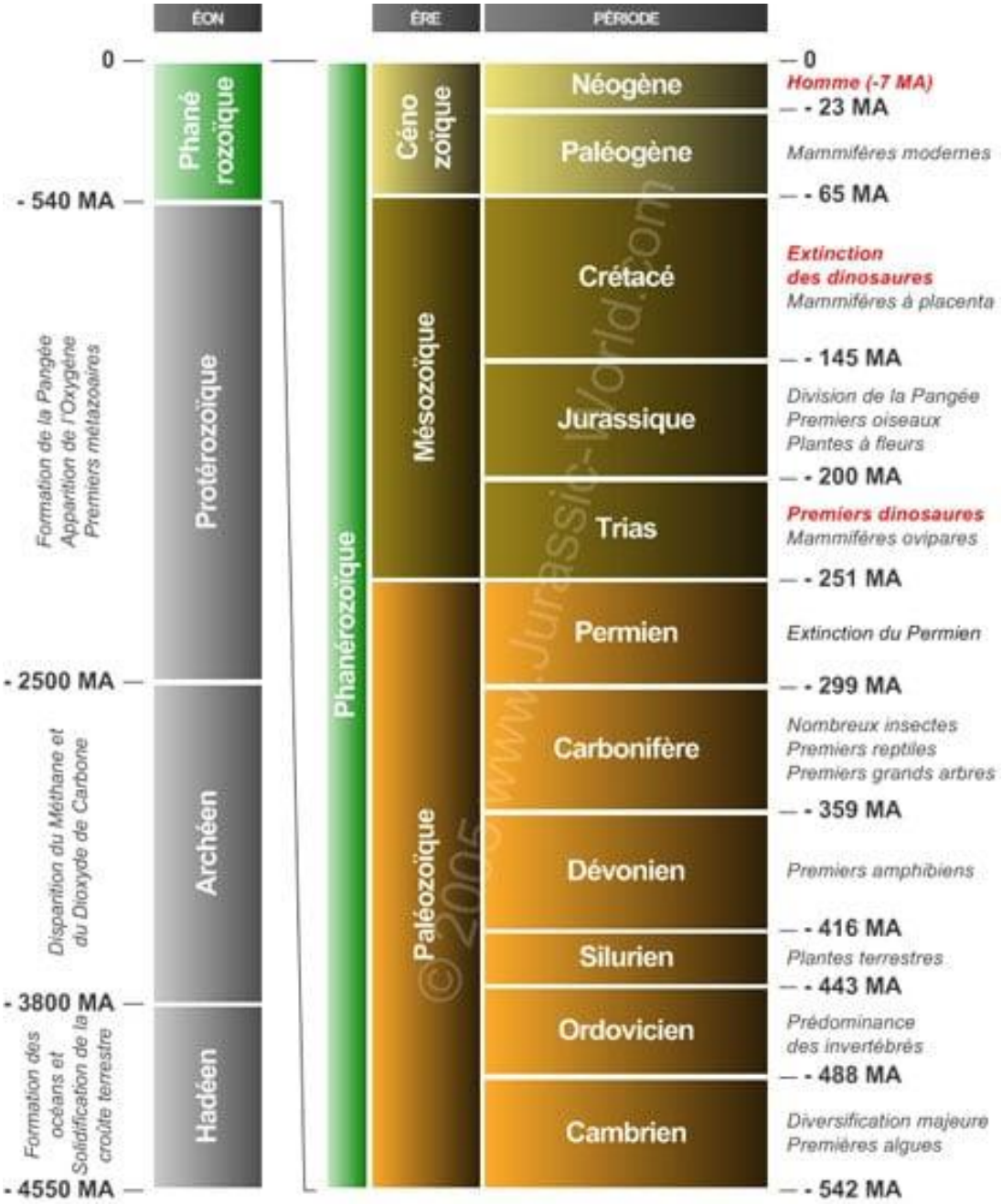


Figure 1. Echelle des temps géologiques d'après www.jurassic-world.com/echelle-temps-geologiques.

Ce n’est qu’à partir du Néolithique que l’homme a eu un réel impact sur la forêt (Godwin 1935; Turner et al. 1965). Son importance majeure sur la vie des hommes fait de cette période « l'âge du Bois ». Toutefois, les connaissances sur cette période restent infimes.

Aujourd’hui, un tiers de la surface des terres émergées, soit 3 750 millions d’hectares (9,4% de la surface du globe soit 30% des terres émergées) est recouvert de forêts, mais ce chiffre diminue d’année en année, à raison de 3,3 millions d’hectares de perte par an, l’équivalent de 15,3 milliards d’arbres (Crowther et al. 2015; Gilliam 2016). Les zones tropicales sont les plus touchées par la déforestation (FAO, 2016). En cause, une mauvaise gestion due à des pratiques peu durables et de surcroit, le changement climatique. Pourtant, la forêt est indispensable pour l’équilibre de la planète avec ses rôles de puits de carbone, de production de biomasse, de maintien des sols et de régulation du climat (Charney et al. 2016). La forêt française prélève l’équivalent de 15% des émissions nationales annuelles de CO_2. Cependant, elle subit dans le même temps les effets de ces évolutions anthropiques et climatiques.

Les premiers chênes

Plus de 3 mille milliards d’arbres vivent sur Terre (Crowther et al. 2015). Ils font partie des êtres vivants les plus massifs et les plus grands qui existent. *Hypérion,* un séquoia à feuilles d'if situé dans le Parc national de Redwood (Californie), atteint une hauteur de 115,55 mètres. Un autre arbre remarquable, un figuier nommé le Banian de Howrah et situé au Bengale, dans l’Est de l’Inde, fait la taille de deux terrains de football : il s’étend sur 14 500 mètres carrés. Ses multiples troncs et ses nombreuses racines qui ressortent du sol sont semblables à une forêt, mais il s’agit en réalité d’un seul être vivant. Avec 50 mètres de circonférence au sol et 34,50 mètres à 1m50 du sol, le conifère *Taxodium mucronatum* est l'arbre le plus gros du monde et se trouve au Mexique. Certains arbres ont une longévité remarquable**.** Baptisé *Old Tjikko,* un épicéa commun vivant en Suède aurait plus de 9000 ans. En France, parmi la longue liste d’arbres remarquables, l’espèce la plus répandue est le chêne, appartenant au genre *Quercus*. Il appartient à la famille des fagacées et compte près de 600 espèces différentes réparties dans l’hémisphère Nord.

Les premiers restes fossiles de chêne ont été découverts en Amérique du Nord (Manchester 1994), en Chine (Jiang, 1993) et en Europe (Kvacek et Walther 1989) de l’Éocène (-50 Ma). Le genre s'est différencié lorsque la dérive des continents s’est accentuée. Des changements climatiques importants ont entraîné la diversification extrêmement rapide du genre au cours de l'Oligocène (-30 Ma) et du Miocène (-20 Ma). La plupart des restes fossiles

de cette période est similaire aux espèces actuellement présentes (Trelease 1924; Axelrod 1983). Au cours de l'ère quaternaire (-1,8 Ma à aujourd'hui), les chênes de l'hémisphère nord ont subi d'importantes migrations. Il y a eu environ 17 oscillations climatiques de Milankovitch (alternance de périodes glaciaires et interglaciaires) au cours desquelles les espèces ont été soumises à des restrictions et à des expansions successives de leurs distributions (Jansson et Dynesius 2002).

Une vaste enquête menée en Europe sur les empreintes génétiques restantes a montré que la répartition de la diversité génétique était façonnée par la dynamique de la colonisation postglaciaire (Kremer et al. 2002). À la fin des dernières glaciations, les chênes européens se limitaient à trois grands refuges (sud de la péninsule ibérique, centre de l'Italie et sud de la péninsule des Balkans). Comme les périodes glaciaires ont duré plus de 100 000 ans, les espèces étaient très probablement différenciées génétiquement entre ces différentes zones. Entre 13 000 et 10 000 BP (Before Present), l'abondance de chênes a augmenté dans les régions montagneuses (Pyrénées, Alpes du Sud-Est et Carpates). Le refroidissement des températures de 11 000 à 10 000 BP a mis fin à cette expansion et entraîné une réduction des populations existantes. Après 10 000 BP, les chênes se sont répandus dans toute l'Europe et ont atteint leur distribution actuelle. L'expansion a été plus rapide en Europe occidentale (entre 300 et 500 mètres par an). Elle a été réduite au centre et à l'est à cause des Alpes et des Carpates qui ont ralenti leur migration (Brewer et al. 2002). Aujourd'hui, le niveau de diversité reste important dans la partie centrale de l'Europe, où les différents fronts de migration provenant des zones de refuges ont fusionné (Petit et al. 2002).

Le culte du chêne

Le culte de l'arbre a une origine très ancienne et se retrouve chez de nombreuses populations primitives et dans les civilisations du monde entier. Les Perses vénéraient le dattier, l'olivier, les platanes et les cyprès. Les Hindous adoraient le Palmier, leurs textes font mentions d'Arbres sacrés, Arbres des démons, Arbres de Dieu, Arbres de Bouddha, Arbres de la connaissance... En Grèce, la vénération des arbres était liée au culte des Dieux et des Héros : l'Olivier de Minerve, le Laurier d'Apollon, la Myrte de Vénus, le Pin de Bacchus, le Frêne de Mars et le Chêne de Zeus.

En grec, chêne est traduit par « drûs », un terme générique qui désigne l'arbre et qui est apparenté aux druides « dru-wid-es » (celte), qui signifie « très savant ». Les dryades sont d'ailleurs des nymphes liées aux arbres et pas seulement aux chênes. Plus tard, ce nom désignera les figures divines présidant au culte des arbres et de la forêt. Si *drus* se spécialise tôt

en Grèce, chez Homère (poète de la fin du VIIIème siècle av. J.-C) pour qui il désigne l'arbre par excellence, c'est un mot construit sur une racine indo-européenne bien antérieure, qui signifie la confiance, le respect, la loyauté (cf. l'anglais trust, « confiance », l'allemand treu, « fidèle », etc.). Ce n'est donc pas l'arbre au bois solide qui suscite métaphoriquement les concepts de fermeté, résistance, fidélité, mais ces qualités de l'âme qui seront un jour transférées au chêne, dans le sud-est de l'Europe. En langue celtique « *kaër quez* » (*Quercus*) signifie « bel arbre » ou « arbre par excellence ». Les peuples celtes et gaulois considéraient le chêne comme un temple et lui vouaient un véritable culte. Par ailleurs, l'image celtique de Zeus est un grand chêne. Pour eux, le chêne transmet ses énergies chtoniennes (telluriques, qui réfèrent à la terre) et célestes à l'homme par l'intermédiaire des druides lors des rites et cérémonies. Pour ces druides, le gui sur un chêne était un fait suffisamment rare pour marquer l'arbre comme particulièrement sacré, augmentant son caractère mystérieux. Ils choisissaient des bosquets de chênes pour y célébrer leur service solennel et n'accomplissaient aucun de leurs rites sans feuilles de chêne. Il joue aussi un rôle social : les communautés se réunissaient à l'abri de son large feuillage pour prendre d'importantes décisions, tradition qui perdurera de longues années chez les rois de France. Dans la langue française, « chêne » provient du gaulois « *cassanus* » et de l'ancien français « chasne ».

Le chêne était un arbre vénéré dans toute l'Europe et le bassin méditerranéen. À Dodone (sanctuaire oraculaire grecque dédié à Zeus et à la Déesse du chêne et de ses colombes, révérée sous le nom de Dioné) les Dieux s'exprimaient par l'intermédiaire d'un chêne sacré. Sur le mont Lycée, en Arcàdie (région de la Grèce située au centre de la péninsule du Péloponnèse), le caractère de Zeus comme dieu du chêne, de la pluie et du tonnerre est clairement mis en évidence par la pratique du prêtre de Zeus pour provoquer la pluie ; il trempait une branche de chêne dans une source sacrée. Les décomptes des forestiers le placent largement en tête sur les échelles de sensibilité à la foudre, sans qu'on puisse encore en trouver des raisons écologiques ou biologiques satisfaisantes ; une vulnérabilité connue depuis longtemps expliquant le fait qu'il soit associé au tonnerre.

La vénération pour les bois sacrés paraît avoir tenu la première place dans la religion des anciens Allemands où leur principal arbre sacré était le chêne. Il paraît avoir été spécialement consacré au dieu du tonnerre, Donar ou Thunar. Un chêne sacré, près de Geismar, en Hesse, avait chez les païens le nom de chêne de Jupiter (*robur Jovis*), en vieil Allemand « Donares eih », « le chêne de Donar ». Dans la principauté de Minden, garçons et filles dansaient autour d'un vieux chêne, le dimanche de Pâques, en poussant des cris de joie. Proche du village de Wormeln, près de Paderborn, se trouvait un chêne sacré dans la forêt, et les

habitants de Wormeln et de Calenberg s'y rendaient chaque année en procession solennelle. Une autre marque du respect superstitieux que les allemands ont pour le chêne, est l'habitude de faire passer les gens et les animaux malades à travers une ouverture naturelle ou pratiquée dans le tronc d'un chêne pour les guérir de leurs infirmités. Dans un village de la Prusse-Orientale, près de Ragnit, se trouvait un chêne qui, jusqu'au XVIIème siècle, était considéré comme sacré par les villageois, fermement convaincus que toute personne qui lui ferait du mal serait frappée de malheur et de maladie. Encore au milieu du siècle dernier les Lithuaniens faisaient des offrandes aux esprits sous de vieux chênes et chez eux les vieilles personnes préféraient préparer les repas funèbres sur un feu de bois de chêne ou au moins, sous un chêne. Jusqu'au XIXème siècle, dans différentes régions de la Basse Saxe et de la Westphalie, il restait des traces de culte mi-païen, mi-chrétien, que les gens rendaient à certains chênes sacrés. Dans l'Italie ancienne, tous les chênes étaient consacrés à Jupiter, le Zeus italien. En Irlande, lorsque le Christianisme remplaça le Druidisme, le chêne garda une place sacrée : les monastères étaient construits dans les bois de chênes ou sous quelques chênes solitaires. Chez les Slaves, aussi, le chêne paraît avoir été l'arbre sacré du dieu du tonnerre, Pérun, le pendant de Zeus et de Jupiter. Un feu, alimenté de bois de chêne, brûlait nuit et jour en son honneur. S'il venait à s'éteindre, ceux qui en avaient la charge payaient leur négligence de leur vie. Pérun paraît avoir été, comme Zeus et Jupiter, le principal dieu de son peuple. En Russie, sur les bords de la petite rivière Micksy, entre les gouvernements de Pskov et de Livonie, un chêne sacré, rabougri et desséché, reçut les hommages des paysans des environs au moins jusqu'en 1874.

Malgré la transformation profonde des forêts primaire pour l'agriculture, la persistance de beaucoup de vieux chênes dans l'espace rural à travers les siècles atteste que sa symbolique du respect ou de la crainte a primé. Les raisons qui poussaient les hommes à vénérer certains arbres plutôt que d'autres pouvaient être très diverses. La longévité et les dimensions imposantes des chênes devaient compter pour beaucoup.

Aujourd'hui, le chêne intéresse particulièrement pour son amplitude économique mondiale. Il est très prisé en tonnellerie, ébénisterie et en menuiserie, notamment dans le milieu maritime. Jean-Baptiste Colbert[1] avait choisi la forêt des Bertranges (dans la Nièvre) pour fournir en bois de charpente les arsenaux de la Marine. On notera son grand altruisme, car il

[1] Jean-Baptiste Colbert (1619-1683) : un des principaux ministres de Louis XIV, d'abord contrôleur général des finances puis secrétaire d'Etat de la Maison du roi et secrétaire d'Etat de la Marine. Il est à l'origine de la grande réformation en 1669, s'attachant à règlement strictement l'abattage des arbres forestiers.

faut en principe attendre 150 à 200 ans avant de couper un chêne pour avoir un bois de qualité suffisante.

Le chêne dans le Puy-de-Dôme

Dans le Puy-de-Dôme, cinq espèces de chênes se partagent le territoire. Le Chêne pubescent (*Quercus pubescens*) côtoie les coteaux de Limagne. C'est une espèce des milieux chauds et secs qui pousse souvent sur des sols peu profonds. Quelques beaux spécimens peuvent être observés sur le plateau de Châteaugay, mais il atteint rarement des dimensions remarquables. Le Chêne pédonculé (*Quercus robur*) affectionne plutôt les sols profonds et riches, ce qui lui permet d'atteindre des dimensions hors normes. Le Chêne sessile (*Quercus petraea*) se trouve plutôt sur les sols acides. Il est l'espèce principale dans la forêt de Tronçais (« Tronce » étant l'ancien nom du chêne sessile) dans l'Allier, réputée plus belle futaie de chêne d'Europe. La qualité de son bois lui a permis d'être le premier grand cru classé. En mai 2018, elle est la huitième forêt française à recevoir le label « Forêt d'exception », parmi les 1400 forêts domaniales que compte la France. Ces trois espèces s'hybrident fréquemment, ce qui rend parfois leur détermination imprécise. Deux autres espèces de chênes sont localement plantées, le Chêne rouge d'Amérique (*Quercus rubra*) et, beaucoup plus rarement, le Chêne vert (*Quercus ilex*). C'est à partir de glands de chêne-vert (cependant en provenance d'Espagne ou du Maghreb) séchés torréfiés, de chicorée et de seigle que Jean-Baptiste Bargoin deviendra une figure emblématique du Puy-de-dôme au milieu du XIXème siècle. Il fabrique un café nommé « Gland doux » qui sera produit à une échelle industrielle et fera sa fortune ainsi que celle de son partenaire Henri Lecoq, propriétaire d'une officine de pharmacie rue Ballainvilliers.

Les plus gros chênes du département peuvent atteindre 600 cm de circonférence. Essence longévive par excellence, un chêne peut vivre entre 500 et 1 000 ans et atteindre une circonférence de 1 250 cm.
En 2000, un chêne de 400 ans encastré dans une grange de Saint-Étienne-des-Champs a été récompensé « arbre remarquable d'Auvergne ».

Le chêne continue d'être un arbre particulièrement vénéré. Il est le symbole de force, de solidité, de générosité, de longévité, de sagesse, de puissance, de justice, d'hospitalité, de savoir, d'autorité, de lien entre la terre et le ciel… et j'espère qu'il n'est pas rancunier, vu le nombre de bébés chênes que j'ai dû broyer pour les besoins cette thèse.

CHAPITRE I. Introduction générale

1.1. Le chêne dans la forêt française

La forêt française métropolitaine s'étend sur 16,9 millions d'hectares, soit 31% du territoire, et continue de s'accroître depuis la seconde moitié du XXème siècle (0,7 %/an depuis 1980), suite à la déprise agricole. Les peuplements feuillus représentent 67 % de la superficie forestière (21% de conifères et 12% de forêt mixte). Avec 42 % du volume des feuillus, les chênes (pédonculés (11%), sessiles (11%), pubescents (4%)) sont les essences les plus représentées sur le territoire métropolitain. Quinze pourcents de l'ensemble des prélèvements en métropole sont des chênes, et c'est le chêne sessile qui a le volume de bois sur pied le plus important avec un total de 309 ± 13 millions de mètres cubes (IGN, 2018). Son aire de distribution (**Figure 2**) est comprise dans celle du chêne pédonculé et comprend toute l'Europe occidentale, excepté le Portugal et une grande partie de l'Espagne.

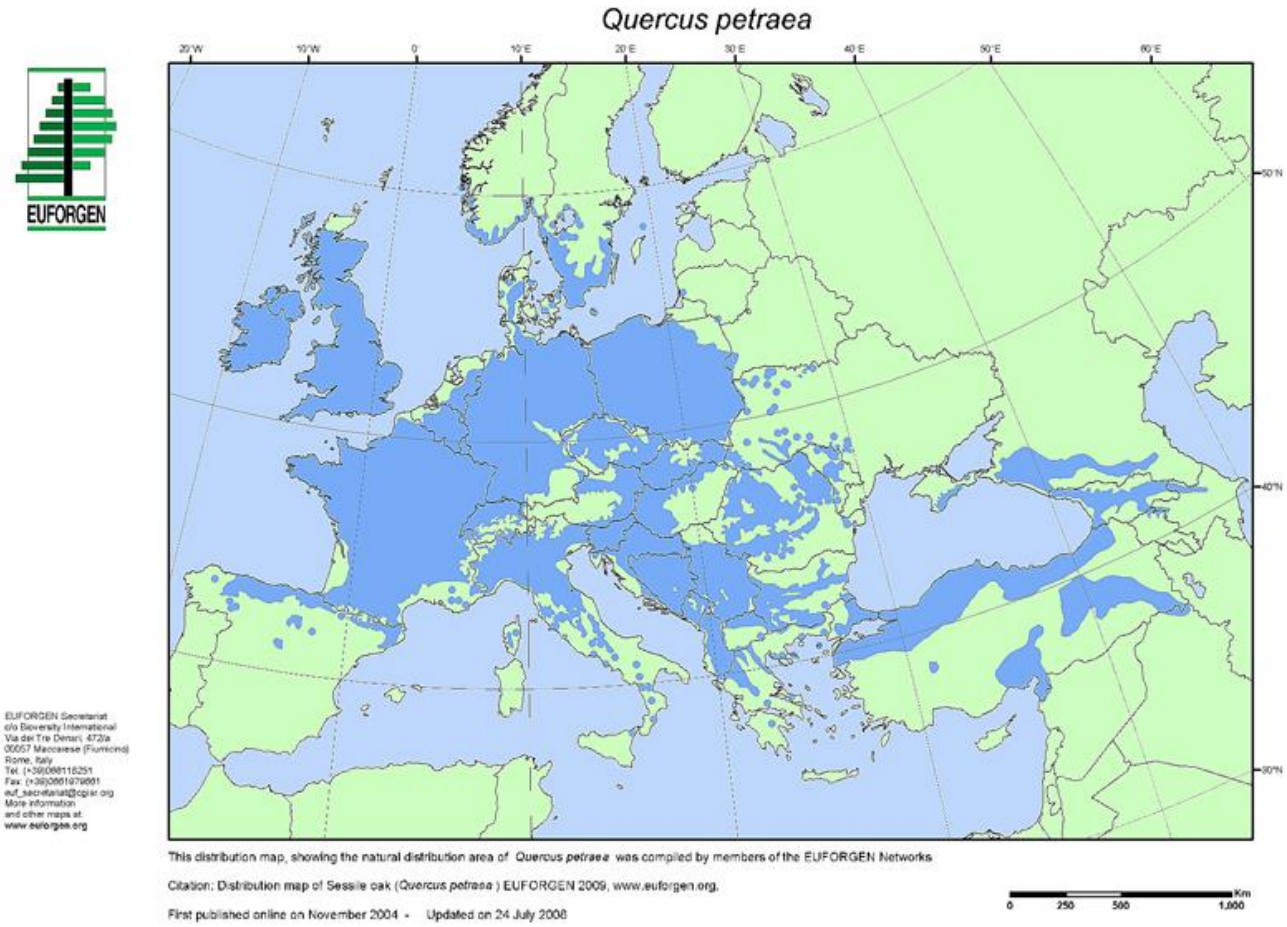


Figure 2. Carte de distribution du chêne sessile (Quercus petraea) dans le monde d'après EUFORGEN 2009.

Elle s'étend à l'Est jusqu'au Caucase et au Nord jusqu'aux parties les plus méridionales de la Norvège et de la Suède. En France, le chêne sessile est présent partout en plaine. Il est disséminé dans le Sud-Ouest et rare en région méditerranéenne. Très présent dans la moitié Nord de la France à l'étage collinéen (< 600 m), excepté dans les vallées où il est souvent remplacé par le chêne pédonculé, il se trouve à la base de l'étage montagnard ainsi qu'à l'étage supraméditerranéen.

La récolte du bois dans les forêts françaises a progressé de 4 % en 2016 pour les grumes à sciages. Celles-ci s'élèvent à 2 millions de mètres cubes sur l'année. La France est ainsi le 1er pays producteur de chênes en Europe et le 2ème dans le monde, après les États-Unis. La production de sciages français de chêne repart à la hausse et dépasse les 600 000 mètres cubes en 2016 (+6 %). De même, les exportations de bois ronds de chêne (grumes et bois de trituration) grimpent de 8,5 % en valeur, entre juillet 2016 et juin 2017 pour totaliser 71 millions d'euros, d'après le service statistique Agreste. Les sciages de chêne ont drainé 148 millions d'euros entre juillet 2016 et juin 2017. Aujourd'hui, entre 20% et 30% des stocks de chênes français sont exportés en Chine. Ces 5 dernières années, le prix des grumes de chêne n'a cessé de s'accroître. C'est le bois dont le prix a le plus augmenté, quelle que soit la catégorie (Agreste 2018) (**Figure 3**).

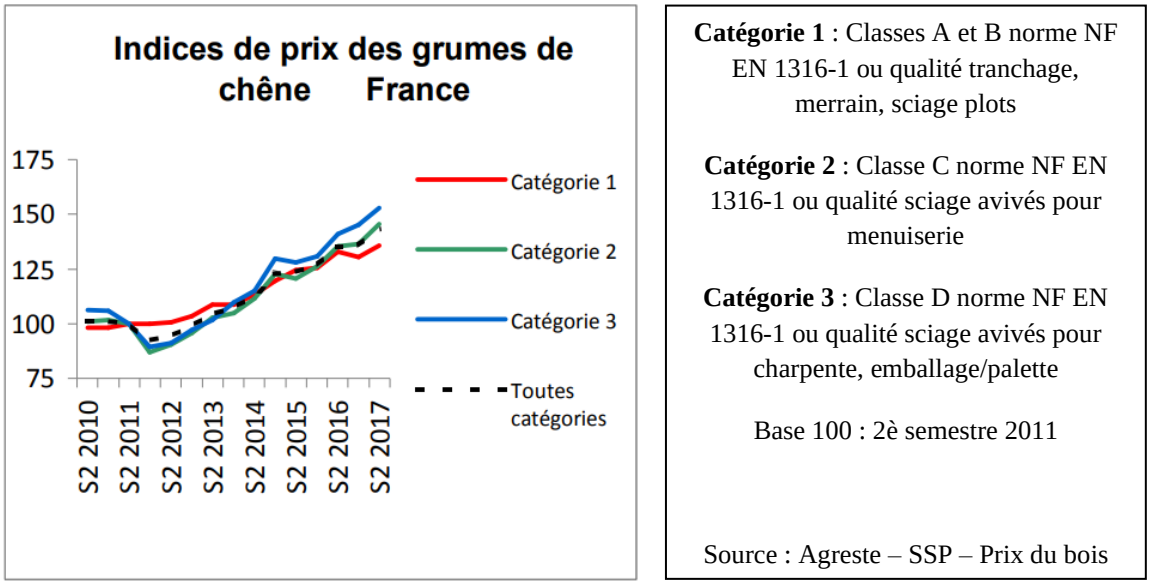


Figure 3. Indices de prix des grumes de chêne en France de 2010 à 2017 selon la catégorie.

L'exploitation et la gestion forestière restent délicates. L'écosystème forestier est menacé par les modifications climatiques (Gilliam 2016) et par un marché difficile à contrôler

tant la demande s'accroît. La sylviculture est principalement régie par des aspects économiques. Dans les chênaies, les plantations sont beaucoup moins utilisées que par le passé à cause de leur coût. Les forestiers privilégient alors la régénération naturelle, mais elle s'avère particulièrement complexe voire infructueuse dans diverses forêts. Il apparaît primordial de tenir compte des interactions entre les végétaux et leur environnement biotique et abiotique pour assurer la pérennité des forêts.

1.2. Difficultés de régénération naturelle du chêne sessile

La régénération naturelle a pour but d'assurer le renouvellement du peuplement forestier avec des individus vigoureux et de haute qualité (Chaar et al. 1997). Elle comprend quatre étapes cruciales (Kozlowski 2002) ; la fructification des arbres adultes (chez le chêne, les fructifications ne sont pas régulières, entrainant une augmentation des délais de régénération), la dispersion et le stockage des graines, la germination des graines et enfin l'installation et le développement des semis. Ces étapes dépendent de l'environnement abiotique (lumière, eau, éléments nutritifs, température, pédologie…) ainsi que des conditions biotiques (faune, flore). Les interactions intra- et interspécifiques sont d'autant plus nombreuses dans les écosystèmes forestiers pluristratifiés et dépendent en partie des pratiques sylvicoles telles que les coupes.

Les éclaircies se traduisent par la diminution du nombre d'arbre sur pied entrainant dans un premier temps une augmentation des ressources (rayonnement, nutriments, eau…) dans l'écosystème forestier, pouvant favoriser la flore des sous-étages, et particulièrement les espèces très compétitives pour l'accès à la lumière, à l'eau et aux nutriments du sol. La quantité limitée de ressources due à cette compétition diminue la croissance et la probabilité de survie des semis (Coll et al. 2004; Picon-Cochard et al. 2006; Provendier et Balandier 2008). Additionnée au contexte de changements globaux prédisant une augmentation des événements climatiques tels que l'intensité des sécheresses et la réduction induite de la disponibilité des nutriments, la régénération naturelle des arbres et le renouvellement des forêts tempérées nécessitent l'amélioration des pratiques sylvicoles (Dale et al. 2006). Les principales difficultés sont la gestion, la sélection des plus beaux arbres (balivage) et la réduction de la densité des essences ciblées au profit des tiges bien conformées (dépressage). Il convient de doser l'intensité des éclaircies pour que les semis aient suffisamment de lumière pour se développer, sans que cela ne favorise trop la végétation du sous-bois, en particulier dans les cas où elle est composée d'espèces monopolistes. La connaissance de l'histoire du peuplement et des espèces

en présence, ainsi que la compréhension des mécanismes interactionnels entre les plantes sont cruciales.

Les coupes trop intensives non suivies de régénération peuvent avoir des impacts négatifs sur la croissance du chêne qui, dès la germination, entre en compétition avec les espèces du sous-bois (Loftis et al. 1993; Löf 2000; Johnson et al. 2002; Löf et Welander 2004; Harmer et Morgan 2007; Annighöfer et al. 2015). L'une des espèces qui affecte le plus la croissance des jeunes chênes à cause de sa compétitivité pour la lumière et surtout pour l'eau et les nutriments est la molinie bleue (*Molinia caerulea* (L.) Moensh) (Frochot et al. 1986; Davies 1987; Aerts 1999). En France, les forestiers ont constaté sa présence dans des chênaies d'origines géographiques différentes (Aquitaine, Pays-de-la-Loire, Centre…), généralement sur sol acide et à pseudogley. Son développement rapide et sa structure foliaire dense pouvant dépasser un mètre de haut entrainent la formation d'un tapis dense dans le sous-bois. Initialement, ce sont les chênaies pédonculées qui ont été le plus étudiées, pourtant la molinie se développe aussi dans les chênaies à chêne sessile et a des impacts équivalents en termes de difficultés de régénération naturelle. Cependant, Vernay (2017) a démontré que la présence de chêne sessile favorisait la croissance de la molinie. Au départ, l'accent était mis sur la compréhension des mécanismes de compétition pour les ressources, mais les interactions semblent plus complexes. La relation chêne-molinie est vraisemblablement à double-sens, et les effets sur le voisin semblent opposés : l'un concurrence (la molinie) tandis que l'autre favorise (le chêne).

La politique forestière actuelle s'assure de la gestion plus durable des forêts en évitant les coupes rases, en pratiquant des coupes moins intensives et en garantissant la diversité biologique, la productivité, la vitalité et la capacité de régénération. Les fonctions économiques (ressource forestière en bois…), écologiques (puits de carbone, biodiversité importante…) et sociales (loisirs, tourisme…) ont un rôle crucial dans cette gestion. Ainsi, l'usage des produits phytosanitaires (pesticides, herbicides, fongicides…) est aujourd'hui restreint. Toutefois, les nouvelles pratiques de type fauche, paillage, régénération sous couvert et l'apport d'auxiliaires ne sont pas suffisamment éprouvées et efficaces (Provendier et Balandier 2004; Wingfield et al. 2015). Les capacités de régénération naturelle des forêts ont suscité un regain d'intérêt après plusieurs décennies d'abandon, mais sont encore mal connues. Récemment, Mölder et al. (2019) ont identifié un besoin urgent d'approches systématiques de planification forestière. L'objectif est de garantir la disponibilité à long terme des caractéristiques structurelles visant à maintenir des populations viables dans les forêts de chêne. Pour eux, des mesures forestières

axées sur la conservation devraient être mises en œuvre dans les zones où l'efficacité est attendue. Les mesures de régénération du chêne devraient avoir lieu soit à proximité immédiate de vieux peuplements de chênes, soit directement dans ces peuplements. Le choix de l'une de ces options devrait être fondé sur une analyse minutieuse des besoins et des possibilités de la gestion sylvicole et de la conservation de la nature. Concernant la gestion des « hotspots » de biodiversité de chênes, le rétablissement de techniques de gestion forestière historiques consistant à augmenter l'ouverture des peuplements et à créer des habitats offrant des niches de régénération, semble être nécessaire. En l'occurrence, la gestion de l'ouverture du peuplement dans les chênaies à molinie reste complexe.

1.3. Objectifs de la thèse

La thèse s'insère dans le cadre plus général des interactions écologiques entre les espèces. Les interactions entre les systèmes racinaires des plantes peuvent impliquer l'exploitation directe des ressources du sol, mais aussi des mécanismes plus indirects *via* des médiateurs chimiques. La compréhension de ces mécanismes peut apporter des pistes de réflexions quant à l'amélioration des méthodes de régénération forestière et plus largement de gestion des cultures associées.

La compréhension des interactions écologiques et des différents facteurs et acteurs impliqués est essentielle dans l'analyse des problèmes de régénération du chêne sessile en présence de molinie bleue.

L'objectif de la thèse est de mieux comprendre les interactions impliquées dans la relation jeune chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) – molinie bleue (*Molinia caerulea*) et conduisant au dépérissement du jeune arbre. Les travaux de Vernay (2017) ont permis une meilleure compréhension des mécanismes d'interactions pour les ressources eau, azote et lumière. Il a relevé la nécessité de tenir compte des interactions souterraines qui ne se limitent vraisemblablement pas qu'à de la compétition pour les ressources. Il est aussi possible que la molinie produise des métabolites secondaires ayant un effet allélopathique sur le chêne. De manière plus inattendue, Vernay a observé que la croissance de la molinie était plus importante en présence de chêne que lorsqu'elle était seule. En revanche, le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) le chêne facilite la molinie n'est (ne sont) pas connu(s), mais il semblerait que l'azote soit un médiateur majeur de cette interaction. Dans cette thèse, les recherches se sont alors principalement focalisées sur les relations souterraines et notamment racinaires entre le jeune chêne et la molinie. Ces recherches ont visé à analyser les principales interactions

(compétition et facilitation) autres que la simple compétition par exploitation des ressources (connue depuis longtemps dans l'association chêne – molinie).

La thèse se divise en 2 axes principaux liés aux interactions écologiques :

- **la facilitation** : les effets positifs de la présence de chêne et de ses rhizodépôts sur la molinie : implication des **transferts d'azotes**
- la **compétition** : les effets négatifs de la présence de molinie et de ses rhizodépôts sur la croissance et la **mycorhization** du chêne : implication des **molécules allélopathiques**

Chapitre II. État de l'art

L'état de l'art se divise en 5 parties. En première partie, des informations générales seront apportées sur l'anatomie, l'histologie et le fonctionnement des racines. En seconde partie, les différentes catégories d'interactions racinaires seront détaillées. La troisième partie se focalisera sur les mécanismes interactionnels entre les semis et les herbacées présents dans le sous-bois. La quatrième partie expliquera le choix de s'intéresser à deux espèces du sous-bois : le jeune chêne et à la molinie bleue. La cinquième partie présente les hypothèses générales de la thèse.

2.1. Le système racinaire : description et fonctionnalité

2.1.1. Description anatomique et histologique des racines

Les racines sont les organes souterrains des végétaux « supérieurs » (ptéridophytes et spermaphytes) permettant la fixation et l'ancrage dans le sol (racines > 2 mm de diamètre) ainsi que l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (racines < 2 mm de diamètre). La racine a aussi un rôle de stockage de réserve et peut être le support d'associations symbiotiques. Les racines rendent aussi des services écosystémiques. Elles permettent le maintien et la stabilité des sols en évitant leur érosion (Khalilnejad et al. 2012). Dès la germination, une racine primaire se forme dans le prolongement de la tige. Cette racine possède un géotropisme positif, c'est-à-dire qu'elle perçoit la pesanteur de la gravité terrestre et qu'elle croît en direction du centre de la Terre. Sur cette racine, des ramifications appelées racines latérales ou racines secondaires apparaissent. Au niveau de la zone subéreuse, les ramifications les plus fines s'appellent les radicelles. Le système racinaire de la plante est formé par la production continue de ces racines latérales. Les racines latérales et les radicelles ne sont pas orientées par rapport à la verticale, mais perpendiculairement à celle qui les porte. La formation des racines latérales est sous le contrôle de gènes spécifiques, de phytohormones telles que l'auxine (Malamy et Benfey 1997; Casimiro et al. 2001; Benkova et al. 2003; Malamy 2009) et de signaux environnementaux tels que la disponibilité en eau et en nutriments. Sous cette zone de ramification, se trouve la zone pilifère, constituée de poils absorbants, mais elle n'est pas présente chez toutes les espèces. Ces poils sont de petites tailles et très nombreux, leur densité peut atteindre 400 par cm^2. Ils permettent d'accroître la surface de contact avec le sol. Cette surface peut être plusieurs dizaines de fois supérieure à celle des feuilles. C'est dans cette zone qu'a lieu l'absorption majeure des

éléments minéraux et organiques. Vient ensuite la zone subterminale : c'est une zone méristématique, c'est-à-dire que le tissu est composé de cellules végétales non-différenciées spécialisées dans la croissance. Souvent, la racine se termine en pointe appelée « coiffe » permettant la pénétration dans le sol. L'illustration classique du système racinaire en phase de germination est présentée en **Figure 4**.

C'est au niveau du péricycle que se forment les racines latérales. Il s'agit d'une assise cellulaire située dans la partie externe du cylindre central. A l'intérieur du cylindre se trouve le parenchyme médullaire qui a un rôle de remplissage. Entre le péricycle et le parenchyme médullaire, se trouvent les faisceaux conducteurs qui vont parcourir la plante entière (depuis les racines jusqu'aux nervures des feuilles, en passant par la tige et les rameaux). Ces tissus conducteurs sont le xylème, qui conduit la sève brute vers les feuilles (circulation ascendante) et le phloème qui redistribue la sève élaborée dans toute la plante (circulations ascendante et descendante). Autour de la coiffe, se trouve une couche de cellules appelées les cellules bordantes. Elles forment un « tissu » à part entière comprenant des cellules isolées les unes des autres et incluses dans un épais mucilage (**Figure 5**). En plus d'être une protection mécanique, elles interviennent de façon active dans la défense et les interactions avec le milieu biotique extérieur.

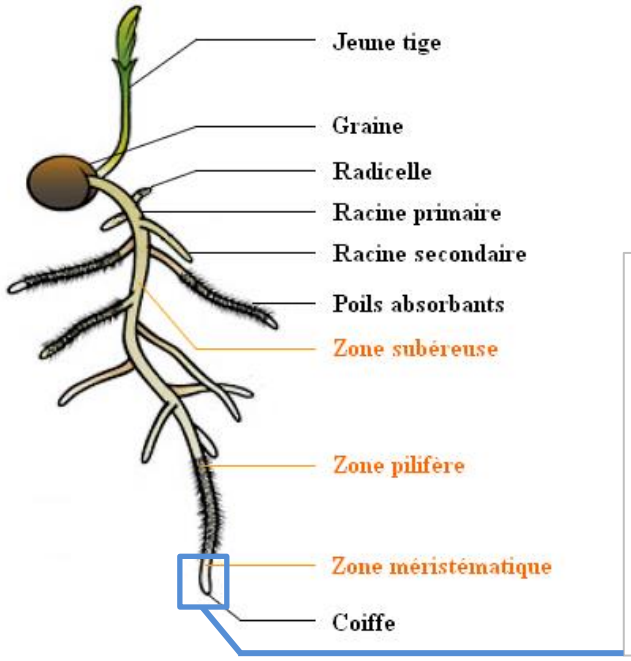


Figure 4. Les différentes parties composant le système racinaire d'une jeune plante terrestre d'après www.plantes-botanique.org**.**

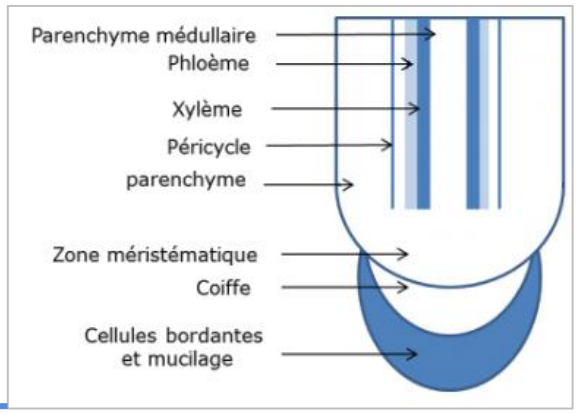


Figure 5. Coupe longitudinale sur la zone méristématique et la coiffe, d'après blog.vegenov.com.

2.1.2. Évolution des racines

Les racines sont apparues pendant la période du Dévonien (-416 à -360 millions d'années), et témoignent de l'évolution rapide des écosystèmes forestiers. L'analyse des restes fossiles et des plantes vivantes montre que lorsque les plantes ont commencé à coloniser le sol, les organes permettant l'enracinement ont évolué de manière indépendante dans différents clades. L'évolution des plantes érigées de grande taille et, en particulier, des arbres a nécessité des systèmes d'enracinement permettant un ancrage solide. Les fonctions des racines et leur complexité fonctionnelle ont rapidement évolué. Ces caractéristiques dépendent de l'environnement, des perturbations, de la texture du substrat, de la disponibilité des ressources et des interactions avec les autres organismes. Aujourd'hui, la diversité morphologique des systèmes racinaires se résume habituellement à trois grands types : pivotant, fasciculé et adventif. Les systèmes racinaires pivotants (ex : chêne sessile) se caractérisent par la large prédominance de la racine principale (pivot) sur les racines d'ordres inférieurs. Les systèmes racinaires fasciculés (ex : molinie bleue) se rencontrent chez les plantes dont la racine principale et les racines secondaires sont sensiblement de même diamètre, donnant finalement une forme de couronne ou de faisceau de racines latérales. Enfin, les racines adventives, qui prennent naissance sur une tige aérienne ou souterraine (le rhizome). Certaines tiges rampantes, les stolons, ont la capacité de s'enraciner et de produire de nouveaux pieds (marcottes).

2.1.3. Fonctionnement racinaire

2.1.3.1. Reconnaissance des facteurs abiotiques extérieurs

Les racines constituent la « face cachée » (« hidden half ») du végétal (Kenrick 2013). Le fait qu'elles soient pratiquement toujours enfouies dans un substrat opaque et hétérogène rend leur observation, leur manipulation et leur extraction particulièrement difficiles. Il est également complexe de les étudier dans des conditions naturelles. Ce n'est probablement qu'à partir du XIXème que les études scientifiques ont commencé à souligner leur importance. Les racines ne sont alors plus simplement perçues comme des organes ayant pour seul but de nourrir et de maintenir la plante. Elles ont aussi la capacité de s'adapter à leur environnement et d'y répondre. Il est connu que les parties aériennes sont capables de se mouvoir d'une part par géotropisme négatif (vers le haut) et d'autre part, par attraction vers la lumière. Les racines sont vraisemblablement la partie de la plante qui va effectuer le plus de mouvements en fonction de la compaction du sol, des obstacles et de la disponibilité parfois hétérogène des nutriments. Charles et Francis Darwin ont observé que les racines avaient tendance à éviter les obstacles,

suggérant que d'autres mécanismes que le géotropisme serait impliqué dans l'orientation. Ce processus s'appelle la thigmonastie négative de l'apex racinaire. Les cellules de la zone de croissance vont avoir une élongation différentielle permettant la courbure et donc la déviation de l'obstacle. Massa et Gilroy (2003) expliquent qu'il y a des interactions entre les signalisations tactile et gravitationnelle permettant d'orienter la croissance racinaire et d'éviter les obstacles.

La trajectoire et la croissance du système racinaire sont également définies par les ressources du sol. La ramification et donc la formation de racines latérales sont plus importantes dans les zones du sol où la concentration en nutriments est plus importante. Différentes études ont démontré que l'application localisée d'une plus forte concentration en nutriments (azote, phosphate…) avait pour effet d'accroître la ramification et la longueur des racines latérales dans la zone riche. Au contraire, dans la zone plus pauvre en nutriments, la croissance et le développement du système racinaires sont ralentis (Hackett 1972; Drew et Saker 1978; Granato et Raper 1989; Hodge 2004) (**Figure 6**). Ceci démontre leur capacité à reconnaître les zones plus riches en nutriments, en eau (Takahashi 1994) et en oxygène (Porterfield et Musgrave 1998) afin d'assurer leur nutrition dans des conditions optimales.

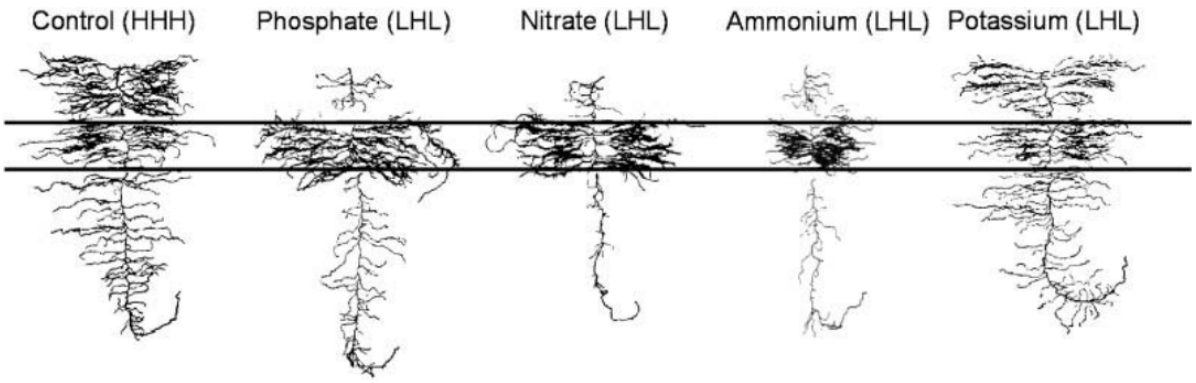


Figure 6. Prolifération des racines latérales primaires et secondaire de l'orge (*Hordeum vulgare*) en présence d'une solution de culture de concentration en ions phosphate, nitrate, ammonium ou potassium 100 fois supérieure dans la section médiane du système racinaire. Le contrôle a reçu la même concentration dans toutes les zones. Abréviations : H, high (forte concentration) ; L, low (faible concentration), en référence à la concentration en nutriments appliqués en haut, au milieu et en bas du système racinaire. D'après Drew (1975) et Hodge (2004).

La biomasse racinaire est donc préférentiellement allouée au niveau des zones riches en nutriments suggérant que ces derniers agissent comme régulateurs de l'architecture du système racinaire (Bar-Tal et al. 1997; López-Bucio et al. 2003; Walch-Liu et al. 2006; Bisseling et

Scheres 2014; Goss et al. 2014; Shahzad et Amtmann 2017). Toutefois, ceci semble aussi dépendre de la nature des nutriments. Si certains agissent comme activateurs de l'initiation de racines latérales (N, P, Ca,…), d'autres peuvent agir comme inhibiteurs (Mg, Fe,…), en fonction de leur concentration et de leur distribution (homogène ou hétérogène) le long du système racinaire (Linkohr et al. 2002; Gruber et al. 2013). Ces études démontrent la plasticité du système racine, c'est-à-dire, la capacité de percevoir et de répondre à son environnement abiotique dynamique (Shemesh et al. 2010b, a) dans le but de maximiser l'efficacité d'exploitation des ressources du sol (Grime et Mackey 2002; Hodge 2004).

2.1.3.2. Reconnaissance des facteurs biotiques extérieurs

Dans le sol, les racines vont également rencontrer des êtres vivants : des nématodes, des bactéries, des champignons ou encore les racines des plantes voisines. Hodge (2009) écrit « *bien que le comportement racinaire aux éléments nutritifs soit bien connu, il n'existe toujours pas de « règles de réponse » globales et la stratégie varie d'une plante à l'autre selon l'environnement dans lequel elle se trouve. Enfin, il est de plus en plus évident que les interactions racine-racine sont beaucoup plus sophistiquées qu'on ne le pensait auparavant, et les preuves qu'une racine soit capable de différencier une racine issue du même individu d'une racine issue d'un individu différent sont brièvement discutées* ». L'identification d'un voisin peut aussi induire des modifications de l'architecture du système racinaire (Bisseling et Scheres 2014). Par exemple, Mahall et Callaway (1990) mettent en évidence que les systèmes racinaires d'*Ambrosia* (ambroisie, plante herbacée annuelle) semblent capables de détecter et d'éviter d'autres systèmes racinaires d'*Ambrosia*, alors que les racines de *Larrea* (créosotier, arbuste typique des déserts du sud-ouest des Etats-Unis) inhibent les racines de *Larrea* et d'*Ambrosia* à proximité. Ils découvrent la capacité des racines à reconnaître l'identité d'un voisin et à différencier le « soi » du « non-soi » (Mahall et Callaway 1992, 1996). La reconnaissance de racines voisines n'a pas toujours pour effet d'inhiber la croissance. Dans certains cas, la présence de racines dites « non-soi » favorise le développement racinaire contrairement aux racines dites « soi » ou apparentées qui ont un effet neutre ou inhibent la croissance et la formation de racines latérales (Schenk et al. 1999; Falik et al. 2003, 2005; Holzapfel et Alpert 2003; Gruntman et Novoplansky 2004; Dudley et File 2007). Certaines études ont cependant démontré que certaines plantes ne pouvaient pas discriminer l'identité d'un voisin bien qu'elles soient capables de réagir à leur présence (Chen et al. 2012a; Depuydt 2014; Jacob et al. 2017). Cahill Jr. et al. (2010) démontrent que l'emplacement des racines peut être déterminé par un ensemble hiérarchique de « règles de décision » dépendant de la présence ou de l'absence d'un

voisin en tenant compte de la disponibilité des nutriments. Soit une plante pousse seule et elle adopte une stratégie de nutrition générale (tous types de nutriments, système racinaire dans toutes les directions) concernant la répartition des ressources. Soit elle pousse en présence de voisins et elle adopte une stratégie restreinte de recherche de nutriments, qui peut être modifiée par la distribution des ressources.

Malgré les contraintes méthodologiques liées à l'analyse des racines, un nombre croissant d'études en écologie démontre que les plantes peuvent reconnaître l'identité de leurs voisins par le biais des interactions racinaires. Les réponses dépendantes de l'identité du voisin peuvent avoir des conséquences importantes sur la croissance et la reproduction des plantes dans les peuplements végétaux. Les mécanismes impliqués dans la reconnaissance des voisins sont encore mal compris. L'identification du « soi » et du « non-soi » implique, au moins en partie, des signaux oscillatoires tels que les signaux chimiques, électriques ou associés à la turgescence (Goodwin et Cohen 1969; Falik et al. 2003; Gruntman et Novoplansky 2004). La reconnaissance d'un individu apparenté est plus susceptible d'être contrôlée par la composition des signaux chimiques (Biedrzycki et al. 2010). Ces signaux chimiques proviennent d'un cocktail de composés organiques sécrétés activement ou passivement par les racines (Canarini et al. 2019). Ces composés nommés rhizodépôts[2] sont à l'origine de nombreux processus tels que la communication, la défense contre les pathogènes ou encore les interactions avec les organismes vivants présents dans le sol (bactérie, champignon, plante…) (Rovira 1959, 1969; Bais et al. 2004, 2006; Baetz et Martinoia 2014).

2.1.3.3. Le mécanisme de rhizodéposition

Au XIXème siècle, Von Humboldt et De Candolle, tous deux biogéographes, ont constaté que les racines des végétaux pouvaient excréter des « déchets » dans le sol et que cette propriété pouvait être intéressante dans les associations végétales naturelles et les rotations de cultures (Juárez-Barrera et al. 2018). D'après leurs études, les excrétions foliaires ont généralement peu d'influence sur les végétaux, en revanche, les excrétions racinaires, moins bien connues, paraitraient avoir un rôle plus important.

La définition a évolué depuis Shamoot et al. 1968 où la rhizodéposition représentait seulement les débris organiques (généralement seuls les composés carbonés étaient pris en compte) relargués durant la période de croissance active. Par abus de langage, de nombreux

[2] **Rhizo-** : préfixe, du grec ancien ῥίζα, *rhiza* (« racine »).

auteurs utilisent le terme « exsudation » comme synonyme de rhizodéposition mais d'après la nomenclature proposée par Rovira (1979), l'exsudation est l'un des processus de la rhizodéposition, elle correspond à la diffusion passive de solutés racinaires vers la solution du sol. Plus récemment, Hassan et al. (2019) ont distingué les différents composés libérés par les racines en trois catégories : les rhizodépôts, les exsudats racinaires et les cellules bordantes. Aujourd'hui, la **rhizodéposition** désigne la libération de toutes substances organiques par les racines vivantes, par la dégradation des cellules et des tissus et par la décomposition racinaire (racines mortes) (Lynch et Whipps 1990; Jones et al. 2004; Philipps et al. 2006; Scandellari et al. 2010) (**Figure 7**). Jusqu'à 30% des composés organiques issus de la plante sont remis à disposition dans le substrat (Hinsinger et al. 2009).

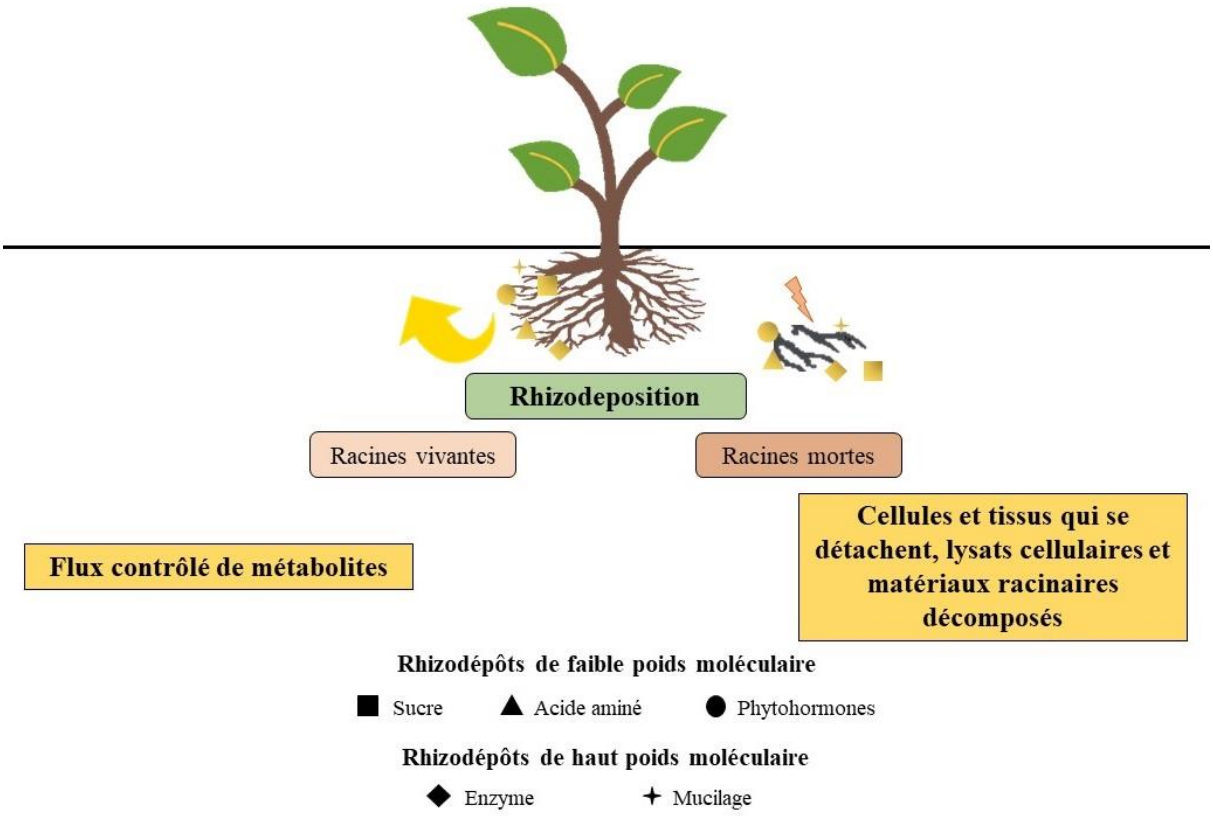


Figure 7. Rhizodéposition des racines vivantes (flux contrôlé de métabolites) et mortes (sénescence racinaire). Les principaux rhizodépôts sont représentés.

Par souci de clarification, la rhizodéposition se rapportera dans cette thèse à l'ensemble des composés libérés dans le sol par les racines vivantes et mortes. Les processus de libération de ces composés et leurs fonctions sont pratiquement aussi variés que la nature de ces composés eux-mêmes (Rovira 1969; Bertin et al. 2003; Baetz et Martinoia 2014). Au milieu du XXème siècle, les techniques ont été améliorées pour déterminer la nature des exsudats (extra-

cellulaire) et des extraits racinaires (intra-cellulaire). Parmi ces éléments, ont été découverts des sucres, des acides organiques, des nucléotides, des flavonoïdes, des enzymes, des hormones, des acides aminés ainsi que des quantités plus limitées de composés organiques complexes (Katznelson et al. 1955; Boulter et al. 1966; Rovira 1969; Janzen et Bruinsma 1989). Les processus contrôlant la rhizodéposition comportent d'importantes incertitudes. Le processus de rhizodéposition est en étroite interaction avec les autres composantes de la rhizosphère (partie du substrat immédiatement au contact des racines vivantes et sous l'influence directe de ces dernières) telles que les micro-organismes. Les constituants de la rhizodéposition peuvent être divisés en quatre catégories (Nguyen 2007) : les cellules de la coiffe, les sécrétions, les exsudats et les produits de la lyse cellulaire et de la sénescence.

La **coiffe racinaire** (**Figure 5**) permet à la racine de prospecter le sol en protégeant le méristème apical. Les cellules qui la constituent sont très souvent renouvelées entrainant le détachement de « vieilles » cellules. Les cellules exfoliées sont en très grande majorité viables et le restent plusieurs jours durant lesquels elles sont supposées jouer un rôle important dans les relations entre les racines et leur environnement. Une fois détachées de la coiffe, les cellules continuent de synthétiser du mucilage et d'autres métabolites qui ont un pouvoir de chémo-attraction et parfois de répulsion vis-à-vis de la microflore du sol (Scharf et al. 2016).

Les **sécrétions** regroupent le mucilage qui est produit par les cellules de la coiffe (**Figure 5**). Il s'agit d'un transport actif, par les canaux ioniques et/ou par exocytose des vésicules de golgi. L'appareil de Golgi permet les transferts et le tri des molécules. Le mucilage se déplace ensuite passivement à travers la paroi si son degré d'hydratation et la pression de turgescence de la cellule sont suffisants. Le mucilage hydraté forme alors une gouttelette gélatineuse bien visible au niveau des apex racinaires, pouvant faciliter le mouvement dans le sol. Il contient principalement des polysaccharides de type arabinose, galactose, fructose, glucose et xylose. Parmi les sécrétions il y a aussi des métabolites secondaires, des enzymes, des polypeptides et des protéines. Certaines d'entre elles permettent de favoriser l'acquisition des éléments nutritifs en modifiant par exemple le pH rhizosphérique (Dakora et Phillips 2002; Perry et al. 2006).

Les **exsudats** regroupent ici les composés qui diffusent passivement du cytosol vers la solution du sol en raison du gradient de concentration et de la perméabilité de la membrane plasmique aux composés de faible poids moléculaire (Rovira et al., 1979 ; Neumann et Römheld 2000). L'efflux est plus important à l'extrémité de la racine *via* des transporteurs actifs localisés sur la membrane plasmique. Ces exsudats sont principalement constitués de sucres, d'acides

carboxyliques et d'acides aminés du fait de leur concentration importante dans le cytoplasme des cellules racinaires. Les transporteurs racinaires sont de véritables voies d'entrée et de sortie des composés minéraux et organiques. L'absorption des nutriments dépend de la présence de transporteurs actifs (contre le gradient de concentration) et passifs (qui ne nécessite pas d'apport d'énergie). L'absorption de l'eau est uniquement passive et peut être facilitée par la présence de nombreux canaux à eau, les aquaporines.

Enfin, il faut également tenir compte des processus de **lyse cellulaire** et de **sénescence** liés à l'âge de la racine, aux microorganismes et aux conditions physicochimiques du sol. Les cellules de l'épiderme racinaire et une partie des cellules corticales peuvent dégénérer alors que la racine est vivante et fonctionnelle (McCully, 1999). Les poils absorbants qui ont une durée de vie particulièrement courte (de l'ordre de quelques jours) peuvent, en se désagrégeant, libérer de la matière organique dans le sol. La dégénérescence des cellules racinaires entraîne une lyse du contenu cellulaire et sa libération dans la rhizosphère.

Les rhizodépôts permettent d'identifier les voisins, de se déplacer, de se nourrir, de réguler la croissance et interviennent plus largement dans les interactions avec les plantes et les microorganismes du sol (Dakora et Phillips 2002; Badri and Vivanco 2009; Semchenko et al. 2014). Les quantités de composés libérés varient selon le type de rhizodépôts et de l'espèce (Nguyen 2003, 2007). Certains composés sécrétés par les racines présentent des propriétés phytotoxiques qui inhibent le développement d'autres espèces végétales (Bertin et al. 2003). Il peut également s'agir de composés favorisant les relations bénéfiques (symbioses, microorganismes rhizosphériques augmentant la croissance de la plante, naphtoquinones qui possèdent des propriétés antimicrobiennes limitant l'activité des microorganismes délétères (Bais et al. 2004) et la défense des plantes (Baetz et Martinoia 2014)). Ces interactions racinaires sont très souvent classifiées en deux grandes catégories : positives ou négatives, impliquant différents processus encore méconnus.

2.1.3.4. L'absorption des nutriments : le cas de l'azote

Parmi les nutriments dont la plante a besoin pour sa croissance et son développement, l'azote est quantitativement le plus important. En moyenne, il ne représente que 1 à 3 % de la matière sèche végétale mais son rôle est crucial. Il entre dans la fabrication des acides nucléiques, acides aminés, protéines, chlorophylles, alcaloïdes..., molécules indispensables à la croissance et au développement des plantes. L'azote est souvent limitant dans les écosystèmes forestiers (Vance 2001; Ågren et al. 2012), et dans les grandes cultures, en particulier

céréalières entrainant une compétition entre plantes. Un apport trop important peu également avoir des effets négatifs comme c'est le cas sur les semis de chêne rouge d'Amérique dont la performance est affectée (BassiriRad et al. 2015). A un niveau optimal, la teneur en azote augmente les processus photosynthétiques, la croissance foliaire, la durée de vie de ces feuilles ainsi que la croissance racinaire.

Initialement, les scientifiques ne se sont intéressés qu'à l'absorption du nitrate et de l'ammonium, pensant que seules les formes minérales de l'azote pouvaient être absorbées et assimilées par les plantes. Nacry et al. (2013) répertorient les différents transporteurs racinaires de l'azote minéral en fonction de leur affinité. La cinétique d'absorption racinaire (influx) du nitrate et de l'ammonium est biphasique (Kronzucker et al. 1995, 1996; Crawford et Glass 1998; Fotelli et al. 2002; Glass 2002). À faible concentration, ce sont les systèmes de transport à forte affinité (high-affinity transport systems (HATS)) qui interviennent tandis qu'à forte concentration, ce sont les systèmes à faible affinité (low-affinity transport systems (LATS)). Une fois à l'intérieur des cellules racinaires, le nitrate et l'ammonium vont être transformés en acides aminés et être transportés dans le xylème jusqu'aux parties aériennes et notamment au niveau de la RubisCo (enzyme-clé de la photosynthèse) dans les chloroplastes, dans les feuilles, pour assurer la photosynthèse. Bien que les plantes absorbent préférentiellement l'azote sous forme minérale, près de 90% de l'azote du sol est présent sous forme organique (Matsumoto et Ae 2004; Inselsbacher et Näsholm 2012).

A partir des années 1990, de très nombreuses études ont démontré que l'azote organique pouvait être directement absorbé par des plantes d'espèces différentes, d'âges différents ou encore de biomes différents (Kielland 1994; Näsholm et al. 1998, 2009; Wallenda et Read 1999; Falkengren-Grerup et al. 2000; El-Naggar et al. 2009; Ge et al. 2009; Metcalfe et al. 2011; Svennerstam et al. 2011; Pratelli et al. 2016). En effet, les racines possèdent également des transporteurs d'acides aminés et d'urée (Nacry et al. 2013; Ganeteg et al. 2017). L'urée est une molécule azotée qui résulte d'un processus de dégradation des protéines. Elle est devenue l'engrais azoté le plus largement utilisé dans l'agriculture à l'échelle mondiale (http:// faostat.fao.org) grâce à son efficacité de fertilisation. Brackin et al., (2015) ont montré que l'estimation d'absorption d'azote par les plantes était supérieure quand le fertilisant était de l'urée. Elle représente environ la moitié de la consommation totale d'azote sous forme d'engrais. En ce qui concerne les acides aminés, Persson et Nasholm (2001) ont mesuré la vitesse d'absorption de 15 acides aminés majeurs chez 31 espèces végétales présentes en forêt boréale. La molinie bleue était celle qui avait la plus forte vitesse moyenne d'absorption. Les flux

d'azote organique peuvent être bidirectionnels, c'est-à-dire que les flux sont à la fois sortants (efflux de rhizodépôts) et entrants, au niveau des transporteurs (**Figure 8**). Bush (1993) a expliqué que l'absorption des acides aminés nécessitait une gamme de co-transporteurs de protons dirigés par une pompe H^+-ATPase. En revanche, la rhizodéposition des acides aminés est passive, c'est-à-dire qu'elle a lieu le long du gradient de concentration. Une partie des acides aminés relargués peut être minéralisée par les microorganismes du sol (Clarholm 1985; Jones et al. 2005).

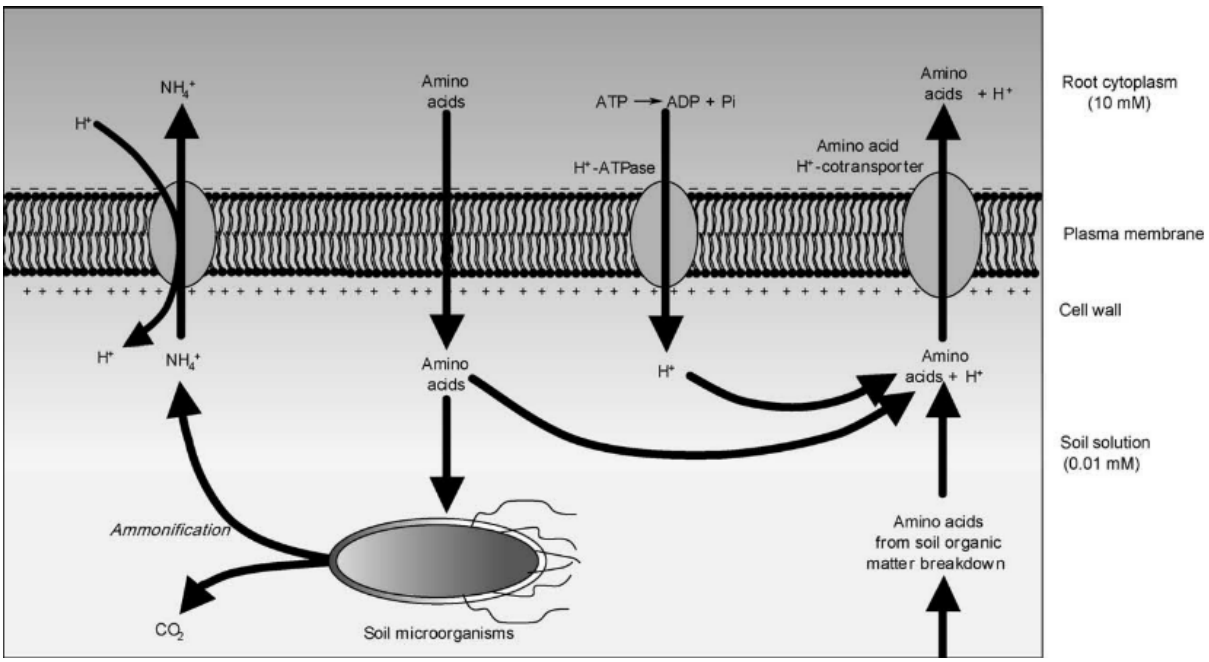


Figure 8. Flux bidirectionnel d'azote organique dissout (acides aminés) à l'interface racine/sol. D'après Jones et al. (2005).

L'azote peut donc être absorbé sous forme minérale, mais aussi organique par un grand nombre de plantes. Il existe une autre forme azotée que seules les plantes fabacées (légumineuses) sont capables d'absorber et d'assimiler. Il s'agit de l'azote atmosphérique, présent à plus de 78% dans l'air. Les racines des plantes fabacées ont la capacité de former une symbiose avec des bactéries du genre *Rhizobium*. Cette association est rendue possible par un dialogue moléculaire entre la bactérie et la plante hôte. Les racines des fabacées libèrent des flavonoïdes qui vont être perçus par les rhizobium, induisant la production de « facteurs Nod » (Oldroyd et al. 2001). Ces facteurs agissent comme signaux en ciblant le programme organogénétique de la plante pour former des nodules (Patriarca et al. 2004). Ce sont eux qui permettent à la plante de fixer l'azote atmosphérique (Sulieman et Tran 2014). Les plantes dites actinorhiziennes sont également capables de former des nodosités fixatrices d'azote nommées actinorhizes. Ce sont essentiellement des arbres ou arbustes adaptés aux stress édaphiques

comme la salinité élevée, les métaux lourds ou les pH extrêmes (aulnes, éricacées, myricacées, élaeagnacées). Les bactéries impliquées dans la formation des nodosités sont des actinomycètes filamenteux du sol du genre *Frankia*. Les plantes possédant des nodosités reçoivent des substances azotées issues de la bactérie (*Rhizobium* ou *Frankia*) qui en échange, reçoit des substances carbonées, il s'agit alors d'une association symbiotique bénéfique aux deux espèces.

Les différents mécanismes impliqués dans l'absorption de l'azote mettent en évidence une diversité dans la nature des interactions écologiques entre plantes mais aussi entre les plantes et leur environnement, en particulier dans le sol.

Ces dernières années, la communauté scientifique et le grand public se sont particulièrement intéressés aux interactions entre les végétaux. Rapidement, le terme « intelligence » apparaît, et avec lui le scepticisme des chercheurs et les débats. Si l'on s'en réfère à la sémantique, l'intelligence est la faculté de comprendre, de ne pas se méprendre sur le sens des mots, la nature des choses et la signification des faits. Les experts font alors remarquer qu'il s'agit d'anthropologie et que les faits ne sont ni avérés, ni scientifiques. Cette interaction entre les esprits « cartésiens » et les esprits « sensibles » a pris des allures de compétition. Cette discordance est sans doute révélatrice de découvertes nouvelles dans le règne végétale, nécessitant l'usage de termes classiquement utilisés pour décrire l'homme. Toujours est-il que l'intérêt pour les échanges entre les végétaux est grandissant et que la société devient plus curieuse de vivre en symbiose avec la nature.

2.2. Nature des interactions écologiques souterraines

L'installation et le développement d'un végétal dépendent entre autres de ses relations avec son environnement extérieur. Alexander von Humboldt a développé une perspective nouvelle sur les relations entre biodiversité, climat et géographie et son travail a permis de mieux comprendre le fonctionnement des écosystèmes actuels (Norder 2019). Il indique notamment que la distribution des espèces va dépendre de conditions abiotiques telles que la température, le vent, la luminosité, la disponibilité en eau et en nutriments, le sol… Les conditions biotiques ont aussi un rôle majeur. L'homme et les animaux (insectes, mammifères, oiseaux…) impactent également les communautés végétales. Parmi les êtres vivants interagissant avec les végétaux, on compte les végétaux eux-mêmes, et les microorganismes du sol. Les interactions entre végétaux sont sans doute parmi les plus énigmatiques dans le règne du vivant du fait de la complexité et du caractère souvent invisible de ces échanges.

2.2.1. La compétition

Les premières études sur les interactions plante-plante se sont focalisées sur les relations de compétition. En 1929, Clements débute son ouvrage « Plant competition », en écrivant que la conséquence la plus frappante du regroupement d'organismes en communautés est la forêt. Les interactions de compétition dans cet écosystème intéressent depuis plusieurs centaines d'années, mais les premières traces écrites datent de 1305. Petrus de Crescentiis, agronome italien, indique que « *là où les forêts sont trop denses, les arbres malvenants doivent être éliminés et, ainsi, les autres auront une croissance meilleure et plus belle* ». En 1907, dans « Plant Physiology and Ecology », la compétition est définie par Clements comme étant un « *processus purement physique. […] Dans le sens exact, deux plantes, quel que soit leur niveau de proximité, ne sont pas en compétition tant que les disponibilités en eau, en éléments nutritifs, en lumière et en chaleur satisfont les besoins de chacune d'entre elles* ». Clements conclut que la compétition est « un ensemble de besoins combinés supérieurs à l'offre ».

2.2.1.1. La compétition pour les nutriments

Pendant de nombreuses années, la définition de la compétition entre plantes s'est résumée à la compétition pour l'exploitation des ressources (Bleasdale 1960). Bien que sensiblement d'accord sur la définition, Grime et Tilman concluent différemment de l'effet de la disponibilité des ressources sur la compétition entre les espèces. Grime décrit une organisation triangulaire (compétition – stress – perturbation) pour classifier les espèces végétales en fonction de leur comportement pour faire face à la disponibilité des ressources et aux contraintes (Grime 1974). Tilman suggère que l'analyse des interactions entre les espèces doit passer par des modèles mécanistes incluant les contraintes mais aussi les compromis (e.g. allocation de carbone entre les différents organes). Ces modèles seraient capables de prédire la dynamique et les résultats des interactions écologiques (Tilman 1990). Tilman s'est principalement concentré sur les ressources uniformes tandis que Grime s'est focalisé sur leur hétérogénéité dans l'espace et le temps. D'après Tilman, la compétition pour la lumière et les nutriments s'explique par une lente réduction de la disponibilité générale alors que pour Grime il s'agit d'une « course à la source ». Finalement, Tilman suggère plus une ressource diminue, plus la compétition s'intensifie, contrairement à Grime pour qui plus une ressource diminue, plus la compétition diminue également. Cette divergence souligne la complexité des mécanismes de compétition pour les nutriments entre les plantes.

Wilson (1988) écrit que dans la majorité des cas, la compétition racinaire est plus intense et importante que la compétition aérienne et qu'elle a tendance à augmenter avec le temps. L'intensité de la compétition se traduit par l'effet net de la plante compétitive sur la performance de la plante concurrencée tandis que l'importance tient compte de l'effet de l'environnement sur la performance de la plante concurrencée (Díaz-Sierra et al. 2017). Au niveau racinaire, les ressources du sol entrainant une compétition sont l'eau et les nutriments, et il existe aussi une compétition pour l'espace (Casper et Jackson 1997). Casper et Jackson (1997) définissent la compétition souterraine comme étant une diminution de la croissance, de la survie ou de la fécondité d'une plante en présence d'un voisin qui réduit la disponibilité des ressources du sol. Ils tiennent compte du rôle de l'environnement (température, pluviométrie…) dans les relations de compétition car il peut lui aussi influencer la disponibilité des ressources. Goldberg (1990) prend en compte à la fois l'**effet** des plantes sur l'abondance d'un intermédiaire, ici, les ressources, et les **réponses** des plantes qui réagissent à ce changement d'abondance (Figure 9). Ceci se traduit donc par le fait qu'une plante ait un effet négatif sur la disponibilité d'une ressource souterraine impactant la performance (croissance, survie, reproduction) d'une autre plante. La plante ou un ensemble de plantes compétitive(s) utilise les ressources disponibles pour accroître sa biomasse ou sa densité (effet). Plus les ressources sont disponibles, plus le fitness (performance) de la plante augmente jusqu'à atteindre un plateau (réponse) (**Figure 10**).

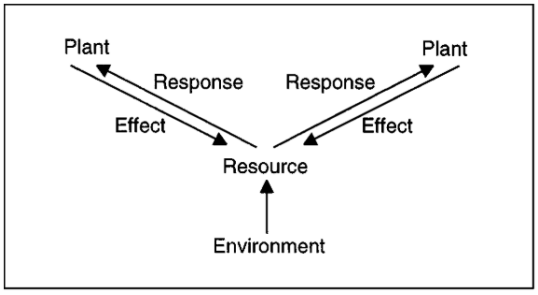


Figure 9. Compétition entre plantes pour les ressources, d'après Goldberg (1990) modifié par Casper and Jackson (1997).

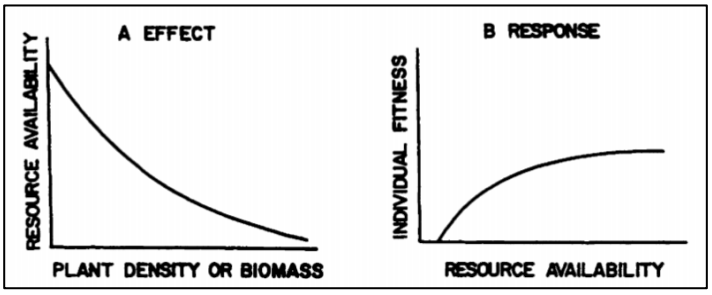


Figure 10. Effet des plantes sur la disponibilité des ressources (A) et réponses des plantes à la disponibilité des ressources (B), d'après Golberg (1990).

La compétition peut être intraspécifique, c'est-à-dire entre individus de la même espèce d'âge égal ou différent, ou interspécifique, entre individus d'espèces différentes (Schenk 2006). Les mécanismes entrainant une compétition racinaire sont d'abord liés à des différences dans la capacité d'absorption de l'eau et des nutriments, leur efficience d'utilisation ou encore l'espace occupé par le système racinaire dans le sol. La capacité à proliférer dans le sol dépend de divers caractères tels que la vitesse de croissance, la biomasse, la densité de racine latérale

et leur diamètre, la surface racinaire totale et la configuration architecturale. Cette capacité de prolifération dépend aussi de facteurs extérieurs comme les obstacles et la disponibilité en eau et nutriments (*c.f.* partie 2.1.2.). Aerts et al. (1991) se sont intéressés aux relations de compétition entre deux arbustes à feuilles persistantes (*Erica tetralix* et *Calluna vulgaris*) et la molinie bleue. Ils ont analysé quatre traitements de compétition : aucune compétition, uniquement aérienne, uniquement souterraine et la combinaison des deux (souterraine et aérienne). Le compétiteur le plus important était la molinie qui attribuait trois fois plus de biomasse au système racinaire que les arbustes et était la seule à s'étendre dans la partie du sol occupée par les racines de ses concurrents. Ils ont conclu que le fort effet compétitif de la molinie était dû à sa forte productivité, à son système racinaire extensif et à sa plasticité. La plasticité désigne le caractère adaptatif des végétaux. En règle générale, il réfère à la capacité d'un génotype à exprimer des phénotypes différents en fonction des environnements rencontrés. Les plasticités physiologique et morphologique impliquent des changements dans la vitesse d'absorption des nutriments, surtout lorsque les systèmes racinaires des deux individus se chevauchent. Plutôt que d'explorer d'autres zones du sol, ce qui nécessite d'allouer plus de biomasse et d'investir plus d'énergie dans la croissance et la ramification, les racines peuvent profiter de la mobilité de certains nutriments. Les plantes compétitives peuvent préférer l'absorption de nutriments mobiles (ex : nitrate) aux nutriments moins mobiles (ex : ammonium, phosphate, Baldwin et al. 1972; Hutchings et de Kroon 1994; Robinson 1994, 1996; de Kroons et Hutchings 1995).

2.2.1.2. L'allélopathie

Cette focalisation sur la compétition pour les ressources et la façon dont l'environnement abiotique influe sur les plantes ne tient pas compte d'observations datant pourtant du début du XIXème siècle. De Candolle écrit : « *MM. de Humboldt et Plenck ont eu l'idée ingénieuse de chercher dans ce fait la cause des attractions et des répulsions de certaines plantes. Ainsi, si, comme on l'admet assez généralement, le cirse des champs nuit à l'avoine, l'euphorbe et la scabieuse au lin, l'érigéron acre, et l'ivraie au froment, etc., cela pourrait être dû à ce que ces plantes suintent par leurs racines quelque chose de nuisible à la végétation des autres : si, au contraire, la salicaire se plaît auprès du saule, la, truffe auprès du chêne ou du charme, etc., c'est que peut être elles tirent parti de quelque excrétion des racines de ces végétaux. M. Macaire a confirmé par l'expérience ces données de l'observation : il a vu que des haricots languissent et meurent dans de l'eau qui renferme la matière préalablement exsudée par les racines d'autres individus de la même espèce, tandis que des plantes de blé*

prospéraient dans cette même eau chargée des excrémens d'une légumineuse ; fait important par sa liaison avec les données générales de l'agriculture. ». Ainsi, ils démontrent que les végétaux sont capables d'avoir des effets sur leur environnement, mais aussi d'exercer un effet négatif ou positif sur d'autres individus. En 1907, Jensen s'intéresse aux effets mutuels des racines des arbres avec le blé. Il observe que les racines des arbres des genres *Pinus* et *Acer* ont un effet particulièrement néfaste sur la croissance du blé, surtout en été où les arbres sont physiologiquement actifs (Jensen 1907). Schreiner et Reed (1907) expliquent que les excrétions produites par les racines sont en si faible quantité qu'il est difficile de les détecter par les analyses chimiques. Ces interactions chimiques entre les plantes, qu'elles soient positives (stimulantes) ou négatives (inhibitrices), directes ou indirectes (en ciblant des acteurs ou des facteurs intermédiaires mais qui impacteront quand même la plante) sont nommées « Allélopathie » par (Molisch) en 1937. Ce nom est dérivé du grec « allelon » qui signifie « l'un et l'autre » et « pathos » qui signifie « souffrir ». Cependant, aujourd'hui l'allélopathie se rapporte principalement aux composés allélochimiques produits par une plante et ayant un effet négatif sur une autre plante (Muller 1966, 1969; Rizvi et al. 1992; Wardle et al. 1998; Fitter 2003; Hierro et Callaway 2003; Inderjit et Callaway 2003; Vivanco et al. 2004; Suikkanen 2008). Ceci s'explique probablement par le fait que les interactions négatives aient été considérées comme les interactions les plus importantes pour expliquer la distribution des espèces.

En 1981, Lockwood et Wicklow définissent alors deux types de compétition : la « compétition par exploitation », lorsqu'un individu épuise les ressources, privant ainsi ses voisins du bénéfice pouvant être apporté par ses ressources, mais ne réduisant pas la probabilité qu'un autre individu puisse exploiter le pool de ressources restant (*c.f.* partie 2.2.1.1.) ; et la « compétition par interférence », lorsqu'un individu limite l'accès aux ressources de ses voisins sans en modifier la disponibilité (Holdridge et al. 2016), physiquement et/ou par des interactions chimiques. Ces deux mécanismes peuvent avoir lieu simultanément. La notion « d'interférence » est toutefois utilisée différemment selon les auteurs. Harper (1961) utilise le terme « interférence » pour regrouper tous les effets qu'un organisme exerce sur ses voisins. L'interférence se définit alors comme étant « la réponse d'un individu à son environnement global lorsqu'il est modifié par la présence et/ou la croissance d'un autre individu » (Begon et al., 1986), elle peut donc être positive ou négative. Pour Lambers et al. (1998), la compétition par interférence désigne le fait qu'un individu nuise à un autre en cherchant une ressource même si celle-ci n'est pas limitante. Il la distingue de l'allélopathie qui implique la production de composés chimiques qui affectent les plantes voisines, et de la compétition pour les ressources

lorsque celles-ci sont limitantes. Le terme « interférence » donne lieu à une confusion sémantique qui persiste encore aujourd'hui (Fuerst et Putnam 1983; Trinder et al. 2013). Certains l'utilisent comme synonyme de l'allélopathie, d'autres pour regrouper toutes les interactions, d'autres pour tous les mécanismes de compétition (ressources et composés chimiques).

Dans la thèse, l'allélopathie désignera la libération active ou passive de composés allélochimiques ayant des effets négatifs sur les voisins. Ils sont présents dans la majorité des tissus des plantes et peuvent être libérés par les parties aériennes (volatilisation et décomposition), par les racines (rhizodépôts et décomposition) mais aussi par les bactéries et les champignons. Ce sont généralement des métabolites secondaires : acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes, et des glucosinolates (Seigler 1996). L'un des composés les plus connus est la juglone. De nombreuses études ont démontré que les bourgeons, l'enveloppe des noix et les racines du noyer noir (*Juglans nigra*) inhibaient la respiration des plantes voisines (Jose 2002; Ercisli et al. 2005; Leszczynski et Matok 2014). Les modes d'actions des composés allélochimiques sont divers et ciblent des processus biochimiques différents : activités enzymatiques, division et structure cellulaire, perméabilité membranaire, absorption des nutriments… Ils ciblent aussi des échelles différentes : moléculaire, biochimique, physiologique et écologique (Gniazdowska et Bogatek 2005). L'un des objectifs des métabolites secondaires est la défense des plantes suite à une agression mais l'allélopathie peut aussi être perçue comme une stratégie active de compétition (par exemple le noyer noir libère passivement des composés allélochimiques pour nuire aux espèces voisines concurrentes). Le fait que les plantes soient capables de percevoir la présence de leur voisin leur permet de mettre en place des modifications morphologiques et physiologiques. En libérant des composés allélochimiques, un individu peut diminuer la performance (germination, photosynthèse, respiration, croissance, développement, reproduction…) de ses voisins interspécifiques mais aussi intraspécifiques (Hibbs et Shumaker 2014). Ces individus deviennent alors moins compétitifs pour les ressources et notamment les nutriments. Kong et al. (2018) ont montré que le blé, après détection de ses voisins conspécifiques et hétérospécifiques, répondait en produisant une quantité de composés allélochimiques plus importante. La libération de composés allélopathiques dépend donc de l'espèce considérée : certaines plantes en relarguent de manière passive, indépendamment des conditions extérieures, tandis que d'autres les relarguent suite à la modification de l'environnement biotique et

abiotique (reconnaissance de l'attaque d'insectes ravageurs, reconnaissance de plantes voisines, température…) (Metlen et al. 2009; Macías et al. 2014; Trezzi et al. 2016).

2.2.2. La facilitation

2.2.2.1. Équilibre entre la compétition et la facilitation

Il est un fait avéré que les plantes relarguent des substances dans le milieu extérieur. Ces substances peuvent être toxiques, bénéfiques (Rice 1985; Callaway 1995; Kohli et al. 1998) voire essentielles pour d'autres guildes (bactéries, nématodes, microorganismes…). Cependant, dans le passé, les interactions positives entre plantes ont suscité beaucoup moins d'intérêt que les relations de compétition. Différents auteurs ont mis en avant l'importance écologique de ces interactions positives (Phillips 1909; Compton 1930; Clements 1916) mais celles-ci ne regagnent réellement de l'intérêt pour les scientifiques qu'à la fin du XXème siècle. Leurs importances pour la diversité, la structure et la productivité des communautés étaient jusque-là rarement reconnues (Bertness et Callaway 1994a). Bruno et al. (2003) suggèrent qu'il est temps d'actualiser la théorie écologique en incluant la facilitation bien que cela modifiera de nombreux fondamentaux et remettra en question certains paradigmes. La révision de cette théorie permettra une compréhension plus précise de la dynamique des communautés végétales naturelles (Michalet et al. 2006).

Ces interactions à effet positif se regroupent sous le terme de « **facilitation** », définie comme étant l'effet positif d'une plante sur la germination, la croissance et/ou le développement d'une autre et ne nuisant à aucune d'elle (Callaway 1995; Bruno et al. 2003; Brooker et al. 2008). Hunter et Aarssen (1988) montrent que des voisins peuvent interagir de manières bénéfiques en améliorant les conditions édaphiques et/ou le microclimat, en fournissant un soutien physique, en réduisant l'impact d'espèces compétitrices ou encore en éloignant les prédateurs ou les parasites (facilitation indirecte). Les interactions entre espèces peuvent dépendre des gradients environnementaux. Par exemple, l'augmentation des précipitations annuelles peut avoir des effets variables sur la survie des jeunes arbustes du désert : l'effet peut passer de négatif à neutre ou de neutre à positif (Tielbörger et Kadmon 2000; Maestre et Cortina 2004). De même, la facilitation peut augmenter avec l'altitude pouvant ainsi favoriser la création de niches dans des environnements contraignants (Choler et al. 2001; Callaway et al. 2002). Les interactions de compétition entre les plantes seront alors dominantes dans des conditions peu stressantes tandis que les interactions de facilitation seront dominantes en cas de stress abiotique élevé, il s'agit de la théorie du Stress Gradient Hypothesis (**Figure 11**).

(Bertness et Callaway 1994b; Maestre et al. 2009; Dohn et al. 2013; Moustakas et al. 2013; Brien et al. 2017; Houlès 2018).

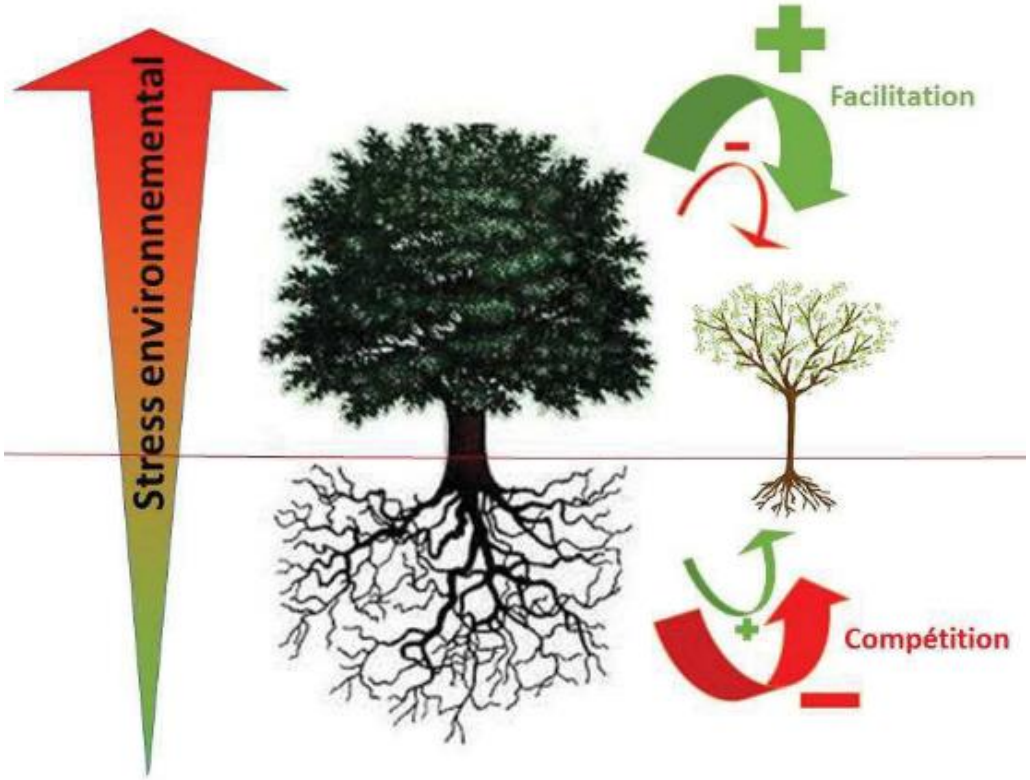


Figure 11. Stress Gradient Hypothesis : Modification des interactions positives et négatives entre plantes en fonction du niveau de contrainte de l'environnement. Les flèches rouges représentent les interactions négatives comme la compétition, et les flèches vertes représentent les interactions positives comme la facilitation. L'épaisseur des flèches représente l'intensité de ces interactions, d'après Houlès (2017).

Toutefois, ces résultats difficilement généralisables suscitent un débat entre différents auteurs. Dans certains cas, les conditions expérimentales influencent fortement la relation observée entre le stress et les interactions entre les plantes, ne permettant pas de conclure que la facilitation augmente toujours avec les stress abiotiques (Maestre et al. 2005; Cavieres et al. 2006; Lortie et Callaway 2006).

Les relations de facilitation aident également à la restauration d'écosystème. Dans les steppes semi-arides ou l'implantation d'espèces est difficile, il a été observé que les herbacées facilitaient la régénération et le développement des arbustes en modifiant les conditions édaphiques, par exemple, en augmentant la disponibilité en eau et la teneur en matière organique (Maestre et al. 2001). La notion de « **plante nurse** » (plante dominante ou nourricière) a alors été débattue dans plusieurs relations intra- et interspécifiques (Witzell 2012; Rodríguez-Echeverría et al. 2016; Al-Namazi et al. 2017). La plante nurse peut réduire

l'évaporation, limiter les fluctuations de température du sol et de l'air, accroitre la disponibilité en eau en diminuant l'évapotranspiration potentielle du sol, favoriser le développement des communautés microbiennes symbiotiques (ex : *Rhizobium*) et augmenter la disponibilité des nutriments et des minéraux.

Les mécanismes de compétition et de facilitation ne sont pas toujours distincts et ils évoluent avec le temps. Ils peuvent être concomitants selon l'âge, la densité, la physiologie des individus, ainsi que les conditions abiotiques ou encore les interactions indirectes (Callaway et Walker 1997; Holmgren et al. 1997; Lembrechts et al. 2015). Lorsque des interactions se produisent simultanément entre plusieurs espèces, la suppression de la compétition d'une espèce (B) par une autre (A) peut réduire l'effet concurrentiel de cette dernière sur une troisième espèce (C) conduisant au phénomène de facilitation indirecte (**Figure 12**).

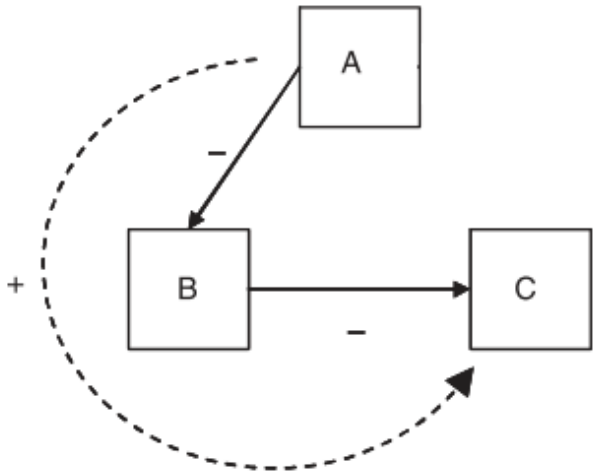


Figure 12. Interactions indirectes (trait pointillé) et directes (trait plein) dans un système complexe. L'espèce A concurrence l'espèce B, qui affecte le potentiel effet négatif de l'espèce B sur l'espèce C.

En effet, il existe des réseaux d'interactions entre différents individus, d'où la nécessité de tenir compte de tous les acteurs impliqués dans la relation. Dans le sol, les racines de différents individus peuvent interagir entre elles physiquement ou *via* les rhizodépôts. Elles peuvent aussi interagir avec des bactéries (ex : *rhizobium*, pour former des nodules) mais aussi avec les hyphes des champignons.

2.2.2.2. Les « symbioses » mycorhiziennes

Communément, ce qui est appelé « champignon » n'est en fait que l'appareil reproducteur, temporaire et visible appelé « sporophore » (ensemble pied dit « stipe » et du

chapeau, autrefois nommé « carpophore ») d'un organisme à caractère plus durable et plus discret, le macromycète. La structure habituellement filamenteuse du macromycète constitue le mycélium, formé de filaments, les hyphes, généralement invisibles à l'œil nu lorsqu'ils sont isolés. Les hyphes des champignons appartenant au règne des *Fungi* ou mycètes sont capables de s'associer avec les racines des végétaux et de former des **mycorhizes** (du grec *myco* « champignon » et *rhiza* « racine). Il en existe deux grandes catégories classées selon la base de caractères anatomiques, morphologiques et indirectement taxonomiques. Il y a les ectomycorhizes, où les hyphes entourent les racines et/ou pénètrent dans la zone corticale racinaire, et les endomycorhizes ou mycorhizes à vésicules arbusculaires, où les hyphes pénètrent dans la zone corticale des racines, mais aussi dans les cellules corticales racinaires. Les ectomycorhizes colonisent différemment les angiospermes (plantes à fleurs) et les gymnospermes (conifères). La plupart des angiospermes développent un réseau épidermique et limitent sa pénétration au niveau de l'épiderme externe, qui est souvent allongé radialement. En revanche, chez les gymnospermes, le réseau s'étend sur plusieurs couches de cellules corticales et se développe parfois jusqu'à l'endoderme (**Figure 13**). Comme la symbiose avec les *rhizobium*, la symbiose mycorhizienne implique la reconnaissance des deux partenaires grâce aux composés qu'ils émettent dans le sol. Les champignons libèrent des facteurs Myc qui conduisent à l'expression de gènes liés à la symbiose végétale et préparent la racine à la symbiose.

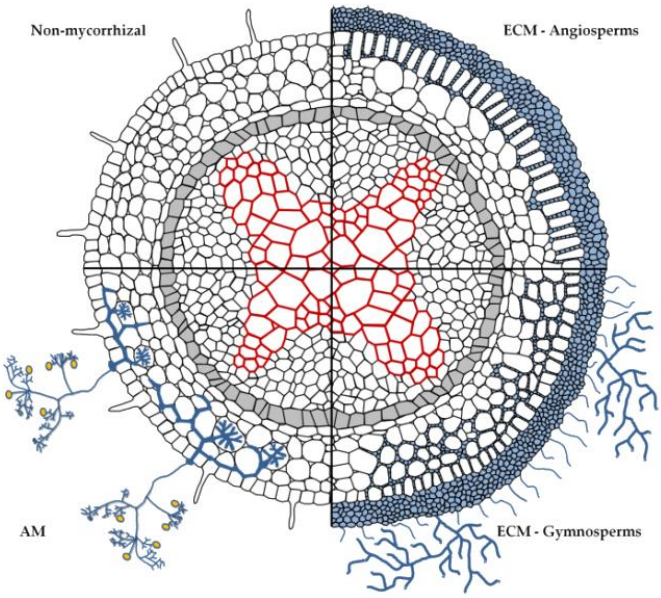


Figure 13. Caractéristiques structurelles des endomycorhizes à arbuscules (AM) et des ectomycorhizes (ECM) chez les angiospermes et les gymnospermes, d'après Bücking et al. (2012).

Bücking et al. (2012) écrivent : « la symbiose mycorhizienne est sans doute la symbiose la plus importante de la planète. Les archives fossiles indiquent que les interactions mycorhiziennes ont évolué il y a 400 millions d'années et qu'elles ont joué un rôle crucial dans la colonisation du sol par les plantes. » Les symbioses mycorhiziennes concernent 92% des familles de plantes terrestres et 80% des espèces répertoriées (Wang et Qiu 2006; Bonfante et Genre 2010; van der Heijden et al. 2015). Elles sont capables d'influencer la biodiversité et la productivité végétale mais aussi plus largement le fonctionnement de l'écosystème (Grime 1988; van der Heijden et al. 1998; Klironomos et al. 2000; Vogelsang et al. 2004; Wurzburger et al. 2017). Elles jouent aussi un rôle important dans la minéralisation (Aerts 2003). La majorité de ces interactions mycorhiziennes sont mutuellement bénéfiques pour les deux partenaires et se caractérisent par un échange bidirectionnel de ressources à travers l'interface mycorhizienne. Le champignon mycorhizien possèdent des transporteurs permettant l'absorption de phosphore, d'azote (nitrate, ammonium, acides aminés, urée) (Bonfante et Genre 2010), de calcium et de sodium. Bien que certaines plantes possèdent aussi ce genre de transporteurs et soient capables d'absorber et d'assimiler seule ces nutriments, la symbiose avec les hyphes leur permet :

- d'acquérir plus facilement les éléments nutritifs tels que l'azote minéral (Leberecht et al. 2016) et organique (Kielland 1994; Plassard et al. 1997; Chalot et Brun 1998; Wallenda et Read 1999; Öhlund et Näsholm 2004; Govindarajulu et al. 2005; Näsholm et al. 2009; Tian et al. 2010; Hawkins et al. 2015)
- de prospecter un plus grand volume de sol, d'augmenter la résistance au stress abiotique (sécheresse, salinité, métaux lourds) et biotique (agents pathogènes des racines) (Finlay et Söderström 1989; Finlay 2004; Miransari et al. 2008; Bano et Ashfaq 2013; Chitarra et al. 2016; Millar et Bennett 2016; Jacott et al. 2017)
- de faciliter la germination et la régénération car les champignons colonisent rapidement les jeunes plants (Alexander et al. 1992; Dickie et al. 2007, 2010; Courty et al. 2010; Jacquemyn et al. 2011)
- d'inhiber les propriétés allélopathiques de plantes voisines (Mallik et Zhu 1994; Zeng et Mallik 2006; Walker et Mallik 2009).

En contrepartie de leur effet bénéfique sur l'absorption des nutriments, la plante hôte transfère entre 4 et 20% de son carbone photosynthétiquement fixé au champignon mycorhizien (**Figure 14**).

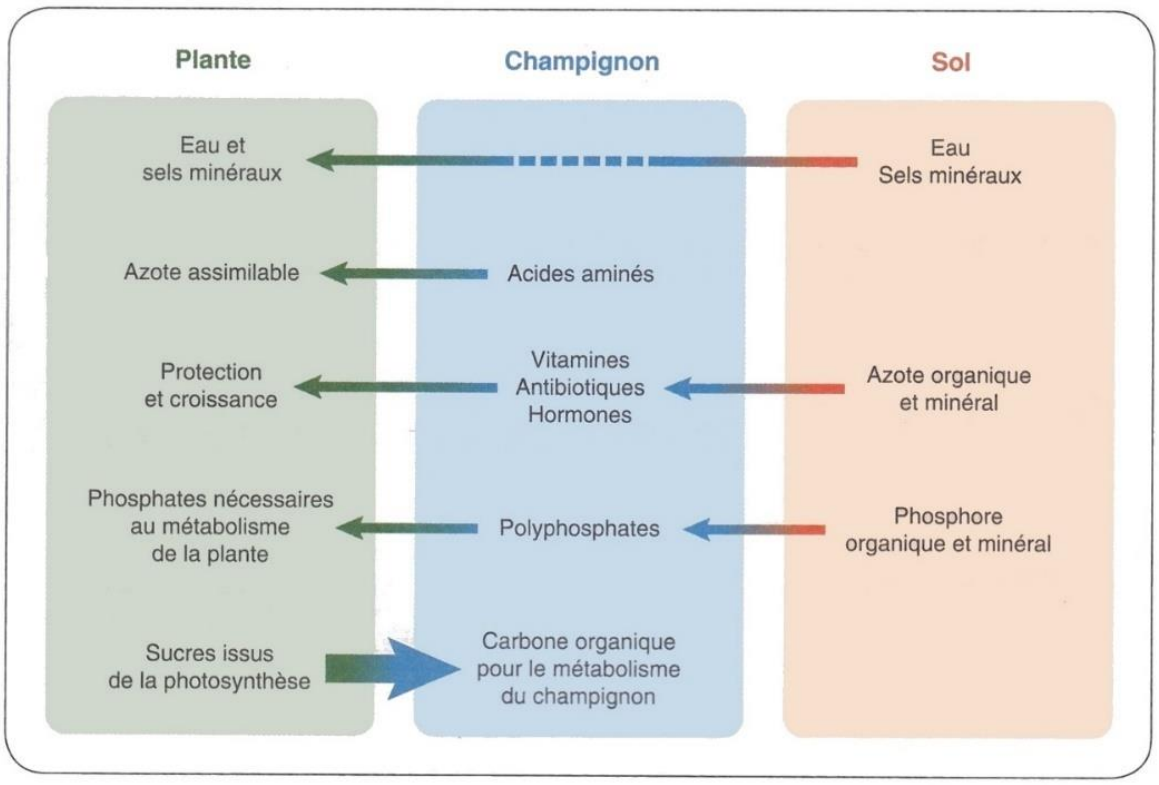


Figure 14. Principaux échanges ayant lieu dans une symbiose mycorhizienne. La mycorhize constitue une interface entre le sol et la plante. Elle permet le transfert de nombreuses molécules entre la plante et le champignon.

Différents individus appartenant à des espèces différentes peuvent être connectés par un mycélium commun (Massicotte et al. 1994; Dickie et al. 2004; Weremijewicz et al. 2016, 2018). Les hyphes d'un champignon peuvent aussi fusionner avec les hyphes d'un champignon voisin (Brownlee et al. 1983). Ces fusions nécessitent que les hyphes soient génétiquement proches (Selosse et al. 2006). Les cas de facilitation sont majoritaires (27% de cas où les effets sont neutres et 48% où les effets sont positifs) mais ils arrivent dans 25% des cas que les réseaux de champignons mycorhiziens aient un effet négatif sur la croissance et le développement de jeunes plants (Kytöviita et al. 2003; Pietikäinen et Kytöviita 2007; van der Heijden et Horton 2009). Le terme de « symbiose » mycorhizienne peut alors faire débat dans la mesure où les mycorhizes peuvent être délétères pour certains individus (Johnson et al. 1997; Sapp 2004; Janos 2007). Les mycorhizes n'échappent donc ni aux interactions de compétition, ni aux processus allélopathiques (Robinson 1972; Harley et Smith 1983). Certains auteurs ont mis en évidence que certaines plantes pouvaient nuire aux champignons en émettant des composés allélochimiques foliaires et/ou racinaires et ainsi réduire la performance des plantes mycorhizées (Javaid 1995, 2007, 2008; Afzal et al. 2000; Javaid et al. 2006).

2.2.2.3. Les transferts entre plantes

Les racines, par leur croissance, leur développement, leur nutrition (absorption) et leurs dépôts (rhizodéposition) vont être à l'origine de nombreux échanges souterrains avec les microorganismes et les plantes voisines. Parmi les échanges de nutriments, l'un des cas les plus connus et mieux documenté est celui des transferts d'azote d'une fabacée vers une poacée (autrefois appelées graminées). Entre 30 et 90% de l'azote atmosphérique assimilé par les nodules peut être relargué dans le sol sous forme d'acides aminés, *via* les mécanismes de rhizodéposition (Virtanen, Artturi 1947; Shamoot et al. 1968; Friedrich et Dawson 1984; Mahieu et al. 2009b; Fustec et al. 2010). Les composés azotés relargués peuvent être absorbés par les plantes voisines et favoriser leur croissance (Vallis et al. 1967; Whitney et al. 1967; Haystead et Marriott 1978, 1979). Les plantes actinorhiziennes peuvent aussi être bénéfiques pour les voisines impliquant des procédés de rhizodéposition identiques, particulièrement en agroforesterie et en sylviculture (Wheeler et al. 1986; Dawson 1990; Requena et al. 2001; Andrews et al. 2011). Dans certaines études, l'association d'une non-fabacée à une fabacée peut entrainer un phénomène de compétition et être délétère pour cette dernière (Elgersma et al. 2000; Xiao et al. 2004). Les transferts d'azote ont particulièrement été étudiés dans le cadre des associations de cultures (Stagnari et al. 2017) car elles permettent de limiter l'apport d'intrants azotés tout en améliorant les rendements (Hauggaard-Nielsen et al. 2001). Certains auteurs ont également mis en évidence un transfert d'azote bidirectionnel généralement 3 à 4 fois moins important de la non-fabacée vers la fabacée (Høgh-Jensen et Schjoerring 2000; Shen et Chu 2004). Les transferts bidirectionnels peuvent alors favoriser la croissance des deux espèces en mélange. La rhizodéposition des racines vivantes et mortes chez les espèces non fabacées peut constituer une voie de transfert d'azote vers les espèces voisines mais ces études sont très peu nombreuses (Teste et al. 2015) et impliquent généralement une autre voie de transfert : les réseaux communs de mycorhizes (Ek et al. 1996; Carey et al. 2004; Moyer-Henry et al. 2006; Li et al. 2009; Kurppa et al. 2010; Ribeiro Paula et al. 2015). Deux individus non-fabacées peuvent s'échanger des nutriments s'ils sont connectés par un même champignon mycorhizien ou par des champignons ayant fusionné. Les individus interconnectés peuvent s'échanger réciproquement du carbone (Hirrel et Gerdemann 1979; Francis et Read 1984; Finlay et Read 1986; Simard et Perry 1997; Simard et al. 1997a), du phosphore (Heap et Newman 1980a), de l'azote (van Kessel et al. 1985; Bethlenfalvay et al. 1991; Plassard et al. 1997; Smith et Read 1997; Jin et al. 2005; Jalonen et al. 2009; Teste et al. 2009; He et al. 2019), de l'eau (Egerton-Warburton et al. 2007; Bingham et Simard 2012) et probablement d'autres composés. La

connexion racinaire et/ou mycorhizienne entre plantes peut permettre aux plantes nurses de fournir de l'eau et des nutriments aux plantes affaiblies ou moins performantes (Kytöviita et al. 2003; Montesinos-Navarro et al. 2016, 2017), et parfois même à des souches d'arbres (Bader et Leuzinger 2019). Dans les écosystèmes forestiers, les arbres matures sont compétitifs pour les jeunes arbres à proximité car ils limitent l'accès aux ressources. En revanche, les jeunes arbres plus éloignés peuvent être facilités et recevoir des nutriments des arbres adultes par des mycéliums communs. Les réseaux communs de mycorhizes permettent donc les échanges longue distance entre les plantes interconnectées (Bücking et al. 2016; Simard 2018). Il existe donc une zone de bénéfice net où la compétition laisse place à la facilitation grâce aux mycorhizes qui connectent les arbres adultes aux semis dans les milieux forestiers (van der Heijden et al. 1998; van der Heijden 2004; Enkhtuya et al. 2005; Teste et Simard 2008; Richard et al. 2009; van der Heijden et Horton 2009; Booth et Hoeksema 2010). L'ensemble des processus de transferts souterrains décrit ici est résumé en **Figure 15**. Encore une fois, la facilitation n'est pas une règle générale. Il a été observé à plusieurs reprises que certains réseaux communs de mycorhizes pouvaient générer voire amplifier la compétition. Lorsqu'un champignon est connecté avec une plante A et une plante B, et que la plante A fournit plus de substances carbonées au champignon que la plante B, ce champignon va préférentiellement fournir en échange plus de nutriments à la plante A, au détriment la plante B (Booth 2004; Nara et Nara 2006; Janos et al. 2013; Merrild et al. 2013; Weremijewicz et Janos 2013; Weremijewicz et al. 2016). Les mycéliums peuvent transférer des composés allélochimiques entre plantes mais les mécanismes de régulation de ce transport ne sont pour l'instant pas connus (Barto et al. 2011, 2012).

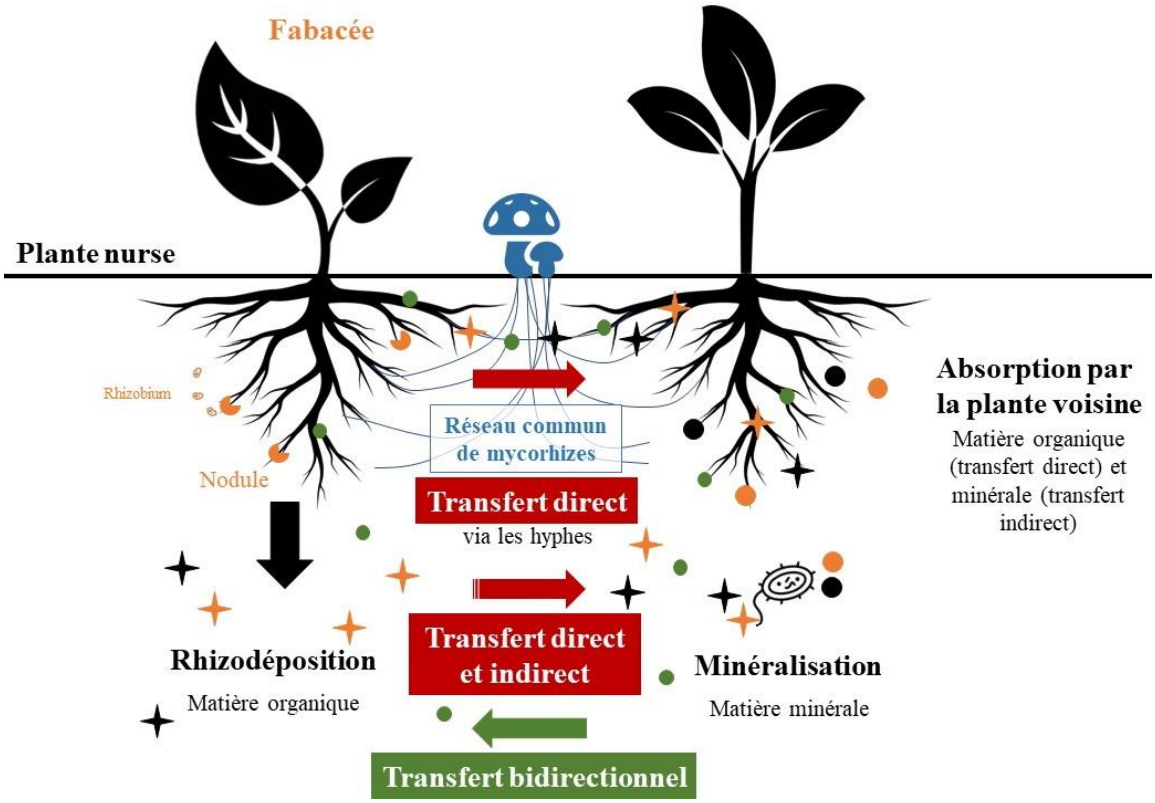


Figure 15. Voies de transferts souterrains entre deux plantes. Le cas des transferts d'une fabacée vers une non-fabacée est présenté en orange. Les molécules vertes représentent le transfert dans le sens opposé, de la non-fabacée vers la fabacée. Les molécules noires représentent les rhizodépôts non issus des nodules.

Le comportement des plantes ectomycorhiziennes dépend des conditions environnementales, de l'identité du voisin et des caractéristiques du réseau de mycorhizes. L'intégration hiérarchique de ce phénomène à d'autres réseaux biologiques indique que le « dialogue entre végétaux » est un processus fondamental dans la nature adaptative complexe des écosystèmes forestiers (Gorzelak et al. 2015). D'après Montesinos-Navarro et al. (2019a), « *nous sommes encore loin de comprendre les effets de l'ensemble de la communauté fongique sur les interactions plante-plante et sur la coexistence d'espèces végétales*. »

2.2.3. Les autres interactions écologiques

La **compétition** est l'interaction écologique qui a suscité le plus d'études. Plus tard, les relations de **facilitation** entre plantes ou entre une plante et les microorganismes (bactérie, champignons) se sont développées. Il existe également les interactions **neutres**, où la plante A n'a pas d'effet sur la performance de la plante B. Ces trois grandes catégories peuvent chacune être subdivisée selon leur réciprocité. Connell (1983) aborde les notions de symétrie et d'asymétrie dans les interactions entre individus. Une interaction est considérée comme

symétrique si les individus ont le même effet l'un sur l'autre. Dans ce cas, il y a **compétition** au sens strict lorsqu'un individu A a un effet négatif sur un individu B et que l'individu B a en même temps un effet négatif proportionnel sur l'individu A (-/-). Lorsque A a un effet négatif sur B et que B n'a pas d'effet sur A, il s'agit d'**amensalisme** (-/0). Lorsque A a un effet négatif sur B et que B a un effet positif sur A, il s'agit d'une interaction **antagoniste** (-/+). Le parasitisme est une relation biologique directe et durable entre deux organismes hétérospécifiques où l'un des individus (le parasite) tire profit d'un individu hôte pour se nourrir, s'abriter ou se reproduire au détriment de son hôte (-/+). D'après Connell (1983), sur 54 études ayant mis en évidence un phénomène de compétition, l'interaction n'est pas réciproque dans 61 % des cas. De même, il y a **facilitation** au sens strict lorsqu'un individu A a un effet bénéfique sur un individu B et que l'individu B a en même temps un effet positif et proportionnel sur l'individu A (+/+). La facilitation inclut également les relations antagonistes. Lorsque A a un effet positif sur B et que B n'a pas d'effet sur A, il s'agit de **commensalisme** (+/0). Le mutualisme est une forme de facilitation qui désigne l'interaction entre deux ou plusieurs organismes hétérospécifiques ayant un bénéfice réciproque (ex : abeilles qui pollinisent les fleurs et se nourrissent du nectar en même temps) (Bronstein 2009) (+/+). La symbiose est également une forme de facilitation qui désigne une association durable et directe entre deux ou plusieurs organismes hétérospécifiques et profitable à chacun d'eux (ex : mycorhizes) (+/+). Enfin, il y a le **neutralisme** lorsque A et B n'ont pas d'influence positive ou négative l'un sur l'autre (0/0). Les principales interactions écologiques sont présentées en **Figure 16** (Zélé et al. 2018).

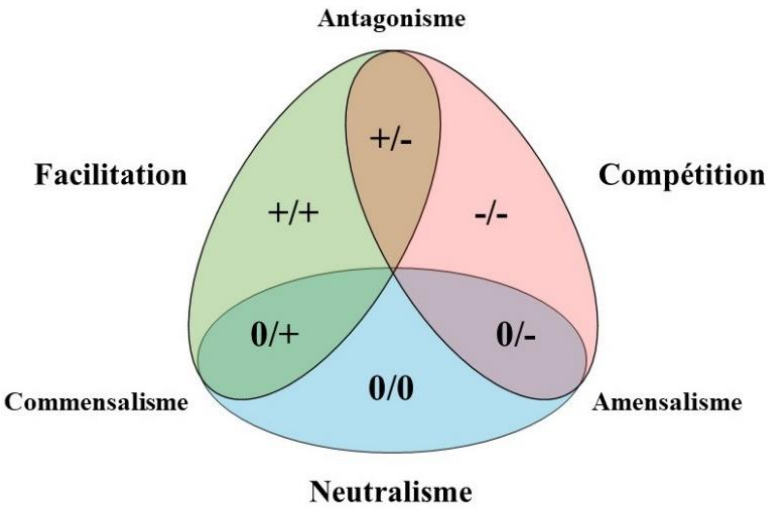


Figure 16. Diagramme représentant les différentes interactions écologiques et leur effet positif (+), négatif (-) ou neutre (0). Modifié d'après Zélé et al. 2018.

2.3. Les interactions dans le sous-bois : relation herbacée/jeune arbre

La forêt est un écosystème pluristratifié, offrant de nombreux habitats à diverses espèces et populations animales, végétales, fongiques et microbiennes entretenant entre elles, pour la plupart, des relations d'interdépendance. Sa pérennité est due d'une part à la longévité des arbres qui la constituent, mais aussi à leur régénération. Les jeunes arbres sont parmi les individus les plus vulnérables de la forêt. Leur taille rend leur feuillage accessible aux cervidés et autres herbivores (Laurent 2016) mais ne leur permet pas d'accéder à une forte luminosité puisqu'ils sont à l'ombre des adultes qui en plus diminuent les ressources du sol compromettant ainsi la croissance des semis (Connell et Slatyer 1977). Le système racinaire des jeunes arbres est également au contact de celui des végétaux du sous-bois comme les herbacées. Les mécanismes responsables des difficultés de régénération naturelle, et plus largement, les interactions entre les jeunes arbres et leurs voisins sont étudiés depuis de nombreuses années chez différentes espèces (Balandier et al. 2006a).

La forêt est aussi un écosystème à l'équilibre fragile rendant sa gestion complexe (Wagner et al. 2006; McCarthy et al. 2011). L'un des principaux facteurs conditionnant la régénération est la lumière (Gemmel et al. 1996). Les prélèvements des arbres forestiers entrainent une augmentation de la quantité de lumière arrivant dans le sous-bois ainsi qu'une augmentation de la disponibilité en eau et en nutriments. Ces facteurs combinés favorisent alors le développement et l'installation d'espèces interférentes (Lieffers et al. 1999; Aussenac 2000; Catovsky et Bazzaz 2002; Pritchard et Comeau 2004; Balandier et al. 2006b; Rodríguez-Calcerrada et al. 2008). Ces espèces peuvent limiter l'accès à la lumière pour les jeunes arbres entrainant une diminution de la croissance et du développement des semis (Gaudio et al. 2011b, a; Tsvuura et Lawes 2016). La compétition au niveau aérien peut avoir autant d'importance que la compétition souterraine pour les ressources (eau et nutriments) (Promis et Allen 2017). Globalement, les capacités d'absorption de l'eau et des nutriments d'une plante sont liées à la disponibilité en lumière. Il a clairement été mis en évidence qu'une contrainte hydrique due à la strate herbacée apparaissait dans les sites ouverts au point de réduire la croissance voire la survie des jeunes arbres lors de la phase de régénération (Coll et al. 2003). Un effet indirect induit par la variation de la disponibilité en eau dans le sol est la chute de la disponibilité en azote (Barber 1962; Löf et Welander 2004) due à une mobilité réduite du nitrate et de l'ammonium (Löf 2000; Rennenberg et al. 2009). Vernay et al. (2016) se sont intéressés à l'effet croisé du niveau du rayonnement perçu et de la disponibilité en azote minéral sur le jeune chêne sessile, la canche cespiteuse et la molinie bleue. A un faible niveau de luminosité, le facteur

limitant était la lumière elle-même et à un niveau plus élevé, le facteur limitant devenait les ressources du sol. Dans les conditions de forte intensité lumineuse, la molinie et la canche avaient une croissance supérieure corrélée à une augmentation de l'absorption de l'azote, par rapport à un niveau lumineux plus restreint. En même temps, le chêne voisin de la poacée avait une capacité photosynthétique inférieure. La concurrence avec la végétation herbacée a donc une incidence importante sur la survie, la croissance et le niveau de photosynthèse des jeunes chênes et ces effets varient le long du gradient de ressources multiples (luminosité, eau, nutriments, Davis et al. 1999).

Dans le contexte de régénération du chêne en présence d'herbacées, les mécanismes impliqués dans les interactions et la nature des interactions elles-mêmes ne sont pas entièrement décrits et connus. L'azote du sol a un rôle important pour le développement de ces végétaux, et semble impliqué dans les relations de compétition de la molinie sur le chêne (Vernay et al. 2018a). De manière inattendue, les expérimentations ont mis en évidence un effet bénéfique de la présence de semis de chêne sur la croissance de la molinie lorsque la disponibilité en azote était importante (Vernay et al. 2018b).

2.3.1. La compétition pour les ressources souterraines au détriment des jeunes arbres

La végétation monopoliste du sous-bois (poacées, éricacées, fougères…) se développe généralement rapidement avec l'augmentation de la disponibilité des ressources. Le système racinaire dense et véloce des poacées est très efficace dans l'absorption de l'eau et des nutriments, les rendant particulièrement compétitives et néfastes pour les jeunes arbres (Coomes et Grubb 2000). Différentes études menées sur des plantes placées en pot ont mesuré une absorption de plus de 90% de l'azote présent dans le sol par les poacées au détriment de l'absorption et de la croissance de jeunes semis de hêtre (Coll et al. 2004) ou de chêne (Vernay 2017). Des capacités intrinsèques différentes pour l'absorption sont généralement à l'origine d'une compétition asymétrique entre les espèces. La molinie fait partie des espèces les plus compétitives en forêt tempérée grâce à l'absorption rapide de l'azote minéral et organique (Aerts et al. 1989; Aerts 1990; Berendse 1994; Persson et Nasholm 2001). La compétition interspécifique dépend fortement des conditions abiotiques mais fait généralement aussi intervenir des processus et des cibles indirects tels que les mycorhizes et la rhizodéposition de composés allélopathiques.

2.3.2. La compétition *via* les composés allélochimiques des végétaux du sous-bois : effets directs et indirects (mycorhizes)

Les problèmes de régénération naturelle peuvent être causés par les processus allélopathiques (Fisher 1987). Des conifères en présence d'une couverture dense d'éricacées sont largement étudiés depuis 1980, en particulier le cas de l'épinette noire (*Picea mariana*) en présence de Kalmia à feuilles étroites (*Kalmia angustifolia*). Initialement, des extraits aqueux de feuilles, de racines (les extraits sont produits à partir de matière végétale sèche broyée et diluée dans l'eau), de litière et de sol de *Kalmia* ont été appliqués sur des graines et sur des semis d'épinette noire. Les quatre extraits n'ont pas eu d'effet sur la germination. En revanche, il y a eu une inhibition de la croissance racinaire des semis (Mallik 1987). Des composés phénoliques contenus dans les extraits aqueux ont été identifiés, suggérant un fort effet allélopathique de *Kalmia* sur l'épinette noire (Zhu et Mallik 1994). Des extraits foliaires de *Kalmia* ont été appliqués dans différents sols et ont provoqué une modification de la composition chimique de ce sol. Ces sols sont appauvris en nutriments tels que l'azote et le phosphore (Inderjit ets Mallik 1999). Encore une fois, les épinettes ayant poussé dans ce sol avaient une croissance racinaire mais aussi aérienne plus faible que les épinettes ayant poussé sur un sol non amendé avec les extraits de *Kalmia* (Inderjit et Mallik 1996). Les effets potentiellement allélopathiques de *Kalmia* sur l'épinette ne sont donc pas forcément directs. Inderjit et Mallik (2002) émettent l'hypothèse que l'interaction synergique de facteurs écologiques (minéralisation du sol, dynamique des nutriments, écologie microbienne du sol, mycorhizes) pourrait mieux expliquer la compétition asymétrique. Les mécanismes induisant la dominance des éricacées sont résumés en **Figure 17** (Mallik 2003).

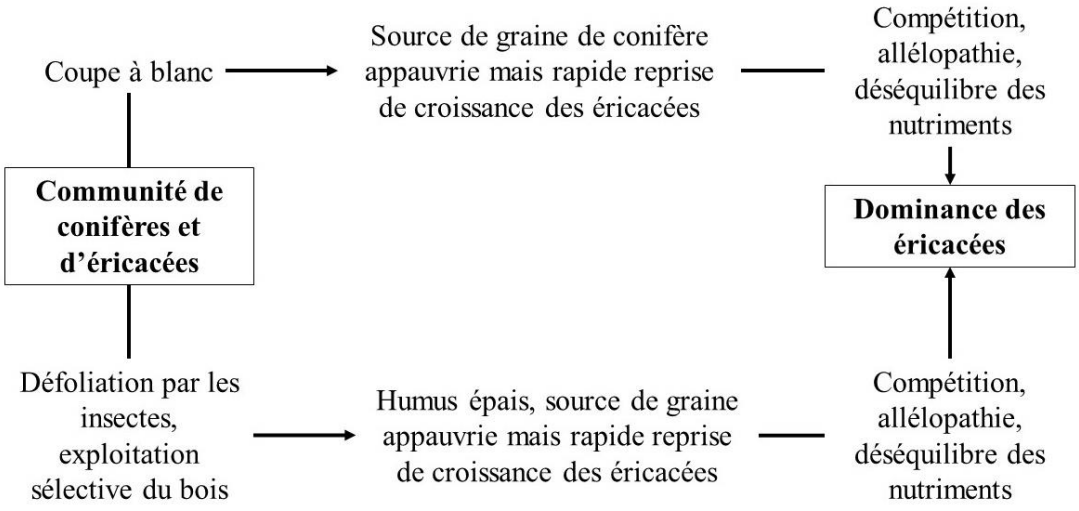


Figure 17. Les processus impliqués dans les problèmes de régénération de forêts boréales et subalpines de confières avec des éricacées dans le sous-bois, d'après Mallik 2003.

Des résultats similaires ont été observés entre la camarine noire (*Empetrum hermaphroditum*) et le jeune pin sylvestre (*Pinus sylvestris*). Les extraits foliaires de camarine ont inhibé la croissance des racines et des parties aériennes de jeunes pins. Le taux de mortalité des arbres était également supérieur en présence d'extrait de camarine (Nilsson et Zackrisson 1992). Parallèlement, la teneur en azote des pins était plus faible. Nilsson et al. (1993) ont appliqué des extraits de camarine sur les hyphes de *Paxillus involutus*, un champignon ectomycorhizien colonisant le pin. Plus la concentration en extrait était importante, plus le diamètre des hyphes était faible. Les composés allélochimiques ciblent à la fois le jeune arbre, mais aussi les mycorhizes, réduisant les capacités d'absorption des nutriments et *in fine*, sa croissance. Des effets similaires ont été observés à partir d'extraits foliaires d'une poacée sur les endomycorhizes de haricot. Quel que soit le stade de développement des haricots, l'application d'extraits a significativement réduit le taux d'endomycorhizes (Afzal et al. 2000). Ces résultats ont également été observés sur d'autres espèces légumineuses endomycorhizées (Javaid et al. 2006; Javaid 2008). Chez la molinie, des études suggèrent son potentiel allélopathique (Becker et Lévy 1982; Aerts 1999), mais très peu de recherches ont porté sur les molécules pouvant être responsables d'une diminution de la croissance des jeunes arbres (Juillet et Zitti 1935). D'après la bibliographie, il semblerait que l'effet dépressif de la molinie sur les mycorhizes du jeune chêne n'ait été analysé que par Timbal et al. (1990). Ils ont observé que la présence de molinie induisait un fort ralentissement de la croissance de jeunes chênes rouges (*Quercus rubra*). Les biomasses des tiges et des racines des chênes étaient plus faibles que ceux qui avaient grandi sans molinie. Ces diminutions étaient corrélées à une importante

modification des mycorhizes en présence de molinie : forte régression des mycorhizes à *Laccaria* (réputées efficaces) et augmentation concomitante des mycorhizes à *Cenococcum* (réputées peu efficaces), accompagnées d'une nécrose des racines. Dans cette étude, l'effet allélopathique supposé de la molinie n'implique pas une diminution de la colonisation des racines de chêne par les champignons ectomycorhiziens. L'allélopathie se traduirait ici par un changement d'espèces de champignons, réduisant ceux qui facilitent l'absorption des nutriments et favorisant ceux qui ont un rôle mineur dans l'acquisition des ressources.

Il est souvent complexe d'imputer un réel rôle allélopathique à certaines espèces étant donné la multiplicité des facteurs biotiques et abiotiques impliqués dans les interactions végétales et les difficultés méthodologiques (la fabrication d'extraits et d'exsudats foliaires et racinaires peut modifier la nature des composés réellement relargués par la plante en conditions naturelles). Récemment, Mallik et al. (2016) ont suggéré que la biomasse racinaire largement supérieure de *Kalmia* était le principal facteur permettant d'expliquer ses effets négatifs sur les jeunes épinettes.

2.3.3. Les processus de transfert de nutriments entre végétaux du sous-bois

Les processus de transfert de nutriments impliquant des jeunes arbres ont principalement été étudiés dans le contexte de transferts d'un adulte vers les semis, mais la capacité de ces derniers à rhizodéposer et transférer des composés est moins connue. Les études de Simard ont porté sur les transferts de carbone depuis le bouleau (*Betula papyrifera*) et le douglas (*Pseudotsuga menziesii*), tous les deux âgés de six mois. Du $^{13}CO_2$ et du $^{14}CO_2$ gazeux, un isotope naturel du carbone (^{12}C) ont été apportés au niveau des parties aériennes du bouleau et du douglas, respectivement. Ce marquage réciproque a permis d'analyser les flux de carbone bidirectionels entre les deux espèces. Six jours après ce pulse, 4,7% du carbone fixé par le bouleau a été mesuré dans le douglas voisin (Simard et al. 1997a). Les deux espèces sont interconnectées par un réseau d'ectomycorhizes permettant des échanges de carbone bidirectionnel. Toutefois, les transferts sont plus importants du bouleau vers le douglas. Simard et al. (1997b) ont alors identifié deux voies de transfert de carbone entre les deux semis : les ectomycorhizes par lesquels ils sont interconnectés et le sol. Ces échanges de carbone reflètent un système plante-champignon-sol étroitement lié. Une autre étude a été réalisée en incluant un troisième arbre : *Thuya plicata* qui contrairement au bouleau et au douglas, possède des endomycorhizes mais pas d'ectomycorhizes. La quantité de carbone issue des deux autres semis

et reçue par le thuya est infime suggérant que les connexions mycorhiziennes ont un rôle majeur dans les transferts par rapport à la voie de transfert « sol ».

Les transferts d'azote sont majoritairement étudiés dans deux cas : la rhizodéposition d'azote en grande quantité par les fabacées et les transferts par le réseau de mycorhizes. Beaucoup d'études se sont portées sur les espèces agronomiques et l'effet bénéfique des transferts d'azote des fabacées vers les non-fabacées, par exemple du pois vers le maïs impliquant aussi un réseau commun d'endomycorhizes (van Kessel et al. 1985; Bethlenfalvay et al. 1991), du pois vers l'orge (Jensen 1996; Johansen et Jensen 1996), du haricot mungo vers le riz (Li et al. 2009), de l'arachide vers le riz (Shen et Chu 2004) mais aussi chez les arbres fabacées vers les arbres non-fabacées tels que*Gliricidia sepium* vers le cacaoyer (Kurppa et al. 2010), de l'acacia vers l'eucalyptus (Ribeiro Paula et al. 2015). Deux fabacées peuvent aussi se transférer de l'azote, par exemple entre le soja et l'arachide (Moyer-Henry et al. 2006). Sierra et Nygren (2006) et Jalonen et al. (2009) ont démontré l'existence d'un transfert d'azote de *Gliricidia sepium* vers une poacée (*Dichanthium aristatum*) par un réseau commun de mycorhizes et par la rhizodéposition. De même, les arbres actinorhiziens peuvent transférer des composés azotés vers d'autres arbres, par exemple, de l'aulne du Caucase et de l'olivier de Bohême vers le merisier *via* la rhizodéposition (Roggy et al. 2004) ou encore de l'aulne blanc vers le pin sylvestre (Ekblad et Huss-Danell 1995).

Les nodosités et les mycorhizes ne sont pas nécessairement impliquées dans les processus de rhizodéposition, mais la voie de transfert de nutriments par le sol a suscité peu d'intérêt. Contrairement aux composés allélochimiques, les transferts de nutriments n'impliquant pas de nodules ni de mycorhizes sont considérés comme trop faibles pour avoir un réel impact sur les plantes voisines. Pourtant, les arbres fruitiers peuvent rhizodéposer une quantité significative de composés azotés dans le sol. Scandellari et al. ont mis en évidence que la rhizodéposition était un processus majeur et non négligeable chez le pommier (Scandellari et al. 2007) et chez le pêcher, bien que les processus soient principalement dus à la sénescence racinaire (Scandellari et al. 2010).

L'implication des rhizodépôts dans les interactions entre les plantes a été étudiée chez : (i) les plantes fixatrices d'azote, (ii) les plantes connectées par un réseau commun de mycorhizes et (iii) les plantes libérant des métabolites secondaires ayant un effet allélopathique sur les voisines. Le manque de connaissance chez les autres végétaux s'explique sans doute par la mésestimation de leur capacité à rhizodéposer de manière à influencer significativement leur

environnement. De plus, il reste une part d'ombre sur les processus pouvant influencer l'activité de rhizodéposition. Il est connu que les plantes sont capables de reconnaître la présence et l'identité d'un voisin et de moduler leur réponse, par exemple en libérant des composés allélochimiques. En revanche, la nature et l'effet de ces composés ainsi que les cibles impliquées ne sont pas entièrement connus. Callaway et al. (2003) écrivent que « certaines des réponses plastiques des plantes vis-à-vis de leurs voisines étant apparemment spécifiques, les coefficients d'interaction entre les plantes peuvent changer en fonction non seulement de la densité des voisins, mais aussi de leur identité, ce qui confère un nouveau niveau de complexité à la théorie de la communauté végétale. ». J'ajouterai aussi que les interactions, pourtant définies comme étant des réactions réciproques, sont souvent étudiées à sens unique. Les études portant sur les relations plante-plante se résument souvent à analyser l'effet de la plante A sur la plante B, considérant que l'espèce B a un effet neutre sur l'espèce A. Néanmoins, s'intéresser de manière égale aux différents individus impliqués permettrait de favoriser grandement la compréhension des interactions.

A notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude portant sur les transferts d'un jeune arbre forestier non fixateur d'azote vers une poacée compétitive du sous-bois ne partageant pas de mycorhizes communes.

2.4. Espèces végétales étudiées

2.4.1. Le chêne sessile (*Quercus petraea*)

Figure 18. Dessin d'une branche de chêne sessile et de ses fruits.

Le chêne sessile (**Figure 18**), aussi appelé « chêne rouvre », est une espèce forestière angiosperme et dicotylédone de la famille des fagacées. C'est une espèce monoïque pollinisée par les insectes. Il fructifie généralement aux alentours de 50 ans. La floraison et la libération du pollen ont lieu généralement à la mi-mai en France. Il peut constituer des peuplements purs ou mélangés avec d'autres essences, notamment avec le chêne pédonculé, le hêtre, le charme, le pin sylvestre ou encore le tilleul à petites feuilles, le bouleau verruqueux et le châtaignier. C'est une espèce européenne avec une tendance subatlantique, très commune en Europe occidentale et la plus répandue dans les forêts françaises. Il est présent partout dans les plaines et collines de France, excepté dans la région méditerranéenne, et est rare dans le bassin aquitain. De grandes futaies remarquables de chênes sessiles se trouvent dans tout le bassin de la Loire et de la Seine, et notamment en forêt de Tronçais (Allier) ou en forêt des Bertranges (Nièvre). C'est une espèce située à l'étage collinéen et à la base de l'étage montagnard, pouvant atteindre jusqu'à 400 mètres d'altitude. Le chêne sessile est commun dans presque toute l'Europe occidentale, mais il s'étend moins loin vers le nord-est que le chêne pédonculé. Il est présent dans le sud de la Norvège et de la Suède et atteint sa limite sud au centre de l'Espagne et au sud de l'Albanie.

Le chêne sessile est une espèce de demie-ombre, il supporte les sols pauvres et superficiels mais pour produire un bois de qualité, il nécessite des sols profonds. Son système racinaire se compose d'un important pivot lui permettant un bon ancrage dans le sol. Le pivot porte des racines secondaires impliquées dans l'absorption des ressources du sol. Le chêne est majoritairement ectomycorhizé (Suz et al. 2008; Leski et al. 2010; Voříškova et al. 2014) mais certaines espèces peuvent être également colonisées par des espèces d'endomycorhizes (Dickie 2001). Les semis tolèrent un ombrage partiel et supportent mieux la concurrence forestière entre les arbres que le chêne pédonculé. C'est une espèce d'assez large amplitude pour la texture du sol : sables, limons, argiles de décarbonatation, plus ou moins caillouteux. Il est à son optimum

sur des sols filtrants, épais, légèrement acides (limons ou sables). Il accepte des humus très variés et plus ou moins riches ou pauvres en éléments nutritifs. Il préfère les sols mésoxérophiles (moyennement secs), mésophiles (ni secs ni très humides) à frais (moyennement humides). Il est tolérant aux sols à pseudogley (nappe proche de la surface) mais il tolère moins bien les sols trop humides et l'ennoiement que le chêne pédonculé (Améglio 2013; Breysse et al. 2019). Sa tolérance à la sécheresse fait de lui un candidat mieux adapté aux conditions climatiques changeantes prédisant une augmentation des sécheresses en fréquence et en intensité (Trenberth et al. 2014). Ceci combiné à son intérêt sylvicole explique les raisons du choix de cette espèce dans la thèse.

Les chênes utilisés dans la thèse sont décrits en **Figure 19**.

Figure 19. Carte d'identité des chênes sessiles utilisés durant la thèse.

2.4.2. La molinie bleue (*Molinia caerulea*)

Figure 20. Dessin d'une molinie bleue.

La molinie bleue (**Figure 20**), aussi appelée « paleine » est une espèce angiosperme et monocotylédone de la famille des Poacées. Elle forme localement des peuplements denses monospécifiques très étendus nommés « molinaies » avec des tapis caractéristiques en touradons (mottes). C'est une espèce assez généraliste présente dans les landes, les prairies, les tourbières, les molinaies et les sous-bois. Elle est relativement indifférente à l'humidité du sol, tolérant des fluctuations dans la disponibilité en eau, elle s'adapte aussi à tous les pH du sol. C'est une espèce héliophile mais elle est tolérante à l'ombre. Son aire de distribution est assez large : en Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie), en Asie centrale et occidentale (Azerbaïdjan, Kazakhstan, Sibérie, Liban, Turquie) et en Europe, de la péninsule ibérique à la Scandinavie. L'espèce est en forte progression en Europe occidentale depuis le milieu du XXème siècle. Elle s'est répandue en Amérique du Nord où elle s'est naturalisée aux États Unis et au Canada.

Dans les chênaies, l'ouverture des peuplements, les remontées de nappe et l'augmentation de la disponibilité en nutriments, favorisent le développement de tapis plus ou moins denses de molinie : ce tapis entraîne ou aggrave le blocage de l'évolution forestière car il freine les possibilités de régénération du chêne (1999). Il apparait donc primordial de comprendre les effets de la molinie sur le jeune chêne sessile, ainsi que les mécanismes impliqués, pour mieux appréhender la gestion des chênaies. Les molinies utilisées dans la thèse sont décrites en **Figure 21**.

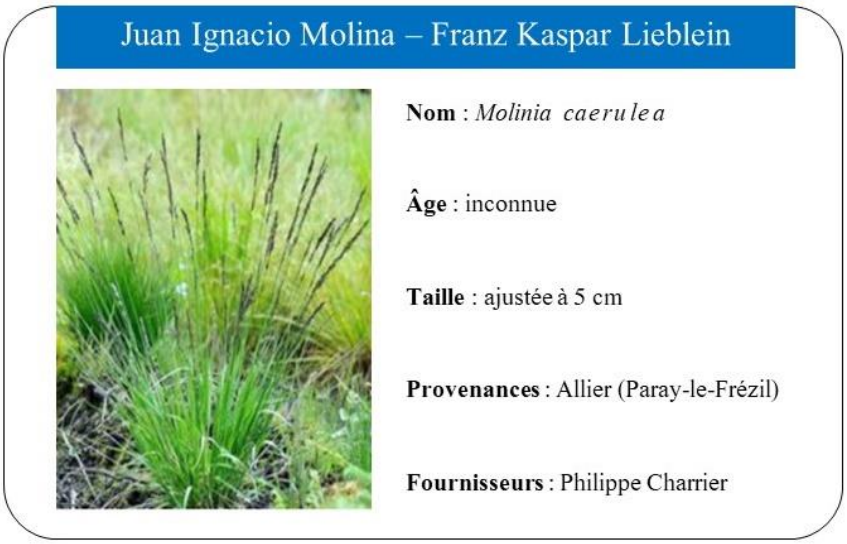


Figure 21. Carte d'identité des molinies utilisées durant la thèse.

2.5. Hypothèses générales de la thèse

De l'état de l'art qui précède, les hypothèses testées dans la thèse sont basées sur deux interactions majeures : la facilitation que le chêne exerce sur la molinie et la compétition que la molinie exerce sur le chêne. Les 6 principales hypothèses (**H**) testées sont les suivantes (**Figure 22**) :

H1. Le chêne facilite la croissance de la molinie.

H2. Le chêne rhizodépose de l'azote par les mécanismes de sénescence racinaire.

H3. L'azote rhizodéposé par le chêne est transféré à la molinie *via* les voies souterraines (racines, hyphes, diffusion de molécules).

H4. La molinie diminue la croissance du chêne.

H5. La molinie inhibe la colonisation ectomycorhizienne du chêne réduisant ainsi sa capacité à absorber.

H6. La molinie rhizodépose des composés allélopathiques nuisant à la croissance du chêne.

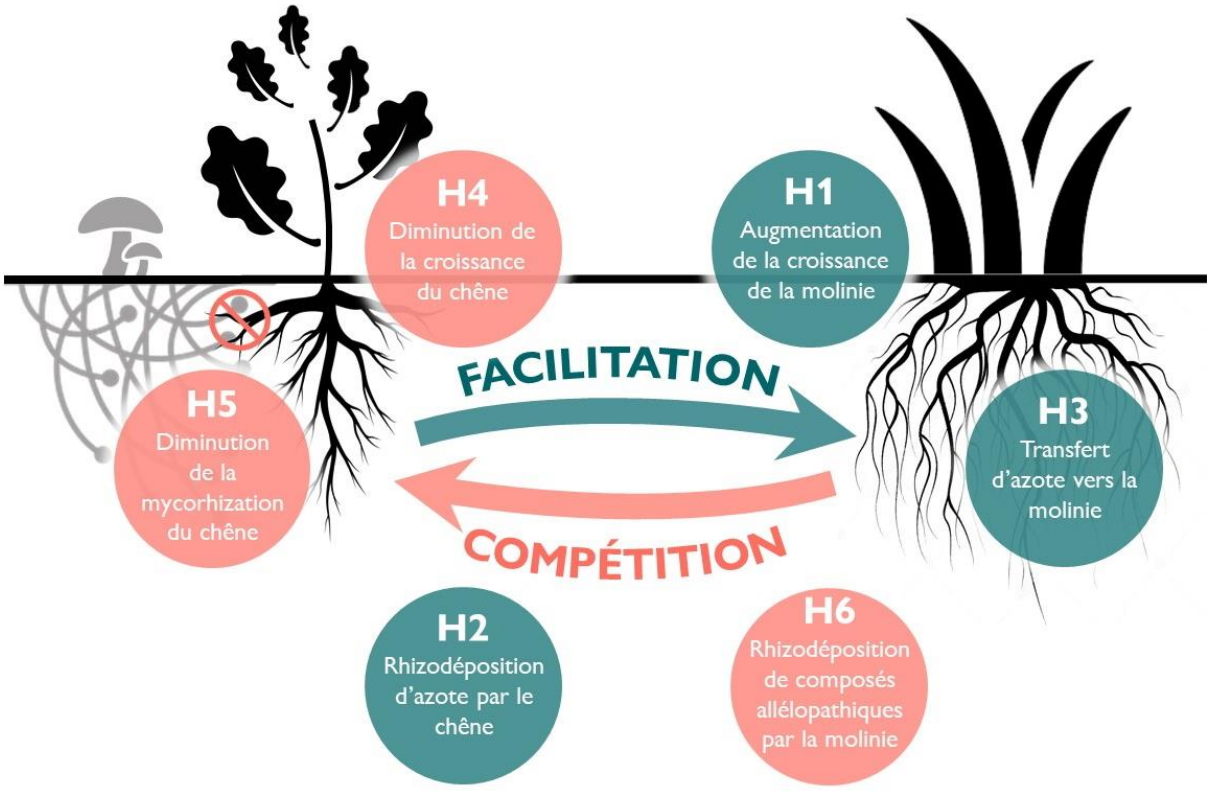


Figure 22. Schéma représentant les 6 principales hypothèses de la thèse.

Chapitre III. Matériels et méthodes généraux

Dans ce chapitre, seront présentées une partie des dispositifs généraux et des méthodes utilisées. Lors de la thèse, trois articles ont été rédigés et présentés respectivement dans les chapitres suivants. Ces articles indiquent les matériels et les méthodes généraux spécifiquement utilisés pour chacun d'eux.

3.1. Conditions expérimentales générales

Les expérimentations ont toutes eu lieu en pot, sur la plateforme extérieure de l'INRA de Crouël, à Clermont-Ferrand (Auvergne, France ; 45°45'N 3°07'E, altitude 394 m *a.s.l*). Les pots ont été remplis avec du sol forestier provenant de Paray-le-Frésil (Auvergne, France ; 46°39'N 3°36'E). Cette forêt, propriété de M. Charrier, est une chênaie à molinie. L'utilisation de ce sol permettait de se rapprocher des conditions naturelles, tant pour les propriétés pédologiques que pour les microorganismes. Dans ces expérimentations, nous tenions compte des mycorhizes, il fallait donc s'assurer que les plantes soient colonisées par des champignons naturellement présents dans les chênaies à molinie et que les interactions souterraines se rapprochent le plus de celles du milieu forestier. Le sol a été tamisé pour retirer les éléments grossiers (pierres, branches, déchets…) pouvant perturber de manière hétérogène la croissance racinaire. Placer les pots en extérieur a également permis d'avoir des conditions environnementales se rapprochant le plus de celles rencontrées en forêt, tout en contrôlant l'irrigation pour qu'il n'y ait pas de contrainte hydrique. Afin de se rapprocher des conditions de régénération artificielle par plantation, les plantes ont été placées en pleine lumière, sans ombrage. À la fin du printemps et durant l'été, un système d'irrigation a été mis en place dans les pots pour éviter la dessiccation du sol et la mortalité des plantes. La quantité d'eau apportée a été régulée en fonction des conditions météorologiques (environ 260 mL par jour en été). Des sondes de mesure de la teneur en eau du sol et des thermocouples ont été placés dans 10 pots (aléatoires) afin d'ajuster le volume tout au long de l'expérimentation. Les données météorologiques générales des trois années d'expérimentations sont présentées en **Tableau 1**. Le dispositif et les végétaux sont présentés en **Photo 1**.

Photo 1. Dispositif expérimental et récolte des chênes et des molinies.

Tableau 1. Données météorologiques générales des 3 années d'expérimentations. Les données de 2019 ont été calculées de janvier à septembre.

	Température moyenne (°C)	Moyenne des précipitations (mm)	Moyenne ensoleillement (h)
2017	12,6	5,8	171
2018	13,3	5,0	177
2019	14,2	5,3	196

Le descriptif détaillé du matériel et des méthodes utilisés dans chaque expérimentation est donné dans les sous-parties suivantes.

3.2. Les transferts d'azote entre le chêne et la molinie

Les objectifs de cette expérimentation étaient (i) de démontrer l'effet bénéfique de la présence du chêne sur la croissance de la molinie et (ii) de déterminer l'implication des transferts d'azote dans cette interaction de facilitation.

3.2.1. Dynamique des croissances aérienne et souterraine de la molinie : technique des rhizotrons

Les mesures de longueurs des parties aériennes et racinaires des molinies ont été réalisées toutes les deux semaines, en présence et en absence de contact racinaire avec le chêne (**Figure 23**). Les parties aériennes ont été mesurées à l'aide d'un mètre. Nous avons utilisé des rhizotrons pour analyser la longueur des systèmes racinaires. Les rhizotrons sont des contenants rectangulaires permettant d'observer le comportement et la croissance des racines. Ils sont formés de 4 faces en PVC opaques, d'une face en plexiglass transparente pour observer les racines et d'une ouverture pour insérer les plantes. Le sol et l'irrigation étaient identiques à ceux utilisés dans les pots. Afin que les racines, par géotropisme positif, croissent sur la face en plexiglass, les rhizotrons ont été inclinés à 35° à l'aide d'un système de calle. Pour limiter les excès de température et l'arrivée de lumière sur les racines, des toiles ont été ajoutées (**Photo 2**).

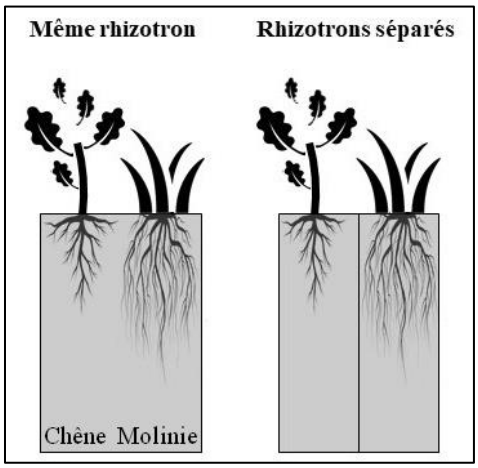


Figure 23. Dispositif expérimental : chêne et molinie dans un même rhizotron ou en rhizotrons séparés.

Photo 2. Dispositif expérimental : rhizotrons.

Toutes les deux semaines, un calque était placé sur la face en plexiglass transparente et les racines étaient décalquées. Les calques étaient ensuite scannés (Epson scanner, professional mode, 16 bits, dpi 600, images au format TIF) et réutilisés pour effectuer un traçage de la

nouvelle croissance racinaire. Les images ont ensuite été analysées avec le logiciel WinRhizo® (V2005a, Regent Instruments, Canada) pour mesurer la longueur racinaire.

3.2.2. Le « cotton-wick »

La méthode du cotton-wick (« fil de coton », **Figure 24**) a été mise au point par Russell et Fillery en 1996. Elle consiste à perfuser les plantes pour leur apporter une solution souhaitée.

D'après la bibliographie, elle n'a été utilisée que pour fournir des solutions d'urée ^{15}N à des plantes de la famille des fabacées (Mahieu et al. 2009a, 2016; Fustec et al. 2010). Le ^{15}N est un isotope (nombre de protons identiques mais nombre de neutrons différents) lourd et stable de l'azote naturel. Il représente 0,364% de l'azote atmosphérique. Le cotton-wick est appliqué au niveau de la tige. A l'aide d'une aiguille, le fil de coton est inséré transversalement dans la tige. Les deux extrémités du fil sont immergées dans un tube Eppendorf (ici, 5 mL) préalablement percé de trois orifices sur l'opercule (deux pour les fils et un pour ajouter la solution) contenant une solution d'urée ^{15}N (^{15}N-urea, At.^{15}N 98%). Par capillarité, la solution remonte dans le fil de coton et est absorbée au niveau des faisceaux conducteurs de la plante (xylème et phloème). Afin d'éviter la perte de solution par évapotranspiration et la dessiccation des fils de coton, les fils ont été insérés dans des tubes en silicone fixés au niveau de la tige et de l'Eppendorf avec du Terostat (Terostat®, Henkel Surface Technologies, Gulph Mills, USA). Pour le chêne, espèce ligneuse, les tiges ont été percées transversalement à l'aide d'une perceuse équipée d'un forêt (2 mm de diamètre, Photo 3. Cotton-wick appliqué au chêne.**Photo 3**).

Photo 3. Cotton-wick appliqué au chêne.

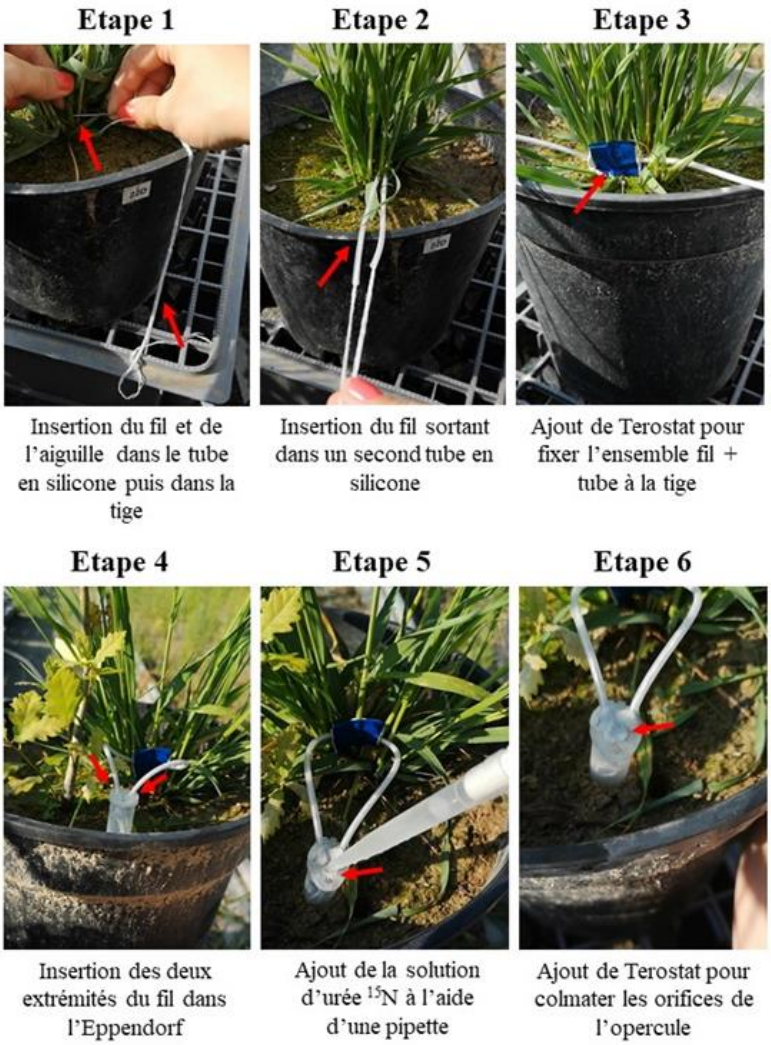


Figure 24. Etapes de l'installation du cotton-wick sur la molinie.

3.2.3. L'urée

L'azote est un élément essentiel à la croissance et au fonctionnement métabolique des plantes. La modification de sa disponibilité pourrait donc avoir un impact majeur dans les rapports de compétition qu'entretiennent les plantes d'une communauté. Il semblerait qu'il ait un rôle plus critique dans le développement végétal que le carbone. Néanmoins, il reste moins étudié (Körner 2015; Gessler et al. 2017).

Comme écrit dans la **partie 2.2.2**, l'urée est une molécule azotée ($CO(NH_2)_2$) qui résulte d'un processus de dégradation des protéines. Elle est considérée comme la forme d'azote la plus appropriée pour le marquage des plantes en raison de sa polarité, de son absorption rapide, de sa faible phytotoxicité et de sa solubilité élevée. Elle résulte de la transformation de l'arginine par une enzyme appelée arginase. L'urée présente l'avantage d'être facilement métabolisée par

l'uréase des plantes, entraînant la libération de CO_2 et de NH_4 (Hertenberger et Wanek 2004; Wichern et al. 2010). Nous avons donc utilisé de l'urée ^{15}N pour évaluer la translocation, la distribution et les transferts d'azote après son application par la méthode du cotton-wick.

3.2.4. Principe de l'analyse $^{15}N/^{14}N$ au spectromètre de masse

Les parties aériennes, le système racinaire et le sol de chaque échantillon ont été séchés et broyés (prébroyage au broyeur à couteau, 7,5 mm puis broyage au broyeur à bille). Les échantillons, alors sous forme de poudre sèche très finement broyée, sont pesés dans des capsules en étain de 4 mm de diamètre et de 6 mm de hauteur de façon à injecter 80 à 100 µg d'azote dans le spectromètre de masse (Elemental analyzer (vario ISOTOPE cube, Elementar, Hanau, Germany) interfacé en ligne avec un spectromètre de masse à rapport isotopique gazeux (IsoPrime 100, Isoprime Ltd, Cheadle,UK). Plateforme SILVATECH, INRA Centre Grand-Est Nancy). La masse précise de l'échantillon est alors notée à ± 1 µg. Les échantillons ainsi conditionnés sont disposés dans un injecteur en tête de la colonne de combustion. Leur injection dans la colonne d'oxydation est réalisée dans un flux d'hélium en légère surpression, afin d'éviter toute contamination par le gaz carbonique et l'azote moléculaire de l'air. La combustion des échantillons a lieu en tête de colonne d'oxydation (Cr_2O_3 et oxyde de cuivre à une température de 1000°C). Une élévation de température (1600°C) assurée par un apport d'oxygène conduit à une combustion totale des échantillons. A la sortie de la colonne d'oxydation, l'échantillon se trouve alors sous forme de N_2, CO_2, H_2O et d'oxydes d'azote. La réduction de ces derniers en N2 est alors assurée par un passage sur une colonne de cuivre métallique à 600°C (colonne de réduction). Le piégeage de l'eau et du CO_2 est réalisé par passages successifs sur deux colonnes contenant respectivement du perchlorate de magnésium et du "carbosorb" (PDZ Europa). L'azote gazeux est injecté dans le spectromètre de masse où il est d'abord ionisé. Les ions moléculaires positifs alors formés sont accélérés dans une chambre électrique, puis déviés dans un champ magnétique. Leur angle de déviation est directement affecté par le rapport de leur masse (m) à leur charge (z). Toutes les molécules de N_2 ionisées étant de même charge, leur angle de déviation est directement affecté par leur masse. Ainsi, la déviation de l'azote moléculaire de masse 28 sera plus importante que celle de l'azote de masse 29, elle-même plus importante que celle de l'azote de masse 30. Les ions sont ensuite collectés sur trois détecteurs. Les signaux qui en résultent sont ensuite amplifiés puis transmis à un système informatique. La quantification de l'azote est réalisée en faisant la somme des signaux obtenus à partir des masses 28 ($^{14}N^{14}N$), 29 ($^{14}N^{15}N$) et 30 ($^{15}N^{15}N$). L'abondance isotopique en ^{15}N est alors calculée par

l'intermédiaire du rapport des signaux 29/28 pour de faibles excès isotopiques et 30/29 pour des excès isotopiques élevés.

3.2.5. Dispositifs expérimentaux

3.2.5.1. Les transferts d'azote du chêne vers la molinie

Le design de cette expérimentation est entièrement décrit en **partie 4.2.1**., **Figure 28**.

3.2.5.2. Les transferts d'azote de la molinie vers le chêne

Pour confirmer l'implication des transferts d'azote dans les processus de facilitation de la molinie par le chêne, nous avons étudié les transferts d'azote de la molinie vers le chêne. En effet, si la molinie et le chêne s'échangent des molécules azotées dans des proportions égales, ceci suggère que d'autres mécanismes sont impliqués dans l'interaction de facilitation asymétrique.

Une molinie et un chêne ont été placés dans un même pot (contact racinaire) et en pots séparés (sans contact racinaire). Le design expérimental installé en avril 2018 est présenté en **Figure 25.** La méthode du cotton-wick a été appliquée sur la molinie.

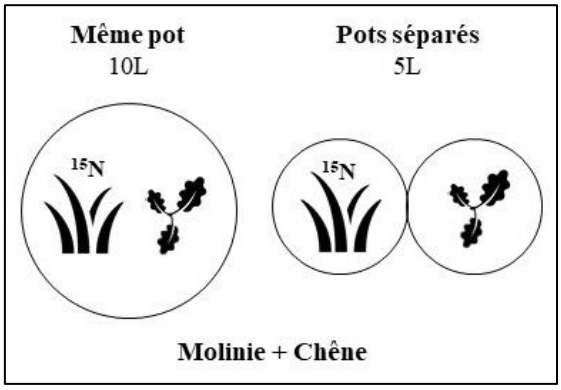


Figure 25. Design expérimental : modalité des pots.

La molinie a été marquée à l'urée ^{15}N en juillet 2018. Une récolte a été effectuée après l'absorption totale de l'urée ^{15}N, en août 2018 et une seconde après la reprise de croissance en mai 2019, pour tenir compte de la rhizodéposition de la molinie par les processus de sénescence racinaire. La biomasse sèche des chênes et des molinies a été relevée, ainsi que la quantité de ^{15}N et la teneur en azote.

3.3. Identification et comptage des mycorhizes

L'objectif de cette expérimentation était de déterminer si la présence de molinie avait un impact sur la mycorhization du chêne. Les endomycorhizes de la molinie ont également été observées, de manière exploratoire.

Une partie du système racinaire des chênes et des molinies issus de l'expérimentation précédente (transferts d'azote de la molinie vers le chêne, récolte en mai 2019) a été utilisée pour comptabiliser les mycorhizes. Les biomasses et les teneurs en azote relevées proviennent de ces mêmes individus. Les ectomycorhizes du chêne ont été analysées en plaçant des échantillons de racines latérales (coupées de manière à avoir 1 cm de longueur) entre lame et lamelle, à raison de 8 à 10 échantillons par lame. Sur chaque échantillon de racine, le nombre de ramification a été compté, ainsi que le nombre de ramification présentant des ectomycorhizes (**Photo 4**). Ce comptage a été réalisé à l'aide d'une loupe binoculaire et du logiciel Leica LAS Core.

Photo 4. Echantillons de racines de chêne sur lame et observations des ectomycorhizes à la loupe binoculaire

L'analyse des endomycorhizes a nécessité cinq étapes antérieures au comptage. Le protocole expérimental est présenté en **Figure 26**. Le colorant utilisé pour colorer les endomycorhizes étant de l'encre Pelikan® 4001 bleu noir.

Figure 26. Etapes de décoloration des racines et de coloration des endomycorhizes.

3.4. Production des exsudats racinaires et analyses des métabolites secondaires

L'objectif de cette expérimentation était de déterminer l'effet des exsudats racinaires de la molinie sur la croissance du chêne. En complément, nous avons analysé l'effet de ces exsudats racinaires sur la molinie elle-même, ainsi que l'effet des exsudats racinaires de chêne sur la molinie et sur lui-même, pour déterminer d'éventuels effets négatifs ou positifs sur la croissance.

3.4.1. Les exsudats racinaires : technique des macérats

Les racines des plantes présentent la particularité d'avoir un métabolisme qui reste actif plusieurs jours après séparation de la partie aérienne. Les racines continuent de rhizodéposer des composés dans le milieu extérieur (Lucash et al. 2007). Afin d'isoler ce cocktail de composés, les racines intactes des plantes fraichement récoltées ont été pesées puis placées dans une boite contenant un volume d'eau calculé de sorte que la concentration finale de la solution soit de 2% (masse/volume). Pour respecter les conditions naturelles de croissance et de rhizodéposition racinaire, les boîtes ont été placées dans le noir à température ambiante pendant

48h (temps moyen avant l'inactivité racinaire). Les plantes cibles étaient ensuite arrosées avec ce macérat. Cet effet a été étudié sur plusieurs semaines correspondant à la période de croissance. Chacune des plantes a ainsi reçu du macérat racinaire de chêne ou du macérat racinaire de molinie pendant 12 semaines. Pour chaque macérat, 20 mL ont été stocké à -80°C pour l'analyse par HPLC.

3.4.2. Les exsudats racinaires : technique de l'hydroponie

En 2017, seul l'effet des exsudats racinaires de molinie a été étudié sur le chêne. En 2018, les effets des exsudats racinaires des deux espèces ont été étudiés. En parallèle, 9 molinies ont été placées en hydroponie (**Photo 5**), c'est-à-dire que les racines étaient dans une solution nutritive composée d'eau et d'éléments minéraux décrits en **Tableau 2**. Dans chaque pot, un bulleur a été placé pour oxygéner la solution. La solution était changée toutes les semaines pendant 9 semaines et avant chaque changement, un échantillon (20 mL) de la solution a été prélevé et stocké à -80°C pour l'analyse par HPLC. Ces plantes ont été placées en chambre de culture (16h d'éclairement /8h de non-éclairement, 25°C).

Photo 5. Molinies en hydroponie.

Tableau 2. Liste des macro et micro-éléments, leur poids moléculaire, leur molarité et leur quantité (g/L), présents dans la solution nutritive.

Macro-éléments	Poids moléculaire	Molarité (M)	Quantité (g/L)
NaCl	58,44	0,17	10
$MgSO_4$, $7H_2O$	246,48	1,10	270
$(NH_4)_2SO_4$	132,13	0,55	72,5
$Ca(NO_3)_2$, $4H_2O$	236,15	1,46	345
KNO_3	101,1	2,00	202
K_2HPO_4	174,18	1,10	192
KH_2PO_4	136,09	1,10	150
Micro-éléments	**Poids moléculaire**	**Molarité (M)**	**Quantité (g/L)**
$(NH_4)_2MoO_4$	196,01	0,51	200
$MnSO_4$, H_2O	169,02	3,61	1220
$ZnSO_4$, $7H_2O$	287,53	3,06	1760
H_3BO_3	61,83	9,06	1120
$CuSO_4$	159,6	1,23	392

3.4.3. L'analyse des composés par HPLC

L'HPLC désigne la « high performance liquid chromatography ou plus rarement high pressure liquid chromatography », en français : chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP). Il s'agit d'une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange.

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus [*via* un détecteur à UV 1 relié à un système d'intégration et de calcul] sont plus étroits donc la résolution est améliorée (les pics sont bien séparés, on peut donc bien les différencier), le seuil de détection est également plus bas (des pics étroits et hauts sont plus faciles à isoler du bruit de fond que des pics larges et bas). La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « haute performance ». Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible (acétonitrile, méthanol) ou

des combinaisons de solvants organiques (alcools, hexane, dichlorométhane...) miscibles entre eux. Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de la séparation).

Chapitre IV. Les transferts d'azote du chêne au bénéfice de la molinie

L'hypothèse principale était que le jeune chêne facilitait la croissance de la molinie. Nous supposons qu'il rhizodépose des molécules azotées pouvant être absorbées par la molinie et ainsi favoriser la croissance de celle-ci. La première étape a été de rendre compte de l'effet facilitateur du chêne sur la molinie. Nous avons donc suivi la dynamique de croissance en longueur de la molinie en présence et en absence de chêne (4.1), puis, nous avons identifié les transferts d'azote du chêne vers la molinie, à chaque étape du cycle de croissance des plantes (croissance en été, para-dormance, endo-dormance et reprise de croissance au printemps, 4.2.1). Nous avons également tenté d'identifier les voies de transfert impliquées. Enfin, nous avons analysé les transferts d'azote de la molinie vers le chêne (4.2.2).

4.1. Le chêne facilite la croissance en longueur des parties aériennes de la molinie

Pour étudier l'effet bénéfique du chêne sur la molinie, nous avons mesuré la longueur des parties aériennes (**Figure 27.A.**) et des racines (**Figure 27.B.**) de la molinie en rhizotrons pendant la période de croissance en présence et en absence de chêne.

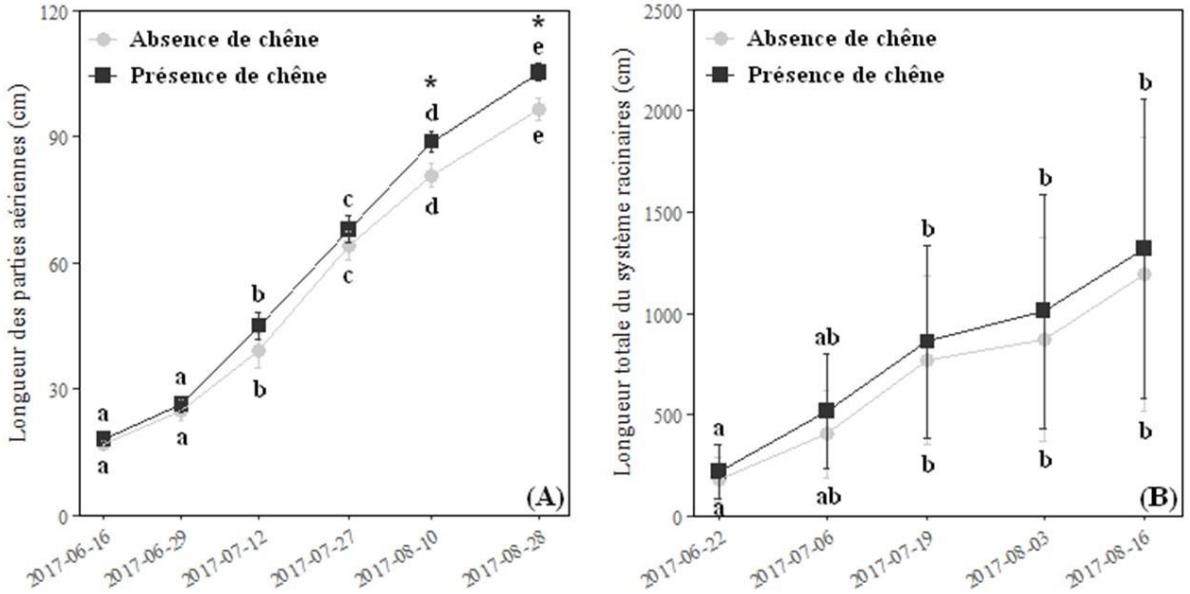


Figure 27. Dynamique de la longueur (cm) des parties aériennes (A) et racinaires (B) de la molinie en absence (gris) et en présence (noir) de chêne. Les valeurs représentent les moyennes ± SE (erreur standard), n = 6.

Les parties aériennes et le système racinaire de la molinie augmentent significativement entre mi-juin et mi-juillet. A partir de mi-juillet, les parties aériennes continuent d'augmenter de manière significative entre deux dates, tandis qu'il n'y pas de différence au niveau racinaire. La longueur racinaire des molinies n'est pas impactée par la présence de chêne. En revanche, à partir du mois d'août, les parties aériennes des molinies sont significativement plus importantes en présence de chêne. Ces résultats préliminaires suggèrent que le chêne facilite la croissance de la molinie. Il s'agit alors de déterminer s'il y a des transferts d'azote du chêne vers la molinie et s'ils sont corrélés avec une augmentation de la croissance de la molinie.

4.2. Les échanges d'azote entre le chêne et la molinie

4.2.1. Below-ground nitrogen transfer from oak seedlings facilitates *Molinia* growth: ^{15}N pulse-chase labelling

Résumé

Objectif Le transfert souterrain de carbone d'une plante à l'autre a été analysé et décrit en détail, alors que le transfert d'azote a été moins étudié d'une espèce non fixatrice d'azote vers une autre. Appliquée à la régénération forestière, cette étude visait à déterminer si les jeunes plants d'arbres facilitaient la croissance de la graminée voisine par les mécanismes de transfert d'azote.

Méthodes Les plants de *Quercus petraea* ont été placés en pots séparés ou dans le même pot qu'une touffe de *Molinia caerulea*. Un marquage par *pulse* à l'urée ^{15}N (méthode du cotton-wick) a été appliqué dans la tige des chênes afin de suivre les flux de ^{15}N dans chaque compartiment (parties aériennes, racines et sol). L'application de niveaux croissants de séparation physique entre les systèmes racinaires des deux espèces a permis d'étudier les voies de transfert de l'azote.

Résultats La biomasse sèche de molinie était plus importante lorsqu'elle était dans le même pot qu'un chêne que lorsqu'elle était seule en pot. L'augmentation de la biomasse sèche de molinie était corrélée à sa quantité relative de ^{15}N. De plus, la présence de molinie a augmenté la rhizodéposition azotée du chêne. En parallèle, dans le chêne donneur, l'allocation d'azote vers les racines en hiver était plus importante lorsqu'il était dans le même pot que la molinie que lorsqu'il était seul ou à côté d'un autre chêne.

SOUMIS DANS *PLANT AND SOIL* le 16/09/2019

Conclusions Les semis de chêne facilitent la croissance de la molinie via les mécanismes de transfert rapide d'azote, ce qui souligne la capacité des espèces non fixatrices d'azote à en fournir à ses voisins. Chez le chêne, l'allocation interne de l'azote et sa rhizodéposition dépendent de la présence et de l'identité du voisin.

Abstract

Aims Belowground carbon transfer from plant to plant has been extensively described, whereas such a transfer for nitrogen has been less investigated when the donor is a non-N_2-fixing species. Applied to forest regeneration, this study aimed to investigate whether trees seedlings facilitate neighboring grass growth through nitrogen transfer at an early stage of development, thus facilitating nitrogen acquisition by understory species.

Methods Quercus petraea seedlings were planted in pots either sole-grown or mixed-grown with *Molinia caerulea* tufts or another oak seedling. ^{15}N-urea pulse-chase labelling (cotton wick method) in oak shoot allowed tracking fate of ^{15}N in each soil and plant compartments along a year. Application of increasing levels of physical separation between root systems allowed to investigate pathways of N transfer.

Results Molinia dry weight was higher when mixed-grown with oak seedlings than when sole-grown. Increase of grass dry weight correlated with N transfer from donor oak to receiver *Molinia*. Interestingly, presence of *Molinia* increased N rhizodeposition of oak. Meanwhile, N allocation in donor oak towards root in winter and shoot in spring was enhanced

Conclusions Oak seedlings facilitate *Molinia* growth through rapid N transfer, underlying ability of non-N_2-fixing species to provide N to neighbor. ^{15}N allocation within donor oak and its rhizodeposition depend on neighbor identity.

Keywords Facilitation • Nitrogen • Belowground transfer • Rhizodeposition • *Quercus Petraea* • *Molinia caerulea*

Abbreviations

SG	Sole-grown
Mesh1	1 µm Mesh
Mesh30	30 µm Mesh
MG	Mixed-grown

Introduction

In the early twentieth century, Clements et al. (1929) describing plant interactions, defined resource competition as a "physical process" and "a combined need in excess of the supply". According to this point of view, plants could compete for light, water and nutrients only if they occupy the same zone of air or soil. Accordingly, competition occurs when one individual successfully reaches and captures limiting resources to the detriment of another individual, leading to a lower performance of its neighbors in biomass production, growth or reproduction. For many years, work on interactions has mainly focused on strategies of competition for resources (Bleasdale 1960; Grime 1974; Tilman 1990; Craine 2005; Craine and Dybzinski 2013). Competition for resources was seen as a passive mechanism where plants drew more or less efficiently resources in a common reservoir (*i.e.* soil).

However, in early nineteenth century, Schreiner and Reed (1907) reviewed the literature on the capacity of living roots to excrete matter in the soil. They pointed out toxic excretions by roots exhibiting deleterious effects on the growth and development of other plants. Allelopathy, or more generally chemical interference, is the process by which plants release allelochemicals into the environment: those ones have significant direct or indirect effects on other plant processing (Molisch 1937; Muller 1969; Rice 1985; Grove et al. 2013). Resource competition and chemical interference can occur simultaneously (Mallik 1998; San Emeterio et al. 2007) and are species-specific (Fernandez et al. 2016). For example, the presence of beech (*Fagus sylvatica*) reduced the ability of maple (*Acer pseudoplatanus*) to take inorganic nitrogen up that led to reduced growth of maple (Li et al. 2015), yet the precise mechanism was not specified.

In contrast, chemical compounds can also exert a beneficial influence (Rice 1985; Callaway 1995; Kohli et al. 1998). The molecular entities exuded by living roots include metabolites among which are carbon, phosphorus and nitrogen compounds (Virtanen, Artturi and Laine 1939; Slankis et al. 1964; Rovira 1969). Actually, recent studies emphasized nutrient and

information exchanges among plants are more generalized than first thought (Pierik et al. 2013) playing a key role in plant interactions. Ability of living and dead roots to exudate substances in soil, turnover of fine roots and sloughed-off cells and tissue, cell lysates and decomposed root materials is called rhizodeposition (Philipps et al. 2006; Scandellari et al. 2010; Mommer et al. 2016). Legumes offer a well-known case of positive substance release in the soil. Indeed, by means of symbiotic N_2-fixation, they can release about 50% of their total N into the soil by rhizodeposition (Boulter et al. 1966; Shamoot et al. 1968; Friedrich and Dawson 1984; Khan et al. 2002; Mahieu et al. 2009a; Fustec et al. 2010). Some authors have described the ability of neighboring grass to take up nitrogen released by legumes (Henzell et al. 1964; Vallis et al. 1967; Whitney et al. 1967). N transfer has been reported from legumes to the benefit of non-leguminous species into intercrops (Stagnari et al. 2017) such as soybean-weed (Moyer-Henry et al. 2006), pea-corn (van Kessel et al. 1985; Bethlenfalvay et al. 1991), pea-barley (Jensen 1996; Johansen and Jensen 1996) and clover-ryegrass (Haystead et al. 1988). Transfer of nutrients has mainly been studied in the case of N_2-fixing plants, whereas a very few examples ("less than a handful" – Teste et al. 2015) showed exchange of nitrogen between non-fixing plants. These N transfers can be as high as 4% from donor plant N, which is not marginal for a non-N_2-fixation species (Teste et al. 2015) especially in infertile soils (Eissenstat 1990). Haystead and Marriott (1978, 1979), concluded that transfer was a complex multicomponent process involving soil microorganisms. Thus, shared common mycelium can connect plants of different species, allowing exchange of nutrients (Bjorkman 1960; Heap and Newman 1980b; Francis and Read 1984; He et al. 2003; Li et al. 2009). Studies on forest trees found that birch (*Betula papyrifera*) and Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) were colonized by the same ectomycorrhizal fungi (Simard and Perry 1997) allowing bidirectional carbon transfer (Simard et al. 1997b, a). In woodlands, common mycorrhizal networks connect trees of different species and different ages, allowing transfer of nutrients that improve tree seedling regeneration (Teste and Simard 2008; Teste et al. 2009). Pathways of N transfer can include root intermingling, potential common mycorrhizal network, or exudation or rhizodeposition of diverse molecules (Ek et al. 1996; Teste et al. 2015; He et al. 2019). All of these intercations may lead to facilitation of the targeted species.

Facilitation is defined as a positive effect of plants on the establishment or growth of other plants, and that causes harm to neither (Hunter and Aarssen 1988; Bertness and Callaway 1994a; Callaway 1995; Bruno et al. 2003). As an example relative to nitrogen, in a silvopastoral system in Patagonia, Gargaglione et al. (2014) showed that *Nothofagus* facilitates grass N

uptake, likely due to the improvement of microclimatic conditions or reduction of competition for N between soil microorganisms and grasses. However, in some cases, both competition and facilitation can occur between plants. Antagonistic facilitation occurs when a species A has a positive effect on a species B, but B has a negative effect on species A (Bronstein 2009; Schöb et al. 2014). In the context of forest regeneration, Vernay et al. (2018a) described such a negative effect of the grass *Deschampsia cespitosa* on *Quercus petraea* seedling growth, while *Q. petraea* improved *D. cespitosa* biomass production. The strong ability of grasses to take nutrients up, and particularly nitrogen, has been demonstrated in many cases (*e.g.* Coll et al. 2004; Balandier et al. 2006), but the mechanisms underlying the facilitative effect of young oak seedlings on the grass are not known. From the literature briefly reviewed above, we hypothesized that a nitrogen transfer between interacting plants does occur, even in the absence of N_2 fixation, within the frame of identified facilitation of *Molinia* growth by oak seedlings. We specifically tested this hypothesis on the pair *Q. petraea* seedling in competition with a common perennial forest grass in temperate forests, *Molinia caerulea*. Plants were grown in pots under controlled conditions. ^{15}N pulse-chase labelling (He et al. 2009) was applied to oak, and ^{15}N retrieval in soil and *Molinia* was quantified after 3, 5, 8 and 11 months to characterize N fate across seasons. Pathways of N transfer were also indirectly investigated applying a mesh with two sizes between each species: either 1 µm to allow only chemical transfer (Mesh1) or 30 µm to prevent root contact but allows both hyphae contact and chemical transfer (Mesh30).

Materials and methods

Experimental design

The experiment was conducted in pots under outdoor conditions in Clermont-Ferrand (Auvergne, France, 45°45'N 3°07'E, altitude 394 m *a.s.l)* from April 2017 to May 2018 (T_{mean} = 12.9 °C, Rainfall = 546 mm). 168 one-year-old bare-root oak seedlings (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and 56 grass tufts (*Molinia caerulea*, 3 tufts on average) were planted in plastic pots, separately or together. Oak seedlings were sourced from a local nursery. They were 21 ± 6.6 g (mean ± SE) fresh weight, 41.47 ± 5.27 cm height, and 4.94 ± 0.98 cm diameter on average. *Molinia caerulea* (3 tufts on average) was collected in a local oak forest at Paray-le-Frésil (Auvergne, France; 46°39'N 3°36'E) with 2.04 ± 0.97 g fresh weight per lot. A total of eighty 10 L pots and sixty-four 5 L pots were filled with soil (typical luvisol-redoxisol pseudogley, sandy loam) collected in the same forest as the *Molinia*. Forest soil was used to preserve natural colonization by mycorrhizae. Four treatments based on root system separation

or interaction were set up (**Figure 28**): (i) Two 5 L pots containing either one oak or one *Molinia* tuft were placed side-by-side to prevent all root interactions (root contact, hyphae contact and chemical transfer) (sole-grown), (ii) oak and *Molinia* tufts were placed in the same 10 L pots but their rooting zones were separated by a nylon (Nitex®) cloth with one of two mesh sizes: either 1 µm to allow only chemical transfer (Mesh1) or 30 µm to prevent root contact but allow both hyphae contact and chemical transfer (Mesh30), and (iii) oak and *Molinia* tuft were placed in the same 10 L pot to allow full belowground interactions through root and hyphae contacts and chemical transfer (mixed-grown). Effect of species identity in the interaction, *i.e.* oak or *Molinia* as a neighbor, was tested replicating every treatment with receiver oak instead of receiver *Molinia* (**Figure 28**). Each treatment was replicated 4 times with a random spatial pot arrangement. To avoid interaction with water availability, probes were installed in pots, which were irrigated to the field capacity throughout the experiment. No fertilizer of any kind was added to the pot during the experiment.

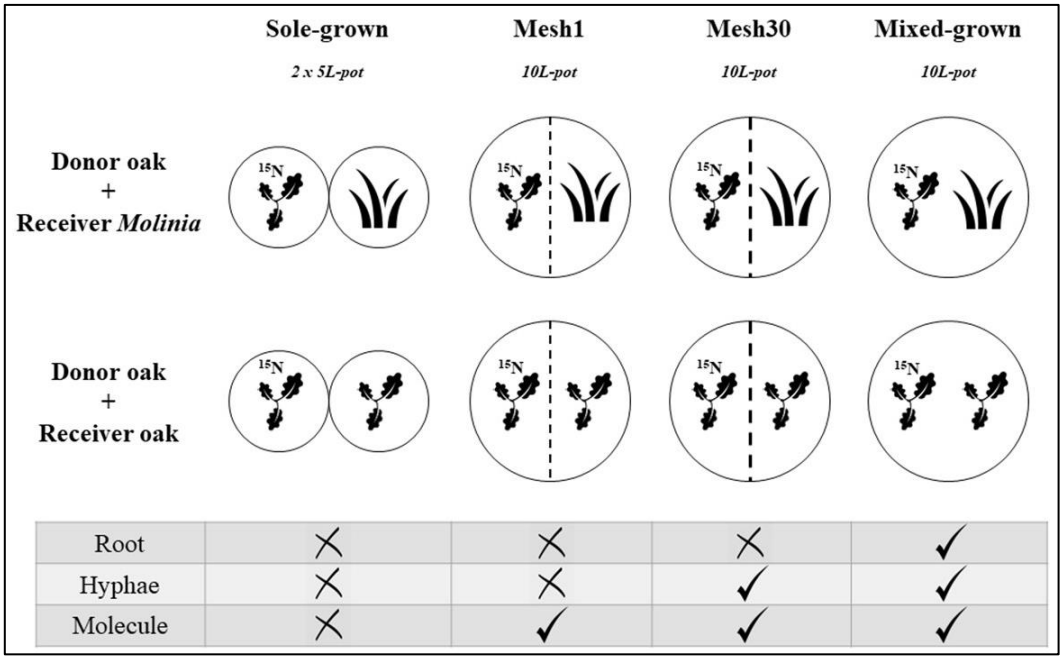


Figure 28. Experimental set-up. Oak was mixed-grown with either another oak plant or a *Molinia* tuft in one pot. When mixed-grown, belowground compartments were either fully intermingled (root contact; mixed-grown) or separated with a mesh of size 30 µM (Mesh30) or 1 µM (Mesh1). Mesh limits (cross in the table) the number of pathways of nutrient exchange between two root compartments: hyphae and molecules could go through (check mark in the table) for Mesh30 and only molecules for Mesh1 could cross the mesh. Oak was sole-grown beside another oak plant or a *Molinia* tuft with no root contact (sole-grown). Superscript ^{15}N indicates oak was labelled with ^{15}N urea through cotton wick application (see Materials and methods for details).

Oak shoot ^{15}N pulse-chase labelling by the cotton wick technique

To track possible nitrogen transfer from donor oak to receiver *Molinia* or oak, ^{15}N was supplied to donor oaks using the "cotton wick" method. This method supplies^{15}N through stem injection. Oak stems were pierced using a drill (1 mm hole 2 cm above the ground) to insert a cotton wick, the two ends of which dipped in a 5 ml Eppendorf tube containing ^{15}N solution (^{15}N-urea, At.^{15}N 98%). The two cotton tips were inserted through two holes in the cap at the top of the tube (Mahieu et al. 2007; Fustec et al. 2010). Desiccation and loss of solution from the reservoir and the cotton wick were prevented by sheathing the wick with two silicone tubes sealed to the stem and cap (Terostat®, Henkel Surface Technologies, Gulph Mills, USA).

^{15}N-urea was applied on June 13 and 14, 2017. After oaks seedlings absorbed more than 3 mL of solution (at 0.5%, weight/volume), the reservoir was replenished with a further 3 mL of ^{15}N urea solution at 0.375% (w/v). When the total solution of ^{15}N was fully absorbed, the reservoir was washed with 1 mL of deionized water, which was in turn absorbed by the plant. Overall, this supplied around 18 mg of ^{15}N to oak shoots. 5 L pots without cotton wicks were used as controls to determine the natural ^{15}N abundance in each compartment (oak shoots and roots, soil, *Molinia* shoots and roots).

Plant harvesting

Plants were harvested sequentially after total ^{15}N urea uptake was completed (August 2017), during leaf senescence (October 2017), during dormancy (February 2018) and after bud break (May 2018). In winter, only sole-grown and mixed-grown conditions were collected just to estimate ^{15}N allocation as there is no transfer during dormancy. For this harvest, oak shoots were stem and marcescent leaves, and *Molinia* shoots were senescent leaves.

Plant shoots and roots were collected for both species. For Mesh1 and Mesh30 treatments, soils separated by mesh were individually collected, whereas soil in sole-grown and mixed-grown were collected as a whole. Soil was then sieved (2 mm) and visible roots were collected. Roots were washed with 200 mL of a 0,5 mM $CaCl_2$ solution to remove ^{15}N from the surface and to maintain cell membrane integrity (Epstein 1961). This solution was then sieved and mixed with the soil. About 200 mL of this mixture was used to determine N content and isotope abundance. At each harvest and for each treatment, four replicates of each compartment were collected.

N content and isotopic analysis

Root, shoot and soil samples were dried at 60 C for at least 48h, weighed and ground to a fine powder. Total N content and ^{15}N abundance were then determined with an elemental analyser (vario ISOTOPE cube, Elementar, Hanau, Germany) in line with a gas isotope ratio mass spectrometer (IsoPrime 100, Isoprime Ltd, Cheadle, UK) at the Silvatech platform, INRA Nancy-Lorraine.

Calculations

Total N amount (mg) was calculated as follows:

$$(1)\ N_{tot} = \frac{\%N_{total} \times DW}{100}$$

where $\%N_{total}$ is N content (% DW) and DW is dry weight (mg).

^{15}N amount (mg) in each tissue sample was calculated as follows:

$$(2)\ {}^{15}N_{amount} = \frac{(At.\%^{15}N - At.\%^{15}N_{unlabelled\ sample}) \times N_{tot}}{100}$$

where At. $\%^{15}N$ is isotopic abundance in samples of donor oak and receiver neighbor, defined as follows:

$$(3)\ At.\%^{15}N = \frac{^{15}N}{(^{14}N + {}^{15}N)} \times 100$$

Relative ^{15}N allocation (**supp. data, Figure S1 and S2**) was calculated as follows:

$$(4)\ \%\ ^{15}N = \frac{^{15}N_{\text{amount in compartment } i} \times 100}{\sum {}^{15}N_{amount}}$$

where $\sum$ ^{15}N amount is the sum of ^{15}N amounts in each compartment (shoots and roots in donor, receiver *Molinia*, receiver *oak* and in the soil).

Statistics

Statistical analysis was performed using R software (R studio - Version 1.0.153). Data are means of n = 4 biological replicates (± SE). All variables were tested for normality and homoscedasticity, using the Shapiro-Wilk and Levene tests. Statistical analyses were conducted using one-way ANOVA or t.test. For factors with more than two levels (seasons, root reparation treatment and compartment), ANOVA was followed by Tukey's honestly significant difference *post hoc* test for mean comparison at a 90% level.

Results

Molinia exhibited a larger dry weight when mixed-grown with oak (Figure 29 and tables S1 to S5)

Donor oak dry weight was constant across season either sole-grown or mixed-grown with *Molinia* (**Figure 29**).

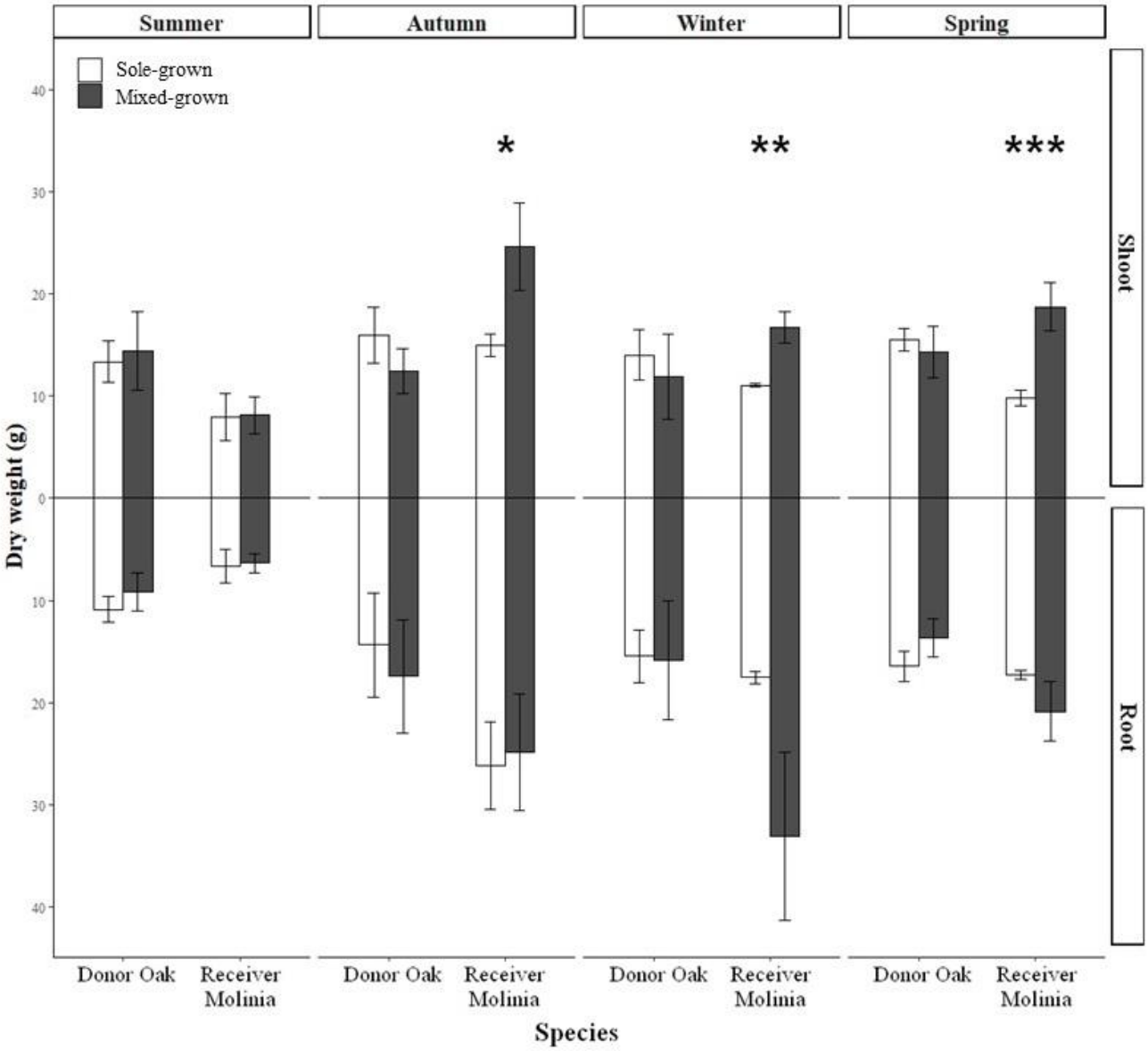


Figure 29. Above-and belowground dry weight for donor oak and receiver Molinia, for each season (summer, autumn, winter and spring). Plants were grown with either no root contact (sole-grown, white bars) or root contact (mixed-grown, grey bars). Values are reported as means ± SE (n = 4). *, ** and * correspond to p < 0.1, 0.05 and 0.01, respectively.**

By contrast, growth in *Molinia* tuft largely increased from summer (7.95 ± 2.31 g for shoot and 6.62 ± 1.65 g for root) to autumn (14.99 ± 1.11 g for shoot and 26.18 ± 4.3 g for root) in sole-grown (p = 0.01 for shoot and p = 0.0007 for root) and then remained constant until spring (**Table S1, S2, S3 and S4**). In mixed-grown conditions, *Molinia* shoot growth stepped up from summer (8.11 ± 1.81 g) to autumn (24.61 ± 4.29 g, p = 0.005) (**Table S1**) whereas larger root biomass was only observed in winter. Remarkably, *Molinia* shoot biomass tended to be higher when grown with oak than in sole-grown in autumn (p = 0.07), winter (11.06 ± 0.12 g in sole-grown and 16.7 ± 1.55 g in mixed-grown, p = 0.04) and spring (9.83 ± 0.8 g and 18.74 ± 2.37 g in mixed-grown, p = 0.027) (**Figure 29 and tables S1 to S5**).

Fate of rhizodeposed N from donor oak seedlings (Figures 30, 31 and tables S6 to S14)

Overall, about 73% of measured ^{15}N in all compartments were found in donor oak, either sole-grown or mixed-grown with *Molinia* in summer (**Figure 30a et e**). ^{15}N proportion in soil was statistically similar among season, treatment and neighbor.

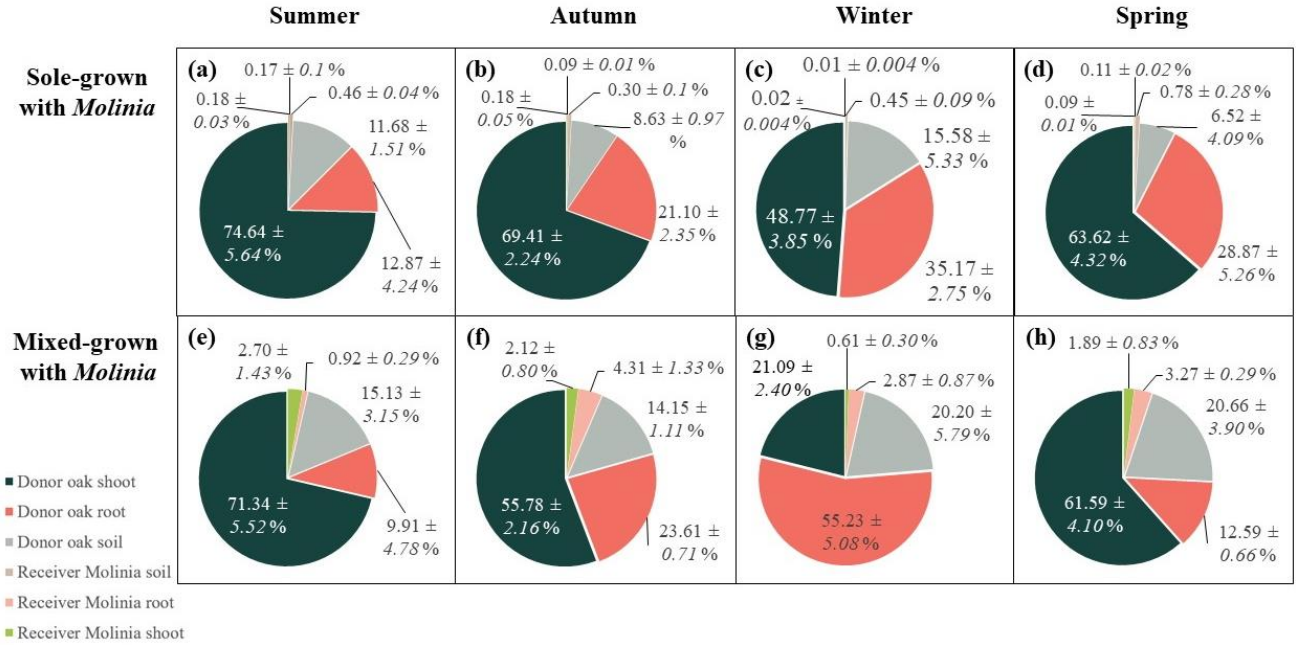


Figure 30. ^{15}N allocation (expressed as % of total ^{15}N measured within all compartments) among shoot, root and soil in donor oak and receiver Molinia. Species were sole-grown (a, b, c and d) or mixed-grown (e, f, g and h). Values are reported as means ± SE (n = 4).

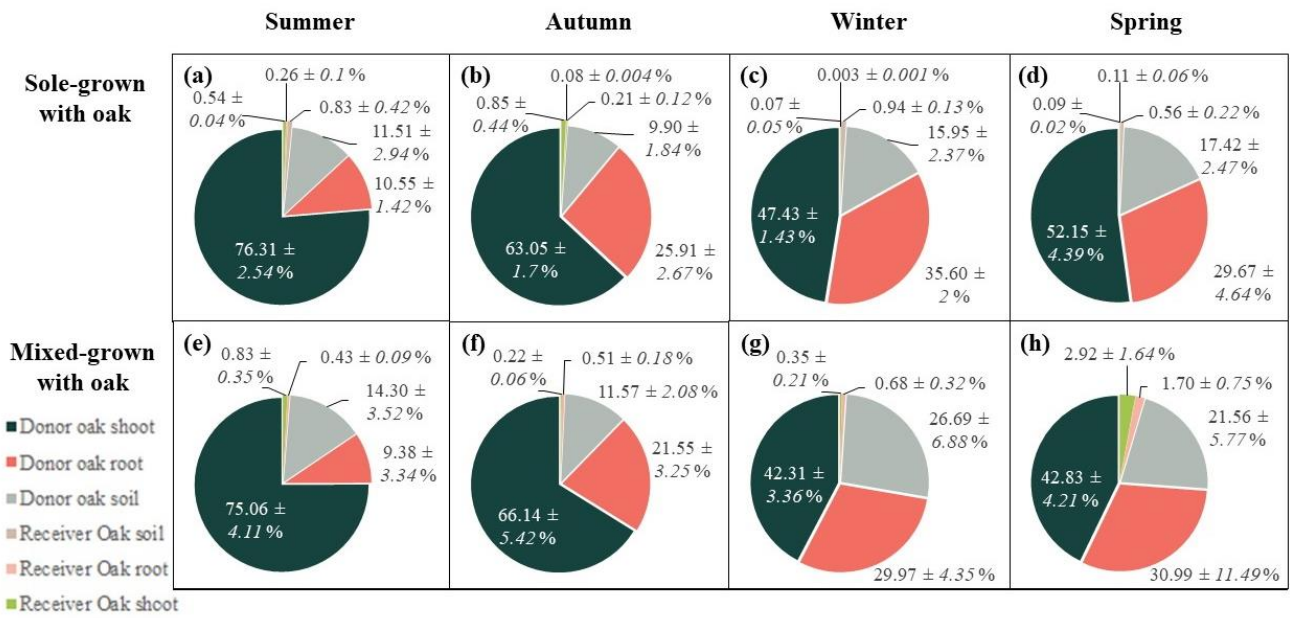


Figure 31. ^{15}N allocation (expressed as % of total ^{15}N measured within all compartments) among shoot, root and soil in donor oak and receiver oak. Species were sole-grown (a, b, c and d) or mixed-grown (e, f, g and h). Values are reported as means ± SE (n = 4).

Sole-grown

Surprisingly, ^{15}N was detected in receiver neighbor (significantly different from zero) but at a very low level (**Figure 30 and 31 – sole-grown and table S15**). In receiver oak, ^{15}N amount was significantly different from zero in summer, autumn and winter in shoots, roots and soil respectively. In spring, both donor oak shoots and soil contained a significant amount of ^{15}N. In *Molinia*, ^{15}N amount was significantly different from zero in all cases except in roots in summer (p = 0.17). In donor oak, ^{15}N proportion in oak donor shoots decreased from summer to winter (from about 75% to 50%, p = 0.004) to the advantage of the roots and soil (**Figure 30c, 31c,S1 – sole-grown and table S15 – Receiver *Molinia***) either near receiver oak or *Molinia.*

Mixed-grown

When mixed-grown, ^{15}N transfer from donor oak to receiver neighbor, either *Molinia* or oak, was large enough to be statistically significant. ^{15}N allocation patterns in shoots and roots were similar to that of sole-grown but ^{15}N amount in receiver was higher (**Figures 30, 31 and S2**). However, decrease in ^{15}N allocation towards shoots and a concomitant increase in roots in winter were much larger when mixed-grown with receiver *Molinia* (**Figure 30e and 30g**; from about 70% to 20%, $p < 0.0001$) than with receiver oak (**Figure 31e and 31g**; from about 75% to 40%, $p < 0.001$) (**Figure 32j and k**). In spring, ^{15}N in donor oak was reallocated to shoots to

a larger extent when mixed-grown with *Molinia* ($p < 0.001$) than with another oak ($p \approx 1$). Allocation was much larger in receiver *Molinia* roots from autumn onwards than in receiver oak (**Figure 33k**). In autumn, ^{15}N relative amount in shoot was higher in *Molinia* than in receiver oak (**Figure 33j**).

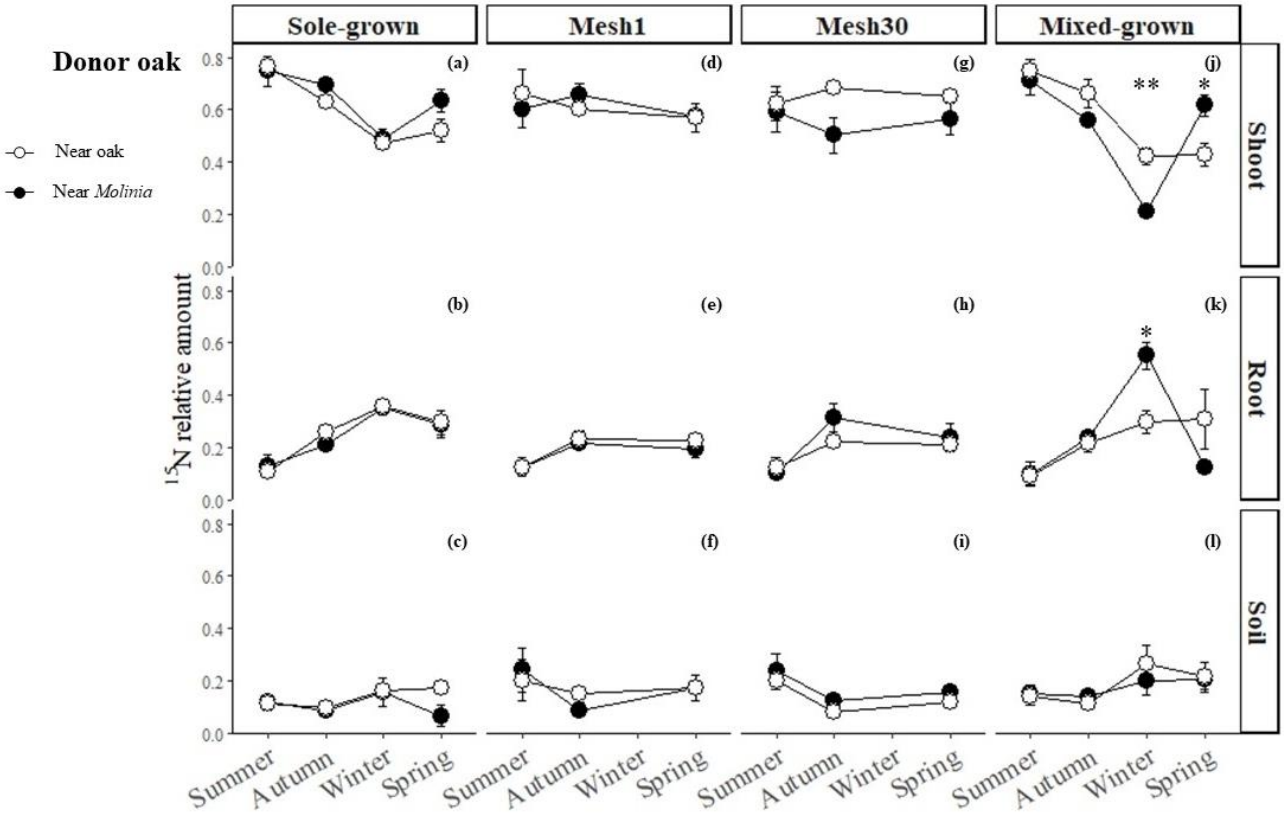


Figure 32. Relative allocation of ^{15}N among shoots, roots and soil in donor oak mixed-grown with receiver oak plant (white filling) or receiver Molinia tuft (black filling) according to seasons (summer, autumn, winter and spring) and treatment of root separation (sole-grown, Mesh1, Mesh 30 and mixed-grown). Values are reported as means ± SE (n = 4).

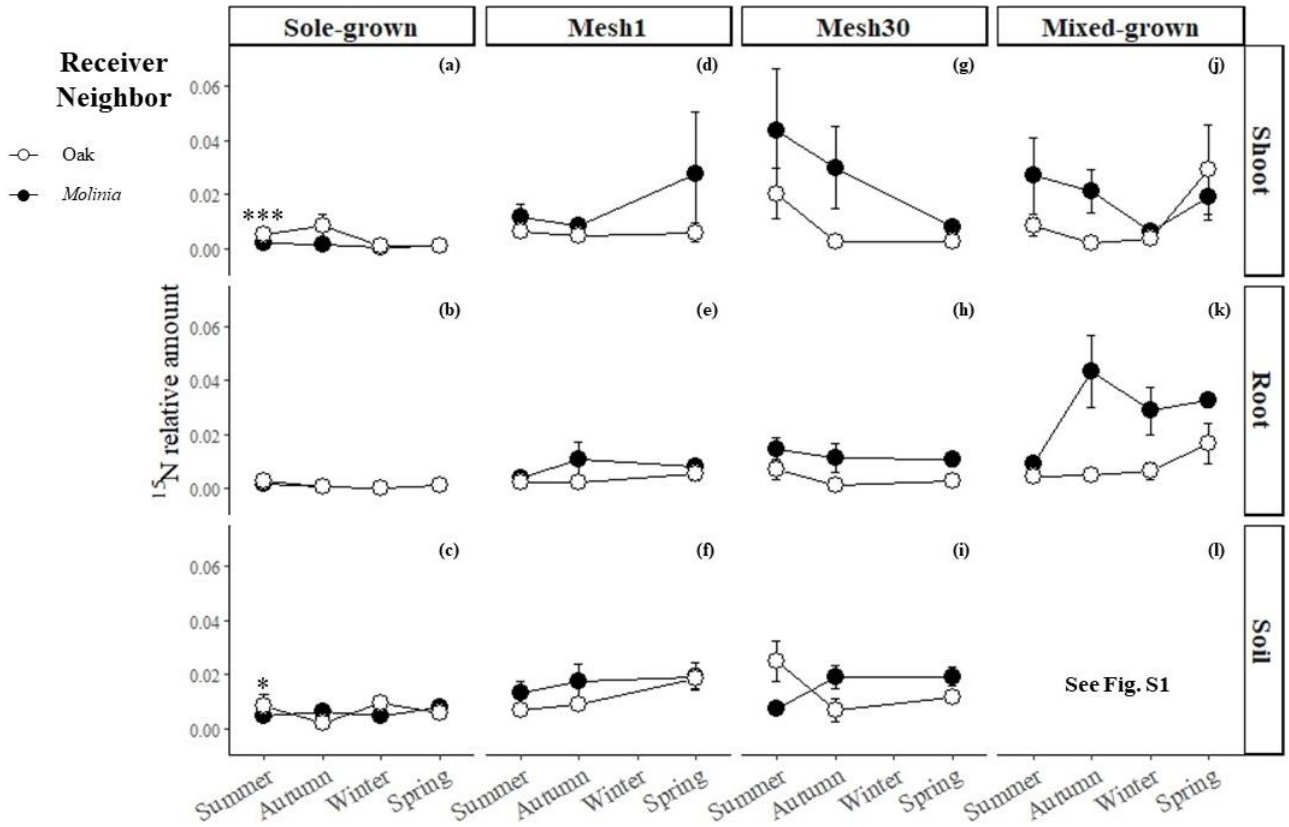


Figure 33. Relative allocation of ^{15}N among shoots, roots and soil in receiver oak plant (white filling) and receiver Molinia tuft (black filling) according to seasons (summer, autumn, winter and spring) and treatment of root separation (sole-grown, Mesh1, Mesh 30 and mixed-grown). Values are reported as means ± SE (n = 4).

Mesh ***(supp. data)***

Overall, mesh had a very low effect on ^{15}N allocation in either donor oak, receiver oak or receiver *Molinia* (**Figure 32 and 33**). However, in Mesh30, ^{15}N allocation was larger in shoots in autumn in donor oak mixed-grown with another oak than in donor oak grown with *Molinia* (**Figure 32g**). ^{15}N allocation towards shoots was much higher in receiver *Molinia* than in receiver oak in summer and autumn (**Figure 33g**). ^{15}N allocation patterns in root and soil were not statistically different according to receiver oak or *Molinia* (**Figure 33h, i**).

Discussion

Our results show that *Molinia* biomass was rapidly (within a few months) favored when mixed-grown with oak. Tracking ^{15}N fate validated our specific hypothesis that the presence of *Molinia* in the same pot with oak drove higher oak root N release to the benefit of *Molinia*.

Oak facilitate *Molinia* growth

The positive effect of oak seedlings on *Molinia* appeared in the early stage of cohabitation. When mixed-grown with oak, *Molinia* above- and belowground biomass values were larger from autumn and winter onwards, respectively, than those measured in *Molinia* sole-grown. These results are in line with previous findings that highlighted a facilitative effect of oak saplings on grass (Vernay et al. 2018b). Surprisingly, we did not find a detrimental effect of *M. caerulea* on oak seedling biomass as expected during the experiment. These results are not consistent with antagonistic facilitation, which has been shown in a previous experiment when both *Q. petraea* and *D. cespitosa* were grown together, possibly due to higher density of tufts in pots (Vernay et al. 2018b). No significant increase was observed in oak growth among seasons, especially when in interspecific condition. It is so possible that low growth did not allow to highlight an effect of *Molinia* on oak seedling growth.

N allocation pattern in oak is affected by the presence of *Molinia*

After oak shoot labelling by the cotton wick method, ^{15}N was rapidly found in oak stems and roots in summer. As expected, a higher ^{15}N allocation from shoots towards roots was observed in autumn and winter irrespective of the treatment (*i.e.* mixed-grown or sole-grown), in accordance with the conservative strategy of oaks. ^{15}N in roots was then re-allocated towards shoots to sustain bud break and early growth of emerging leaflets (Millard 1994). Interestingly, *Molinia* presence accentuated both allocations of ^{15}N to roots during winter and remobilization of ^{15}N towards shoots in oak during spring, Larger N mobilization to leaves might improve C capture, ultimately shoot and root growth in oak mixed-grown with *Molinia* (Bhatt et al. 2011). However, N distribution to roots was uncorrelated with concomitant biomass increment, suggesting greater N storage. Such a conservative strategy has already been described: higher N allocation in oak roots than in oak shoots mixed-grown with *D. cespitosa* (Vernay et al. 2018b). In spring, harvest coincided with bud bursting and early foliar development, a period generally associated with N remobilization (see Millard 2010 for a review), which was particularly accentuated from roots to shoots in oak grown with *Molinia*. An explanation of this observation might be a greater soil N depletion by *Molinia*, leading to a higher demand for internal N remobilization in oak to sustain budburst and leaf development (Neilsen et al. 2000; Bausenwein et al. 2001). It has been shown that the level of N availability during bud break in oak is a critical factor affecting leaf C capture (Bazot et al. 2016; Vernay et al. 2016, 2018b). Thus the magnitude of internal N recycling from roots might not depend only on limited soil

inorganic N amount but also on neighbor presence and neighbor identity (Welker et al. 1991; Kaitaniemi et al. 2018). Moreover, a part of internal N can be released in soil according to neighbor presence and identity (Dhamala et al. 2016).

A non-negligible part of ^{15}N is found in the soil

Nitrogen rhizodeposition processes have been described in legume and grass species and are known to occur few days after labelling (Ribeiro Paula et al. 2015). Conversely, in fruit trees, N rhizodeposition is mainly attributed to root mortality so ^{15}N is measured in soil to a large extent in winter (Scandellari et al. 2010). However, in our study, oak seedlings exuded N during the first weeks after labelling and the presence of a neighbor modified N flux from roots to soil. We hypothesized that neighbors (both oak and *Molinia*) might exudate specific molecular entities to increase active exudation by oak roots. Indeed, abiotic factors influencing root rhizodeposition such as soil nitrogen availability or CO_2 level (Hale et al. 1971; Philipps et al. 2006; de Graaff et al. 2007; Tückmantel et al. 2017; Bowsher et al. 2018) and interaction through root exudates (Suriyagoda et al. 2012; Semchenko et al. 2014; Mommer et al. 2016) are well-described. Recent studies on belowground signaling interactions demonstrated that neighbor detection, response strategies and communication are mediated by root-secreted signaling chemicals (Chen et al. 2012b; Rasmann and Turlings 2016; Kong et al. 2018; Canarini et al. 2019; Huang et al. 2019). Intraspecific neighbors can improve or impair nutrient uptake of nitrogen, involving both a mutually beneficial cooperative relationship and a competitive relationship among neighbors (Hong et al. 2017). However, to our knowledge, the effect of neighbor presence and identity on nutrient rhizodeposition has not been described. Thus this is probably the first time that such a flux from roots to soil in oak-*Molinia* interference has been characterized and gives an ecologically sound basis.

In winter, the increase of ^{15}N in soil was likely due to the turnover of fine roots and sloughing of living cells (Scandellari et al. 2010).

N transfer between plants may contribute to the growth facilitation process

In *Molinia*, biomass increase was positively correlated with ^{15}N relative amount in shoot and root (**Figure 34 and table S16**) especially in summer, autumn and winter (**Figure 34a, b and c, respectively**). At the opposite, the relationship was never significant for receiver oak, whatever the considered season. Overall, these results suggest that *Molinia* was able to subtract ^{15}N from oak and to the benefice of its own growth (**Figure 34**e, f, g and h). These results

support our hypothesis of Molinia growth facilitation by oak seedling through N transfer. It emphasizes the importance of the strategy and identity of neighbors to influence plant-plant N transfer.

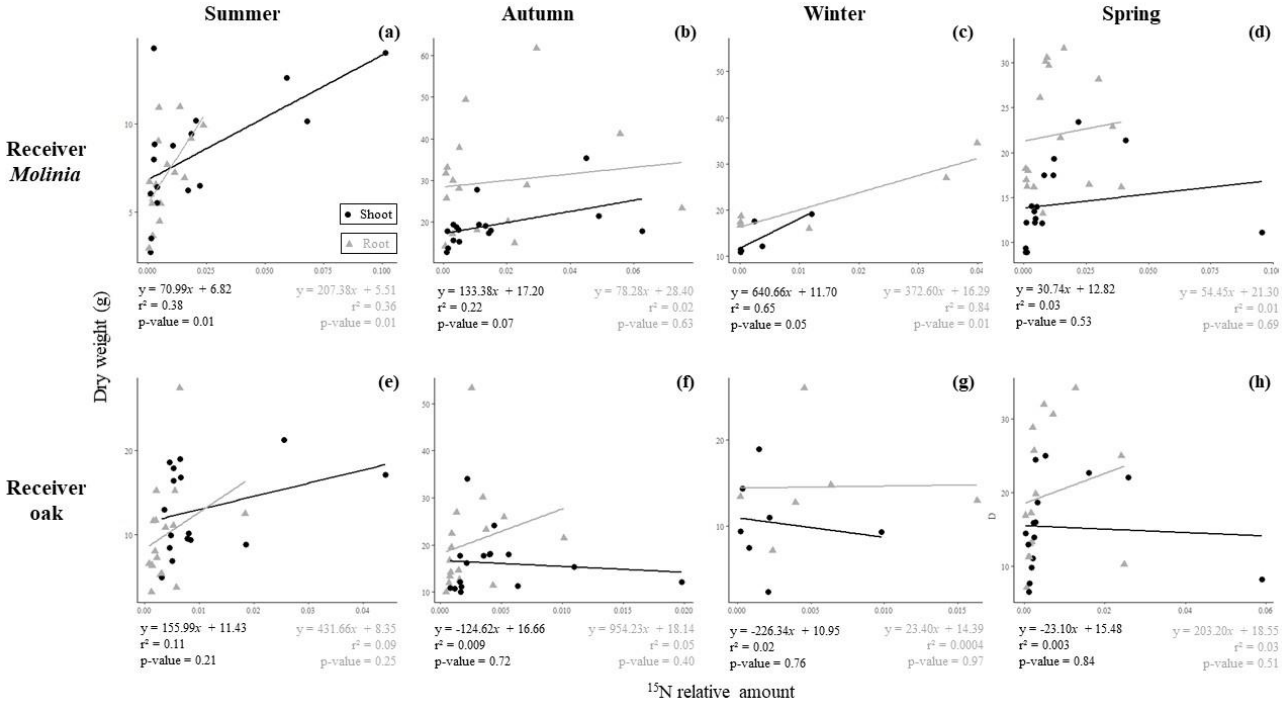


Figure 34. Correlation between dry weight and ^{15}N relative amount in receiver Molinia in summer (a), autumn (b), winter (c) and spring (d) and in receiver oak in summer (e), autumn (f), winter (g) and spring (h). Dark point and regression line represented shoot and grey triangle and regression line represented root. Equation line (y), r^2 and p-value are reported above each graph.

Our experiment clearly shows that a significant amount of ^{15}N was transferred from oak to *Molinia*, although the value was relatively modest (maximum 6.5% of the total ^{15}N found in all compartments). However, we used a pulse labelling technique (at a given limited time) so that we do not know what the contribution of oak N was to the nutrition of *Molinia* over the whole season with a permanent N flux. Previous reports on the contribution of N released by a donor to total N amount in a receiver species showed that N amount varies widely according to combination of species, species age and method used to estimate N transfer (Teste et al. 2015; Montesinos-Navarro et al. 2017). This contribution ranged from 5% (Frey and Schüepp 1993) to 80% in soybean-weed (Moyer-Henry et al. 2006). The cotton wick method was most often used on non-woody plants, but the technique can successfully work on tree seedlings as demonstrated in that study. Such transfer from plant to plant has been extensively described for

carbon (Simard and Perry 1997; Simard et al. 1997b; Klein 2016) but this is the first time to our knowledge that N transfer from a non-fixing nitrogen species to a graminoid has been demonstrated at the very early stage of development in oak. This underlines the importance of nutrient exchanges, such as that of nitrogen, occurring below ground. In the present study, N exchange seems to be from oak to *Molinia*, and for its benefit, but we did not evaluate the reverse flux.

What are the different possible pathways of N transfer between plants?

When plants were grown with a 1 µm mesh designed to stop roots and mycorrhizal hyphae, ^{15}N was found in receiver neighbor and soil, suggesting that a part of N transfer occurred as free molecules moving through the mesh (**Figure 33 and table S6**). Mesh30 was designed to allow mycorrhizal hyphae to cross the mesh, and a significant ^{15}N amount was found on the other side, at a level higher than in Mesh1, at least in autumn. This suggests that mycorrhizae might be one of the key players contributing N transfers in that study and in line with other studies (He et al. 2003, 2006, 2009; Govindarajulu et al. 2005; Jalonen et al. 2009). However, such conclusion needs to be strengthened through further experiments identifying and quantifying mycorrhizal network in both oak and *Molinia* roots.

Unexpectedly, ^{15}N was also found in the neighboring pot in the separate-pot treatment (sole-grown). ^{15}N amounts were significantly different from natural abundance in many cases (**Table S15**), despite a very low level (1% at most). In receiver oak, ^{15}N was firstly different from zero in shoots (summer), in roots (autumn) and then in soil (winter). In spring, ^{15}N were significantly different from zero in all compartments. This N flux suggests emission of volatile nitrogen compounds from donor oak and uptake by the neighbor, first in the aboveground part. Ability of plants to take up nitrogen by leaves is demonstrated in several studies (Wittwer and Teubner 1959; Eilers et al. 1992; Feng et al. 2015; Guo et al. 2017). After above-ground uptake, N may have been transferred to roots and translocated from roots to soil during dormancy. This spatial and temporal pathway from shoot to root, and then to soil, suggests that volatile ^{15}N was firstly absorbed by shoot and transferred to root in autumn and rhizodeposed in winter.

In *Molinia* sole-grown, ^{15}N amount was different from zero in each condition except in roots in summer ($p < 0.15$) and in soil in winter ($p < 0.095$), supporting the hypothesis of volatile nitrogen compounds. Emissions of volatile organic compounds by plants is known (Fehsenfeld et al. 1992; Guenther et al. 1995; Holzinger et al. 2000), but only a few studies have described emissions of volatile nitrogen compounds by above-ground organs (Tukey 1966). To our

knowledge it is not known whether volatile nitrogen transfer between plants occurs, or to what extent ^{15}N in receiver neighbors could derive from soil N volatilization. Belowground pathway remains, however, the major contribution to N transfer from oak to either oak or Molinia (**Table S17 – Ratio MG/SG**). Additionally, total ^{15}N amount in all pots decreased across seasons especially between August and October (June-August: −9%; August-October: −31%; October-February: −0.4%; February-May: −18%) supporting hypothesis of soil ^{15}N loss. Involvement of microbial communities in nitrogen transformation (Robertson and Groffman 2007; Hayatsu et al. 2008) can explain ^{15}N diminution across seasons. Although the impact of rhizodeposits on soil microorganisms has been well-studied in the past 20 years (Paterson et al. 2006; Wichern et al. 2008; Schenck Zu Schweinsberg-Mickan et al. 2012), it would be interesting to characterize more precisely (quantitatively and qualitatively) their role in rhizodeposition processes, according to species, and how it can impact on nutrient transfer (Gorka et al. 2019).

Perspectives

Our experiment clearly demonstrates N transfer from oak to *Molinia* from a qualitative viewpoint. However, pulse-chase labelling only enabled us to track the fate of ^{15}N supplied in summer. A continuous supply of ^{15}N throughout the experiment would have allowed quantification of the actual N amount effectively transferred from oak to *Molinia*. In the same line, compartmental modelling based on testing different pathways of N transfer may help identify and rank these fluxes. Our results also suggest that mycorrhizae may be key players in N transfer as previous studies mentioned it (Montesinos-Navarro et al. 2016, 2019b). Interference between oak and *Molinia* might result in quantitative and/or qualitative changes in mycorrhizal communities in both oak and/or *Molinia* roots. Investigating the magnitude and timing of these changes could help provide a better understanding of the mechanisms involved in N transfer. Some substances might be emitted by roots and/or shoots: such allelopathic substances have not been well-identified and their role in such interference barely studied. Applying exudates from *Molinia* roots around oak seedlings to monitor any changes in growth and functioning (such as mycorrhizal symbiosis) and then analyzing these exudates chemically may be helpful in identifying allelopathic substances.

4.2.2. Les transferts d'azote de la molinie vers le chêne

4.2.2.1. Biomasse des chênes et des molinies : effet antagoniste

En été, soit seulement 5 mois après l'installation du dispositif, les parties aériennes de la molinie ont une biomasse sèche plus importante lorsqu'elle est dans le même pot qu'un chêne (p = 0,03, **Figure 35**). En revanche, la biomasse du système racinaire de la molinie est marginalement plus faible en présence d'un chêne (p = 0,097). Dans le cas du chêne, sa croissance n'est pas significativement impactée par la présence de molinie mais elle est légèrement plus faible lorsque les deux espèces sont en contact au niveau racinaire.

Au printemps, après un an en pot, les différences de biomasses sèches entre les deux modalités sont beaucoup plus prononcées chez les deux espèces (**Figure 35**). Les parties aériennes de la molinie ont une biomasse supérieure en présence de chêne (p = 0,004). Contrairement aux résultats observés lors de la première récolte, la biomasse du système racinaire est marginalement plus importante en présence de chêne (p = 0,05). Les biomasses des parties aériennes et du système racinaire du chêne sont nettement supérieures lorsque qu'il est séparé de la molinie (p = 0,0002 et p = 0,005, respectivement).

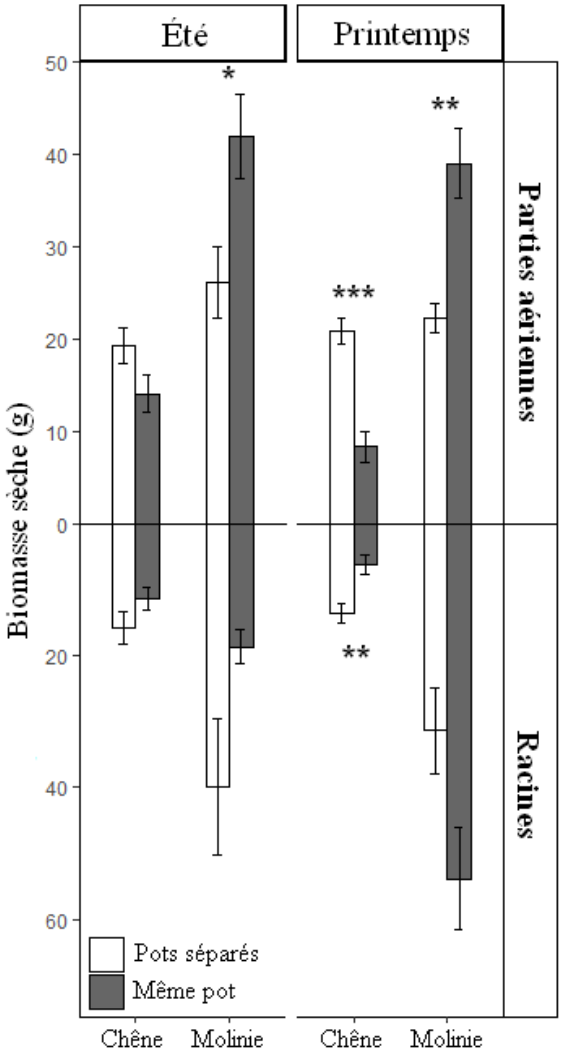


Figure 35. Biomasse sèche (g) des parties aériennes et racinaires des chênes et des molinies selon qu'ils soient en pots séparés (blanc) ou dans le même pot (noir), à chaque saison. Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6.

En comparant les biomasses entre l'été et le printemps, on observe que celles des parties aériennes des chênes placés dans les mêmes pots qu'une molinie ont diminuées (p = 0,05). Curieusement, les racines des chênes placés dans les mêmes pots qu'une molinie sont elles aussi plus faibles à la seconde récolte qu'à la première (p = 0,04). A l'inverse, la croissance racinaire de la molinie augmente fortement en présence de chêne entre la première et la deuxième récolte (p = 0,005).

4.2.2.2. La molinie transfère peu d'azote au chêne

Bien que la molinie ait un effet négatif sur la croissance du jeune chêne, nous avons quantifié les transferts d'azote de la molinie vers le chêne afin de déterminer l'implication de ces échanges dans la relation chêne-molinie.

De la même manière que dans la **partie 4.2.1**, le pourcentage de ^{15}N a été calculé dans les différents compartiments : les parties aériennes de la molinie sur lesquelles ont été installées le cotton-wick, son système racinaire, le sol de la molinie, le sol du chêne (même compartiment sol dans la modalité « même pot »), le système racinaire du chêne et ses parties aériennes. La quantité relative de ^{15}N est toujours très faible dans le sol et les organes des chênes. Dans les parties aériennes et les racines du chêne, la quantité de ^{15}N est équivalente en présence et en absence de contact racinaire avec la molinie, en été et au printemps (**Figure 36 G, H, I et J**). La quantité de ^{15}N dans les parties aériennes et les racines de la molinie est équivalente en présence et en absence de chêne au printemps (**Figure 36 B et D**). En revanche, en été, la quantité relative de ^{15}N dans les racines de la molinie est moins importante lorsqu'elle est placée dans le même pot qu'un chêne (**Figure 36 C,** $p = 0{,}02$). En contrepartie, la quantité relative de ^{15}N est marginalement plus importante dans les parties aériennes en présence de chêne ($p = 0{,}09$). La quantité relative de ^{15}N dans le sol est équivalente entre les deux modalités, excepté pour le chêne en pot séparé de la molinie où la quantité est considérablement plus faible.

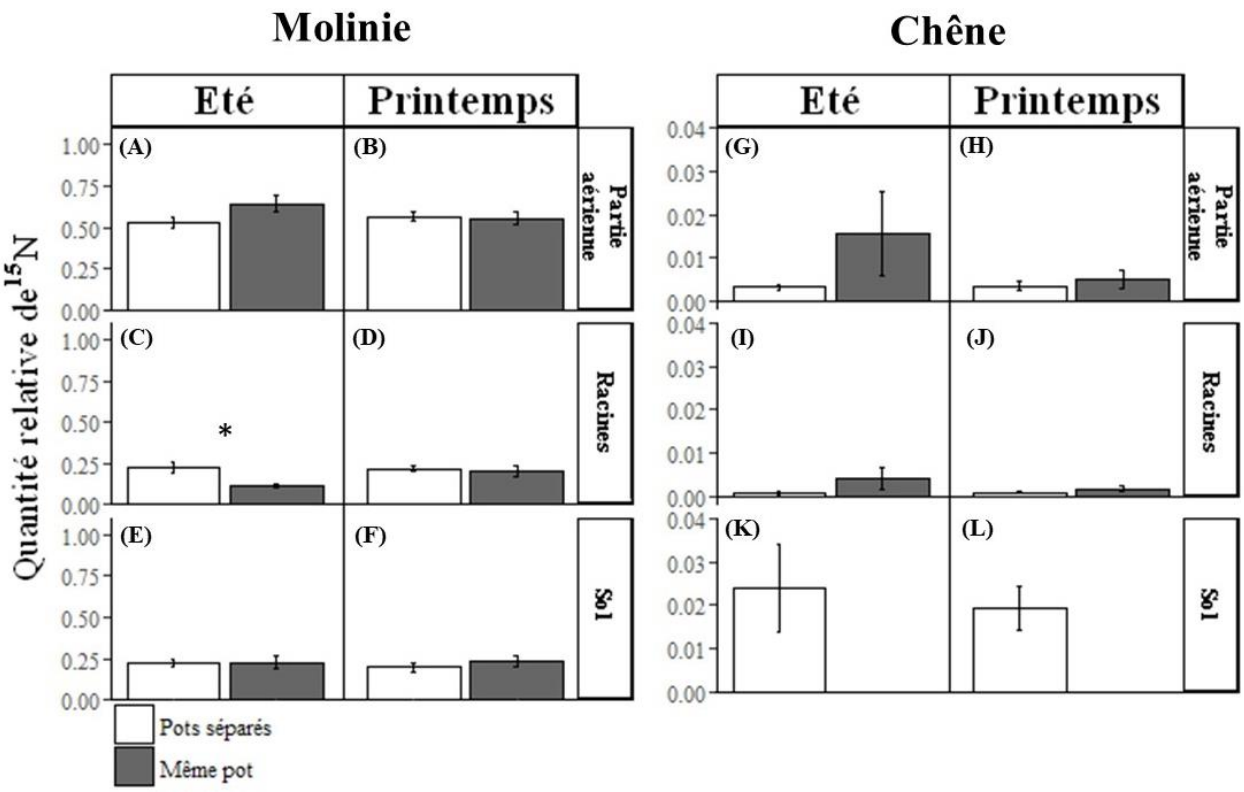


Figure 36. Quantité relative de ^{15}N dans les parties aériennes, les racines et le sol des molinies donneuses et des chênes receveurs en fonction de la modalité et des saisons. L'échelle des ordonnées a été adapté à l'espèce. Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6.

Les contacts racinaires avec le chêne n'ont eu aucun effet sur la quantité relative de ^{15}N dans le sol, ce qui suggère que le chêne n'impacte pas l'activité de rhizodéposition de la molinie et ne favorise pas les transferts d'azote. Les transferts d'azote de la molinie vers le chêne sont donc très faibles et n'ont aucun effet positif sur la croissance du chêne. Pour chacune des modalités et des saisons, le pourcentage de ^{15}N dans les compartiments du système est présenté en **Figure 37**. Ils mettent clairement en évidence que le transfert d'azote de la molinie vers le chêne est très faible, et qu'il ne dépend pas des contacts racinaires. Ils montrent aussi que, contrairement au chêne, la quantité de ^{15}N dans la molinie ne varie pas en présence d'un voisin hétérospécifique.

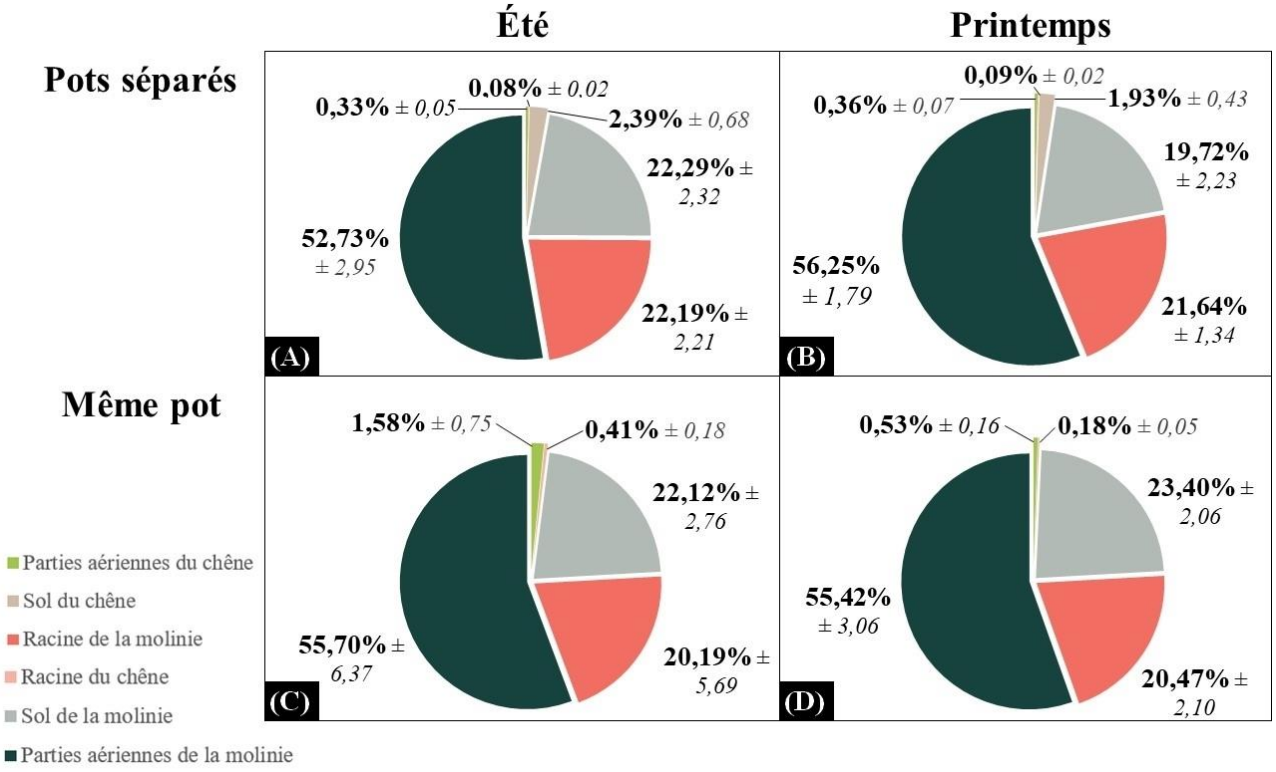


Figure 37. Pourcentage de ^{15}N (moyenne ± SE) dans les différents compartiments de la molinie donneuse et du chêne receveur, selon qu'ils soient en pots séparés ou dans un même pot, pour chaque saison.

4.2.2.3. Les teneurs en azote du chêne et de la molinie varient en fonction de la présence d'un voisin

Afin de mieux comprendre l'effet inhibiteur de la molinie sur le chêne, nous avons étudié les teneurs en azote dans les parties aériennes et les racines des deux espèces en pots séparés et dans le même pot, pour chaque saison (**Figure 38**).

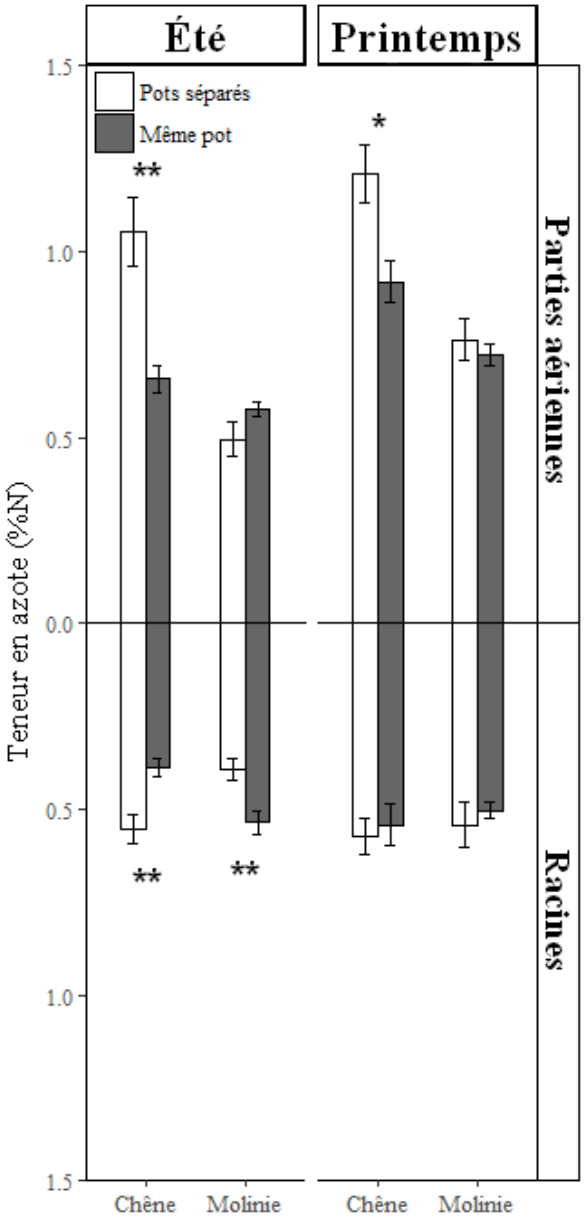


Figure 38. Teneur en azote (%) des parties aériennes et racinaires des chênes et des molinies selon qu'ils soient en pots séparés (blanc) ou dans le même pot (noir). Les valeurs représentent les moyennes ± SE, n = 6.

Contrairement à la quantité relative de ^{15}N, la teneur en azote des racines de la molinie est plus importante en présence d'un chêne en été. La molinie alloue moins de ^{15}N vers son système racinaire en été en présence d'un chêne mais la teneur en azote de cet organe est plus importante qu'en absence de chêne. Ceci corrobore l'hypothèse selon laquelle les transferts d'azote du chêne vers la molinie permettent à celle-ci d'allouer préférentiellement de la

biomasse vers ses parties aériennes plutôt que vers son système racinaire. Dans les parties aériennes et au printemps, la teneur en azote de la molinie ne semble pas dépendre de la présence du chêne. En revanche, les organes du chêne ont une teneur en azote significativement plus faible en présence de molinie, excepté pour les racines au printemps.

4.2.3. Éléments généraux de discussion

Les résultats observés sur la dynamique de croissance et la biomasse de la molinie corroborent ceux obtenus précédemment : la présence de chêne favorise la molinie (Vernay et al. 2018a). Dans l'expérimentation sur les transferts d'azote de la molinie vers le chêne, nous observons une diminution de la biomasse du chêne en présence de molinie. Les travaux de Vernay (2017) avaient aussi mis en évidence l'effet dépressif des graminées pérennes sur la croissance de jeunes chênes sessiles. De plus, en présence de molinie, les parties aériennes du chêne sont plus faibles au printemps qu'à l'été. N'ayant pas séparé les feuilles des tiges à la pesée, il est possible que ceci s'explique par un feuillage moins développé au printemps qu'à l'été, dû à la présence de molinie. Vernay et al. (2018b) ont d'ailleurs mis en évidence que *D. cespitosa* affectait la biomasse foliaire du chêne mais pas celle des tiges. Cette observation étant aussi faite sur le système racinaire, nous pouvons supposer que la molinie accroît le processus de sénescence racinaire chez le chêne durant la période de dormance et inhibe son développement total pendant la période de croissance. La croissance des parties aériennes de la molinie ne varie pas entre l'été et le printemps en présence de chêne, mais la biomasse de son système racinaire augmente de manière importante. Ceci a également été observé lors de l'expérimentation sur les transferts d'azote du chêne vers la molinie. Une hypothèse est que le chêne pourrait avoir un rôle de fertilisant en fournissant rapidement de l'azote à la molinie. Ce transfert d'azote permet à la molinie d'allouer préférentiellement de la biomasse vers ses parties aériennes plutôt que vers son système racinaire qui a alors moins besoin de prospecter le sol pour l'acquisition des ressources. En contrepartie, l'effet négatif de la molinie sur le chêne entraîne chez lui une diminution de son potentiel « fertilisant ». Ceci oblige la molinie à accroître son système racinaire pour prospecter un plus grand volume de sol afin d'acquérir des ressources, d'autant plus que ses parties aériennes restent plus développées.

Concernant les transferts d'azote, on observe un flux bidirectionnel asymétrique : le chêne transfère beaucoup plus d'azote à la molinie qu'elle ne lui en transfère. La quantité de ^{15}N dans le chêne receveur à côté d'une molinie donneuse est similaire en présence et en absence de la graminée, quelle que soit la saison et l'organe. L'abondance isotopique (^{15}N) du

chêne est significativement plus importante que l'abondance naturelle, y compris en pots séparés. Ceci suggère que la molinie, comme le chêne, transfère de l'azote par des composés organiques volatils. En présence de chêne, la molinie alloue moins de ^{15}N vers son système racinaire lors des premiers mois d'interaction. Ceci corrobore les résultats de biomasse : lors des premiers mois d'interaction avec un chêne, la molinie favorise le développement de ses parties aériennes tandis que son système racinaire est équivalent à celui des molinies en pots séparés. L'année suivante, les parties aériennes de la molinie conservent une croissance supérieure en présence de chêne mais le système racinaire croît de manière plus importante que l'année précédente, tendant ainsi à avoir une biomasse supérieure qu'en absence de chêne.

La molinie inhibe la croissance du chêne ainsi que sa teneur en azote, mais les mécanismes et facteurs impliqués ne sont pas totalement connus. Dans les deux chapitres suivants, deux pistes possibles seront explorées pour mieux comprendre comment la molinie affaiblit le jeune chêne : (i) l'effet de la molinie sur la mycorhization du chêne et (ii) l'effet allélopathique de la molinie sur la croissance du chêne.

2080

Chapitre V. La molinie réduit le taux d'ectomycorhization du chêne

L'hypothèse principale était que la molinie avait tendance à diminuer la mycorhization du chêne pouvant expliquer un ralentissement de sa croissance ainsi qu'une réduction de sa teneur en azote. Nous avons donc calculé le taux d'ectomycorhization du chêne seul ou en présence de molinie, ainsi que le taux de racines latérales par échantillons. Nous avons ensuite analysé les teneurs en azote de ces chênes (5.1). Enfin, nous avons, de manière exploratoire, observé les endomycorhizes de la molinie en présence et en absence de chêne (5.2).

5.1. *Molinia caerulea* reduced *Quercus petraea* seedling growth by depleting oak mycorrhizae

Résumé

Message clé La molinie affecte la croissance du chêne par son effet négatif sur la performance des racines, mais elle cible également le taux d'ectomycorhizes. Ceci entraine une diminution de quantité de la teneur en azote.

Contexte La régénération de *Quercus petraea* est compromise par *Molinia caerulea*, une graminée pérenne compétitive bien connue, mais les mécanismes spécifiques impliqués dans les interactions souterraines ne sont pas totalement identifiés.

Objectif Des plants de chêne et des touffes de molinie ont été plantés en pots séparés ou dans un même pot, et récoltés un an après la plantation. La biomasse, la teneur en azote, le taux de racines latérales et le taux d'ectomycorhization du chêne ont été analysé.

Résultats La biomasse sèche du chêne était plus faible en présence de molinie. Dans le même temps, le taux de racines latérales et le taux d'ectomycorhization du chêne a aussi diminué en présence de molinie. Une réduction de la teneur en azote et de la quantité d'azote a également était mesurée chez ses chênes, par rapport aux chênes qui étaient seuls en pot.

Conclusion La molinie cible spécifiquement le développement des racines latérales du chêne ainsi que le taux d'ectomycorhizes, induisant une diminution de la teneur en azote et de la croissance du chêne.

SOUMIS DANS *ANNALS OF FOREST SCIENCE* le 04/10/2019

Abstract

Key message *Molinia* affects oak growth through negative effect on root performance but also targets ectomycorrhizal rate which correlates with decrease in N amount and content.

Context *Quercus petraea* regeneration is jeopardized by *Molinia caerulea*, a well-known competitive perennial grass, whereas specific mechanisms involved in belowground interactions have not been identified so far.

Aim Objective was to examine effect of *Molinia* on number of lateral root and ectomycorrhizal rate of oak seedling as well as consequences on nitrogen nutrition in oak.

Methods Oak seedlings and *Molinia* tufts were planted together or separately in pots and harvested one year after planting. Biomass, N content in shoot and root in oak and *Molinia* as well as rate of lateral root and ectomycorrhizal root in oak were determined.

Results Biomass in both oak shoot and root was reduced in the presence of *Molinia*. This correlates with decrease in number of oak lateral root and ectomycorrhizal rate. A reduction in N content and N amount was also measured in mixed-grown oak.

Conclusion *Molinia* specifically targets oak lateral root number and ectomycorrhizal rate, which affect oak performance.

Introduction

Competition from common perennial grasses has long been known to restrict tree seedlings growth and survival during regeneration, whether natural or artificial (*i.e.* plantation) (Davis et al. 1998). Grass species can rapidly colonize large volumes of soil with their fast-growing fasciculate root systems (Freschet et al. 2017) and their efficient nutrient uptake (Coll et al. 2004; Picon-Cochard et al. 2006). Colonization by grasses depletes resources in forest soil, a process termed competition by resource exploitation (Bleasdale 1960). Competition for soil resources such as water and inorganic nitrogen can stunt tree seedling growth and increase mortality rate (Gordon et al. 1989; Coll et al. 2003; Balandier et al. 2006a), thus jeopardizing forest regeneration.

Competition detrimental to tree seedlings can also use interference, where access to a resource is limited by restricting the abilities of neighboring species to utilize it, but without modifying resource availability (Holdridge et al. 2016). Tree root systems are found to be smaller when their seedlings are grown in the presence of graminoids (Harmer and Robertson 2003; Collet et al. 2006). Furthermore, allelochemicals exuded by plants can also cause growth inhibition to neighbor. Such negative effects of grass on tree seedling root systems can affect water and nutrient uptake ability, as in oak seedlings showing a decreased nitrogen (N) content when grown with annual and perennial grasses like *Stipa pulchra*, *Avena barbata* or *Deschampsia Cespitosa* (Welker et al. 1991; Cheng and Bledsoe 2004; Vernay et al. 2018a, b).

Belowground competition by interference can also involve alterations of interactions with organisms associated with tree seedling roots, such as symbiotic fungi. Many studies have demonstrated that mycorrhizal symbiosis favors tree seedling establishment, growth and productivity (Lu et al. 1998; Simard and Durall 2004; Javaid 2007; Richard et al. 2009; van der Heijden and Horton 2009; Walker and Mallik 2009; Bonfante and Genre 2010). The role of mycorrhizae in nitrogen uptake by tree seedlings is well-researched at physiological and molecular levels (Chalot and Brun 1998; Govindarajulu et al. 2005; Chalot and Plassard 2011), and in natural ecosystems (*e.g.* low anthropizes forest), mycorrhizae can provide up to 80% of tree seedling nitrogen requirements (van der Heijden et al. 2008). This is particularly important in boreal forests where soil N availability is a major factor limiting plant growth (Hawkins et al. 2015). In this context, many studies have demonstrated that grass can have an inhibitory effect on mycorrhizal growth and association with tree seedlings, particularly for conifer species (Handley 1963; Robinson 1972; Inderjit and Mallik 1999, 2002; Inderjit and Callaway 2003; Mallik 2003; Mallik et al. 2016). For example, Nilsson et al. (1993) showed that interference by *Empetrum hermaphroditum* inhibited root system growth, mycorrhizal fungus mycelium diameter (*Paxillus involutus*) and N uptake of *Pinus sylvestris*, but the substances and targets involved in this interaction are not known.

To our knowledge, in the specific context of oak/*Molinia caerulea* interactions during regeneration, only Timbal et al. (1990) have analyzed the effect of *Molinia* on oak mycorrhizae (in red oak, *Quercus rubra*). They demonstrated that neighboring *Molinia* reduced red oak growth 3- to 5-fold compared to sole-grown oak seedlings, and found a modification of mycorrhizal biodiversity: biomass and / or numbers of efficient fungi (*i.e.* those involved in higher nutrient uptake ability) such as *Laccaria* sp. fell, while less efficient fungi such as *Cenococcum* became more abundant. Mechanisms of competition by interference between oak

and *Molinia* have been less thoroughly studied than those between grass and conifer seedlings, especially at mycorrhizal level. Eventually, recent studies showed that sessile oak (*Q. petraea*) improved *Deschampsia cespitosa* growth, suggesting an antagonistic facilitation: reduced oak growth concomitant with improved grass development (Vernay et al. 2018b).

We investigated the interactions between *Molinia caerulea* and *Quercus petraea*. *Molinia* is a grass with one of the strongest soil nitrogen uptake abilities (Heil and Bruggink 1987; Aerts and Berendse 1988; Persson and Nasholm 2001; Vernay 2017). Sessile oak is a common species widespread in temperate forests and is economically important. We sought to determine whether competition between oak seedlings and *Molinia* involved not only exploitation of resources such as nitrogen, but also interference mechanisms affecting oak root system size and reducing mycorrhizal colonization of oak. We specifically hypothesized that (i) *Molinia* has a detrimental effect on the number of oak seedling lateral roots, and (ii) depresses mycorrhizal colonization, resulting in (iii) a decrease in N uptake ability.

Materials and methods

Plant material and experimental design

The experiment was conducted in pots under outdoor conditions in Clermont-Ferrand (Auvergne, France, 45°45’N 3°07’E, altitude 394 m *a.s.l)* from April 2018 to May 2019 (T_{mean} = 12.9 °C, rainfall = 546 mm). An experiment in pots rather than natural conditions was chosen to avoid confounding effects such as water supply. Twelve one-year-old bare-root oak seedlings (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and 12 *M. caerulea* grass tufts were planted in plastic pots, separately or together. Oak seedlings were sourced from a local nursery. They weighed 32 ± 8.2 g (mean ± SE) (fresh), and were 52 ± 5.8 cm in height, and 6.8 ± 0.9 mm in diameter. *Molinia caerulea* (fresh weight 2.2 ± 0.9 g) was collected in a local forest at Paray-le-Frésil (Auvergne, France; 46°39’N 3°36’E). A total of six 10 L pots and twelve 5 L pots were filled with soil (typical luvisol-redoxisol pseudogley, sandy loam) collected in the same forest as the *Molinia*. Natural forest soil was used to preserve natural mycorrhizal composition. Two treatments based on root system separation or interaction were set up: (i) two separate 5 L pots containing either one oak or one *Molinia* tuft were placed side-by-side, precluding all root interactions (“sole-grown”) and (ii) one oak and one *Molinia* tuft were placed in the same 10 L pot to allow full belowground interactions through root and hyphae contacts (“mixed-grown”). Each treatment was replicated six times with a random spatial pot arrangement. To avoid interaction with water availability, pots were irrigated to field capacity throughout the

experiment. To ensure the correct water amount was delivered, soil water content was continuously measured with TDR probes. No fertilizer of any kind was added to the pots during the experiment.

Plant harvesting, lateral roots and mycorrhizal count

Plants were harvested in May 2019, after 14 months in pots to allow full mycorrhizal root colonization by fungi and also interactions between plants. Shoots (stem + leaves together) and roots were collected for both species. They were then dried at 60 °C for 48 h and to measure dry biomass.

For each pot, a tenth of the oak root system was stored in storage plastic bags at −20 °C for subsequent observation of lateral root and occurrence of ectomycorrhizae. For each treatment, 12 microscope slides were prepared, each slide harboring ten 1-cm fragments of fine roots (diameter < 2 mm) placed with water under a coverslip, and observations were carried with a binocular loupe and Leica LAS Core® software with x 40 magnification. For each fine root fragment, the number of fine lateral roots and the number of mycorrhizal root tips were counted. Fungal species were not identified, but root tips were considered mycorrhizal based on the distinctive presence of a hyphal sheath (the mantle) surrounded with extramatrical hyphae (**Photo 6**, ectomycorrhizas are surrounded in green). Rate of ectomycorrhization was then calculed as the number of ectomycorrhizal root tips / total number of root tips.

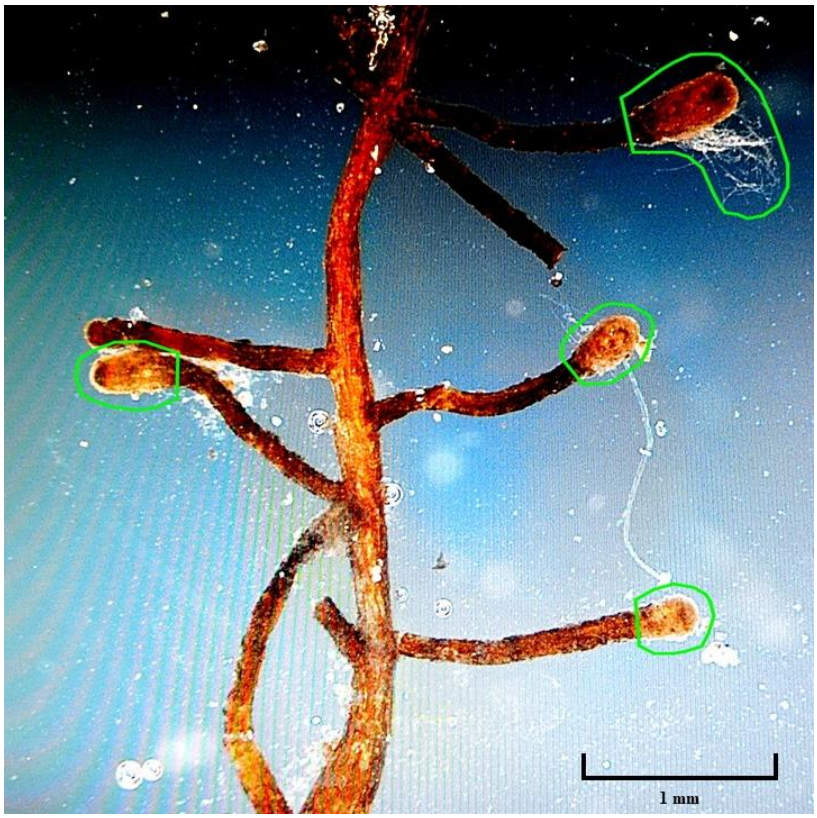


Photo 6. Microscope observation (x400) of oak ectomycorrhizas (surrounded in green).

Plant N content

After drying at 60 °C for at least 48 h, shoots and roots were weighed and ground to a fine powder. Total N content (% dry weight) and N amount (mass) were then determined with an elemental analyzer (vario ISOTOPE cube, Elementar, Hanau, Germany) in line with a gas isotope ratio mass spectrometer (IsoPrime 100, Isoprime Ltd, Cheadle, UK) at the Silvatech platform, INRA Nancy-Lorraine.

Total N amount (mg) was calculated as follows:

$$N_{\text{tot}} = \frac{\%N_{\text{total}} \times DW}{100}$$

where $\%N_{\text{total}}$ is N content (% *DW*) and *DW* is dry weight (g).

Statistics

Statistical analysis was performed using R software (R studio, Version 1.0.153). Data are means of n = 6 biological replicates (± SE) for dry weight, and n = 120 for lateral root tips and ectomycorrhizal root tip counts. All variables were tested for normality and

homoscedasticity, using the Shapiro-Wilk and Levene tests. Data were analyzed using Student's *t*-test for comparison of means.

Results

Total oak dry weight increased by 2.19-fold from April 2018 to May 2019 for sole-grown, compared with only 0.33-fold for mixed-grown with *Molinia*. When oak was mixed-grown with *Molinia* for one year, its dry weight was significantly lower than when sole-grown (**Figure 39**). Both hoot and root biomass were strongly reduced by the presence of *Molinia* ($p = 0.0005$ and $p = 0.011$, respectively, reduction factor > 2). Whether sole-grown or grown in mix, *Molinia* grew much faster than oak: between April 2018 and May 2019 *Molinia* dry weight increased more than 150-fold when sole-grown, compared with more than 260-fold when mixed-grown with oak. Conversely to oak, *Molinia* exhibited a higher dry weight in the presence of oak than when sole-grown for both shoot and root ($p = 0.0045$ and $p = 0.052$, respectively, increase factor = 1.73, **Figure 39**).

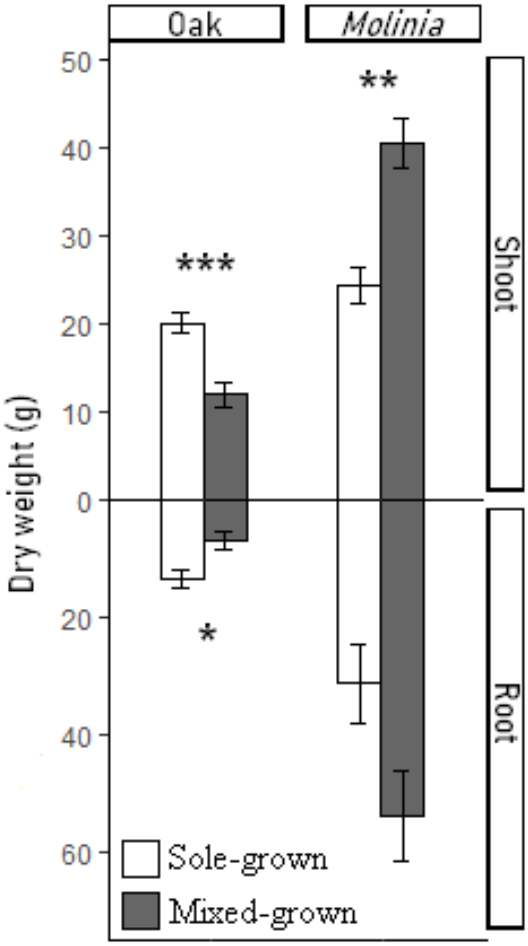


Figure 39. Dry weight of oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, **, * correspond to p < 0.05, 0.01 and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.**

Sole-grown oak roots displayed a total number of 16.69 fine lateral roots.cm^{-1} (**Figure 40**), with an average of 6.58 ectomycorrhizal root tips.cm^{-1} (**Figure 40**), thus about 40 % of root tips having formed ectomycorrhizal association. When grown with *Molinia*, both the numbers of fine lateral roots (11.21.cm^{-1}) and of ectomycorrhizal root tips (2.78.cm^{-1}) where markedly reduced ($p < 10^{-4}$ for both root tips and ectomycorrhizal root tips), leading to a 2.37-fold decrease of oak ectomycorrhization rate.

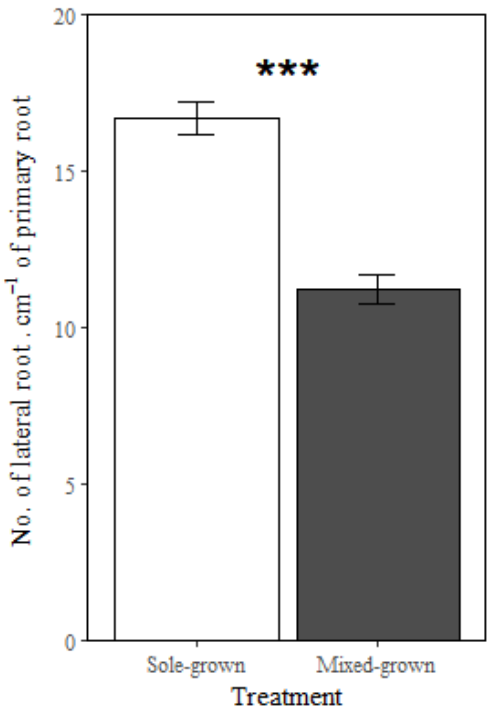


Figure 40. Number of lateral root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. * correspond to p < 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 120.**

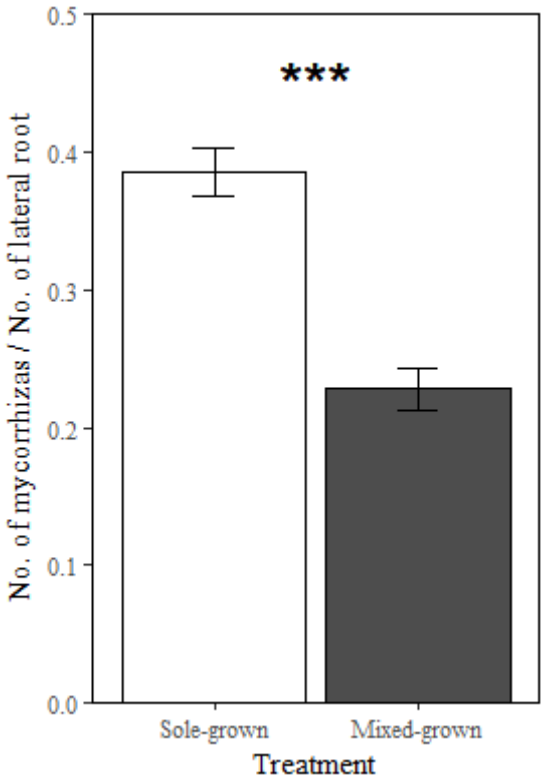


Figure 41. Ratio number of mycorrhizas:number of lateral root (b) when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. * correspond to p < 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 120.**

N amount in oak was significantly lower when mixed-grown with *Molinia* (**Figure 43**), in both shoots (p = 0.0001) and roots (p = 0.008). This resulted not only from the decrease in oak biomass when mixed-grown, but also from a decrease in N content in oak shoots in the presence of *Molinia* (p = 0.014), Mean value in N content is below 1% dry weight into mixed-grown oak shoot (**Figure 42**). Conversely to observations on shoot, oak root N content was not changed by the presence of *Molinia* (0,57% and 0,54% in the absence and in the presence of *Molinia* respectively, p = 0.69).

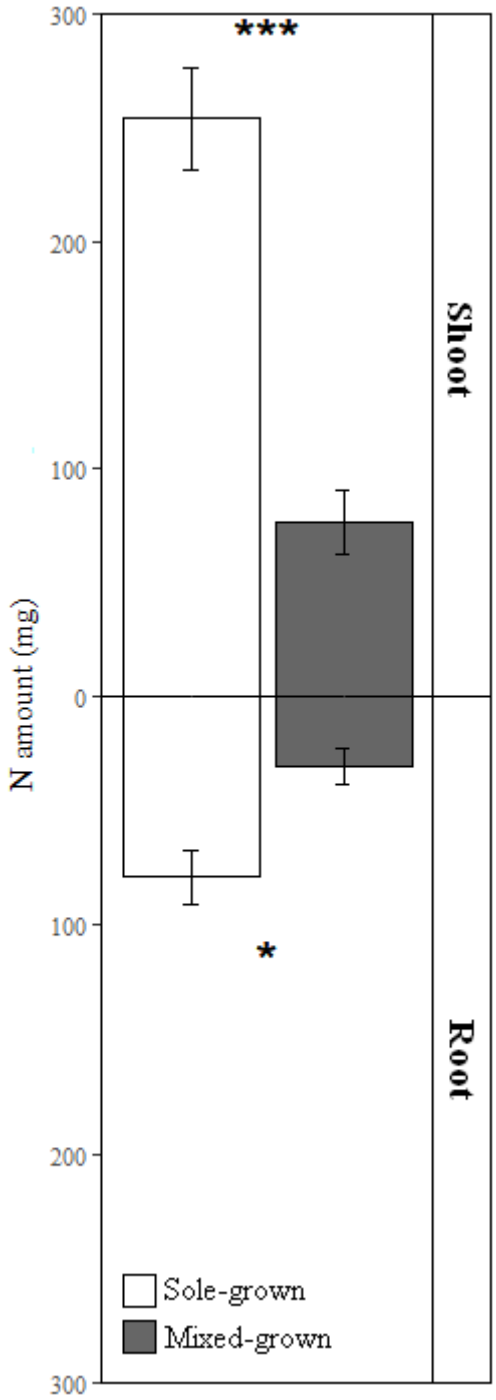


Figure 42. Nitrogen amount in oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, * correspond to $p < 0.05$, and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.**

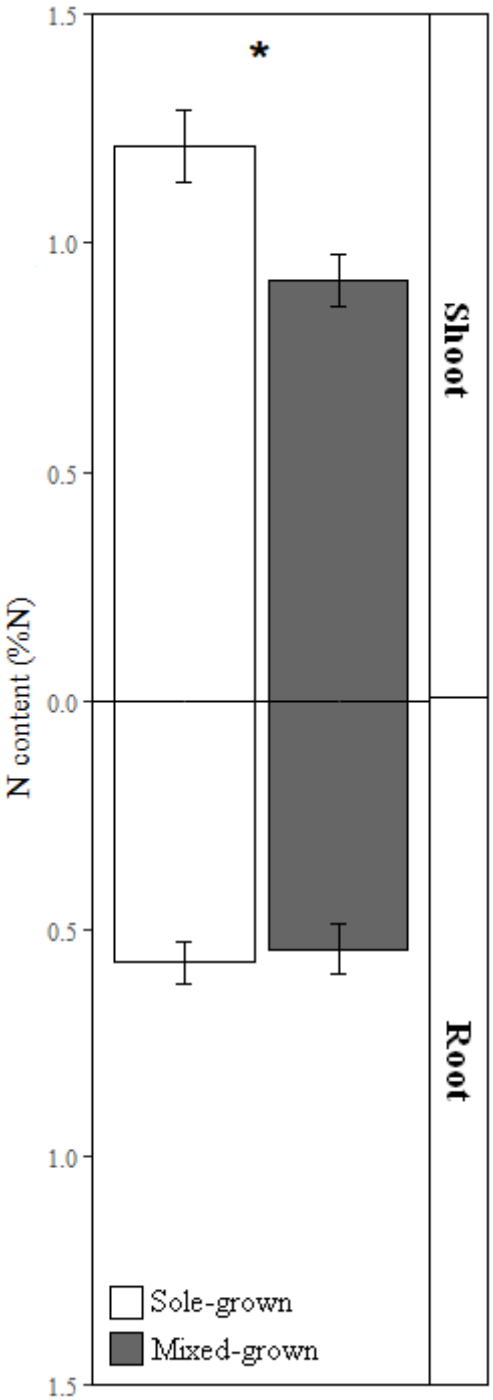


Figure 43. Nitrogen content in oak and Molinia shoot and root when sole-grown (white) or mixed-grown (gray). Values are reported as means ± SE. *, * correspond to p < 0.05, and 0.001, respectively, after Student's t-test for each organ, n = 6.**

Discussion

Molinia competition impairs oak root abilities to forage for N

The presence of *Molinia* in the same pot as oak seedlings resulted in reduced growth of oak compared to when each was sole-grown, as shown by a lower biomass production. Oak root branching (number of lateral fine roots/fine root length) and rate of ectomycorrhization both lowered when mixed-grown with *Molinia*. These results are consistent with those of other studies reporting the negative effect of grass species on number of lateral roots, leading to decreased tree seedling growth (Schroth 1999; Harmer and Robertson 2003; Schaller et al. 2003; Collet et al. 2006). Root foraging ability associated with root system architecture, and particularly branching, plays a critical role in nutrient uptake, particularly of nitrogen and phosphorus (Bar-Tal et al. 1997; Postma et al. 2014; Shahzad and Amtmann 2017; Duque and Villordon 2019). Profuse branching of root systems increases both soil exchange surfaces and the volume of soil that can be explored (Fitter et al. 1991). Some studies have demonstrated that a localized supply of nutrient increases lateral root density and elongation only where the nutrient levels are high (Hackett 1972; Drew and Saker 1975; Granato and Raper 1989; Hodge 2004). A homogenous nutrient deficiency can stimulate lateral root formation to increase soil exploitation (Shahzad and Amtmann 2017). Conversely, others have observed an inhibitory effect of high nutrient concentration on root growth (Zhang and Forde 1998; Zhang et al. 1999; Linkohr et al. 2002; Celis-Arámburo et al. 2011; Gruber et al. 2013). In our experiment, nitrogen availability seemed not to be a factor in lateral root inhibition, as soil N amount and content were similar in soil for mixed-grown and sole-grown (data not shown). Numerous factors have been identified as inhibitors of lateral root formation and growth, including phytohormones (Fukaki and Tasaka 2009; Shkolnik-Inbar and Bar-Zvi 2010; Lewis et al. 2011). In the specific context of a mixed-grown treatment, shoot and root extracts of some species, generally grass and crops, can have an allelopathic effect on lateral root formation and length in neighbors (Horsley 1977; Pardales et al. 1992; Chon et al. 2002; Amoo et al. 2008; Hossain et al. 2016). Ahmed et al. (2007) reported that this inhibitory effect was much more pronounced in root and lateral root development than for shoot or seed germination. This suggests that inhibition of oak root system formation and development by *Molinia* plays a key role in the interaction between the two species.

Molinia depletes oak root ectomycorrhization

Molinia also acted on ectomycorrhizal association with oak roots, reducing the rate of association with ectomycorrhizal fungi, possibly with allelochemical exudation by *Molinia* roots. Taxonomic identity of ectomycorrhizal fungi associated with the oak roots was not recorded here, thus providing no data on the effect of *Molinia* on ectomycorrhizal biodiversity. Yet, unlike Timbal et al. (1990) who recorded a change in ectomycorrhizal species distribution but no change in their total numbers, in the present study the number of ectomycorrhizal root tips was depleted (e.g. 2.37-fold) in the presence of *Molinia*. Concerning mechanisms that can inhibit mycorrhizal colonization, numerous studies focused on vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis (Abbott and Gazey 1994; Koide and Schreiner 2003; Garg and Chandel 2010). As for lateral root initiation and development, edaphic factors can inhibit root association with ectomycorrhizal fungi, such as phosphorus enrichment, low soil temperature, or phytohormones. (Graham et al. 1982; El Ghachtouli et al. 1996; Javaid 2008; Kobae et al. 2016). Allelochemical exudation may also be involved in the inhibition of both endomycorrhizae and ectomycorrhizae, but a few studies have addressed that mechanism. Most have tested allelopathy using leaf extracts at different concentrations (Olsen et al. 1971; Nilsson 1994; Javaid 2007, 2008). In this line, Nilsson et al. (1993) suggest that a decrease in ectomycorrhizal symbiosis of *P. sylvestris* seedlings was probably due to a direct negative effect of *E. hermaphroditum* on hyphal diameter. Pellissier (1994) identified phenolic allelochemicals in forest floor humus involved in conifers (*Picea abies* and *Picea mariana*) regeneration failure. These substances are known to directly reduce root growth and ectomycorrhizal formation (Mallik 1987, 1998, 2003; Zhu and Mallik 1994; Inderjit and Mallik 1996).

An allelopathic activity of *M. caerulea* has been suggested in a few studies (Becker and Lévy 1982; Timbal et al. 1990), but no allelopathic substances have been clearly identified yet. This topic would deserve further investigation, as *Molinia* roots and shoots might contain phenolic compounds that are exuded in soil, with possible inhibitory effects on lateral root initiation, mycorrhizal symbiosis or directly on fungi hyphae development.

N allocation strategy

N amount in oak was lower in both roots and shoots when it was mixed-grown with *Molinia*, measured as dry weight. Along with a decrease in shoot dry weight, the significantly lower N content in oak shoot for mixed-grown, strongly suggests a reduced ability to take up soil N, associated with the decrease in lateral roots and mycorrhizae as discussed above. In sole-

grown treatment, mean N content in oak was 1.21 ± 0.08%, in line with previous findings (Espelta et al. 2005), but when oak was mixed-grown with *Molinia*, mean N content was only 0.92 ± 0.05% (Bonneau 1988).

Interestingly, N content in oak roots was similar in the two treatments, although dry weight was lower when mixed-grown (**Figure 42**). These results are consistent with previous findings highlighting a modification of N allocation in forest tree seedlings in the presence of grasses (Welker et al. 1991; Coll et al. 2004). N allocation to roots did not corroborate with investment in lateral root development, prospection and resource capture, so it strongly suggests a strategy for N storage (*i.e.* conservative). Vernay et al. (2018b) also described modification of N allocation in oak seedling in the presence of *D. cespitosa*, whereas fine root dry weight was constant. This confirms a different conservative strategy of N economy due to the perturbation caused by neighboring grass.

Antagonistic facilitation of Molinia by oak

Added to the strongly inhibitory effect of *Molinia* on oak lateral root formation, ectomycorrhizal levels and shoot N content, we observed a higher biomass production of *Molinia* in the presence of oak. This finding is consistent with previous results demonstrating facilitative effects of oak seedlings on *Deschampsia cespitosa* (Vernay et al. 2018b) and N transfer from oak to grass (Fernandez et al., 2019). Interactions between these two species constitute a double jeopardy for oak, which is stunted by *Molinia*, and also has been shown here to facilitate *Molinia* growth.

To go further

Our experiment needs to be replicated *in situ*, as growth in pots can modify root architecture compared with naturally regenerated oak seedlings (Tsakaldimi et al. 2009), and impacts on mycorrhizal rate could be amplified due to reduced space in the pot. The role of soil bacteria modeling N provision in the rhizosphere could be studied to gain a better understanding of the mechanisms by which lateral root formation and mycorrhizae are inhibited.

Furthermore, studies describe a common mycorrhizal network between inter- or intraspecific individuals that enhances transfer of allelochemicals (Barto et al. 2011). Oak can be colonized by vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizae and share ectomycorrhizae with herbs (Dickie 2001; Dickie et al. 2004), so a joint identification of mycorrhizae colonizing oak and *Molinia* would be useful to identify possible shared mycorrhizal partners (Selosse et al. 2006).

We also need to study the impact of *Molinia* on oak mycorrhizal species distribution and involvement in decreased N uptake. To our knowledge, phenolic compounds present in *Molinia* root exudates have not yet been identified, but our findings suggest a strong allelopathic effect of grass on oak seedlings.

5.2. Résultats préliminaires : effet du chêne sur les endomycorhizes de molinie

Contrairement à nos observations préliminaires sur le chêne, la molinie présente des endomycorhizes arbusculaires à vésicules (**Photo 7,** grossissement x 400 au microscope optique Leitz Laborlux K®).

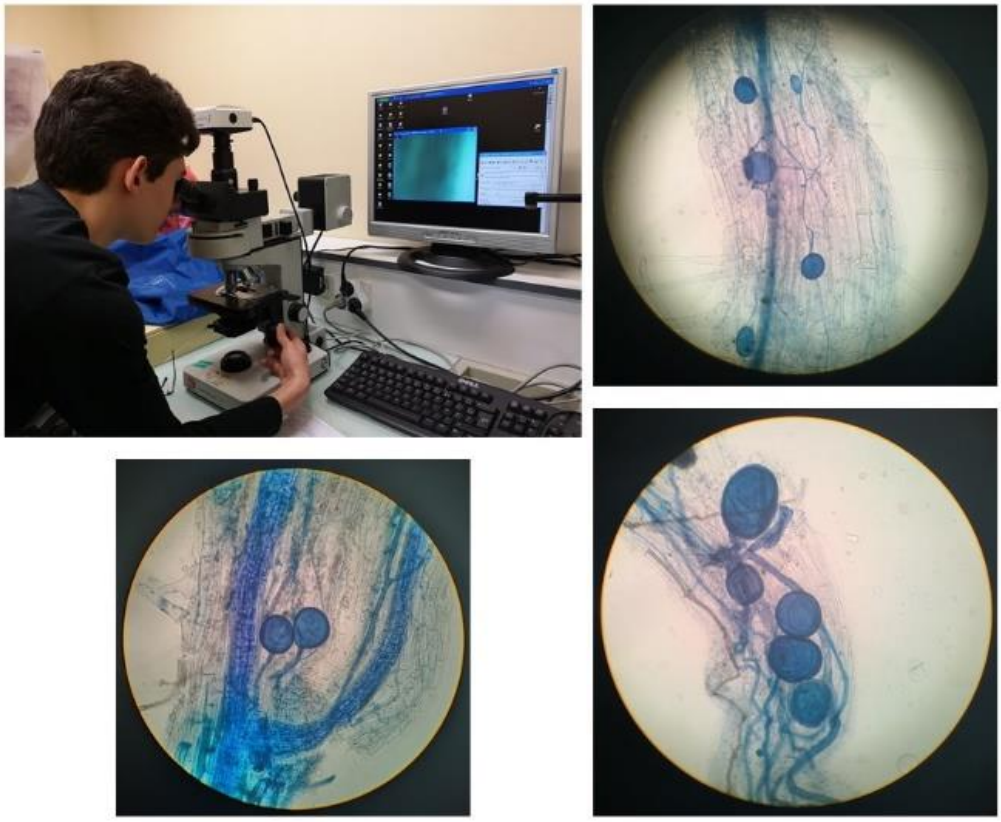


Photo 7. Observations des endomycorhizes (colorés à l'encre bleu) de la molinie au microscope optique (x400).

Les premières observations semblent suggérer qu'en présence de chêne, la molinie forme moins d'endomycorhizes. Pourtant, sa biomasse et sa teneur en azote sont plus importantes avec un chêne. Nous faisons l'hypothèse que le chêne, en fournissant de l'azote à la molinie, lui permet d'investir plus d'énergie dans la croissance des parties aériennes que dans la formation d'endomycorhizes.

5.3. Éléments généraux de discussion

En présence de molinie, la biomasse, le taux de racines latérales, le taux d'ectomycorhizes, et la teneur en azote du chêne sont fortement réduits. Ceci suggère que, en ciblant le développement des racines et les mycorhizes, la molinie réduit la capacité du chêne à acquérir et absorber les nutriments du sol. Ainsi, la teneur en azote du jeune arbre s'en retrouve plus faible que lorsqu'il est seul, et explique, au moins en partie, pourquoi sa croissance est diminuée. Les mécanismes expliquant l'effet inhibiteur de la molinie sur les racines latérales et l'ectomycorhization et ainsi sur la teneur en azote et finalement la croissance globale du chêne ne sont toutefois pas connues. Il est probable que la molinie rhizodépose des composés chimiques ayant des propriétés allélopathiques à la fois sur le chêne, mais aussi sur ces champignons mycorhiziens. Cette hypothèse est l'objet du prochain chapitre.

Chapitre VI. Rhizodéposition de composés allélochimiques par la molinie

L'hypothèse principale était que les racines de la molinie libéraient des métabolites secondaires ayant des propriétés allélopathiques sur le chêne. Nous avons étudié l'effet de l'apport d'exsudats racinaires de molinie sur le chêne, et sur la molinie elle-même. Nous avons distingué l'effet de la compétition par exploitation de l'effet de la compétition allélopathique sur la croissance du chêne. Nous avons analysé l'effet des macérats racinaires du chêne sur la molinie et le chêne lui-même (6.1). Nous avons aussi étudié, de manière exploratoire, l'effet des macérats de molinie sur les ectomycorhizes du chêne (6.2). Enfin, nous avons essayé de déterminer la nature des métabolites secondaires rhizodéposés par la molinie (6.3).

6.1. Belowground interaction between oak seedling and purple moor grass does include root exudation of allelochemicals

Résumé

La compétition par exploitation des ressources entre les plantes a largement été étudiée. En revanche, la compétition via les mécanismes allélopathiques a été moins décrite. Dans une expérience avec un chêne sessile (*Quercus petraea*) et une touffe de molinie bleue (*Molinia caerulea*) placés en pots séparés ou dans un même pot, nous avons étudié l'importance relative des voies allélopathiques dans la performance des plantes (production de biomasse). Une partie des plantes en pots séparés a été arrosée avec des exsudats racinaires de chêne ou de molinie pendant 3 mois. Le résultat montrait que la biomasse de chêne était réduite par l'apport d'exsudats racinaires de molinie. Le système racinaire du chêne était plus fortement affecté que la partie aérienne. Les exsudats racinaires de chêne tendaient à favoriser la croissance du chêne mais n'avaient aucun effet sur la molinie. À l'inverse, les exsudats racinaires de molinie avaient un léger effet dépressif sur sa propre croissance. La biomasse de molinie était favorisée lorsqu'elle était dans le même pot qu'un chêne. L'allélopathie a réduit la biomasse du chêne d'environ 17% et la compétition par exploitation de 33%. Il est à noter que différents composés chimiques provenant des exsudats racinaires de différentes espèces peuvent avoir des effets positifs ou négatifs selon les espèces et selon les interactions interspécifiques ou interspécifiques. L'analyse HPLC n'a pas permis d'identifier les composés potentiellement allélopathiques impliqués dans l'interférence.

RELECTURE EN COURS PAR LES CO-AUTEURS

Abbreviations

SG Sole-grown

MG Mixed-grown

Abstract

Competition between plants by exploitation of resources has been extensively investigated. By contrast, competition by interference, and in particular allelopathy, has been much less closely examined. In an experiment in pots with sessile oak (*Quercus petraea*) and purple moor grass (*Molinia caerulea*), either sole- or mixed-grown, we investigated the relative importance of allelopathic pathways in plant performance (biomass production). Plants were watered with either an oak root aqueous extract or a *Molinia* root extract. After 6 months of growth, oak biomass was clearly inhibited by *Molinia* root extract. The oak root system was more strongly affected than the aerial part. The oak root extract favored oak growth, but had no effect on *Molinia*. Conversely, *Molinia* root extract had a mild depressive effect on its own growth, but its biomass was favored by the presence of oak grown in the same pot. Allelopathy reduced oak biomass by about 17%, and resource exploitation by an additional 33%, totalling 50%. It is of note that different chemical compounds originating from root aqueous extractions of different species can have positive or negative effects depending on the species and on whether con- or interspecific interactions are considered. HPLC analysis failed to identify potentially allelopathic compounds involved in the interference.

Introduction

Identifying the balance of processes involved in plant-plant interactions (competition and facilitation) has drawn much attention, yet mechanisms involved in root competition remain under-researched. Root competition has often been described as one of the main interactions driving plant establishment in communities (Schenk, 2006; Wilson 1988; Coomes and Grubb 2000). It can occur among plants from the same species with Fand among plants from different species. Two types of root competition have been identified, based on different plant strategies, termed “scramble” and “contest” by Schenk (2006). Most studies have focused on “scramble”, which is competition by resource exploitation (Grime 1974; Tilman 1990; Wilson and Tilman

1993). It occurs when two species capture the same resources in the same finite space. Each species then depletes the resource reservoir to the detriment of the other. “Contest”, or competition by interference, includes mechanisms by which roots of one species inhibit resource access by the roots of another species. Plant ecologists often use the term allelopathy to describe contest competition, but interference can include processes other than allelopathy. The definition of Schenk (2006) is limited to resource access, whereas allelopathy can be defined as all kinds of chemically-mediated interference (Rice 1984; Reigosa et al. 1999). Allelochemical compounds produced by plant organs are released into the environment through (i) release of volatile organic compounds (Penuelas and Llusia 1998; Effah et al. 2019; Santonja et al. 2019), (ii) decomposition of leaves and needles (Nilsson 1994; Fernandez et al. 2016; Hashoum et al. 2017), (iii) living root exudates, and (iv) decomposition of dead roots (Bertin et al. 2003; Fernandez et al. 2006; Mallik et al. 2016; Tsunoda and van Dam 2017). Allelochemical compounds alter neighbouring plant metabolism and can change belowground (symbiotic) community composition. Seed germination and seedling establishment are usually the main life stages and processes affected by allelochemicals (Gallet and Pellissier 2002). Allelopathy and competition by exploitation can act simultaneously and cannot be easily separated under field conditions. Differentiating the two kind of competition is therefore experimentally difficult, especially when root compounds are involved: roots cannot be removed to evidence such an effect, unlike leaves (Fuerst and Putnam 1983; Olofsdotter et al. 1999; Ridenour and Callaway 2001; Inderjit and Mallik 2002; Fernandez et al. 2016). However, Nilsson (1994) tried to separate and quantify exploitation competition and allelopathic effects of *E. hermaphroditum* shoots on Scots pine. She found that both competition types were involved in the inhibition of Scots pine growth in the presence of *E. hermaphroditum*.

In most boreal and temperate forests, understorey vegetation affects the establishment and growth of tree regeneration (Balandier et al., 2006). In particular, monopolistic perennial grasses, with a rapid vegetative development and a dense fasciculated root system, rapidly absorb soil resources such as inorganic nitrogen, displaying competition by exploitation to the detriment of tree seedling growth and biomass (Coll et al. 2003; Balandier et al. 2006; Vernay et al., 2016; Vernay et al. 2018a). Interactions involving allelopathic compounds in woodland have also been identified in tree regeneration failures (Fisher 1987). Tree seedlings can be affected at the germination stage as well as during establishment. Targets of allelopathic compounds are typically mycorrhizal associations, or metabolic pathways such as nutrient

uptake, resulting in inhibition of growth and reduced resource uptake ability (e.g. Nilsson et al. 1993, on *Pinus silvestris* seedlings mixed-grown with *E. hermaphroditum*).

The regeneration of valuable oak species such as *Quercus petraea* in temperate forests is often jeopardized by the presence of interfering understorey species such as *Molinia caerulea*, a widespread monopolistic grass. In this sessile oak – purple moor grass association, competition by exploitation for N-resources was found to favour the moor grass (Vernay et al., 2018a, 2018b), while a decrease in mycorrhizal colonization of oak roots was observed concomitantly with growth inhibition and a decrease in oak N content (Fernandez et al., submitted). However, it is not known to what extent allelopathy is involved in these oak-grass interactions (Becker and Lévy 1982). Some studies have demonstrated the allelopathic potential of some oak Mediterranean species on other plants, especially herbaceous species (Souto et al. 1994; Alrababah et al. 2009; Hashoum et al. 2017). Conversely, *Quercus ilex* seedling susceptibility to allelochemicals has been demonstrated only in very few studies (Fernandez al., 2016).

The negative effect of competition by purple moor grass on sessile oak seedling performance has been shown to be rapid, a few weeks after the start of oak-*Molinia* interaction; Vernay et al., 2016. If an allelopathic process is assumed, this swift oak response suggests that *Molinia* roots actively exude allelopathic substances in the rhizosphere, rather than allelopathic compounds being released by root decomposition. Phytotoxic substances in root exudates have been identified in various species (Pérez and Ormenoñuñez 1991; Yu and Matsui 1994; Bertin et al. 2003; Yu et al. 2003). Concomitantly with this negative effect of *Molinia* on oak seedlings, studies have demonstrated an antagonistic positive effect of oak on grasses (Vernay et al. 2018b; Fernandez et al., 2019). Fernandez et al. (2019) demonstrated that the facilitation of *Molinia* by oak, to its own detriment, occurs through nitrogen transfer from oak to *Molinia*, whereas less is known about the facilitative potential of root exudates (Li et al. 2016a).

In this study, we hypothesized that allelopathic pathways acted on both sessile oak and *Molinia* through active root exudation of substances. The effects on plant performance of applying root exudates from either oak or *Molinia* were tested on each species.

Materials and Methods

Two experiments were conducted in pots under outdoor conditions in Clermont-Ferrand (Auvergne, France, 45°45’N 3°07’E, altitude 394 m *a.s.l*, temperate climate*).* Oak seedlings were sourced from a local nursery. *Molinia caerulea* was collected in a local forest at Paray-le-

Frésil (Auvergne, France; 46°39'N 3°36'E). Oaks and *Molinia* were planted in pots filled with natural forest soil (typical luvisol redoxisol pseudogley, sandy loam) collected in the same forest as *Molinia*. To avoid disturbances by water availability, pots were irrigated to field capacity throughout the experiment. Probes installed in some pots continuously checked soil water content. No fertilizer of any kind was added to the pot during the experiment.

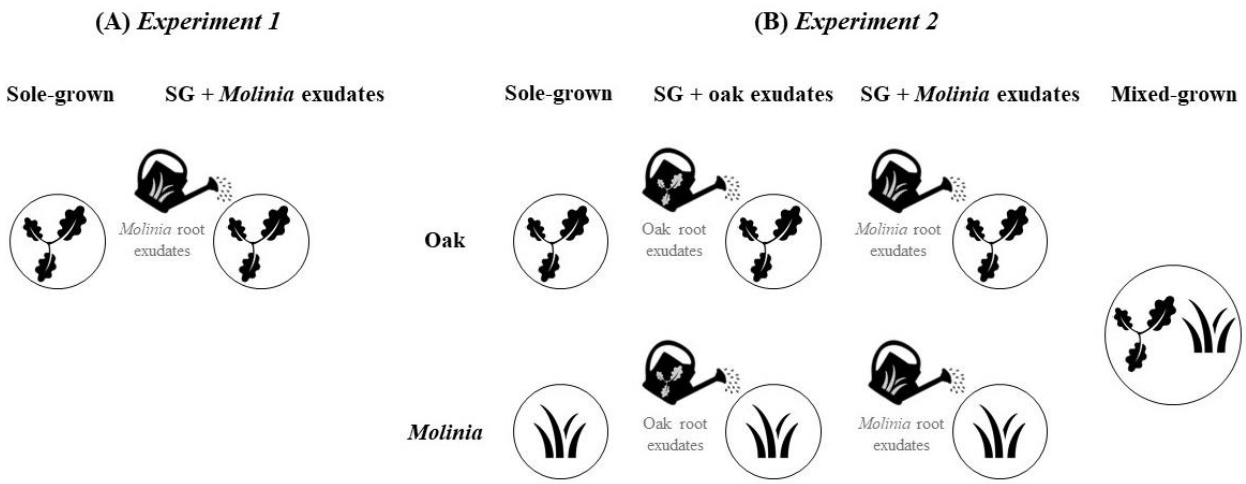


Figure 44. Experimental design of Experiment 1 in 2017 (A) and Experiment 2 in 2018 (B) with the different treatments tested on oak seedlings and *Molinia* tufts: sole-grown (SG), SG + oak exudates, SG + *Molinia* exudates, and mixed-grown (competition by exploitation + allelopathy).

Experiment 1 (**Figure 44.A**)

The experiment lasted from April 2017 to August 2017. In April 2017, 16 one-year-old bare-root oak seedlings (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and 12 *Molinia* tufts were planted separately in 5-L plastic pots. Oaks were 19.9 ± 6.7 g (mean ± SE) fresh weight, 40.8 ± 4.2 cm in height, and 4.9 ± 0.8 mm in diameter on average. *Molinia* were 10.3 ± 1.5 g fresh weight.

One *Molinia* tuft was harvested every week for 12 weeks from June 2017. Intact fresh roots were weighed and consistently macerated in distilled water for 48 h in darkness at room temperature. Root exudate concentration was 2% (w/w); water volume depended on root fresh weight. The final volume of aqueous extracts was split and poured into the eight pots containing one oak seedling each. They were applied on soil just after each root maceration. Concomitantly, eight sole-growing oak seedlings received an equivalent volume of distilled water.

Plants were harvested in October 2017, i.e. after 6 months of growth. Oak shoots and roots were collected, roots were carefully separated from soil by washing, then dried at 60 °C for 48 h, and weighed. Organ biomass was used as an integrated proxy of oak performance throughout the season.

Experiment 2 (**Figure 44.B**)

The experiment was replicated in 2018 but crossing oak and *Molinia* root extracts. The experiment lasted from March 2018 to September 2018. In March 2018, 30 1-year-old bare-root oak seedlings (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and 30 *Molinia* tufts were planted separately in 5-L plastic pots or together in 10-L plastic pots. Oaks were 51.7 ± 4.0 cm in height (mean ± SE), and 7.6 ± 1.3 mm in diameter on average. *Molinia* were 10.1 ± 1.0 g fresh weight. Of these, 12 oaks and 12 *Molinia* planted in 5-L pots were used to collect root exudates. For 12 weeks, one *Molinia* and one oak seedling were harvested weekly. Root exudates from each species were obtained by the same method as described in Experiment 1. Root exudates of oak and *Molinia* were then applied on soil just after each maceration. The experimental design was as follows:

(i) Six oaks and six *Molinia* were planted alone in 5-L pots without addition of root exudates ("sole-grown", SG);

(ii) Six sole-growing oaks received oak root exudates ("SG + oak exudates") and six others received *Molinia* root exudates ("SG + *Molinia* exudates");

(iii) Six sole-growing *Molinia* received oak root exudates ("SG + oak exudates") and six others received *Molinia* root exudates ("SG + *Molinia* exudates");

iv) One oak and one *Molinia* were planted in the same 10-L pot ("mixed-grown") to analyse competition through physical interaction without addition of root exudates of any kind (n = 6).

Oaks used in conditions (ii) and (iii) were 44.3 ± 13.6 g fresh weight. Oaks used in (i) and (iv) were 33.4 ± 10.5 g fresh weight. Because of this unintentional initial biomass difference, we compared only relative increments in the four experimental conditions.

Plants were harvested in September 2018, i.e. after 6 months of growth. Shoots and roots were collected and dried at 60 °C for 48 h and weighed.

Metabolite extraction

Molinia root exudate composition was determined with an UHPLC instrument (Dionex Ultimate 3000 equipped with an RS Pump, an autosampler, a thermostated column compartment and a UV diode array, Thermo Scientific, USA) coupled to an accurate mass spectrometer (qToF) equipped with an ESI source (Impact II, Bruker Daltonics, Germany). UHPLC separation was done on an Acclaim C18 column (2.1 mm × 150 mm, 2.2 µm, Thermo Scientific, USA). Elution rate was set to 0.5 mL min^{-1} at a constant temperature of 45 °C. A pooled sample combining 10 µL of each sample was used to determine the chromatographic method and the injection volume. This pooled sample was also used as a quality control.

Injection was set to 10 µL after twofold dilution of all extracts with the same solvent as that used for extraction. Chromatographic solvents were composed of A: water with 0.1% formic acid and B: acetonitrile with the same additive. The chromatographic gradient was set as follows: 2% of B for 2 min, then increase in the proportion of solvent B to reach 100% at 14 min. Each analysis was followed by a column cleaning phase with 100% B for 3 min, and column equilibration for 3 min, giving a total runtime of 20 min. Samples of each condition were randomly injected to integrate time-dependent changes in UHPLC-MS chromatographic fingerprints. Pooled samples, injected at the beginning, at the end and every 6 samples, were used for ion intensity normalization. Blanks were also injected to remove background signals.

MS parameters were set as follows: nebulizer gas, N_2 at 51 psi; dry gas, N_2 at 12 L min^{-1}, capillary temperature 200 °C and voltage 3000 V. The mass spectrometer was systematically calibrated with formate/acetate solution forming clusters on the studied mass range before a full set of analyses. The same calibration solution was automatically injected before each sample for internal mass calibration. For the mass spectra, tests were performed in both negative and positive modes. Mass spectra were in negative ionization mode in full scan mode from 50 to 1200 amu at 2 Hz. DDA-MS2 analyses were performed on three major ions detected at each scan on a pooled sample for metabolite annotation.

Root exudates

Analyses were automatically recalibrated using internal calibration, ensuring a precision of *m/z* below 2 ppm on the mass range, before exporting data in netCDF files (centroid mode) using Bruker Compass DataAnalysis 4.3. Analysis files were then processed using the XCMS package (Smith et al. 2006) of R software, using the different steps necessary to generate the

final data matrix: (i) peak picking for detection of different features, (ii) retention time correction ("obiwarp" method), (iii) grouping, (iv) filling of peaks to integrate portions where peaks were initially absent and (v) report and data matrix generation transferral to Excel. Each individual ion of each analysis was then normalized according to the injection order as described by Van Der Kloet et al. (2009). After the data set normalization, around 6000 features were kept before the filtering steps. Then, to ensure data quality and remove redundant signals, three successive filtering steps were applied to pre-processed data using an in-house script on R. The first was based on the signal/noise (S/N) ratio to remove signals observed in blanks (S/N set at 10 for features matching between pooled samples and blanks). The second allowed suppression of signals based on the value of the coefficient of variation of ion intensities in pooled samples (threshold at 0.4). The last step consisted in the deletion of all auto-correlated ions (threshold at 0.8) to remove isotopes and adducts.

Data analyses and calculation

Relative increment (RI) was calculated by the following expression (South 1995):

$$\mathrm{RI} = \frac{\mathrm{FWF}-\mathrm{FWI}}{\mathrm{FWI}},$$

where FWI is the initial fresh weight of oak and *Molinia* when potting and FWF is the final fresh weight, at harvest.

Statistical analysis was performed using R software (R studio, Version 1.0.153). In Experiment 1, data are means of n = 8 biological replicates. A t test was used to examine the difference in shoot and root dry weight and RI between “sole-grown” and “SG + *Molinia* exudates”. In Experiment 2, data are means of n = 6 biological replicates. Data were tested for normality using the Shapiro-Wilk test and for homoscedasticity using the Levene test before statistical analyses. Data were analysed using one-way ANOVA with Tukey’s *post hoc* test.
Datasets of secondary metabolites in oak and Molinia root exudates were subjected to principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) using MetaboAnalyst 4.0.

Results

Effect of the treatments on biomass

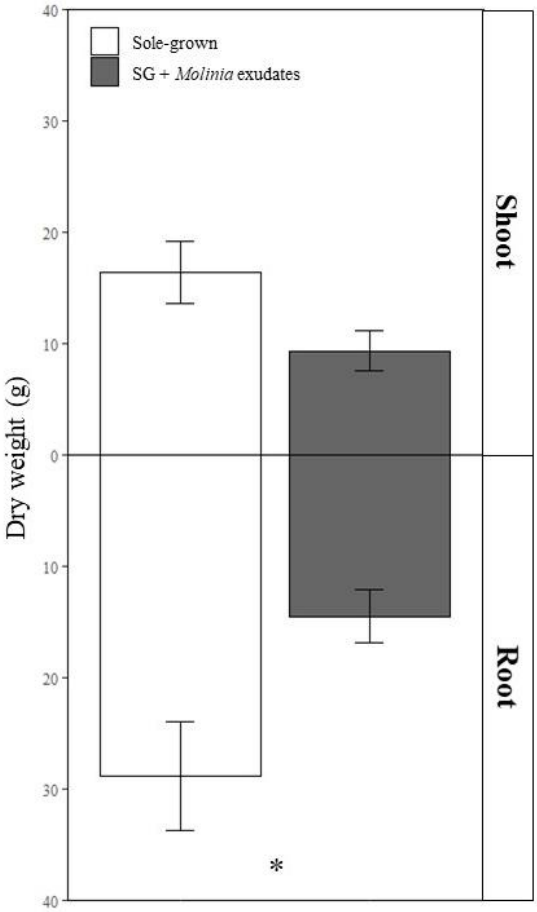


Figure 45. Above- and belowground dry weights (g) of oak in Experiment 1 for the two different treatments: sole-grown (white bars) and SG + Molinia exudates (grey bars). Values are reported as means ± SE (n = 8). * corresponds to $p < 0.05$.

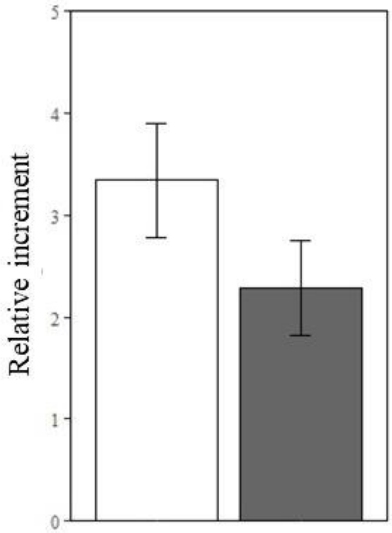


Figure 46. Oak relative fresh weight increment in Experiment 1 for the two different treatments: sole-grown (white bars) and SG + *Molinia* exudates (grey bars).

In Experiment 1, root dry weight of oak seedlings was significantly reduced by regular addition of *Molinia* root exudates (p = 0.03, **Figure 46 – root and Table S18**), whereas shoot dry weight reduction in response to *Molinia* root exudates was only marginally significant (p = 0.06, **Figure 46 – shoot and Table S18**). Root dry weight was reduced by 50%, and shoot dry weight by 44% by *Molinia* extracts. For the relative fresh weight increment of whole oak (*i.e.* shoot and root pooled), the decrease was not statistically significant (p = 0.17, **Figure 45 and Table S19**).

In Experiment 2, *Molinia* root exudates had no significant effect on oak relative fresh weight increment in comparison with SG (p = 0.46, **Figure 47a, Tables S20 and S21**). A significant decrease was recorded between SG and MG ("mixed-grown", p = 0.04), and a marginal decrease between SG + *Molinia* extracts and MG (p = 0.09). Globally, oak relative fresh weight increment decreased from SG, to SG + *Molinia* extracts, and then MG. Surprisingly, application of oak root exudates marginally increased oak RI compared with the sole-grown condition (p = 0.08).

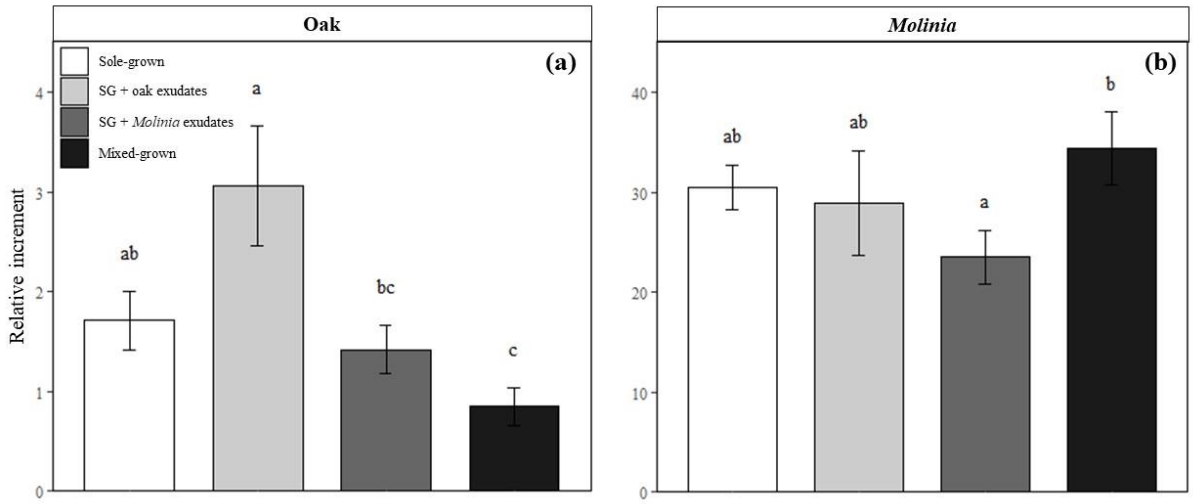


Figure 47. Oak (a) and Molinia (b) relative fresh weight increment in Experiment 2 for the four different treatments: sole-grown (white bars), SG + oak exudates (light grey bars), SG + Molinia exudates (dark grey bars) and mixed-grown (dark bars). Values are reported as means ± SE (n = 6). Different letters indicate a significant difference between treatments.

Regarding *Molinia*, a marginal decrease in relative fresh weight increment was recorded in the presence of its own root exudates compared to control (p = 0.08, **Figure 47**b**, Tables S3 and S4**), whereas neither oak root exudates ("SG + oak exudates") nor oak physical presence ("mixed-grown") had any effect on *Molinia* RI. However, a significant increase in *Molinia* RI was observed between SG + *Molinia* extract and MG (p = 0.04).

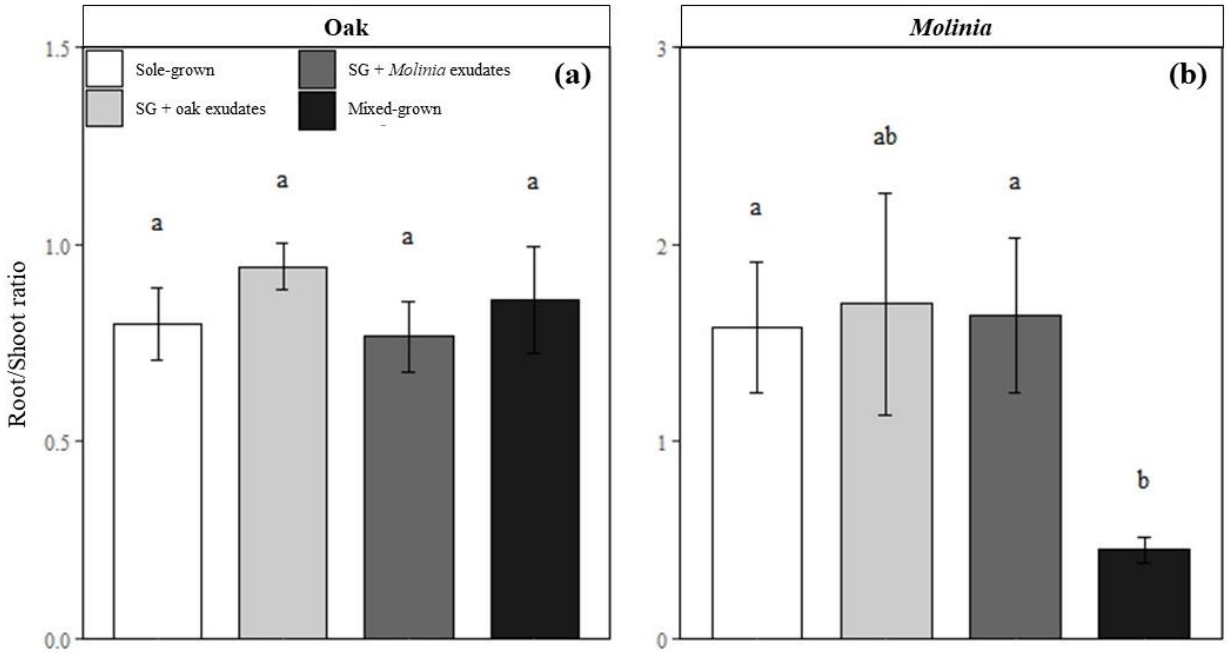


Figure 48. Oak (a) and *Molinia* (b) root/shoot ratio in Experiment 2 for the four different treatments: sole-grown (white bars), SG + oak exudates (light grey bars), SG + *Molinia* exudates (dark grey bars) and mixed-grown (dark bars). Values are reported as means ± SE (*n* = 6). Different letters indicate a significant difference between

Oak root/shoot ratio was unaffected by any treatment (**Figure 48, Table S22**), whereas *Molinia* root/shoot ratio was dramatically reduced when mixed-grown with oak (p = 0.02, **Figure 48, Table S22).**

Identification of potential allelopathic chemical compounds by HPLC

No potential allelopathic substances could be identified by HPLC in the aqueous *Molinia* extracts. However, regression by partial least squares showed that secondary metabolites were different between oak and *Molinia* extracts (**Figure 49**).

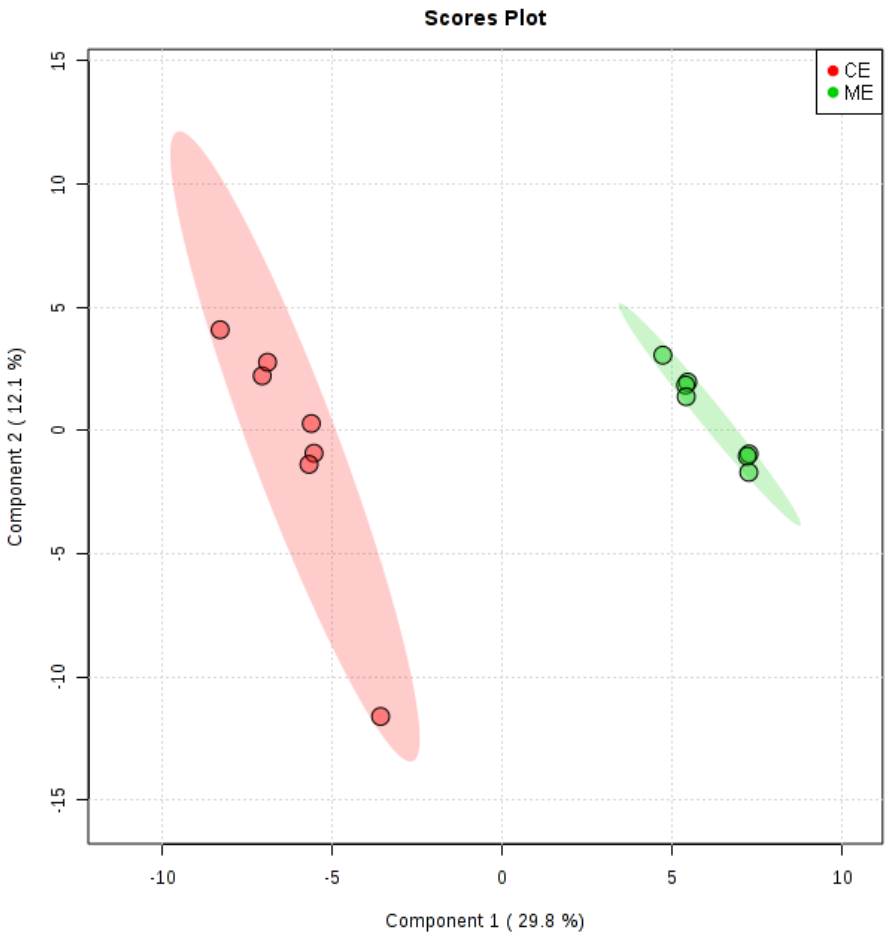


Figure 49. Partial Least Squares Discriminant (PLS-DA) based on secondary metabolite identity. CE: oak root exudates (red). ME: Molinia root exudates (green).

Discussion

Molinia root exudates inhibit oak growth

Biomass analysis in Experiment 1 suggests that *Molinia* root extracts contain chemical compounds that inhibit oak seedling growth. Root biomass was more strongly affected than shoot biomass, as also observed in Nilsson's study (1994). This decrease was also observed in the relative total fresh weight increment, though not significantly, probably because of large values of standard error. We also hypothesized that considering the whole plant in the RI calculation probably overwrites effects on specific organs. More broadly, the use of relative increment to compare two samples is arguable, especially when comparing values for a single time interval (South 1995).

Experiment 2 revealed a consistent oak RI decrease from the control watered with the aqueous solution, to oak watered with the *Molinia* extract solution and then to oak mixed-grown with *Molinia*. This is consistent with the simultaneous coexistence of the two types of competition, namely by interference and by resource exploitation. When mixed-grown with *Molinia*, oak was subjected to both types, whereas when sole-grown and watered with the Molinia extracts solution, oak was only subjected to allelopathic effects. Theoretically, the difference between SG, SG + *Molinia* extracts and MG gives the relative importance of the two competition types. Allelopathy reduced oak RI by about 17% and resource exploitation by an additional 33%, totalling 50%. In our pot experiment, resource exploitation had a greater effect than the allelopathic pathway. Allelopathy also seemed more marginal in 2018 than in 2017. These results are consistent with other studies. Nilsson (1994) demonstrated that biomass of *P. sylvestris* was more strongly reduced by combination of allelopathy and competition with *E. hermaphroditum* than allelopathy only. Fernandez et al. (2016) also observed that a combination of the two competition types by *P. halepensis* reduced *Quercus pubescens* biomass more strongly than allelopathy alone. Moreover, treatments altered biomass allocation of *Quercus* with a lower root/shoot ratio in the case of allelopathy. Our results did not support such an effect, the oak root/shoot being non-significantly affected by the treatment. Nilsson (1994) and Fernandez et al. (2016) also highlighted that competition by exploitation had a more negative effect on biomass than allelopathy, consistent with our observations.

Despite our efforts to identify potential allelopathic compounds in the *Molinia* aqueous extracts, no secondary metabolite was evidenced, although a difference in the composition of *Molinia* and oak extracts was highlighted. Our solutions of root exudates were probably too dilute, and the column could not trap ions. In future experiments, we could consider freeze-drying the root exudates before HPLC to increase ion concentration in solution. To analyse root exudates, Kong et al. (2018) freeze-dried both plant tissues and root exudates to obtain powder after grinding in liquid nitrogen. This increased metabolite concentration and helped trap ions in HPLC.

In some studies, authors added activated carbon to try to isolate such compounds, but this method is debatable because it not only reduced potential allelopathic effects, but substantially changed the chemistry of the substrate (Lau et al. 2008; Weißhuhn and Prati 2009). An alternative technique to evidence potential chemical interactions consists in separating root systems of plants in the same pot by mesh, to prevent physical contact, but not potential chemical interaction (Li et al. 2016b; Kong et al. 2018).

Root exudates of oak favour its own growth, but Molinia inhibits its own growth

Surprisingly, oak root exudates tended to favour oak biomass. Such a facilitating effect was already demonstrated in interspecific interactions; for example Li et al. (2016) evidenced that root exudates of maize promoted N_2 fixation of faba-bean (*Vicia faba*), whereas to our knowledge, whether root exudates can facilitate growth of conspecific species is still not known. Further studies should analyse the effects of the physical presence of oak seedling rather than only root extracts.

Some studies reported an allelopathic effect of *Quercus* sp on understory species (Li et al. 2007). Callaway et al. (1991) identified an allelopathic property of adult oak root exudates that inhibited understory productivity in woodland. Alrababah et al. (2009) and Hashoum et al. (2017) demonstrated that aqueous extract of green and senescent mature oak leaves and litter contained allelochemicals that reduced seed germination and controled the dynamics of the herbaceous species. However, in the present study, *Molinia* biomass was not significantly affected by oak root exudates. Moreover, *Molinia* own root exudates tended to decrease its relative fresh weight increment. Auto-allelopathy is a recognised mechanism in various plant species (Yu et al. 2003; Mafeo and Mashela 2010; Jamshidi et al. 2011; Vernay 2017).

As recorded in other studies (Vernay et al., 2018a and b; Fernandez et al., 2019) *Molinia* relative fresh weight increment was higher when mixed-grown with oak, altough the difference was marginally significant in the present study. The more remarkable effect was recorded on the *Molinia* root/shoot ratio in mixed-grown condition, which was significantly lower. Fernandez et al. (2019) demonstrated that the physical presence of *Molinia* reduced nitrogen content in oak, whereas the physical presence of oak increased that of *Molinia,* highlighting antagonistic interaction between oak seedlings and *Molinia*.

Perspectives

Overall, it is interesting to note that different chemical compounds originating from root aqueous extractions of different species can have positive or negative effects depending on the species and on whether con- or interspecific interactions are considered. Our experiment was conducted in pots so that we could test such effects *in vivo*. We failed to identify any secondary metabolites in our diluted aqueous exudates. Most studies analysing allelopathic effects of specific organs used tissues in which metabolites were more concentrated than in aqueous extracts. We chose aqueous extraction to come close to natural processes taking place in soil

solution such as root exudation. However, we know that different techniques could lead to different results; Yu et al. (2003) observed different effects on cucumber between root exudates obtained using a continuous trapping system (Yu and Matsui 1994) and root extracts produced from powdered roots, suggesting that the allelochemical compounds from the two samples were not the same.

From a forest management perspective, and specifically in relation to sessile oak regeneration, this study confirms that forest perennial grasses are detrimental to seedling establishment. The allelopathic pathway is one of the processes involved in this inhibition besides competition by resource exploitation. The target of allelopathic compounds could be mycorrhizae associated with oak roots, as suggested by Fernandez et al. (2019), but studies need to be specifically undertaken to address this question.

6.2. Résultats préliminaires : effet des macérats de molinie sur les ectomycorhizes du chêne

Une partie du système racinaire des chênes utilisés dans l'*expérimentation 1* a servi à l'observation des ectomycorhizes. L'hypothèse était que l'application d'exsudats racinaires de molinie réduisait le taux d'ectomycorhization du chêne. Les premiers résultats ont démontré que les chênes ayant reçu des exsudats racinaires de molinie avaient un taux d'ectomycorhization d'environ 12% tandis que les chênes n'en ayant pas reçu atteignaient 42% de racines ectomycorhizées (n = 120). Des études plus approfondies sur l'effet des exsudats racinaires de molinie sur le taux d'ectomycorhization du chêne sont nécessaires, mais ces premiers résultats suggèrent un fort effet allélopathique de la molinie sur les ectomycorhizes.

6.3. Métabolites secondaires dans les exsudats racinaires : différences interspécifique et méthodologique, mais pas d'identification de composés

L'objectif de cette expérimentation était de comparer les métabolites secondaires relargués par la molinie en condition hydroponique. Cette technique permet d'extraire les composés exsudés de manière non intrusive sur racine vivante. Nous les avons ensuite comparés avec ceux relargués avec la méthode des macérats décrite précédemment. Le but était de vérifier si cette dernière n'entrainait pas une production différente de rhizodépôts. Nous avons également comparé les composés relargués par le chêne.

Comme précédemment précisé, la nature des molécules présentes dans les exsudats racinaires n'a pas pu être déterminée. En revanche, les exsudats racinaires des chênes et des molinies obtenus par la méthode des macérats et de l'hydroponie ont été soumis à une analyse en composantes principales (ACP) et à une régression des moindres carrés partiels (PLS-DA) à l'aide de MetaboAnalyst 3.5, une suite d'outils Web pour l'analyse de données métabolomiques (Xia et Wishart 2016). Les résultats sont présentés en **figures 50.A** et **50.B**.

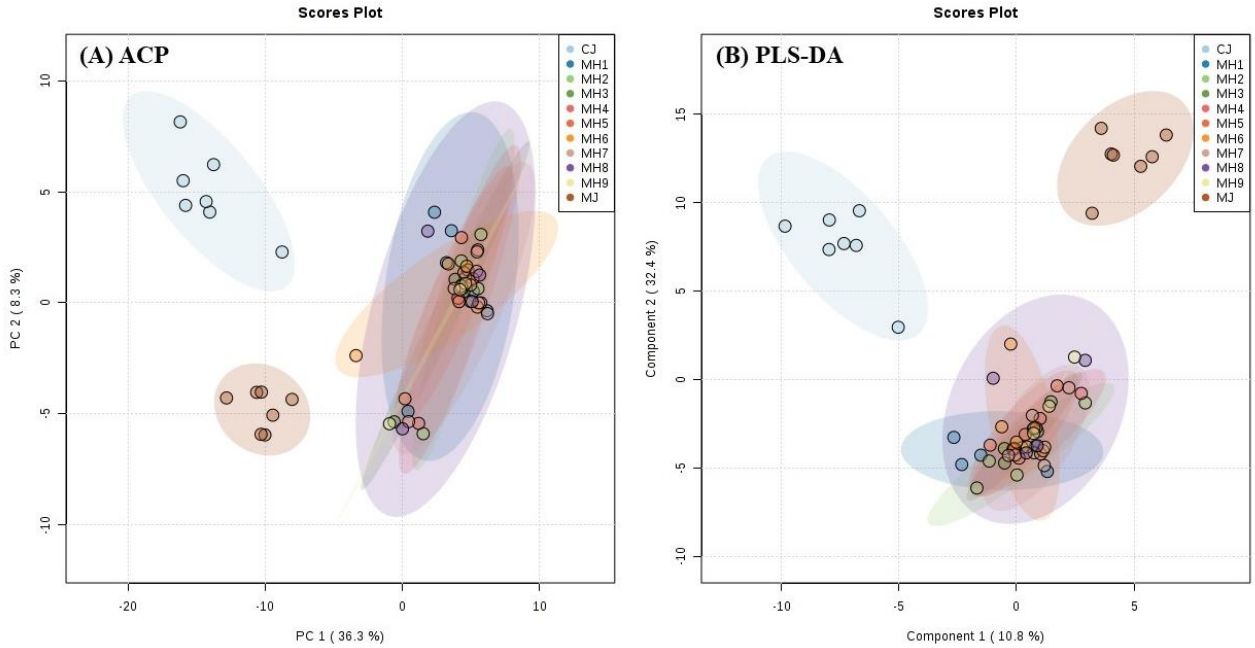


Figure 50. Analyse en composantes principales (ACP, A) et régression des moindres carrés partiels (PLS-DA, B) basés sur la composition en métabolites secondaires. CJ : macérat racinaire de chêne. MH : solution hydroponique de molinie. MJ : macérat racinaire de molinie.

L'analyse par composantes principales et la régression des moindres carrés partiels mettent toutes les deux en évidence que les métabolites secondaires relargués par le chêne et la molinie sont différents. Elles soulignent aussi le fait que les échantillons de macérat racinaire de molinie contiennent des composés différents de ceux contenus dans les solutions hydroponiques. Ce résultat remet en question la méthodologie utilisée pour étudier l'effet allélochimique de la molinie sur le chêne. Il est probable que la nature des exsudats racinaires par la technique des macérats diffère de celle en conditions naturelles. Les effets négatifs de la molinie sur le chêne alors observés ne seront peut-être pas ceux observés en forêt, ou impliqueront des métabolites secondaires différents.

6.4. Éléments généraux de discussion

Le chêne et la molinie rhizodéposent des composés de natures différentes. Le chêne ne semble pas avoir d'effet allélopathique intra- ni interspécifique. En revanche, il semblerait que la molinie rhizodépose des composés qui soient néfastes à la croissance du chêne. L'application de rhizodépôts de la molinie sur elle-même a engendré une légère diminution de l'accroissement relatif, suggérant la nécessité de creuser la piste « auto-allélopathie » chez la graminée. Les chênes ayant reçu du macérat racinaire de molinie ont eu un taux d'ectomycorhization plus faible que ceux n'ayant rien reçu, démontrant que la molinie cible les ectomycorhizes du chêne *via* la rhizodéposition de composés allélochimiques. De manière plus générale, les métabolites secondaires semblent grandement impliqués dans les interactions chêne-molinie. Il apparait nécessaire d'identifier la nature de ces composés, de déterminer s'ils sont produits dans le milieu naturel et en particulier de différencier ceux qui sont émis lorsque les plantes perçoivent leurs voisins.

Chapitre VII : Discussion générale et perspectives

Tout au long de la discussion, un schéma bilan reprenant les hypothèses sera amendé avec les résultats obtenus.

7.1. Réponses écophysiologiques du chêne à la présence de molinie : effet de compétition de la poacée sur le jeune arbre

Afin d'adapter la gestion sylvicole à la production de chênes (ici, *Quercus petraea*), il est nécessaire de comprendre les mécanismes impliqués dans les difficultés actuelles de régénérations naturelle et artificielle. La molinie bleue (*Molinia caerulea*), poacée monopoliste au développement très rapide, a été identifiée comme étant une compétitrice directe pour les jeunes chênes. Elle entraine une diminution de leur croissance (Vernay et al. 2018b, avec *D. cespitosa*), de leur activité photosynthétique (Vernay et al. 2016) et de leur mycorhization (Timbal et al. 1990, sur le jeune chêne rouge). Au cours de la thèse, nous avons confirmé une partie de ces observations et mis en évidence d'autres modifications écophysiologiques du jeune chêne en présence de molinie.

7.1.1. La croissance du chêne est ralentie en présence de molinie

L'un des premiers constats pour expliquer les difficultés de régénération forestière est que la molinie entraine un ralentissement de la croissance du chêne. Pourtant, contrairement à ce qui était attendu lors de l'expérimentation sur les transferts d'azote du chêne vers la molinie, la biomasse des chênes en pots séparés d'une molinie était similaire à celle des chênes dans le même pot que la molinie. **La particularité de cette expérimentation était que ces chênes avaient eu un apport d'urée (^{15}N). Il est possible que cet apport ait favorisé la croissance des chênes malgré la présence de molinie**. En moyenne, le ^{15}N dans les parties aériennes des chênes marqués représentait 4,2 ± 2,3 % de l'azote total et 3,3 ± 1,9 % dans les racines. Toutefois, dans certains organes, le ^{15}N représente plus de 10 %. La corrélation est positive entre la quantité de ^{15}N et la biomasse des parties aériennes des chênes marqués en été (p = 0,02, R^2 = 0,15) et au printemps (p = 0,02, R^2 = 0,15), mais elle explique une faible part de la variabilité. Dans les autres cas, les corrélations sont positives mais non significatives, sauf en hiver où il n'y a pas de corrélation dans la mesure où il n'y a pas ou très peu de croissance. Il est donc probable que l'apport de ^{15}N ait eu une incidence positive sur la croissance du chêne. Une autre hypothèse serait que le lot de chêne n'était pas de bonne qualité et que la plantation

tardive a entrainé des perturbations dans la croissance globale des chênes. Le taux de mortalité était élevé et beaucoup d'entre eux ont émis des rejets. Enfin, nous pouvons aussi nous poser la question de **l'effet du perçage (cotton-wick)** sur la croissance du chêne, mais nos résultats n'ont pas montré de différences de croissance (biomasses et longueurs) entre les chênes marqués et les chênes non-marqués. Finalement, l'absence d'effet de la molinie sur la biomasse du chêne dans cette expérimentation est probablement due à l'effet fertilisant de l'urée et au fait que les plants de chêne étaient affaiblis dès la plantation. Nous avons donc considéré que l'interprétation de ces résultats était biaisée par les conditions initiales (lot de chênes de mauvaise qualité) et expérimentales (plantation tardive et cotton-wick).

Au contraire, l'expérimentation sur les transferts d'azote de la molinie vers le chêne a mis en évidence une biomasse des parties aériennes et des parties racinaires du chêne plus faible en présence de molinie. Ces résultats corroborent ceux obtenus précédemment et confirment que la molinie nuit rapidement à la croissance des jeunes chênes (Timbal et al. 1990; Vernay et al. 2018b). Dans cette thèse, le système a été suivi plus longuement que dans les études précédentes. Nous avons effectué des mesures sur un cycle annuel de croissance, jusqu'à la sortie de dormance au printemps suivant. Nous avons observé que, curieusement, la biomasse des parties aériennes et surtout des racines des chênes était plus faible au printemps 2019 qu'à l'été 2018, seulement lorsqu'ils étaient en présence de molinie. Des analyses supplémentaires de biomasse pourraient être effectuées en séparant les feuilles des tiges comme dans l'étude de (Vernay et al. 2018b). Ces auteurs ont mis en évidence une diminution de la biomasse des feuilles mais pas des tiges de chêne en présence d'une poacée, ce qui explique en partie la diminution de la captation du carbone par le jeune arbre (Vernay et al. 2016). Dans notre étude, les deux récoltes n'ont pas été réalisées au même stade de développement : en été, il s'agissait de la pleine période de croissance, tandis qu'au printemps, les plantes sortaient de la période de dormance. Il est probable que la présence de molinie affecte le débourrement, la densité foliaire et le développement des feuilles de chêne. Pour déterminer les causes d'une biomasse foliaire du chêne plus faible en présence de molinie, pourraient être étudiées les composantes de la biomasse foliaire telles que (i) le nombre de feuilles du chêne, (ii) leur surface foliaire spécifique (SLA, specific leaf area) ainsi que la masse par unité de surface (LMA, leaf mass area).

Concernant les racines, il a été plus surprenant de mesurer une forte diminution de la biomasse des chênes entre l'été 2018 et le printemps 2019. Le mécanisme de sénescence foliaire est bien connu et nécessite chaque année le renouvellement complet de la

couronne foliaire chez les arbres décidus. La chute des feuilles est sous contrôle génétique et environnemental. Il en est de même pour le processus de turnover racinaire, mais d'autres facteurs sont aussi impliqués comme l'âge ou le diamètre du tronc (Gill et Jackson 2000; Majdi et al. 2005; Yuan et Chen 2012; Sun et al. 2015). De plus, contrairement aux feuilles, le système racinaire n'est pas entièrement renouvelé après chaque dormance. Une partie de ce système passe l'hiver, notamment pour assurer l'ancrage dans le sol et assurer le stockage de nutriments. Toutefois, il est difficile de mesurer ce turnover racinaire du fait de son enfouissement dans le sol et du fait qu'il dépende grandement des conditions extérieures. Dans notre étude, il s'agirait de comprendre (i) si la molinie accroît le processus de sénescence racinaire du chêne et/ou (ii) comment la molinie altère le développement et la croissance racinaire du chêne. **Il y a un manque d'information dans les effets que peuvent avoir les voisins sur le développement et le turnover racinaire d'un individu**. En revanche, la diminution de la biomasse racinaire d'une plante en présence d'une autre a été largement étudiée et implique une compétition pour les ressources et/ou la rhizodéposition de composés allélochimiques.

Enfin, le fait que les chênes aient été plus affectés par la présence de molinie à la récolte du printemps qu'à celle de l'été est probablement dû au fait qu'ils soient issus de pépinière. En effet, en pépinière, la croissance des plantes est optimisée par l'apport d'engrais et elles sont ainsi chargées en azote. Il est donc possible que les chênes possèdent suffisamment de réserve pour croître malgré la présence de molinie durant les premiers mois, cependant, ce stockage s'amenuise rapidement. Lors de la deuxième récolte, au printemps, la quantité moins importante de réserve azotée et la cohabitation depuis un an avec une molinie expliquent possiblement la plus faible biomasse du chêne qu'à la récolte précédente. L'hypothèse qu'une teneur en azote plus importante dans le chêne lui permette de mieux supporter la présence de molinie est envisagée par le fait que l'apport d'urée ait probablement facilité la croissance des chênes et ainsi, contrecarré les effets négatifs de la molinie. Le schéma bilan numéro 1 est présenté en **figure 51**.

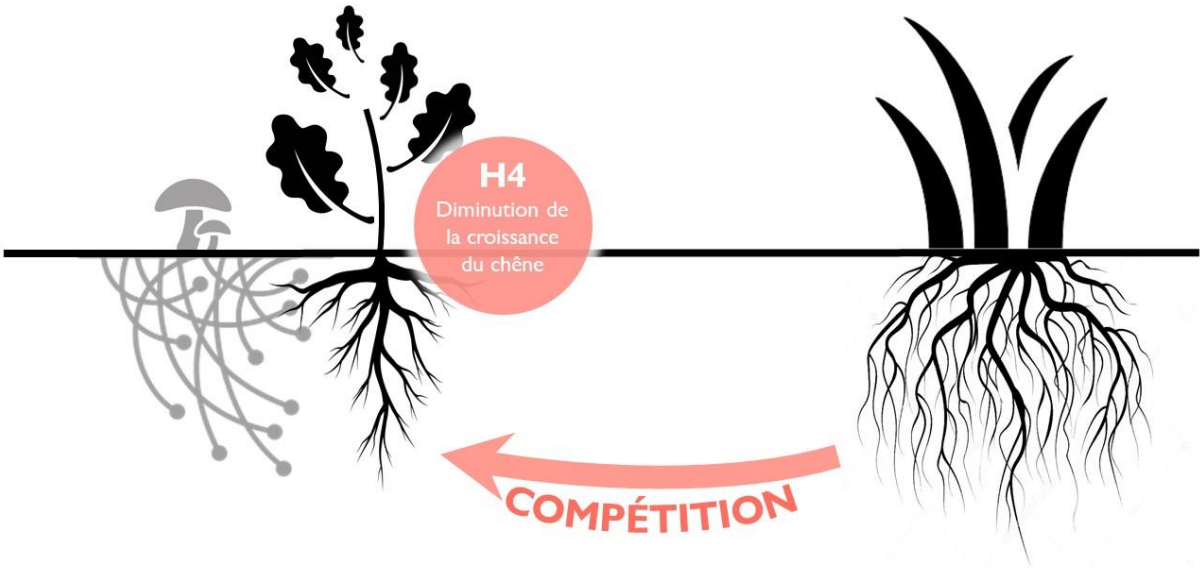


Figure 51. Schéma bilan 1

7.1.2. Modification de l'allocation de l'azote en présence de molinie

L'analyse des flux de ^{15}N a permis de mettre en évidence que **la répartition de l'azote dans les organes du chêne a varié au cours d'une année**. **L'amplitude de ces variations est d'autant plus importante que le chêne est placé dans le même pot qu'une molinie.** La stratégie générale du chêne est de transloquer une partie de son azote depuis les feuilles jusqu'au système racinaire (*i.e.* la résorption) durant l'entrée en dormance (Millard 1996; Millard et Grelet 2010). Ceci lui permet de stocker l'azote dans les organes souterrains avant la reprise de croissance au printemps suivant : il s'agit d'une **stratégie conservative** (Valladares et al. 2000; Yan et al. 2006). En présence d'une poacée, Vernay et al. (2018b) ont montré que la quantité d'azote allouée vers les racines est plus importante que lorsqu'il est seul. Les résultats obtenus le mettent aussi en évidence, et soulignent que **la présence d'un autre chêne n'a pas d'effet sur l'allocation de l'azote**. En présence de molinie, au printemps, la quantité d'azote transloquée aux feuilles depuis les racines du chêne est plus importante que lorsqu'il est en présence d'un autre chêne. La quantité de ^{15}N dans les parties aériennes des chênes placés dans

un même pot n'est pas différente de celle des chênes en pots séparés. En contrepartie, le ^{15}N dans les racines du chêne tend à être plus faible en présence de molinie que lorsqu'il est seul. Ceci suggère que pour allouer une même quantité de ^{15}N dans les parties aériennes, **le chêne est obligé d'en stocker une part plus importante dans ses racines lorsqu'il est en présence de molinie que lorsqu'il est seul ou en présence d'un autre chêne**. Nos résultats mettent en évidence que la modification du patron d'allocation de l'azote dépend de l'identité du voisin. À notre connaissance, ce processus a été très peu référencé. La stratégie conservative du chêne lui permet (« remobilisation de survie »), à la sortie de dormance, de réallouer l'azote stocké dans les racines vers les parties aériennes. Cette stratégie est essentielle lorsque l'azote du sol est faiblement disponible, ce qui est le cas en présence de molinie. L'azote permet d'assurer la synthèse de molécules impliquées dans la photosynthèse. Il est donc primordial pour les végétaux de remobiliser une partie de l'azote vers les parties aériennes pendant la période de croissance afin d'assurer le développement des bourgeons et le développement foliaire (Neilsen et al. 2000; Bausenwein et al. 2001). L'amplitude de la stratégie conservative de l'azote chez le chêne dépend donc de l'identité du voisin (Welker et al. 1991; Kaitaniemi et al. 2018). Le schéma bilan numéro 2 est présenté en **figure 52**.

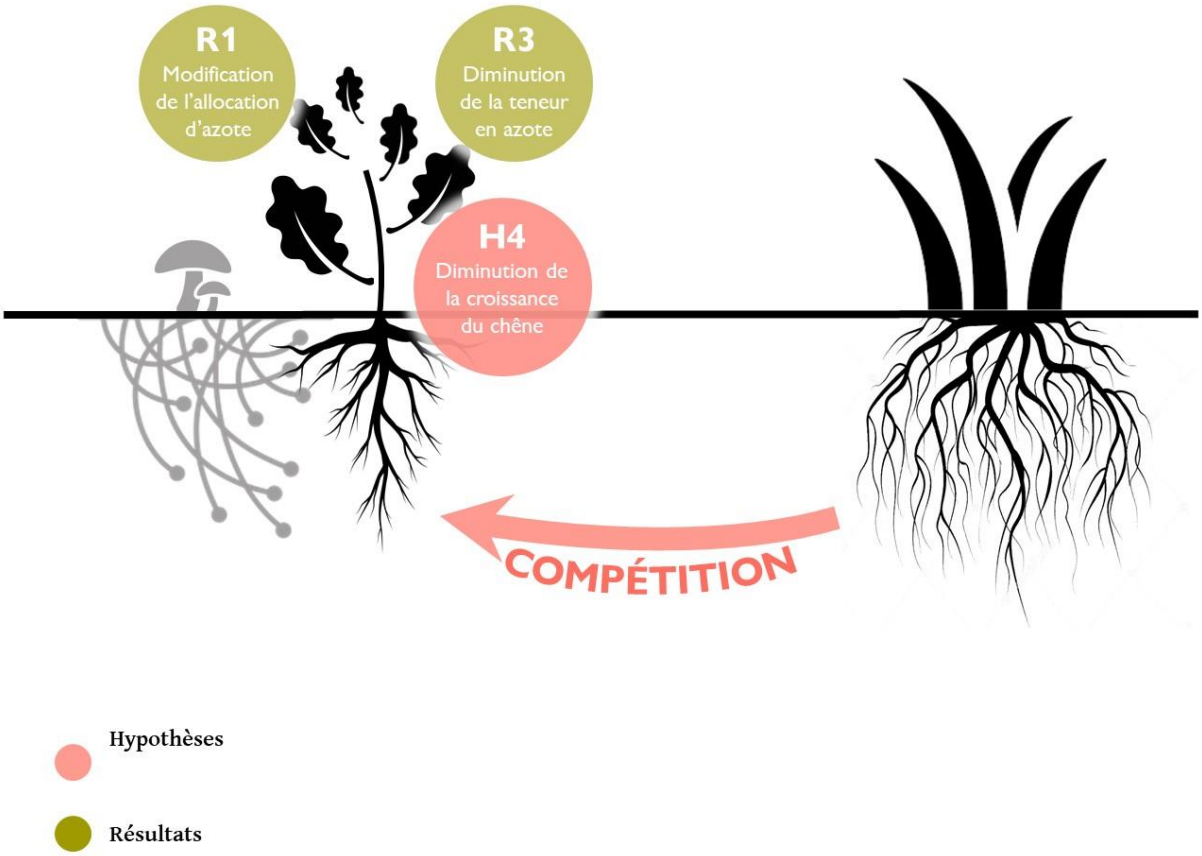


Figure 52. Schéma bilan 2

7.1.3. Rhizodéposition de l'azote chez les non-fabacées

Le choix de tenir compte des transferts d'azote chaque saison, et jusqu'à la reprise de croissance au printemps suivant s'est principalement basé sur la théorie selon laquelle les espèces non-fixatrices d'azote rhizodéposaient des composés azotés majoritairement par le processus de sénescence racinaire (Scandellari et al. 2010). Nous avons donc fait l'hypothèse que le chêne rhizodéposait de l'azote principalement durant la période hivernale, où la dégradation racinaire est la plus importante. Le fait de mesurer une quantité non négligeable de ^{15}N dans le sol et les plantes voisines du chêne donneur seulement 2 mois après le marquage était alors particulièrement inattendu. **D'une part, cela signifie que le jeune chêne, espèce non-fixatrice d'azote, rhizodépose rapidement de l'azote, et d'autre part que cet azote est tout aussi rapidement absorbé par la molinie dont la croissance est favorisée**. Ces premières observations suggèrent que l'activité de rhizodéposition d'azote par les racines n'est pas propre aux plantes fabacées et actinorhiziennes. Autre résultat surprenant : l'analyse des diagrammes en secteurs a mis en évidence que le pourcentage de ^{15}N dans le chêne entier était plus faible en présence d'un voisin. Parallèlement, la quantité de ^{15}N dans le sol était plus

importante en présence d'un voisin, et ce, pour chaque saison. Cette quantité était d'autant plus importante dans le sol que le voisin était une molinie. Or, cette dernière absorbe plus d'azote qu'un chêne voisin, ce qui suggère que **la molinie accroît le processus de rhizodéposition**. Dans le paragraphe précédent, nous avons mis en évidence qu'en présence de molinie, le chêne allouait une grande partie de son azote vers ses racines en hiver pour le réinvestir dans les parties aériennes au printemps. Notre hypothèse était que la molinie, en réduisant la disponibilité en azote du sol, obligeait le chêne à amplifier sa stratégie conservative**. Il est alors curieux de constater qu'en présence de molinie, le chêne rhizodépose plus d'azote. En effet, le chêne semble mettre en place une stratégie de conservation pour pallier le manque d'azote induit par la molinie, mais la stratégie ne semble pas totalement optimale dans la mesure où la présence de molinie semble accroître la rhizodéposition azotée.** La compréhension des mécanismes de rhizodéposition de l'azote est alors primordiale, surtout chez les plantes non fixatrices d'azote chez lesquelles ils ont été très peu étudiés. D'après Bush (1993), la rhizodéposition des acides aminés est passive, c'est-à-dire qu'elle a lieu le long du gradient de concentration. Ainsi, la présence d'un voisin absorbant l'azote du sol induit une baisse de concentration et provoque probablement une accentuation de la rhizodéposition d'azote. La molinie, épuisant plus rapidement les ressources du sol, accentue cet effet sur le chêne par rapport à un autre chêne. Toutefois, cette hypothèse est remise en question par les travaux de Lesuffleur et Cliquet (2010). Ils ont mis en évidence que des inhibiteurs métaboliques modifiaient l'efflux des acides aminés et ainsi que ce n'était pas une simple fuite passive. Ils ont conclu que ces résultats suggéraient que l'exsudation des acides aminés était un processus contrôlé par la plante. **Une autre hypothèse serait que les plantes émettent des composés capables d'accentuer la rhizodéposition des voisins, soit en modifiant la composition du sol, soit en agissant directement sur les racines des plantes voisines**. Récemment, Canarini et al. (2019) ont souligné que « *la manière dont l'exsudation est contrôlée ainsi que les circonstances selon lesquelles les plantes bénéficiaient de l'exsudation n'étaient pas entièrement connues* ». Ils démontrent que les plantes peuvent modifier la concentration de métabolites soit en contrôlant les processus source/puits, soit en exprimant et en régulant les transporteurs d'efflux. Leur étude s'insère dans le cadre des interactions plantes-microorganismes. **À ce jour, nous n'avons pas trouvé d'étude mettant en évidence l'impact de la présence d'une plante sur la rhizodéposition en nutriment d'une autre plante.** Le schéma bilan numéro 3 est présenté en **figure 53**.

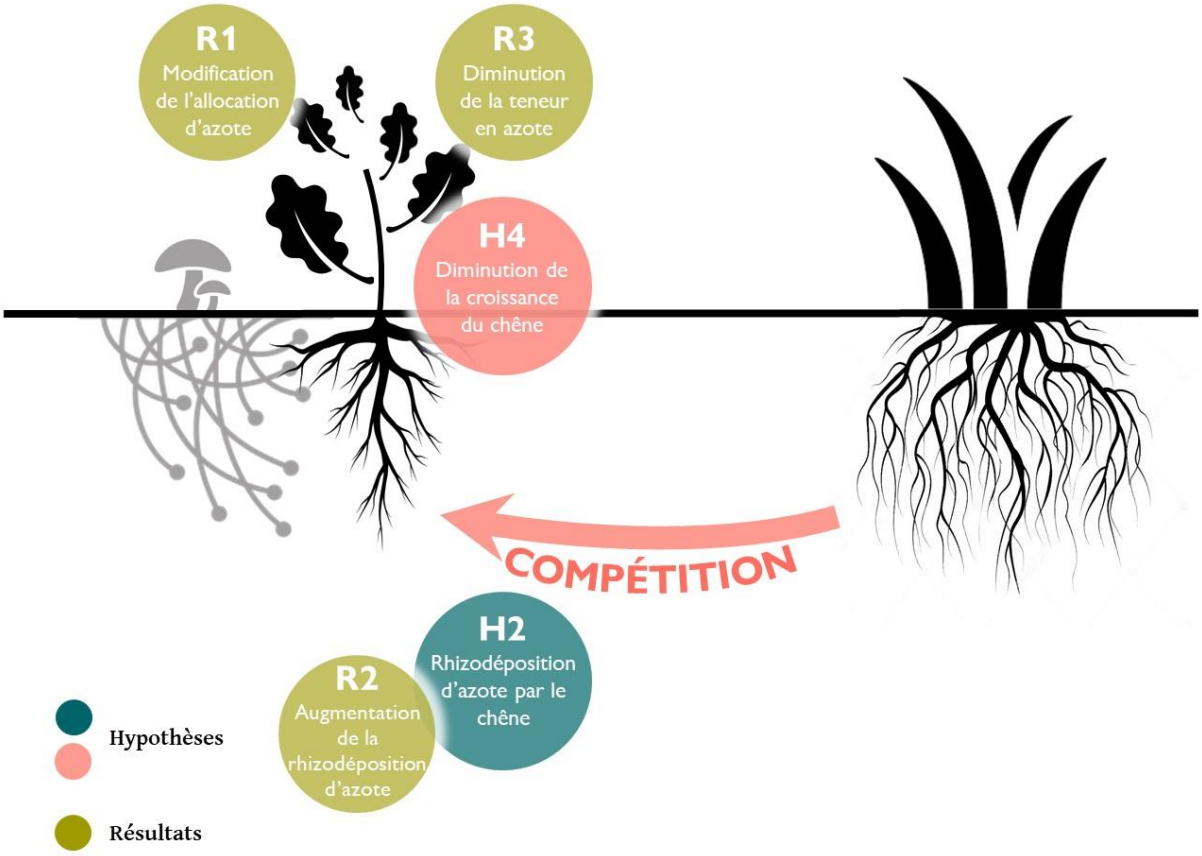


Figure 53. Schéma bilan 3

En conclusion, nos résultats remettent en cause la théorie selon laquelle les plantes non fixatrices d'azote ne rhizodéposent pas de manière active et significative. Ils mettent aussi en exergue que le processus de rhizodéposition d'azote dépend de la présence et de l'identité du voisin. Et enfin, ils renforcent l'idée mise en évidence cette dernière décennie selon laquelle l'exsudation des racines n'est pas un processus passif non-régulé. Des études approfondies seraient nécessaires pour mieux comprendre la régulation de ce mécanisme.

7.1.4. Diminution du taux d'ectomycorhization du chêne en présence de molinie

Les ectomycorhizes du chêne font parties des cibles de la molinie : le nombre de racines latérales et le taux d'ectomycorhization sont fortement réduits chez les chênes étant placés dans le même pot qu'une molinie. La biomasse racinaire plus faible de ces chênes peut donc s'expliquer par la diminution du taux de ramification. L'effet négatif des plantes herbacées sur le taux de racines latérales entrainant une diminution de la croissance des jeunes arbres a été mis en évidence dans d'autres études (Schroth 1999; Harmer et Robertson 2003; Schaller et

al. 2003; Collet et al. 2006). La diminution du nombre de racines latérales réduit la surface d'échange avec le sol ainsi que le volume de sol exploré (Fitter et al. 1991). La plante devient alors moins performante dans l'acquisition des ressources souterraines (Duque et Villordon 2019). Contrairement à nous, Jastrow et Miller (1993) ont montré qu'une plante, *Coreopsis*, avait un nombre de racines latérales pratiquement deux fois plus important en présence de voisins hétérospécifiques. La colonisation mycorhizienne était également plus importante. Cependant, un certain nombre d'études ont montré que certaines espèces avaient un effet allélopathique sur la formation de racines latérales et la longueur racinaires des plantes voisines (Horsley 1977; Pardales et al. 1992; Chon et al. 2002; Amoo et al. 2008; Hossain et al. 2016). Ils n'ont toutefois pas identifié les mécanismes impliqués dans cette inhibition. Dans notre cas, des études supplémentaires pourraient être réalisées afin d'identifier les familles de molécules libérées par la molinie et altérant l'initiation et la formation des racines latérales.

Concernant les ectomycorhizes, nous montrons que leur quantité est plus de 2 fois moins importante en présence de molinie. N'ayant pas identifié les espèces de champignons colonisant le chêne, nous ignorons si, comme dans l'étude de Timbal et al. (1990), la richesse spécifique est elle aussi impactée. La diminution du taux d'ectomycorhizes peut être due à différentes raisons : (i) la molinie peut avoir un effet négatif sur la croissance des champignons qui colonisent le chêne (Nilsson et al. 1993, *E. hermaphroditum* sur *P. involutus*), (ii) la molinie peut altérer le processus de reconnaissance moléculaire entre les racines du chêne et les hyphes, (iii) les chênes en présence de molinie perdent leur potentiel symbiotique en ne parvenant pas à être des hôtes suffisamment bénéfiques pour les champignons. Ceux-ci préfèrent alors ne pas investir d'énergie dans la colonisation avec le jeune arbre qui ne leur fournirait pas ou peu de nutriments carbonés. De plus, il est possible que la quantité d'azote dans le sol soit fortement amoindrie par la présence de molinie, et que le champignon n'ait pas d'intérêt, ou ne puisse pas en fournir à son hôte (Weremijewicz et al. 2016). L'hypothèse (i) a été explorée et a mis en évidence un taux d'ectomycorhization plus faible chez des chênes (seuls en pot) ayant reçu du macérat d'exsudats racinaires de molinies que chez des chênes ayant reçu de l'eau. Nous avons donc examiné l'effet allélopathique de la molinie sur la croissance du chêne. Le schéma bilan numéro 4 est présenté en **figure 54**.

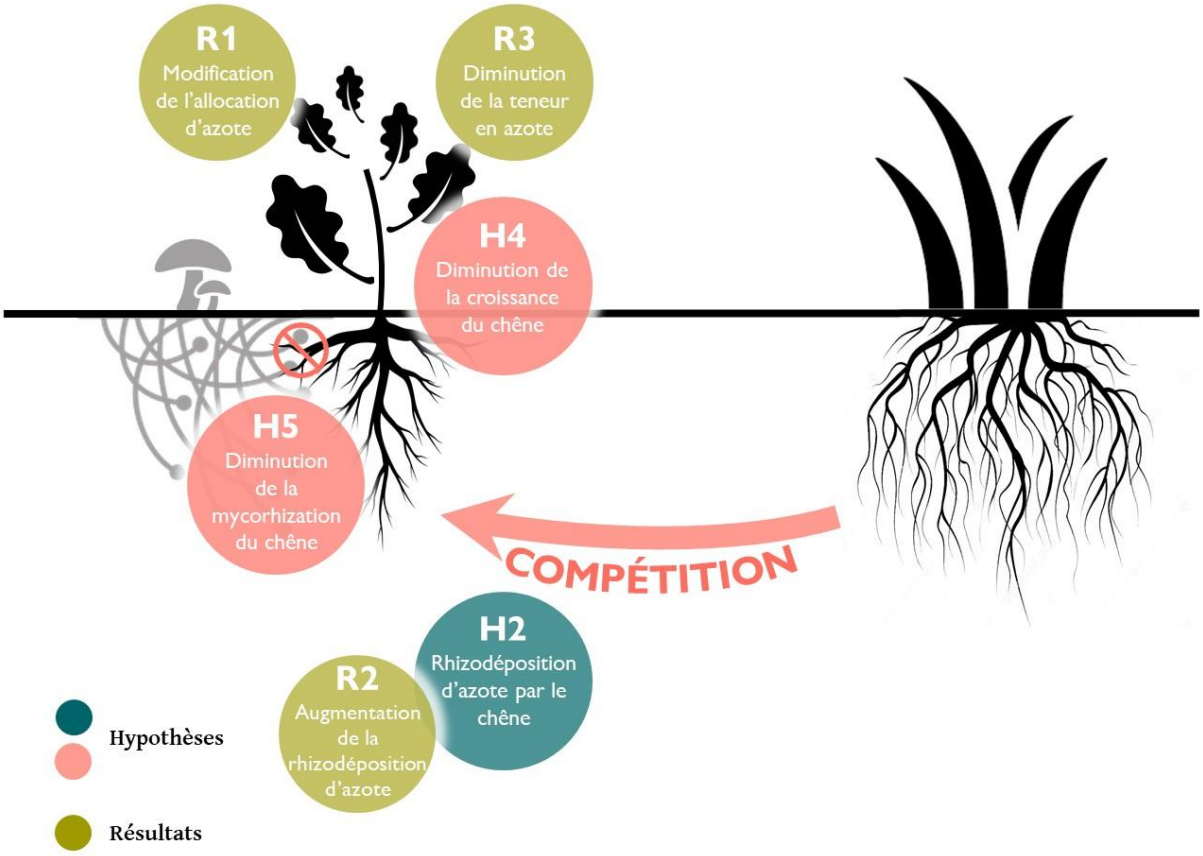


Figure 54. Schéma bilan 4

7.1.5. L'allélopathie est-elle une forme de compétition de la molinie sur le chêne ?

Les propriétés allélopathiques de la molinie ont été suggérées dans peu d'études (Becker et Lévy 1982; Timbal et al. 1990). La première expérimentation sur la caractérisation de l'effet allélopathique (2017) a mis en évidence une inhibition de la croissance racinaire, mais l'accroissement relatif du chêne entier (racines + parties aériennes) n'a pas été significativement réduit. Lors de la deuxième expérimentation, nous avons étudié différentes combinaisons de compétition. Lorsque les deux espèces sont placées dans le même pot, les deux principaux types de compétition sont impliqués : la compétition pour les ressources (*i.e.* exploitation) et la compétition *via* les composés allélochimiques (*i.e.* allélopathie). Le fait de placer les espèces dans des pots différents et d'appliquer des exsudats racinaires de molinie sur le chêne a permis d'analyser l'importance relative des deux modes de compétition. La deuxième expérimentation (2018) n'a pas mis en évidence d'effet significatif des exsudats racinaires sur la croissance, mais l'accroissement relatif des chênes en ayant reçus était tout de même réduit de 17% tandis

que ceux placés dans le même pot qu'une molinie l'était de 50%. **La compétition par exploitation est alors responsable d'une diminution de 33% de l'accroissement relatif du chêne. Dans notre étude, la compétition par exploitation a donc eu un effet négatif supérieur à l'allélopathie**. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans d'autres études (Nilsson 1994; Fernandez et al. 2016). Les chênes ayant reçus des exsudats racinaires d'autres chênes avaient un accroissement relatif supérieur aux chênes n'en ayant pas reçus. Nous n'avons toutefois pas identifié d'augmentation de la biomasse des chênes en présence d'autres chênes lors de l'expérimentation sur les transferts d'azote, mais leurs conditions de croissance difficiles ont plausiblement biaisé les analyses. Par ailleurs, les transferts d'azote du chêne vers un autre chêne sont plus faibles que ceux du chêne vers la molinie. **Il serait d'intéressant d'approfondir les interactions entre jeunes chênes, notamment de déterminer la nature des composés qu'ils rhizodéposent pour comprendre s'ils ont un effet bénéfique sur leurs voisins conspécifiques.**

L'analyse des rhizodépôts de la molinie ayant un effet allélopathique sur le chêne reste exploratoire. La nature des métabolites secondaires varie selon la technique utilisée pour produire des exsudats racinaires, sans que nous ayons pu les identifier. Dans les deux cas (macérat et hydroponie), les molinies utilisées n'étaient pas en contact avec un chêne, or, les végétaux sont capables de détecter la présence d'un voisin conspécifique ou hétérospécifique et de produire en conséquence une quantité de composés allélochimiques plus importante pour altérer la performance des compétiteurs (Kong et al. 2018). Ainsi, nous pouvons faire **l'hypothèse que la molinie détecte la présence du chêne et en réponse, rhizodépose des composés pouvant modifier le fonctionnement du jeune arbre et *in fine,* lui nuire**. Ceci corrobore le fait que l'activité de rhizodéposition azotée du chêne dépend de la présence et de l'identité du voisin. Le schéma bilan numéro 5 est présenté en **figure 55**.

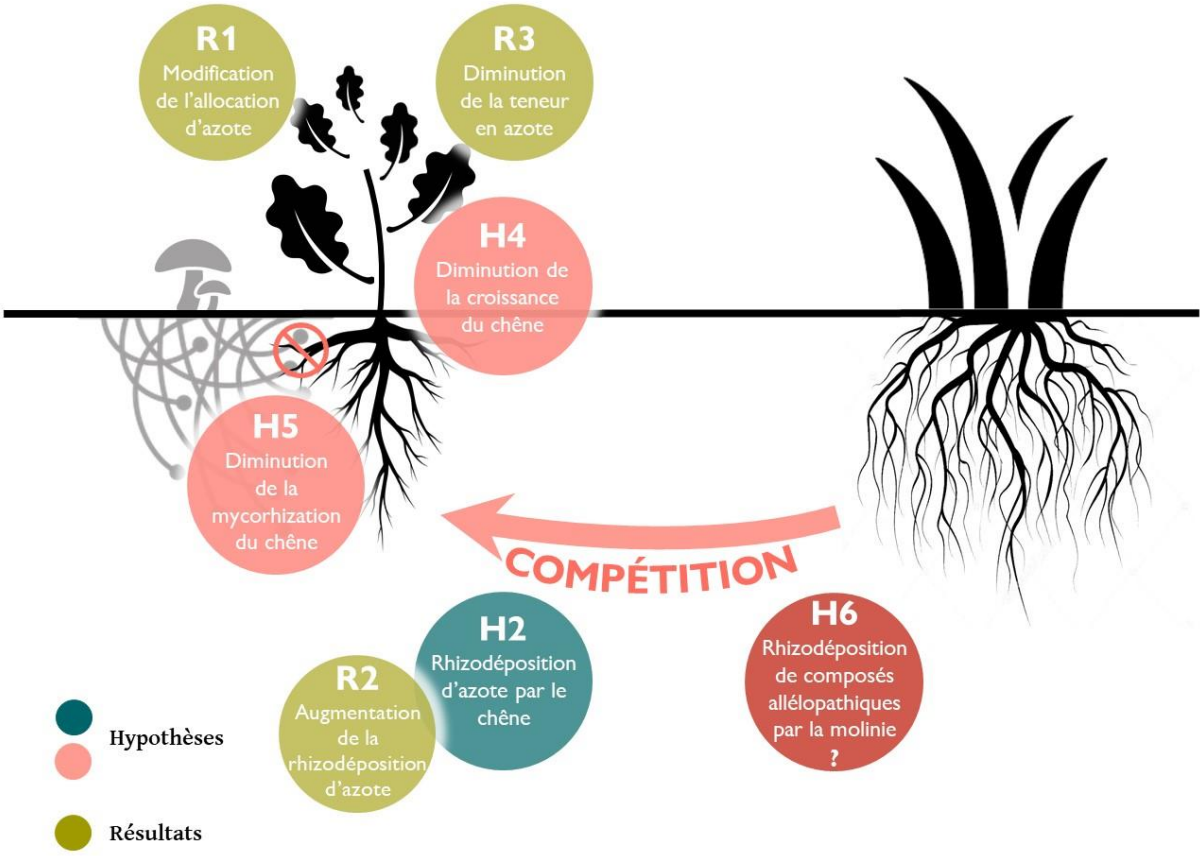


Figure 55. Schéma bilan 5

Le chêne met en place une stratégie conservative de l'azote pour survivre à la présence de molinie. Cette stratégie est toutefois compromise sur le long terme dans la mesure où les ressources du sol, déjà largement exploitées par la poacée, deviennent difficiles d'accès à cause de son système racinaire affaibli. Il apparait crucial de comprendre comment la molinie nuit aux jeunes chênes pour mieux caractériser l'interaction entre ces deux espèces.

7.2. Réponses écophysiologiques de la molinie à la présence de chêne : effet de la facilitation du jeune arbre sur la poacée

Un adage populaire suggère qu'il faut connaitre ses amis, mais encore plus ses ennemis. Pour mieux appréhender les effets de la molinie sur le jeune chêne, il faut comprendre le fonctionnement de la molinie. Il est connu que le chêne répond à la présence de la molinie et nos expérimentations ont permis d'identifier de nouveaux mécanismes pour expliquer l'effet de compétition, mais l'effet du chêne sur la molinie a été moins étudié. Vernay et al. (2018a) ont montré que la canche cespiteuse avait une croissance supérieure en présence de chêne. Ici,

nous mettons en évidence que la présence de chêne favorise la dynamique de croissance de la molinie, mais aussi que l'allocation de biomasse entre les parties souterraines et aériennes dépend de la présence du jeune arbre.

7.2.1. Augmentation de la biomasse de molinie en présence de chêne

Dans les expérimentations menées durant la thèse, **la biomasse des parties aériennes de la molinie était systématiquement supérieure en présence de chêne, et ce, dès les premiers mois d'interaction**. En revanche, lors des récoltes réalisées pendant la période de croissance, la biomasse du système racinaire était équivalente entre les molinies placées seules et celles placées avec un chêne. Nous avons montré que le ratio racines/parties aériennes de la molinie était plus de 3 fois plus faible en présence de chêne (1,58 ± 0,33 en pots séparés contre 0,45 ± 0,06 dans le même pot qu'un chêne). Vernay et al. (2016) ont montré qu'à un fort niveau de luminosité, la molinie avait une capacité d'absorption d'azote et une activité photosynthétique plus élevée que sous ombrage. La molinie investit donc plus de biomasse dans les parties aériennes lorsqu'elle est en présence de chêne, probablement dans le but d'accroître son activité photosynthétique (Ågren et Ingestad 1987). Après 9 mois, les ratios étaient de 1,35 ± 0,22 et 1,39 ± 0,14 en absence et en présence de chêne, respectivement. La biomasse des parties aériennes était identique entre les deux récoltes. En revanche, les racines avaient une biomasse plus importante à la seconde récolte. **Il est probable que les chênes issus de pépinière, chargés en azote, se soient comportés comme de bons « fertilisants » azotés pour la molinie**. Les premiers mois, la molinie profite de l'apport en nutriments *via* la rhizodéposition du chêne pour développer son système aérien. Lorsque les nutriments sont suffisamment disponibles, il n'est pas nécessaire pour certaines plantes d'investir de l'énergie dans l'accroissement du système racinaire (Graciano et al. 2005; Jacobs et al. 2005; Kobe et al. 2010; Ward et al. 2015). Au contraire, elles utilisent ces ressources disponibles dans leur rhizosphère pour favoriser le développement foliaire. Dans tous les cas, la biomasse totale de la molinie est supérieure en présence d'un jeune chêne. Dans le même temps, la **molinie semble épuiser les chênes et ralentir leur croissance. Ils perdent alors probablement leur potentiel fertilisant et, pour maintenir une biomasse aérienne développée, la molinie doit prospecter une plus grande partie de sol, expliquant une biomasse racinaire plus importante par la suite.** La taille des pots a également pu avoir une influence sur la croissance des molinies : lorsqu'elles sont placées avec un chêne, le volume de sol est 2 fois plus important que lorsqu'elles sont seules, pouvant expliquer une augmentation de la croissance. Le schéma bilan numéro 6 est présenté en **figure 56**.

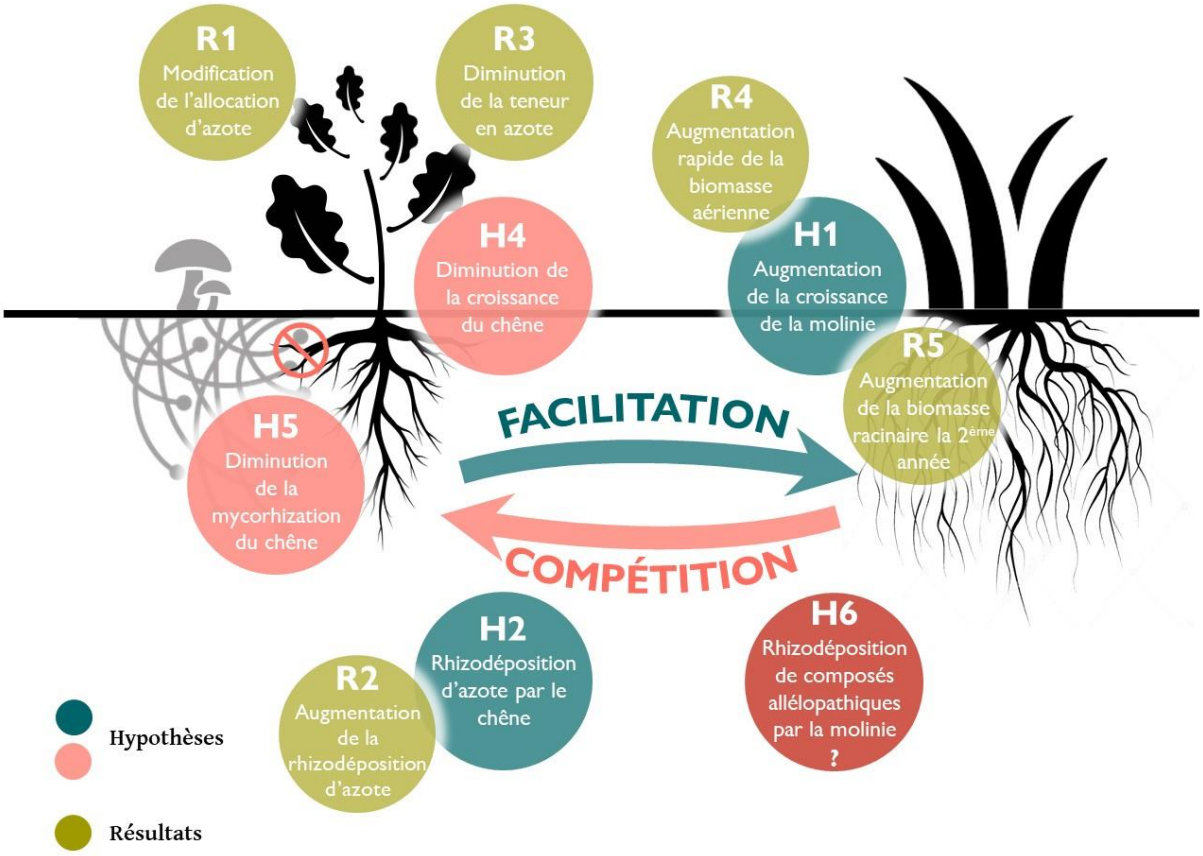


Figure 56. Schéma bilan 6

7.2.2. Absorption de l'azote rhizodéposé par le chêne

Le transfert d'azote d'un arbre fixateur d'azote vers une herbacée et l'augmentation concomitante de la biomasse de celle-ci ont été mis en évidence dans différentes études (Sierra et Nygren 2006; Sierra et al. 2007; Jalonen et al. 2009). Or, ici, nous avons mis en évidence un transfert d'azote rapide depuis un jeune arbre non-fixateur d'azote vers une herbacée. Ces transferts d'azote ont été rapidement bénéfiques à la croissance de la molinie. Nous faisons aussi l'hypothèse que la molinie contrôle en partie l'activité de rhizodéposition du chêne permettant d'accroître l'efflux d'acide aminé, d'autant plus que la molinie les absorbe rapidement (Persson et Nasholm 2001). Les transferts de nutriments entre espèces peuvent aussi avoir lieu *via* un réseau commun de mycorhizes (Simard et Perry 1997; He et al. 2003, 2006) mais dans le cas du chêne et de la molinie, nous émettons l'hypothèse que la probabilité de partager des mycorhizes communes est faible car la molinie est uniquement colonisée par des endomycorhizes et, à notre connaissance, le chêne sessile l'est uniquement par des ectomycorhizes. De plus, la molinie nuit grandement aux mycorhizes du chêne.

Nos résultats remettent alors non seulement en cause la théorie selon laquelle les plantes non fixatrices d'azote ne rhizodéposent pas de manière active et significative, mais aussi la théorie selon laquelle ces rhizodépôts sont en quantité trop faible pour favoriser les voisins. Nous mettons aussi en évidence la **stratégie opportuniste de la molinie** : elle accroît le processus de rhizodéposition du chêne et absorbe très rapidement ses composés azotés au bénéfice de la croissance de ses parties aériennes. Le chêne, qui préserve l'azote qu'il lui reste pour son développement foliaire l'année suivante, n'est plus un aussi bon fertilisant, obligeant la molinie à accroître son système racinaire pour la prospection des ressources du sol. Le schéma bilan numéro 7 est présenté en **figure 57**.

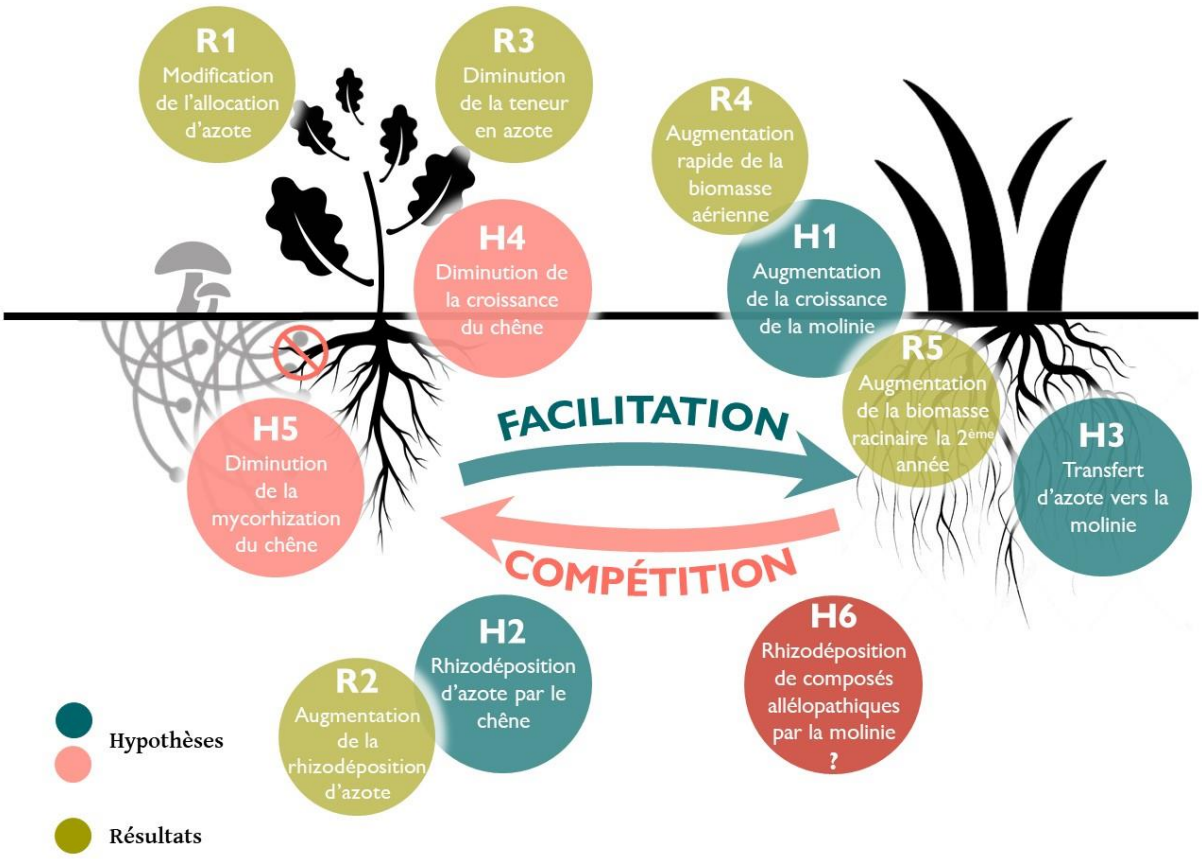


Figure 57. Schéma bilan 7

Le transfert d'azote du chêne vers la molinie permet d'expliquer, en partie, l'interaction de **facilitation** de la molinie par le chêne, mais d'autres nutriments et d'autres mécanismes peuvent être impliqués.

7.2.3. Les rhizodépôts azotés de la molinie

À l'inverse, **la molinie transfère très peu d'azote au chêne**. Nous avons effectué une récolte en été et au printemps suivant, et n'avons pas mis en évidence de modification de l'allocation ou de l'activité de rhizodéposition de la molinie en présence de chêne. De plus, contrairement au transfert du chêne vers la molinie, l'espèce receveuse n'est pas facilitée. Ceci nous permet de mettre en évidence que **les transferts d'azotes sont bidirectionnels mais grandement asymétrique entre le chêne et la molinie**. Le chêne fournit une quantité d'azote non négligeable à la molinie, lui permettant d'accroître son développement tandis que la molinie en fournit une très faible quantité et entraine une diminution de l'accroissement du chêne.

7.2.4. La molinie a-t-elle un effet auto-allélopathique ?

Dans l'expérimentation de 2018 portant sur l'effet des exsudats racinaires et la présence physique des plantes sur les autres plantes, les valeurs d'accroissement relatif de la molinie étaient moins contrastées que celles du chêne. L'apport d'exsudats racinaires de molinie a eu une légère tendance à diminuer l'accroissement relatif des molinies. Ceci suggère que **la molinie pourrait émettre des composés ayant un effet négatif sur sa propre croissance et/ou celles de ses voisines**. L'auto-allélopathie est un mécanisme qui a été décrit chez diverses espèces de plantes (Yu et al. 2003; Mafeo et Mashela 2010; Jamshidi et al. 2011), mais pour l'instant, **hormis les études de Vernay (2017) montrant que plus la densité de molinie est importante, plus sa croissance est faible, aucune étude n'a mis en évidence que la molinie avait un effet auto-compétiteur**. Les exsudats racinaires de chênes, eux, n'ont pas eu d'effet sur la molinie. Au contraire, la présence du chêne dans un même pot était la condition où l'accroissement relatif des molinies était le plus important. Nous ignorons la nature des composés se trouvant dans les exsudats racinaires, mais nous avons mis en évidence qu'elle était différente entre le chêne et la molinie. La composition des solutions d'exsudats racinaires et leurs effets dépendent donc à la fois de l'identité des espèces considérées et de celles qui les reçoivent. Le schéma bilan numéro 8 est présenté en **figure 58**.

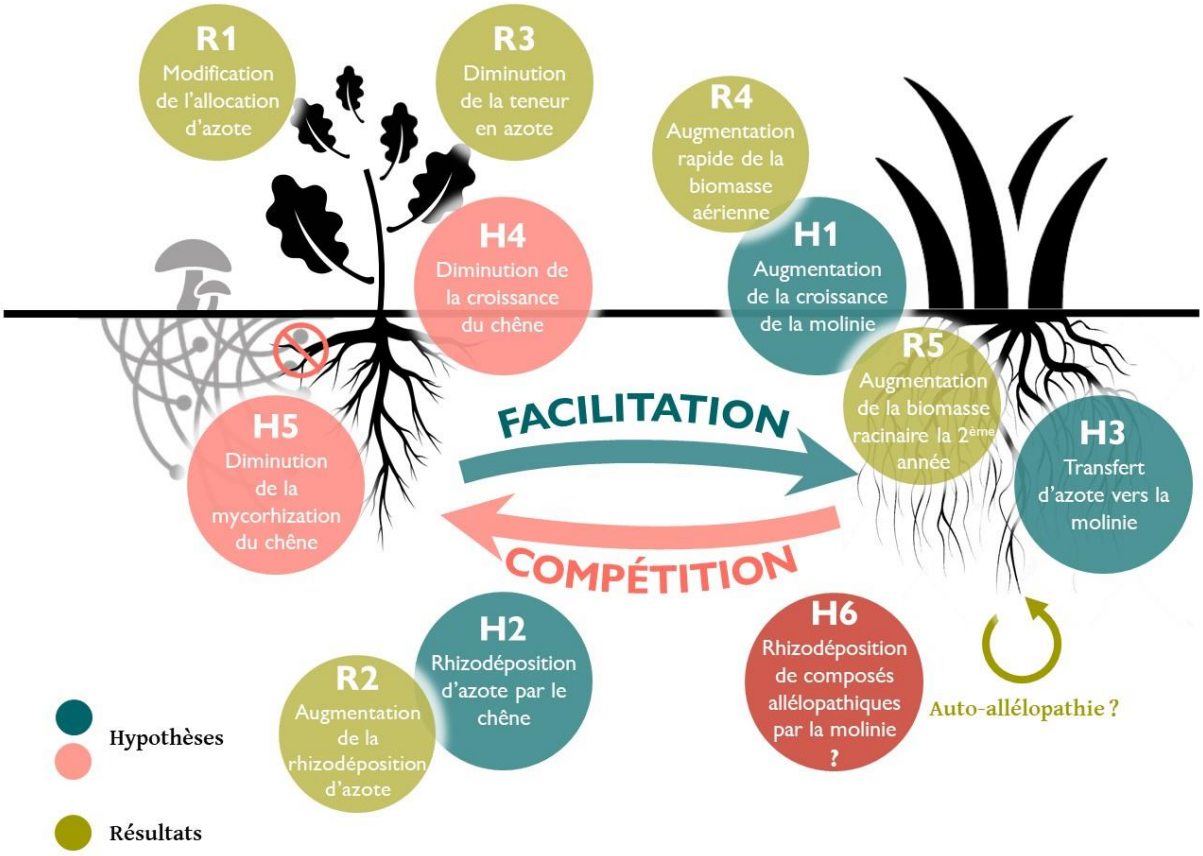


Figure 58. Schéma bilan 8

De manière générale, nous avons mis en évidence que les végétaux interagissaient et répondaient spécifiquement à la présence d'un voisin. Entre le chêne et la molinie, les réponses sont opposées. La molinie est favorisée par la présence de chêne qui lui fournit de l'azote et probablement d'autres nutriments. Dans le même temps, elle inhibe la croissance et la mycorhization du chêne. Finalement, les interactions entre le chêne et la molinie sont **antagonistes**, mais des études sur le plus long terme permettraient d'établir si cette relation est durable ou si le chêne finit par dépérir après avoir profité à la molinie.

7.3. Les autres expérimentations menées durant la thèse

7.3.1. L'absorption d'azote minéral par les racines excisées : effet croisé de la présence d'un voisin et de fongicide

Cette partie et la suivante ont été l'objet du stage de Master 2 – Recherche de Sirine Roumani (**Annexe**). L'objectif était d'analyser l'effet des mycorhizes sur l'absorption d'azote minéral ainsi que l'effet de la présence d'un voisin hétérospécifique sur le chêne et la molinie.

L'hypothèse était que l'application de fongicide (Cherokee®) entrainerait une diminution dans la capacité d'absorption racinaire du nitrate et de l'ammonium. De même, la présence de molinie dans un même réduirait les capacités d'absorption d'azote minéral chez le chêne. Le nitrate et l'ammonium sont les formes d'azotes préférentiellement absorbées par les végétaux.

La croissance des espèces ayant reçu du fongicide a été fortement réduite, particulièrement celle de la molinie. **Chez les deux espèces, quelle que soit l'absence ou la présence de fongicide, l'absorption du nitrate était plus faible que celle de l'ammonium**. Nous avons aussi mis en évidence que **l'absorption des deux formes d'azote minéral était plus forte sur les racines excisées des chênes et des molinies ayant été seuls en pot, suggérant un effet de compétition réciproque entre les deux espèces**. Or, cette hypothèse est rendue très peu probable par les résultats des études précédentes ainsi que nos autres expérimentations, qui ont montré un effet net de facilitation du chêne sur la molinie. De plus, le fongicide a non seulement fortement altéré la croissance de la molinie, mais aussi son influx racinaire. Nous n'avons pas effectué d'analyse endomycorhizienne de la molinie, mais il est probable qu'elles aient été fortement impactées par le fongicide, diminuant ainsi leurs capacités d'absorption de l'azote. Le fait que la molinie ait été beaucoup plus impactée que le chêne par le fongicide a vraisemblablement réduit son potentiel compétitif et modifié la nature des interactions entre les deux espèces. Des études supplémentaires seraient nécessaires pour comprendre si la diminution de croissance de la molinie s'explique par une forte diminution de sa colonisation endomycorhizienne ou si le fongicide utilisé a eu aussi un effet graminicide. Nous pouvons aussi nous poser la question de la méthodologie utilisée : Lucash et al. (2007) soulignent que les mesures d'influx sur racines excisées peuvent induire des modifications dans l'activité d'absorption des racines et ainsi biaiser l'interprétation des résultats.

Nos autres analyses ont tout de même permis de mettre en évidence que la molinie induisait une diminution du taux d'ectomycorhization du chêne et qu'en parallèle, la teneur en azote du chêne était réduite. Ceci met en exergue l'implication des mycorhizes dans l'absorption de l'azote chez le jeune arbre.

7.3.2. Expérimentation en forêt : effet croisé de la lumière et de la densité de molinie

Lors du stage de Sirine Roumani, nous avons aussi mené des expérimentations en forêt domaniale de Vierzon. **Nous testions l'effet du niveau de luminosité (4 niveaux) arrivant dans le sous-bois et de densité (3 niveaux) de molinie sur la croissance et la mycorhization**

du chêne. Nous avons fait l'hypothèse que plus la luminosité était élevée, plus la mycorhization était importante. Dans le même temps, **nous avons émis l'hypothèse que la molinie se développait mieux sous un haut niveau de lumière pouvant finalement mettre à mal la mycorhization du jeune chêne dans son milieu naturel**. En milieu forestier, Hengodage et al. (2016) ont remarqué que la colonisation mycorhizienne des racines de canches augmentait après une récolte d'arbres et ce résultat était positivement corrélé avec la teneur en azote dans les parties aériennes. Ils mettent en évidence un effet positif de la lumière sur la colonisation des racines, qui a aussi été démontré dans d'autres études (Furlan et Fortin 1977; Konvalinková et Jansa 2016), et le rôle des champignons dans l'absorption de nutriments. Ceci pourrait expliquer en partie pourquoi, à un fort niveau de luminosité, la molinie absorbe plus d'azote et est d'autant plus compétitive pour le chêne (Vernay et al. 2016). D'autre part, nous avons testé l'hypothèse émise par Vernay (2017), selon laquelle à partir d'une certaine densité de molinie (canche, dans la thèse de Vernay), celle-ci devenait compétitive envers ses voisines entrainant une diminution de sa croissance et de son potentiel négatif sur le chêne.

L'analyse des mycorhizes n'a pas pu être réalisée à cause des conditions météorologiques défavorables aux jeunes chênes. Lorsque nous avons effectué la plantation en avril, les sols étaient ennoyés. S'en est suivi un été particulièrement sec, entrainant le dépérissement de nombreux jeunes chênes. Nous avons effectué des mesures régulières de croissances sur les plants de chênes et de molinies. **Les diamètres des chênes et la longueur des parties aériennes de la molinie tendaient à diminuer plus la densité de cette dernière était élevée**. Ceci appuie l'idée que la molinie a un effet auto-compétitif sur elle-même, probablement dû à l'effet de compétition pour les ressources, mais aussi à ses propres rhizodépôts, potentiellement allélochimiques. Malgré cette compétition intraspécifique, la compétition interspécifique n'a pas été réduite, renforçant l'idée que la molinie rhizodépose des composés nocifs à elle-même et au chêne, et conserve ainsi son fort potentiel compétiteur. Curieusement, les chênes placés sous un faible niveau de luminosité tendaient à avoir un diamètre supérieur à ceux placés aux niveaux de luminosité moyen et fort. Les longueurs des chênes placés à un niveau de luminosité moyen étaient plus faibles que les autres. **Ceci suggère qu'il y a un niveau de luminosité optimal pour la croissance des chênes.** Pour les molinies, l'effet de la luminosité est moins net sur la longueur de ses parties aériennes. Il pourrait également être intéressant d'étudier l'effet croisé de la luminosité, de la disponibilité en eau et de la densité de molinie sur la croissance du chêne et de la molinie elle-même.

Des expérimentations en forêt pourraient être de nouveau mises en place mais elles nécessitent des conditions environnementales moins défavorables que celles rencontrées. Elles permettraient d'établir un niveau optimal de luminosité et de densité de molinie pour favoriser la croissance et la mycorhization du chêne. Nous pourrions également étudier les transferts d'azote en condition naturelle, d'autant que des études ont mis en évidence que ceux-ci dépendaient du niveau de luminosité (Weremijewicz et Janos 2013; Weremijewicz et al. 2016, 2018). Toutefois, nos expérimentations réalisées en pot montrent que la molinie ne laisse pratiquement aucune chance de survie au chêne. En plus de la compétition pour l'exploitation des ressources, elle puise dans les propres stocks d'azote du chêne et altère son ectomycorhization. Nous pouvons aussi se demander si finalement, en condition naturelle, le gland a une chance de germer : il doit faire face à l'ombrage imposé par le feuillage dense de la molinie et la quantité limitée de ressources. La présence des adultes influence également les interactions des espèces du sous-bois (Deniau 2016). En effet, selon leur densité, le niveau de luminosité arrivant dans le sous-bois va varier, de même que la disponibilité des ressources du sol, mais d'autres mécanismes interviennent. La chute des feuilles des arbres et leur décomposition vont modifier la composition chimique de la litière. Or, il est probable que soient relarguées des molécules ayant un effet allélopathique sur les herbacées (Hashoum et al. 2017). La grande quantité de facteurs impliqués dans les interactions rend la gestion forestière particulièrement complexe. De plus, des études ont montré que les éclaircies n'impactaient pas uniquement la disponibilité des ressources, elles modifient aussi la biodiversité mycorhizienne (Hengodage et al. 2016; Varenius et al. 2016), de manière favorable ou défavorable selon l'espèce considérée. Dans tous les cas, si l'on ne permet pas aux jeunes chênes de s'installer pendant quelques années sans la présence de molinie, il y a peu de chance que ces semis deviennent des arbres adultes, ou en tous cas, des arbres de bonne qualité.

7.4. Perspectives sur les facteurs et processus à considérer pour mieux comprendre les interactions écologiques entre le jeune chêne et la molinie

Les relations entre végétaux font très souvent intervenir d'autres acteurs, qui peuvent influencer la nature et l'amplitude des interactions. Avec près de 170 000 espèces différentes, le sol est un « écosystème » majeur dans l'influence des processus écosystémique (Wall et Moore 1999; Wardle 2006).

7.4.1. Les facteurs biotiques

7.4.1.1. Les mycorhizes

Les observations mycorhiziennes réalisées pendant la thèse étaient seulement quantitatives. A la loupe binoculaire, quelques observations de *Cenococcum geophilum* ont été faites, mais par manque d'expertise, les autres espèces symbiotiques n'ont pas pu être identifiées. Pourtant, il est probable que la molinie influence aussi la biodiversité fongique du chêne (Timbal et al. 1990). Aujourd'hui, l'identification des espèces mycorhiziennes est presque exclusivement réalisée par des méthodes moléculaires telles que la métagénomique ou la protéomique, c'est-à-dire, par analyse du contenu génétique ou protéique (Crossay et al. 2017; Fernández Bidondo et al. 2018). L'identification et la quantification de la richesse spécifique de mycorhize peuvent aussi avoir lieu avec des analyses du sol (Ngosong et al. 2012). En plus d'étudier l'effet de la molinie sur la biodiversité fongique du chêne, une comparaison des racines mycorhizées des deux espèces pourrait être réalisée pour déterminer si elles partagent un réseau mycorhizien. Dickie et al. (2004) ont montré que *Helianthemum bicknellii*, une herbacée pérenne de la famille des cistacées partageait des ectomycorhizes avec des jeunes chênes. Ils ont aussi mis en évidence que de jeunes chênes rouges pouvaient être colonisés par des endomycorhizes bien que celles-ci n'aient pas eu d'effet positif sur le jeune arbre. Le partage d'un réseau commun de mycorhizes n'est toutefois par nécessairement bénéfique aux espèces connectées (Teste et Simard 2008). Dans certains cas, ce partage mycorhizien accentue la compétition asymétrique entre deux espèces (Merrild et al. 2013; Weremijewicz et Janos 2013; Weremijewicz et al. 2016, 2018). Lors des analyses préliminaires réalisées sur le chêne sessile et la molinie bleue, aucune endomycorhize n'a été observée sur les racines du jeune arbre, de même aucune ectomycorhize n'a été observée dans les racines de l'herbacée. **Les études moléculaires sur les racines ainsi que dans le sol permettraient de déterminer (i) si la molinie a un effet sur la biodiversité mycorhizienne du chêne et si (ii) le chêne et la molinie partagent un réseau commun de mycorhizes pouvant être impliqué dans le transfert de nutriments.**

7.4.1.2. Les micro-organismes du sol

Dans les études sur les végétaux, le sol est parfois considéré comme une simple source d'éléments nutritifs pour les plantes alors qu'il s'agit en réalité d'un écosystème complexe abritant des bactéries, des champignons, des protistes et des animaux (Müller et al. 2016). Kopriva et al. (2017) soulignent que les méconnaissances sur le sujet sont souvent à l'origine

de l'exclusion d'un ou plusieurs facteur(s) dans l'analyse des interactions. Cette imprécision est due à deux lacunes majeures dans les connaissances : (i) **les stratégies qu'utilisent les plantes pour recruter des microorganismes bénéfiques ne sont pas claires** ; et (ii) **peu de choses sont connues sur la nature des microorganismes s'avérant être les meilleurs partenaires pour la nutrition (N, P et S) des plantes**. Pourtant, dans l'étude des interactions de compétition et de facilitation entre plantes, les microorganismes peuvent avoir un rôle majeur. Si en règle générale les plantes s'associent avec des partenaires pouvant accroître leur capacité à acquérir des nutriments (Jones et al. 2005; Tarquinio et al. 2018), certains peuvent entrainer une compétition pour l'absorption de l'azote minéral et organique du sol (Kaye et Hart 1967; Owen et Jones 2001). Kuzyakov et Xu (2013) démontrent que les microorganismes peuvent rapidement piéger l'azote du sol (et probablement d'autres éléments nutritifs) le rendant indisponible pour les végétaux. Les microorganismes influencent donc la santé et la croissance des plantes et réciproquement, les plantes, par la rhizodéposition d'une grande variété de composés chimiques, déterminent la composition du microbiote de la rhizosphère (Huang et al. 2014; Hu et al. 2018). Ainsi, **les interactions entre plantes, qu'elles soient compétitrices ou facilitatrices, peuvent être influencées par les microorganismes** (Song et al. 2007; Hodge et Fitter 2013). Dans le cas des interactions chêne-molinie, nous pouvons faire l'hypothèse que la molinie va modifier la communauté rhizosphérique du chêne. Cette modification des microorganismes peut alors entrainer des changements fonctionnels et expliquer l'accroissement du processus de rhizodéposition de l'azote par le chêne. Leyval et Berthelin (1993) ont mis en évidence que l'inoculation de racines de pin et de hêtre avec des bactéries et des ectomycorhizes avait significativement modifié la quantité et la nature des rhizodépôts. D'un autre côté, Tückmantel et al. (2017) ont mis en évidence d'autres facteurs qui influençaient la rhizodéposition : par exemple, chez le hêtre, elle est plus importante dans les horizons superficiels du sol, où est localisée la plus importante concentration de biomasse microbienne. La morphologie racinaire (diamètre, surface, densité tissulaire…) a aussi un effet sur la rhizodéposition. La molinie modifie le taux de racines latérales ainsi que la longueur et la surface racinaire du jeune chêne (Vernay 2017), il est possible que cette modification morphologique accroisse l'activité de rhizodéposition du chêne.

Plus largement, **les microorganismes peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur la performance et le fonctionnement des plantes selon les conditions environnementales** telles que les sécheresses (Hawkins et Crawford 2018; Ulrich et al. 2019). Finalement, les interactions entre plantes semblent autant dépendre de leur(s) voisin(s) hétéro- ou

conspécifique(s), que des microorganismes et des conditions abiotiques. Il y a donc une interdépendance des facteurs impliqués dans les interactions, rendant l'analyse des systèmes particulièrement complexe.

7.4.2. Les facteurs abiotiques

D'après la théorie du Stress Gradient Hypothesis, les interactions sont dépendantes des propriétés abiotiques du milieu, c'est-à-dire que la nature des interactions entre plantes va dépendre du niveau de ressources abiotiques extérieures (lumière, eau, nutriment…). Selon que ce niveau soit faible ou important, l'interaction peut passer de la facilitation à la compétition et inversement. Plus largement, les interactions entre plantes dépendent d'une grande majorité de facteurs abiotiques extérieurs. Dans un contexte climatique changeant, la prise en compte des facteurs environnementaux est donc cruciale (van der Putten et al. 2016).

La rhizodéposition est un mécanisme particulièrement dépendant des conditions environnementales. Une augmentation de la concentration atmosphérique en dioxyde de carbone (CO_2), un des principaux gaz à effet de serre, entraine une augmentation de la rhizodéposition d'azote chez des espèces agronomiques comme le blé ou le maïs (Philipps et al. 2006; de Graaff et al. 2007). Il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude sur l'effet du CO_2 sur la rhizodéposition azotée des arbres forestiers. Kanakidou et al. (2016) soulignent que les activités anthropogéniques ont aussi tendance à accroître l'émission d'azote atmosphérique et son dépôt sur les terres et les océans. Or, la concentration en azote a aussi un effet sur la rhizodéposition carbonée (Bowsher et al. 2018).

Si beaucoup d'études se sont intéressées à la régulation et au fonctionnement de l'exsudation racinaire (Hale et al. 1971; Badri et Vivanco 2009), il reste un manque de connaissance de ces processus, particulièrement sur les jeunes arbres forestiers et sur l'effet que les plantes voisines peuvent avoir sur ce mécanisme.

7.4.3. Les voies de transferts souterraines et aériennes

Les analyses sur les flux d'azote ont mis en évidence que le sol était la principale voie de transfert entre deux végétaux. La mise en place des toiles, avec des mailles de tailles différentes, entre les systèmes racinaires du chêne et de la molinie nous a permis de suggérer que **les mycorhizes sont probablement des acteurs clés dans les processus de transfert d'azote dans l'interaction interspécifique**. Cependant, il est nécessaire, pour répondre à cette hypothèse, d'identifier et de quantifier la biodiversité mycorhizienne des racines du chêne et de

la molinie. Ceci permettrait de déterminer s'il existe un réseau commun de mycorhizes entre les deux espèces. **Il serait également intéressant de mesurer l'activité d'absorption des mycorhizes**. Nous savons que la molinie altère le taux d'ectomycorhization du chêne et nous avons observé en même temps une diminution de sa teneur en azote mais nous ne savons pas dans quelle mesure ceci a impacté sa capacité d'absorption de l'azote. Enfin, des études ont mis en évidence que les mycéliums, comme les racines, exsudaient des métabolites secondaires pouvant modifier la composition chimique et l'activité de minéralisation dans le sol (Van Hees et al. 2006; Calcagno et al. 2012). Ceci suggère que les hyphes spécifiques du chêne et de la molinie, avec leur activité d'exsudation, peuvent intervenir dans les interactions entre les deux espèces.

Lors des récoltes, nous avons porté une attention particulière à la séparation des plantes ayant reçues le cotton-wick et des plantes voisines. Deux postes ont ainsi été mis en place pour limiter les risques de contamination au ^{15}N. Malgré ses précautions, **nous avons mesuré une quantité non négligeable de ^{15}N dans les plantes qui étaient dans des pots séparés des plantes ayant reçues le cotton-wick. Plus curieusement, le ^{15}N mesuré dans les chênes voisins semblait être transloqué depuis les parties aériennes en été jusque vers les racines en automne, puis finalement dans le sol en hiver.** Dans les molinies voisines, la quantité de ^{15}N était significativement différente de zéro dans tous les compartiments, à chaque saison. Le fait d'en mesurer à chaque récolte et surtout d'observer des flux de ^{15}N dans la plante voisine depuis les parties aériennes a été particulièrement surprenant. En effet, bien que l'émission de composés organiques volatiles (VOC) soit bien connue (Rasmussen et Went 1964; Fehsenfeld et al. 1992; Guenther et al. 1995; Holzinger et al. 2000; Pierik et al. 2013), **très peu d'études ont mis en évidence que l'azote faisait partie des composés émis par les organes aériens** (Tukey 1966). À notre connaissance, **aucune étude n'a mis en évidence que cet azote pouvait être transféré par voie aériennes aux plantes voisines, ou dans quelle mesure le ^{15}N des plantes voisines receveuses était issu de la volatilisation d'azote du sol**. La capacité des plantes à absorber l'azote par les feuilles a été démontrée dans de nombreuses études (Wittwer et Teubner 1959; Eilers et al. 1992; Feng et al. 2015; Guo et al. 2017). Il serait donc intéressant de **quantifier et de qualifier les composés volatils azotés émis par les plantes et/ou par le sol** et surtout, dans quelle mesure ils peuvent être transférés et utilisés par la plante voisine.

L'analyse des composés émis par les plantes dans le milieu extérieur et surtout la manière donc ceux-ci influent sur les plantes voisines apparaissent fondamentales pour comprendre la nature des interactions entre les plantes.

7.4.4. Les métabolites secondaires émis par les plantes

Les analyses chimiques des exsudats racinaires du chêne et de la molinie ont permis de montrer des différences de composés. Malheureusement, les solutions d'exsudats racinaires étaient trop aqueuses pour pouvoir mettre en évidence des ions par la technique HPLC. De manière générale, il est selon moi primordial non seulement de **déterminer la nature de ces composés**, mais aussi **de comprendre leur mode d'action sur les plantes voisines**. En effet, les résultats obtenus dans la thèse soulèvent de nouvelles questions dans les mécanismes de communication plante-plante :

1. Les plantes produisent-elles, en réponse à un signal biotique ou abiotique, des composés induisant une modification de l'activité de rhizodéposition des plantes voisines ? Dans le cas des transferts d'azote du chêne vers la molinie, nous émettons l'hypothèse qu'ils sont en partie contrôlés par la molinie. Il est possible qu'elle identifie la présence d'un chêne suffisamment chargé en azote et que, *via* des rhizodépôts, elle accentue le mécanisme de rhizodéposition de composés azotés du chêne. Il s'agirait dans un premier temps de savoir si les métabolites secondaires produits par la molinie sont différents selon qu'elle soit seule, en présence d'un chêne chargé en azote ou en présence d'un chêne faiblement chargé en azote. Si la molinie est capable de distinguer le potentiel fertilisant de son voisin, cela expliquerait pourquoi la molinie n'a pas investi d'énergie dans la croissance racinaire la première année. Il est possible que l'énergie non investie dans la croissance du système racinaire le soit pour produire des composés accentuant la rhizodéposition. La deuxième année, repérant que le chêne, épuisé, n'était plus un bon fournisseur d'azote, la molinie a dû accroître son système racinaire pour accéder aux ressources et maintenir son important développement foliaire. Dans un second temps, il faudrait étudier l'effet des composés produits par la molinie sur la rhizodéposition du chêne.

2. La molinie rhizodépose-t-elle des composés ayant un effet auto-allélopathique ? La densité s'est avérée être un facteur qui pouvait limiter le développement de la molinie à tel point que la compétition intraspécifique devenait supérieure à la compétition interspécifique (Vernay 2017). Cette rétroaction négative peut être due à l'intensification de la compétition pour les ressources, mais aussi à de l'allélopathie. Il faudrait donc identifier les rhizodépôts émis par la molinie et analyser leur potentiel allélopathique non seulement sur le chêne, mais aussi sur elle-même.

Les plantes sont capables de réagir à la présence d'un voisin et cette propriété semble régie par des mécanismes chimiques. Au regard de la bibliographie, il semblerait que l'émission

de composés volatils et souterrains ait été sous-estimée, de même que leur effet sur les plantes voisines. Dans le cas des interactions chêne-molinie, le jeune arbre met en place des stratégies pour survivre à une molinie qui elle, met en place des stratégies pour mieux lui nuire tout en en tirant le maximum de bénéfice. Finalement, le chêne s'en retrouve affecté au contraire de la molinie qui a su mettre à profit l'azote qu'elle a puisé au chêne. Il s'agit alors d'une interaction antagoniste, qui est vraisemblablement éphémère car le jeune chêne a peu de chances de survivre.

7.4.5. Les limites des conditions expérimentales

Hodge (2009) écrit : « le contexte dans lequel la réponse est observée est aussi important que la réponse elle-même, et il ne faut pas mesurer l'un sans prendre dûment l'autre en compte ». Les expérimentations sur (i) les transferts d'azote, (ii) la mycorhization et (iii) l'allélopathie ont toutes été menées en pot. Or, le pot est un espace clos et fini ce qui influence la croissance, la morphologie, la mycorhization et probablement les échanges racinaires (Blair et Perfecto 2004; Tsakaldimi et al. 2009; Kawaletz et al. 2014). Dans l'expérimentation sur les transferts, les volumes de sol exploitable par les racines étaient deux fois moins importants dans les modalités « pots séparés » et « toile », que dans la modalité « même pot ». Il est possible que la molinie ait tiré profit de cet espace supplémentaire pour accroître son système racinaire la deuxième année, justifiant que sa biomasse soit plus importante en modalité « même pot » qu'en modalité « pots séparés ». De plus, avec la mise en place du système d'irrigation, la quantité d'eau n'était pas limitante, ce qui n'est pas toujours le cas dans les conditions naturelles. La disponibilité en eau est pourtant l'un des facteurs qui influence le plus les interactions végétales, en particulier entre les semis et les herbacées du sous-bois (Gordon et al. 1989; Quinteros et al. 2017; Vernay 2017). Nous avons cependant utilisé du sol forestier prélevé dans une chênaie à molinie. Ce sol n'est pas enrichi en azote et autres nutriments, et il contient les microorganismes, en particulier les champignons, qui vont coloniser naturellement les racines des chênes et des molinies. La richesse spécifique dans le pot était probablement la même que dans les conditions naturelles. En revanche des études quantitatives permettraient d'établir si le pot a eu un effet sur le taux de colonisation mycorhizienne des racines des chênes et des molinies. Nous avons observé la présence de carpophore de *Laccaria* sp dans différents pots, suggérant une activité fongique dans le sol. Il conviendrait également d'analyser la diversité fongique spécifique des chênes issus de pépinière pour savoir s'ils sont colonisés par les mêmes espèces qu'en conditions naturelles. En plus de leur mycorhization, les chênes de pépinière diffèrent des semis issus de régénération. En effet, en pépinière les chênes ont des

conditions de croissance optimale (eau, lumière, engrais) et sont généralement plus chargés en azote que les semis, ce qui a probablement modifié les transferts ayant lieu en conditions naturelles.

Étudier les transferts d'azote et le taux de mycorhization sur des chênes et des molinies en milieu forestier permettrait de mieux rendre compte de ce qu'il se passe en conditions naturelles. Toutefois la multiplicité des facteurs complexifie l'analyse des processus. La présence d'arbres adultes peut influencer la nature des interactions : ils peuvent être connectés aux jeunes arbres *via* un réseau commun de mycorhizes et ainsi leur transférer des nutriments pour favoriser leur croissance et limiter l'effet compétitif de la molinie. Ils peuvent émettre des composés ayant un effet allélopathique sur les jeunes chênes et la molinie Ils peuvent aussi puiser dans les ressources du sol et accentuer la compétition entre les espèces du sous-bois et leur ombrage peut également modifier les interactions. L'autre difficulté dans l'analyse des transferts est que le ^{15}N ne pourrait pas être quantifié dans le sol dans la mesure où, contrairement au pot, ce n'est pas un espace fini. Il y a aussi les espèces voisines du sous-bois telles que les autres semis de chêne et les molinies dont la densité peut être plus importante que celle en pot. Avec les tapis denses de molinie, le système racinaire du jeune chêne est cerné par les racines des poacées. En pot, nous n'avions qu'une touffe d'une molinie placée à côté du chêne, même si, très rapidement, son système racinaire se rependait dans le pot, encerclant finalement le chêne. Les conditions météorologiques et en particulier le niveau d'eau font aussi partie des facteurs dont il faut tenir compte en milieu forestier. Enfin, l'effet de la faune (mammifères et insectes herbivores) doit aussi être pris en considération, notamment sur le chêne, plus appétant que la molinie (Deniau 2016; Laurent 2016).

Nous pouvons aussi remettre en question la méthodologie utilisée pour produire les exsudats racinaires. La comparaison des exsudats obtenus par la technique des macérats et celle de la solution obtenue en hydroponie a montré des différences de composés. Il est donc possible que la production de métabolites secondaires obtenus ne soit pas totalement identique à celle en conditions naturelles, et induise des effets différents sur la croissance du chêne. Kopriva et al. (2017) démontrent que la technique de l'hydroponie affecte la rhizodéposition par rapport aux conditions naturelles. Des analyses de solution du sol permettraient de mieux rendre compte des rhizodépôts réellement produits et émis dans le sol, en fonction de la présence du voisin.

Les expérimentations imposent pratiquement toujours des compromis et induisent des biais par rapport aux conditions naturelles. Il convient alors de nuancer les résultats obtenus. Ici, nous avons tout de même observé, comme en forêt, un effet compétiteur de la molinie sur

le chêne. Il y a de grandes chances pour que les mécanismes que nous avons mis en évidence aient aussi lieu en conditions naturelles.

7.4.6. Les cas des agrosystèmes

Notre étude s'insère dans la thématique plus large des interactions interspécifiques dans les écosystèmes végétaux. Dans ces milieux, particulièrement ceux destinés à la production (agriculture, agroforesterie, forêt), le fait d'associer des espèces différentes ou d'effectuer des rotations de cultures connaît un regain d'intérêt ces dernières années (Malézieux et al. 2009; Brooker et al. 2015). Nous savons que le fait d'associer une plante fabacée avec une non-fabacée va par exemple permettre de limiter l'apport d'intrant azoté puisque la plante fixatrice d'azote va en transférer à l'espèce voisine et ainsi faciliter sa croissance. Le mélange d'espèces est aussi basé sur la théorie de complémentarité de niche. La complémentarité de niche est due à l'utilisation différentielle des ressources dans le temps, l'espace ou une différence dans la nature des ressources exploitées (Hauggaard-Nielsen et Jensen 2005; Cortes et al. 2010; Jamont et al. 2013; Zhang et al. 2014; Dong et al. 2018). Ceci peut être dû à une différence morphologique entre les systèmes racinaires : certains systèmes vont s'étendre en profondeur tandis que d'autres prospectent plutôt les horizons supérieurs du sol. Ces systèmes présentent un intérêt économique mais surtout écologique car ils nécessitent l'apport de moins d'intrants tout en conservant un bon rendement et en favorisant la faune du sol (Pelzer et al. 2012; Jensen et al. 2015; Drut et al. 2018). Néanmoins, il convient de déterminer quelles espèces peuvent être associées pour avoir une production optimale sans effet de compétition ou d'appauvrissement du sol, ce qui peut s'avérer complexe (Ndufa et al. 2009).

Les interactions végétales ne se limitent pas qu'aux écosystèmes de types forestier, agricole et agroforestier. Des mesures visant à rafraichir les villes suggèrent que la présence d'arbres a un réel effet positif. Aujourd'hui, se pose aussi la question de la gestion de la flore spontanée (question aussi posée pour la gestion des fauches en campagne) au pied des arbres. Les interactions entre la flore et les arbres semblent avoir des effets écologiques bénéfiques (rhizodéposition d'une importante quantité d'azote par les fabacées comme la luzerne et le trèfle, filtration des particules polluantes, limitation des écoulements latéraux… (Chassaing 2018)), mais elles doivent encore être étudiées pour favoriser l'aménagement de la biodiversité végétal en ville.

Les interactions entre plantes sont régies par des processus qui ne sont pas tous entièrement connus. Aujourd'hui, il apparaît crucial d'identifier les métabolites secondaires que

les plantes rhizodéposent et surtout, de déterminer précisément leur(s) rôle(s) et leur(s) mode(s) d'action. Sont-ils de véritables messagers entre plantes ? Sont-ils capables d'activer ou d'inhiber les transporteurs membranaires des racines voisines ? Ciblent-ils d'autres éléments tels que les microorganismes du sol ? Induisent-ils une modification de la composition chimique du sol incitant les plantes voisines à mettre en place des stratégies ? La capacité des plantes à « communiquer » a vu naître un véritable engouement. Les ouvrages destinés au grand public ont connu un franc succès, avant d'être vivement critiqués par la communauté scientifique, jugeant les descriptions et particulièrement le vocabulaire employé trop anthropomorphiques. Pendant ce temps-là, d'autres études, comme la nôtre, démontrent que les molécules rhizodéposées par les plantes agissent comme de véritables médiateurs dans les interactions plante-plante (Kong et al. 2018) mais qu'il existe d'importantes lacunes sur la compréhension de ces mécanismes (Canarini et al. 2019).

Le schéma bilan finale est présenté en **figure 59**.

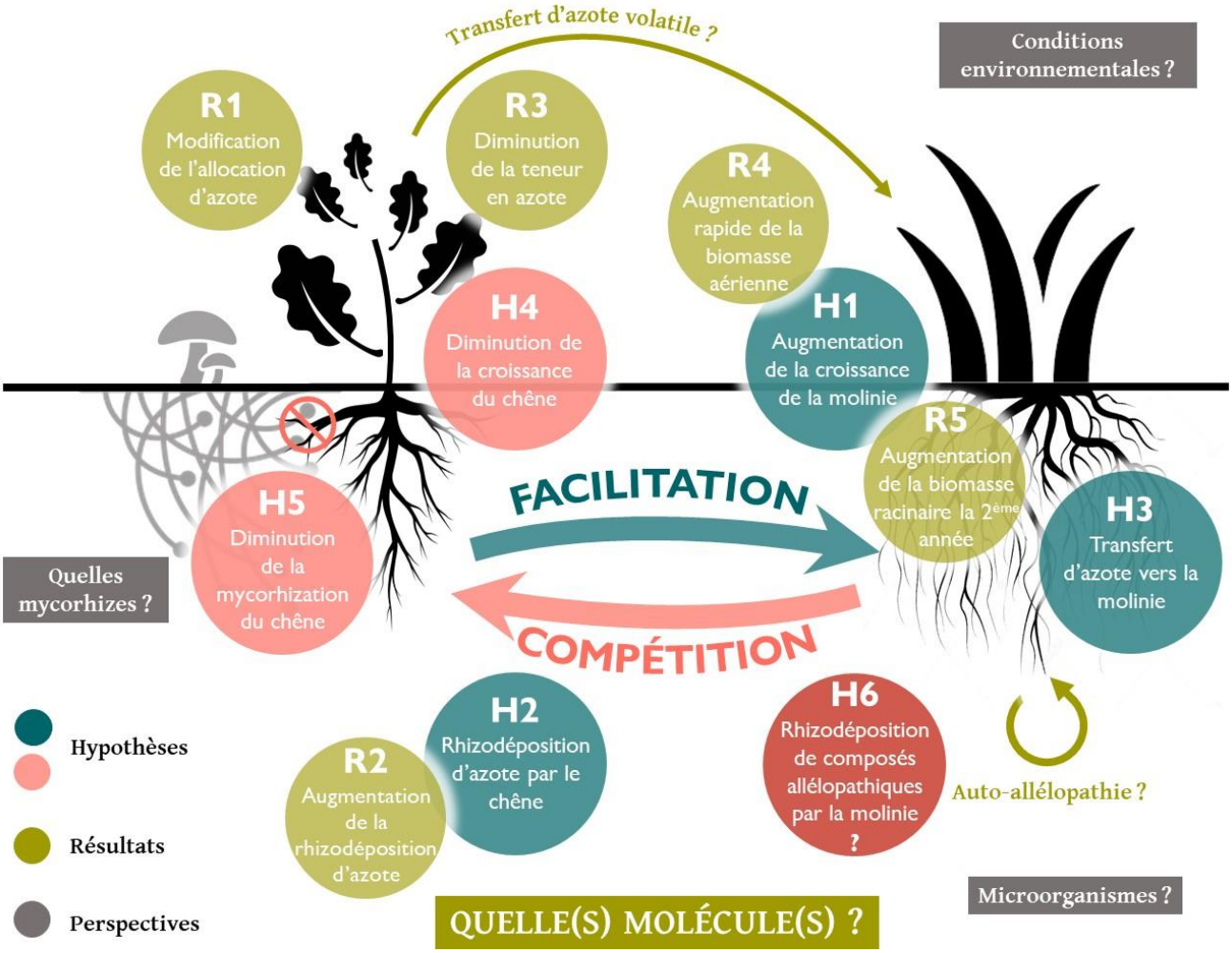


Figure 59. Schéma bilan final

3524

Conclusion générale

L'effet négatif de la molinie bleue sur la croissance du jeune chêne sessile a été confirmé et les mécanismes d'actions sont mieux compris. La présence de molinie entraine une **diminution du nombre de racines latérales et du taux de mycorhization du chêne**. Conjointement, une **diminution de la teneur en azote et de la croissance du chêne** ont été observées. Cette diminution peut s'expliquer par **l'effet allélopathique** de la molinie sur le chêne. Les exsudats racinaires de molinie ont principalement ralenti la croissance racinaire des chênes. Néanmoins, nous n'avons pas identifié la nature des métabolites secondaires émis par les racines de la molinie. Le chêne perçoit vraisemblablement la présence de molinie ou en tout cas, l'effet de compétition pour l'acquisition de l'azote du sol. Pour assurer sa croissance au printemps suivant, **le chêne placé en pot avec une molinie alloue une plus grande quantité d'azote vers les racines** que lorsqu'il est seul ou avec un autre chêne. Cette translocation a lieu entre l'automne et l'hiver, et lui permet de réallouer la même quantité d'azote que les chênes seuls ou en présence d'un autre chêne, à la reprise de croissance.

L'effet positif du chêne sur la croissance de la molinie a clairement été mis en évidence. **Le chêne transfère une quantité non négligeable d'azote à la molinie qui rapidement, accroît sa biomasse aérienne**. Les transferts ont été mesuré deux mois après l'apport de ^{15}N au niveau des parties aériennes du chêne (cotton-wick). Ceci remet en cause la théorie selon laquelle les plantes non-fixatrices d'azote ne rhizodéposent pas d'azote par les mécanismes de transports actifs, mais uniquement par le processus de sénescence racinaire. De surcroît, la quantité d'azote issue du chêne et mesurée dans le sol était plus importante en présence d'un autre chêne mais surtout en présence d'une molinie. **L'activité de rhizodéposition semble dépendre de la présence et de l'identité du voisin**. L'accroissement de la biomasse racinaire de la molinie a lieu au printemps suivant, certainement pour prospecter le sol et acquérir l'azote que le chêne, affaibli, n'était plus en mesure de lui fournir.

L'interaction entre le chêne et la molinie présente donc la particularité d'être **antagoniste**, ce qui a été très peu mis en évidence dans la bibliographie (Stachowicz 2001; Schöb et al. 2014; Vernay et al. 2018b). Les racines des deux espèces relarguent des composés dans le sol qui semblent être les acteurs clés de ces interactions. Identifier leur nature, la manière dont ils sont produits, relargués dans le sol et en quelle quantité, ainsi que la façon dont ils

ciblent les plantes voisines et les communautés biologiques rhizosphériques apparaît primordial et fondamental pour comprendre l'ampleur des interactions plante-plante.

Références bibliographiques

Abbott LK, Gazey C (1994) An ecological view of the formation of VA mycorrhizas. Plant Soil 159:69–78

Aerts R (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. J Exp Bot 50:29–37. doi: 10.1093/jxb/50.330.29

Aerts R (2003) The role of various types of mycorrhizal fungi in nutrient cycling and plant competition. In: van der Heijden MGA, Sanders IR (eds) Mycorrhizal Ecology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 117–133

Aerts R (1990) Nutrient use efficiency in evergreen and deciduous species from heathlands. Oecologia 84:391–397. doi: 10.1007/BF00329765

Aerts R, Berendse F (1988) The effect of increased nutrient availability on vegetation dynamics in wet heathlands. Vegetatio 76:63–69. doi: 10.1007/BF00047389

Aerts R, Boot RGA, van der Aart PJM (1991) The relation between above- and belowground biomass allocation patterns and competitive ability. Oecologia 87:551–559. doi: 10.1007/BF00320419

Aerts R, De Caluwe H, Aerts R, De Caluwe H (1989) Aboveground productivity and nutrient turnover of *Molinia caerulea* along an experimental gradient of nutrient availability. Oikos 54:320–324

Afzal B, Bajwa R, Javaid A (2000) Allelopathy and VA mycorrhiza. VII. cultivation of Vigna radiata and *Phaseolus vulgaris* under allelopathic stress caused by *Imperata cylindrica*. Pakistan J Biol Sci 3:1926–1928

Ågren GI, Ingestad T (1987) Root: shoot ratio as a balance between nitrogen productivity and photosynthesis. Plant Cell Environ 10:579–586. doi: 10.1111/1365-3040.ep11604105

Ågren GI, Wetterstedt JÅM, Billberger MFK (2012) Nutrient limitation on terrestrial plant growth - modeling the interaction between nitrogen and phosphorus. New Phytol 194:953–960. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04116.x

Agreste (2018) Chiffres et Données Agriculture : Prix des bois

Ahmed R, Uddin MB, Khan MASA, et al (2007) Allelopathic effects of *Lantana camara* on germination and growth behavior of some agricultural crops in Bangladesh. J For Res 18:301–304. doi: 10.1007/s11676-007-0060-6

Al-Namazi AA, El-Bana MI, Bonser SP (2017) Competition and facilitation structure plant communities under nurse tree canopies in extremely stressful environments. Ecol Evol 7:2747–2755. doi: 10.1002/ece3.2690

Alexander I, Ahmad N, Lee SS (1992) The role of mycorrhizas in the regeneration of some Malaysian lowland rain forest trees of Jengka. J Trop For Sci 335:379–388. doi: 10.1098/rstb.1992.0029

Alrababah MA, Tadros MJ, Samarah NH, Ghosheh H (2009) Allelopathic effects of *Pinus halepensis* and *Quercus coccifera* on the germination of Mediterranean crop seeds. New For 38:261–272. doi: 10.1007/s11056-009-9145-8

Améglio T (2013) Evaluation de la vulnérabilité des chênaies aux contraintes hydriques dans un contexte de changement climatique. Conséquences sur la gestion des peuplements

Amoo SO, Ojo AU, Van Staden J (2008) Allelopathic potential of *Tetrapleura tetraptera* leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops. South African J Bot 74:149–152. doi: 10.1016/j.sajb.2007.08.010

Andrews M, James EK, Sprent JI, et al (2011) Nitrogen fixation in legumes and actinorhizal plants in natural ecosystems: values obtained using ^{15}N natural abundance. Plant Ecol Divers 4:117–130. doi: 10.1080/17550874.2011.644343

Annighöfer P, Beckschäfer P, Vor T, Ammer C (2015) Regeneration patterns of European oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus robur* L.) in dependence of environment and neighborhood. PLoS One 10:1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0134935

Aussenac G (2000) Interactions between forest stands and microclimate: ecophysiological aspects and consequences for silviculture. Ann For Sci 57:287–301

Axelrod DI (1983) Biogeography of Oaks in the Arcto-Tertiary Province. Ann Missouri Bot Gard 70:629–657

Bader MK-F, Leuzinger S (2019) Hydraulic coupling of a leafless kauri tree remnant to conspecific hosts. iScience 1–6. doi: 10.1016/j.isci.2019.05.009

Badri D V., Vivanco JM (2009) Regulation and function of root exudates. Plant, Cell Environ 32:666–681. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x

Baetz U, Martinoia E (2014) Root exudates: the hidden part of plant defense. Trends Plant Sci 19:90–98. doi: 10.1016/j.tplants.2013.11.006

Bais HP, Park SW, Weir TL, et al (2004) How plants communicate using the underground information superhighway. Trends Plant Sci 9:26–32. doi: 10.1016/j.tplants.2003.11.008

Bais HP, Weir TL, Perry LG, et al (2006) The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annu Rev Plant Biol 57:233–66. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159

Balandier P, Collet C, Miller JH, et al (2006a) Designing forest vegetation management strategies based on the mechanisms and dynamics of crop tree competition by neighbouring vegetation. Forestry 79:3–27. doi: 10.1093/forestry/cpi056

Balandier P, Sonohat G, Sinoquet H, et al (2006b) Characterisation, prediction and relationships between different wavebands of solar radiation transmitted in the understorey of even-aged oak (*Quercus petraea*, *Quercus robur*) stands. Trees - Struct Funct 20:363–370. doi: 10.1007/s00468-006-0049-3

Baldwin JP, Tinker PB, Nye PH (1972) Uptake of solutes by multiple root system from soil II. The theoretical effets of rooting density and pattern on uptake of nutrients from soil. Plant Soil 36:693–708

Bano SA, Ashfaq D (2013) Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. Nat Sci 05:16–20. doi: 10.4236/ns.2013.512A003

Bar-Tal A, Ganmore-Neumann R, Ben-Hayyim G (1997) Root architecture effects on nutrient uptake. In: Altman A, Waisel Y (eds) Basic Life Sciences, Biology. Springer US, Boston, MA, pp 39–45

Barber SA (1962) A diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. Soil Sci. 93:39–49

Barto EK, Hilker M, Müller F, et al (2011) The fungal fast lane: common mycorrhizal networks extend bioactive zones of allelochemicals in soils. PLoS One 6:1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0027195

Barto EK, Weidenhamer JD, Cipollini D, Rillig MC (2012) Fungal superhighways: do common mycorrhizal networks enhance below ground communication? Trends Plant Sci 17:633–637. doi: 10.1016/j.tplants.2012.06.007

BassiriRad H, Lussenhop JF, Sehtiya HL, Borden KK (2015) Nitrogen deposition potentially contributes to oak regeneration failure in the Midwestern temperate forests of the USA. Oecologia 177:53–63. doi: 10.1007/s00442-014-3119-z

Bausenwein U, Millard P, Thornton B, Raven JA (2001) Seasonal nitrogen storage and remobilization in the forb *Rumex acetosa*. Funct Ecol 15:370–377. doi: 10.1046/j.1365-2435.2001.00524.x

Bazot S, Fresneau C, Damesin C, Barthes L (2016) Contribution of previous year's leaf N and soil N uptake to current year's leaf growth in sessile oak. Biogeosciences 13:3475–3484. doi: 10.5194/bg-13-3475-2016

Becker M, Lévy G (1982) Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais Les cause ecologiques. Ann des Sci For 39:439–444

Benkova E, Michniewicz M, Sauer M, et al (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. Cell 115:591–602. doi: 10.1016/S0092-8674(03)00924-3

Berendse F (1994) Competition between plant populations at low and high nutrient supplies. Oikos 71:253–260

Bertin C, Yang X, Weston LA (2003) The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. Plant Soil 256:67–83. doi: 10.1023/A:1026290508166

Bertness MD, Callaway RM (1994a) Positive interactions in communities. Tree 9:191–193. doi: 10.1201/9780203738559

Bertness MD, Callaway RM (1994b) Statistical methods in agriculture and experimental biology: Third edition. Stat Methods Agric Exp Biol Third Ed 9:191–193. doi: 10.1201/9780203738559

Bethlenfalvay GJ, Reyes-Solis MG, Camel SB, Ferrera-Cerrato R (1991) Nutrient transfer between the root zones of soybean and maize plants connected by a common mycorrhizal mycelium. Physiol Plant 82:423–432. doi: 10.1034/j.1399-3054.1991.820315.x

Bhatt M V., Khandelwal A, Dudley SA (2011) Kin recognition, not competitive interactions, predicts root allocation in young *Cakile edentula* seedling pairs. New Phytol 189:1135–1142. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03548.x

Biedrzycki ML, Jilany TA, Dudley SA, Bais HP (2010) Root exudates mediate kin recognition in plants. Commun Integr Biol 3:28–35. doi: 10.4161/cib.3.1.10118

Bingham MA, Simard S (2012) Ectomycorrhizal networks of *Pseudotsuga menziesii var. glauca* trees facilitate establishment of conspecific seedlings under drought. Ecosystems 15:188–199. doi: 10.1007/s10021-011-9502-2

Bisseling T, Scheres B (2014) Nutrient computation for root architecture. Sciencemag 346:300–301

Bjorkman E (1960) *Monotropa Hypopitys* L. - an epiparasite on tree roots. Physiol Plant 13:308–327. doi: 10.1111/j.1399-3054.1960.tb08034.x

Blair BC, Perfecto I (2004) Successional status and root foraging for phosphorus in seven tropical tree species. Can J For Res 34:1128–1135. doi: 10.1139/x04-004

Bleasdale JKA (1960) Studies on plant competition. In: Harper JL (ed) Biology of Weeds. Oxford, England: Blackwell Science Pub, pp 133–142

Bonfante P, Genre A (2010) Mechanisms underlying beneficial plant - Fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. Nat. Commun. 1:1–11

Bonneau M (1988) Le diagnostic foliaire. Rev For Française XL:19–28. doi: 10.4267/2042/25930

Booth MG (2004) Mycorrhizal networks mediate overstorey-understorey competition in a temperate forest. Ecol Lett 7:538–546. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00605.x

Booth MG, Hoeksema JD (2010) Mycorrhizal networks counteract competitive effects of canopy trees on seedling survival. Ecology 91:2294–2302. doi: 10.1890/09-1139.1

Boulter D, Jeremy JJ, Wilding M (1966) Amino acids liberated into the culture medium by pea seedling roots. Plant Soil 24:121–127. doi: 10.1007/BF01373078

Bowsher AW, Evans S, Tiemann LK, Friesen ML (2018) Effects of soil nitrogen availability on rhizodeposition in plants: a review. Plant Soil 423:59–85. doi: 10.1007/s11104-017-3497-1

Brackin R, Näsholm T, Robinson N, et al (2015) Nitrogen fluxes at the root-soil interface show a mismatch of nitrogen fertilizer supply and sugarcane root uptake capacity. Nat Commun 5:1–9

Brewer S, Cheddadi R, de Beaulieu J, et al (2002) The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. For Ecol Manage 156:27–48

Breysse B, Améglio T, Balandier P (2019) Trop ou trop peu, le déperissment du chêne est une histoire d'eau ! Forêt-Entreprise 246:53–57

Brien MJO, Pugnaire FI, Armas C, Schöb SRC (2017) The shift from plant – plant facilitation to competition under severe water deficit is spatially explicit. Ecol Evol 7:2441–2448. doi: 10.1002/ece3.2875

Bronstein JL (2009) The evolution of facilitation and mutualism. J Ecol 97:1160–1170. doi: 10.1111/j.1365-2745.2009.01566.x

Brooker RW, Bennett AE, Cong WF, et al (2015) Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. New Phytol 206:107–117. doi: 10.1111/nph.13132

Brooker RW, Maestre FT, Callaway RM, et al (2008) Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. J Ecol 96:18–34. doi: 10.1111/j.1365-2745.2007.01295.x

Brownlee C, Duddridge JA, Malibari A, Read DJ (1983) The structure and function of mycelial systems of ectomycorrhizal roots with special reference to their role in forming inter-plant connections and providing pathways for assimilate and water transport. Plant Soil 71:433–443. doi: 10.1007/BF02182684

Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. Trends Ecol Evol 18:119–125. doi: 10.1016/S0169-5347(02)00045-9

Bücking H, Liepold E, Ambilwade P (2012) The role of the mycorrhizal symbiosis in nutrient uptake of plants and the regulatory mechanisms underlying these transport processes

Bücking H, Mensah JA, Fellbaum CR (2016) Common mycorrhizal networks and their effect on the bargaining power of the fungal partner in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Commun Integr Biol 9:1–4. doi: 10.1080/19420889.2015.1107684

Bush DR (1993) Proton-coupled sugar and amino acid transporters in plants. Annu Rev Plant Physiol 44:513–542

Cahill JFJ, Mcnickle GG, Haag JJ, et al (2010) Plants integrate information about nutrients and neighbors. Science (80-) 328:1657

Calcagno C, Novero M, Genre A, et al (2012) The exudate from an arbuscular mycorrhizal fungus induces nitric oxide accumulation in *Medicago truncatula* roots. Mycorrhiza 22:259–269. doi: 10.1007/s00572-011-0400-4

Callaway RM (1995) Positive interactions among plants. Bot Rev 61:306–349. doi: 10.1007/BF02912621

Callaway RM, Brooker RW, Choler P, et al (2002) Positive interactions among alpine plants increase with stress. Nature 417:844–848. doi: 10.1038/nature00805.1.

Callaway RM, Nadkarni NM, Mahall BE (1991) Facilitation and interference of *Quercus Douglasii* on understory productivity in Central California. Ecology 72:1484–1499

Callaway RM, Pennings SC, Richards CL (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. Ecology 84:1115–1128. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[1115:PPAIAP]2.0.CO;2

Callaway RM, Walker LR (1997) Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. Ecology 78:1958–1965. doi: 10.1890/0012-9658

Canarini A, Kaiser C, Merchant A, et al (2019) *Corrigendum*: root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. Front Plant Sci 10:1–19. doi: 10.3389/fpls.2019.00420

Carey E V., Marler MJ, Callaway RM (2004) Mycorrhizae transfer carbon from a native grass to an invasive weed: evidence from stable isotopes and physiology. Plant Ecol 172:133–141. doi: 10.1023/B:VEGE.0000026031.14086.f1

Casimiro I, Marchant A, Bhalerao RP, et al (2001) Auxin transport promotes *Arabidopsis* lateral root initiation. Plant Cell 13:843–852. doi: 10.2307/3871344

Casper BB, Jackson RB (1997) Plant competition underground. Annu Rev Ecol Syst 28:545–570. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.28.1.545

Catovsky S, Bazzaz FA (2002) Feedbacks between canopy composition and seedling regeneration in mixed conifer broad-leaved forests. Oikos 98:403–420. doi: 10.1034/j.1600-0706.2002.980305.x

Cavieres LA, Badano EI, Molina-Montenegro MA, et al (2006) Positive interactions between alpine plant species and the nurse cushion plant *Laretia acaulis* do not increase with elevation in the Andes of central Chile. New Phytol 169:59–69. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01573.x

Celis-Arámburo T de J, Carrillo-Pech M, Castro-Concha LA, et al (2011) Exogenous nitrate induces root branching and inhibits primary root growth in *Capsicum chinense* Jacq. Plant Physiol Biochem 49:1456–1464. doi: 10.1016/j.plaphy.2011.09.003

Chaar H, Colin F, Collet C (1997) Effects of environmental factors on the shoot development of *Quercus petraea* seedlings: a methodological approach. For Ecol Manage 97:119–131

Chalot M, Brun A (1998) Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas. FEMS Microbiol Rev 22:21–44. doi: 10.1111/j.1574-6976.1998.tb00359.x

Chalot M, Plassard C (2011) Ectomycorrhiza and nitrogen provision to the host tree. In: Plant-Soil Microbe Interactions. pp 69–94

Charney ND, Babst F, Poulter B, et al (2016) Observed forest sensitivity to climate implies large changes in 21st century North American forest growth. Ecol Lett 19:1119–1128. doi: 10.1111/ele.12650

Chassaing B (2018) Quels enseignements pour le programme Acceptaflore ?

Chen BJW, During HJ, Anten NPR (2012a) Detect thy neighbor: identity recognition at the root level in plants. Plant Sci 195:157–167. doi: 10.1016/j.plantsci.2012.07.006

Chen J, Wu F, Liu T, et al (2012b) Emissions of nitric oxide from 79 plant species in response to simulated nitrogen deposition. Environ Pollut 160:192–200. doi: 10.1016/j.envpol.2011.09.007

Cheng X, Bledsoe CS (2004) Competition for inorganic and organic N by blue oak (*Quercus douglasii*) seedlings, an annual grass, and soil microorganisms in a pot study. Soil Biol Biochem 36:135–144. doi: 10.1016/j.soilbio.2003.08.024

Chitarra W, Pagliarani C, Maserti B, et al (2016) Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. Plant Physiol 171:1009–1023. doi: 10.1104/pp.16.00307

Choler P, Michalet R, Callaway RM (2001) Facilitation and competition on gradients in Alpine plant communities. Ecol Soc Am 82:3295–3308

Chon S-U, Choi S-K, Jung S, et al (2002) Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. Crop Prot 21:1077–1082

Clarholm M (1985) Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. Soil Biol Biochem 17:181–187. doi: 10.1016/0038-0717(85)90113-0

Clements FE, Hanson HC, Weaver JE (1929) Plant competition; an analysis of community functions. 340 pp

Coll L, Balandier P, Picon-Cochard C (2004) Morphological and physiological responses of beech (*Fagus sylvatica*) seedlings to grass-induced belowground competition. Tree Physiol 24:45–54

Coll L, Balandier P, Picon-Cochard C, et al (2003) Competition for water between beech seedlings and surrounding vegetation in different light and vegetation composition conditions. Ann For Sci 60:593–600. doi: 10.1051/forest:2003051

Collet C, Löf M, Pagès L (2006) Root system development of oak seedlings analysed using an architectural model. Effects of competition with grass. Plant Soil 279:367–383. doi: 10.1007/s11104-005-2419-9

Compton RH (1930) The Karoo Garden at Whitehill. Bull Misc Inf (Royal Bot Gard Kew) 1930:70–74

Connell JH (1983) On the prevalence and relative importance of interspecific competition: evidence from field experiments. Am Nat 122:661–696. doi: 10.1086/284165

Connell JH, Slatyer RO (1977) Mechanismes of succession in naturel communities and their role in community stability and organization. Proc Int Astron Union 111:1119–1144. doi: 10.1017/S1743921313012957

Coomes DA, Grubb PJ (2000) Impacts of root competition in forests and woodlands: a theoretical framework and review of experiments. Ecol Monogr 70:171–207

Cortes F, Piva G, Jamont M, Fustec J (2010) Niche separation and nitrogen transfer in *Brassica*-legume intercrops. Ratar i Povrt 47:581–586

Courty P-E, Buée M, Diedhiou AG, et al (2010) The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: new perspectives and emerging concepts. Soil Biol Biochem 42:679–698. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.12.006

Craine JM (2005) Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. J Ecol 93:1041–1052. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01043.x

Craine JM, Dybzinski R (2013) Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. Funct Ecol 27:833–840. doi: 10.1111/1365-2435.12081

Crawford NM, Glass ADM (1998) Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. Trends Plant Sci 3:389–395

Crossay T, Antheaume C, Redecker D, et al (2017) New method for the identification of arbuscular mycorrhizal fungi by proteomic-based biotyping of spores using MALDI-TOF-MS. Sci Rep 7:1–16. doi: 10.1038/s41598-017-14487-6

Crowther TW, Glick HB, Covey KR, et al (2015) Mapping tree density at a global scale. Nature 525:201

Dakora FD, Phillips DA (2002) Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. Plant Soil 245:35–47. doi: 10.1023/A:1020809400075

Dale VH, Joyce LA, McNulty S, et al (2006) Climate change and forest disturbances. Bioscience 51:723–734. doi: 10.1641/0006-3568(2001)051[0723:ccafd]2.0.co;2

Davies D a. (1987) Long-term effects of improvement methods on *Molinia caerulea* dominant rough grazing on wet hill land. 2. Mineral composition of herbage and soil physical, chemical and biological characteristics. J Agric Sci 109:243. doi: 10.1017/S0021859600080655

Davis MA, Wrage KJ, Reich PB, et al (1999) Survival, growth, and photosynthesis of tree seedlings competing with herbaceous vegetation along a water-light-nitrogen gradient. Plant Ecol 145:341–350. doi: 10.1023/A:1009802211896

Davis MA, Wrage KJ, Reich PB (1998) Competition between tree seedlings and herbaceous vegetation: support for a theory of resource supply and demand. J Ecol 86:652–661. doi: 10.1046/j.1365-2745.1998.00087.x

Dawson JO (1990) Interactions among actinorhizal and associated plant species. In: The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants. Academic Press, Inc., pp 299–316

de Graaff M-A, Six J, van Kessel C (2007) Elevated CO_2 increases nitrogen rhizodeposition and microbial immobilization of root-derived nitrogen. New Phytol 173:778–786. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01974.x

de Kroons H, Hutchings MJ (1995) Morphological plasticity in clonal plants: the foraging concept reconsidered. J Ecol 83:143–152. doi: 10.2307/2261158

Deniau M (2016) Mécanismes de recrutement du chêne (*Quercus* sp.) en forêt tempérée : rôle des arbres adultes sur les graines et les plantules

Depuydt S (2014) Arguments for and against self and non-self root recognition in plants. Front Plant Sci 5:1–7. doi: 10.3389/fpls.2014.00614

Dhamala N, Rasmussen J, Carlsson G, et al (2016) N transfer in three-species grass-clover mixtures with chicory, ribwort plantain or caraway. Plant Soil 413:1–14. doi: 10.1007/s11104-016-3088-6

Díaz-Sierra R, Verwijmeren M, Rietkerk M, et al (2017) A new family of standardized and symmetric indices for measuring the intensity and importance of plant neighbour effects. Methods Ecol Evol 8:580–591. doi: 10.1111/2041-210X.12706

Dickie IA (2001) Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of *Quercus rubra* seedlings. New Physiol 151:257–264. doi: 10.1046/j.1469-8137.2001.00148.x

Dickie IA, Guza RC, Krazewski SE, Reich PB (2004) Shared ectomycorrhizal fungi a herbaceous between perennial (*Helianthemum bicknellii*) and oak (*Quercus*) seedlings. New Phytol 164:375–382. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01177.x

Dickie IA, Koide RT, Steiner KCIMC (2010) Influences of established trees on mycorrhizas, nutrition, and growth of *Quercus rubra* seedlings. Ecol Monogr 72:505–521. doi: 10.1890/0012-9615(2002)072

Dickie IA, Schnitzer SA, Reich PB, Hobbie SE (2007) Is oak establishment in old-fields and savanna openings context dependent? J Ecol 95:309–320. doi: 10.1111/j.1365-2745.2006.01202.x

Dohn J, Dembélé F, Karembé M, et al (2013) Tree effects on grass growth in savannas: Competition, facilitation and the stress-gradient hypothesis. J Ecol 101:202–209. doi: 10.1111/1365-2745.12010

Dong N, Tang MM, Zhang WP, et al (2018) Temporal differentiation of crop growth as one of the drivers of intercropping yield advantage. Sci Rep 8:1–11. doi: 10.1038/s41598-018-21414-w

Drew MC, Saker LR (1978) Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. III. Compensatory increases in growth of lateral roots, and in rates of phosphate uptake, in response to a localizes supply of phosphate. J Exp Bot 29:435–451. doi: 10.1093/jxb/29.2.435

Drew MC, Saker LR (1975) Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. II. Localized, compensatory increases in lateral root growth and rates of nitrate uptake when nitrate supply is restricted to only part of the root system. J Exp Bot 26:79–90. doi: 10.1093/jxb/26.1.79

Drut B, Cassagne N, Cannavacciuolo M, et al (2018) Improving complementarity effect of legume intercrop by earthworm facilitation for wheat performance. J Agric Sci 10:1–14. doi: 10.5539/jas.v10n12p1

Dudley SA, File AL (2007) Kin recognition in an annual plant. Biol Lett 3:435–438

Duque LO, Villordon A (2019) Root branching and nutrient efficiency: status and way forward in root and tuber crops. Front Plant Sci 10:1–8. doi: 10.3389/fpls.2019.00237

Effah E, Holopainen JK, McCormick AC (2019) Potential roles of volatile organic compounds in plant competition. Perspect Plant Ecol Evol Syst 38:58–63. doi: 10.1016/j.ppees.2019.04.003

Egerton-Warburton LM, Querejeta JI, Allen MF (2007) Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. J Exp Bot 58:1473–1483. doi: 10.1093/jxb/erm009

Eilers G, Brurnrnc R, Matznep E (1992) Above-ground N-uptake from wet deposition by Norway spruce (*Picea abies* Karst.). For Ecol Manage 51:239–247. doi: 10.1016/0378-1127(92)90489-V

Eissenstat DM (1990) A comparison of phosphorus and nitrogen transfer between plants of different phosphorus status. Oecologia 82:342–347. doi: 10.1007/BF00317481

Ek H, Anderson S, Söderström B (1996) Carbon and nitrogen flow in silver birch and Norway spruce connected by a common mycorrhizal mycelium. Mycorrhiza 6:465–467

Ekblad A, Huss-Danell K (1995) Nitrogen fixation by *Alnus incana* and nitrogen transfer from *A. incana* to *Pinus sylvestris* influenced by macronutrients and ectomycorrhiza. New Phytol 131:453–459. doi: 10.1111/j.1469-8137.1995.tb03082.x

El-Naggar A, De Neergaard A, El-Araby A, H∅gh-Jensen & H (2009) Simultaneous uptake of multiple amino

acids by wheat. J Plant Nutr 32:725–740. doi: 10.1080/01904160902787842

El Ghachtouli N, Martin-Tanguy J, Paynot M, Gianinazzi S (1996) First report of the inhibition of arbuscular mycorrhizal infection of *Pisum sativum* by specific and irreversible inhibition of polyamine biosynthesis or by gibberellic acid treatment. FEBS Lett 385:189–192. doi: 10.1016/0014-5793(96)00379-1

Elgersma A, Schlepers H, Nassiri M (2000) Interactions between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.) under contrasting nitrogen availability: productivity, seasonal patterns of species composition, N_2 fixation, N transfer and N reco. Plant Soil 221:281–299

Enkhtuya B, Pöschl M, Vosátka M (2005) Native grass facilitates mycorrhizal colonisation and P uptake of tree seedlings in two anthropogenic substrates. Water Air Soil Pollut 166:217–236. doi: 10.1007/s11270-005-7273-0

Epstein E (1961) The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. Plant Physiol 36:437–444. doi: 10.1104/pp.36.4.437

Ercisli S, Esitken A, Turkkal C, Orhan E (2005) The allelopathic effects of juglone and walnut leaf extracts on yield, growth, chemical and PNE compositions of strawberry cv. Fern. Plant, Soil Environ 51:283–287

Espelta JM, Cortés P, Mangirón M, Retana J (2005) Differences in biomass partitioning, leaf nitrogen content, and water use efficiency ($\delta^{13}C$) result in similar performance of seedlings of two Mediterranean oaks with contrasting leaf habit. Écoscience 12:447–454. doi: 10.2980/i1195-6860-12-4-447.1

Falik O, Reides P, Gersani M, Novoplansky A (2003) Self/non-self discrimination in roots. J Ecol 91:525–531

Falik O, Reides P, Gersani M, Novoplansky A (2005) Root navigation by self inhibition. Plant, Cell Environ 28:562–569. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01304.x

Falkengren-Grerup U, Mansson KF, Olsson MO (2000) Uptake capacity of amino acids by ten grasses and forbs in relation to soil acidity and nitrogen availability. Environ Exp Bot 44:207–219. doi: 10.1016/s0098-8472(00)00068-x

Fehsenfeld F, Calvert J, Fall R, et al (1992) Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry. Global Biogeochem Cycles 6:389–430. doi: 10.1029/92GB02125

Feng W, Guo B, Zhang H, et al (2015) Remote estimation of above ground nitrogen uptake during vegetative growth in winter wheat using hyperspectral red-edge ratio data. F Crop Res 180:197–206. doi: 10.1016/j.fcr.2015.05.020

Fernández Bidondo L, Colombo RP, Recchi M, et al (2018) Detection of arbuscular mycorrhizal fungi associated with pecan (*Carya illinoinensis*) trees by molecular and morphological approaches. MycoKeys 42:73–88. doi: 10.3897/mycokeys.42.26118

Fernandez C, Lelong B, Vila B, et al (2006) Potential allelopathic effect of *Pinus halepensis* in the secondary succession: an experimental approach. Chemoecology 16:97–105. doi: 10.1007/s00049-006-0334-z

Fernandez C, Monnier Y, Santonja M, et al (2016) The impact of competition and allelopathy on the trade-off between plant defense and growth in two contrasting tree species. Front Plant Sci 7:1–14. doi: 10.3389/fpls.2016.00594

Finlay RD (2004) Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. Mycologist 18:91–96. doi: 10.1017/S0269915X04002058

Finlay RD, Read DJ (1986) The structure and function of the vegatative mycelium of ectomycorrhizal plants. I. Translocation of ^{14}C-labelled carbon between plants interconnected by a common mycelium. New Phytol 103:143–156

Finlay RD, Söderström B (1989) Mycorrhizal mycelia and their role in soil and plant communities. Ecol Arab L — Perspect Challenges 139–148. doi: 10.1007/978-94-009-1021-8_14

Fisher RF (1987) Allelopathy: a potential cause of forest regeneration failure. Allelochem Role Agric For 176–184. doi: doi:10.1021/bk-1987-0330.ch016

Fitter AH (2003) Making allelopathy respectable. Encycl Cell Biol 301:1337–1338. doi: 10.1016/B978-0-12-394447-4.30004-9

Fitter AH, Stickland TR, Harvey ML, Wilson GW (1991) Architectural analysis of plant root systems 1. Architectural correlates of exploitation efficiency

Fotelli MN, Rennenberg H, Gessler A (2002) Effects of drought on the competitive interference of an early successional species (*Rubus fruticosus*) on *Fagus sylvatica* L. seedlings: ^{15}N uptake and partitioning, responses of amino acids and other N compounds. Plant Biol 4:311–320. doi: 10.1055/s-2002-32334

Francis R, Read DJ (1984) Direct transfer of carbon between plants connected by vesicular–arbuscular mycorrhizal mycelium. Nature 307:53–56. doi: 10.1038/307053a0

Freschet GT, Valverde-Barrantes OJ, Tucker CM, et al (2017) Climate, soil and plant functional types as drivers of global fine-root trait variation. J Ecol 105:1182–1196. doi: 10.1111/1365-2745.12769

Frey B, Schüepp H (1993) A role of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal fungi in facilitating interplant nitrogen transfer. Soil Biol Biochem 25:651–658. doi: 10.1016/0038-0717(93)90104-J

Friedrich JM, Dawson J (1984) Soil nitrogen concentration and *Juglans nigra* growth in mixed plots with nitrogen-fixing *Alnus*, *Elaeagnus*, *Lespedeza* and *Robinia* species. Can J For Res 14:864–868

Frochot H, Picard JF, Dreyfus P (1986) La végétation herbacée, un obstacle aux plantations. Rev For Française 38:271–279

Fuerst EP, Putnam AR (1983) Separating the competitive and allelopathic components of interference - Theoretical principes. J Chem Ecol 9:937–944. doi: 10.1007/BF00982203

Fukaki H, Tasaka M (2009) Hormone interactions during lateral root formation. Plant Mol. Biol. 69:437–449

Furlan V, Fortin J -A (1977) Effects of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular endomycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora*. New Phytol. 79:335–340

Fustec J, Lesuffleur F, Mahieu S, Cliquet J (2010) Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. Agron Sustain Dev 30:57–66. doi: 10.1051/agro/2009003

Gallet C, Pellissier F (2002) Interactions allélopathiques en milieu forestier. Rev For Française 6:567–576

Ganeteg U, Ahmad I, Jämtgård S, et al (2017) Amino acid transporter mutants of *Arabidopsis* provides evidence that a non-mycorrhizal plant acquires organic nitrogen from agricultural soil. Plant, Cell Environ 40:413–423. doi: 10.1111/pce.12881

Garg N, Chandel S (2010) Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. Agron Sustain Dev 30:581–599. doi: 10.1051/agro/2009054ï

Gargaglione V, Peri PL, Rubio G (2014) Tree-grass interactions for N in *Nothofagus* antarctica silvopastoral systems: Evidence of facilitation from trees to underneath grasses. Agrofor Syst 88:779–790. doi: 10.1007/s10457-014-9724-3

Gaudio N, Balandier P, Dumas Y, Ginisty C (2011a) 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. doi: 10.1016/j.foreco.2010.10.034

Gaudio N, Balandier P, Philippe G, et al (2011b) Light-mediated influence of three understorey species (*Calluna vulgaris*, *Pteridium aquilinum*, *Molinia caerulea*) on the growth of *Pinus sylvestris* seedlings. Eur J For Res 130:77–89. doi: 10.1007/s10342-010-0403-2

Ge TD, Song SW, Roberts P, et al (2009) Amino acids as a nitrogen source for tomato seedlings: The use of dual-labeled (^{13}C, ^{15}N) glycine to test for direct uptake by tomato seedlings. Environ Exp Bot 66:357–361. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.05.004

Gemmel P, Nilsson U, Welander T (1996) Development of oak and beech seedlings planted under varying shelterwood densities and with different site preparation methods in southern Sweden. New For 12:141–

161

Gessler A, Schaub M, McDowell NG (2017) The role of nutrients in drought-induced tree mortality and recovery. New Phytol 214:513–520. doi: 10.1111/nph.13201

Gill RA, Jackson RB (2000) Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. New Phytol 147:13–31. doi: 10.1046/j.1469-8137.2000.00681.x

Gilliam FS (2016) Forest ecosystems of temperate climatic regions: from ancient use to climate change. New Phytol 212:871–887. doi: 10.1111/nph.14255

Glass ADM (2002) The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. J Exp Bot 53:855–864. doi: 10.1093/jexbot/53.370.855

Gniazdowska A, Bogatek R (2005) Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. Acta Physiol Plant 27:395–407. doi: 10.1007/s11738-005-0017-3

Godwin H (1935) Neolithic forest clearance. Nature 153:511–512

Goodwin BC, Cohen MH (1969) A phase-shift model for the spatial and temporal organization of developing systems. J Theor Biol 25:49–107

Gordon DR, Welker JM, Menke JW, Rice KJ (1989) Competition for soil water between annual plants and blue oak (*Quercus douglasix*) seedlings. Oecologia 79:533–541

Gorka S, Dietrich M, Mayerhofer W, et al (2019) Rapid transfer of plant photosynthates to soil bacteria via ectomycorrhizal hyphae and its interaction with nitrogen availability. Front Microbiol 10:1–20. doi: 10.3389/FMICB.2019.00168

Gorzelak MA, Asay AK, Pickles BJ, Simard SW (2015) Inter-plant communication through mycorrhizal networks mediates complex adaptive behaviour in plant communities. AoB Plants 7:1–13. doi: 10.1093/aobpla/plv022

Goss MJ, Miller MH, Bailey LD, Grant CA (2014) Root growth and distribution in relation to nutrient availability and uptake. Eur J Agron 2:57–67. doi: 10.1016/s1161-0301(14)80135-4

Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin H, et al (2005) Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Nature 435:819–823. doi: 10.1038/nature03610

Graciano C, Guiamét JJ, Goya JF (2005) Impact of nitrogen and phosphorus fertilization on drought responses in *Eucalyptus grandis* seedlings. For Ecol Manage 212:40–49. doi: 10.1016/j.foreco.2005.02.057

Graham JH, Leonard RT, Menge JA (1982) Interaction of light intensity and soil temperature with phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. New Phytol 91:683–690

Granato TC, Raper CD (1989) Proliferation of maize (*Zea mays* L.) roots in response to localized supply of nitrate. J Exp Bot 40:263–275. doi: 10.1093/jxb/40.2.263

Grime JP (1974) Vegetation classification by reference to strategies. Nature 250:26–31. doi: 10.1038/252497a0

Grime JP (1988) Mycorrhizal infection and plant species diversity. Nature 334:202

Grime JP, Mackey JML (2002) The role of plasticity in resource capture by plants. Evol Ecol 16:299–307. doi: 10.1023/A:1019640813676

Grove S, Haubensak KA, Parker IM (2013) Direct and indirect effects of allelopathy in the soil legacy of an exotic plant invasion. Plant Ecol 213:1869–1882. doi: 10.1007/s11258-012-0079-4

Gruber BD, Giehl RFH, Friedel S, von Wiren N (2013) Plasticity of the *Arabidopsis* root system under nutrient deficiencies. Plant Physiol 163:161–179. doi: 10.1104/pp.113.218453

Gruntman M, Novoplansky A (2004) From the cover: physiologically mediated self/non-self discrimination in roots. Proc Natl Acad Sci 101:3863–3867. doi: 10.1073/pnas.0306604101

Guenther A, Nicholas Hewitt C, David E, et al (1995) A global model of natural volatile organic compound emissions. J Geophys Res 100:8873–8892. doi: doi:10.1029/94JD02950

Guo B, Qi S, Heng Y, et al (2017) Remotely assessing leaf N uptake in winter wheat based on canopy hyperspectral red-edge absorption. Eur J Agron 82:113–124. doi: 10.1016/j.eja.2016.10.009

Hackett C (1972) A Method of applying nutrients locally to roots under controlled conditions, and some morphological effects of locally applied nitrate on the branching of wheat roots. Aust J Biol Sci 25:1169–1180. doi: 10.1071/BI9721169

Hale MG, Foy C, Shay FJ (1971) Factors affecting root exudation. Adv Agron 23:89–109. doi: https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60151-0

Handley WRC (1963) Mycorrhizal associations and Calluna heathland afforestation. For Comm Bull 36:1–70

Harley JL, Smith SE (1983) Mycorrhizal Symbiosis

Harmer R, Morgan G (2007) Development of *Quercus robur* advance regeneration following canopy reduction in an oak woodland. Forestry 80:137–149. doi: 10.1093/forestry/cpm006

Harmer R, Robertson M (2003) Seedling root growth of six broadleaved tree species grown in competition with grass under irrigated nursery conditions. Ann For Sci 60:601–608. doi: 10.1051/forest:2003052>

Hashoum H, Santonja M, Gauquelin T, et al (2017) Biotic interactions in a Mediterranean oak forest: role of allelopathy along phenological development of woody species. Eur J For Res 136:699–710. doi: 10.1007/s10342-017-1066-z

Hassan MK, McInroy JA, Kloepper JW (2019) The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: A review. Agriculture 9:1–13

Hauggaard-Nielsen H, Ambus P, Jensen ES (2001) Interspecific competition, N use and interference with weeds in pea-barley intercropping. F Crop Res 70:101–109. doi: 10.1016/S0378-4290(01)00126-5

Hauggaard-Nielsen H, Jensen ES (2005) Facilitative root interactions in intercrops. Plant Soil 274:237–250. doi: 10.1007/s11104-004-1305-1

Hawkins AP, Crawford KM (2018) Interactions between plants and soil microbes may alter the relative importance of intraspecific and interspecific plant competition in a changing climate. AoB Plants 10:1–11. doi: 10.1093/aobpla/ply039

Hawkins BJ, Jones MD, Kranabetter JM (2015) Ectomycorrhizae and tree seedling nitrogen nutrition in forest restoration. New For 46:747–771. doi: 10.1007/s11056-015-9488-2

Hayatsu M, Tago K, Saito M (2008) Various players in the nitrogen cycle: diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. Soil Sci Plant Nutr 54:33–45. doi: 10.1111/j.1747-0765.2007.00195.x

Haystead A, Malajczuk N, Grove TS (1988) Underground transfer of nitrogen between pasture plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol 108:417–423. doi: 10.1111/j.1469-8137.1988.tb04182.x

Haystead A, Marriott C (1979) Transfer of legume nitrogen to associated grass. Soil Biol Biochem 11:99–104. doi: 10.1016/0038-0717(79)90083-X

Haystead A, Marriott C (1978) Fixation and transfer of nitrogen in a white clover-grass sward under hill conditions. Proc Assoc Appl Biol 3:453–457. doi: 10.1111/j.1744-7348.1978.tb00740.x

He X-H, Critchley C, Bledsoe C (2003) Nitrogen transfer within and between plants through common mycorrhizal networks (CMNs). CRC Crit Rev Plant Sci 22:531–567. doi: 10.1080/713608315

He X, Bledsoe CS, Zasoski RJ, et al (2006) Rapid nitrogen transfer from ectomycorrhizal pines to adjacent ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal plants in a California oak woodland. New Phytol 170:143–151. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01648.x

He X, Xu M, Qiu GY, Zhou J (2009) Use of ^{15}N stable isotope to quantify nitrogen transfer between mycorrhizal plants. J Plant Ecol 2:107–118. doi: 10.1093/jpe/rtp015

He Y, Cornelissen JHC, Wang P, et al (2019) Nitrogen transfer from one plant to another depends on plant biomass production between conspecific and heterospecific species via a common arbuscular mycorrhizal network. Environ Sci Pollut Res 26:8828–8837. doi: 10.1007/s11356-019-04385-x

Heap AJ, Newman EI (1980a) The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizas on phosphorous trnsfer between plants.pdf. New Phytol 85:173–179

Heap AJ, Newman EI (1980b) Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol 85:169–171. doi: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04457.x

Heil GW, Bruggink M (1987) Competition for nutrients between *Calluna vulgaris* (L.) Hull and *Molinia caerulea* (L.) Moench. Oecologia 73:105–107. doi: 10.1007/BF00376984

Hengodage NBW, Ruotsalainen AL, Markkola A, Häggman H (2016) Root fungal colonisations of the understory grass *Deschampsia flexuosa* after top-canopy harvesting. Plant Soil 414:171–180. doi: 10.1007/s11104-016-3108-6

Henzell EF, Martin AE, Ross PJ, Haydock KP (1964) Isotopic studies on the uptake of sulphur by pasture plants. Aust J Agric Res 15:876–884. doi: 10.1080/00288233.1977.10427327

Hertenberger G, Wanek W (2004) Evaluation of methods to measure differential ^{15}N labeling of soil and root N pools for studies of root exudation. Rapid Commun Mass Spectrom 18:2415–2425. doi: 10.1002/rcm.1615

Hibbs ET, Shumaker CA (2014) Intraspecific allelopathy. 49:27–30

Hierro JL, Callaway RM (2003) Allelopathy and exotic plant invasion. Plant Soil 256:29–39. doi: 10.1023/A:1026208327014

Hinsinger P, Bengough AG, Vetterlein D, Young IM (2009) Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. Plant Soil 321:117–152. doi: 10.1007/s11104-008-9885-9

Hirrel MC, Gerdemann JW (1979) Enhanced carbon transfer between onions infected with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytol 83:731–738. doi: 10.1111/j.1469-8137.1979.tb02303.x

Hodge A (2004) The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. New Phytol 162:9–24. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01015.x

Hodge A (2009) Root decisions. Plant, Cell Environ 32:628–640. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01891.x

Hodge A, Fitter AH (2013) Microbial mediation of plant competition and community structure. Funct Ecol 27:865–875. doi: 10.1111/1365-2435.12002

Høgh-Jensen H, Schjoerring JK (2000) Below-ground nitrogen transfer between different grassland species: direct quantification by ^{15}N leaf feeding compared with indirect dilution of soil ^{15}N. Plant Soil 227:171–183. doi: 10.1023/A:1026535401773

Holdridge EM, Cuellar-Gempeler C, terHorst CP (2016) A shift from exploitation to interference competition with increasing density affects population and community dynamics. Ecol Evol 6:5333–5341. doi: 10.1002/ece3.2284

Holmgren M, Scheffer M, Huston MAH (1997) The interplay of facilitation and competition in plant communities. Ecology 78:1966–1975. doi: 10.1890/0012-9658

Holzapfel C, Alpert P (2003) Root cooperation in a clonal plant: connected strawberries segregate roots. Oecologia 134:72–77. doi: 10.1007/s00442-002-1062-x

Holzinger R, Sandoval-Soto L, Rottenberger S, et al (2000) Emissions of volatile organic compounds from Quercus ilex L. measured by proton transfer reaction mass spectrometry under different environmental conditions. J Geophys Res Atmos 105:573–579. doi: 10.1029/2000jd900296

Hong J, Ma X, Zhang X, Wang X (2017) Nitrogen uptake pattern of herbaceous plants: coping strategies in altered neighbor species. Biol Fertil Soils 53:729–735. doi: 10.1007/s00374-017-1230-0

Horsley SB (1977) Allelopathic inhibition of black cherry by fern, grass, goldenrod and aster. Can J For Res 7:205–216

Hossain MK, Anwar S, Nandi R (2016) Allelopathic effects of *Mikania cordata* on forest and agricultural crops in Bangladesh. J For Res 27:155–159. doi: 10.1007/s11676-015-0161-6

Houlès A (2018) Principe de facilitation appliqué à la restauration écologique de sites miniers dégradés : suivi des communautés ectomycorhiziennes au cours de successions végétales assistées par Acacia spirorbis

Hu L, Robert CAM, Cadot S, et al (2018) Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. Nat Commun 9:1–13. doi: 10.1038/s41467-018-05122-7

Huang W, Gfeller V, Erb M (2019) Root volatiles in plant-plant interactions II: Root volatiles alter root chemistry and plant-herbivore interactions of neighboring plants. Plant Cell Environ 42:1946–1973. doi: 10.1101/441790

Huang XF, Chaparro JM, Reardon KF, et al (2014) Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. Botany 92:267–275. doi: 10.1139/cjb-2013-0225

Hunter AF, Aarssen LW (1988) Plants helping plants: new evidence indicates that beneficence is important in vegetation. Am Inst Biol Sci 38:34–40. doi: 10.2307/1310644

Hutchings MJ, de Kroon H (1994) Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition. Adv Ecol Res 25:159–238. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60215-9

Inderjit, Callaway RM (2003) Experimental designs for the study of allelopathy. Plant Soil 256:1–11. doi: 10.1023/A:1026242418333

Inderjit, Mallik A. (2002) Can *Kalmia angustifolia* interference to black spruce (*Picea mariana*) be explained by allelopathy? For Ecol Manage 160:75–84. doi: 10.1016/S0378-1127(01)00463-7

Inderjit, Mallik AU (1999) Nutrient status of black spruce (*Picea mariana* [Mill.] BSP) forest soils dominated by *Kalmia angustifolia* L. Acta Oecologica 20:87–92. doi: 10.1016/S1146-609X(99)80020-4

Inderjit, Mallik AU (1996) The nature of interference potential of *Kalmia angustifolia*. Can J For Res 26:1899–1904

Inselsbacher E, Näsholm T (2012) The below-ground perspective of forest plants: Soil provides mainly organic nitrogen for plants and mycorrhizal fungi. New Phytol 195:329–334. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04169.x

Jacob CE, Tozzi E, Willenborg CJ (2017) Neighbour presence, not identity, influences root and shoot allocation in pea. PLoS One 12:1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0173758

Jacobs DF, Rose R, Haase DL, Alzugaray PO (2005) Silviculture-driven vegetation change in a European temperate deciduous forest. Ann For Sci 62:313–323. doi: 10.1051/forest

Jacott C, Murray J, Ridout C (2017) Trade-offs in arbuscular mycorrhizal symbiosis: disease resistance, growth responses and perspectives for crop breeding. Agronomy 7:1–18. doi: 10.3390/agronomy7040075

Jacquemyn H, Brys R, Cammue BPA, et al (2011) Mycorrhizal associations and reproductive isolation in three closely related Orchis species. Ann Bot 107:347–356. doi: 10.1093/aob/mcq248

Jalonen R, Nygren P, Sierra J (2009) Transfer of nitrogen from a tropical legume tree to an associated fodder grass via root exudation and common mycelial networks. Plant, Cell Environ 32:1366–1376. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02004.x

Jamont M, Piva G, Fustec J (2013) Sharing N resources in the early growth of rapeseed intercropped with faba bean: does N transfer matter? Plant Soil 371:641–653. doi: 10.1007/s11104-013-1712-2

Jamshidi S, Hashemizadeh S, Shahrokhi S (2011) Assessment of auto-allelopatic potential of broomcorn (Sorghum vulgare var. *technicum*). 13:2–6

Janos DP (2007) Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. Mycorrhiza 17:75–91. doi: 10.1007/s00572-006-0094-1

Janos DP, Scott J, Aristizábal C, Bowman DMJS (2013) Arbuscular-mycorrhizal networks inhibit Eucalyptus tetrodonta seedlings in rain forest soil microcosms. PLoS One 8:1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0057716

Jansson R, Dynesius M (2002) The fate of clades in a world of recurrent climatic change: Milankovitch oscillations and evolution. Annu Rev Ecol Syst 33:741–777. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150520

Janzen HH, Bruinsma Y (1989) Methodology for the quantification of root and rhizosphere nitrogen dynamics by exposure of shoots to ^{15}N-labelled ammonia. Soil Biol Biochem 21:189–196. doi: 10.1016/0038-0717(89)90094-1

Jastrow JD, Miller RM (1993) Neighbor influences on root morphology and mycorrhizal fungus colonization in tallgrass prairie plants. Ecology 74:561–569. doi: 10.2307/1939316

Javaid A (2008) Allelopathy in mycorrhizal symbiosis in the poaceae family. Allelopath J 21:207–218. doi: citeulike-article-id:5726070

Javaid A (2007) Allelopathic interactions in mycorrhizal associations. Allelopath J 20:29–42

Javaid A (1995) Allelopathy and VA mycorrhiza. III. Vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) in allelopathic and non-allelopathic grasses. Sci Int 7:545–547

Javaid A, Shafique S, Bajwa R, Shafique S (2006) Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. South African J Bot 72:609–612. doi: 10.1016/j.sajb.2006.04.006

Jensen CA (1907) Some mutual effects of tree-roots and grasses on soils. Science (80-) 25:871–874

Jensen ES (1996) Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. Soil Biol Biochem 28:65–71. doi: 10.1016/0038-0717(95)00116-6

Jensen ES, Bedoussac L, Carlsson G, et al (2015) Enhancing yields in organic crop production by eco-functional intensification. Sustain Agric Res 4:42–50. doi: 10.5539/sar.v4n3p42

Jin H, Pfeffer PE, Douds DD, et al (2005) The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. New Phytol 168:687–696. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01536.x

Johansen A, Jensen ES (1996) Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. Soil Biol Biochem 28:73–81. doi: 10.1016/0038-0717(95)00117-4

Johnson NC, Graham JH, Smith FA (1997) Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. New Phytol 135:575–586. doi: 10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x

Johnson PS, Shifley SR, Rogers R (2002) The ecology and silviculture of oaks

Jones DL, Healey JR, Willett VB, et al (2005) Dissolved organic nitrogen uptake by plants—an important N uptake pathway? Soil Biol Biochem 37:413–423. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.008

Jones DL, Hodge A, Kuzyakov Y (2004) Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. New Phytol 163:459–480. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x

Jose S (2002) Black walnut allelopathy: current state of the science. Chem Ecol Plants Allelopath Aquat Terr Ecosyst 149–172. doi: 10.1007/978-3-0348-8109-8_10

Juárez-Barrera F, Bueno-Hernández A, Morrone JJ, et al (2018) Recognizing spatial patterns of biodiversity during the nineteenth century: The roots of contemporary biogeography. J Biogeogr 45:995–1002. doi:

10.1111/jbi.13218

Juillet A, Zitti R (1935) *Molinia cærulea* Moench, graminée toxique à acide cyanhydrique. Bull la Soc Bot Fr 82:23–34. doi: 10.1080/00378941.1935.10832952

Kaitaniemi P, Lintunen A, Sievänen R, Perttunen J (2018) Computational analysis of the effects of light gradients and neighbouring species on foliar nitrogen. Ecol Inform 48:171–177. doi: 10.1016/j.ecoinf.2018.09.009

Kanakidou M, Myriokefalitakis S, Daskalakis N, et al (2016) Past, present, and future atmospheric nitrogen deposition. J Atmos Sci 73:2039–2047. doi: 10.1175/JAS-D-15-0278.1

Katznelson H, Rouatt JW, Payne TM (1955) The liberation of amino acids and reducing compounds by plant roots. Plant Soil VII:35–48

Kawaletz H, Mölder I, Annighöfer P, et al (2014) Pot experiments with woody species - A review. Forestry 87:482–491. doi: 10.1093/forestry/cpu017

Kaye JP, Hart SC (1967) Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. Science (80-) 158:1426–1432. doi: 10.1126/science.158.3807.1426

Kenrick P (2013) The origin of roots. In: Eshel A, Beeckman T (eds) Plant roots: the hidden half, Fourth Edition, CRC Press. p 948 pp

Khalilnejad A, Faisal Hj. Ali, Osman N (2012) Contribution of the root to slope stability. Geotech Geol Eng 30:277–288. doi: 10.1007/s10706-011-9446-5

Khan WDF, Peoples MB, Herridge DF (2002) Quantifying below-ground nitrogen of legumes. Plant Soil 245:327–334. doi: 10.1023/A:1020407006212

Kielland K (1994) Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling. Knut Kiell Source Ecol Ecol 75:2373–2383

Klein T (2016) Belowground carbon trade among talltrees in a temperate forest. Science (80-) 352:342–344. doi: 10.6084/m9.figshare.3081127

Klironomos JN, McCune J, Hart M, Neville J (2000) The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. Ecol Lett 3:137–141. doi: 10.1046/j.1461-0248.2000.00131.x

Kobae Y, Ohmori Y, Saito C, et al (2016) Phosphate treatment strongly inhibits new arbuscule development but not the maintenance of arbuscule in mycorrhizal rice roots. Plant Physiol 171:566–579. doi: 10.1104/pp.16.00127

Kobe RK, Iyer M, Walters MB (2010) Optimal partitioning theory revisited: nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen. Ecology 91:166–179. doi: 10.1890/09-0027.1

Kohli RK, Batish D, Singh HP (1998) Allelopathy and its implications in agroecosystems. J Crop Prod 1:169–202. doi: 10.1300/j144v01n01_08

Koide RT, Schreiner RP (2003) Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 43:557–581. doi: 10.1146/annurev.pp.43.060192.003013

Kong C-H, Zhang S-Z, Li Y-H, et al (2018) Plant neighbor detection and allelochemical response are driven by root-secreted signaling chemicals. Nat Commun 9:1–9. doi: 10.1038/s41467-018-06429-1

Konvalinková T, Jansa J (2016) Lights off for arbuscular mycorrhiza: on its symbiotic functioning under light deprivation. Front Plant Sci 7:1–11. doi: 10.3389/fpls.2016.00782

Kopriva S, Succurro A, Jacoby R, et al (2017) The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition - Current knowledge and future directions. Front Plant Sci 8:1–19. doi: 10.3389/fpls.2017.01617

Körner C (2015) Paradigm shift in plant growth control. Curr Opin Plant Biol 25:107–114. doi: 10.1016/j.pbi.2015.05.003

Kozlowski TT (2002) Physiological ecology of natural regeneration of harvested and disturbed forest stands: Implications for forest management. For Ecol Manage 158:195–221. doi: 10.1016/S0378-1127(00)00712-X

Kremer A, Kleinschmit J, Cottrell J, et al (2002) Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? For Ecol Manage 156:75–87. doi: 10.1016/S0378-1127(01)00635-1

Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass A (1996) Kinetics of NH_4^+ Influx in Spruce. Plant Physiol 110:773–779. doi: 110/3/773 [pii]

Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass A (1995) Kinetics of NO_3^- Influx in Spruce. Plant Physiol 109:319–326. doi: 10.1104/pp.109.1.319

Kurppa M, Leblanc HA, Nygren P (2010) Detection of nitrogen transfer from N_2-fixing shade trees to cacao saplings in ^{15}N labelled soil: ecological and experimental considerations. Agrofor Syst 80:223–239. doi: 10.1007/s10457-010-9327-6

Kuzyakov Y, Xu X (2013) Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. New Phytol 198:656–69. doi: 10.1111/nph.12235

Kvacek Z, Walther H (1989) Paleobotanical studies in *Fagaceae* of the European Tertiary. Plant Syst Evol 162:213–229

Kytöviita MM, Vestberg M, Tuomi J (2003) A test of mutual aid in common mycorrhizal networks: established vegetation negates benefit in seedlings. Ecology 84:898–906. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[0898:ATOMAI]2.0.CO;2

Lau JA, Puliafico KP, Kopshever JA, et al (2008) Inference of allelopathy is complicated by effects of activated carbon on plant growth. New Phytol 178:412–423. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02360.x

Laurent L (2016) Apports d'une approche écosystémique à l'étude de la dynamique des communautés végétales forestières : vers une prise en compte des interactions écologiques multiples

Leberecht M, Dannenmann M, Tejedor J, et al (2016) Segregation of nitrogen use between ammonium and nitrate of ectomycorrhizas and beech trees. Plant, Cell Environ 39:2691–2700. doi: 10.1111/pce.12820

Lembrechts JJ, Milbau A, Nijs I (2015) Trade-off between competition and facilitation defines gap colonization in mountains. AoB Plants 7:1–13. doi: 10.1093/aobpla/plv128

Leski T, Pietras M, Rudawska M (2010) Ectomycorrhizal fungal communities of pedunculate and sessile oak seedlings from bare-root forest nurseries. Mycorrhiza 20:179–190. doi: 10.1007/s00572-009-0278-6

Lesuffleur F, Cliquet JB (2010) Characterisation of root amino acid exudation in white clover (*Trifolium repens* L.). Plant Soil 333:191–201. doi: 10.1007/s11104-010-0334-1

Leszczynski B, Matok H (2014) Basic aspects of walnut allelopathy from field to biomolecules

Lewis DR, Negi S, Sukumar P, Muday GK (2011) Ethylene inhibits lateral root development, increases IAA transport and expression of PIN3 and PIN7 auxin efflux carriers. Development 138:3485–3495. doi: 10.1242/dev.065102

Leyval C, Berthelin J (1993) Rhizodeposition and net release of soluble organic compounds by pine and beech seedlings inoculated with rhizobacteria and ectomycorrhizal fungi. Biol Fertil Soils 15:259–267. doi: 10.1007/BF00337210

Li B, Yu-Ying L, Wu H-M, et al (2016a) Root exudates drive interspecific facilitation by enhancing nodulation and N_2 fixation. Proc Natl Acad Sci 113:6496–6501. doi: 10.1073/pnas.1523580113

Li G De, Jia LM, Li XW (2007) Research advances in allelopathy of *Quercus* L. For Stud China 9:287–294. doi: 10.1007/s11632-007-0046-7

Li X, Rennenberg H, Simon J (2015) Competition for nitrogen between *Fagus sylvatica* and *Acer*

pseudoplatanus seedlings depends on soil nitrogen availability. Front Plant Sci 6:1–11. doi: 10.3389/fpls.2015.00302

Li Y, Ran W, Zhang R, et al (2009) Facilitated legume nodulation, phosphate uptake and nitrogen transfer by arbuscular inoculation in an upland rice and mung bean intercropping system. Plant Soil 315:285–296. doi: 10.1007/s11104-008-9751-9

Li YH, Xia ZC, Kong CH (2016b) Allelobiosis in the interference of allelopathic wheat with weeds. Pest Manag Sci 72:2146–2153. doi: 10.1002/ps.4246

Lieffers VJ, Messier C, Stadt KJ, et al (1999) Predicting and managing light in the understory of boreal forests. Can J For Res 29:796–811. doi: 10.1139/x98-165

Linkohr BI, Williamson LC, Fitter AH, Leyser HMO (2002) Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of *Arabidopsis*. Plant J 29:751–760. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01251.x

Löf M (2000) Establishment and growth in seedlings of *Fagus sylvatica* and *Quercus robur*: influence of interference from herbaceous vegetation. Can J For Res 30:855–864

Löf M, Welander N (2004) Influence of herbaceous competitors on early growth in direct seeded *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. Ann For Sci 61:781–788. doi: 10.1051/forest

Loftis, David, Mcgee, Charles (1993) Oak regeneration: serious problems practical recommendations

López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, Herrera-Estrella L (2003) The role of nutrient availability in regulating root architecture. Curr Opin Plant Biol 6:280–287. doi: 10.1016/S1369-5266(03)00035-9

Lortie CJ, Callaway RM (2006) Re-analysis of meta-analysis: support for the stress-gradient hypothesis. J Ecol 94:7–16. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01066.x

Lu X, Malajczuk N, Dell B (1998) Mycorrhiza formation and growth of *Eucalyptus globulus* seedlings inoculated with spores of various ectomycorrhizal fungi. Mycorrhiza 8:81–86. doi: 10.1007/s005720050216

Lucash MS, Eissenstat DM, Joslin JD, et al (2007) Estimating nutrient uptake by mature tree roots under field conditions: challenges and opportunities. Environ Sci Manag Fac 111:1–43

Lynch JM, Whipps JM (1990) Substrate flow in the rhizosphere. Plant Soil 129:1–10. doi: 10.1007/BF00011685

Macías FA, Oliveros-Bastidas A, Marín D, et al (2014) Evidence for an allelopathic interaction between rye and wild oats. J Agric Food Chem 62:9450–9457. doi: 10.1021/jf503840d

Maestre FT, Bautista S, Cortina J, Bellot J (2001) Potential for using facilitation by grasses to establish shrubs on a semiarid degraded steppe. Ecol Appl 11:1641–1655. doi: 10.1890/1051-0761(2001)011[1641:PFUFBG]2.0.CO;2

Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. J Ecol 97:199–205. doi: 10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x

Maestre FT, Cortina J (2004) Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. Proc R Soc London Ser B Biol Sci 271:331–333. doi: 10.1098/rsbl.2004.0181

Maestre FT, Valladares F, Reynolds JF (2005) Is the change of plant-plant interactions with abiotic stress predictable? A meta-analysis of field results in arid environments. J Ecol 93:748–757. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.01017.x

Mafeo TP, Mashela PW (2010) Allelopathic inhibition of seedling emergence in dicotyledonous crops by *Cucumis* bio-nematicide. African J Biotechnol 9:8349–8354. doi: 10.5897/AJB10.652

Mahall BE, Callaway RM (1990) Root communication among desert shrubs. Proc Natl Acad Sci 88:874–876. doi: 10.1073/pnas.88.3.874

Mahall BE, Callaway RM (1992) Root communication mechanisms and intracommunity distributions of two mojave desert shrubs. Ecology 73:2145–2151

Mahall BE, Callaway RM (1996) Effects of regional origin and genotype on intraspecific root communication in the desert shrub *Ambrosia dumosa* (Asteraceae). Am J Bot 83:93

Mahieu S, Fustec J, Faure ML, et al (2007) Comparison of two ^{15}N labelling methods for assessing nitrogen rhizodeposition of pea. Plant Soil 295:193–205. doi: 10.1007/s11104-007-9275-8

Mahieu S, Fustec J, Jensen ES, Crozat Y (2009a) Does labelling frequency affect N rhizodeposition assessment using the cotton-wick method? Soil Biol Biochem 41:2236–2243. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.08.008

Mahieu S, Germon F, Aveline A, et al (2009b) The influence of water stress on biomass and N accumulation, N partitioning between above and below ground parts and on N rhizodeposition during reproductive growth of pea (*Pisum sativum* L.). Soil Biol Biochem 41:380–387. doi: 10.1016/j.soilbio.2008.11.021

Mahieu S, Metay A, Brunel B, Dufour L (2016) Nitrogen fluxes in chickpea grown in Mediterranean agroforestry systems. Agrofor Syst 90:313–324. doi: 10.1007/s10457-015-9856-0

Majdi H, Pregitzer K, Morén AS, et al (2005) Measuring fine root turnover in forest ecosystems. Plant Soil 276:1–8. doi: 10.1007/s11104-005-3104-8

Malamy JE (2009) Lateral root formation. In: Root Development. Wiley Blackwell, pp 83–126

Malamy JE, Benfey PN (1997) Down and out in *Arabidopsis*: the formation of lateral roots. Trends Plant Sci 2:390–396. doi: 10.1016/S1360-1385(97)01118-7

Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C, et al (2009) Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models: a review. Agron Sustain Dev 29:43–62. doi: 10.1051/agro

Mallik A (1998) Allelopathy and competition in coniferous forests. Environ For Sci 54:309–315. doi: 10.1007/978-94-011-5324-9_33

Mallik AU (1987) Allelopathic potential of *Kalmia angustifolia* to black spruce (Picea mariana). For Ecol Manage 20:43–51. doi: 10.1016/0378-1127(87)90149-6

Mallik AU (2003) Conifer regeneration problems in boreal and temperate forests with ericaceous understory: role of disturbance, seedbed limitation, and keytsone species change. CRC Crit Rev Plant Sci 22:341–366

Mallik AU, Biswas SR;, Collier LCS (2016) Belowground interactions between *Kalmia angustifolia* and *Picea mariana*: roles of competition , root exudates and ectomycorrhizal association. Plant Soil 403:471–483. doi: 10.1007/s11104-016-2819-z

Mallik AU, Zhu H (1994) Overcoming allelopathic growth inhibition by mycorrhizal inoculation. In: Allelopathy: organisms, processes, and applications. pp 39–57

Manchester SR (1994) Fruits and seeds of the Middle Eocene nut beds flora, clarno formation, Oregon

Massa GD, Gilroy S (2003) Touch modulates gravity sensing to regulate the growth of primary roots of *Arabidopsis thaliana*. Plant J 33:435–445. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01637.x

Massicotte HB, Luoma D, Smith JE (1994) Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon*. 2. Patterns of host-fungus specificity following spore inoculation of diverse hosts grown in monoculture and dual culture. New Phytol 126:677–690

Matsumoto S, Ae N (2004) Characteristics of extractable soil organic nitrogen determine using various chemical solutions and its significance for nitrogen uptake by crops. Soil Sci Plant Nutr 50:1–9. doi: 10.1080/00380768.2004.10408446

McCarthy N, Bentsen NS, Willoughby I, Balandier P (2011) The state of forest vegetation management in Europe in the 21st century. Eur J For Res 130:7–16. doi: 10.1007/s10342-010-0429-5

Merrild MP, Ambus P, Rosendahl S, Jakobsen I (2013) Common arbuscular mycorrhizal networks amplify

competition for phosphorus between seedlings and established plants. New Phytol 200:229–240. doi: 10.1111/nph.12351

Metcalfe RJ, Nault J, Hawkins BJ (2011) Adaptations to nitrogen form: comparing inorganic nitrogen and amino acid availability and uptake by four temperate forest plants. Can J For Res Can Rech For 41:1626–1637. doi: 10.1139/x11-090

Metlen KL, Aschehoug ET, Callaway RM (2009) Plant behavioural ecology: dynamic plasticity in secondary metabolites. Plant, Cell Environ 32:641–653. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01910.x

Meyer-Berthaud B, Decombeix A-L (2007) A tree without leaves. Nature 446:861–862. doi: 10.1038/446861a

Meyer-Berthaud B, Scheckler SE, Wendt J (1999) *Archaeopteris* is the earliest known modern tree. Nature 398:700–701. doi: 10.1038/19516

Michalet R, Brooker RW, Cavieres LA, et al (2006) Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? Ecol Lett 9:767–773. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00935.x

Millar NS, Bennett AE (2016) Stressed out symbiotes: hypotheses for the influence of abiotic stress on arbuscular mycorrhizal fungi. Oecologia 182:625–641. doi: 10.1007/s00442-016-3673-7

Millard P (1994) Measurement of the remobilization of nitrogen for spring leaf growth of trees under field conditions. Tree Physiol 14:1049–1054. doi: 10.1093/treephys/14.7-8-9.1049

Millard P (1996) Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkd 159:1–10. doi: 10.1002/jpln.1996.3581590102

Millard P, Grelet G (2010) Nitrogen storage and remobilization by trees : ecophysiological relevance in a changing world. Tree Physiol 30:1083–1095. doi: 10.1093/treephys/tpq042

Miransari M, Bahrami HA, Rejali F, Malakouti MJ (2008) Using arbuscular mycorrhiza to alleviate the stress of soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth. Soil Biol Biochem 40:1197–1206. doi: 10.1016/j.soilbio.2007.12.014

Mölder A, Meyer P, Nagel RV (2019) Integrative management to sustain biodiversity and ecological continuity in Central European temperate oak (*Quercus robur*, *Q. petraea*) forests: An overview. For Ecol Manage 437:324–339. doi: 10.1016/j.foreco.2019.01.006

Molisch H (1937) Der Einfluss einer pflanze auf die andere, allelopathie. Nature 141:493

Mommer L, Kirkegaard J, van Ruijven J (2016) Root–root interactions: towards a rhizosphere framework. Trends Plant Sci 21:209–217. doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.009

Montesinos-Navarro A, Valiente-Banuet A, Verdú M (2019a) Mycorrhizal symbiosis increases the benefits of plant facilitative interactions. Ecography (Cop) 42:447–455. doi: 10.1111/ecog.03926

Montesinos-Navarro A, Valiente-Banuet A, Verdú M (2019b) Processes underlying the effect of mycorrhizal symbiosis on plant-plant interactions. Fungal Ecol 40:98–106. doi: 10.1016/j.funeco.2018.05.003

Montesinos-Navarro A, Verdú M, Querejeta JI, et al (2016) Soil fungi promote nitrogen transfer among plants involved in long-lasting facilitative interactions. Perspect Plant Ecol Evol Syst 18:45–51. doi: 10.1016/j.ppees.2016.01.004

Montesinos-Navarro A, Verdú M, Querejeta JI, Valiente-Banuet A (2017) Nurse plants transfer more nitrogen to distantly related species. Ecology 98:1300–1310. doi: 10.1002/ecy.1771

Moustakas A, Kunin WE, Cameron TC, Sankaran M (2013) Facilitation or competition? Tree effects on grass biomass across a precipitation gradient. PLoS One 8:. doi: 10.1371/journal.pone.0057025

Moyer-Henry KA, Burton JW, Israel DW, Rufty TW (2006) Nitrogen transfer between plants: a ^{15}N natural abundance study with crop and weed species. Plant Soil 282:7–20. doi: 10.1007/s11104-005-3081-y

Muller CH (1969) Allelopathy as a factor in ecological process. Vegetatio 18:348–357. doi: 10.1007/BF00332847

Muller CH (1966) The role of chemical inhibition (allelopathy) in vegetational composition. Bull Torrey Bot Club 93:332–351. doi: 10.2307/2483447

Müller DB, Vogel C, Bai Y, Vorholt JA (2016) The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. Annu Rev Genet 50:211–234. doi: 10.1146/annurev-genet-120215-034952

Nacry P, Bouguyon E, Gojon A (2013) Nitrogen acquisition by roots: physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource. Plant Soil 370:1–29. doi: 10.1007/s11104-013-1645-9

Nara K, Nara K (2006) Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. New Phytol 169:169–178

Näsholm T, Ekbad A, Nordin A, et al (1998) Boreal forest plants take up organic nitrogen. Nature 392:914–916

Näsholm T, Kielland K, Ganeteg U (2009) Uptake of organic nitrogen by plants. New Phytol 182:31–48. doi: 10.1111/j.1469-8137

Ndufa JK, Gathumbi SM, Kamiri HW, et al (2009) Do mixed-species legume fallows provide long-term maize yield benefit compared with monoculture legume fallows? Agron J 101:1352–1362. doi: 10.2134/agronj2008.0208x

Neilsen D, Millard P, Herbert LC, et al (2000) Remobilization and uptake of N by newly planted apple (*Malus domestica*) trees in response to irrigation method and timing of N application. Tree Physiol 21:513–521. doi: 10.1093/treephys/21.8.513

Neumann G, Römheld V (2000) The release of root exudates as affected by the plant physiological status. Rhizosph Biochem Org Subst soil-plant interface 23–72. doi: doi:10.1201/9781420005585.ch2

Ngosong C, Gabriel E, Ruess L (2012) Use of the signature fatty acid 16:1ω5 as a tool to determine the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. J Lipids 2012:1–8. doi: 10.1155/2012/236807

Nguyen C (2007) La libération de composés organiques par les racines (rhizodéposition): modélisation et impact sur la biodisponibilité des éléments minéraux pour les plantes

Nguyen C (2003) Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. Agronomie 23:375–396. doi: 10.1051/agro:2003011>

Nilsson M-C, Högberg P, Zackrisson O, Fengyou W (1993) Allelopathic effects by *Empetrum hermaphroditum* on development and nitrogen uptake by roots and mycorrhizae of *Pinus silvestris*. Can J Bot 71:620–628. doi: 10.1139/b93-071

Nilsson MC (1994) Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub *Empetrum hermaphroditum* Hagerup. Oecologia 98:1–7. doi: 10.1007/BF00326083

Nilsson MC, Zackrisson O (1992) Inhibition of Scots pine seedling establishment by *Empetrum hermaphroditum*. J Chem Ecol 18:1857–1870. doi: 10.1007/BF02751109

Norder SJ (2019) Alexander von Humboldt (1769–1859): Connecting geodiversity, biodiversity and society. J Biogeogr 1–4. doi: 10.1111/jbi.13500

Öhlund J, Näsholm T (2004) Regulation of organic and inorganic nitrogen uptake in Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. Tree Physiol 24:1397–1402

Oldroyd GE, Engstrom EM, Long SR (2001) Ethylene inhibits the Nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*. Plant Cell 13:1835–1849. doi: 10.1105/TPC.010193

Olofsdotter M, Navarez D, Rebulanan M, Streibig JC (1999) Weed-suppressing rice cultivars - Does allelopathy play a role? Weed Res 39:441–454. doi: 10.1046/j.1365-3180.1999.00159.x

Olsen RA, Odham G, Lindeberg G (1971) Aromatic substances in leaves of *Populus tremula* as inhibitors of mycorrhizal fungi. Physiol Plant 25:122–129. doi: 10.1111/j.1399-3054.1971.tb01100.x

Owen AG, Jones DL (2001) Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. Soil Biol Biochem 33:651–657. doi: 10.1016/S0038-0717(00)00209-1

Pardales JR, Kono Y, Yamauchi A, Iijima M (1992) Seminal root growth in sorghum (*Sorghum bicolor*) under allelopathic influences from residues of taro (*Colocasia esculenta*). Ann Bot 69:493–496. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a088377

Paterson E, Gebbing T, Abel C, et al (2006) Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil. New Phytol 173:600–610. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01931.x

Patriarca EJ, Tatè R, Ferraioli S, Iaccarino M (2004) Organogenesis of legume root nodules. Int Rev Cytol 234:201–262. doi: 10.1016/S0074-7696(04)34005-2

Pellissier F (1994) Effect of phenolic compounds in humus on the natural regeneration of spruce. Phytochemistry 36:865–867. doi: 10.1016/S0031-9422(00)90452-7

Pelzer E, Bazot M, Makowski D, et al (2012) Pea-wheat intercrops in low-input conditions combine high economic performances and low environmental impacts. Eur J Agron 40:39–53. doi: 10.1016/j.eja.2012.01.010

Penuelas J, Llusia J (1998) Influence of intra- and inter-specific interference on terpene emission by *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* seedlings. Biol Plant 41:139–143

Pérez FJ, Ormenoñuñez J (1991) Difference in hydroxamic acid content in roots and root exudates of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.): Possible role in allelopathy. J Chem Ecol 17:1037–1043. doi: 10.1007/BF01402932

Perry LG, Weir TL, Prithiviraj B, et al (2006) Root exudation and rhizosphere biology: multiple functions of a plant secondary metabolite. In: Communication in Plants: Neuronal Aspects of Plant Life. pp 403–420

Persson J, Nasholm T (2001) Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants. Ecol Lett 4:434–438. doi: 10.1046/j.1461-0248.2001.00260.x

Petit RJ, Csaikl UM, Bordács S, et al (2002) Chloroplast DNA variation in European white oaks. Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. For Ecol Manage 156:5–26. doi: 10.1016/S0378-1127(01)00645-4

Philipps DA, Fox TC, Six J (2006) Root exudation (net efflux of amino acids) may increase rhizodeposition under elevated CO_2. Glob Chang Biol 12:561–567. doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01100.x

Phillips FJ (1909) A Study of Pinon Pine. Univ Chicago Press 48:216–223

Picon-Cochard C, Coll L, Balandier P (2006) The role of below-ground competition during early stages of secondary succession: the case of 3-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings in an abandoned grassland. Oecologia 148:373–383. doi: 10.1007/s00442-006-0379-2

Pierik R, Mommer L, Voesenek LA (2013) Molecular mechanisms of plant competition: neighbour detection and response strategies. Funct Ecol 27:841–853. doi: 10.1111/1365-2435.12010

Pietikäinen A, Kytöviita MM (2007) Defoliation changes mycorrhizal benefit and competitive interactions between seedlings and adult plants. J Ecol 95:639–647. doi: 10.1111/j.1365-2745.2007.01257.x

Plassard C, Chalot M, Botton B, Martin F (1997) Le rôle des ectomycorhizes dans la nutrition azotée des arbres forestiers. Rev For Française N° sp:82–98

Porterfield DM, Musgrave ME (1998) The tropic response of plant roots to oxygen: oxytropism in *Pisum sativum* L. Planta 206:1–6. doi: 10.1007/s004250050367

Postma JA, Dathe A, Lynch JP (2014) The optimal lateral root branching density for maize depends on nitrogen

and phosphorus availability. PLANT Physiol 166:590–602. doi: 10.1104/pp.113.233916

Pratelli R, Boyd S, Pilot G (2016) Analysis of amino acid uptake and translocation in *Arabidopsis* with a low-cost hydroponic system. J Plant Nutr Soil Sci 179:286–293. doi: 10.1002/jpln.201500464

Pritchard JM, Comeau PG (2004) Effects of opening size and stand characteristics on light transmittance and temperature under young trembling aspen stands. For Ecol Manage 200:119–128. doi: 10.1016/j.foreco.2004.06.002

Promis A, Allen RB (2017) Tree seedlings respond to both light and soil nutrients in a Patagonian evergreen-deciduous forest. PLoS One 12:1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0188686

Provendier D, Balandier P (2004) Contrôler la végétation en plantation forestière: premiers résultats sur les modifications micro-environnementales engendrées par l'utilisation de plantes de couverture. Ingénieries 40:61–72

Provendier D, Balandier P (2008) Compared effects of competition by grasses (Graminoids) and broom (*Cytisus scoparius*) on growth and functional traits of beech saplings (*Fagus sylvatica*). Ann For Sci 65:510–519

Quinteros CP, Bava JO, López Bernal PM, et al (2017) Competition effects of grazing-modified herbaceous vegetation on growth, survival and water relations of lenga (*Nothofagus pumilio*) seedlings in a temperate forest of Patagonia, Argentina. Agrofor Syst 91:597–611. doi: 10.1007/s10457-016-9983-2

Rasmann S, Turlings TCJ (2016) Root signals that mediate mutualistic interactions in the rhizosphere. Curr Opin Plant Biol 32:62–68. doi: 10.1016/j.pbi.2016.06.017

Rasmussen RA, Went FW (1964) Volatile organic matter of plant origin in the atmosphere. Science (80-) 144:215–220. doi: 10.1126/science.144.3618.566-a

Reigosa MJ, Sánchez-moreiras A, González L (1999) Ecophysiological approach in allelopathy. Crit Rev Biotechnol 18:577–608. doi: 10.1080/07352689991309405

Rennenberg H, Dannenmann M, Gessler A, et al (2009) Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. Plant Biol 4–23. doi: 10.1111/j.1438-8677.2009.00241.x

Requena N, Perez-solis E, Azcon-aguilar C, et al (2001) Management of indegenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. Appl Environ Microbiol 67:495–498. doi: 10.1128/AEM.67.2.495

Ribeiro Paula R, Bouillet JP, Ocheuze Trivelin PC, et al (2015) Evidence of short-term belowground transfer of nitrogen from *Acacia mangium* to *Eucalyptus grandis* trees in a tropical planted forest. Soil Biol Biochem 91:99–108. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.08.017

Rice EL (1985) Chemically mediated interactions between plants and other organisms. Chem Mediat Interact between Plants Other Org 19:81–105. doi: 10.1007/978-1-4757-9658-2

Rice EL (1984) Allelopathy. In: Rice EL-A (Second E (ed). Academic Press, Orlando

Richard F, Selosse MA, Gardes M (2009) Facilitated establishment of *Quercus ilex* in shrub-dominated communities within a Mediterranean ecosystem: do mycorrhizal partners matter? FEMS Microbiol Ecol 68:14–24. doi: 10.1111/j.1574-6941.2009.00646.x

Ridenour WM, Callaway RM (2001) The relative importance of allelopathy in interference: the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. Oecologia 126:444–450. doi: 10.1007/s004420000533

Rizvi SJH, Haque H, Singh VK, Rizvi V (1992) A discipline called allelopathy. In: Allelopathy. pp 1–10

Robertson GP, Groffman PM (2007) Nitrogen transformations. In: Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry, Third Edit. Elsevier Inc., pp 341–364

Robinson D (1994) The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. New Phytol 127:635–674. doi: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb02969.x

Robinson D (1996) Resource capture by localized root proliferation: why do plants bother? Ann Bot 77:179–185. doi: 10.1006/anbo.1996.0020

Robinson RK (1972) The production by roots of *Calluna Vulgaris* of a factor inhibitory to growth of some mycorrhizal fungi. J Ecol 60:219–224. doi: 10.2307/2258051

Rodríguez-Calcerrada J, Mutke S, Alonso J, et al (2008) Influence of overstory density on understory light, soil moisture, and survival of two underplanted oak species in a Mediterranean montane Scots pine forest. Investig Agrar Sist y Recur For 17:31–38. doi: 10.5424/srf/2008171-01021

Rodríguez-Echeverría S, Lozano YM, Bardgett RD (2016) Influence of soil microbiota in nurse plant systems. Funct Ecol 30:30–40. doi: 10.1111/1365-2435.12594

Roggy JC, Moiroud A, Lensi R, Domenach AM (2004) Estimating N transfers between N_2-fixing actinorhizal species and the non-N_2-fixing *Prunus avium* under partially controlled conditions. Biol Fertil Soils 39:312–319. doi: 10.1007/s00374-003-0695-1

Rovira AD (1959) Root excretions in relation to the rhizosphere effect. IV. Influence of plant species, age of plant, light, temperature, and calcium nutrition on exudation. Plant Soil 11:53–64. doi: 10.1007/BF01394753

Rovira AD (1969) Plant root exudates. Bot Rev 35:35–57. doi: 10.1007/BF02859887

Russell CA, Fillery IRP (1996) In situ ^{15}N labelling of lupin below-ground biomass. Aust J Agric Res 47:1035–1046

San Emeterio L, Damgaard C, Canals RM (2007) Modelling the combined effect of chemical interference and resource competition on the individual growth of two herbaceous populations. Plant Soil 292:95–103. doi: 10.1007/s11104-007-9205-9

Santonja M, Bousquet-Mélou A, Greff S, et al (2019) Allelopathic effects of volatile organic compounds released from *Pinus halepensis* needles and roots. Ecol Evol 8201–8213. doi: 10.1002/ece3.5390

Sapp J (2004) The dynamics of symbiosis: an historical overview. Can J Bot 82:1046–1056. doi: 10.1139/b04-055

Scandellari F, Tonon G, Thalheimer M, et al (2007) Assessing nitrogen fluxes from roots to soil associated to rhizodeposition by apple (*Malus domestica*) trees. Trees - Struct Funct 21:499–505. doi: 10.1007/s00468-007-0141-3

Scandellari F, Ventura M, Gioacchini P, et al (2010) Seasonal pattern of net nitrogen rhizodeposition from peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) trees in soils with different textures. Agric Ecosyst Environ 136:162–168. doi: 10.1016/j.agee.2009.12.017

Schaller M, Schroth G, Beer J, Jiménez F (2003) Root interactions between young *Eucalyptus deglupta* trees and competitive grass species in contour strips. For Ecol Manage 179:429–440. doi: 10.1016/S0378-1127(02)00534-0

Scharf BE, Hynes MF, Alexandre GM (2016) Chemotaxis signaling systems in model beneficial plant–bacteria associations. Plant Mol Biol 90:549–559. doi: 10.1007/s11103-016-0432-4

Schenck Zu Schweinsberg-Mickan M, Jörgensen RG, Müller T (2012) Rhizodeposition: its contribution to microbial growth and carbon and nitrogen turnover within the rhizosphere. J Plant Nutr Soil Sci 175:750–760. doi: 10.1002/jpln.201100300

Schenk HJ (2006) Root competition: beyond resource depletion. J. Ecol. 94:725–739

Schenk HJ, Callaway RM, Mahall BE (1999) Spatial root segregation : are plants territorial? Adv Ecol Res 28:145–180. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60032-X

Schöb C, Prieto I, Armas C, Pugnaire FI (2014) Consequences of facilitation: one plant's benefit is another plant's cost. Funct Ecol 28:500–508. doi: 10.1111/1365-2435.12185

Schreiner O, Reed HS (1907) The production of deleterious excretions by roots. Bull Torrey Bot Club 34:279–303. doi: 10.2307/2479157

Schroth G (1999) A review of belowground interactions in agroforestry, focussing on mechanisms and management options. Agrofor Syst 43:5–34. doi: 10.1007/978-94-017-0679-7_1

Seigler DS (1996) Chemistry and mechanisms of allelopathic interactions. Agron J 88:876–885

Selosse MA, Richard F, He X, Simard SW (2006) Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? Trends Ecol. Evol.

Semchenko M, Saar S, Lepik A (2014) Plant root exudates mediate neighbour recognition and trigger complex behavioural changes. New Phytol 204:631–637. doi: 10.1111/nph.12930

Shahzad Z, Amtmann A (2017) Food for thought: how nutrients regulate root system architecture. Curr Opin Plant Biol 39:80–87. doi: 10.1016/j.pbi.2017.06.008

Shamoot S, McDonald L, Bartholomew WV (1968) Rhizo-deposition of organic debris in soil. Soil Sci Soc Am Proc 32:817–820. doi: 10.2136/sssaj1968.03615995003200060031x

Shemesh H, Arbiv A, Gersani M, et al (2010a) The effects of nutrient dynamics on root patch choice. PLoS One 5:1–6. doi: 10.1371/journal.pone.0010824

Shemesh H, Ovadia O, Novoplansky A (2010b) Anticipating future conditions *via* trajectory sensitivity. Plant Signal Behav 5:3–6. doi: 10.4161/psb.5.11.13660

Shen Q, Chu G (2004) Bi-directional nitrogen transfer in an intercropping system of peanut with rice cultivated in aerobic soil. Biol Fertil Soils 40:81–87. doi: 10.1007/s00374-004-0737-3

Shkolnik-Inbar D, Bar-Zvi D (2010) ABI4 mediates abscisic acid and cytokinin inhibition of lateral root formation by reducing polar auxin transport in *Arabidopsis*. Plant Cell 22:3560–3573. doi: 10.1105/tpc.110.074641

Sierra J, Daudin D, Domenach AM, et al (2007) Nitrogen transfer from a legume tree to the associated grass estimated by the isotopic signature of tree root exudates: a comparison of the ^{15}N leaf feeding and natural ^{15}N abundance methods. Eur J Agron 27:178–186. doi: 10.1016/j.eja.2007.03.003

Sierra J, Nygren P (2006) Transfer of N fixed by a legume tree to the associated grass in a tropical silvopastoral system. Soil Biol Biochem 38:1893–1903. doi: 10.1016/j.soilbio.2005.12.012

Simard SW (2018) Mycorrhizal networks facilitate tree communication, learning, and memory. In: Signaling and Communication in Plants. pp 191–213

Simard SW, Durall DM (2004) Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. Can J Bot 82:1140–1165. doi: 10.1139/b04-116

Simard SW, Durall DM, Jones MD (1997a) Carbon allocation and carbon transfer between Betula papyrifera and Pseudotsuga menziesii seedlings using a ^{13}C pulse-labeling method. Plant Soil 191:41–55. doi: 10.1023/A:1004205727882

Simard SW, Jones MD, Durall DM, et al (1997b) Reciprocal transfer of carbon isotopes between ectomycorrhizal *Betula papyfera* and *Pseudotsuga menziesii*. New Phytol 137:529–542. doi: 10.1046/j.1469-8137.1997.00834.x

Simard SW, Perry DA (1997) Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. Nature 388:579. doi: 10.1038/41557

Slankis V, Runeckles VC, Krotkov G (1964) Metabolites liberated by roots of white pine (*Pinus strobus* L.) seedlings. Physiol Plant 17:301–313. doi: 10.1111/j.1399-3054.1964.tb08162.x

Smith S, Read D (1997) Mycorrhizal Symbiosis - Reviews

Song M, Xu X, Hu Q, et al (2007) Interactions of plant species mediated plant competition for inorganic nitrogen

with soil microorganisms in an alpine meadow. Plant Soil 297:127–137. doi: 10.1007/s11104-007-9326-1

South DB (1995) Relative Growth Rate: a critique. South African For J 173:1–6

Souto XC, Gonzales L, Reigosa MJ (1994) Comparative analysis of allelopathic effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia (NW Spain). J Chem Ecol 20:3005–3015. doi: 10.1007/BF02098405

Stachowicz JJ (2001) Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. Acta Med Per 51:235–246. doi: 10.1641/0006-3568(2001)051

Stagnari F, Maggio A, Galieni A, Pisante M (2017) Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: an overview. Chem Biol Technol Agric 4:1–13. doi: 10.1186/s40538-016-0085-1

Stein WE, Berry CM, Hernick LV, Mannolini F (2012) Surprisingly complex community discovered in the mid-Devonian fossil forest at Gilboa. Nature 483:78

Suikkanen S (2008) Allelopathic effects of filamentous cyanobacteria on phytoplankton in the Baltic Sea

Sulieman S, Tran LSP (2014) Symbiotic nitrogen fixation in legume nodules: metabolism and regulatory mechanisms. Int J Mol Sci 15:19389–19393. doi: 10.3390/ijms151119389

Sun T, Dong L, Mao Z, Li Y (2015) Fine root dynamics of trees and understorey vegetation in a chronosequence of *Betula platyphylla* stands. For Ecol Manage 346:1–9. doi: 10.1016/j.foreco.2015.02.035

Suriyagoda LDB, Lambers H, Renton M, Ryan MH (2012) Growth, carboxylate exudates and nutrient dynamics in three herbaceous perennial plant species under low, moderate and high phosphorus supply. Plant Soil 358:105–117. doi: 10.1007/s11104-012-1311-7

Suz LM, Martín MP, Oliach D, et al (2008) Mycelial abundance and other factors related to truffle productivity in *Tuber melanosporum-Quercus ilex* orchards. FEMS Microbiol Lett 285:72–78. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01213.x

Svennerstam H, Jamtgard S, Ahmad I, et al (2011) Transporters in *Arabidopsis* roots mediating uptake of amino acids at naturally occurring concentrations. New Phytol 191:459–467. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03699.x

Takahashi H (1994) Hydrotropism and its interaction with gravitropism in roots. Plant Soil 165:301–308. doi: 10.1007/BF00008073

Tarquinio F, Bourgoure J, Koenders A, et al (2018) Microorganisms facilitate uptake of dissolved organic nitrogen by seagrass leaves. ISME J 12:2796–2800. doi: 10.1038/s41396-018-0218-6

Teste FP, Simard SW (2008) Mycorrhizal networks and distance from mature trees alter patterns of competition and facilitation in dry Douglas-fir forests. Oecologia 158:193–203. doi: 10.1007/s00442-008-1136-5

Teste FP, Simard SW, Durall DM (2009) Role of mycorrhizal networks and tree proximity in ectomycorrhizal colonization of planted seedlings. Fungal Ecol 2:21–30. doi: 10.1016/j.funeco.2008.11.003

Teste FP, Veneklaas EJ, Dixon KW, Lambers H (2015) Is nitrogen transfer among plants enhanced by contrasting nutrient-acquisition strategies? Plant, Cell Environ 38:50–60. doi: 10.1111/pce.12367

Tian C, Kasiborski B, Koul R, et al (2010) Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal symbiosis : gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux. Plant Physiol 153:1175–1187. doi: 10.1104/pp.110.156430

Tielbörger K, Kadmon R (2000) Temporal environmental variation tips the balance between facilitation and interference in desert plants. Ecology 81:1544–1553

Tilman D (1990) Constraints and tradeoffs: toward a predictive theory of competition and succession. Oikos 58:3–15. doi: 10.2307/3565355

Timbal J, Gelpe J, Garbaye J, Courrier G (1990) Étude préliminaire sur l'effet dépressif de la molinie (Molinia

caerulea) sur la croissance et l'état mycorhizien de semis de chêne rouge (Quercus rubra). Ann For Sci 21:643–649

Trelease W (1924) The american oaks. Natl Acad Sci XX:1–255

Trenberth KE, Dai A, Van Der Schrier G, et al (2014) Global warming and changes in drought. Nat Clim Chang 4:17–22. doi: 10.1038/nclimate2067

Trezzi MM, Vidal RA, Junior AAB, et al (2016) Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. J Plant Interact 11:53–60. doi: 10.1080/17429145.2016.1159342

Trinder CJ, Brooker RW, Robinson D (2013) Plant ecology's guilty little secret: understanding the dynamics of plant competition. Funct Ecol 27:918–929. doi: 10.1111/1365-2435.12078

Tsakaldimi M, Tsitsoni T, Ganatsas P, Zagas T (2009) A comparison of root architecture and shoot morphology between naturally regenerated and container-grown seedlings of *Quercus ilex*. Plant Soil 324:103–113. doi: 10.1007/s11104-009-9974-4

Tsunoda T, van Dam NM (2017) Root chemical traits and their roles in belowground biotic interactions. Pedobiologia (Jena) 65:58–67. doi: 10.1016/j.pedobi.2017.05.007

Tsvuura Z, Lawes MJ (2016) Light availability drives tree seedling success in a subtropical coastal dune forest in South Africa. South African J Bot 104:91–97. doi: 10.1016/j.sajb.2015.11.009

Tückmantel T, Leuschner C, Preusser S, et al (2017) Root exudation patterns in a beech forest: dependence on soil depth, root morphology, and environment. Soil Biol Biochem 107:188–197. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.01.006

Tukey HBJ (1966) Leaching of metabolites from above-ground plant parts and its implications. Torrey Bot Soc 93:385–401. doi: 10.2307/2483411

Turner J, Fogg GE, B PRSL (1965) A contribution to the history of forest clearance. Proc R Soc London Ser B Biol Sci 161:343–354. doi: 10.1098/rspb.1965.0006

Ulrich DEM, Sevanto S, Ryan M, et al (2019) Plant-microbe interactions before drought influence plant physiological responses to subsequent severe drought. Sci Rep 9:1–10. doi: 10.1038/s41598-018-36971-3

Valladares F, Martinez-Ferri E, Balaguer L, et al (2000) Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? New Phytol 148:79–91. doi: 10.1046/j.1469-8137.2000.00737.x

Vallis I, Haydock KP, Ross PJ, Henzell EF (1967) Isotopic studies on the uptake of nitrogen by pasture plants. Aust J Agric Res 18:865–877. doi: 10.1071/AR9730693

van der Heijden MGA (2004) Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland. Ecol Lett 7:293–303. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00577.x

van der Heijden MGA, Bardgett RD, Van Straalen NM (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. Ecol Lett 11:296–310. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01199.x

van der Heijden MGA, Horton TR (2009) Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. J Ecol 97:1139–1150. doi: 10.1111/j.1365-2745.2009.01570.x

van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, et al (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature 396:69–72. doi: 10.1038/23932

van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse M-A, Sanders IR (2015) Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. New Phytol 205:1406–1423. doi: 10.1111/nph.13288

van der Putten WH, Bradford MA, Pernilla Brinkman E, et al (2016) Where, when and how plant–soil feedback matters in a changing world. Funct Ecol 30:1109–1121. doi: 10.1111/1365-2435.12657

Van Hees PAW, Rosling A, Essén S, et al (2006) Oxalate and ferricrocin exudation by the extramatrical mycelium of an ectomycorrhizal fungus in symbiosis with *Pinus sylvestris*. New Phytol 169:367–378. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01600.x

van Kessel C, Singleton PW, Hoben HJ (1985) Enhanced N-transfer from a soybean to maize by vesicular arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi. Ecology 6:562–563. doi: 10.1104/pp.79.2.562

Vance CP (2001) Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. Plant Physiol 127:390–397. doi: 10.1104/pp.010331.390

Varenius K, Karén O, Lindahl B, Dahlberg A (2016) Long-term effects of tree harvesting on ectomycorrhizal fungal communities in boreal Scots pine forests. For Ecol Manage 380:41–49. doi: 10.1016/j.foreco.2016.08.006

Vernay A (2017) De la complexité fonctionnelle et écophysiologique des ressources lumière, azote et eau dans le réseau précoce d'interactions entre le jeune chêne et deux poacées : conséquences pour la régénération des chênaies tempérées

Vernay A, Balandier P, Guinard L, et al (2016) Photosynthesis capacity of *Quercus petraea* (Matt.) saplings is affected by *Molinia caerulea* (L.) under high irradiance. For Ecol Manage 376:107–117. doi: 10.1016/j.foreco.2016.05.045

Vernay A, Malagoli P, Fernandez M, et al (2018a) Carry-over benefit of high internal N pool on growth and function of oak seedlings (*Quercus petraea*) competing with *Deschampsia cespitosa*. For Ecol Manage 419–420:130–138. doi: 10.1016/j.foreco.2018.03.039

Vernay A, Malagoli P, Fernandez M, et al (2018b) Improved *Deschampsia cespitosa* growth by nitrogen fertilization jeopardizes *Quercus petraea* regeneration through intensification of competition. Basic Appl Ecol 31:21–32. doi: 10.1016/j.baae.2018.06.002

Virtanen, Artturi I (1947) The biology and chemistry of nitrogen fixation by legume bacteria. Biol Rev 22:239–269

Virtanen, Artturi I, Laine T (1939) LIII. Investigations on the root nodule bacteria of leguminous plants XXII. The excretion products of root nodules. The mechanism of N-fixation. In: The mechanim of N-Fixation. pp 412–427

Vivanco JM, Bais HP, Stermitz FR, et al (2004) Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. Ecol Lett 7:285–292. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00576.x

Vogelsang KM, Bever JD, Griswold M, Schultz PA (2004) The use of mycorrhizal fungi in erosion control. Applications - Final report

Vořiškova J, Brabcová V, Cajthaml T, Baldrian P (2014) Seasonal dynamics of fungal communities in a temperate oak forest soil. New Phytol 201:269–278. doi: 10.1111/nph.12481

Wagner RG, Little KM, Richardson B, McNabb K (2006) The role of vegetation management for enhancing productivity of the world's forests. Forestry 79:57–79. doi: 10.1093/forestry/cpi057

Walch-Liu P, Ivanov II, Filleur S, et al (2006) Nitrogen regulation of root branching. In: Annals of Botany. Oxford University Press, pp 875–881

Walker GR, Mallik AU (2009) Black spruce reforestation in *Kalmia* heath: seedling response to forest floor mixing and mycorrhizal inoculation with *Paxillus involutus*. Can J For Res 39:2007–2020. doi: 10.1139/x09-115

Wall DH, Moore JC (1999) Interactions underground: soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. Bioscience 49:109–117. doi: 10.2307/1313536

Wallenda T, Read DJ (1999) Kinetics of amino acid uptake by ectomycorrhizal roots. Plant Cell Environ 22:179–187. doi: 10.1046/j.1365-3040.1999.00385.x

Wang B, Qiu YL (2006) Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. Mycorrhiza 16:299–363. doi: 10.1007/s00572-005-0033-6

Ward EJ, Domec JC, Laviner MA, et al (2015) Fertilization intensifies drought stress: water use and stomatal conductance of *Pinus taeda* in a midrotation fertilization and throughfall reduction experiment. For Ecol Manage 355:72–82. doi: 10.1016/j.foreco.2015.04.009

Wardle DA (2006) The influence of biotic interactions on soil biodiversity. Ecol Lett 9:870–886. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00931.x

Wardle DA, Nilsson MC, Gallet C, Zackrisson O (1998) An ecosystem-level perspective of allelopathy. Biol Rev 73:305–319. doi: 10.1111/j.1469-185X.1998.tb00033.x

Weißhuhn K, Prati D (2009) Activated carbon may have undesired side effects for testing allelopathy in invasive plants. Basic Appl Ecol. doi: 10.1016/j.baae.2008.10.009

Welker JM, Gordon DR, Rice KJ (1991) Capture and allocation of nitrogen by *Quercus douglasii* seedlings in competition with annual and perennial grasses. Oecologia 87:459–466. doi: 10.1007/BF00320407

Weremijewicz J, da Silveira Lobo O'Reilly Sternberg L, Janos DP (2018) Arbuscular common mycorrhizal networks mediate intra- and interspecific interactions of two prairie grasses. Mycorrhiza 28:71–83. doi: 10.1007/s00572-017-0801-0

Weremijewicz J, Janos DP (2013) Common mycorrhizal networks amplify size inequality in *Andropogon gerardii* monocultures. New Phytol 198:203–213. doi: 10.1111/nph.12125

Weremijewicz J, Sternberg L da SLO, Janos DP (2016) Common mycorrhizal networks amplify competition by preferential mineral nutrient allocation to large host plants. New Phytol 212:461–471. doi: 10.1111/nph.14041

Wheeler CT, Hooker JE, Crowe A, Berrie AMM (1986) The improvement and utilization in forestry of nitrogen fixation by actinorhizal plants with special reference to *Alnus* in Scotland. Plant Soil 90:393–406. doi: 10.1007/BF02277411

Whitney AS, Kanehiro Y, Sherman GD (1967) Nitrogen relationships of three tropical forage legumes in pure stands and in grass mixtures. Agron J 59:47–50. doi: 10.2134/agronj1967.00021962005900010014x

Wichern F, Eberhardt E, Mayer J, et al (2008) Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: methods, estimates and future prospects. Soil Biol Biochem 40:30–48. doi: 10.1016/j.soilbio.2007.08.010

Wichern F, Mayer J, Joergensen R, Müller T (2010) Evaluation of the wick method for in situ ^{13}C and ^{15}N labelling of annual plants using sugar-urea mixtures. Plant Soil 329:105–115. doi: 10.1007/s11104-009-0138-3

Wilson JB (1988) Shoot competition and root competition. J Appl Ecol 25:279–296

Wilson SD, Tilman D (1993) Plant competition and resource availability in response to disturbance and fertilization. Ecology 74:599–611

Wingfield MJ, Brockerhoff EG, Wingfield BD, Slippers B (2015) Planted forest health: The need for a global strategy. Science (80-.). 349:827–832

Wittwer SH, Teubner FG (1959) Foliar absorption of mineral nutrients. Annu Rev Plant Physiol 10:13–30. doi: 10.1146/annurev.pp.10.060159.000305

Witzell J (2012) Effects of competition and indirect facilitation by shrubs on *Quercus robur* saplings. Plant Ecol 213:535–543. doi: 10.1007/s11258-012-0019-3

Wurzburger N, Brookshire JEN, McCormack LM, Lankau RA (2017) Mycorrhizal fungi as drivers and modulators of terrestrial ecosystem processes. New Physiol 213:996–999. doi: 10.1111/nph.14409

Xia J, Wishart DS (2016) Using metaboanalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. Curr Protoc Bioinforma 1–91. doi: 10.1002/cpbi.11

Xiao Y, Li L, Zhang F (2004) Effect of root contact on interspecific competition and N transfer between wheat and fababean using direct and indirect ^{15}N techniques. Plant Soil 262:45–54. doi: 10.1023/B:PLSO.0000037019.34719.0d

Yan ER, Wang XH, Huang JJ (2006) Shifts in plant nutrient use strategies under secondary forest succession. Plant Soil 289:187–197. doi: 10.1007/s11104-006-9128-x

Yu JQ, Matsui Y (1994) Phytotoxic substances in root exudates of cucumber (*Cucumis sativus* L.). J Chem Ecol 20:21–31. doi: 10.1007/BF02065988

Yu JQ, Ye SF, Zhang MF, Hu WH (2003) Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. Biochem Syst Ecol 31:129–139. doi: 10.1016/S0305-1978(02)00150-3

Yuan ZY, Chen HYH (2012) Fine root dynamics with stand development in the boreal forest. Funct Ecol 26:991–998. doi: 10.1111/j.1365-2435.2012.02007.x

Zélé F, Magalhães S, Kéfi S, Duncan AB (2018) Ecology and evolution of facilitation among symbionts. Nat Commun 9:1–12. doi: 10.1038/s41467-018-06779-w

Zeng R Sen, Mallik AU (2006) Selected ectomycorrhizal fungi of black spruce (Picea mariana) can detoxify phenolic compounds of Kalmia angustifolia. J Chem Ecol 32:1473–1489. doi: 10.1007/s10886-006-9063-6

Zhang C, Postma JA, York LM, Lynch JP (2014) Root foraging elicits niche complementarity-dependent yield advantage in the ancient ‘three sisters’ (maize/bean/squash) polyculture. Ann Bot 114:1719–1733

Zhang H, Forde BG (1998) An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. Science (80-) 279:407–409. doi: 10.1126/science.279.5349.407

Zhang H, Jennings A, Barlow PW, Forde BG (1999) Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. Proc Natl Acad Sci 96:6529–6534

Zhu H, Mallik AU (1994) Interactions between *Kalmia* and black spruce: isolation and identification of allelopathic compounds. J Chem Ecol 20:407–421. doi: 10.1007/BF02064447

(1999) Vieilles chênaies acidiphiles des plaines sablonneuses à *Quercus robur*. In: Institut National du Patrimoine Naturel - Forêt de l’Europe tempérée. pp 215–219

Annexes

Statistic tables

Abbreviations

DO	Donor oak
DO_{RO}	Donor oak near Receiver oak
DO_{RM}	Donor oak near Receiver *Molinia*
RO	Receiver oak
RM	Receiver *Molinia*
SG	Sole-grown
M1	Mesh 1 µm
M30	Mesh 30 µm
MG	Mixed-grown
Summer	Sm
Autumn	A
Winter	W
Spring	Sg

Table S 1. Means ± SE (g) of shoot and root dry weight of donor oak and receiver *Molinia* when sole-grown or mixed-grown, for each season (*n* = 4).

		DO		RM	
		SG	MG	SG	MG
Sm	Shoot	13.34 ± 2.03	14.46 ± 3.85	7.95 ± 2.31	8.11 ± 1.01
	Root	10.88 ± 1.28	9.2 ± 1.85	6.62 ± 1.65	6.36 ± 0.92
A	Shoot	15.95 ± 2.71	12.4 ± 2.21	14.99 ± 1.11	24.6 ± 4.29
	Root	14.37 ± 5.11	17.45 ± 5.5	26.18 ± 4.3	24.87 ± 5.69
W	Shoot	14.03 ± 2.5	11.88 ± 4.15	11.06 ± 0.12	16.7 ± 1.55
	Root	15.48 ± 2.54	15.89 ± 5.8	17.57 ± 0.59	33.08 ± 8.24
Sg	Shoot	15.57 ± 1.1	14.31 ± 2.51	9.83 ± 0.8	18.74 ± 2.37
	Root	16.44 ± 1.48	13.68 ± 1.88	17.31 ± 0.45	20.89 ± 2.89

Table S 2. Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment (sole-grown (SG) and mixed-grown (MG)) on shoot and root dry weight of donor oak and receiver Molinia, for each season (n = 4).

		Sm		A		W		Sg	
		DO SG-MG	RM SG-MG	DO SG-MG	RM SG-MG	DO SG-MG	RM SG-MG	DO SG-MG	RM SG-MG
Shoot	*p*	0.81	0.96	0.35	**0.07**	0.68	**0.04**	0.67	**0.03**
	t	-0,26	-0,06	1.02	-2.17	0.44	-3,63	0.46	-3,57
	DF	4.55	5.69	5.76	3.40	3.42	3.04	4.11	3.68
Root	*p*	0.49	0.89	0.7	0.86	0.95	0.3	0.3	0.3
	t	0.75	0.14	-0,41	0.18	-0,07	1.15	1.15	-1,22
	DF	5.32	4.7	5.97	5.58	2.77	5.68	5.68	3.15

Table S 3 Test statistic (t), statistical significance (P-value (p)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of shoot and root dry weight between donor oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4).

		Sm		A		W		Sg	
		SG DO-RM	MG DO-RM	SG DO-RM	MG DO-RM	SG DO-RM	MG DO-RM	SG DO-RM	MG DO-RM
Shoot	*p*	0.13	0.21	0.76	**0.06**	0.32	0.37	**0.01**	0.25
	t	1.76	1.49	0.33	-2.53	1.19	-1.09	4.23	-1.28
	DF	5.91	4.27	3.98	4.49	3.01	2.56	5.48	5.98
Root	*p*	**0.09**	0.24	0.13	0.39	0.48	0.15	0.61	**0.09**
	t	2.04	1.37	-1.77	-0.94	-0.80	-1.71	-0.56	-2.09
	DF	5.64	4.39	5.83	5.99	3.32	4.90	3.56	5.16

Table S 4. Test statistic (t), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference between shoot and root dry weight of donor oak and receiver *Molinia,* for each treatment and season (*n* = 4).

		Sm		A		W		Sg	
		DO Shoot-Root	RM Shoot-Root	DO Shoot-Root	RM Shoot-Root	DO Shoot-Root	RM Shoot-Root	DO Shoot-Root	RM Shoot-Root
SG	*p*	0.35	0.66	0.8	**0.05**	0.7	**0.01**	0.65	**0.0006**
	t	1.03	0.47	0.27	-2.52	-0.41	-10.83	-0.47	-8.16
	DF	5.05	5.43	4.57	3.4	6	2.18	5.54	4.74
MG	*p*	0.28	0.43	0.44	0.97	0.61	0.1	0.85	0.59
	t	1.23	0.86	-0.85	-0.04	-0.56	-1.95	0.20	-0.58
	DF	4.32	4.45	3.94	5.58	3.62	3.21	5.56	5.77

Table S 5. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of shoot and root dry weight of donor oak and receiver *Molinia* among seasons (*n* = 4).

			DO						RM					
			Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg	Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg
SG	Shoot	p	0.83	0.99	0.89	0.92	0.99	0.96	**0.01**	0.4	0.76	0.22	**0.08**	0.91
		F	0.33						4.92					
		DF	12						12					
	Root	p	0.84	0.71	0.58	0.99	0.96	0.99	**0.0006**	**0.05**	**0.04**	0.15	0.1	0.99
		F	0.65						10.88					
		DF	12						11					
MG	Shoot	p	0.96	0.94	0.99	0.99	0.97	0.95	**0.005**	0.17	**0.07**	0.22	0.45	0.95
		F	0.16						6.29					
		DF	11						12					
	Root	p	0.46	0.67	0.84	0.99	0.9	0.9	0.11	0.02	0.25	0.69	0.95	0.39
		F	0.85						4.56					
		DF	11						12					

Table S 6. Means ± SE of 15N relative amount in shoot, root and soil of donor oak near oak neighbor or Molinia and of receiver oak and receiver Molinia, for each treatment and season (n = 4**).**

		DO_{RO}				DO_{RM}			
		SG	M1	M30	MG	SG	M1	M30	MG
Sm	Shoot	0.76 ± 0.03	0.66 ± 0.09	0.62 ± 0.06	0.75 ± 0.04	0.75 ± 0.06	0.6 ± 0.07	0.59 ± 0.7	0.71 ± 0.06
	Root	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.09 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.1 ± 0.02	0.1 ± 0.05
	Soil	0.12 ± 0.03	0.2 ± 0.08	0.2 ± 0.03	0.14 ± 0.04	0.12 ± 0.02	0.24 ± 0.08	0.24 ± 0.06	0.15 ± 0.03
A	Shoot	0.63 ± 0.02	0.6 ± 0.02	0.69 ± 0.02	0.66 ± 0.05	0.69 ± 0.02	0.66 ± 0.04	0.5 ± 0.07	0.56 ± 0.02
	Root	0.26 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.31 ± 0.05	0.24 ± 0.007
	Soil	0.1 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.08 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.002	0.14 ± 0.01
W	Shoot	0.47 ± 0.01			0.42 ± 0.03	0.49 ± 0.04			0.21 ± 0.04
	Root	0.36 ± 0.02			0.3 ± 0.02	0.35 ± 0.03			0.55 ± 0.05
	Soil	0.16 ± 0.02			0.27 ± 0.07	0.16 ± 0.05			0.2 ± 0.06
Sg	Shoot	0.52 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.65 ± 0.03	0.43 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.58 ± 0.03	0.57 ± 0.06	0.62 ± 0.04
	Root	0.3 ± 0.05	0.23 ± 0.007	0.21 ± 0.03	0.31 ± 0.11	0.29 ± 0.05	0.19 ± 0.03	0.24 ± 0.05	0.13 ± 0.007
	Soil	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.05	0.12 ± 0.02	0.22 ± 0.06	0.07 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.2 ± 0.06
		RO				RM			
Sm	Shoot	0.005 ± 0.0004	0.007 ± 0.0009	0.02 ± 0.009	0.008 ± 0.004	0.002 ± 0.004	0.01 ± 0.005	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01
	Root	0.003 ± 0.001	0.002 ± 0.0004	0.007 ± 0.004	0.004 ± 0.0009	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.0008	0.01 ± 0.004	0.009 ± 0.003
	Soil	0.008 ± 0.004	0.007 ± 0.002	0.02 ± 0.007	0.14 ± 0.04	0.005 ± 0.0004	0.01 ± 0.004	0.007 ± 0.002	0.15 ± 0.03
A	Shoot	0.009 ± 0.004	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.0007	0.002 ± 0.006	0.002 ± 0.005	0.008 ± 0.002	0.03 ± 0.02	0.02 ± 0.008
	Root	0.0008 ± 0.00004	0.002 ± 0.0009	0.001 ± 0.0005	0.005 ± 0.002	0.0009 ± 0.001	0.01 ± 0.006	0.01 ± 0.005	0.04 ± 0.01
	Soil	0.006 ± 0.001	0.02 ± 0.006	0.02 ± 0.004	0.12 ± 0.02	0.002 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.007 ± 0.004	0.14 ± 0.01
W	Shoot	0.0009 ± 0.006			0.004 ± 0.002	0.0002			0.006 ± 0.003
	Root	0.0001 ± 0.00004			0.03 ± 0.009	0.0001 ± 0.0001			0.007 ± 0.003
	Soil	0.005 ± 0.0009			0.27 ± 0.07	0.009 ± 0.001			0.2 ± 0.06
Sg	Shoot	0.0009 ± 0.0002	0.006 ± 0.003	0.003 ± 0.0008	0.03 ± 0.02	0.0009 ± 0.0001	0.03 ± 0.02	0.008 ± 0.002	0.02 ± 0.009
	Root	0.001 ± 0.0006	0.005 ± 0.003	0.003 ± 0.001	0.02 ± 0.008	0.001 ± 0.0002	0.008 ± 0.0007	0.01 ± 0.003	0.03 ± 0.003
	Soil	0.006 ± 0.002	0.02 ± 0.004	0.006 ± 0.001	0.22 ± 0.06	0.008 ± 0.003	0.02 ± 0.005	0.02 ± 0.003	0.21 ± 0.04

Table S 7. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of donor oak near receiver oak or receiver *Molinia* among treatment, for each season (*n* = 4).

			DO_{RO}						DO_{RM}					
			SG-M1	SG-M30	SG-MG	M1-M30	M1-MG	M30-MG	SG-M1	SG-M30	SG-MG	M1-M30	M1-MG	M30-MG
Sm	Shoot	p	0.65	0.39	1	0.96	0.74	0.47	0.43	0.36	0.98	1	0.63	0.55
		F			1.27						1.48			
		DF			12						12			
	Root	p	0.978	0.96	0.99	1	0.9	0.86	1	0.96	0.95	0.97	0.96	1
		F			0.27						0.16			
		DF			12						12			
	Soil	p	0.61	0.61	0.98	1	0.83	0.84	0.41	0.43	0.97	1	0.66	0.68
		F			0.78						1.31			
		DF			12						12			
A	Shoot	p	0.93	0.6	0.89	0.3	0.58	0.94	0.92	0.03	0.16	0.1	0.39	0.8
		F			1.32						4.29			
		DF			12						13			
	Root	p	0.89	0.79	0.71	1	0.98	1	1	0.14	0.94	0.19	0.98	0.33
		F			0.46						2.29			
		DF			12						12			
	Soil	p	0.39	0.94	0.95	0.18	0.7	0.69	1	0.18	**0.03**	0.19	**0.03**	0.69
		F			1.77						5.35			
		DF			12						12			
W	Shoot	p			0.21						0.003			
		F			1.97						30.88			
		DF			6						5			
	Root	p			0.28						0.01			
		F			1.39						14.03			
		DF			6						5			
	Soil	p			0.19						0.59			
		F			2.18						0.33			
		DF			6						5			
Sg	Shoot	p	0.87	0.2	0.5	0.53	0.2	**0.02**	0.78	0.69	0.99	1	0.92	0.86
		F			4.14						0.55			
		DF			11						12			
	Root	p	0.78	0.65	1	0.99	0.73	0.6	0.37	0.82	0.06	0.84	0.65	0.24
		F			0.8485						2.98			
		DF			11						12			
	Soil	p	1	0.75	0.88	0.75	0.88	0.39	0.15	0.28	**0.05**	0.98	0.92	0.72
		F			0.95						3.23			
		DF			11						12			

Table S 8. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of receiver oak and receiver *Molinia* among treatment, for each season (*n* = 4).

			RO						RM					
			SG-M1	SG-M30	SG-MG	M1-M30	M1-MG	M30-MG	SG-M1	SG-M30	SG-MG	M1-M30	M1-MG	M30-MG
Sm	Shoot	p	1	0.2	0.97	0.25	0.99	0.36	0.95	0.2	0.58	0.4	0.86	0.83
		F			1.9						1.75			
		DF			12						12			
	Root	p	1	0.46	0.94	0.38	0.88	0.79	0.92	0.02	0.24	0.06	0.53	0.49
		F			1.15						4.73			
		DF			12						12			
	Soil	p	1	0.91	**0.001**	0.89	**0.0009**	**0.003**	0.98	1	**0.0001**	0.99	**0.0003**	**0.0002**
		F			13.07						20.18			
		DF			12						12			
A	Shoot	p	0.41	0.43	0.97	1	0.66	0.68	0.95	0.15	0.42	0.34	0.73	0.89
		F			1.57						2.12			
		DF			12						12			
	Root	p	0.69	0.98	**0.05**	0.88	0.3	0.1	0.79	0.79	**0.01**	1	**0.05**	**0.05**
		F			3.44						5.61			
		DF			12						12			
	Soil	p	0.97	0.99	**0.00003**	1	**0.00007**	**0.00006**	0.62	0.55	**0**	1	**0**	**0**
		F			26.52						89.19			
		DF			12						12			
W	Shoot	p			0.24						0.07			
		F			1.73						5.51			
		DF			6						5			
	Root	p			0.08						0.71			
		F			4.46						0.71			
		DF			6						6			
	Soil	p			0.21						0.003			
		F			13.99						16.63			
		DF			6						5			
Sg	Shoot	p	0.94	1	0.06	0.98	0.13	0.08	0.43	0.97	0.72	0.66	0.95	0.92
		F			3.5						0.96			
		DF			11						12			
	Root	p	0.77	0.98	0.03	0.93	0.14	0.06	0.12	**0.02**	**0.000001**	0.76	**0.00001**	**0.00003**
		F			4.16						44.98			
		DF			11						12			
	Soil	p	0.97	1	**0.0002**	1	**0.0004**	**0.0003**	0.98	0.98	**0.00006**	1	**0.0001**	**0.0001**
		F			18.12						23.45			
		DF			11						12			

Table S 9. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil of donor oak among neighbor species, for each treatment and season (*n* = 4).

			SG DO_{RM}-DO_{RO}	M1 DO_{RM}-DO_{RO}	M30 DO_{RM}-DO_{RO}	MG DO_{RM}-DO_{RO}
Sm	Shoot	p	0.8	0.62	0.76	0.61
		F	-0.27	-0.53	-0.32	5.54
		DF	4.17	5.62	5.87	-0.54
	Root	p	0.63	0.93	0.61	0.93
		F	0.52	0.09	-0.54	5.37
		DF	3.67	5.48	5.03	0.09
	Soil	p	0.96	0.73	0.6	0.87
		F	0.05	0.37	0.57	0.18
		DF	4.48	5.98	4.32	5.93
A	Shoot	p	**0.07**	0.31	**0.07**	0.15
		F	2.28	1.16	-2.63	-1.77
		DF	5.55	3.87	3.46	3.93
	Root	p	0.23	0.79	0.17	0.58
		F	1.35	-0.28	1.68	0.62
		DF	5.91	5.37	3.68	3.29
	Soil	p	0.57	0.13	**0.08**	0.33
		F	-0.61	-1.82	2.54	1.1
		DF	4.53	5.11	3.06	4.59
W	Shoot	p	0.76			**0.004**
		F	0.33			-5.14
		DF	3.81			4.92
	Root	p	0.9			**0.02**
		F	-0.13			3.78
		DF	5.48			4.42
	Soil	p	0.95			0.50
		F	-0.06			-0.72
		DF	4.14			5.00
Sg	Shoot	p	0.11	0.89	0.27	**0.03**
		F	1.86	0.14	-1.28	3.19
		DF	6	4.39	4.31	4.75
	Root	p	0.91	0.3	0.65	0.25
		F	-0.11	-1.21	0.48	-1.6
		DF	5.91	3.33	4.51	2.01
	Soil	p	**0.07**	0.98	0.38	0.9
		F	-2.28	0.02	0.96	-0.13
		DF	4.93	4.25	5.49	3.72

Table S 10. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil between receiver oak and receiver *Molinia*, for each treatment and season (*n* = 4).

			SG RO-RM	M1 RO-RM	M30 RO-RM	MG RO-RM
Sm	Shoot	p	**0.0008**	0.34	0.4	0.29
		F	-6.3	1.12	0.93	3.35
		DF	5.85	3.2	3.95	1.26
	Root	p	0.53	**0.09**	0.24	0.18
		F	-0.67	2.15	1.31	1.65
		DF	6.00	4.17	5.96	3.56
	Soil	p	0.44	0.22	**0.09**	0.87
		F	-0.88	1.49	3.34	0.18
		DF	3.06	3.75	-2.36	5.93
A	Shoot	p	0.22	0.19	0.17	0.1
		F	-1.55	1.56	1.79	2.36
		DF	3.07	4.20	3.01	3.04
	Root	p	0.65	0.25	0.16	**0.06**
		F	0.49	1.39	1.84	2.84
		DF	3.44	3.12	3.04	3.11
	Soil	p	**0.05**	0.27	**0.09**	0.33
		F	2.47	1.29	2	1.1
		DF	5.66	3.55	6	4.59
W	Shoot	p	0.38			0.52
		F	-1.13			0.7
		DF	2.02			3.84
	Root	p	0.58			0.11
		F	0.6			2.37
		DF	3.39			2.55
	Soil	p	**0.02**			0.5
		F	-3.12			-0.72
		DF	5.46			5
Sg	Shoot	p	0.89	0.41	**0.09**	0.61
		F	0.14	0.95	2.25	-0.56
		DF	4.56	3.13	3.72	3.02
	Root	p	0.65	0.25	0.16	**0.06**
		F	0.49	1.39	1.84	2.84
		DF	3.44	3.12	3.04	3.11
	Soil	p	**0.05**	0.27	**0.09**	0.9
		F	2.47	1.29	2	-0.13
		DF	5.66	3.55	6	3.72

Table S 11. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among compartment (shoot, root and soil) in donor oak near receiver oak or receiver *Molinia*, for each treatment and season (*n* = 4).

			DO_{RO}			DO_{RM}		
			Shoot-Root	Shoot-soil	Root-soil	Shoot-Root	Shoot-soil	Root-soil
Sm	SG	p	**0**	**0**	0.96	**0.000006**	**0.000006**	0.98
		F		248.6			74.78	
		DF		9			9	
	M1	p	**0.001**	**0.003**	0.72	**0.002**	**0.009**	0.45
		F		17.17			14.33	
		DF		9			9	
	M30	p	**0.00008**	**0.0003**	0.51	**0.0006**	**0.005**	0.27
		F		34.39			18.61	
		DF		9			9	
	MG	p	**0.000001**	**0.000003**	**0.63**	**0.00002**	**0.00003**	0.71
		F		99.42			55.02	
		DF		9			9	
A	SG	p	**0.000002**	**0.0000001**	**0.001**	**0.0000001**	**0**	**0.004**
		F		78.61			269.3	
		DF		9			9	
	M1	p	**0.00001**	**0.000003**	**0.14**	**0.000007**	**0.0000008**	**0.03**
		F		78.61			99.28	
		DF		9			9	
	M30	p	**0**	**0**	**0.0008**	**0.06**	**0.001**	**0.05**
		F		326.7			15.07	
		DF		9			9	
	MG	p	**0.00005**	**0.000009**	0.21	**0.0000002**	**0**	**0.003**
		F		57.26			222.4	
		DF		9			9	
W	SG	p	**0.005**	**0.000003**	**0.0002**	0.1	**0.0008**	**0.02**
		F		65.2			16.44	
		DF		9			9	
	MG	p	0.25	0.13	0.89	**0.005**	0.99	**0.004**
		F		2.624			18.39	
		DF		9			6	
Sg	SG	p	**0.008**	**0.0004**	0.13	**0.001**	**0.00003**	**0.02**
		F		19.85			39.42	
		DF		9			9	
	M1	p	**0.0008**	**0.0003**	0.65	**0.000007**	**0.000005**	0.89
		F		25.3			75.11	
		DF		9			9	
	M30	p	**0.000002**	**0.0000005**	**0.09**	**0.003**	**0.0006**	0.48
		F		117.6			19.31	
		DF		9			9	
	MG	p	0.56	0.21	0.69	**0.000006**	**0.00003**	0.24
		F		1.86			63.84	
		DF		6			9	

Table S 12. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among compartment (shoot, root and soil) receiver oak and receiver *Molinia*, for each treatment and season (*n* = 4).

			RO			RM		
			Shoot-Root	Shoot-soil	Root-soil	Shoot-Root	Shoot-soil	Root-soil
Sm	SG	p	0.72	0.7	0.29	0.99	**0.04**	**0.03**
		F		1.29			6.28	
		DF		9			9	
	M1	p	**0.03**	0.99	**0.03**	0.34	0.96	0.23
		F		6.4			1.85	
		DF		9			9	
	M30	p	0.43	0.89	0.24	0.34	0.2	0.92
		F		1.67			1.98	
		DF		9			9	
	MG	p	0.99	**0.003**	**0.002**	0.81	0.005	0.002
		F		14.96			14.89	
		DF		9			9	
A	SG	p	0.15	0.25	0.93	0.6	**0.003**	**0.0007**
		F		2.502			19.22	
		DF		9			9	
	M1	p	0.57	0.1	**0.02**	0.93	0.46	0.67
		F		6.016			0.8153	
		DF		9			9	
	M30	p	0.93	0.48	0.31	0.39	0.71	0.84
		F		1.34			0.96	
		DF		9			9	
	MG	p	0.98	**0.0002**	**0.0003**	0.37	**0.00008**	**0.0004**
		F		28.85			33.66	
		DF		9			9	
W	SG	p	0.83	**0.00008**	**0.00004**	0.99	**0.0009**	**0.0008**
		F		43.11			21.3	
		DF		9			9	
	MG	p	1	**0.003**	**0.003**	0.89	**0.02**	**0.03**
		F		14.42			10.03	
		DF		9			6	
Sg	SG	p	0.99	**0.07**	**0.09**	0.99	**0.04**	**0.04**
		F		4.2			5.78	
		DF		9			9	
	M1	p	0.99	**0.06**	**0.05**	0.57	0.9	0.83
		F		5.18			0.54	
		DF		9			9	
	M30	p	1	**0.001**	**0.001**	0.75	0.05	0.14
		F		18.54			4.37	
		DF		9			9	
	MG	p	0.97	**0.02**	**0.02**	0.91	**0.0007**	**0.001**
		F		10.17			20.6	
		DF		6			9	

Table S 13. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount among season (shoot, root and soil) in donor oak near receiver oak or receiver *Molinia*, for each treatment (*n* = 4).

			DO_{RO}						DO_{RM}					
			Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg	Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg
SG	Shoot	p	**0.02**	**0.00004**	**0.0002**	**0.008**	**0.07**	0.6	0.8	**0.004**	0.3	**0.02**	0.77	0.11
		F			21.56						7.1			
		DF			12						12			
	Root	p	**0.01**	**0.0003**	**0.003**	0.15	0.8	0.51	0.46	**0.007**	**0.05**	**0.09**	0.5	0.66
		F			13.2						6.36			
		DF			12						12			
	Soil	p	0.96	0.59	0.36	0.34	0.18	0.97	0.92	0.86	0.73	0.51	0.97	0.3
		F			2.14						1.28			
		DF			12						12			
M1	Shoot	p	0.78		0.54		0.91		0.73		0.92		0.51	
		F			0.61						0.69			
		DF			9						9			
	Root	p	**0.03**		**0.03**		1		0.12		0.3		0.81	
		F			6.14						2.61			
		DF			9						9			
	Soil	p	0.8		0.94		0.95		0.13		0.64		0.47	
		F			0.21						2.34			
		DF			9						9			
M30	Shoot	p	0.56		0.89		0.83		0.64		0.96		0.79	
		F			0.56						0.45			
		DF			9						9			
	Root	p	**0.08**		0.12		0.96		**0.02**		0.13		0.5	
		F			3.7						5.68			
		DF			9						9			
	Soil	p	**0.02**		0.1		0.49		0.16		0.36		0.84	
		F			6.4						2.2			
		DF			9						9			
MG	Shoot	p	0.48	**0.001**	**0.002**	**0.01**	**0.02**	1	**0.07**	**0.00002**	0.33	**0.0005**	0.72	**0.0001**
		F			14.27						26.13			
		DF			11						11			
	Root	p	0.42	**0.08**	**0.09**	0.69	0.67	1	**0.05**	**0.000007**	0.93	**0.0002**	0.12	**0.00001**
		F			3.25						35.24			
		DF			11						11			
	Soil	p	0.98	0.3	0.74	0.16	0.53	0.89	1	0.77	0.67	0.67	0.56	1
		F			2.11						0.91			
		DF			11						11			

Table S 14. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference of ^{15}N relative amount in shoot, root and soil among season in receiver oak and receiver *Molinia*, for each treatment (*n* = 4).

			RO						RM					
			Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg	Sm-A	Sm-W	Sm-Sg	A-W	A-Sg	W-Sg
SG	Shoot	p	0.74	0.47	0.5	0.11	0.12	1	1	**0.01**	0.19	**0.02**	0.25	0.42
		F			2.96						6.33			
		DF			12						12			
	Root	p	0.16	**0.03**	0.3	0.77	0.98	0.54	0.66	0.17	0.84	0.71	0.99	0.52
		F			3.66						1.72			
		DF			12						12			
	Soil	p	0.35	0.99	0.88	0.22	0.77	0.71	0.92	1	0.5	0.9	0.85	0.47
		F			1.66						0.98			
		DF			12						12			
M1	Shoot	p	0.77		0.98		0.86		0.98		0.69		0.58	
		F			0.26						0.6			
		DF			9						9			
	Root	p	0.99		0.33		0.4		0.39		0.71		0.84	
		F			1.4						0.96			
		DF			9						9			
	Soil	p	0.8		0.3		**0.07**		0.83		0.71		0.97	
		F			5.85						0.34			
		DF			9						9			
M30	Shoot	p	0.1		0.11		1		0.82		0.31		0.61	
		F			3.54						1.25			
		DF			9						9			
	Root	p	0.27		0.46		0.91		0.83		0.81		1	
		F			1.49						0.25			
		DF			9						9			
	Soil	p	0.56		0.89		0.83		0.64		0.96		0.79	
		F			0.56						0.45			
		DF			9						9			
MG	Shoot	p	0.91	0.95	0.2	1	**0.08**	0.1	0.97	0.52	0.93	0.74	1	0.82
		F			3.08						0.69			
		DF			11						11			
	Root	p	1	0.95	0.13	0.98	0.16	0.26	**0.05**	0.41	0.22	0.64	0.78	0.99
		F			2.41						3.22			
		DF			11						11			
	Soil	p	0.98	0.3	0.74	0.16	0.53	0.89	1	0.77	0.67	0.67	0.56	1
		F			2.12						0.91			
		DF			11						11			

Table S 15. Test statistic (t), statistical significance (P-value (*p*)), and degrees of freedom (DF) assessing the difference between isotopic abundance and natural abundance in receiver neighbors (*n* = 4).

		RO			RM		
		Shoot	Root	Soil	Shoot	Root	Soil
Sm	p	**0.04**	**0.07**	0.18	**0.01**	0.13	**0.03**
	t	3.3	2.77	1.72	5.08	2.04	3.9
	DF	3	3	3	3	3	3
A	p	0.11	**0.001**	0.17	**0.01**	**0.003**	**0.01**
	t	2.20	12.43	2.08	5.4	9.18	5.34
	DF	3	3	2	3	3	3
W	p	0.25	0.63	**0.003**	**0.01**	**0.02**	**0.01**
	t	1.62	0.56	9.16	5.29	6.95	5.22
	DF	2	2	3	3	2	3
Sg	p	**0.04**	**0.04**	**0.04**	**0.006**	**0.003**	**0.09**
	t	3.62	3.45	3.33	7.03	9.06	2.41
	DF	3	3	3	3	3	3

Table S 16. Test statistic (F-value), and degrees of freedom (DF) assessing the correlation between dry weight and ^{15}N relative amount in neighbors (*n* = 4).

		RO		RM	
		Shoot	Root	Shoot	Root
Sm	F	1.76	1.46	8.43	7.83
	DF	14	14	14	14
A	F	3.95	0.24	0.13	0.75
	DF	14	14	14	14
W	F	0.11	0.002	7.30	20.5
	DF	4	4	4	4
Sg	F	0.04	0.47	0.41	0.17
	DF	13	13	14	14

Table S 17. Mean ± SE of ^{15}N relative amount and ratio MG/SG in neighboring pot (soil, root and shoot of neighbor) in sole-grown treatment and in external compartments of donor oak (soil, root and shoot of neighbor) in M1, M30 and mixed-grown treatment (*n* = 4).

	DO_{RO}					DO_{RM}				
	SG	M1	M30	MG	Ratio MG/SG	SG	M1	M30	MG	Ratio MG/SG
Sm	0.02 ± 0.005	0.22 ± 0.08	0.25 ± 0.05	0.16 ± 0.04	8	0.008 ± 0.001	0.27 ± 0.09	0.31 ± 0.09	0.19 ± 0.05	23.75
A	0.01 ± 0.003	0.17 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.02	12	0.009 ± 0.0009	0.12 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.02	23.33
W	0.01 ± 0.001			0.28 ± 0.07	28	0.005 ± 0.001			0.24 ± 0.07	48
Sg	0.008 ± 0.003	0.2 ± 0.06	0.14 ± 0.02	0.26 ± 0.08	35	0.01 ± 0.003	0.23 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.26 ± 0.04	26

Statistic tables article "Belowground interaction between oak seedling and purple moor grass does include root exudation of allelochemicals"

Abbreviations

Ctrl Control

ME *Molinia* root exudates

OE Oak root exudates

Comp Competition (exploitation competition + Allelopathy)

Table S 18. Means ± SE (g) of oak shoot and root dry weight (*experiment 1*) in control (Ctrl) and Molinia root exudates (ME) treatment. Test statistic (t-value), statistical significance (P-value (*p*-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on shoot and root dry weight of oak (n = 4).

		Ctrl	ME
Shoot	Mean	16.36 ± 2.78	9.37 ± 1.79
	p-value	0.06	
	t-value	-2.11	
	DF	10.22	
Root	Mean	28.84 ± 4.84	14.48 ± 2.43
	p-value	0.03	
	t-value	-2.65	
	DF	8.84	

Table S 19. Means ± SE (g) of oak relative increment (*experiment 1*) in control (Ctrl) and *Molinia* root exudates (ME) treatment. Test statistic (t-value), statistical significance (P-value (*p*-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak relative increment (n = 4).

	Ctrl	ME
Mean ± SE	3.34 ± 0.56	2.29 ± 0.46
p-value	0.17	
t-value	1.44	
DF	13.54	

Table S 20. Means ± SE (g) of oak and *Molinia* relative increment (*experiment 2*) in control (Ctrl), oak root exudates (OE), *Molinia* root exudates (ME) and competition (Comp) treatment (n = 6).

	Oak				*Molinia*			
	Ctrl	OE	ME	Comp	Ctrl	OE	ME	Comp
Mean ± SE	1.71 ± 0.29	3.06 ± 0.60	1.42 ± 0.24	0.85 ± 0.19	30.47 ± 2.23	28.94 ± 5.25	23.54 ± 2.68	34.37 ± 3.68

Table S 21. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak and *Molinia* relative increment (n = 6).

		Ctrl - OE	Ctrl-ME	Ctrl-Comp	OE-ME	OE-Comp	ME-Comp
Oak	P-value	0.08	0.46	0.04	0.04	0.01	0.09
	F-stat			6.61			
	DF			21			
Molinia	P-value	0.79	0.08	0.39	0.38	0.42	0.04
	F-stat			1.28			
	DF			20			

Table S 22. Test statistic (F-value), statistical significance (P-value (*p*-value)), and degrees of freedom (DF) assessing the effect of treatment on oak and *Molinia* root/shoot ratio (n = 6).

		Ctrl - OE	Ctrl-ME	Ctrl-Comp	OE-ME	OE-Comp	ME-Comp
Oak	P-value	0.22	0.80	0.72	0.13	0.59	0.58
	F-stat						
	DF						
Molinia	P-value	0.86	0.91	0.02	0.93	0.07	0.02
	F-stat			2.35			
	DF			21			

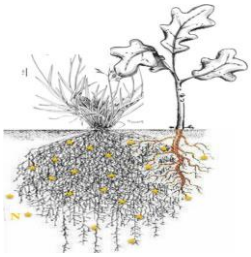
RAPPORT DE STAGE M2 RECHERCHE – SIRINE ROUMANI

2017-2018

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

Spécialité Biologie Intégrative d'Arbres et des plantes cultivées

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



ROUMANI SIRINE
Mémoire de stage, soutenu à Nancy le 04/09/2018
Encadrant : Philippe BALANDIER, Directeur de recherches, IRSTEA Nogent-sur-Vernisson

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

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

Institut national de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture.
Domaines des Barres, 45290 Nogent-sur-Vernisson

Liste des abréviations

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

Introduction

A. Contexte général de l'étude :

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

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

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

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

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

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

B. Synthèse bibliographique

En forêt, les plantes comme tous les organismes vivant dans un même habitat sont en compétition pour l'accès à des ressources essentielles à leur croissance et survie comme la lumière, l'eau et les macro et micro nutriments. La compétition peut avoir lieu entre différentes espèces, la compétition interspécifique, ou bien entre différents individus de la même espèce, la compétition intra-spécifique. Cette compétition est induite par le fait que les plantes consomment une même ressource limitée influençant ainsi la performance de l'individu (Begon et al., 1996). La compétition est l'un des mécanismes majeurs expliquant la présence et l'absence d'espèce dans une communauté végetale (Keddy 2001).

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

- Par interférence : il s'agit d'un cas d'interactions antagonistes directes entre les compétiteurs (Kennedy, 2010), nous pouvons notamment citer l'allélopathie qui consiste en la production de molécules inhibitrices

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

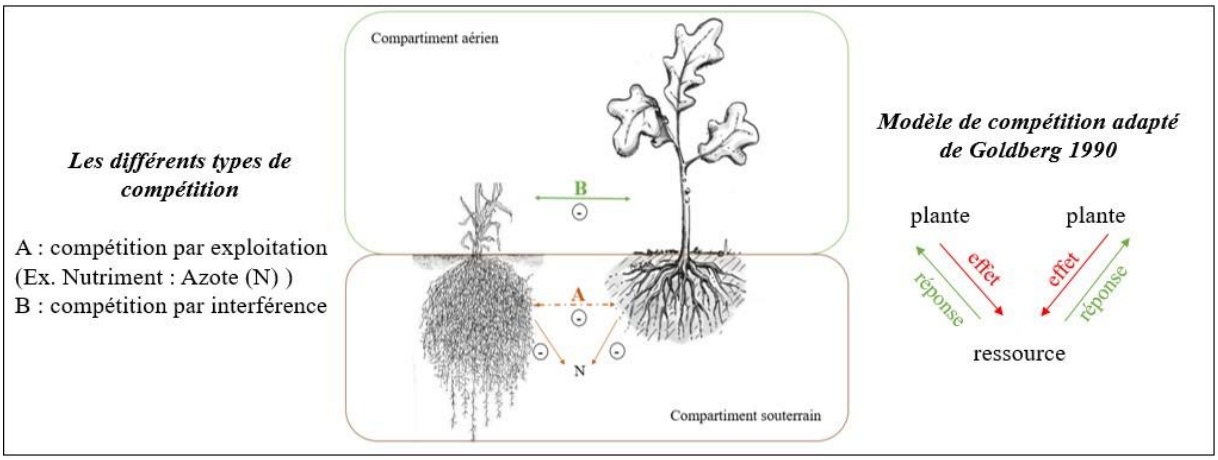


Fig. 1 : Compétition au sein des communautés végétales, différents types de compétition par exploitation ou par interférence (figure à gauche). Effet d'un compétiteur sur la quantité de ressources et la réponse des autres espèces à ce changement (Goldberg, 1990 figure à droite).

Ces types de compétition sont modulés par :

I. LA LUMIERE

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

Pour survivre, les plantes des sous étages doivent adopter des stratégies liées au niveau de luminosité. Par exemple sous forte luminosité elles doivent maximiser la croissance des tiges et feuilles pour étendre rapidement leur surface foliaire au-dessus de leurs voisines (Balandier

2016). En faible luminosité, elle doivent avant tout maintenir un bilan de carbone positif par l'optimisation de la capture de la lumière à l'ombre (feuilles minces, orientation des feuilles préférentiellement vers les trouées de lumière, architecture de la couronne permettant de réduire l'auto-ombrage et maximiser la capture de la lumière), par la diminution du taux de respiration et par l'allongement de la durée de vie des tissus (faibles coûts de renouvellement) et une faible biomasse totale (Kozlowski et al., 1991).

La Molinie bleue (*Molinia caerulea*) est une graminée très compétitive pour les jeunes arbres, en particulier les chênes. Elle se développe facilement sous une large gamme d´ombre (6% de lumière) à la pleine luminosité (Taylor et al., 2001; Gaudio et al., 2011a). Sa croissance est donc plus importante dans une large gamme de lumière au détriment du chêne, notamment grâce à une plus grande capacité de gain de carbone (Vernay 2016). De ce fait, une trop forte ouverture au niveau de la canopée arborée peut menacer la croissance et la survie des plantules.

La lumière n'étant plus limitante, la végétation de sous-étage va alors les concurrencer pour les ressources souterraines qui deviennent un facteur limitant (Harmer et Morgan, 2007; Provendier et Balandier, 2008).

II. LES ELEMENTS MINERAUX :

Les éléments minéraux et notamment l'azote (N) sont essentiels dans le processus de nutrition et de croissance des plantes. L'azote est un composant essentiel des protéines, des enzymes, de la chlorophylle et de bien d'autres composés majeurs comme les vitamines. Il existe sous plusieurs formes : **organique**, il constitue la partie la plus importante de l'azote du sol et n'est en général pas absorbé directement par les racines des plantes et

minérale (très majoritairement sous forme nitrique NO_3^- et accessoirement sous forme ammoniacale NH_4^+) pour être disponible et prélevé par la plante.

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

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

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

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

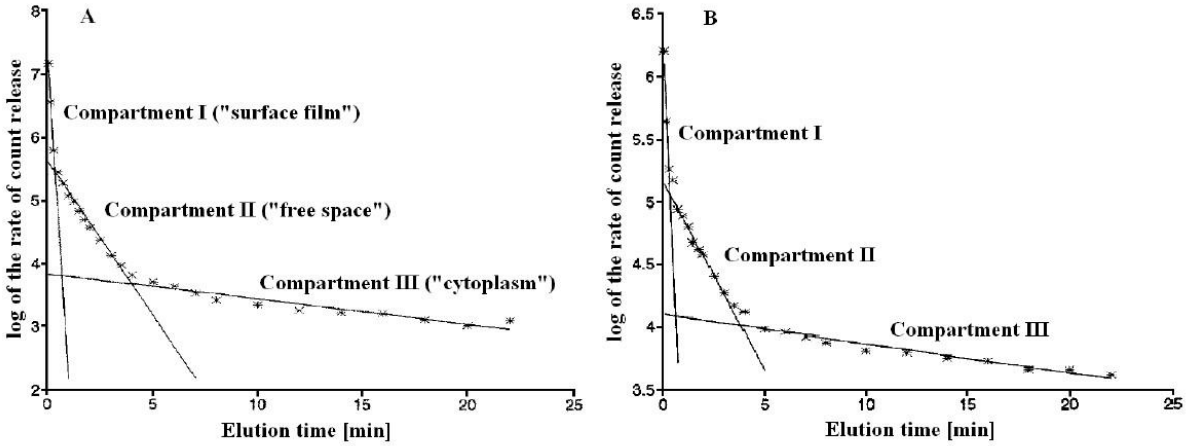


Fig. 2 : Vitesse d'élution du 13N [log (cpm libéré).g-1.min-1] en fonction du temps d'élution chez des racines intactes d'épinette blanche (*Picea glauca* [Moench] Voss.) placées dans une concentration de 100 µM de [NO3-] (A) ou de [NH4+] (B). Les racines ont été préalablement exposées à du 100 µM de de 13N-NO3- ou de 13N-NH4+ pendant une heure avant d'être transférées dans une solution non marquée. Les quantités de 13N mesurées dans la solution non marquée permettent de suivre l'élution du 13N à partir des 3 compartiments : la surface racinaire, l'espace libre (l'apoplasme) et le cytoplasme. (Kronzucker *et al.*, 1995a et 1995b).

En tant que nutriment, le nitrate peut être réduit à l'intérieur de la cellule par la nitrate réductase en nitrite, qui est ensuite réduit en ammonium par la nitrite réductase (Meyer et Stitt, 2001). La cinétique d'absorption (ou influx) de NO_3^- ou de NH_4^+ des racines en fonction de la concentration externe présente généralement un profil biphasique (Crawford et Glass 1998). Pour faire face aux concentrations faibles ou élevées de nitrate dans les sols, deux systèmes de transports existent dans les racines des plantes **(Figure 2)**: dans la gamme des faibles concentrations, les systèmes de transport de haute affinité (HATS) sont capables de piéger

les ions azotés du sol à des concentrations aussi faibles que 1 µM. Et dans l'intervalle de concentrations élevée (généralement> 0,5-1 mM), l'activité des systèmes de transport de faible affinité (LATS) apparaît, superposée à celle du système HATS (Glass et Siddiqi, 1995).

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

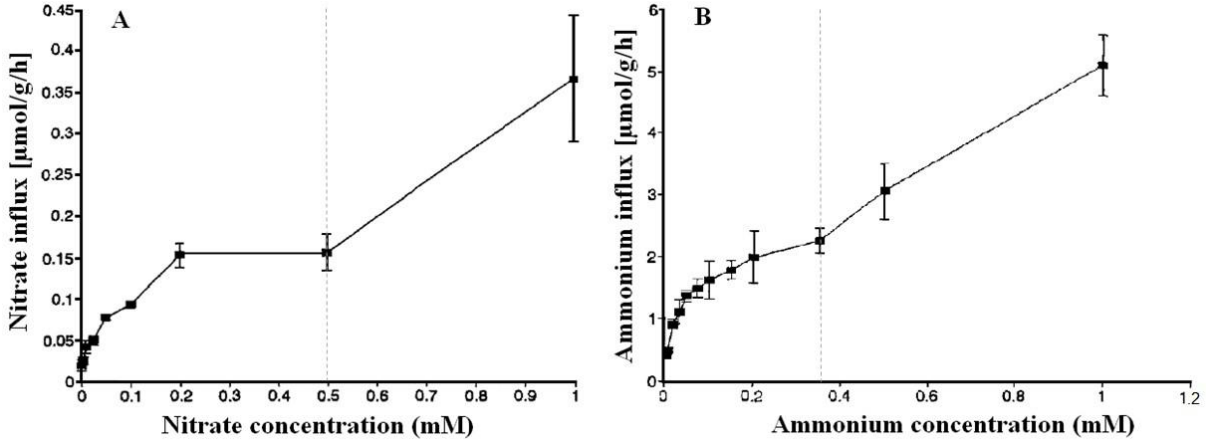


Fig. 3 : Influx massique (µmol. g-1(MSr).h-1) de nitrate NO3- (A) et d'ammonium NH4+ (B) en fonction de la concentration (mM) de l'ion azoté chez l'épinette blanche (Picea glauca [Moench] Voss.). Les données sont les moyennes ±SE (erreur standard). La courbe a une allure biphasique représentative du fonctionnement des systèmes de transport HATS et LATS, séparés par le trait pointillé sur les graphiques. (Kronzucker et al., 1995c).

III. LES MYCORHIZES

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

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

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

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

IV. L'ALLELOPATHIE :

L'allélopathie correspond à la propriété de certaines plantes de nuire à leurs voisines par un effet négatif, direct ou indirect, via des composés biochimiques toxiques (acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes) qu'elles émettent au niveau des racines (Rice, 1984). Ces substances allélopathiques peuvent

influencer la coexistence entre espèces végétales en inhibant leur germination, leur croissance ou leur survie (Vaughn & Berhow, 1999; Ridenour & Callaway, 2001).

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

La molinie fait partie des espèces qui ont probablement de fortes propriétés allélopathiques (Becker & Lévy, 1982), en particulier envers le jeune chêne. Cette dernière peut, directement ou indirectement, avoir un impact négatif sur les semis de chêne (Timbal *et al.*, 1990), en altérant différents processus lors de la germination, de la croissance, et du développement. Dans d'autres études, Nilsson et al. (1994) ont observé les effets allélopathiques d'*Empetrum hermaphroditum* sur le pin sylvestre et ont déduit que plus la concentration en extraits foliaires d'*Empetrum* était importante, plus la croissance diamétrale du champignon mycorhizien *Paxillus involutus* était diminuée.

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

D'après ce qui précède, l'hypothèse principale de cette étude est que la présence de molinie a un effet négatif sur la croissance et le développement du chêne. Sous hypothèses : Les mycorhizes facilitent l'absorption de l'azote au niveau des racines des chênes et des molinies ;

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

MATERIEL ET METHODES

A. Espèces végétales étudiées

Le chêne sessile (*Quercus petraea*)

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

La molinie bleue (*Molinia caerulea*)

La molinie, est une poacée commune, très répandue en France et résiste à un ombrage modérée (Gaudio et al., 2011a). Son système racinaire peut atteindre 80 cm de profondeur (Taylor *et al*., 2001), et se développe en fonction des quantités d'azote et d'eau présentes dans le sol limitant ainsi l'accès de ses concurrents à ces ressources (Balandier et al., 2010). La molinie présente un caractère d'exclusion (allélopathique) vis-à-vis des autres plantes (Gama et Dumas, 1999). Elle nuit aux autres végétaux notamment par la libération de composés toxiques lors de la décomposition de ses feuilles (Becker, 1984).

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

B. Dispositif expérimental

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

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

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

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

Les plants de chêne et molinie ont été extraits des pots disposés à l'extérieur au cours du mois de juin. Les systèmes racinaires ont été tamisés avec un tamis de diamètre 2 mm, afin d'éviter les pertes de matériel végétal, puis lavées sous l'eau. Les racines ont été séparées des parties aériennes, reconnues selon leurs caractéristiques morphologiques (Annexe 1), réparties en trois lots de racines : le premier et le deuxième lots ont été conservés au congélateur jusqu'à l'analyse morphologique du système racinaire et l'observation microscopique des mycorhizes, tandis que le dernier lot a été utilisé pour les mesures d'influx d'azote (voir ci-dessous). La partie aérienne a été placée dans un sac kraft et mise à l'étuve pendant 48 heures pour la mesure de la biomasse sèche et un échantillon du sol tamisé a été placé dans un sac en plastique et mis à la congélation afin de mesurer ultérieurement la teneur native en nitrate et ammonium (**Figure5**). Pour l'expérimentation sur les influx d'azote, à partir de l'isotope ^{15}N, les échantillons racinaires ont été maintenus vivants dans une atmosphère fraîche et humide le temps du transport jusqu'au laboratoire du PIAF puis ils ont été utilisés l'après-midi même qui a suivi le prélèvement afin de s'assurer que l'activité d'absorption des racines était maintenue lors de l'expérimentation (Lucash *et al*., 2007).

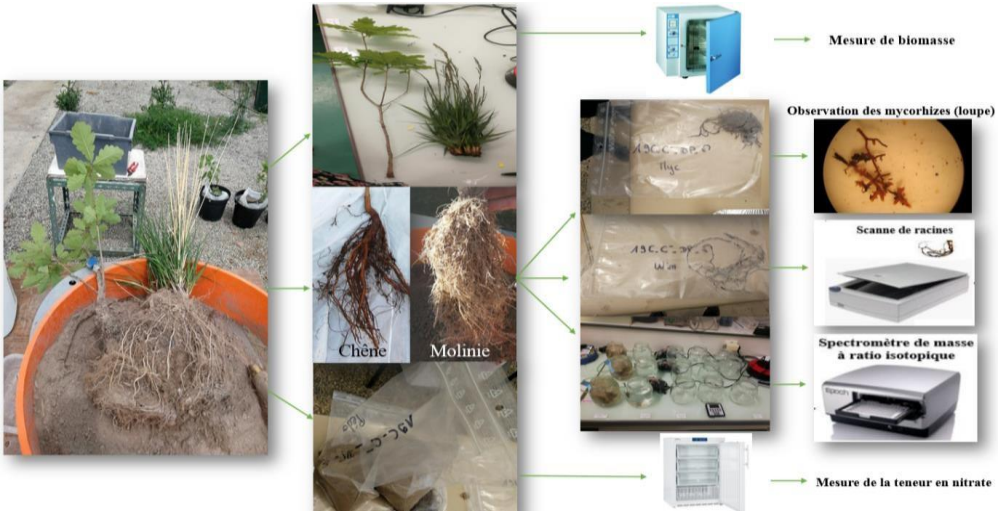


Fig. 5 : Les différentes étapes réalisées suite à l'extraction des chênes et molinies des pots

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

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

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

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

1.1. Lavage des racines en $CaCl_2$

Au cours de cette étape, les racines excisées placées dans les sachets de thé sont rincées pendant 30 minutes dans 0,5 mM de CaCl2 permettant d'enlever les débris résiduels et de maintenir l'intégrité membranaire.

1.2. Acclimatation en azote

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

1.3. Marquage au ^{15}N

Les racines excisées sont ensuite transférées dans un bain contenant une solution nutritive identique à celle utilisée pour l'acclimatation mais contenant du $K^{15}NO_3$ ou du $(^{15}NH_4)SO_4$ (Excès isotopique 98%) pendant 5 minutes à 3 concentrations différentes : 50, 500 et 1500 µM. La durée courte de marquage permet de mesurer spécifiquement la valeur d'influx.

1.4. 1er Rinçage

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

1.5. 2ème Rinçage

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

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

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

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

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

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

II. Expérimentation en forêt

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

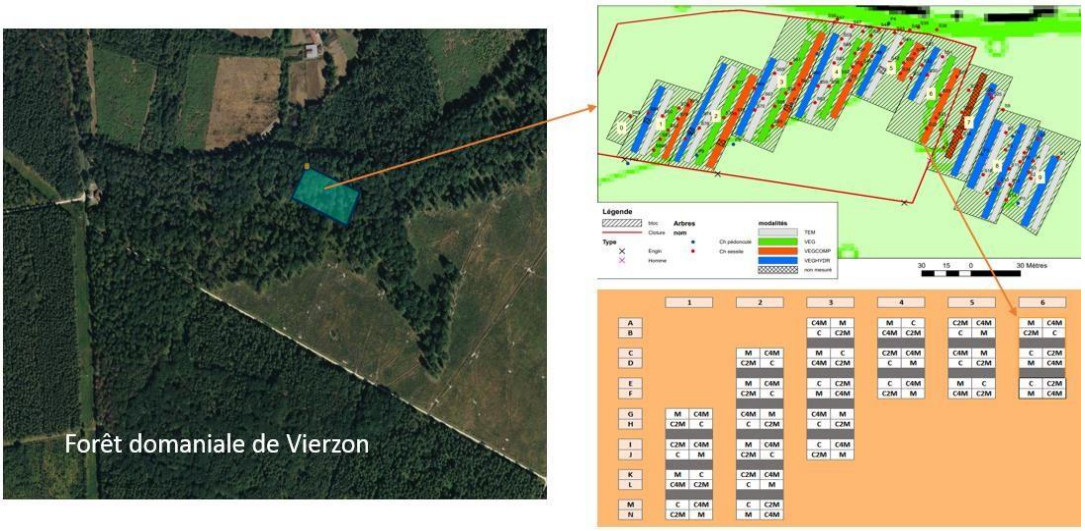


Fig.7 Description du dispositif expérimental de la parcelle 173 de la forêt domaniale de Vierzon, à gauche photographie aérienne de la disposition de la parcelle, à droite l'organisation des placettes (figure en haut) et des placeaux (figure en bas) sur la parcelle

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

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

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

C. Calculs et analyses statistiques

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

La quantité d'azote total (QNtot, mg) dans un échantillon racinaire est déterminée par le calcul suivant :

$QN_{tot} = \%Ntot \ x \ MSracinaire \ x \ 10$ où $\%N_{tot}$ et $MS_{racinaire}$ correspondent respectivement à la teneur en azote (% MS) et à la matière sèche racinaire (g) de l'échantillon.

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

$Q^{15}N = [(AIéchantillon - AInaturelle) \ x \ QNtot]/100$; où $AI_{échantillon}$ et $AI_{naturelle}$ correspondent respectivement à l'abondance isotopique en ^{15}N de l'échantillon marqué ($\%N_{tot}$) et à celle de l'échantillon non marqué. L'abondance isotopique (AI) représente la proportion d'azote 15 par rapport à la quantité d'azote total présent dans l'échantillon, soit : $AI = [Q^{15}N/QNtot] \ x \ 100$

Les valeurs d'influx (I) de nitrate et d'ammonium (nmol.g(MS)-1.h-1) sont calculé de la façon suivante :

$I = Q^{15}N \ x \ [AIsolution/100] \ x \ [1/MM^{15}N] \ x \ [60/d] \ x \ [1/MSracinaire] \ x \ 10^6$; où $AI_{solution}$ est l'abondance isotopique de la solution nutritive enrichie en ^{15}N (AI = 99%), MM_{15N} est la masse molaire du ^{15}N (15 $g.mole^{-1}$) et d est la durée de la mesure de l'influx (5 minutes).

II. Analyses statistiques :

Dans les expérimentations portant sur la morphologie racinaire, chaque répétition est considérée comme une unité expérimentale. Dans les expériences de mesures d'influx, l'unité expérimentale est l'échantillon contenu dans le sachet de thés. Dans chacune des expérimentations, l'effet des différents facteurs a été testé sur

l'ensemble ou une partie du jeu de données par des tests d'analyse de la variance à un ou deux facteurs (ANOVA 1 et 2) (α 5%) et le test non paramétrique de Kruskal Wallis, avec une vérification préalable de l'homoscédasticité grâce au test de Levene, et de la normalité des valeurs grâce au test de Shapiro-Wilk avec le logiciel R Studio (en utilisant le package Rcmdr (Fox, J. (2005)) Les classes statistiques sont établies par ce programme et permettent de mettre en évidence des différences significatives, ainsi que leur degré de variation à l'échelle de toutes les concentrations

Résultats

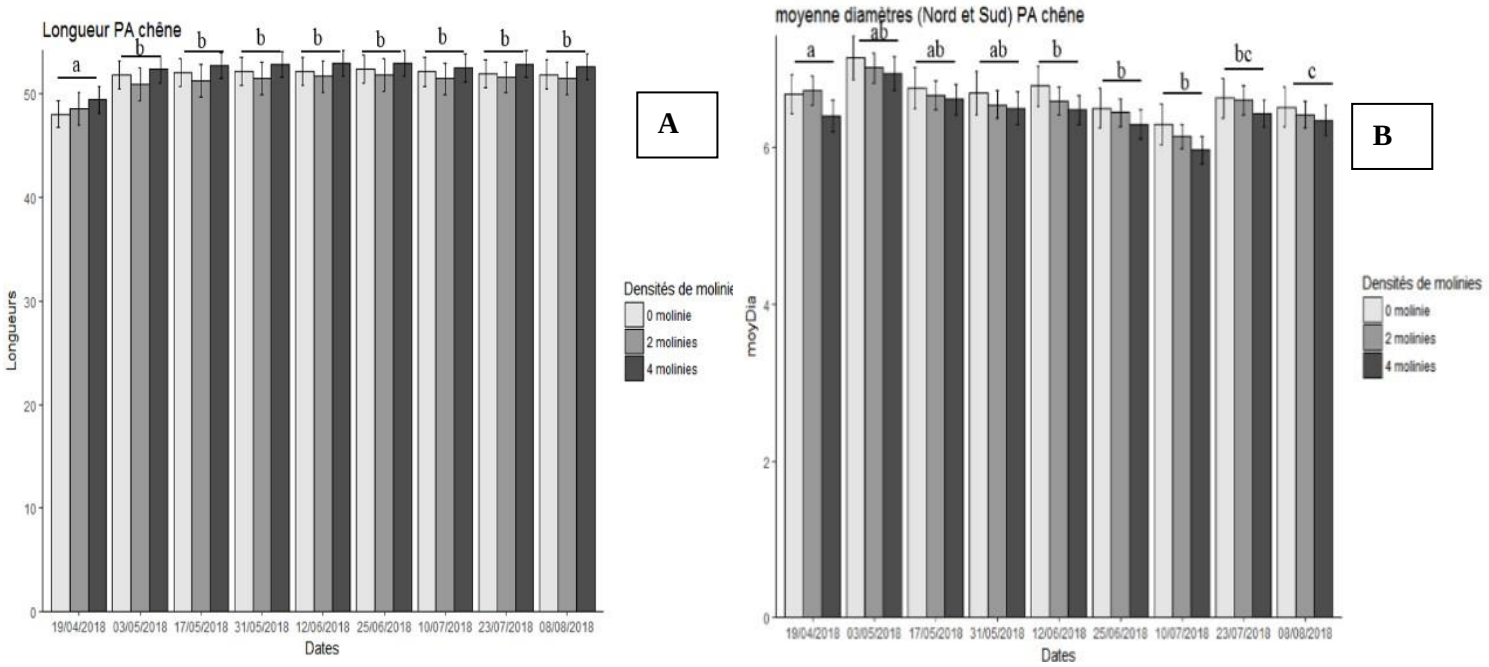
A. Croissance des parties aériennes et des systèmes racinaires des plantes in situ et en pot

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

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

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

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



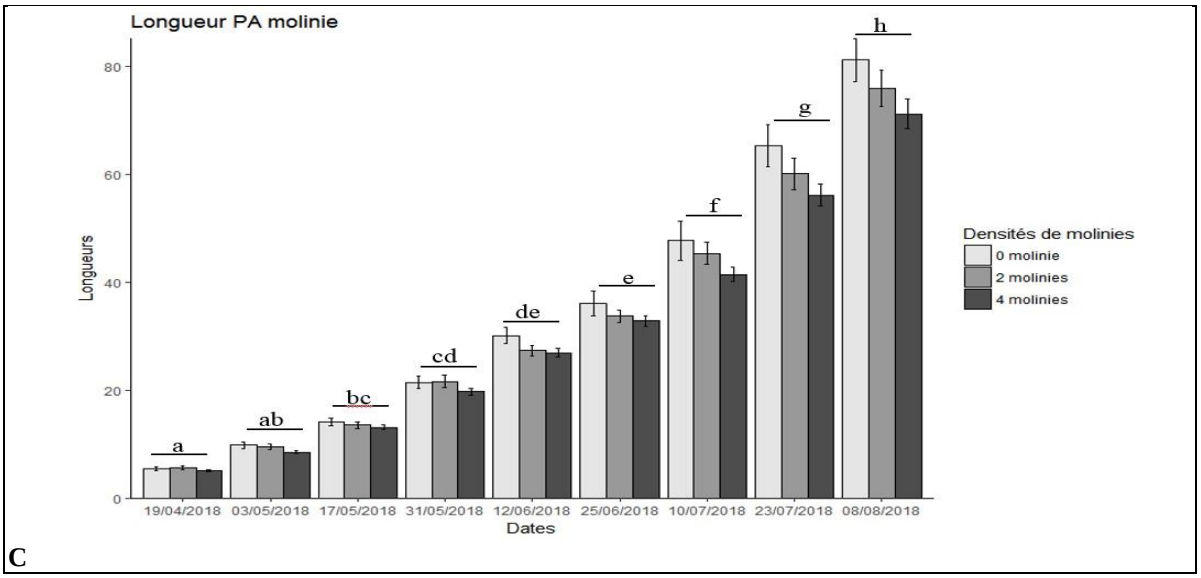


Fig. 8 Mesure de longueur de la partie aérienne (en cm) du chêne (A) et de la molinie (C), et la moyenne des deux diamètres Nord et Sud des tiges du chêne (en mm) (B) en fonction de la date et de la densité des molinies (Pas de molinie ; 2 molinies ; 4 molinies). Pour chaque graphique Les barres représentent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

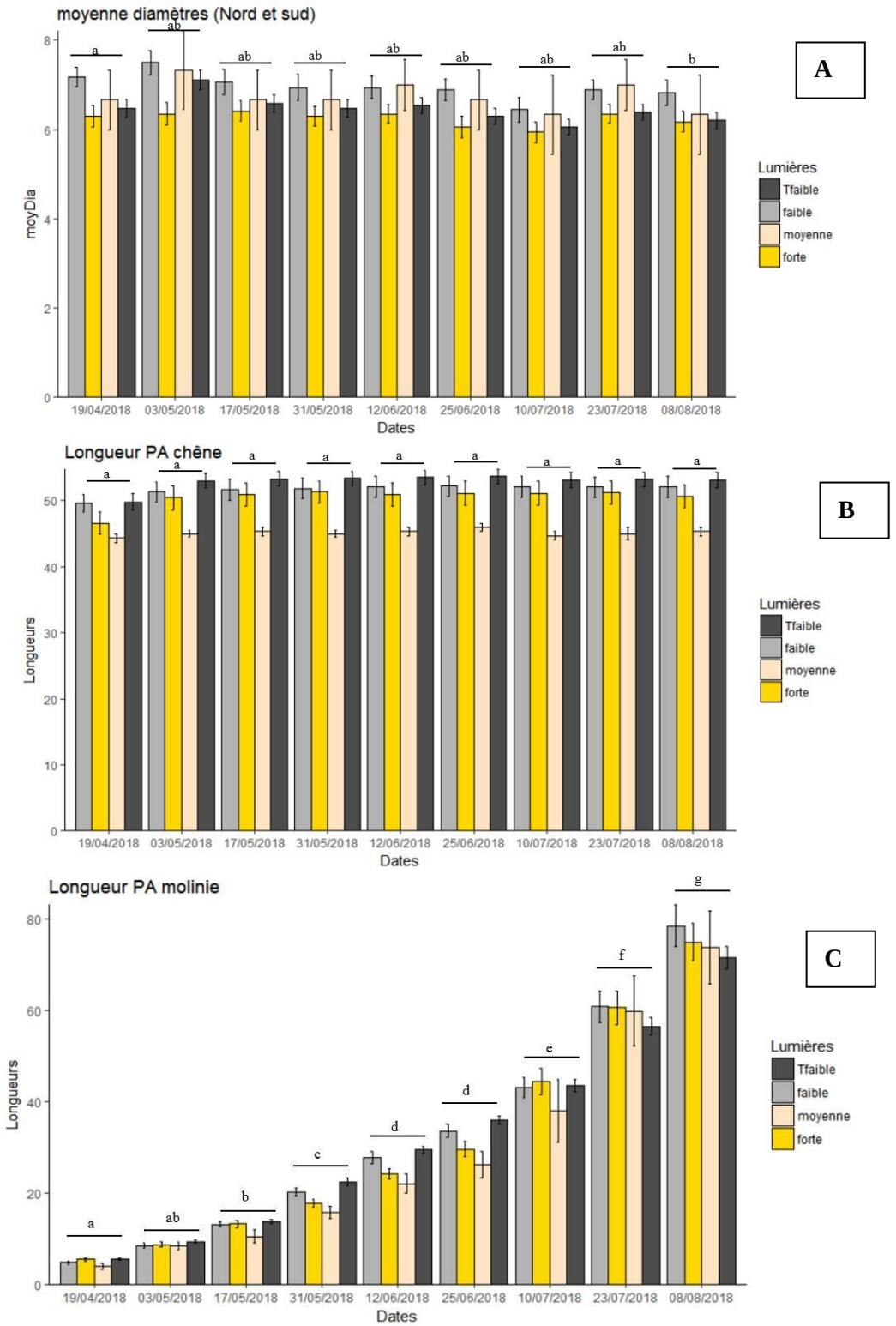


Fig. 9 Mesure des longueur de la partie aérienne (en cm) du chêne (A) et de la molinie (C), et la moyenne des deux diamètres (en mm) Nord et Sud des tiges du chêne (B) en fonction des différentes dates des mesures et de l'intensité lumineuse arrivant sur la placette (de 0 à 20% de lumière : « très faible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

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

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

Biomasse des PA et des SR

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

Les analyses statistiques du chêne ont montré une différence significative entre la biomasse aérienne du chêne seul et le chêne mélangé avec une molinie (P = 0.01) (**Figure 10 B**).La présence de molinie met en évidence une biomasse plus faible que lorsqu'il est seul. En revanche aucun effet significatif n'est constaté pour la biomasse aérienne de la molinie (P =

0.06) (**Figure 10 A**) mais il est à observer qu'elle a tendance à augmenter en présence d'un chêne.

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

Biomasse des PA et SR

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

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

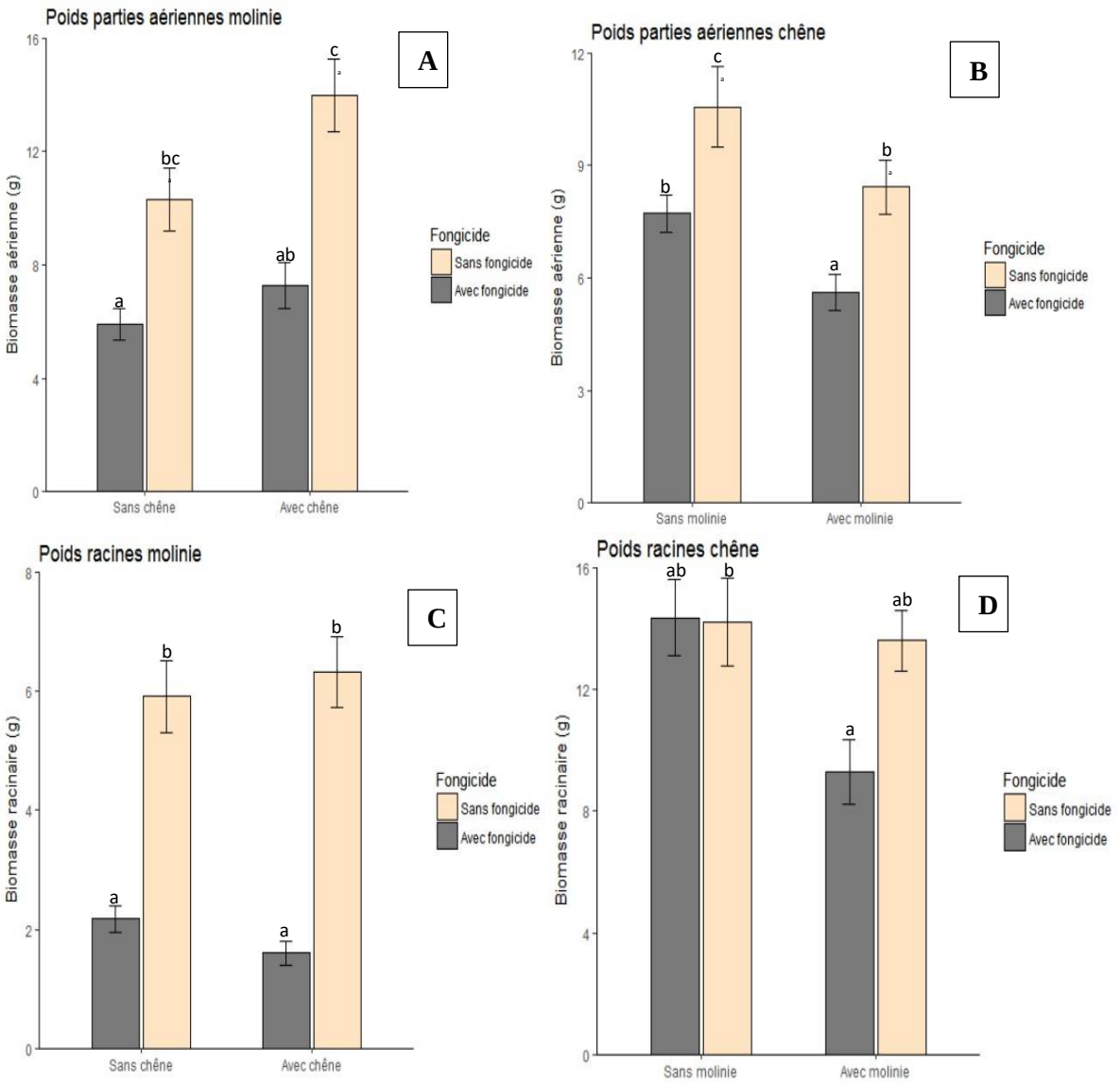


Fig. 10 biomasse aérienne (en g de matière sèche) de la molinie et du chêne (A) et (B) et racinaire (C) et (D) en fonction de la modalité espèce seule (à gauche) ou avec voisin (à droite) et du traitement fongicide avec fongicide( ) et sans fongicide ( ). Pour chaque graphique Les barres représentent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

B. Influx racinaire de nitrate ($NO3^-$) et d´ammonium ($NH4^+$)

I. Influx racinaire en fonction de la forme azotée

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

La cinétique d'absorption du nitrate observée pour le chêne et la molinie est différente, même si les valeurs d'influx sont très faibles (un maximum de 1.40 µmoles $^{15}NO_3^-.h^{-1}.g^{-1}$ MS racinaire pour le chêne et de 3,76 µmoles $^{15}NO_3^-.h^{-1}.g^{-1}$ MS racinaire pour la molinie). La molinie absorbe plus de nitrate que le chêne.

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

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

Pour le nitrate (**Tableau I**) : à forte concentration (1.5M), les analyses statistiques ont mis en évidence que l'influx est plus important quand le chêne est avec une molinie. Pour les autres concentrations aucun effet significatif n'est montré. En ce qui concerne la molinie les résultats indiquent que l'influx d'azote est supérieur pour la modalité « seule » que pour la modalité « présence d'un voisin (chêne) » mais cette différence reste non significative. Il n'y a pas d'effet fongicide sur l'influx de nitrate chez le chêne lorsqu'il est seul, en revanche, en présence de molinie, on observe une différence significative pour la concentration 0,5M. Pour la molinie l'effet fongicide impacte significativement l'influx de manière négative quand elle est seule à une concentration de 0.5M, ou mélangée avec un chêne et à faible concentration (0.05M), dans les autres cas, il n'y a pas d'effet significatif.

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

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

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

Fongicide	Concentration	Chêne		Molinie	
		Seul	Molinie	Seule	Chêne
0	0,05 M	0,18 ± 0,02 **a** **A**	0,17 ± 0,02 **a** **A**	0,59 ± 0,04 **a** **A**	0,53 ± 0,06 **a** **B**
	0,5 M	0.36 ± 0.06 **a** **A**	0,31 ± 0,03 **a** **A**	1,41 ± 0,11 **a** **B**	1,17 ± 0,16 **a** **A**
	1,5 M	0,64 ± 0.08 a A	1,09 ± 0,10 b A	2,55 ± 0,14 a A	2,05 ± 0,11 a A
X	0,05 M	0,25 ± 0,03 **a** **A**	0,23 ± 0,04 **a** **A**	0,40 ± 0,04 **a** **A**	0,33 ± 0,05 **a** **A**
	0,5 M	0,38 ± 0,06 **a** **A**	0,45 ± 0,04 **a** **B**	0,82 ± 0,08 a A	1,16 ± 0,05 **a** **A**
	1,5 M	1,40 ± 0,20 **a** **A**	1,22 ± 0,10 **a** **A**	1,89 ± 0,19 **a** **A**	3,76 ± 1,01 **a** **A**

Tableau I. Influx de nitrate (nmoles $^{15}NO3^{-}.h^{-1}.g^{-1}$ MS racinaire) mesurés pour trois concentrations (0.05, 0,5 et 1.5M de NO_3^-) à partir de racines excisées chez le chêne et la molinie avec ou sans voisin et avec (X) ou sans fongicide (0). Chaque valeur correspond à la moyenne ± erreur-standard, n=6. Pour une ligne donnée, les valeurs suivies par une lettre minuscule différente sont significativement différentes (P-value ≤ 0,05). Pour une colonne donnée, les valeurs suivies par une lettre majuscule différente sont significativement

Fongicide	Concentration	Chêne		Molinie	
		Seul	Molinie	Seule	Chêne

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

Tableau II. Influx d'ammonium (nmoles $^{15}NH_4^+.h^{-1}.g^{-1}$ MS racinaire) mesurés pour trois concentrations (0.05, 0,5 et 1.5M NH_4^+) à partir de racines excisées chez le chêne et la molinie en peuplement pur ou en mélange et avec (X) ou sans fongicide (0). Chaque valeur correspond à la moyenne ± erreur-standard, n=6. Pour une ligne donnée, les valeurs suivies par une lettre minuscule différente sont significativement différentes (P-value ≤ 0,05). Pour une colonne donnée, les valeurs suivies par une lettre majuscule différente sont significativement différentes.
Globalement, l'effet fongicide et l'effet voisin sont difficilement mis en évidence dans les mesures d'influx, contrairement aux données de biomasse. Les valeurs d'influx de nitrate sont plus importantes pour la molinie, et à l'inverse, le chêne présente des valeurs d'influx supérieures à la molinie pour l'ammonium.

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

Discussion

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

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

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

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

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

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

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

Ce qui précède va nous permettre de tenter d'expliquer comment, dans nos résultats, un traitement fongicide sur le chêne et la molinie peut entrainer un effet dépressif significatif sur le développement de leurs parties aériennes et de leurs systèmes racinaires. Le fongicide,

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

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

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

En plus de l'effet négatif du fongicide sur la croissance, un effet voisin a été observé: en présence de molinie, la biomasse du chêne a tendance à être moins importante que lorsque le chêne est seul, suggérant un phénomène de compétition de la molinie vers le chêne. A l'inverse, en présence de chêne, la molinie a une biomasse légèrement supérieure à la modalité

« sans chêne », suggérant un phénomène de facilitation du chêne vers la molinie (Bruno et al. 2017).En effet la molinie se développe mieux en présence du chêne (Fernandez 2015) et grâce à son système racinaire plus dense et à sa croissance rapide, elle peut bien explorer le sol et avoir un accès aux ressources. En même temps elle intervient dans l'inhibition de la croissance du chêne probablement en libérant des composés toxiques modifiant la mycorhization du chêne vu que dans nos résultats en absence de fongicide (donc présence de mycorhize) la croissance du chêne été inhibée dans la modalité mélangée avec une molinie.

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

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

plants de chêne et de molinie en forêt de Vierzon afin de déterminer l'impact de la présence de molinie sur les mycorhizes du chêne.

C. Influx racinaire du nitrate et de l´ammonium

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

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

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

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

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

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

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

Conclusion et perspectives

L´objectif de cette étude était de s'intéresser à la réponse structurale et fonctionnelle du chêne en compétition avec la molinie pour les ressources naturelles du sol et notamment l'azote minéral ($NO3^-$ et $NH4^+$).

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

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

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

- Réaliser un effet fongicide sur les plantules in situ et mesurer l'influx racinaire de l'azote pour faire une comparaison avec les résultats obtenus en pot.
- Vérifier l'effet toxique ou non du fongicide propiconazole sur les racines du chêne et de la molinie.
- Il serait intéressant de faire un comptage du taux de mycorhization au niveau des racines pour déduire l'origine de la diminution de la croissance et la variation des niveaux d'influx d'azote minéral ($NO3^-$ et $NH4^+$).
- Réaliser l'analyse morphologique de la racine afin de regarder si les longueurs et les diamètres des racines sont aussi victimes du traitement fongicide.
- Prendre en compte d'autres formes azotées disponibles dans le sol : seuls les influx de nitrate et d'ammonium en tant que forme azotée ont été mesurés. Or, dans l'écosystème du sol, d'autres éléments azotés pouvant être absorbés par la plante sont à prendre en compte, els que les acides aminés

Références bibliographiques

Annighöfer, P., Beckschäfer, P., Vor, T., Ammer, C., 2015. Regeneration Patterns of European Oak Species (Quercus petraea (Matt.) Liebl., Quercus robur L.) in Dependence of Environment and Neighborhood. PLOS ONE 10, e0134935. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134935

Atkinson, D., 2000. Root Characteristics: Why and What to Measure, in: Root Methods. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–32. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04188-8_1

Balandier, P., Collet, C., Miller, J.H., Reynolds, P.E., Zedaker, S.M., 2006. Designing forest vegetation management strategies based on the mechanisms and dynamics of crop tree competition by neighbouring vegetation. Forestry: An International Journal of Forest Research 79, 3–27. https://doi.org/10.1093/forestry/cpi056

Balandier, P., Marquier, A., Perret, S., Collet, C., Courbaud, B., 2009. Comment estimer la lumière dans le sous-bois forestier à partir des caractéristiques dendrométriques des peuplements ? Rendez-vous techniques ONF 52–58.

Balandier, P.P., Allégrini, C.C., Jay, D.D., 2008. Des réactions similaires à l'accompagnement ligneux pour le frêne et le noyer hybride. Foret entreprise 178, 21–25.

Becker, M. (Institut N. de la R.A., 1984. Allelopathic potential of Molinia caerulea (L.) Moench. and Carex brizoides L. Influence on the germination and growth of Lepidium sativum L. Presented at the 7. Colloque International sur l'Ecologie, la Biologie et la Systematique des Mauvaises Herbes, Paris (France), 9-11 Oct 1984, COLUMA.

Becker, M., LéVy, G., 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais Les causes écologiques. Annales des Sciences Forestières 39, 439–444. https://doi.org/10.1051/forest:19820407

Bi, Y.-M., Wang, R.-L., Zhu, T., Rothstein, S.J., 2007. Global transcription profiling reveals differential responses to chronic nitrogen stress and putative nitrogen regulatory components in Arabidopsis. BMC Genomics 8, 281. https://doi.org/10.1186/14712164-8-281

Bruno, J.F., Rand, T.A., Emery, N.C., and Bertness, M.D. 2017. Facilitative and competitive interaction components among New England salt marsh plants. PeerJ **5**: e4049. doi:10.7717/peerj.4049.

Calonne, M., Fontaine, J., Debiane, D., Laruelle, F., Grandmougin-Ferjani, A., Hadj Sahraoui Anissa, L., 2011. Etude de la toxicité d'un fongicide, le propiconazole, sur un organisme non-cible: le champignon mycorhizien arbusculaire Glomus irregulare. Presented at the séminaire doctorant UCEIV.

Chesson, P. 2000. Mechanisms of Maintenance of Species Diversity. Annu. Rev. Ecol. Syst. **31**: 343–66. doi:10.1146/annurev.ecolsys.31.1.343.

Coll, L., Balandier, P., Picon-Cochard, C., Prvosto, B., Curt, T., 2003. Competition for water between beech seedlings and surrounding vegetation in different light and vegetation composition conditions. Annals of Forest Science 60, 593–600. https://doi.org/10.1051/forest:2003051

Collet, C., Frochot, H., Guehl, J.-M., Ferhi, A., 1996. Effect of two forest grasses differing in their growth dynamics on the water relations and the growth of *Quercus petraea* seedlings. Canadian Journal of Botany 74, 1562–1571. https://doi.org/10.1139/b96-189

Crawford, N.M., Glass, A.D.M., 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. Trends in Plant Science 3, 389–395. https://doi.org/10.1016/S13601385(98)01311-9

Daughtridge, A.T., Boese, S.R., Pallardy, S.G., Garrett, H.E., 1986. A rapid staining technique for assessment of ectomycorrhizal infection of oak roots. Can. J. Bot. 64, 1101–1103. https://doi.org/10.1139/b86-151

Douzon, G., Nord-Ouest, D.S.F., 2005. Le point sur les dépérissements des chênes pédonculés en forêt de Vierzon. Département de la santé des forêts, Bilan de la santé des forêts en. Drénou, C., 2006. Les racines: face cachée des arbres. Forêt privée française.

Fernandez, M., 2015. Absorption racinaire de l'azote minéral chez le chêne sessile (Quercus Petraea (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue(Molinia caerulea (L.) Moench) en compétition : caractérisation cinétique et structurale. Absorption racinaire de l'azote minéral chez le chêne sessile (Quercus Petraea (Matt.) Liebl.) et la molinie bleue(Molinia caerulea (L.) Moench) en compétition : caractérisation cinétique et structurale, Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand 2)(2015).

Fitter, A., 1987. M. Begon, J. L. Harper & C. R. Townsend 1986. Ecology: individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 876 pages. ISBN 0-632-01337-0 (hardback), 0-632-01339-7 (paperback). Price £29.80 (hardback),

£14.50 (paperback). Journal of Tropical Ecology 3, 161–162. https://doi.org/10.1017/S0266467400001917

Fox, J., n.d. Getting Started With the R Commander: A BasicStatistics Graphical User Interface to R. Journal of Statistical Software 1–42.

Garbaye, J., 2013. La symbiose mycorhizienne: Une association entre les plantes et les champignons. Editions Quae.

Gaudio, N., n.d. Interactions pour la lumière entre les arbres adultes, les jeunes arbres et la végétation du sous-bois au sein d'un écosystème forestier: application à la régénération du pin sylvestre en peuplement mélangé chêne sessile - pin sylvestre 197.

Gaudio, N., Balandier, P., Dumas, Y., Ginisty, C., 2011. Growth and morphology of three forest understorey species (Calluna vulgaris, Molinia caerulea and Pteridium aquilinum) according to light availability. Forest Ecology and Management 261, 489–498. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.10.034

GLASS, A.D.M., 1995. Nitrogen absorption in higher plants. Nitrogen Nutrition in Higher Plants. 21–55.

Gobat, J.M., Aragno, M., Mattey, W., 2003. Le sol vivant, 2e édition revue et complétée. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne 319.

Goldberg, D.E., 1990. Components of resource competition in plant communities. Perspectives on plant competition 27–49.

Göransson, H., Fransson, A.-M., Jönsson-Belyazid, U., 2007. Do oaks have different strategies for uptake of N, K and P depending on soil depth? Plant Soil 297, 119–125. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9325-2

Govindarajulu, M., Pfeffer, P.E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D.D., Allen, J.W., Bücking, H., Lammers, P.J., and Shachar-Hill, Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Nature **435**(7043): 819–823. doi:10.1038/nature03610.

Grace, J., 2012. Perspectives on Plant Competition. Elsevier.

Gruffman, L., Jämtgård, S., Näsholm, T., 2014. Plant nitrogen status and co-occurrence of organic and inorganic nitrogen sources influence root uptake by Scots pine seedlings. Tree Physiol 34, 205–213. https://doi.org/10.1093/treephys/tpt121

Harmer, R., Morgan, G., 2009. Storm damage and the conversion of conifer plantations to native broadleaved woodland. Forest Ecology and Management 258, 879–886. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.03.023

Harmer, R., Morgan, G., 2007. Development of Quercus robur advance regeneration following canopy reduction in an oak woodland. Forestry (Lond) 80, 137–149. https://doi.org/10.1093/forestry/cpm006

He, X., Nara, K., 2007. Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? Trends Plant Sci. 12, 331–333. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.06.008

Hengodage, N.B.W., Ruotsalainen, A.L., Markkola, A., and Häggman, H. 2016. Root fungal colonisations of the understory grass Deschampsia flexuosa after top-canopy harvesting. Plant Soil **414**: 171–180. Plant and Soil. doi:10.1007/s11104-016-3108-6.

Hepworth, C., Doheny-Adams, T., Hunt, L., Cameron, D.D., Gray, J.E., 2015. Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake. New Phytologist 208, 336–341. https://doi.org/10.1111/nph.13598

Holste, E.K., Kobe, R.K., and Gehring, C.A. 2017. Plant species differ in early seedling growth and tissue nutrient responses to arbuscular and ectomycorrhizal fungi. Mycorrhiza

27(3): 211–223. Mycorrhiza. doi:10.1007/s00572-016-0744-x IGN, 2014. Le Memento : La forêt en carte et en chiffre. 29 p.

Jensen, A.M., Löf, M., Gardiner, E.S., 2011. Effects of above- and below-ground competition from shrubs on photosynthesis, transpiration and growth in Quercus robur L. seedlings.

Environmental and Experimental Botany. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.02.005

Janos, D.P., 1980. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae Affect Lowland Tropical Rain Forest Plant Growth. Ecology 61, 151–162. https://doi.org/10.2307/1937165

Justes, E., Bedoussac, L., Corre - Hellou, G., Fustec, J., Hinsinger, P., Jeuffroy, M.-H., Journet, E.-P., Louarn, G., Naudin, C., Pelzer, E., 2014. Les processus de complémentarité de niche et de facilitation déterminent le fonctionnement des associations végétales et leur efficacité pour l'acquisition des ressources abiotiques. Innovations Agronomiques 40, 1–24.

Keddy 2001 Competition Chapter 1.pdf, n.d.

Kennedy, P., 2010. Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interactions, community structure, coexistence mechanisms, and future research directions. New Phytologist 187, 895–910. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03399.x

Kochian, L.V., Xin-Zhi, J., Lucas, W.J., 1985. Potassium Transport in Corn Roots: IV. Characterization of the Linear Component. Plant Physiology 79, 771–776. https://doi.org/10.1104/pp.79.3.771

Konvalinková, T., and Jansa, J. 2016. Lights Off for Arbuscular Mycorrhiza: On Its Symbiotic Functioning under Light Deprivation. Front. Plant Sci. **7**(June): 1–11. doi:10.3389/fpls.2016.00782.

Kozlowski, S., Takeshita, T., Boehncke, W.-H., Takahashi, H., Boyd, L.F., Germain, R.N., Berzofsky, J.A., Margulies, D.H., 1991. Excess β2 microglobulin promoting functional peptide association with purified soluble class I MHC molecules. Nature 349, 74–77. https://doi.org/10.1038/349074a0

Kozlowski, T.T., Pallardy, S.G., Kramer, P.J., Kozlowski, Theodore T, 1991. The physiological ecology of woody plants. San Diego : Academic Press.

Kronzucker, Herbert J., Glass, A.D.M., Yaeesh Siddiqi, M., 1995a. Nitrate induction in spruce: an approach using compartmental analysis. Planta 196, 683–690. https://doi.org/10.1007/BF01106761

Kronzucker, H. J., Siddiqi, M.Y., Glass, A., 1995b. Kinetics of NO3- Influx in Spruce. Plant Physiology 109, 319–326. https://doi.org/10.1104/pp.109.1.319

Kronzucker, Herbert J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., 1995d. Compartmentation and flux characteristics of ammonium in spruce. Planta 196, 691–698. https://doi.org/10.1007/BF01106762

Kronzucker, Herbert J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M., 1995c. Compartmentation and flux characteristics of nitrate in spruce. Planta 196, 674–682. https://doi.org/10.1007/BF00197331

Kroon, H. de, Mommer, L., Nishiwaki, A., 2003. Root Competition: Towards a Mechanistic Understanding, in: Root Ecology, Ecological Studies. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 215–234. https://doi.org/10.1007/978-3-662-09784-7_9

Lucash, M.S., Eissenstat, D.M., Joslin, J.D., McFarlane, K.J., Yanai, R.D., 2007. Estimating nutrient uptake by mature tree roots under field conditions: challenges and opportunities. Trees 21, 593–603. https://doi.org/10.1007/s00468-007-0160-0

Mallik, A., Inderjit, 2002. Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial Ecosystems. Birkhauser-Verlag AG, Basel, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-30348-8109-8

Mallik, A., Kravchenko, D., 2016. Black spruce (Picea mariana) restoration in Kalmia heath by scarification and microsite mulching. Forest Ecology and Management 362, 10–19. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.10.020

Mata, C., van Vemde, N., Clarkson, D.T., Martins-Loução, M.A., Lambers, H., n.d. Influx, efflux and net uptake of nitrate in Quercus suber seedlings 8.

Medici, A., Krouk, G., 2014. The Primary Nitrate Response: a multifaceted signalling pathway. J Exp Bot 65, 5567–5576. https://doi.org/10.1093/jxb/eru245

Meyer, C., Stitt, M., 2001. Nitrate Reduction and signalling, in: Plant Nitrogen. Springer,

Berlin, Heidelberg, pp. 37–59. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04064-5_2

Morot-Gaudry, J-F., 1997. Assimilation de l'azote chez les plantes: Aspects physiologique, biochimique et moléculaire (Mieux comprendre) (French Edition).

Nemec, S., 1985. Influence of selected pesticides onGlomus species and their infection in citrus. Plant Soil 84, 133–137. https://doi.org/10.1007/BF02197875

Nilsson, M.-C., 1994. Separation of allelopathy and resource competition by the boreal dwarf shrub Empetrum hermaphroditum Hagerup. Oecologia 98, 1–7. https://doi.org/10.1007/BF00326083

Papon N. 2016. Caractérisation cinétique de l'activité des systèmes de transport de l'azote minéral dans les racines de chêne en compétition avec la molinie suite à la reprise de croissance.

Persson, J., and Näsholm, T. 2001. Amino acid uptake: a widespread ability among boreal forest plants. Ecol. Lett. **4**: 434–438.

PlassarD, C., Guérin-LaguettE, A., VérY, A.-A., Casarin, V., Thibaud, J.-B., 2002. Local measurements of nitrate and potassium fluxes along roots of maritime pine. Effects of ectomycorrhizal symbiosis. Plant, Cell & Environment 25, 75–84. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00810.x

Provendier, D., Balandier, P., 2008. Compared effects of competition by grasses (Graminoids) and broom (Cytisus scoparius) on growth and functional traits of beech saplings (Fagus sylvatica). Annals of Forest Science 65, 510–510. https://doi.org/10.1051/forest:2008028

R, H., 1996. Growth of seedling tree root-systems in competition with grasses. Aspects of Applied Biology.

Reigosa, M.J., Sánchez-Moreiras, A., González, L., 1999. Ecophysiological Approach in Allelopathy. Critical Reviews in Plant Sciences 18, 577–608. https://doi.org/10.1080/07352689991309405

Rice, E., n.d. L.,(1984) Allelopathy. Academic I》 ress.

Ridenour, W.M., Callaway, R.M., 2001. The relative importance of allelopathy in interference:

the effects of an invasive weed on a native bunchgrass. Oecologia 126, 444–450. https://doi.org/10.1007/s004420000533

Rock, K.L., Gamble, S., Rothstein, L., Gramm, C., Benacerraf, B., 1991. Dissociation of β2microglobulin leads to the accumulation of a substantial pool of inactive class I MHC heavy chains on the cell surface. Cell 65, 611–620. https://doi.org/10.1016/00928674(91)90093-E

Schenk, H.J., 2006. Root competition: beyond resource depletion. Journal of Ecology 94, 725– 739. https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01124.x

Stinson, K.A., Campbell, S.A., Powell, J.R., Wolfe, B.E., Callaway, R.M., Thelen, G.C., Hallett, S.G., Prati, D., Klironomos, J.N., 2006. Invasive Plant Suppresses the Growth of Native Tree Seedlings by Disrupting Belowground Mutualisms. PLOS Biology 4, e140. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040140

Taylor, K., Rowland, A.P., Jones, H.E., 2001. Molinia caerulea (L.) Moench. Journal of Ecology 89, 126–144. https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00534.x

Thiffault, N., Cyr, G., Prégent, G., Jobidon, R., Charette, L., 2004. Régénération artificielle des pessières noires à éricacées : effets du scarifiage, de la fertilisation et du type de plants après 10 ans. The Forestry Chronicle 80, 141–149. https://doi.org/10.5558/tfc80141-1

Timbal, J., Aussenac, G., 1996. An overview of ecology and silviculture of indigenous oaks in France, in: Annales Des Sciences Forestieres. EDP Sciences, pp. 649–661.

Timbal, J., Gelpe, J., Garbaye, J., Courrier, G., 1990. Étude préliminaire sur l'effet dépressif de la molinie (Molinia caerulea) sur la croissance et l'état mycorhizien de semis de chêne rouge (Quercus rubra). Annales des Sciences Forestières 47, 643–649. https://doi.org/10.1051/forest:19900609

Vaughn, S.F., Berhow, M.A., 1999. Allelochemicals Isolated from Tissues of the Invasive Weed Garlic Mustard (<Emphasis Type="Italic">Alliaria petiolata</Emphasis>). J Chem Ecol 25, 2495–2504. https://doi.org/10.1023/A:1020874124645

Vernay, A. 2017. De la complexité fonctionnelle et écophysiologique des ressources lumière, azote et eau dans le réseau précoce d'interactions entre le jeune chêne et deux poacées : conséquences pour la régénération des chênaies tempérées.

Vernay, A., Balandier, P., Guinard, L., Améglio, T., Malagoli, P., 2016. Photosynthesis capacity of Quercus petraea (Matt.) saplings is affected by Molinia caerulea (L.) under high irradiance. Forest Ecology and Management 376, 107–117. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.05.045

Vidal, E.A., Moyano, T.C., Canales, J., Gutiérrez, R.A., 2014. Nitrogen control of developmental phase transitions in Arabidopsis thaliana. J Exp Bot 65, 5611–5618. https://doi.org/10.1093/jxb/eru326

von Wirén, N., Gojon, A., Chaillou, S., and Raper, D. 2001. Mechanisms and Regulation of

Ammonium Uptake in Higher Plants. *In* Plant Nitrogen. *Edited by* P.J. Lea and J.-F. Morot-Gaudry. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. pp. 61–77.

doi:10.1007/978-3-662-04064-5_3.

Wang, M.Y., Siddiqi, M.Y., Ruth, T.J., Glass, A., 1993. Ammonium Uptake by Rice Roots (II. Kinetics of 13NH4+ Influx across the Plasmalemma). Plant Physiology 103, 1259– 1267. https://doi.org/10.1104/pp.103.4.1259

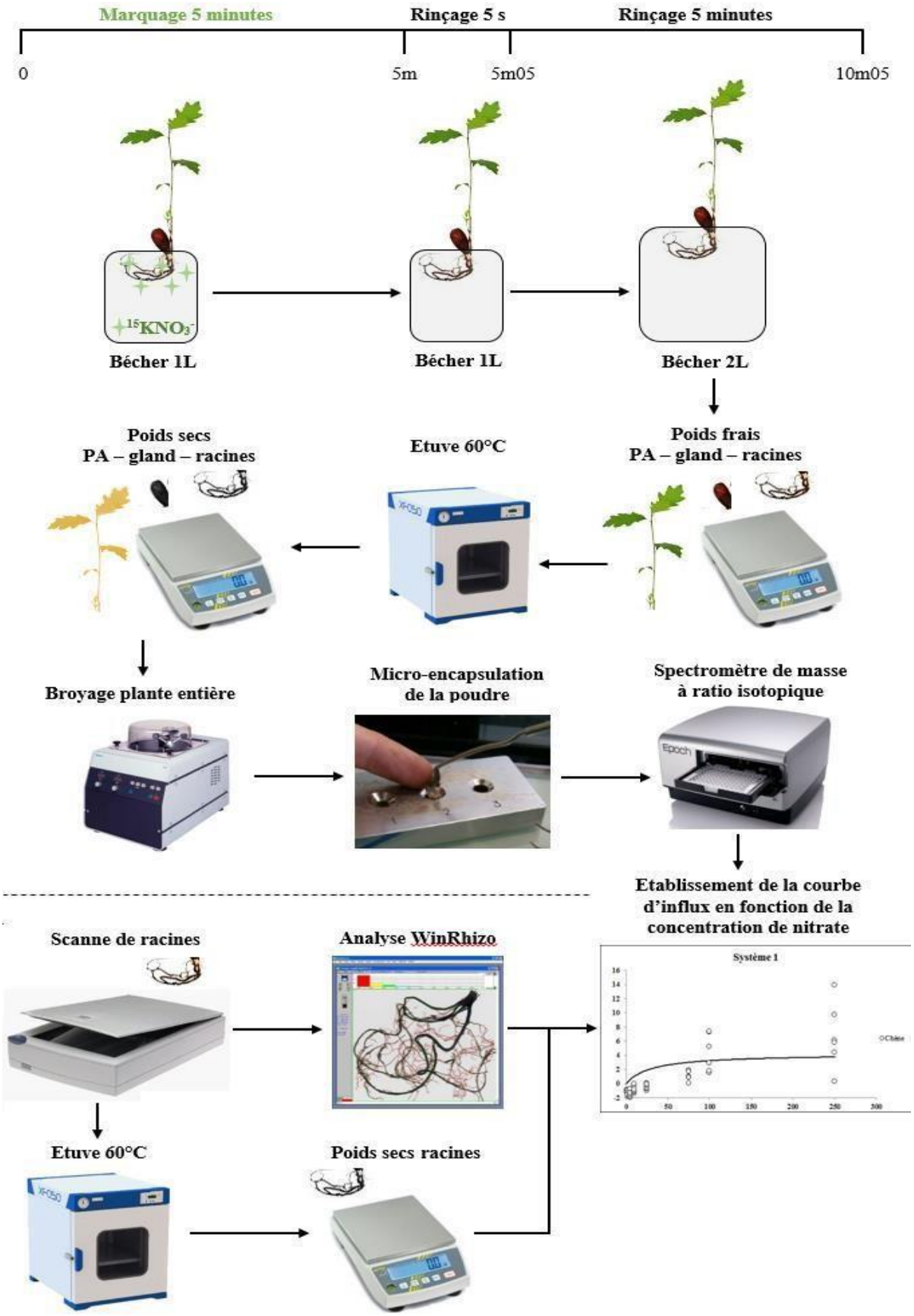
Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A., 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends in Plant Science 9, 244–

252. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.03.006

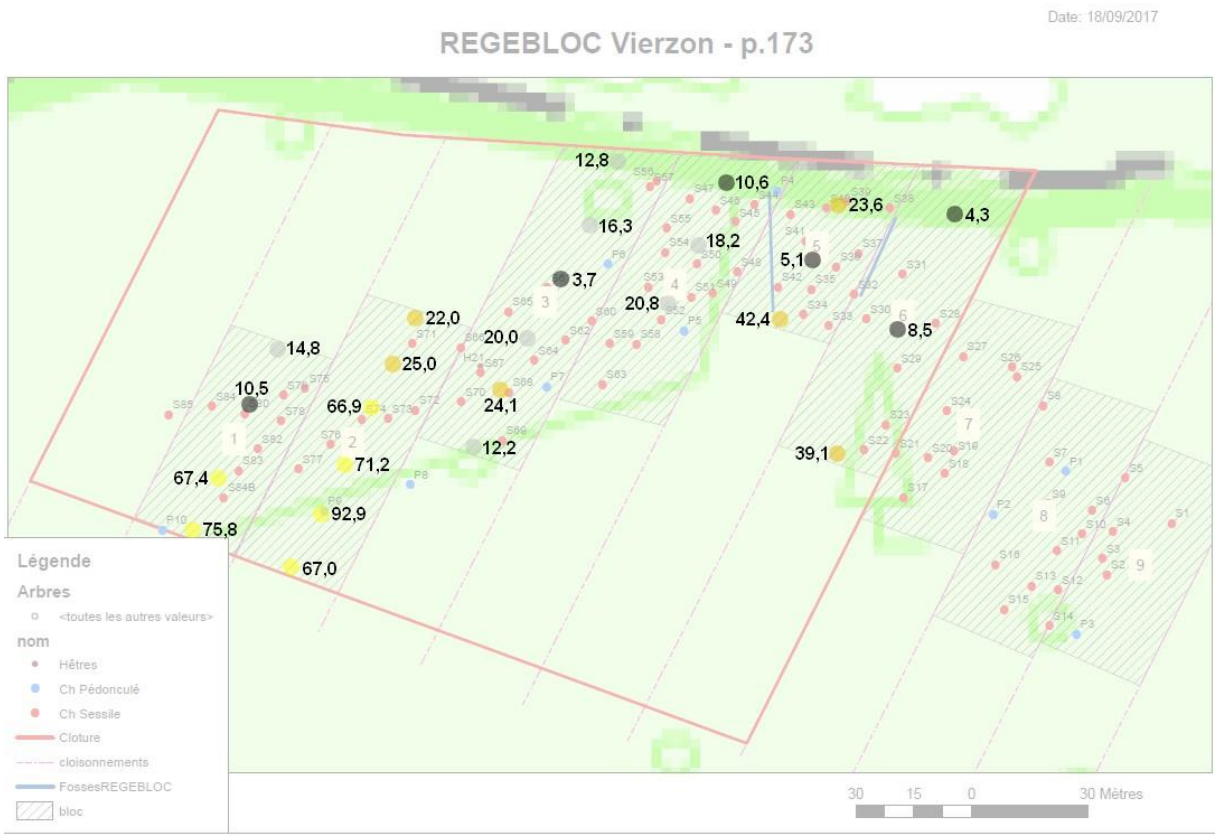
Zangaro, W., Alves, R.A., Lescano, L.E., Ansanelo, A.P., and Nogueira, M.A. 2012. Investment in Fine Roots and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Decrease During Succession in Three Brazilian Ecosystems. Biotropica **44**(2): 141–150. doi:10.1111/j.1744-7429.2011.00781.x.

Annexe

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



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



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

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