



HAL
open science

Diversité fonctionnelle des graminées prairiales: conséquences pour la productivité et pour la valeur nutritive

Laise da Silveira Pontes

► **To cite this version:**

Laise da Silveira Pontes. Diversité fonctionnelle des graminées prairiales: conséquences pour la productivité et pour la valeur nutritive. Ecologie, Environnement. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2006. Français. <NNT : >. <tel-00124076>

HAL Id: tel-00124076

<https://theses.hal.science/tel-00124076v1>

Submitted on 12 Jan 2007

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

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



HAL Authorization

N° D.U. : 1676

UNIVERSITE BLAISE PASCAL – CLERMONT-FERRAND II

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
N° 444

Thèse

présentée par

Laise da Silveira Pontes

pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : ECOLOGIE

Diversité fonctionnelle des graminées prairiales : conséquences pour la productivité et pour la valeur nutritive

Soutenue publiquement le 27 septembre 2006 devant le jury

M. Jean-Louis JULIEN	Président
Mme Anne BONIS	Rapporteur
M. Paulo César de FACCIO CARVALHO	Rapporteur
M. Sylvain PLANTUREUX	Rapporteur
M. René BAUMONT	Examineur
M. Jean-François SOUSSANA	Directeur de Thèse

Co-encadrement : Pascal CARRERE et Frédérique LOUAULT

Laboratoire d'accueil : INRA - Unité d'Agronomie (UR874) de Clermont-Ferrand –
Equipe Fonctionnement et Gestion de l'Ecosystème Prairial - 234 Av. du Brézet – 63100
Clermont-Ferrand.

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail, je tiens à remercier l'INRA et les départements EA puis EFPA de m'avoir donné les moyens de réaliser cette thèse.

Je tiens notamment à remercier Jean-François Soussana pour m'avoir accueillie dans son équipe, pour avoir dirigé cette thèse et pour son engagement dans son rôle de guide pour mon cheminement scientifique et personnel.

Je tiens à exprimer également toute ma gratitude à Pascal Carrère (mon « père français ») pour ses conseils précieux, son soutien et sa disponibilité pendant toute la durée de ma thèse. Merci pour sa grande patience et pour les heures passées à régler les aspects administratifs, les inscriptions, les nombreux allers-retours à la préfecture..., si difficiles à gérer.

Je souhaite également remercier Frederique Louault pour son dévouement, professionnalisme et pour avoir toujours eu une grande disposition pour discuter mes doutes (depuis mon master au Brésil). Merci pour votre amitié !

Je remercie également Donato Andueza pour ses remarques toujours constructives et pour m'avoir aidée à analyser mes innombrables échantillons au NIRS. Merci à tous ceux de l'équipe URH-RAPA, Michel, Jocelyne, Madeleine, Jacqueline et Fabienne, pour avoir toujours trouvé les moyens de me rendre le labo disponible, pour leurs conseils pendant la réalisation de mes analyses chimiques et, particulièrement, pour leur accueil amical dans leur équipe.

Merci aux membres du Jury, Jean-Louis Julien, Sylvain Plantureux, Anne Bonis, Paulo Carvalho et René Baumont, d'avoir accepté de juger ce travail malgré leur emploi du temps chargé.

Merci à Paulo Carvalho pour m'avoir accordé sa confiance et pour son soutien, même à distance.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à tous les personnels de l'INRA pour leur dévouement à cette expérimentation. Merci à l'équipe du domaine de l'ASP pour l'entretien courant du dispositif, et un merci spécial à Sylvie, Bernard Pons et Bernard Bonnemoy, sans lesquels ce travail de thèse n'aurait pas pu se réaliser, ainsi qu'à tous les membres de l'équipe qui ont donné des coups de main ponctuels. Merci à Catherine Picon-Cochard, Michel Lafarge, Michel Martignac, Pierre Loiseau, Pierre Martre, Yvonick, Denise, Huguette, Daniel,

Jean-Marie, Denis, Vincent A. et Juliette pour les nombreux conseils, aides,... et à Sébastien, toujours avec un très bon humour !

Je tiens aussi à remercier Christine Girousse qui m'a beaucoup aidée pour la réalisation des analyses statistiques de mes données.

Merci spécial à ma grande copine Katja pour m'avoir supportée et avoir partagé le bureau avec moi, pour son soutien, son amitié sincère et sa compagnie constante. Merci pour tout (la liste est longue ...) !!!

Mes amis, Bruno, Vincent M. et Pilar, merci de votre soutien (même pour la coupe du monde), pour l'excellente compagnie particulièrement pendant la « dernière ligne droite » et pour les moments de bonheur passés avec vous !!!

Je voudrais aussi remercier les très nombreux stagiaires : Aurélie, Remy, Paul Fabre, Simon, Damien et, spécialement ma copine Elisabetta, et aussi les amis brésiliens (Pedro Trindade et Zélia) qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio, dedicação, pelas caras ligações telefônicas e pela força que me deram para eu continuar meu trabalho.

Ao Pedro, sempre me apoiando e escutando com a maior paciência minhas intermináveis histórias sobre a tese.

Enfin, merci (obrigada) à tous!

RESUME

L'objectif de cette étude a été d'évaluer la productivité et la valeur nutritive de 13 espèces de graminées natives, issues de prairies permanentes de fertilité moyenne, et de comprendre les bases fonctionnelles de ces processus grâce à la mesure de traits fonctionnels aériens. Ces espèces ont été cultivées en culture pure dans un dispositif factoriel complet, croisant deux facteurs de gestion : la fréquence de coupe (3 ou 6 coupes par an) et le niveau de fertilisation azotée (120 et 360 kg N ha⁻¹ an⁻¹). Nous montrons que des syndromes distincts de traits d'effet déterminent la productivité et la valeur nutritive. Les différences de nutrition azotée (indice de nutrition et efficacité d'utilisation de l'azote) entre espèces affectent la productivité aérienne. Deux traits (teneur en azote et teneur en matière sèche des limbes) se démarquent comme indicateurs de la productivité et de la valeur nutritive des espèces étudiées. Celles-ci ont été classées en quatre groupes selon la valeur de leurs traits. Une augmentation de la fréquence de coupe a modifié des traits foliaires entraînant une baisse de digestibilité des limbes, ce qui a été interprété comme une stratégie d'évitement du pâturage. Une réduction de l'apport d'azote a entraîné une augmentation de la teneur en matière sèche et de la durée de vie des feuilles, ce qui a été interprété comme une stratégie de conservation des nutriments. Les espèces issues d'habitats plus perturbés présentaient des valeurs de traits qui tendaient à réduire leur digestibilité. Nos résultats soulignent la diversité fonctionnelle élevée des graminées prairiales, diversité qui contribue à la coexistence de ces espèces dans la prairie permanente et favorise la stabilité de la production et de la valeur nutritive dans cet écosystème.

Mots clés : prairie, graminée, traits fonctionnels, azote, digestibilité, production primaire, matières azotées, écologie fonctionnelle, stratégies écologiques, valeur nutritive.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the productivity and nutritive value of 13 co-occurring native grass species, sampled in semi-natural upland grasslands, and to gain functional understanding of these processes by studying above-ground plant functional traits. A fully factorial field experiment crossing the cutting frequency (3 and 6 cuts per year), the N supply (120 and 360 kg N ha⁻¹ yr⁻¹) and the plant species factors with three replicate blocks allowed to compare in monocultures the native grasses and a control cultivar of *Lolium perenne*. A total of 21 above-ground traits concerning morphology, phenology and chemical composition were studied during two years as well as the above-ground primary productivity and the pepsin cellulase dry matter digestibility and crude protein content. We show that distinct syndromes of traits affect the above-ground net primary productivity and the nutritive value of the grass species. Differences in N nutrition (N nutrition index and nitrogen use efficiency) among species are shown to affect the above-ground productivity. The leaf N and dry-matter contents are good indicators of the productivity and nutritive value of the grasses, which have been classified in four groups according to their trait values. An increase in cutting frequency triggered changes in leaf traits which reduced leaf lamina digestibility, which was interpreted as a grazing avoidance strategy. A deprivation of N induced increases in leaf dry-matter content and in leaf lifespan, which was interpreted as a nutrient conservation strategy. Species from more disturbed habitats displayed a set of leaf traits which tended to reduce their digestibility. Our results underline the large functional diversity of co-occurring pasture grasses and it is concluded that this diversity is likely to enhance the stability of productivity and nutritive value in semi-natural grassland communities.

Keywords: grassland, plant functional traits, primary productivity, digestibility, crude proteins, grass, nitrogen, nutritive value, functional ecology.

SOMMAIRE

Remerciements	ii
Résumé	iv
Abstract	v
Sommaire	vi
Liste des Tableaux	viii
Liste des Figures	x
Liste des Annexes	xi
Liste des Abréviations	xii
Introduction Générale	1
Chapitre 1 : Etat de l'art	5
1.1- Dynamique des communautés végétales en prairie	5
1.1.1- Les stratégies fonctionnelles.....	7
1.1.2- Les stratégies C-S-R de Grime et LHS de Westoby.....	8
1.1.3- Les relations entre traits liés au concept de stratégie.....	9
1.1.4- Les traits de réponse et d'effet.....	11
1.1.5- Les traits de réponse	12
1.1.6- Les traits d'effet.....	14
1.1.7- Les types fonctionnels	15
1.2- La valeur agronomique	16
1.2.1- La production.....	17
1.2.2- La valeur alimentaire	19
Chapitre 2 : Objectifs, hypothèses et démarche	24
2.1- Objectifs.....	24
2.2- Démarche et choix méthodologiques	25
2.3- Contenu et plan du manuscrit de thèse	29
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes	32
3.1- Caractérisation générale du dispositif expérimental.....	32
3.1.1- Caractéristiques du site.....	32
3.1.2- Choix des espèces étudiées.....	32
3.1.3- Dispositif expérimental.....	34
3.1.4- Mise en place et entretien du dispositif expérimental	34
3.2- Traitements expérimentaux	35
3.2.1- Modalités d'application des régimes de fauche.....	35
3.2.2- Modalités d'application des traitements azotés	36
3.3- Entretien du dispositif expérimental.....	36
3.4- Mesures.....	37
3.4.1- Départ en végétation	37
3.4.2- Interception du rayonnement	37
3.4.3- Production de matière sèche	37
3.4.4- Indices de nutrition en Azote (INN), Phosphore (INP) et Potassium (INK).....	38
3.4.5- Mesures des traits foliaires et des traits de la plante entière.....	39

3.4.6- Composition morphologique	43
3.4.7- Valeur Nutritive	44
3.5- Analyses statistiques.....	48
Chapitre 4 : Seasonal productivity and nutritive value of native temperate grasses. Responses to cutting frequency and N supply.....	49
Chapitre 5 : Leaf traits affect the productivity and nutritive value of co-occurring temperate pasture grasses	68
Chapitre 6 : The role of plant traits for productivity, nutritive value and responses to nutrients and disturbance. A study with 13 temperate natives pasture grasses grown in monocultures	85
Chapitre 7 : Synthèse et Perspectives.....	106
7.1- Performances des graminées prairiales étudiées	106
7.2- Traits d'effet sur les performances	112
Traits d'effet pour la productivité aérienne	113
7.3- Interpréter les relations entre les traits comme des stratégies fonctionnelles.....	119
7.4- Perspectives	125
Bibliographie	129
Annexes	150

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1. Concepts de base pour raisonner l'évolution des trois stratégies des plantes d'après Grime *et al.* (1988).

Tableau 3-1. Caractéristiques des sites de récolte des graines des espèces du dispositif expérimental (collection).

Tableau 3-2. Pourcentage de germination en test et densité de semences et des espèces de poacées semées en collection à Theix (Massif-Central, France).

Tableau 3-3. Espèces de Poacées étudiées en collection à Theix, nom commun français, abréviation, indice d'exigence en nutriments d'Ellenberg *et al.* (1992) (N_E) et classification selon les stratégies proposées par Grime *et al.* (1988).

Tableau 3-4. Fertilisation azotée. Apports par traitement.

Tableau 3-5. Liste des traits mesurés, calculés ou estimés.

Tableau 3-6. Indicateurs statistiques du modèle de calibration et critères de validation du modèle.

Table 4-1. Analyses of variance for above-ground dry matter yield, crude protein and pepsin-cellulase dry matter digestibility for 13 native grasses in 2003 and 2004.

Table 4-2. Seasonal means of thermal time at cutting date, above-ground dry matter yield, crude protein content and pepsin-cellulase dry matter digestibility.

Table 4-3. Seasonal means for above-ground dry matter yield, crude protein content and pepsin-cellulase dry matter digestibility by cutting frequency.

Table 4-4. Thermal time at beginning of flowering and seasonal mean of above-ground dry matter yield, crude protein content and pepsin-cellulase dry matter digestibility for 13 native grasses and *L. perenne* cv. Clerpin.

Table 5-1. Statistical significance of F ratios in ANOVA's for leaf traits, productivity, nutritive value and N nutrition index of the grass populations.

Table 5-2. Mean leaf dry matter content, leaf lamina N content and specific leaf area per species.

Table 5-3. Mean annual above-ground net primary productivity, crude protein content and pepsin-cellulase dry matter digestibility per species.

Table 5-4. Allometric relationships between means per plant species of leaf traits.

Table 5-5. Analyses of covariance between means per species of leaf traits and of productivity and forage quality variables.

Table 5-6. Analyses of covariance between means per species of leaf traits and of productivity and forage quality variables in each of four treatments.

Table 5-7. Analyses of covariance between the relative response of leaf traits and of productivity and forage quality variables to N supply and cutting frequency factors.

Table 5-8. Comparisons of species ranking for leaf traits, productivity and nutritive value variables among N supply and cutting frequency treatments.

Table 5-9. Multiple regressions between above-ground dry matter productivity and leaf traits with the N nutrition index (NNI) as a predictor variable.

Table 6-1. List of traits and their codes and units.

Table 6-2. Nutrient requirements and tolerance to disturbance of the 13 grass species.

Table 6-3. ANOVA's for traits, radiation interception and above-ground radiation use efficiency.

Table 6-4. Mean traits, radiation interception and above ground radiation use efficiency per plant population.

Table 6-5. Comparisons of species ranking for traits among N supply and cutting frequency treatments.

Table 6-6. Comparisons of species ranking between traits and the ecological characterization of species with respect to nutrient requirements and tolerance to disturbance.

Table 6-7. Analyses of covariance between leaf traits, radiation interception, above-ground radiation use efficiency, Nitrogen nutrition index, above-ground net primary productivity, crude protein content and dry matter digestibility.

Tableau 7-1. Date des stades de développement phénologique pour les trois groupes d'espèces.

Tableau 7-2. Effet des traitements, fréquence de coupe et fertilisation azotée sur la composition morphologique de la biomasse récoltée.

Tableau 7-3. Synthèse des relations entre : (i) indices écologiques et traits de réponse (n=13); (ii) processus et traits d'effet (n=39).

Tableau 7-4. Valeur moyenne, minimum et maximum de la surface foliaire spécifique ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) pour des espèces de graminées étudiées : (a) dans la collection de Theix, (b) par Al Haj Khaled *et al.* (2005) en collection, (c) en communauté sur prairies permanente et, (d) en culture pure en milieu contrôlé.

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1. Hypothèse sur des mécanismes liés à la biodiversité et leurs effets sur le fonctionnement des écosystèmes.

Figure 1-2. Stabilité du classement des espèces : cas théorique basé sur deux espèces croissant dans deux environnements différents.

Figure 1-3. Valeur alimentaire des aliments.

Figure 1-4. Constituants de la matière sèche des aliments et de leur fractionnement par la méthode d'analyse classique.

Figure 3-1. Pluviométrie et température moyennes sur 17 ans (1986 à 2002).

Figure 3-2. Photographie des parcelles de Poacées de la collection à Theix et schéma d'une parcelle.

Figure 3-3. Contenu volumétrique en eau du sol (TDR) dans les parcelles de l'expérimentation à Theix pour 2003 et 2004.

Figure 3-4. Type de multiplication végétative (croissance clonale).

Figure 3-5. Système optique d'un spectrophotomètre de réflectance infra-rouge

Figure 3-6. Appareil pour la détermination des constituants pariétaux (Fibersac).

Figure 4-1. Two-dimensional biplots (Principal Components Analysis) based on the above-ground dry matter yield, crude protein and pepsin-cellulase dry matter digestibility.

Figure 4-2. Annual dry matter yield at each cutting frequency and N supply levels for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin.

Figure 4-3. Seasonal digestible dry matter yield for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin.

Figure 4-4. Seasonal crude protein yield for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin.

Figure 5-1. Nitrogen Nutrition Index and Nitrogen balance for the thirteen grasses studied.

Figure 5-2. Box-and-Whisker plot of the responses to the N supply and cutting frequency factors of three leaf traits and of above-ground DM productivity, DM digestibility and crude protein content.

Figure 5-3. Relationships between the ratio of sheath to leaf lamina length and the leaf lamina N content (a) and the specific leaf area (b).

Figure 6-1. First two components of a PCA with 16 traits and 13 native grass species.

Figure 6-2. Box-and-Whisker plots of the responses to the N supply and cutting frequency factors of leaf traits.

Figure 6-3. Canonical Correlations Analysis (CCA) ; ordination of traits, above-ground net primary productivity and pepsin-cellulase dry matter digestibility and species.

Figure 7-1. Production (DMY) et digestibilité (PCDMD) de la matière sèche de 13 espèces de graminées natives et du cultivar de *Lolium perenne* (cv. Clerpin).

Figure 7-2. Production (DMY) et matière azotée totale (CP) de la matière sèche de 13 espèces de graminées natives et du cultivar de *Lolium perenne* (cv. Clerpin).

Figure 7.3. Digestibilité et matière azotée totale à chaque stade phénologique et pour chaque espèce dans chaque groupe de précocité.

Figure 7-4. Schéma résumant les principaux processus pour C et N qui sont affectés par des traits aériens et souterrains chez un peuplement de graminées.

LISTE DES ANNEXES

Annexe 3-1. Précipitations et températures mensuelles moyennes enregistrées à la station météorologique de Theix (Massif-Central, France, altitude 890 m) pour les années de l'expérimentation.

Annexe 3-2. Schéma du dispositif expérimental "Collection".

Annexe 3-3. Planning de coupe sur les traitement C+ et C- au cours des quatre années d'expérimentation.

Appendix 4-1. Neutral detergent fiber and acid detergent fiber.

Appendix 4-2. Effects of cutting regime and nitrogen supply on crude protein content (g kg^{-1}).

Appendix 4-3. Effects of cutting regime and nitrogen supply on pepsin-cellulase dry matter digestibility (g kg^{-1}).

Appendix 6-1. Analyses of covariance between means per species of traits and of productivity and forage quality variables in each of four treatments.

Appendix 6-2. Comparisons of species ranking (Sperman's rank correlation) for traits among seasons

Appendix 6-3. Analyses of covariance between traits and stubble mass.

Annexe 7-1. Digestibilité à chaque stade de développement phénologique pour chacune des espèces.

Annexe 7-2. Matière azotée totale (moyenne et *s.e.* ; g kg^{-1}) à chaque stade de développement phénologique pour chacune des espèces.

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Signification (unités)
ANPP/DMY	Productivité primaire aérienne nette/Production de matière sèche ($\text{g m}^{-2} \text{an}^{-1}$)
CP/MAT	Teneur en protéines brutes/Matières azotées totales (g kg^{-1})
PCDMD	Digestibilité pepsine-cellulase de la matière sèche (g kg^{-1})
PCOMD	Digestibilité pepsine-cellulase de la matière organique (g kg^{-1})
DDMY	Production de matière sèche digestible ($\text{g m}^{-2} \text{an}^{-1}$)
CPY	Production de matières azotées totales ($\text{g m}^{-2} \text{an}^{-1}$)
NNI	Indice de Nutrition Azotée
NU	Taux d'absorption d'azote par unité de masse ($\text{g N g}^{-1} \text{MS j}^{-1}$)
NUE	Efficacité d'utilisation de l'azote ($\text{g MS g}^{-1} \text{N}$)
Nc	Teneur en azote critique ($\text{g N g}^{-1} \text{MS}$)
RI	Interception du rayonnement
ARUE	Efficacité aérienne d'utilisation du rayonnement (g mol^{-1})
RGR	Vitesse de croissance potentielle ($\text{g g}^{-1} \text{jour}^{-1}$)
NAR	Taux d'assimilation nette ($\text{g cm}^{-2} \text{jour}^{-1}$)
LAR	Ratio de surface foliaire ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)
LWR	Fraction de limbes dans la masse de la plante (g g^{-1})
N_E	Indice d'exigence en nutriments (d'après Ellenberg <i>et al.</i> , 1992)
S	Indice de stress-tolérance (d'après Grime <i>et al.</i> , 1988)
M	Indice de tolérance à la perturbation (d'après Briemle, 1997)
R	Indice de rudéralité (d'après Grime <i>et al.</i> , 1988)
TDR	Eau du sol (%)
SPIR/NIRS	Spectrométrie dans le proche infrarouge
LL	Longueur du limbe (mm)
LA	Surface du limbe (cm^2)
LDM	Masse sèche du limbe (mg)
SLA	Surface spécifique du limbe ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)
LDMC	Teneur en matière sèche à saturation en eau du limbe (mg g^{-1})
PH	Phyllochrone ($^\circ\text{jour}$)
LLS	Durée de vie des feuilles ($^\circ\text{jour}$)
LNC	Teneur en azote du limbe (mg g^{-1})
NG	Nombre de feuilles en croissance (talle^{-1})
NM	Nombre de feuilles matures vertes (talle^{-1})
SL	Longueur de la gaine (mm)
VE	Hauteur étirée de la talle végétative (mm)
ME	Hauteur étirée de la talle reproductrice (cm)
NDF	Fibres détergent neutre (g kg^{-1})
ADF	Fibres détergent acide (g kg^{-1})
C1	Contenu cellulaire soluble (g kg^{-1})
C2	Contenu en hémicellulose (g kg^{-1})
C3	Contenu en cellulose et lignine (g kg^{-1})
TD	Densité totale de talles (talles m^{-2})
SM	Masse d'une graine (mg)
BF	Stade début épiaison
EG	Démarrage végétatif
CG	Croissance clonale

INTRODUCTION GENERALE

Jusqu'à récemment, l'objectif principal de la majorité des exploitations agricoles était d'atteindre le potentiel de production permis par le milieu, ce qui impliquait l'intensification et la spécialisation des systèmes de production. Dans beaucoup de situations, les progrès technologiques réalisés en agriculture depuis cinquante ans ont permis d'atteindre ce potentiel, et même d'en repousser les limites. Mais conjointement, le coût économique et environnemental toujours plus élevé de ce modèle productiviste l'empêche d'être durable sur le long terme (Nösberger & Staszewski, 2002 ; Lemaire *et al.*, 2005). Ainsi, dans un contexte cherchant à intégrer la limitation des préjudices environnementaux et la sécurité alimentaire comme des éléments incontournables de la performance du système, les enjeux se sont déplacés vers une agriculture plus multifonctionnelle (Hervieu, 2002). L'objectif devient donc de concilier productivité, qualité et traçabilité des produits, mais également préservation de l'environnement et de la biodiversité et d'assurer la viabilité socio-économique des systèmes. Par exemple, la volonté de maîtriser les pollutions, telle que traduite dans la directive nitrate (91/676/EEC), implique une réelle intégration des objectifs environnementaux dans les pratiques agricoles (Marriott *et al.*, 2004).

Ces évolutions récentes, qui peuvent s'expliquer par des préoccupations citoyennes en matière d'environnement de plus en plus fortes, sont également liées à un contexte socio-économique caractérisé par une saturation des marchés agricoles et une baisse du cours des produits. Une des conséquences a été un recentrage de l'activité agricole sur les meilleures surfaces (intensification locale) avec une sous utilisation, voire un abandon, des surfaces les plus contraignantes (non mécanisables, éloignées, peu fertiles, etc.), que ce soit suite à une réorganisation du système de culture ou à un arrêt des activités. Concernant les surfaces herbagères, des stratégies alternatives, comme l'extensification des systèmes, qui vise à concilier l'entretien de l'espace et l'alimentation des troupeaux dans les territoires ruraux, constituent des pistes complémentaires autorisant une exploitation plus durable. Cette démarche cherche à intégrer la dimension multifonctionnelle des prairies, en prenant en compte leurs fonctions de production mais également leurs fonctions environnementales (Béranger, 1992).

Face à ces nouveaux enjeux, l'intérêt pour les prairies permanentes s'est renforcé depuis une quinzaine d'années. Cela tient aussi bien au rôle économique de cet écosystème (impact sur la qualité des produits alimentaires, maîtrise des coûts de production) qu'à ses

propriétés environnementales et écologiques (maîtrise des pollutions azotées ou phosphatées, diversité végétale et animale, valorisation de l'espace rural) (Soussana *et al.*, 2004). Les surfaces toujours en herbe représentent près de 80% des surfaces prairiales en France. Elles conservent un rôle primordial dans les systèmes fourragers des élevages d'herbivores, particulièrement dans les zones de moyenne montagne. A titre d'exemple, en Auvergne, les 953 000 hectares de surfaces toujours en herbe correspondent à 63% de la surface agricole utile (Source : AGRESTE Cahier n° 3-4, décembre 2001, recensement agricole 2000). De plus, les prairies permanentes (surface en herbe depuis plus de cinq ans) présentent une plus forte diversité végétale que les prairies de courte durée¹, ce qui laisse envisager une utilisation plus durable de ces surfaces, dans une large gamme de conduites et en fonction d'objectifs de mise en valeur variés (Duru *et al.*, 1998).

Afin d'utiliser au mieux les potentialités économiques et écologiques de ces écosystèmes, il est nécessaire de comprendre leur fonctionnement, pour mettre au point des outils de gestion conciliant alimentation des troupeaux, gestion de l'espace, maintien de la biodiversité et limitation des pollutions. Dans un contexte régional donné, la composition botanique de la prairie permanente sur un site donné (e.g. parcelle, station homogène) mais également ses états et performances résultent, à un instant donné, d'interactions complexes entre les facteurs du milieu (climat, sol, topographie) et les facteurs de gestion (fauche, pâturage, mode de fertilisation organique ou minérale) présents ou antérieurs (Louault *et al.*, 2002). Ainsi, un changement des pratiques via une modification des modalités de mise en oeuvre de l'exploitation des parcelles aura une influence sur la composition botanique des prairies mais également sur ses performances (Buxton & Fales, 1994). Ces changements floristiques concernent d'abord des variations d'abondance entre espèces végétales, avant d'affecter le recrutement de nouvelles espèces ou la disparition des espèces anciennes si elles sont peu adaptées à la nouvelle gestion (Loiseau *et al.*, 1998). L'étude de ces communautés par la seule approche taxonomique, qui consiste à identifier les espèces végétales et à quantifier leur fréquence et leur abondance, n'est donc plus suffisante dès lors que l'on cherche à comprendre les bases fonctionnelles de ces changements et à identifier les mécanismes pour prédire les évolutions (Woodward & Kelly, 1997 ; Westoby, 1998). Cela est d'autant plus vrai si on s'intéresse aux réponses des espèces aux contraintes environnementales (qui intègrent les facteurs de gestion) ou en retour aux effets de ces

¹ Nous entendons ici par prairie de courte durée, des surfaces cultivées en prairie pendant moins de cinq ans. Cela inclue les prairies temporaires mono spécifiques (graminées), les associations (graminées-légumineuses) ou les mélanges simples (4-8 graminées et 1-2 légumineuses).

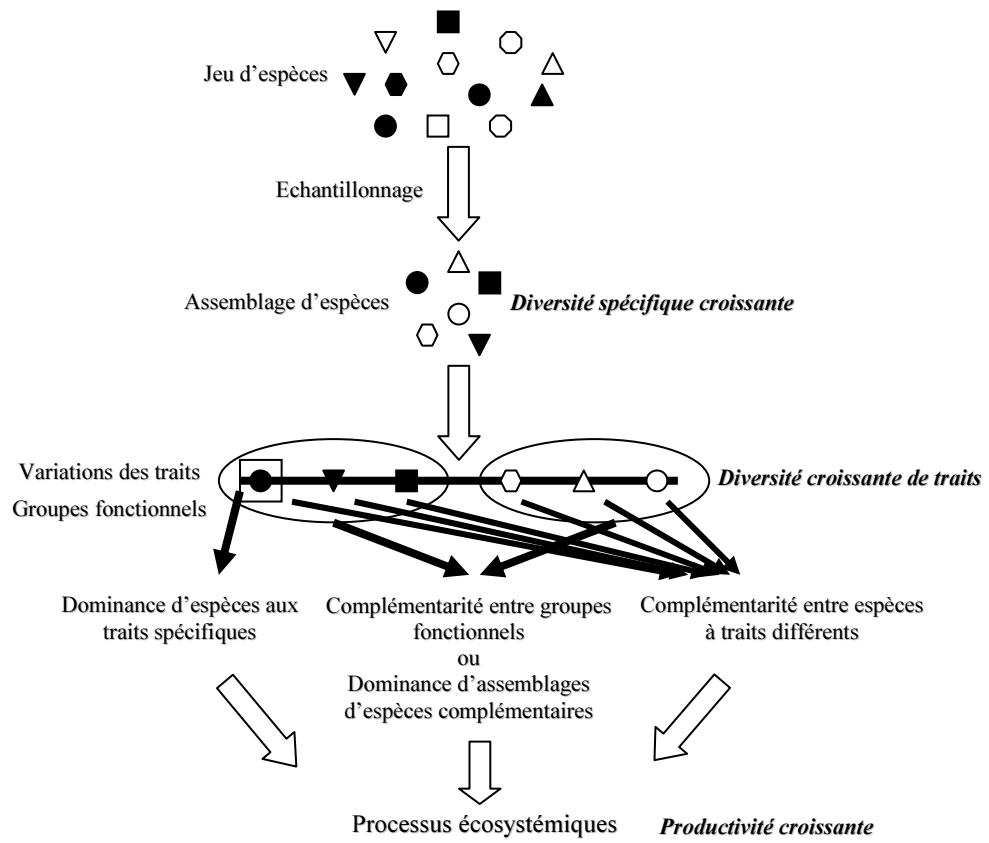


Figure 1-1. Hypothèses sur des mécanismes liés à la biodiversité et leurs effets sur le fonctionnement des écosystèmes (d'après Loreau *et al.*, 2001).

espèces sur les propriétés de l'écosystème (Diaz & Cabido, 2001). Une approche fonctionnelle des systèmes biologiques a été développée pour tenter de réduire la grande complexité de ces systèmes de façon à les rendre plus facilement descriptibles et éventuellement prédictibles (Smith *et al.*, 1997). Cette approche fait l'hypothèse qu'une espèce peut être caractérisée par des traits qui reflètent leurs effets sur les propriétés de l'écosystème ou leurs réponses aux changements environnementaux (Gitay & Noble, 1997 ; Lavorel & Garnier, 2002). Vile (2005) définit les traits comme l'ensemble des caractéristiques, qualitative ou quantitative, mesurables sur un individu (de la cellule à l'organisme).

Grime (1998) estime que, le fonctionnement de l'écosystème peut être approché à partir des seules caractéristiques des espèces dominantes de la communauté. Ces espèces, parce qu'elles représentent la plus grande quantité de matière et d'énergie, auraient le plus grand effet sur la structure et le fonctionnement de l'écosystème (Cruz *et al.*, 2002). Cependant, les relations entre la richesse spécifique et la diversité fonctionnelle² et ses effets sur les propriétés d'écosystèmes restent controversées (Diaz & Cabido, 2001).

Les effets de changements de la richesse spécifique sur les propriétés des écosystèmes, comme la productivité primaire, ont été et restent amplement discutés (Aarssen, 1997 ; Rusch & Oesterheld, 1997 ; Loreau *et al.*, 2001). Des résultats variables ont été observés sur l'effet d'un accroissement du nombre d'espèces sur la production du système (Aarssen, 1997) ; Rusch & Oesterheld, 1997). Des études suggèrent que la seule richesse spécifique constitue un faible prédicteur de la production même si des phénomènes de complémentarité entre espèces peuvent être mis en évidence (Hector & Loreau, 2001). L'importance de l'identité des espèces, qui sont éliminées ou ajoutées, dans la communauté doit être prise en compte dans les relations entre productivité et richesse spécifique. Pour intégrer ces éléments à la réflexion, les notions de richesse fonctionnelle (nombre de différents types fonctionnels) et de composition fonctionnelle (présence de certains types fonctionnels) ont été proposées (Diaz & Cabido, 2001).

Plusieurs études (voir synthèse de Loreau *et al.*, 2001) suggèrent que la richesse spécifique est un élément essentiel de la stabilité des écosystèmes en conditions de changements environnementaux. Il est avancé que cette stabilité résulterait du fait que les communautés avec un grand nombre d'espèces auraient une plus forte probabilité d'avoir une plus grande diversité phénotypique des traits (Figure 1-1). Cette diversité des traits peut

² Les valeurs et l'amplitude des traits fonctionnels des organismes présents dans un écosystème donné (Diaz & Cabido, 2001).

contribuer à une plus grande variété des stratégies des espèces adaptées à explorer différentes niches spatiales et/ou temporelles (Diaz & Cabido, 2001). Cela peut se réaliser soit au travers de la sélection d'espèces avec des traits particuliers (espèces dominantes), soit en lien avec la complémentarité³ d'espèces ou de groupes fonctionnels présentant des valeurs de traits différentes (Loreau *et al.*, 2001). Ces différentes stratégies peuvent être vues comme un mécanisme de stabilisation fonctionnel de la communauté dans un environnement variable (McNaughton, 1977). Un consensus semble émerger selon lequel la diversité fonctionnelle tout comme la complémentarité entre espèces avec différents traits constituent les deux mécanismes majeurs affectant le fonctionnement des écosystèmes (Figure 1-1, Loreau *et al.*, 2001).

Les études en prairies permanentes basées sur cette approche fonctionnelle vont donc largement s'appuyer sur l'analyse des traits des espèces, notamment des graminées (*Poaceae*) puisque ces dernières représentent la famille botanique dominante en prairie. Peeters (2004) suggère que cette famille domine les prairies car les graminées ont développé au cours de leur évolution des stratégies de coexistence avec les herbivores. En Europe, la sélection des espèces de graminées pour leur utilisation dans des systèmes d'élevage intensifs, basés sur des prairies temporaires très productives, a concerné 20 espèces parmi les 900 répertoriées, soit environ 2% (Peeters, 2004). Le principal travail de sélection s'est concentré par la suite sur 6 espèces fourragères : *Lolium perenne*, *L. multiflorum*, *Festuca pratensis*, *F. arundinacea*, *Phleum pratense* et *Dactylis glomerata*, soit seulement 0,7% de la flore européenne (Peeters, 2004). En conséquence, on peut considérer à juste titre que la très grande majorité des graminées natives de ces écosystèmes n'a pas reçu l'attention nécessaire pour évaluer les performances fourragères de ces espèces en terme de production ou de qualité. Une meilleure connaissance de la biologie, des performances et du fonctionnement des espèces prairiales représente donc un enjeu important, surtout dans un contexte où les mesures incitatives en agri-environnement prônent⁴ une plus grande utilisation de la biodiversité des milieux prairiaux.

C'est dans ce contexte que se situe notre travail, qui a pour principal objectif de fournir des éléments d'évaluation de la valeur agronomique (productivité et qualité) de graminées natives et de comprendre les bases fonctionnelles correspondantes.

³ Répartition spatiale ou temporelle des ressources (eau, nutriments, etc), entre des organismes qui coexistent dans un site donné (Diaz & Cabido, 2001).

⁴ Les recommandations visent essentiellement à développer des gestions favorables au maintien ou au développement d'un large cortège d'espèces.

CHAPITRE 1 : ETAT DE L'ART

1.1- Dynamique des communautés végétales en prairie

La dynamique de la végétation peut être définie comme un changement de la structure de la communauté. La structure d'une communauté est caractérisée par des attributs comme le nombre d'espèces (richesse spécifique), les types d'espèces présentes et leur abondance relative (diversité spécifique), les caractéristiques physiques de la végétation et les relations trophiques entre les populations interagissant dans cette communauté (Ricklefs & Miller, 2005). Chaque communauté est caractérisée, à un instant donné, par un certain nombre de descripteurs qui lui sont propres et qui concernent soit sa structure, soit son fonctionnement. Les flux d'énergie, les cycles biogéochimiques, la productivité et la valeur alimentaire, les propriétés de résilience aux perturbations, sont des exemples de descripteurs du fonctionnement des écosystèmes (Lavorel & Garnier, 2002 ; Loiseau *et al.*, 2002 ; Eviner & Chapin, 2003 ; Ricklefs & Miller, 2005).

La structure d'une communauté, à un instant donné, dépend des adaptations et des réponses des organismes à l'environnement, ainsi que des interactions entre organismes. La dynamique de la communauté sera déterminée en fonction de « filtres » sélectifs (compétition, facilitation, perturbation, disponibilité en ressources) qui limitent les espèces potentiellement capables de coexister, ainsi que leur abondance et leurs traits (Lavorel & Garnier, 2002).

Impacts des facteurs de gestion sur la structure de la végétation

Dans le cas des écosystèmes prairiaux, en dehors des facteurs environnementaux (i.e. climat et sol), les deux principaux facteurs (filtres) qui contrôlent la dynamique de végétation sont également ceux sur lesquels l'agriculteur peut intervenir : le mode d'exploitation (fauche et pâturage) et la fertilisation (Herben & Huber-Sannwald, 2002 ; Ansquer *et al.*, 2004). La gamme de variation possible de ces facteurs de gestion affectera la structure de la végétation et, en conséquence, les fonctions, qu'elles soient productives ou environnementales, auxquelles ces écosystèmes sont associés. Les facteurs de gestion créent une grande variabilité des caractéristiques structurales de la prairie (telles que l'investissement en organes pour la propagation horizontale, rhizomes et stolons, la densité des talles, l'état végétatif ou reproducteur des plantes) et imposent des limites à la hauteur du couvert (Grime *et al.*, 1988 ;

Herben & Huber-Sannwald, 2002). Cette limitation est imposée directement par la coupe ou le pâturage ou indirectement à travers la sélection d'espèces moins hautes (Herben & Huber-Sannwald, 2002).

La défoliation par le pâturage constitue une source d'hétérogénéité spatiale (Parsons *et al.*, 2000). Les choix des espèces par les herbivores, la distribution hétérogène des déjections et du piétinement (via les trajectoires de déplacement de l'animal) favorisent l'apparition d'une mosaïque (Marriott & Carrère, 1998), qui résulte de la coexistence de zones de végétation bien ou peu pâturées (Garcia *et al.*, 2002, 2003). La séparation spatiale des niches écologiques (Herben & Huber-Sannwald, 2002) contribue indirectement au maintien de la diversité.

Impacts des facteurs de gestion sur la biodiversité végétale

La préservation de la biodiversité est un compromis maintenant reconnu et soutenu dans le cadre de l'agriculture multifonctionnelle (Hervieu, 2002). La biodiversité des prairies dépend du niveau et du type de fertilisation, ainsi que du mode et de l'intensité d'utilisation des ressources (Mikhailova *et al.*, 2000 ; Cruz *et al.*, 2002). En général les niveaux élevés de fertilisation réduisent la richesse spécifique, ce qui est également le cas des exploitations trop intensives ou trop extensives de ces milieux (Grime, 1979 ; Loiseau *et al.*, 1998 ; Marriott *et al.*, 2004 ; Loiseau *et al.*, 2005). A titre d'exemple, Peco *et al.* (2006) ont observé une réduction de 60% de la richesse spécifique de la prairie après l'abandon du pâturage. Une gestion plus extensive a des effets moindres sur la dynamique végétale (Marriott *et al.*, 2004).

Plusieurs mécanismes sont proposés pour expliquer l'effet des perturbations sur la diversité en espèces. L'un d'entre eux est *l'hypothèse du niveau intermédiaire de perturbations* proposé par Connell (1978, cité par Ricklefs & Miller, 2005). Cette hypothèse met en relation une diversité élevée avec des valeurs intermédiaires d'un facteur donné ou d'une perturbation (exemple défoliation, sécheresse). Les perturbations, en diversifiant les habitats, ouvrent l'espace et créent des « fenêtres d'opportunités » (sensu Bissels *et al.*, sous press) à la colonisation. Cela initie un cycle de succession par les espèces adaptées à coloniser les endroits perturbés, via des mécanismes comme la dispersion de semences ou la germination d'espèces présentes dans la banque de graine (Collins *et al.*, 1995). Le compromis favorable entre la capacité de colonisation et les aptitudes compétitives des espèces contribue à créer une diversité plus élevée (Grime, 1979, cité par Carrère *et al.*, 2002) sous un régime modéré de perturbations.

En conclusion, les effets des facteurs de gestion sur la dynamique de la prairie permanente concernent, pour un pool d'espèces donné, d'abord des changements de la structure spatiale de la végétation, en modifiant les relations intra et interspécifiques. Puis, ses effets peuvent déterminer des variations d'abondance des espèces et l'élimination ou le recrutement de nouvelles espèces plus adaptées aux contraintes exercées par les conditions environnementales. L'étude des *stratégies fonctionnelles* constitue un important outil pour rendre compte de la dynamique des communautés (Loiseau *et al.*, 1998).

1.1.1- Les stratégies fonctionnelles

Les stratégies végétales ont surtout été définies vis à vis des facteurs de stress (*i.e.* aridité) ou d'acquisition des ressources (*i.e.* lumière ou nutriments). Le classement de stratégies de MacArthur (1967, cité par Grime *et al.*, 1988) se basait à la fois sur l'utilisation des ressources, et sur les capacités de reproduction, opposant les organismes de type *r* (généralistes gros consommateurs de ressource, à cycle de vie rapide et fort investissement reproductif) avec les organismes de type *K* (spécialistes, très efficaces dans l'utilisation des ressources, fort recyclage interne et faible investissement reproducteur). Plus récemment, d'autres modèles se sont basés sur la description des stratégies de réponses à la disponibilité en ressources ou au régime de perturbation subi par l'écosystème.

A titre d'exemple, nous pouvons citer les stratégies « rudérale, stress-tolérante et compétitive » de Grime *et al.* (1988) ou les stratégies « exploratrices et conservatives » de Bormann & Likens (1979, cité par Shugart, 1997). Selon Westoby (1998) le terme stratégie désigne la manière dont une espèce tire profit des conditions permises par les facteurs du milieu pour assurer le maintien de sa population (ensemble d'individus d'une même espèce). Les stratégies sont supposées avoir pour finalité la dissémination de traits bénéfiques dans les conditions actuelles du système. Grime (1979, cité par Grime *et al.*, 1988) définit les stratégies comme “un ensemble de caractères génétiques analogues ou similaires qui se retrouvent largement à travers la population ou entres espèces et qui les conduit à montrer des similitudes écologiques⁵”. Les modèles de stratégies, C-S-R de Grime et LHS de Westoby, sont présentés et discutés dans la suite de ce chapitre.

⁵ La citation littérale est “a grouping of similar or analogous genetic characteristics which recurs widely among species or populations and causes them to exhibit similarities in ecology” (Grime, 1979).

Tableau 1-1. Concepts de base pour raisonner l'évolution des trois stratégies des plantes (d'après Grime *et al.*, 1988).

Intensité de perturbation	Intensité de stress	
	Bas	Haut
Bas	Compétitrices	Stress-tolérantes
Haut	Rudérales	(stratégie non viable)

1.1.2- Les stratégies C-S-R de Grime et LHS de Westoby

Grime (1977) postule que la végétation développée dans un site déterminé est le résultat d'un équilibre entre les intensités de stress⁶ (limitant la production), de perturbation⁷ (dommage physique pour la végétation) et de compétition⁸, ce dernier processus étant défini comme l'effort fait entre voisins pour capturer la même unité de ressource (Grime *et al.*, 1988). Le croisement entre les intensités des facteurs externes, stress et perturbation (Tableau 1-1) permet de déterminer des stratégies primaires : compétitives (C), tolérantes aux stress (S) et rudérales (R). Par exemple, les habitats productifs et peu perturbés (qui sélectionnent les espèces compétitives) sont colonisés par des plantes pérennes avec une vitesse de croissance élevée qui génère une importante demande pour les ressources (eau et nutriments). Dans les habitats peu productifs et peu perturbés (qui sélectionnent les espèces tolérantes aux stress), les réponses adaptatives sont liées à la conservation des nutriments et à la protection contre l'ablation des tissus (l'herbivorie), de façon à conserver les nutriments capturés. Dans les conditions où la fréquence et l'intensité de la perturbation deviennent importantes, les espèces rudérales sont sélectionnées, car elles présentent une vitesse de croissance élevée et une reproduction précoce qui favorise la survie de la population. Ces stratégies correspondent aux extrêmes de spécialisation des plantes. En conditions intermédiaires, correspondant à des régimes particuliers de stress, de perturbation et de compétition, on peut mettre en évidence des stratégies mixtes, associant deux stratégies primaires ou plus, par exemple C/R, C/S, C/S/R, S/R.

Selon la théorie C-S-R, la combinaison d'un haut niveau de stress et de perturbation empêchera le développement d'espèces végétales. Cette dernière hypothèse a été particulièrement discutée (voir Westoby, 1998 ; Wilson & Lee, 2000). D'autres critiques adressées à cette théorie ont été discutées dans une synthèse récente de Craine (2005). Nous pouvons retenir notamment l'importance relative des perturbations et de la compétition dans des habitats peu productifs. Grime considère que la compétition et la perturbation ne sont pas des critères importants pour expliquer la dominance des espèces en conditions de contraintes fortes en nutriments. Toutefois, certains résultats indiquent que tant la compétition que la

⁶ Phénomènes abiotiques qui limitent la production photosynthétique, tels que l'insuffisance de lumière, l'eau et les nutriments minéraux, ou des températures non optimales.

⁷ La notion de perturbation est associée à la destruction partielle ou totale de la biomasse de la plante due aux activités d'êtres vivants (herbivores, pathogènes et humains, i.e. fauche), ou de phénomènes naturels (érosion du sol, incendies).

⁸ Utilisation ou défense d'une ressource par un individu qui en diminue la disponibilité pour les autres individus, soit de son espèce (compétition intraspécifique) soit d'une autre espèce (compétition interspécifique) (Ricklefs & Miller, 2005).

perturbation peuvent être des mécanismes d'élimination de certaines espèces végétales dans ces habitats (Craine, 2005).

Le schéma LHS (**L**eam, **H**eight, **S**eed) de Westoby est basé sur une représentation selon trois axes : la surface spécifique foliaire (L), la hauteur (H) et la masse des graines (S), reliées respectivement, à l'établissement, la persistance et à la capacité de dispersion. La surface spécifique foliaire reflète les réponses aux opportunités de croissance. La hauteur à maturité des plantes et la masse de graines reflètent deux aspects distincts de réponse à la perturbation (Westoby, 1999). La hauteur à maturité exprime la durée de la croissance entre les perturbations, alors que la masse des graines exprime la capacité des espèces à coloniser le milieu.

Les stratégies des espèces sont décrites par rapport à leur position dans le volume formé par ces trois axes. Par exemple, les espèces avec une surface spécifique foliaire élevée présentent des stratégies associées à un renouvellement rapide des feuilles à la repousse.

Du point de vue pratique, cette simplicité d'approche correspond à l'un des avantages du schéma LHS par rapport au triangle de Grime. En effet, dans le modèle théorique de Grime chacun des axes intègre un ensemble complexe de fonctions et donc de traits, alors que dans le cas du schéma LHS des mesures quantitatives simples permettent de positionner les espèces sur chacun des axes, et de déterminer ainsi leur position au regard de la théorie LHS.

1.1.3- Les relations entre traits liés au concept de stratégie

Une approche plus fonctionnelle, postule que des conditions environnementales données vont sélectionner les valeurs de caractères (traits) les plus corrélées aux fonctions vitales des espèces. Les traits ont été définis comme des caractéristiques mesurables sur les individus, de nature morphologique, physiologique ou de régénération (Gitay & Noble, 1997 ; Vile, 2005). Ainsi, Vile (2005) considèrent que l'environnement fait varier un réseau de traits connectés par des relations causales directes ou indirectes. Ces auteurs ont récemment montré dans des successions secondaires, qu'il est possible d'exprimer la notion de stratégie végétale sous une forme prédictive et testable en quantifiant ces relations entre traits.

Cette approche peut être réalisée à travers la quantification des covariations entre traits qui débouche sur l'observation d'axes de spécialisation de la plante (Westoby *et al.*, 2002) ou sur l'observation de syndromes de traits en fonction de contraintes environnementales (Vile, 2005) telles que la disponibilité en ressources ou le régime de perturbations. Les traits qui

déterminent les stratégies fonctionnelles constitueront des indicateurs potentiels pour le diagnostic des prairies (Cruz *et al.*, 2002).

Les covariations entre traits peuvent être le résultat : (i) de la réponse à un facteur environnemental, par exemple la disponibilité des ressources du milieu ; (ii) d'un compromis lié à des contraintes physiques⁹, par exemple, le nombre de graines émises par gramme de graine produite ne peut généralement pas être augmenté sans une réduction de la masse individuelle des graines (Westoby *et al.*, 2002) ; (iii) de la réponse à des caractères spécifiques des niches écologiques, par exemple : un habitat sélectionnant pour des individus de grande taille, donc avec de grandes tiges, tendra également à produire des graines plus grosses (Westoby *et al.*, 2002). Dans le premier cas, une illustration est fournie par la relation entre la surface spécifique foliaire et la durée de vie des feuilles. Ces deux traits sont corrélés négativement (Reich *et al.*, 1992 ; Ryser & Urbas, 2000 ; Westoby *et al.*, 2002 ; Wright *et al.*, 2004 ; Al Haj Khaled *et al.*, 2005) et ils représentent le compromis entre le taux potentiel de retour par unité de masse de feuille et la durée du retour¹⁰ (Westoby *et al.*, 2002). La surface spécifique foliaire et la durée de vie des feuilles contribuent à distinguer le potentiel des espèces pour l'acquisition rapide des ressources (surface spécifique élevée) ou pour la conservation efficace de nutriments (durée de vie des feuilles élevée). Les deux autres cas de covariation entre traits constituent davantage une illustration des relations allométriques¹¹ (Niklas, 1994), qui se traduisent par des variations quantitatives entre taille et fonction (i.e., relation entre la capacité photosynthétique et le ratio diamètre : longueur des feuilles (Niklas, 1994)).

L'étude des stratégies fonctionnelles signifie, entre autres, l'observation des axes de spécialisation des plantes. Une synthèse de Westoby *et al.*, (2002), basée sur des études théoriques, propose de prendre en considération (au minimum) quatre axes. Ces axes identifient les stratégies adaptatives aux contraintes environnementales, et sont associés à la variation d'opportunités que les habitats offrent pour la capture de ressources, la croissance et la reproduction (Lavorel *et al.*, 1997). Un premier axe concerne la capacité de compétition. Il est représenté largement, mais pas totalement, par la taille des plantes. Un second axe représente le compromis entre la nécessité de disperser (petites graines) et de s'établir (grosses graines). Le troisième axe est lié à la variation de la taille des tiges et des limbes qui

⁹ « ce que littéralement Westoby *et al.* (2002) désigne par « physically enforced trade-off ».

¹⁰ Littéralement « the leaf mass per area – leaf lifespan spectrum is a trade-off between potential rate of return per leaf mass and duration of return » (Westoby *et al.*, 2002).

¹¹ Augmentation relative de certaines parties d'un organisme ou de certaines mesures physiologiques ou comportementales en relation avec une autre mesure, en général sa taille (Ricklefs & Miller, 2005).

déterminent la composition morphologique du couvert végétal. Enfin, un dernier axe est associé aux stratégies de capture et de conservation des ressources. Il caractérise un compromis (*trade-off*) fondamental du fonctionnement des plantes et synthétise la capacité d'explorer un environnement riche ou pauvre en ressources. Plusieurs études (Reich *et al.* 1992 ; Wilson *et al.*, 1999 ; Wright *et al.*, 2004) ont cherché à associer un ou plusieurs traits quantitatifs à cet axe. Il en ressort des conclusions différentes suivant les auteurs. Ainsi Westoby *et al.* (2002) et Vendramini *et al.*, (2002) considèrent la surface spécifique des feuilles (SSF) comme le meilleur indicateur des stratégies des espèces par rapport à l'utilisation des ressources (espèces exploratrices versus conservatives), alors que Wilson *et al.* (1999) et Al Haj Khaled *et al.* (2005) proposent la teneur en matière sèche (LDMC), en se basant sur la reproductibilité de la SSF. En effet ces auteurs mettent en avant la variabilité des valeurs de SSF, notamment entre différentes périodes de croissance. Il en ressort donc que l'identification d'un trait en tant que meilleur indicateur des stratégies des espèces n'est pas encore généralisable et qu'une approche combinée basée sur la covariation de deux ou trois traits reste nécessaire.

Les traits relatifs à l'adaptation à la défoliation (herbivorie) ont également été étudiés. La plupart des espèces prairiales ont développé des stratégies de tolérance ou d'évitement au pâturage (Briske, 1996). Dans certains cas, la tolérance à la défoliation se traduit par une réduction de croissance moindre que celle attendue eu égard à la quantité de tissus prélevés. Cela implique que la végétation est capable de développer des mécanismes compensateurs de réponse à la défoliation (Ferraro & Oestersheld, 2002). Ces mécanismes peuvent être liés à des modifications de l'environnement des plantes (diminution de l'auto-ombrage), de leur physiologie (accroissement du taux de photosynthèse, par remobilisation des réserves), ou leur morphogenèse (développement des méristèmes).

1.1.4- Les traits de réponse et d'effet

L'approche fonctionnelle est basée sur l'hypothèse que certaines caractéristiques des plantes (traits) sont des prédicteurs : i) de la réponse des populations et des communautés aux changements du milieu (*traits de réponse*), et ii) des effets des espèces sur le fonctionnement de l'écosystème (*traits d'effet*) (Diaz & Cabido, 2001 ; Lavorel & Garnier 2002 ; Lavorel *et al.*, 2004).

Une liste de traits qui représentent les réponses et les effets clés de la végétation à plusieurs échelles (écosystème, paysage, biome, continent) a été proposée (Weiher *et al.*,

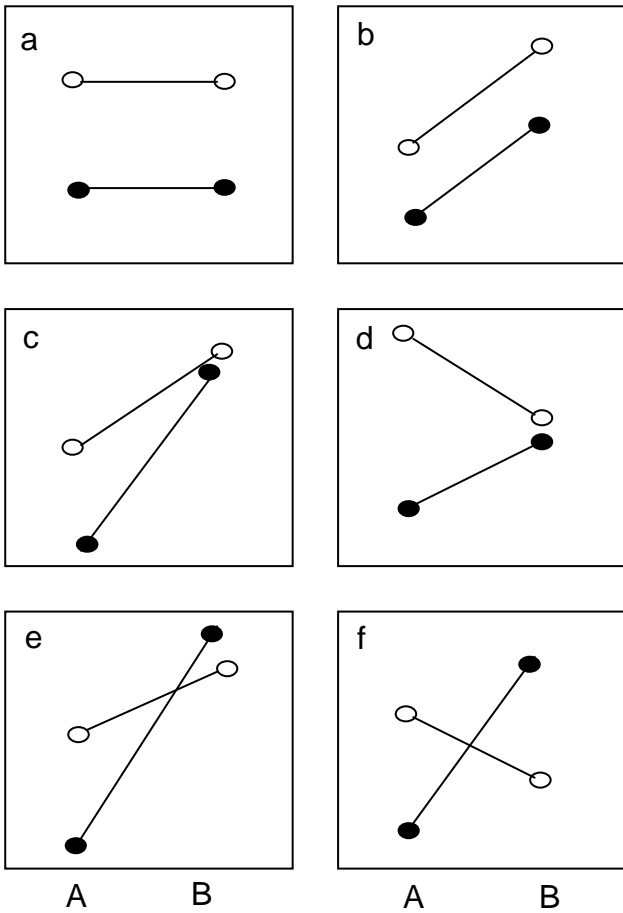


Figure 1-2. Stabilité du classement des espèces : cas théorique de deux espèces croissant dans deux environnements différents (d'après Garnier *et al.*, 2001b).

1999 ; Cornelissen *et al.*, 2003). Les traits ont été sélectionnés sur la base de certaines conditions. Ils doivent être faciles à observer et rapides à quantifier (« soft traits¹² », Hodgson *et al.*, 1999). Ils utilisent des méthodes de mesure qui peuvent être standardisées entre plusieurs espèces et situations (Garnier *et al.*, 2001a ; Cornelissen *et al.*, 2003). Ils doivent maintenir le classement des espèces (« ranking », Garnier *et al.*, 2001b). Garnier *et al.* (2001) estiment que le rang des espèces (Figure 1-2) reste stable lorsque les traits ne sont pas plastiques ou le sont de la même façon pour toutes les espèces (Figure 1-2a, b), ou encore lorsqu'il y a peu de différences entre espèces dans la réponse des traits à l'environnement. C'est également le cas lorsque les traits montrent une plasticité différente dans la réponse aux changements environnementaux, mais que (i) les différences sont faibles de telle sorte que le classement des espèces reste inchangé (Figure 1-2c), ou que (ii) les réponses sont inversées mais le classement reste inchangé entre les deux espèces (Figure 1-2d). Dans les autres cas, on considère que le rang des espèces n'est pas maintenu (Figure 1-2e, f).

Les traits qui sont simples, facile à mesurer, quantifiables, et informatifs sur le fonctionnement des espèces dans un milieu donné sont appelés « traits fonctionnels » ou « indicateurs fonctionnels » (*functional markers*, Garnier *et al.*, 2004) Nous considérerons tour à tour les traits de réponse, et les traits d'effet.

1.1.5- Les traits de réponse

Traits de réponse à la fertilité du milieu

Les espèces rencontrées dans les milieux les plus riches en nutriments (milieux productifs) tendent à avoir des stratégies orientées vers l'efficacité de capture des ressources. Elles sont caractérisées par une surface spécifique et une concentration en nutriments élevées (en particulier la teneur en azote), une teneur en matière sèche faible, une durée de vie des feuilles courte et des taux de photosynthèse et de respiration élevés (Wilson *et al.*, 1999 ; Cruz *et al.*, 2002 ; Wright *et al.*, 2005). Ces caractéristiques sont souvent associées au taux de croissance (Garnier, 1992 ; Lambers & Poorter, 1992 ; Reich *et al.*, 1992). Les espèces des milieux productifs tendent donc à être des espèces à croissance rapide (« *fast-growing species* »), qui présentent un renouvellement rapide de leurs organes et une accumulation de

¹² Les « soft traits » sont souvent bien corrélées aux « hard traits ». Ces derniers plus difficiles à mesurer représentent des indicateurs plus précis des fonctions des plantes. On peut citer comme exemple de « hard traits » la capacité photosynthétique, la concentration en cellulose et lignine, le taux potentiel de croissance relative, la qualité de la litière.

biomasse dans les feuilles relativement faible (Poorter & Remkes, 1990). En conséquence, les feuilles ont une durée de vie courte et des besoins en nutriments élevés. Il en découle que, comme les flux de nutriments sont importants et à renouvellement rapide, ces espèces ne peuvent pas se maintenir en conditions peu productives (Ryser, 1996). A cause des fortes capacités de croissances supportées par la fertilité du milieu, les plantes des habitats productifs tendent à être de grande taille (Elberse & Berendse, 1993 ; Ryser, 1996). Elles allouent une forte proportion des ressources assimilées aux structures de support (Reich *et al.*, 1992). Dans ces conditions, la compétition par lumière devient importante. La croissance verticale devient un élément primordial pour maximiser l'interception de lumière (Dyer *et al.*, 2001).

Inversement, les espèces adaptées aux milieux peu productifs présentent des stratégies plus conservatrices destinées à mieux gérer les nutriments. Les caractéristiques associées sont une diminution de la surface spécifique, de la teneur en azote et une augmentation de la teneur en matière sèche, du contenu en parois et de la durée de vie des feuilles (Niemann *et al.*, 1992 ; Wilson *et al.*, 1999 ; Cruz *et al.*, 2002 ; Wright *et al.*, 2005). Ce dernier caractère, s'il est intéressant pour limiter la perte en nutriments, ne sera réellement avantageux pour la plante que si elle n'est pas soumise à une défoliation fréquente (Ryser & Urbas, 2000). Ainsi, la durée de vie effective des feuilles doit être suffisamment longue pour que la plante soit payée en retour de son investissement (Westoby *et al.*, 2002).

Traits de réponse aux perturbations

Les réponses adaptatives des espèces aux défoliations fréquentes peuvent être similaires aux réponses à la disponibilité élevée en nutriments (Craine *et al.*, 2001 ; Lavorel *et al.*, 2005). En effet, plusieurs auteurs suggèrent que des taux de croissance élevés peuvent être considérés comme des mécanismes de tolérance à la défoliation (McIntyre *et al.*, 1999 ; Westoby, 1999 ; Diaz *et al.*, 2001). A l'inverse, les caractéristiques qui favorisent l'adaptation aux habitats peu productifs sont plutôt associées à une faible palatabilité (Niemann *et al.*, 1992 ; Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2003), qui est plutôt caractéristique des mécanismes de résistance à la défoliation au sens de Briske (1996). Les mécanismes d'évitement peuvent également se retrouver à travers des traits permettant aux plantes d'échapper à la défoliation soit dans l'espace (liée à l'abondance, à la taille et à la forme prostrée des plantes), soit dans le temps (liées à la phénologie et à la dormance) (McIntyre *et al.*, 1999).

1.1.6- Les traits d'effet

Traits d'effet sur la production

Les études des traits fonctionnels d'effet se sont davantage concentrées sur les fonctions environnementales que sur celles d'intérêt agronomique (i.e. la quantité et la qualité de la biomasse). Toutefois, des éléments suggèrent que les traits impliqués dans la réponse des espèces à la disponibilité en nutriments (traits de réponse) se superposent avec les traits d'effet liés aux changements de la productivité des écosystèmes (Lavorel & Garnier, 2002). Récemment, Wright *et al.* (2004) ont analysé la gestion des ressources par les feuilles (« *leaf economics spectrum* »), qui a aussi été reliée à des processus tels que l'efficacité de production (Reich *et al.*, 1992 ; Garnier *et al.*, 2004), qui correspond à l'ANPP (« *annual net primary productivity* ») par gramme de biomasse verte (SANPP, « *specific annual net primary productivity* », Reich *et al.*, 1997). Il a été constaté que les écosystèmes composés d'espèces avec une surface spécifique foliaire élevée, riche en azote et une durée de vie des feuilles courte ont une plus forte efficacité de production (Reich *et al.*, 1992 ; Garnier *et al.*, 2004). Cependant, aucune corrélation entre ces traits et l'ANPP n'a été observée. Selon Reich *et al.* (1992), les différents profils d'allocation de biomasse constituent la cause de la perte de relation entre, par exemple, la durée de vie des feuilles et l'ANPP. Les espèces avec une durée de vie des feuilles longue tendent à investir plus en biomasse foliaire. A l'inverse, les espèces avec une durée de vie des feuilles courte ont une large fraction de leur biomasse aérienne qui est distribuée aux tiges à cause de la plus grande efficacité de leur biomasse foliaire (Reich *et al.*, 1992 ; Wright *et al.*, 2001). Donc, des espèces avec des valeurs contrastées de durée de vie des feuilles peuvent présenter une efficacité de production assez similaire.

Toutefois, Poorter & Jong (1999) ont rapporté une corrélation positive entre l'ANPP et la SSF. Ces différents résultats indiquent que notre connaissance reste encore partielle quant à l'effet des traits sur la productivité. En fait, différentes relations entre les traits ont été constatées entre différents groupes d'espèces co-existantes. Par exemple, Vendramini *et al.* (2002) ont observé que la SSF était associée positivement avec le contenu en eau des feuilles pour les espèces sclérophylles et à l'inverse pour les succulentes. Pickup *et al.* (2005) ont observé que le déclin de la SSF avec l'augmentation de la longueur des limbes est variable selon les différents sites expérimentaux étudiés. Cornelissen & Thompson (1997) ont aussi rapporté que les traits considérés comme les meilleurs prédicteurs de l'effet des espèces sur la

décomposition (i.e. C:N de la litière) peuvent varier selon différents groupes d'espèces. Ceci montre la difficulté de généraliser les effets des espèces sur les écosystèmes en se basant sur un trait unique.

Traits d'effet sur la valeur nutritive

S'il existe plusieurs études concernant les relations entre les traits fonctionnels et la composition chimique des feuilles, les relations directes entre ces traits et la valeur nutritive du fourrage n'ont jamais été réellement explorées. Van Arendonk & Poorter (1994) rapportent que des différences de SSF sont imputables à la composition des tissus : lignine, composés N-organique, (hemi)cellulose, glucides non-structurel et acides organiques. De même, ils avancent que l'augmentation du nombre de cellules du sclérenchyme contribue à une plus forte teneur en matière sèche des feuilles présentant une faible SSF. Poorter & Jong (1999) ont calculé que plus de 20% de la différence en SSF entre espèces des habitats peu ou très productifs peut être expliquée par des différences de contenu cellulaire en glucides non structuraux. Ces investissements élevés en composants comme la lignine, réduisent la digestibilité (Waite *et al.*, 1964 ; Morrison, 1980; Delegarde *et al.*, 2000), ce qui peut également correspondre à une stratégie de résistance à l'herbivorie en diminuant l'appétabilité des tissus. Duru *et al.*, (2004) en comparant deux graminées, *Dactylis glomerata* (caractéristique de milieux productifs) et *Festuca rubra* (jugée caractéristique de milieux peu productifs), ont constaté que la surface spécifique foliaire constituait à la fois un trait de réponse aux gradients environnementaux et un trait d'effet vis à vis de la digestibilité. Ce type de comparaison mériterait d'être étendu à d'autres espèces dans une large gamme de milieux, afin d'évaluer la portée de ces conclusions.

1.1.7- Les types fonctionnels

L'objectif d'une approche basée sur la définition de « types fonctionnels » est de synthétiser l'information fournie par les traits, ou les syndromes de traits, pour prédire la réponse de la communauté végétale aux changements environnementaux, ou son effet sur les propriétés de l'écosystème, (Dyer *et al.*, 2001). Il s'agit également de capturer des informations sur la dynamique des écosystèmes via un regroupement fonctionnel des espèces dans un nombre limité de types fonctionnels (Steffen *et al.*, 1992 cité par Gitay & Noble, 1997). La démarche se base sur des regroupements non phylogénétiques d'espèces qui (i) soit

répondent de manière similaire à un ensemble de facteurs environnementaux (Gitay & Noble, 1997), ou (ii) soit résultent de la combinaison de processus biotiques et/ou abiotiques qui répondent de façon similaire à une perturbation du système (par exemple un incendie). Les espèces d'un même type fonctionnel dans un milieu donné peuvent être considérées comme un groupe fonctionnel. Selon le type de traits considéré pour procéder au regroupement, nous pouvons identifier des « groupes de réponse » ou « groupes d'effet », les premiers étant établis en fonction de la réponse des espèces aux variations du milieu alors que les seconds s'appuient sur leurs effets sur les propriétés de l'écosystème (Cruz *et al.*, 2002 ; Lavorel & Garnier, 2002).

Cependant, certaines limitations à l'utilisation de cette classification en groupes fonctionnels ont été formulées. Dyer *et al.* (2001) constatent notamment que lorsque les analyses intègrent une grande amplitude d'espèces de formes de vie différentes, la séparation en types fonctionnels peut être triviale, car correspondant à la taxonomie. Les associations entre traits au sein d'une forme de vie doivent donc pouvoir se retrouver entre formes de vie (Lavorel *et al.*, 1997). De plus, Gitay & Noble (1997) insistent sur le principe « *uniqueness* » qui considère que lorsque différentes techniques analytiques sont appliquées sur un même jeu de données, elles doivent déboucher sur des conclusions similaires. Enfin, le principe de répétitivité, implique que des données issues d'un même ensemble d'espèces, même si elles sont soumises à différentes conditions de croissance, doivent déterminer des groupes fonctionnels similaires. Cette dernière limitation nous incite à rechercher des traits fonctionnels, qui soient des « indicateurs des espèces ». Cela implique qu'avant d'arriver à une classification fonctionnelle, une réflexion approfondie sur la détermination des traits ou des groupes de traits, qui rendent le mieux compte des propriétés des écosystèmes, est nécessaire. Ces éléments renforcent l'intérêt et la nécessité d'identifier les traits ou groupes de traits fonctionnels associés aux caractéristiques agronomiques dans le cas de communautés prairiales comme les prairies permanentes.

1.2- La valeur agronomique

Parmi les éléments définissant la valeur agronomique¹³, la quantité de biomasse disponible (production) et la qualité de l'offert (valeur alimentaire) sont des aspects fondamentaux pour déterminer l'efficacité d'utilisation de l'herbe par les animaux, et les apports d'éléments nutritifs aux herbivores. Les critères pris en compte (Cruz *et al.*, 2002)

¹³ Les différentes caractéristiques agronomiques qui reflètent la capacité des prairies à remplir une fonction alimentaire ou une fonction environnementale donnée.

sont la vitesse d'accumulation de la biomasse, la capacité à accumuler de la biomasse sur pied et la structure du couvert (masse volumique par exemple). Ces critères déterminent en partie la quantité ingérée par bouchée au pâturage et la valeur nutritive de la biomasse (estimée par exemple par la digestibilité). Cependant, pour que l'exploitation de ces prairies soit durable, la gestion doit aussi intégrer des objectifs environnementaux, comme par exemple la diminution des pollutions azotées ou la préservation de la biodiversité.

Dans ce travail, nous allons restreindre notre analyse de la valeur agronomique à la caractérisation de la production et de la valeur nutritive des espèces de graminées qui constituent la prairie permanente. Dans ce mémoire, nous utiliserons le terme de graminée pour désigner les espèces de la famille des *Poaceae* afin de standardiser la dénomination avec le terme anglais de « *grass* », utilisé dans les projets d'articles.

1.2.1- La production

La production des prairies permanentes varie selon la diversité des modes de conduite passés et présents et avec les différences de composition botanique associées (Louault *et al.*, 2002). Jeannin *et al.* (1979), dans des prairies permanentes du Massif central ont mesuré des niveaux de production très variables selon les espèces dominantes de la communauté végétale. Ainsi dans les communautés dominées par *Agrostis tenuis*, *Festuca rubra* et *Trifolium repens* la production annuelle est de l'ordre de 3 à 4,5 t matière sèche (MS)/ha ; elle est légèrement supérieure, entre 4.5 et 6.5 t MS/ha dans les prairies à base de *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Trisetum flavescens* et *Trifolium repens* et varie entre 6.5 et 9 t MS/ha dans les communautés composées de *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne* et *Poa trivialis*. L'essentiel de la production de ces prairies de montagne s'effectue sur le premier cycle de repousse, au printemps (70 à 80%, Arnaud *et al.*, 1978), qui correspond à la phase reproductrice chez les graminées dominant ces communautés. Cette saison est plus favorable à la croissance: eau non limitante, température moyenne journalière proche de l'optimum physiologique des graminées (15 °C), intensité de l'éclairement et durée du jour favorables à l'activité photosynthétique et enfin minéralisation de l'azote dans le sol importante (Gillet, 1980 ; Parsons *et al.*, 1988).

Lorsqu'un ou plusieurs de ces facteurs deviennent limitants, la production s'en trouvera réduite et la structure de la communauté végétale sera modifiée. Les différences de croissance entre espèces se manifestent lors de ces limitations, et mettent en évidence la diversité des stratégies de capture des ressources (Grime *et al.*, 1988 ; Westoby, 1998) en

fonction des valeurs des traits exprimés (Ryser & Urbas, 2000 ; Louault *et al.*, 2005 ; Al Haj Khaled *et al.*, 2005). Les variations d'abondance des espèces sont à mettre en relation avec le niveau d'utilisation de la biomasse produite (efficacité d'utilisation) et avec le niveau de fertilisation des prairies (Loiseau *et al.*, 1998 ; Kramberger & Gselman, 2000 ; Mikhailova *et al.*, 2000 ; Belesky *et al.*, 2002 ; Louault *et al.*, 2005). Elles vont avoir des conséquences importantes pour la productivité totale de l'écosystème (Jeangros, 1993 ; Jeangros *et al.*, 1994).

L'accumulation de biomasse après une coupe ou un pâturage sévère, peut être modélisée en fonction du cumul du rayonnement intercepté par la prairie (ou cumul de température) (Lemaire & Chapman, 1996). Ce rayonnement intercepté est fonction de la surface de feuilles vertes qui jouent le rôle de capteur d'énergie (Duru *et al.*, 1998). Le déficit en azote, par exemple, réduit la surface foliaire et l'efficacité de conversion du rayonnement intercepté en biomasse aérienne (Bélanger *et al.*, 1992). Lorsque d'autres éléments majeurs sont limitants, des effets négatifs pour la production peuvent être observés. Cependant, les effets directs d'une déficience en phosphore ou potassium sur la croissance sont moindres que celui d'une déficience en azote. Par exemple, l'effet direct d'une déficience en phosphore sur le niveau de production provient autant de l'effet indirect (abaissement du niveau de nutrition en azote) que de l'effet direct (Duru & Ducrocq, 1997). C'est la raison pour laquelle le niveau de nutrition en azote, à lui seul rend assez bien compte des contraintes en nutriments.

La production des espèces qui sont semées dans les prairies temporaires comme, *Lolium perenne*, *Dactylis glomerata* et *Festuca arundinacea* a déjà été largement étudiée (Bélanger *et al.*, 1992 ; Davies & Riley, 1992 ; Mazzanti *et al.*, 1994 ; Niemeläinen *et al.*, 2001 ; Kallenbach *et al.*, 2003 ; Smit *et al.*, 2005). Par exemple, Frame (1991) a observé une variation de la production de 2.5 et 13 t de MS/ha/an entre différents apports d'azote en étude avec un cultivar de *Lolium perenne* (Perma). Watt (1987) dégage la supériorité de réponse à la fertilisation azotée de *Lolium perenne* (cv. S23) sur *Holcus lanatus* (cvs. Massey Basyn et German). Niemeläinen *et al.* (2001) ont rapporté des valeurs de production pour l'espèce *Festuca arundinacea* (cv. Retu) entre 8.6 à 9.2 t MS/ha/an (production de trois coupes par an). Cependant, pour la majorité des espèces qui composent les écosystèmes prairiaux, peu de choses sont connues quant à l'effet des facteurs de gestion sur leur production et sur leur valeur alimentaire.

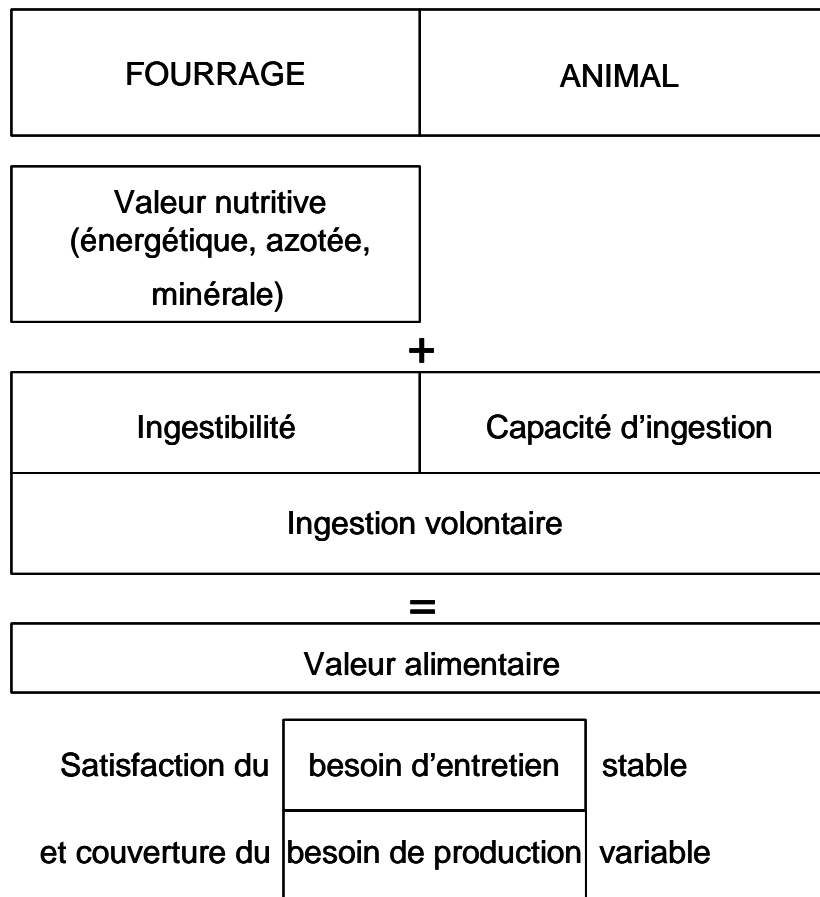
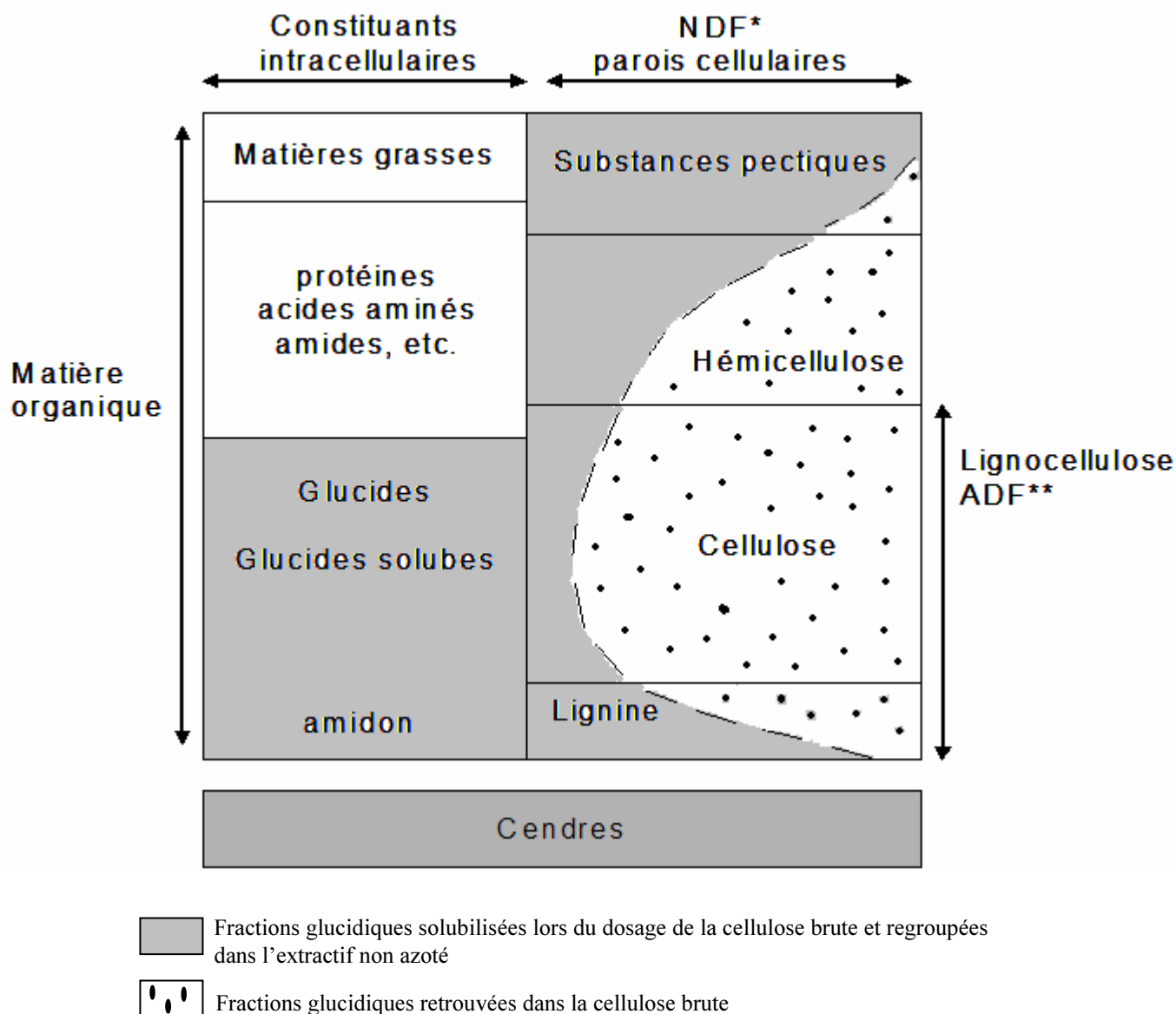


Figure 1-3. Valeur alimentaire des aliments (d'après Guerin, 1999).

1.2.2- La valeur alimentaire

La **valeur alimentaire** d'un fourrage associe deux critères : sa valeur nutritive, qui traduit sa concentration en nutriments, et son aptitude à être ingéré (Figure 1-3). La **valeur nutritive** est déterminée au laboratoire par l'analyse chimique du fourrage (composition en nutriments) et par la mesure ou l'estimation de sa digestibilité (disponibilité des nutriments). La **digestibilité** in vivo de la matière organique, comprise entre 40 et 80%, est le principal facteur de variation de la valeur énergétique des fourrages (revu par Guerin, 1999). Son estimation donne une mesure de la disponibilité potentielle pour le ruminant de la plupart des nutriments (Mould, 2003). Elle est fréquemment utilisée comme indicateur de la valeur nutritive et correspond précisément à la différence entre les nutriments ingérés et ceux excrétés par l'animal. Bien que son estimation soit un indicateur correct du potentiel d'ingestion de l'animal (Armstrong *et al.*, 1986), ses relations avec les performances animales peuvent être très variables (Coleman & Moore, 2003). Une raison de ces divergences est liée aux facteurs impliqués dans la vitesse de transit et les processus digestifs (Coleman & Moore, 2003). En effet, lorsque la digestibilité augmente, l'ingestion peut être augmentée également et avec elle la vitesse de transit, ce qui diminue le temps disponible pour l'action des enzymes digestives (processus digestif). Dans ce cas, la vitesse de transit limite l'efficacité du processus digestif. Il n'en reste pas moins que la digestibilité permet d'approcher la valeur énergétique du fourrage (Vermorel, 1988).

Les quantités ingérées dépendent d'une part de l'ingestibilité des fourrages, et d'autre part de la capacité d'ingestion des animaux (Figure 1-3). **L'ingestibilité**, est une caractéristique de l'aliment (Guerin, 1999), elle varie avec sa digestibilité ou plutôt, avec sa vitesse de digestion (Lazenby, 1988), mais elle varie également en fonction de l'appétibilité propre à chaque espèce végétale et même souvent à chaque organe ou stade de végétation (Demarquilly & Andrieu, 1988). L'ingestibilité d'un fourrage est élevée pour des stades jeunes. Elle diminue en relation étroite avec l'augmentation des parois et, dans une moindre mesure, avec la baisse de la teneur en matière azotée (Jarrige, 1988 ; Baumont *et al.*, 2000). La **capacité d'ingestion**, est une caractéristique propre à l'animal. Les principaux facteurs de variation sont l'espèce animale, ou des facteurs endogènes tels que l'âge, le stade physiologique, le niveau de production et l'état d'engraissement (Jarrige, 1988), mais également des facteurs exogènes tels que le climat et le mode de distribution des aliments (Guerin, 1999).



* Neutral detergent fiber ** acid detergent fiber (Van Soest & Wine, 1967)

Figure 1-4. Schéma des constituants de la matière sèche des aliments et de leur fractionnement par la méthode d'analyse classique (d'après Sauvant, 1988).

Bien que l'ingestion soit considérée comme une variable plus importante que la digestibilité pour l'estimation et la prédiction de la performance animale (Coleman & Moore, 2003) c'est souvent le constituant de la valeur alimentaire le moins bien apprécié à cause de la difficulté et de la variabilité liées à sa mesure. En effet, un grand nombre d'interactions existent entre les caractéristiques du fourrage, du rumen, de l'animal et des facteurs de l'environnement (voir revue de Coleman & Moore, 2003). Au pâturage, la quantité ingérée par l'animal dépend beaucoup de la répartition spatiale des fourrages (Dumont *et al.*, 2002), ainsi que de leur structure physique, notamment en ce qui concerne l'accessibilité pour les animaux (Marriott & Carrère, 1998). Les herbivores sont constamment en face de choix entre stations de pâturage qui diffèrent par la quantité et la qualité de l'offert, celles-ci évoluant au cours de la saison de pâturage (Garcia *et al.*, 2003). Dans des conditions d'offre alimentaire non limitante, la sélection pour une espèce, ou un état de plante (végétatif vs reproducteur) ou un type d'organe (feuille vs tige) va avoir une grande influence tant sur l'ingestion que sur les capacités de repousse du couvert (nature de la biomasse résiduelle). Ainsi, il a été montré que dans des couverts complexes, la qualité moyenne de la biomasse ingérée est supérieure à celle de la biomasse offerte (Carvalho *et al.*, 2001 ; Bailey, 2005 ; Baumont *et al.*, 2006).

La combinaison de la valeur nutritive avec l'ingestion volontaire par l'animal nous informera sur le potentiel de production (lait ou viande) autorisé par les fourrages offerts (Bruinemberg *et al.*, 2001). Bien que les analyses chimiques ne considèrent pas explicitement les interactions aliment-animal, c'est à dire la capacité d'utilisation des aliments ingérés par les animaux, elles nous renseignent sur la composition exacte des aliments, ce qui constitue le point de départ de la détermination de la valeur nutritive (Mould, 2003).

Facteurs intervenant sur la valeur nutritive

La valeur nutritive des fourrages dépend du gradient de répartition des différents tissus qui composent la plante : parenchymes, tissus de soutien et de protection. La valeur nutritive va être d'autant plus élevée que les tissus parenchymateux sont développés, les parois peu abondantes et peu lignifiées (Guerin, 1999). Les teneurs en hémicellulose, cellulose, lignine (Van Soest *et al.*, 1991) et en azote rendent bien compte de ces variations. La teneur en composés pariétaux (Figure 1-4) est fréquemment identifiée comme un facteur corrélé négativement à la digestibilité (Lantinga *et al.*, 2002 ; Mould, 2003). La teneur en composés pariétaux, tout comme le degré de lignification des parois, augmente avec l'avancement du stade de maturité chez les graminées (Waite *et al.*, 1964 ; Morrison, 1980 ; Seoane *et al.*,

1991 ; Chaves *et al.*, 2006), alors que dans le même temps la fraction de contenu cellulaire diminue (Guerin, 1999). Les composés du contenu cellulaire, essentiellement des glucides solubles, des protéines et des acides organiques sont tous fortement solubles dans le rumen après la rupture de la paroi cellulaire. Ils sont considérés comme rapidement dégradés et facilement assimilés.

Les tiges ont une forte concentration en parois et leur contenu en protéines est en général bas (Deinum, 1984). Aux premiers stades de leur formation, les tiges sont aussi digestibles que la fraction feuillue des plantes (Duru *et al.*, 2000), mais leur digestibilité décline très vite avec l'âge (Bruinenberg *et al.*, 2002). Des différences de digestibilité des limbes interviennent également au cours de la repousse, indiquant que le processus qui affectant la valeur nutritive sont déjà complexes pendant la phase végétative. Chez *Dactylis glomerata*, la digestibilité des limbes diminue lorsque la hauteur des gaines augmente (Duru *et al.*, 1999). Ce résultat a été attribué à une déposition de matériel structural (moins digestible) plus importante pendant la croissance du limbe dans la gaine. Ce résultat indique que la composition chimique des limbes pourrait être liée à la durée de leur phase de croissance, cette durée augmentant avec la taille de la gaine.

L'impact des facteurs climatiques sur la valeur nutritive

En ce qui concerne l'impact des facteurs climatiques, c'est la température qui a souvent l'effet négatif le plus important sur la valeur nutritive (Demarquilly, 1982). La lignification augmente avec la température (Ford *et al.*, 1979 ; Buxton & Marten, 1989), ce qui peut expliquer les différences interannuelles mesurées sur des couverts prairiaux (Duru *et al.*, 1995). Toutefois, au-delà de cet effet direct de la température, il existe aussi un effet indirect via les changements de structure de la plante (Duru & Ducrocq, 2002). En effet, la croissance dépendant de la somme de températures, des températures élevées accélèrent la maturité des tissus végétaux et en conséquence, accélèrent la perte de valeur nutritive (Lemaire & Chapman, 1996). A l'inverse, en conditions de déficit hydrique, la croissance des tiges peut être ralentie plus que celle des feuilles, ce qui se traduit par une digestibilité supérieure (Halim *et al.*, 1989 ; Lemaire *et al.*, 1989a).

L'impact des facteurs de gestion sur la valeur nutritive

Les principaux effets des facteurs de gestion (fertilisation et fréquence d'utilisation) se réalisent également via des changements de la structure de la végétation et de la composition morphologique des plantes. Une meilleure qualité est attribuée aux conditions d'utilisation plus intenses (Kristensen, 1988 ; Duru *et al.*, 1999). Une des interprétations de ce constat est liée à la moindre proportion de tiges et feuilles matures (Duru *et al.*, 2000 ; Santis *et al.*, 2004) dans ce type de couvert, conséquence d'un rythme d'exploitation rapide qui limite le vieillissement des tissus et supprime le développement floral. Donc, des coupes fréquentes permettent de récolter un fourrage jeune plus digestible (avec des constituants pariétaux peu lignifiés), riche en matière azotée et en minéraux (Jeangros & Scehovic, 1996). Duru *et al.* (1999) ont également mesuré une moindre variabilité de la digestibilité des limbes à chaque nouvelle génération de feuilles. Ces auteurs interprètent ce résultat comme un effet du maintien d'une hauteur de gaine plus courte et plus constante.

L'effet de la fertilisation azotée sur la digestibilité est plus variable. Des études ont montré que la digestibilité des espèces n'était pas affectée par un apport d'azote (Demarquilly, 1970 ; Salette, 1982 ; Frame, 1991). Toutefois, Duru *et al.* (2000) ont montré que la digestibilité de *Dactylis glomerata* est plus élevée lorsque cette graminée est fertilisée, ceci étant dû à une diminution de la proportion de tiges reproductrices et à une digestibilité plus élevée des tiges produites. Boval *et al.* (2002), ont observé chez des graminées tropicales un effet positif de la fertilisation azotée sur la qualité moyenne de l'ingéré par les animaux. En effet, dans ce type de couvert, l'élongation des gaines et des tiges en condition fertilisée rend les limbes plus accessibles aux animaux et améliore leur ingestion au pâturage ce qui accroît ainsi la qualité de la ration. Dans cet exemple, il s'agit d'un effet essentiellement sur la structure de la végétation, l'azote en augmentant la densité de limbes dans la strate pâturée améliore la digestibilité de l'herbe consommée.

Une des raisons des effets contradictoires de la fertilité azotée sur la digestibilité noté dans la littérature, peut provenir du fait que la fertilité azotée n'a pas les mêmes effets suivant le stade de développement ou la période de l'année. Par exemple, en début de période de croissance des graminées, il est possible d'observer un effet positif d'un apport d'azote dû à la plus grande proportion de tissus jeunes (Demarquilly *et al.*, 1995). Au cours de la pousse, les niveaux plus élevés d'azote augmentent la densité de talles reproductives (Duru *et al.*, 1995), ce qui peut entraîner une baisse de la digestibilité.

Ainsi, comme les effets de la fertilité azotée sur la digestibilité sont variables, une augmentation de la production animale induite par la fertilisation azotée est en général attribuée à une augmentation de la production (biomasse offerte), mais également de la teneur en matière azotée totale des fourrages (Demarquilly, 1970 ; Salette, 1982 ; Boval *et al.*, 2002). Des études ont montré que cette augmentation de la production s'accompagne d'une diminution de la teneur en glucides solubles (Demarquilly, 1970 ; Salette, 1982 ; Tremblay *et al.*, 2005) en raison de leur utilisation pour la synthèse du supplément de matière sèche permis par la fertilisation (dilution de l'azote).

Comme spécifié au-dessus, une large variabilité intraspécifique peut exister. Elle est liée, soit à des conditions de croissance contrastées entre espèces (Duru *et al.*, 2000), soit parce que les espèces présentent une grande plasticité des caractéristiques morphologiques, qui peuvent affecter la valeur nutritive de la plante entière. Cependant, les variations interspécifiques en réponse aux facteurs de gestion sont aussi importantes. Duru *et al.* (1995) ont montré que la diminution de la digestibilité de *Dactylis glomerata* au cours de la pousse a été plus importante avec un apport d'azote, alors que la diminution de la digestibilité au cours de la repousse chez *Festuca arundinacea* a été similaire pour les deux traitements azotés (élevé ou faible). Une étude comparée d'espèces conduites en monocultures peut permettre une meilleure compréhension de ces effets.

CHAPITRE 2 :

OBJECTIFS, HYPOTHESES ET DEMARCHE

2.1- Objectifs

L'objectif principal de la thèse est d'apporter des éléments de réponse aux questions suivantes : (i) Quelles sont les performances agronomiques des graminées natives en termes de production et de valeur nutritive et comment varient ces performances en réponse aux principaux facteurs de gestion (fréquence de coupe et disponibilité en azote) ? (ii) Les traits fonctionnels aériens des graminées prairiales rendent-ils compte de leur productivité aérienne et de leur valeur nutritive ? Quelles sont les réponses de ces traits aux facteurs de gestion et ces réponses affectent-elles les performances (production, digestibilité, matières azotées) des espèces prairiales ?

La validation de telles relations entre les traits et les caractéristiques agronomiques devrait permettre de déterminer les traits d'effet les plus pertinents pour l'élaboration de la valeur agronomique, afin de pouvoir proposer en sortie une classification des espèces étudiées selon leur production et leur valeur nutritive. On pourra aussi évaluer la gamme de variation entre espèces des traits d'une même communauté en s'interrogeant sur les mécanismes de complémentarité entre espèces. Notre contexte concernant la prairie gérée, nous avons étudié ces relations en considérant l'effet de deux facteurs fondamentaux de la gestion : la disponibilité en azote et la fréquence d'exploitation. Nous avons analysé l'effet de ces deux facteurs de variation sur les valeurs de traits mesurées et la stabilité des classements des espèces établis par ces traits pour les niveaux différents des ces facteurs de gestion. Enfin, l'utilisation des traits à l'échelle de la feuille et de la plante entière, doit nous permettre d'appréhender : (i) la réponse des espèces aux changements des facteurs de gestion et (ii) leurs effets sur la productivité et la valeur nutritive.

Ce travail de thèse a également pour ambition de contribuer à l'accroissement des connaissances sur la valeur nutritive des espèces natives issues des prairies permanentes de moyenne montagne. Pour cela, nous nous sommes appuyés sur une méthode d'analyse dans le domaine de la spectrométrie proche infrarouge (SPIR). Notre travail fournit une contribution importante à cette thématique conduite en collaboration avec l'URH-RAPA, en contribuant à diversifier la banque de spectres, tant dans le domaine des espèces étudiées que des facteurs de variabilité pris en compte, affinant en cela la précision des courbes de calibration pour la méthode SPIR.

Dans un premier temps, nous nous sommes focalisés sur l'analyse de l'effet des deux principaux facteurs de gestion : la disponibilité en nutriments et le modes d'exploitation, caractérisés ici par un type de ressource (azote minéral) et par la fréquence de perturbation (fréquence de coupe). Dans un second temps, nous avons caractérisé et étudié l'évolution de la valeur nutritive des espèces natives au cours de leur développement phénologique.

Dans la suite de ce chapitre, nous présenterons les principaux choix méthodologiques réalisés pour atteindre nos objectifs, en les argumentant à partir de la bibliographie.

2.2- Démarche et choix méthodologiques

- Pourquoi étudier les graminées ?

Le choix des graminées comme forme de vie¹⁴ représentative de la communauté prairiale permanente de moyenne montagne peut être justifié :

- par leur abondance en terme de biomasse dans ces prairies permanentes et par leur importance d'un point de vue fourrager (Jarrige, 1988 ; Leafé, 1988 ; Peeters, 2004) ;
- par la large variation interspécifique des valeurs de traits des graminées prairiales (Craine *et al.*, 1999 ; Ryser & Urbas, 2000 ; Craine *et al.*, 2002 ; Cruz *et al.*, 2002 ; Al Haj Khaled *et al.*, 2005 ; Sugiyama, 2005) ;
- pour permettre d'analyser des groupes d'espèces plus homogènes quant à leurs fonctions et propriétés. Les contrastes des valeurs moyennes et des variances pour un trait donné entre différentes formes de vie, peuvent biaiser la valeur pondérale du trait estimée à l'échelle de la communauté du fait de changements des contributions relatives de ces formes de vie (Cruz *et al.*, 2002).

Pour caractériser la diversité fonctionnelle de graminées prairiales, 13 espèces pérennes (C₃), qui coexistent dans ces communautés, ont été sélectionnées. Les espèces étudiées ont été choisies en gardant à l'esprit les objectifs visés dans une approche fonctionnelle au sens de Cornelissen *et al.* (2003) :

- obtenir une bonne représentation de l'écosystème ou de la communauté des plantes ;
- fournir une information suffisante pour représenter les valeurs des traits à l'échelle de la communauté.

¹⁴ Les formes de vie (Raunkiaer, 1934) sont des regroupements qui peuvent être basés sur des critères taxonomiques (ex. : les graminées), morphologiques (ex. : espèces en rosette) et/ou physiologiques (ex. : espèces fixatrices de l'azote atmosphérique).

Des détails supplémentaires sur les espèces sélectionnées seront fournis dans le chapitre Matériel et Méthodes de la thèse.

- Pourquoi étudier des cultures pures ?

Etablir un diagnostic au niveau d'une communauté végétale implique de considérer les espèces présentes ou du moins celles qui sont dominantes (Cruz *et al.*, 2002). Ceci ne permet pas de différencier les effets de la plasticité (définie à l'échelle des populations) de ceux de la variabilité interspécifique (définie à l'échelle des communautés). Les changements des valeurs agrégées des traits de la communauté, qui sont déterminées à partir de l'abondance relative des espèces (dominantes), peuvent être dus au remplacement des espèces ayant différentes valeurs de traits (variation interspécifique), aux changements de la valeur des traits de la population (variation intraspécifique) ou à la combinaison de ces deux phénomènes (Garnier *et al.*, 2004). Des études en culture pure permettent d'analyser le rôle de chaque trait sur la performance des espèces, en dissociant les effets dus aux propriétés intrinsèques des espèces de ceux induits par les facteurs environnementaux qui varient le long des gradients étudiés y compris les interactions entre espèces. Afin de comprendre l'effet de la compétition interspécifique sur la valeur des traits et la performance des espèces (production et valeur nutritive), des mélanges de deux espèces, une graminée native associée avec un cultivar d'une graminée fortement compétitrice (*Dactylis glomerata*), et des mélanges plus complexes (6 espèces de graminées natives) ont été étudiés dans le même dispositif. Toutefois, ces résultats n'ont pas été analysés dans le cadre de cette thèse.

Les données récoltées sur des dispositifs établis en cultures pures permettent la construction d'une base de données standardisée de valeurs de traits. Cette base de données facilitera la détermination des traits considérés comme des « marqueurs » (indicateurs) des espèces, ou encore, des traits qui ont l'aptitude de classer les espèces d'une manière identique quelles que soient les caractéristiques d'habitat.

La valeur nutritive des prairies à flore complexe varie en réponse au rythme de coupe et à la fertilisation en partie du fait de modifications de la flore (Demarquilly, 1970). Pour éviter ces effets dus aux changements de la composition botanique, il faut recourir aux études en monocultures.

- Pourquoi étudier les réponses aux facteurs azote et rythme de coupe ?

Les caractéristiques générales (productivité, qualité de l'herbe produite, composition botanique) des prairies permanentes résultent principalement des pratiques d'utilisation par la

fauche et le pâturage et des pratiques de fertilisation (Balent & Duru, 1984 ; Jeangros, 1993 ; Jeangros *et al.*, 1994 ; Jeangros & Scehovic, 1996). Considérant ces principaux facteurs liés aux pratiques, deux niveaux de fertilisation azotée et deux fréquences de coupe ont été étudiées avec leurs combinaisons. L'exploitation des parcelles par des régimes de coupe a été choisie afin d'éviter les composantes du pâturage comme la défoliation inégale, les restitutions et le piétinement, qui contribuent à la nature hétérogène des couverts végétaux pâturés (Marriott & Carrère, 1998). Les deux régimes de fréquence de coupe (3 ou 6 coupes par an) simulent en fait, des systèmes agricoles relativement bien exploités. Le traitement à six coupes par an représente un rythme de pâture. Inversement, dans le rythme à trois coupes par an, qui correspond à une exploitation pour le foin, la première coupe est effectuée au stade pleine épiaison pour la plupart des espèces de graminées (fin mai ou début juin), et permet une forte expression du développement reproductif. Les niveaux d'azote apportés (120 et 360 kg N/ha/an) ont été choisis de façon à obtenir des conditions soit de déficience soit de non limitation pour les couverts végétaux de l'élément considéré. En combinant les deux facteurs de gestion, on obtient une gamme allant de traitements assez intensifs (6 coupes par an et 360 kg N/ha/an) à des traitements plus extensifs (3 coupes par an et 120 kg N/ha/an)

La hauteur de coupe constitue une autre composante importante de l'intensité d'utilisation. Elle peut avoir un impact sur la repousse et la survie des plantes du fait des variations : (i) de la quantité de réserves (glucidiques et azotées) (Fulkerson & Slack, 2003). (ii) des surfaces foliaires photosynthétiquement actives après la coupe (Binnie & Chestnutt, 1991). Hume (1991) a rapporté une faible dépendance de la production par rapport à la hauteur de la coupe, dans une étude avec *Bromus willdenowii* et deux espèces de *Lolium perenne*. Dans notre expérimentation, une hauteur fixe de 6 cm a été choisie. Cette hauteur est fréquemment utilisée dans les expérimentations qui analysent les effets du rythme de coupe sur la performance, soit au niveau de la communauté (Kramberger & Gselman, 2000 ; Belesky *et al.*, 2002), soit au niveau des espèces (Duru *et al.*, 1995 ; D'Angelo *et al.*, 2004). Elle correspond aussi aux pratiques agricoles sur la prairie permanente qui utilisent la coupe pour la récolte de la biomasse.

La période de l'année où les pratiques (régime des coupes) sont mises en oeuvre a aussi un grand effet sur la performance des espèces (Hume, 1991 ; Duru *et al.*, 1998), du fait de différences de stade phénologiques. La morphologie ultérieure de la prairie dépendra essentiellement du fait que la coupe aura, ou non, enlevé les apex reproducteurs (Gillet, 1980). Cependant, malgré des différences de phénologie entre espèces (présence d'espèces précoces comme *Alopecurus pratensis* ou tardives comme *Elytrigia repens*) des dates fixes de

coupe ont été établies. Ces dates ont été fixées pour mieux comparer les effets des traitements, de façon à éviter des interactions avec des conditions climatiques, lorsque la durée de repousse varie. La réalisation des coupes aux mêmes dates nous a permis de mesurer les traits pour toutes les espèces au même âge après trois semaines de repousse. Cela permet d'effectuer ces mesures dans des conditions standardisées et dans les mêmes conditions environnementales (limitation de l'impact climatique).

- Pourquoi étudier la production aérienne et la valeur nutritive ?

Indépendamment du système d'élevage, l'un des objectifs majeur des éleveurs est d'optimiser la production et d'en limiter les coûts induits. Pour cela, l'éleveur doit gérer sa prairie pour fournir au cheptel un fourrage de bonne qualité nutritive et en quantité suffisante. Avec l'objectif de caractériser la performance des espèces natives prairiales selon ces critères, trois variables reflétant la quantité et la qualité de la biomasse aérienne produite ont été étudiées : la productivité primaire aérienne (accumulation de la biomasse), sa teneur en matières azotées totales et sa digestibilité. Les objectifs de cette thèse en ce qui concerne la qualité ont été limités à la valeur nutritive du fourrage. Nous n'avons pas non plus abordé les choix alimentaires des herbivores.

La production mesurée correspond à la biomasse aérienne récoltée (somme de 3 ou 6 coupes par an) par coupe mécanique à 6 cm de hauteur. L'objectif est de déterminer la production récoltable pour un mode d'exploitation donné, et non pas de mesurer le potentiel de production des espèces.

La valeur nutritive des espèces a aussi été déterminée aux dates de récolte, en fonction des deux régimes de coupe. Comme les analyses chimiques végétales sont consommatrices de temps et coûteuses, la méthode SPIR (spectrométrie dans le proche infrarouge) a été adoptée. Grâce à cette méthode, la digestibilité, la teneur en composés pariétaux et la teneur en azote ont pu être déterminés pour toutes les espèces, dates, années et traitements (soit pour plus de 2000 échantillons). La méthode SPIR permet d'estimer précisément la valeur nutritive dès lors que des courbes de calibration appropriées sont utilisées (Sinnaeve *et al.*, 1994 ; Park *et al.*, 1998 ; Stuth *et al.*, 2003). Bruinenberg *et al.* (2002) ont rapporté que des calibrations SPIR réalisées avec *Lolium perenne* ne sont pas directement extrapolables aux graminées natives. Pour une prédiction plus précise de la valeur nutritive des espèces natives, des courbes de calibrations basées sur ces espèces sont essentielles. Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'équipe Relations Animal Plante et Aliment de l'Unité de Recherche sur les Herbivores du centre INRA de Clermont-Theix-Lyon.

Afin de connaître les différences entre espèces à même stade phénologique, la dernière année de l'expérimentation (2005) a été consacrée à la détermination de la valeur nutritive aux différents stades phénologiques des graminées (végétatif, montaison, épiaison, floraison et maturation) afin de pouvoir classer les espèces par rapport à leur qualité à un stade donné. Cette démarche a été réalisée grâce à la suppression des coupes durant toute la première partie de l'année sur la moitié des parcelles. Par la même, nous avons permis le plein développement reproducteur des espèces qui ont pu atteindre un stade de maturation avancé (dispersion des graines), qui équivaut à un stade foin très mur.

- Pourquoi étudier les traits ?

Les traits mesurés ont été choisis sur la base des connaissances bibliographiques concernant les traits de réponse et d'effet des graminées (Hodgson *et al.*, 1999 ; Diaz *et al.*, 2004 ; Garnier *et al.*, 2004 ; Louault *et al.*, 2005). Ils sont des descripteurs : morphologiques, ils décrivent la plante en place (hauteur végétative, longueur du limbe, etc) ; foliaires, indicateurs de l'écophysiologie de la plante (surface spécifique des feuilles, teneur en matière sèche, teneur en azote des limbes) ; de régénération (poids d'une graine) ou reproductifs (hauteur des épis, date d'épiaison). Des descripteurs moins accessibles (« *hard traits* »¹⁵) ont également été mesurés, comme les concentrations en parois (hémicellulose, cellulose et lignine) de la partie aérienne des plantes. Selon Cornelissen *et al.* (2003), la combinaison de « *soft traits* » avec des « *hard traits* » peut aider à tester la signification et la validité des hypothèses de la littérature et à en formuler des nouvelles. Ces traits ont été mesurés avec le principal objectif d'étudier les bases fonctionnelles de la valeur agronomique des graminées prairiales. Dans le cadre de ce travail de thèse, seul les traits aériens sont considérés, même si des traits racinaires ont été mesurés par ailleurs dans le même dispositif.

2.3- Contenu et plan du manuscrit de thèse

La suite de ce manuscrit de thèse est structurée en quatre chapitres : une description détaillée du Matériel et Méthodes suivie de trois chapitres de résultats, présentés chacun sous la forme d'un projet d'article en anglais¹⁶. Ces manuscrits seront soumis prochainement.

¹⁵ Traits plus difficile à acquérir mais qui fournissent de meilleures indications sur les réponse ou sur les effets des espèces sur les écosystèmes ou biomes (Hodgson *et al.*, 1999 ; Lavorel & Garnier, 2002 ; Cornelissen *et al.*, 2003). A l'inverse, les « *soft traits* » sont relativement faciles et rapides à obtenir.

¹⁶ Les méthodes propres à chacune de ces études sont décrites dans le chapitre concerné.

Le premier chapitre de résultat (Chap. 4) se focalise sur la production et la valeur nutritive des espèces prairiales. L'objectif est de caractériser la réponse des espèces natives aux changements de fréquence de coupe et de niveau de fertilisation azotée en prenant en compte les facteurs saison et année. L'évolution de la production et de la valeur nutritive tout au long de l'année (saisonnalité), constitue en effet un important critère des modes d'exploitation.

Les deux autres chapitres de résultats (Chap. 5 et 6) partent de l'hypothèse selon laquelle certains processus écosystémiques peuvent être prédits à partir des traits des espèces (Poorter & Jong, 1999 ; Craine *et al.*, 2002 ; Lavorel & Garnier, 2002 ; Pywell *et al.*, 2003 ; Garnier *et al.*, 2004). Cette hypothèse a été testée expérimentalement pour chacune des monocultures. L'importance des effets intrinsèques des espèces mais aussi de la plasticité des traits, définie comme la variation des valeurs des traits induite par les facteurs de gestion, constitue une des originalités de l'approche utilisée dans ce travail.

Le **chapitre cinq** est consacré à tester les relations entre des traits foliaires appelés « *functional markers* » (la surface spécifique foliaire, la teneur en matière sèche et la teneur en azote des limbes, Garnier *et al.*, 2004) avec la production et la valeur nutritive des espèces de graminées natives. Ces traits sont connus pour leur rôle sur les cycles du carbone et de l'azote (Reich *et al.*, 1992 ; Lavorel & Garnier, 2002), et ils peuvent expliquer la variation interspécifique du taux de croissance (Garnier, 1992 ; Lambers & Poorter, 1992 ; Hunt & Cornelissen, 1997 ; Reich *et al.*, 1998). Ils constituent également des indicateurs de la disponibilité en ressources (Garnier *et al.*, 2001 ; Al Haj Khaled *et al.*, 2005) et des stratégies des espèces végétales (Wilson *et al.*, 1999 ; Vendramini *et al.*, 2002). Nous testons l'hypothèse selon laquelle ces trois traits sont des *traits d'effet* sur la production et la valeur nutritive. Au-delà de leurs effets sur les caractéristiques agronomiques, on testera leur capacité à classer les espèces d'une manière similaire selon les modalités des traitements (fréquence de coupe et disponibilité en azote).

Dans le **chapitre six**, nous abordons une approche plus large sur les relations entre les traits et les caractéristiques agronomiques des espèces de graminées natives. Nous testerons le rôle des autres traits foliaires (i.e. la durée de vie des feuilles) et des traits de la plante (i.e. la longueur de la talle) pour la productivité et la valeur nutritive des espèces prairiales. Les valeurs d'un trait sont souvent dépendantes des valeurs d'autres traits. Par exemple, les stratégies de capture ou de conservation de ressources des espèces végétales sont bien caractérisées par un ensemble de traits qui covarient entre eux. Toutefois, différentes relations entre les traits peuvent intervenir pour des espèces qui co-existent (Wright *et al.*, 2005). On

cherchera à tester les relations entre les traits (foliaires et de la plante) et leurs implications pour le fonctionnement des espèces étudiées. Les traits de réponse aux modifications des conditions environnementales peuvent être aussi des traits d'effet pour les processus de l'écosystème (Lavorel & Garnier, 2002). Nous testerons l'importance de la plasticité des traits en réponse aux facteurs de gestion (fréquence de coupe et disponibilité en azote). Nous analyserons également comment la plasticité interagit avec les modifications de production et de qualité des espèces en réponse aux mêmes facteurs.

Le dernier chapitre constitue une discussion générale qui rassemble les principaux résultats de ce travail dans une synthèse, qui relie les éléments des différents chapitres pour évaluer le rôle global de traits sur la performance des graminées natives étudiées et aborder les perspectives de ce travail. Ce chapitre intègre des éléments relatifs à la composition morphologique et de la phénologie sur la valeur nutritive des espèces de graminées natives. La caractérisation de la valeur nutritive aux différents stades phénologiques permettra de classer les espèces selon les critères de qualité à même stade.

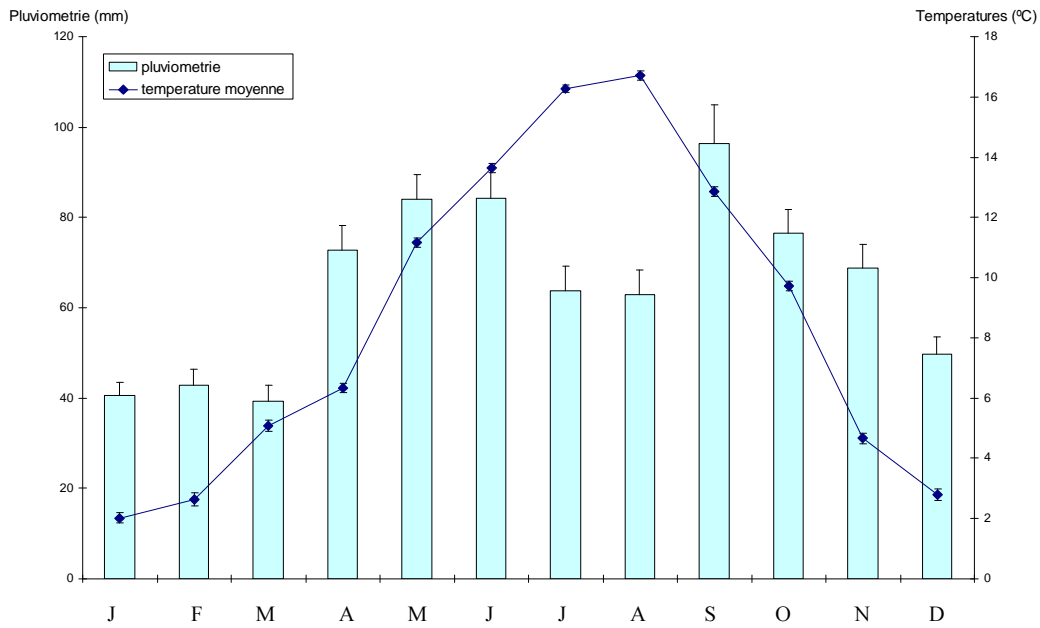


Figure 3-1. Pluviométrie et température moyennes sur 17 ans (1986 à 2002). Station météorologique de Saint Genès-Champanelle (870 m altitude).

CHAPITRE 3 :

MATERIEL ET METHODES

3.1- Caractérisation générale du dispositif expérimental

3.1.1- Caractéristiques du site

Le dispositif expérimental a été implanté sur le site de l'INRA de Theix (45°43'N, 03°01'E ; Puy de Dôme) à 870 m d'altitude.

Le climat est du type semi-continental de moyenne montagne (Figure 3-1). La température moyenne annuelle estimée sur une période de dix sept ans (1986-2002) est de 9 °C, avec des variations des moyennes mensuelles allant de 2 °C (janvier/février) à 17 °C (juillet/août). Sur la même période, les précipitations annuelles cumulées sont de 760 mm avec des périodes plus humides en mai-juin et septembre-octobre. Les données de températures et précipitations mensuelles entre 2002 et 2005 figurent dans l'Annexe 3-1. La période d'expérimentation se caractérise par des années atypiques par rapport au climat moyen enregistré sur les 17 années précédentes. Elles présentent des épisodes de sécheresse printanière importants : avril 2002, avril-mai 2003, mai-juin 2004, où les précipitations mesurées correspondent à seulement 20-40% des précipitations moyennes ; des épisodes caniculaires comme en 2003, durant lesquels les températures moyennes entre juin et août sont supérieures en moyenne de 3,5 °C aux moyennes mensuelles enregistrées entre 1986 et 2002.

Le sol est de type « brun acide » (classifié comme un Cambisol selon la FAO) sur substrats granitique et basaltique mélangés. Les analyses réalisées en 2001 à partir de prélèvements avant implantation du dispositif font apparaître une texture sablo-limoneuse (42,7 % sable, 36,1 % limons, 21,2 % argile), avec une teneur en matière organique de 5,2 % et un pH (H₂O) de 6 à 6,5.

3.1.2- Choix des espèces étudiées

Ces espèces ont été choisies selon différents critères :

1) Espèces dominantes dans les communautés prairiales correspondant à des prairies fauchées et pâturées de fertilité moyenne. Cette sélection a été réalisée à partir des résultats d'études antérieures en prairies permanentes de moyenne montagne conduites dans l'équipe

Tableau 3-1. Caractéristiques des sites de récolte des graines des espèces du dispositif expérimental (collection).

	Theix	Redon	Laqueuille
Longitude	45°42'37''N	45°42'42''N	45°37'13''N
Latitude	3°00'51''E	3°03'01''E	2°46'06''E
Altitude (m)	870	850	1040
Sol			
Argile (%)	25	12	16
Limons (%)	22	17	56
Sable (%)	53	59	28
Matière organique (%)	5.5	13	18
pH (H ₂ O)	6.2	5.4	5.3

Tableau 3-2. Pourcentage de germination en test et densité de semis des espèces de graminées semées en collection à Theix (Massif-Central, France).

Species	Pourcentage de germination en test	Densité de semis réalisée (semences/m ²)
<i>Alopecurus pratensis</i>	90	300
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	70	800
<i>Arrhenatherum elatius</i>	61	325
<i>Dactylis glomerata</i>	79	800
<i>Elytrigia repens</i>	72	27
<i>Festuca arundinacea</i>	84	670
<i>Festuca rubra</i>	93	400
<i>Holcus lanatus</i>	99	800
<i>Lolium perenne</i>	76	720
<i>Lolium perenne</i> cv. Clerpin	-	800
<i>Phleum pratense</i>	74	670
<i>Poa pratensis</i>	43	800
<i>Poa trivialis</i>	80	800
<i>Trisetum flavescens</i>	98	600

FGEP, notamment un essai de pâturage de longue durée (Louault *et al.*, 2005). Nous avons identifié les espèces de Poacées dominantes recensées dans cette étude.

2) Espèces qui malgré leur plus faible contribution à la biomasse des communautés sont rencontrées avec une forte fréquence dans les prairies permanentes (e.g. *Phleum pratense*, *Poa trivialis*).

3) Espèces d'intérêt, c'est à dire présentant des caractéristiques écologiques et biologiques particulières comme, par exemple, la précocité pour *Alopecurus pratensis*, ou la faible exigence en nutriment pour *Cynosurus cristatus*.

4) Enfin nous avons complété nos critères de sélection en balayant un gradient d'exigence en nutriments (de indifférence à forte exigence), sur la base de la classification proposée par Ellenberg *et al.* (1992), et en intégrant différentes stratégies de croissance, en se basant sur la classification CSR de Grime *et al.* (1988).

En fonction de ces critères, quinze espèces avaient été sélectionnées. Elles constituent des espèces présentes dans les communautés de la classe *Arrhenatheretea* (Guinochet, 1970), qui, classiquement, correspondent aux communautés prairiales des prairies permanentes de moyenne montagne continentale humide. Les semences de chacune des espèces sélectionnées ont été récoltées manuellement durant l'été 2000 dans des parcelles connues, car intégrées soit dans un dispositif long terme (site de Theix), soit dans un réseau de parcelles suivies de longue date (dispositifs de Redon, INRA Theix et de Laqueuille, INRA UE des Monts Dore). En combinant ces trois dispositifs, cela nous a permis d'intégrer dans les récoltes de graines une variabilité due soit à la nature des habitats (altitude de 900 à 1000 m, sols bruns plus ou moins profonds à Theix et andosols à Laqueuille) ; soit à la fertilité des prairies (de modérée à forte), soit à la gestion dominante (intensité d'utilisation, pâturage ou fauche dominante) (Tableau 3-1).

Les semences récoltées ont été nettoyées et triées. La proportion de semences viables a été déterminée par des tests de germination réalisés dans des conditions standardisées : sur papier filtre humide à l'ombre à 20°C. Au début, une densité de 600 graines m⁻² a été souhaitée mais, à partir du pourcentage de germination et des quantités de semences disponibles, nous avons établi la densité de semis à appliquer comme montré au Tableau 3-2. L'une des espèces, *Agrostis capillaris* n'a pas pu être maintenue dans la sélection, malgré sa fréquente occurrence dans les prairies de moyenne montagne humide, en raison de la difficulté de son implantation à partir des graines disponibles. Au final, en 2001, quatorze espèces de graminées ont été conservées pour constituer la collection de Poacées : *Alopecurus pratensis*, *Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Cynosurus cristatus*, *Dactylis*

Tableau 3-3. Espèces de Poacées étudiées en collection à Theix, nom commun français, abréviation, indice d'exigence en nutriments d'Ellenberg *et al.* (1992) (N_E) et classification selon les stratégies proposées par Grime *et al.* (1988).

Espèce	Nom commun	Abréviation	N _E	Stratégie
<i>Alopecurus pratensis</i> L.	Vulpin	Ap	7	C/CSR
<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	Flouve	Ao	3#	SR/CSR
<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) J. et C.PRESL	Fromental	Ae	7	C/CSR
<i>Cynosurus cristatus</i> L.	Crételle	Cc*	4	CSR
<i>Dactylis glomerata</i> L.	Dactyle	Dg	6	C/CSR
<i>Elytrigia repens</i> (L.) Gould	Chiendent	Er	7	C/CR
<i>Festuca arundinacea</i> Schreb	Fétuque élevée	Fa	5	CSR
<i>Festuca rubra</i> L.	Fétuque rouge	Fr	3#	CSR
<i>Holcus lanatus</i> L.	Houlque laineuse	Hl	5	CSR
<i>Lolium perenne</i> L.	Ray-grass anglais	Lp	7	CR/CSR
<i>Lolium perenne</i> cv.. <i>Clerpin</i>	Clerpin	Cl**	7	CR/CSR
<i>Phleum pratense</i> L.	Fléole	Php	7	CR/CSR
<i>Poa pratensis</i> L.	Pâturin des près	Pp	6	CSR
<i>Poa trivialis</i> L.	Pâturin commun	Pt	7	CR/CSR
<i>Trisetum flavescens</i> (L.) Beauv.	Trisette	Tf	5	CSR

* Espèce implantée mais disparue en 2001 suite au gel.

** Cultivar implanté en tant que témoin sur les parcelles libérées par la Crételle, suite à la gelée.

X : indifférent ; C : Compétiteur ; SR : Stress – tolérant et rudéral ; CR : Compétiteur rudéral ; CSR : stratégiste ;

Selon Ellenberg (1988) cité par Elberse & Berendse (1993).

glomerata, *Elytrigia repens*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis* et *Trisetum flavescens*. Les codes utilisés pour identifier chaque espèce dans la suite de ce travail, leurs noms communs, ainsi que leurs exigences en nutriments et leur stratégie sont synthétisés dans le Tableau 3-3.

3.1.3- Dispositif expérimental

Pour implanter la collection de Poacées, nous avons sélectionné une parcelle assez homogène de 3000 m² environ, utilisée précédemment pour des essais de sélection (Amélioration des pantes, réseau CTPS). Les cultures antérieures comprenaient des légumineuses (trèfle-violet). Le dispositif expérimental intègre plusieurs objectifs :

- avoir des placettes cultivées en pur (pour les 14 espèces), ou en association binaire avec un cultivar de *Dactylis glomerata* pour six espèces ou en mélange de six espèces natives de graminées prairiales ;
- appliquer des gestions contrastées en croisant deux niveaux de fertilisation azotée (limitante et non limitante) et deux niveaux de perturbation (forte ou faible fréquence de coupe)
- avoir des répétitions (blocs complets)

La prise en compte de ces trois impératifs nous a conduit à construire un dispositif factoriel complet composé de 288 parcelles de 4.2 m² (1.5 x 2.8 m) (Figure 3-2) réparties en trois blocs complets. Le schéma expérimental est présenté en Annexe 3-2. 156 parcelles sont implantées en culture pure (Pur, 14 poacées natives sont testées), 72 correspondent à l'association d'une poacée native et d'un cultivar compétiteur (Binaires, six combinaisons sont testées) et 36 correspondent à des mélanges de 6 poacées natives (Mélanges, trois mélanges sont testés). 12 parcelles correspondent au compétiteur (cultivar de *Dactylis glomerata*) utilisé dans les associations binaires. Seules les parcelles implantées en culture pure sont intégrées à ce travail de thèse.

3.1.4- Mise en place et entretien du dispositif expérimental

Le semis : Les parcelles du dispositif ont été semées les 30 et 31 mai 2001 avec un semoir de type HEGE 75. Le semis a été réalisé en lignes ; chaque parcelle comporte 8 rangs espacés de 18 cm (Figure 3-2).

L'implantation : La levée a été suivie tout au long du printemps (notations visuelles). L'entretien des parcelles a consisté en un ramassage régulier des cailloux (pour faciliter

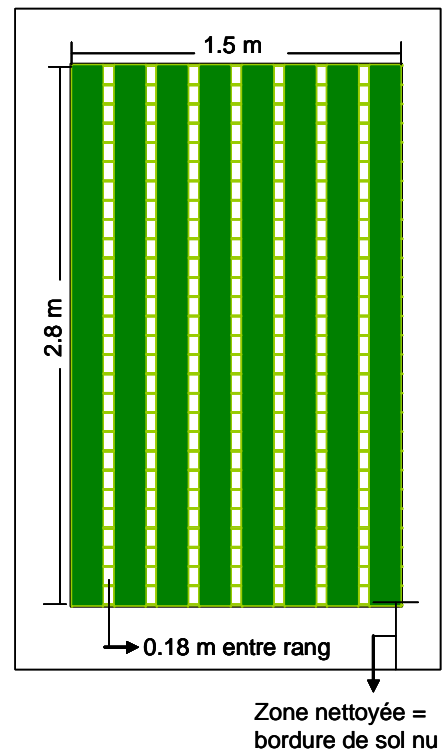
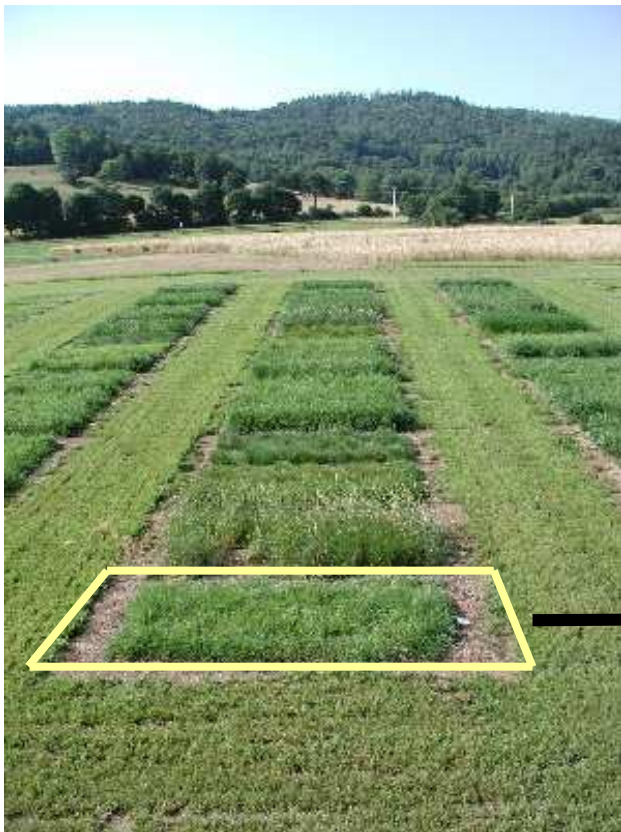


Figure 3-2. Photographie des parcelles de Poacées de la collection à Theix et schéma d'une parcelle.

l'implantation des jeunes plantes) et en un désherbage manuel pour limiter le développement des adventices. A l'automne, un désherbage chimique par un désherbant sélectif anti-dicotylédone a été réalisé. A cause d'un déficit hydrique en juin, une irrigation a été réalisée en juillet (apport de 55 mm). La coupe de régularisation a eu lieu le 15 octobre (hauteur 6cm). Une estimation du recouvrement des parcelles réalisée suite à la coupe a montré une relativement mauvaise implantation dans certaines parcelles. Pour y remédier, des plantes vigoureuses et saines ont été prélevées, fractionnées et transplantées dans des bacs et multipliées en serre. Les repiquages des plantes issues de la multiplication ont été réalisés en avril 2002.

Durant l'hiver 2001-2002 des gelées sévères et tardives ont provoqué un fort taux de mortalité des jeunes plantes. En particulier, les parcelles de crételle (*Cynosurus cristatus*) ont subi des dommages extrêmement importants. Il a donc été fait le choix de remplacer cette espèce par un cultivar de ray-grass anglais *Lolium perenne* cv. Clerpin, ce qui nous permet d'avoir une espèce commune (contrôle) avec d'autres collections réalisées en France, en particulier sur le site de Toulouse (Al Haj Khaled, 2005). Ainsi, la collection est composée, pour les parcelles cultivées en pur, de 13 espèces natives et du cultivar « Clerpin » de *Lolium perenne*.

3.2- Traitements expérimentaux

Le schéma expérimental permet d'obtenir un dispositif factoriel en bloc complet qui permet de suivre le comportement des 13 espèces sous l'effet des facteurs de gestion, fréquence de coupe et niveaux de nutrition azotée, avec 3 répétitions par traitement (12 parcelles par espèce ou association). Chaque bloc comprend 96 parcelles (Purs, Binaires et Mélange).

Le dispositif expérimental comprend deux régimes de fauche (3 et 6 coupes par an, respectivement, C- et C+) et deux niveaux de fertilisation azotée (N- et N+, 120 et 360 kg N ha⁻¹ an⁻¹). Le croisement de ces deux facteurs permet d'obtenir 4 traitements (C+N+, C+N-, C-N+ et C-N-).

3.2.1- Modalités d'application des régimes de fauche

Les coupes fréquentes (C+) ont été effectuées avec une fréquence mensuelle (période de repousse d'environ 30 jours). Les coupes peu fréquentes (C-) ont été réalisées avec une périodicité bimensuelle. Ainsi, les deuxièmes, quatrièmes et sixièmes coupes de l'année sont

Tableau 3-4. Fertilisation azotée. Apports par traitement (kg N ha⁻¹).

Coupes	C+		C-	
	N+	N-	N+	N-
Fin Mars/début Avril	60	20	120	40
Coupe 1	60	20	-	-
Coupe 2	60	20	120	40
Coupe 3	60	20	-	-
Coupe 4	60	20	120	40
Coupe 5	60	20	-	-
Total annuel (kg N ha ⁻¹ an ⁻¹)	360	120	360	120

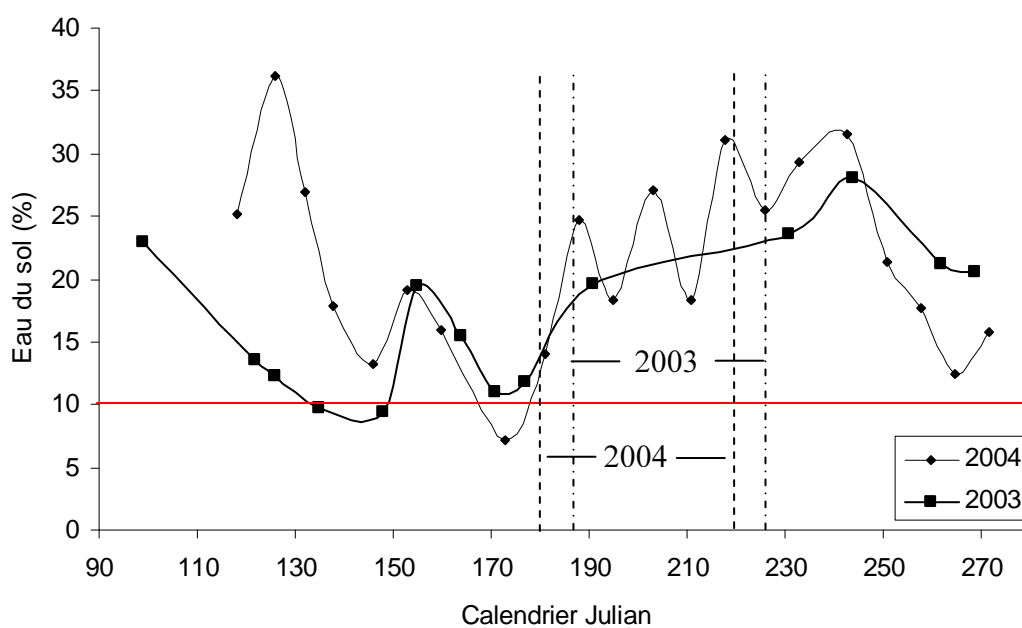


Figure 3-3. Contenu volumétrique en eau au sol (TDR) dans les parcelles de l'expérimentation à Theix pour 2003 et 2004. La ligne rouge figure le seuil d'alerte déclenchant la mise en place du système d'irrigation. Les intervalles de jours 188 à 227 pour 2003 et à 180 à 218 pour 2004 correspondent aux périodes pour lesquelles l'irrigation a été mise en place.

réalisées simultanément sur les deux traitements (C- et C+), et sont dénommées « coupes communes ». L'Annexe 3-3 donne le calendrier des coupes entre 2002 et 2005.

La première coupe commune réalisée le 21 mai 2002 a été une coupe de régularisation. La discrimination des traitements a donc concrètement commencé à partir de la deuxième coupe. Les coupes ont été effectuées à 6 cm du sol par une faucheuse récolteuse (Haldrup, Logstor, Danemark). Cette hauteur de coupe a été choisie pour être proche de la gestion effectuée sur les prairies permanentes (Belesky *et al.*, 2002 ; Kramberger & Gselman, 2000).

3.2.2- Modalités d'application des traitements azotés

Les quantités d'azote à apporter annuellement dans chacun des deux traitements sont fractionnées selon le rythme des coupes (Tableau 3-4). L'épandage de l'engrais (Ammonitrate, 33.5 %) se fait environ 5 jours après coupe.

3.3- Entretien du dispositif expérimental

Il n'y a pas eu de fumure de fond en 2002. Puis chaque année, on a apporté du P₂O₅ (80 kg/an) et du K₂O (240 kg/an). Le P₂O₅ a été apporté en une seule application en mars, le K₂O a été apporté en trois apports fractionnés au cours du printemps. La détermination des doses apportées est raisonnée en fonction des indices de nutrition P, K mesurés chaque année, de manière à ce que ces deux éléments ne soient pas limitants pour la croissance des espèces.

Le développement des espèces adventices a été suivi régulièrement. Avant la première et après la dernière coupe de l'année un désherbage a été fait autour des parcelles en utilisant du Glyphosate à la concentration de 10ml/l H₂O. En complément, deux fois par an (printemps et automne) un désherbant sélectif des gazons de graminées (fluroxypyr + clopyralid + 2.4-m cpa) a été utilisé avec un dosage de 4 l/ha sur les parcelles pendant toutes les années d'expérimentation. Un désherbage manuel à l'intérieur des parcelles a été réalisé aussi fréquemment que nécessaire.

Un suivi régulier de l'état hydrique des parcelles a été mis en place au moyen de mesures par sonde TDR (Time Domain Reflectometry, Trime-FM, Medfield, USA) (Figure 3-3). Ces mesures ont été réalisées chaque semaine, avec la sonde P3Z, sur des parcelles de référence (parcelle de « *Dactylis glomerata* », 12 parcelles). Trois mesures distantes de 50 cm ont été effectuées par parcelle. Lorsque le résultat des mesures TDR indiquait une teneur en

eau du sol en dessous de 10%, une irrigation a été apportée. En 2003, 100 mm (5 fois 20 mm) d'eau ont été apportés entre le 7 juillet et le 15 août, En 2004, 100 mm (40+40+20) ont été apportés entre le 28 juin et le 5 août.

3.4- Mesures

3.4.1- Départ en végétation

A partir du premier mars (2003 à 2005), chaque semaine, une note de 0 à 6 a été attribuée à toutes les parcelles cultivées en pur pour caractériser leur état de verdissement, signe du redémarrage de la végétation. Une note de zéro indique que plus de 95% de la biomasse est sèche (jaune-gris) alors qu'une note de 6 indique que plus de 95% de la biomasse est verte. Cette mesure nous a permis d'identifier de manière simple par observation visuelle la date de démarrage végétatif pour chaque espèce lorsque la note 6 était atteinte.

3.4.2- Interception du rayonnement

En 2003, chaque semaine l'interception du rayonnement (PAR, Photosynthetically Active Radiation) a été mesurée en utilisant un ceptomètre (Sunfleck Ceptometer, Delta-T, Cambridge, UK) placé au niveau du sol et au dessus du couvert. La différence entre les deux mesures représente le rayonnement intercepté par le couvert. Pour chaque mesure, le ceptomètre a été placé de manière perpendiculaire aux rangs, à 50 cm de chaque extrémité de la parcelle et les mesures ont été réalisées entre 10 et 16h.

3.4.3- Production de matière sèche

Les coupes ont été réalisées à 6 cm au dessus du niveau du sol par une motofaucheuse équipée d'un système de pesée et de récolte (Haldrup, Logstor, Denmark). Pour chaque parcelle, la matière fraîche récoltée à chaque date de coupe a été enregistrée (MF_{rec} , t). Un échantillon d'environ 300g de matière fraîche a été prélevé sur chaque parcelle, il est pesé en frais (MF_{ech}) puis pesé en sec (MS_{ech}) après passage à l'étuve 48 heures à 60° C. La teneur en matière sèche de l'échantillon (% MS_{ech}) a été calculée par le rapport MS_{ech}/MF_{ech} . La matière sèche récoltée est le produit de MF_{rec} par % MS_{ech} .

A partir de la récolte de matière fraîche et de la teneur en matière sèche, nous avons calculé la production de matière sèche de chaque parcelle. La somme des productions aux 3 ou 6 dates de coupes (pour C- et C+ respectivement) permet de calculer la production annuelle de biomasse.

3.4.4- Indices de nutrition en Azote (INN), Phosphore (INP) et Potassium (INK)

Dans notre expérimentation, le niveau de fertilisation azotée a été contrôlé par l'indice de nutrition azotée (INN, Lemaire & Gastal, 1997). Cet indice est dérivé de la concentration en N dans la plante. Il est basé sur le concept de la concentration critique en N qui est définie comme la concentration minimum en N dans la partie aérienne nécessaire pour obtenir la croissance maximale (Farruggia *et al.*, 2004). Cette concentration critique est liée à l'accumulation de matière sèche (MS, t MS ha⁻¹) selon l'équation de référence pour les espèces C₃ établie par Lemaire & Salette (1984) pour des valeurs de matière sèche supérieures à 1t ha⁻¹ :

$$N_{\text{crit}} = 4.8 (\text{MS})^{-0.32}$$

La matière sèche correspond pour chaque parcelle à la biomasse récoltée à chaque coupe (cf 4.3). L'indice de nutrition en azote (l'INN) est alors calculé comme le ratio entre la concentration d'azote (N%) dans la matière sèche récoltée et la concentration critique en azote (N_{crit}) :

$$\text{INN} = \text{N\%} / N_{\text{crit}}$$

Pour les quantités de biomasse inférieures à 1 t ha⁻¹, nous avons utilisé l'équation proposée par Balent *et al.* (1997) :

$$\text{INN} = \%N / 4.8$$

A chaque coupe, l'échantillon de matière fraîche prélevé dans chaque parcelle expérimentale en pur, puis séché (48 h à 60°C) pour déterminer le taux de matière sèche du fourrage a été ensuite broyé à 1 mm dans un broyeur à couteaux (Retsch, Type SM 1, Haan, Germany).

Les valeurs des apports dans le traitement N- (120 kg N ha⁻¹ an⁻¹) et dans le traitement N+ (360 kg N ha⁻¹ an⁻¹) ont été estimées au début de l'expérience de façon à obtenir des INN limitant ou non limitant pour les traitements N- et N+, respectivement. Afin d'avoir un contrôle pendant la période expérimentale, l'INN calculé sur les poudres de *Dactylis glomerata* analysées par la méthode Kjeldahl (2300 Kjeltec Analyser Unit, FOSS Tecator, Höganäs, Sweden) pour calculer le %N dans la matière sèche a servi de référence pour évaluer les apports de la fertilisation.

Pour les autres espèces, la teneur en N a été estimée par une calibration issue d'une méthode spectrométrique : les poudres ont été passées en analyse spectrale de réflectance proche infrarouge (NIRS, 6500 FOSS), et leur %N été calculé via une équation de calibration

établie à partir d'une base de données pour les fourrages (Col. RAPA, URH, INRA-Theix). Les INN de chaque espèce ont ensuite été calculés à partir des équations précédemment décrites.

Les indices de nutrition pour le phosphore (IP) et le potassium (IK) ont aussi été calculés à partir des méthodes développées par Duru (1992) et Duru & Calvière (1996).

$$IP = \%P / (0.15 + 0.065 \%N)$$

$$IK = \%K / (1.6 + 0.525 \%N)$$

L'évolution de ces indices nous a permis de vérifier que les apports de fertilisation P et K permettaient une alimentation non limitante des Poacées cultivées dans la collection. Les concentrations en P et K ont été déterminées à partir des échantillons de biomasse prélevés sur les parcelles de *Dactylis glomerata* après chaque coupe commune en 2003 et pour toutes les coupes en 2004. Les dosages de P et K ont été réalisés par le laboratoire d'analyses végétales de l'INRA à Bordeaux, selon la méthode ICP-Radial.

3.4.5- Mesures des traits foliaires et des traits de la plante entière

Les mesures des traits ont été réalisées deux fois par an, en juin et en septembre, trois semaines environ après la coupe commune de printemps (C2) et d'été (C4), afin de mesurer des traits sur une végétation de même âge de repousse (Cornelissen *et al.*, 2003). Ces mesures ont suivi un protocole standardisé (Garnier *et al.* 2001a). Deux campagnes ont été faites, en 2003 et 2004, sur les 168 parcelles pures.

Le premier trait mesuré est la hauteur du couvert *in situ* (H, mm), qui est estimée à partir de 10 mesures du premier contact des feuilles vertes réalisées, au hasard, avec un herbomètre de type « stick » (Bircham, 1981).

La méthodologie utilisée pour mesurer les autres traits est basée sur le prélèvement de 12 talles végétatives intactes par parcelle. Pour assurer un bon échantillonnage de la parcelle, sa surface a été virtuellement découpée en quatre, et trois talles intactes ont été prélevées au hasard dans chacun des quarts. La talle intacte prélevée correspond à une talle dont la dernière feuille mature était entière. Ces talles sont conservées dans du papier filtre humidifié, maintenues au froid dans une glacière pour limiter leur dessèchement, et ramenées au laboratoire. Sur les douze talles prélevées, seules dix ont été utilisées pour mesurer les traits. La valeur d'un trait pour une parcelle à une date donnée correspond à la moyenne des traits mesurés sur les 10 talles.

Tableau 3-5. Liste des traits mesurés (*), calculés (●) ou estimés (▲) (voir texte pour détail).

Traits	Code	Unité
<u>Traits foliaires</u>		
*Longueur du limbe	LL	mm
*Surface du limbe	LA	cm ²
*Masse fraîche du limbe	LFM	mg MF
*Masse sèche du limbe	LDM	mg MS
● Surface spécifique du limbe	SLA	m ² kg ⁻¹ MS
● Teneur en matière sèche du limbe	LDMC	mg g ⁻¹
*Phyllochrone	PH	°jour
● Durée de vie des feuilles	LLS	°jour
*Teneur en azote du limbe	LNC	mg g ⁻¹ MS
<u>Traits de la plante entière</u>		
*Nombre de feuilles en croissance	NG	talle ⁻¹
*Nombre de feuilles matures vertes	NM	talle ⁻¹
*Longueur de la gaine	SL	mm
*Hauteur étirée de la talle végétative	VE	mm
*Hauteur étirée de la talle reproductive	ME	cm
<u>Traits de la population</u>		
*Hauteur du couvert (1 ^{er} contact)	H	cm
● Contenu cellulaire soluble	C1	g kg ⁻¹
● Contenu en hémicellulose	C2	g kg ⁻¹
● Contenu en cellulose et lignine	C3	g kg ⁻¹
● Densité de talles végétatives	VTD	talles/m ²
● Densité de talles reproductives	RTD	talles/m ²
● Densité totale de talles	TD	talles/m ²
*Masse d'un graine	SM	mg
*Date de début d'épiaison	BF	°jour
*Démarrage végétatif	EG	-
▲ Croissance clonale	CG	-

Quatre traits sont déterminés sur la talle entière. Sont comptés le nombre de feuilles en croissance (NG) et le nombre de feuilles matures (NM) vertes, quel que soit leur état d'intégrité (coupées ou non), sont aussi mesurées la hauteur étirée de la talle (VE, mm) et la longueur de la gaine (SL, mm) définie comme la distance comprise entre la base de la talle et le point d'insertion de la ligule de la dernière feuille mature.

Les talles ont ensuite été mises en réhydratation (Garnier *et al.* 2001a). Dans une première étape, la base des 10 talles est immergée dans de l'eau déminéralisée et coupée en immersion. Cette opération permet de rétablir la colonne d'eau dans les vaisseaux du xylème grâce à l'élimination de l'air qui s'est introduit lors de la première coupe (éviter les phénomènes d'embolie). On rétablit ainsi l'hydratation des tissus par le flux transpiratoire, ce qui va permettre de faire les mesures dans des conditions de saturation en eau standard. Les talles sont ensuite conservées pendant au moins 6 heures en chambre froide à 4°C. Dans une deuxième étape, sur chacune des 10 talles on prélève à la base le limbe de la dernière feuille mature (celle dont la ligule est visible). Sept traits sont mesurés sur ce limbe. Nous pesons le limbe en frais (LFM, g) avec une précision de 10^{-5} g, nous mesurons sa surface (LA, cm²) avec un planimètre optique (LICOR3100) et nous mesurons la longueur étirée cumulée des 10 limbes (LL, mm). Les dix limbes sont ensuite placés dans un sachet kraft, et mis à l'étuve à 60°C pour 48 heures. Nous pesons ensuite (précision 10^{-5} g) la matière sèche (LDM, g). La teneur en matière sèche (MS) du dernier limbe mature (LDMC, mg g⁻¹) est le rapport entre le poids sec des 10 limbes (LDM) et la somme des poids frais à saturation en eau des dix limbes (LFM). La surface spécifique foliaire (SLA, m² kg⁻¹ MS) représente la surface foliaire par unité de biomasse du limbe (i.e. surface photosynthétique principale). Nous l'estimons par le rapport entre la surface foliaire (LA) et la matière sèche du limbe de la dernière feuille mature (LDM). Les 10 limbes ont ensuite été broyés au vibro-broyeur (Retsch, Type MM2, Haan, Germany) puis analysés par la méthode Dumas (Carlo Erba Instruments, CNS NA 1500 ThermoFinnigan, Milan, Italy) afin de déterminer la concentration en azote (LNC, mg g⁻¹).

La liste des traits mesurés, ainsi que leurs abréviations et leurs unités, est donnée au Tableau 3-5. Les abréviations des traits retenues correspondent à la dénomination anglaise, et seront maintenues dans ce travail pour une question de standardisation avec les publications dans des revues internationales.

Estimation de la densité des talles végétatives et reproductives

A chaque coupe commune, la densité des talles reproductrices (RTD, nombre m^{-2}) a été déterminée par un comptage direct des épis sur 4 segments de 1 mètre linéaire centré sur un rang, en utilisant un guide en forme de « U » de 0,18 m de large et 1 m de long. Les effectifs ont ensuite été rapportés à la longueur totale de rang des parcelles.

La densité de talles totale (TD, nombre m^{-2}) et de talle végétatives (VTD, nombre m^{-2}) est déterminée par une méthode indirecte. Sur chacune des 168 parcelles pures et avant chaque coupe commune, 16 talles végétatives et 16 talles reproductives, lorsqu'elles étaient présentes, ont été prélevées au hasard à 6 cm du sol, puis séchées à l'étuve à 60°C pendant 48 heures. Elles ont ensuite été pesées pour déterminer la masse sèche moyenne d'une talle végétative ou reproductrice.

La densité de talles végétatives (VTD) a été calculée comme étant le résultat de la matière sèche totale récoltée de la parcelle moins la masse de talles reproductrices et divisée par la masse d'une talle végétative. La masse des talles reproductrices est le produit de la densité de talles reproductrices (RTD) par la masse d'une talle reproductrice.

La somme de VTD et RTD représente la densité totale de talles (TD).

Phyllochrone

Le phyllochrone (PH), défini comme l'intervalle de temps thermique entre l'apparition de deux feuilles matures successives, a été mesuré pour toutes les espèces en culture pure pour les traitements « C- », afin que la durée de repousse soit suffisamment importante pour obtenir l'apparition d'au moins deux feuilles matures.

Après la première coupe commune (mai 2003), huit talles végétatives ont été baguées (fil de couleur fiché en terre avec une pointe (Carrère *et al.*, 1997)) dans chaque parcelle. Cette bague a permis de repérer les individus qui ont été observés à plusieurs reprises. Lors de chaque date d'observation l'état (adulte ou en croissance) de chaque feuille vivante de la talle a été décrit, les feuilles présentes ont été comptées et marquées par un point blanc déposé sur chacune. Ces marques ont servi de repère pour les observations suivantes afin d'identifier l'apparition de nouvelles feuilles.

Le baguage de talles et la première observation ont été effectués les 2 et 3 juin 2003. Les observations suivantes ont été faites les 12 et 13 juin, 1 et 2 juillet, 17 et 18 juillet et 7 et 8 août 2003. Les phyllochrones ont ainsi été calculés pour 4 périodes en divisant le nombre de

nouvelles feuilles apparues sur la période par l'intervalle de temps entre deux observations successives. Il a été exprimé en jours et en degrés-jours en utilisant les moyennes de températures journalières.

La durée de vie moyenne des feuilles (LLS) matures (à partir de l'apparition de la ligule), a été déterminée indirectement en multipliant le phyllochrone par le nombre moyen de feuilles matures par talle. Cette approximation est possible car chez les graminées étudiées le nombre de feuilles matures par talle est assez constant (Lemaire & Chapman, 1996 ; Marriott *et al.*, 1999).

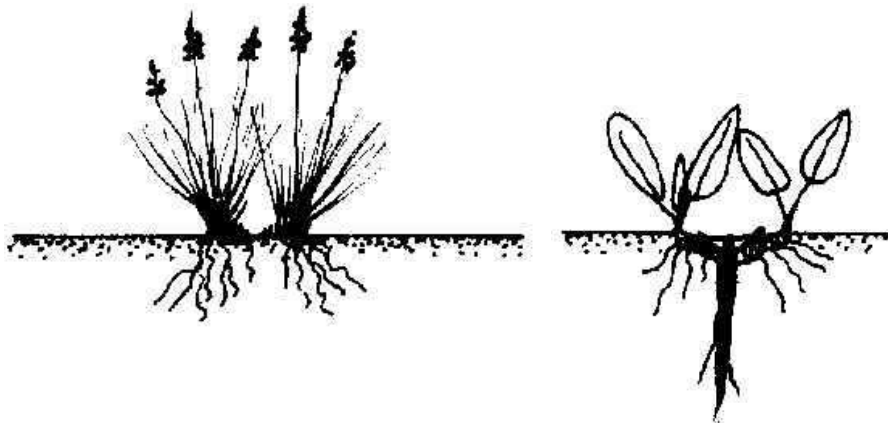
Phénologie (stade de maturité)

Pendant les années 2003 et 2004, le développement phénologique des espèces a été observé régulièrement sur les 168 parcelles cultivées en « Pur ». Nous avons cherché à identifier le stade début épiaison. Nous avons considéré que la population de talles d'une parcelle avait atteint ce stade lorsque l'on voyait l'ébauche florale (épi sorti de la gaine) d'au moins 10 talles par mètre linéaire (Andrieu *et al.*, 1988 ; GEVES, 2004). Ce critère a été déterminé par un comptage direct des ébauches florales visibles sur 4 segments de 1 mètre linéaire. Les segments ont été centrés sur les rangs 3 et 6 et démarrant à 50 cm du bord de chaque côté de la parcelle, en utilisant un guide en forme de « U » de 0,18 m de large et 1 m de long.

En 2005, un protocole plus complet a été mis en place pour identifier chacun des stades clefs : végétatif, montaison, épiaison, floraison et maturation pour toutes les espèces cultivées en pur (78 parcelles de la collection), à l'exception de *Poa trivialis* qui présentait une densité trop faible, et avait une mauvaise persistance après la 3^{ème} année d'étude. Pour réaliser ce suivi, les fréquences de coupe en C- ont été modifiées afin de pouvoir suivre l'ensemble du développement phénologique des espèces. Ainsi, pour les traitements « C- », la première fauche de l'année 2005 a été réalisée en août seulement.

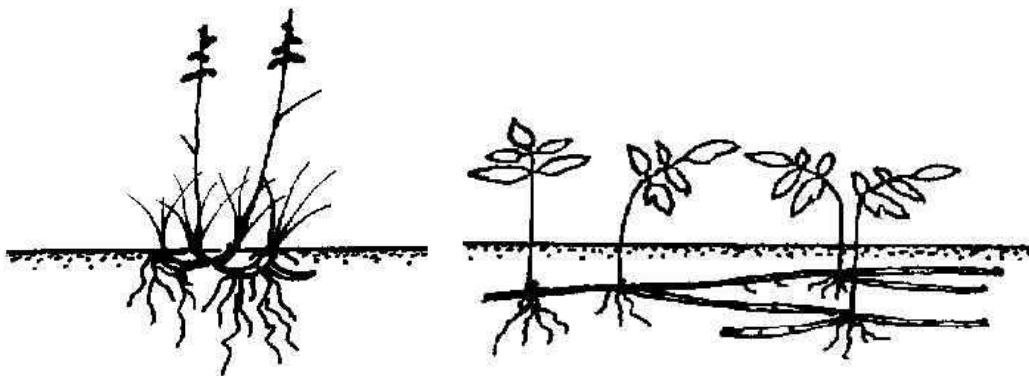
Le passage du stade végétatif au stade montaison a été déterminé en disséquant tous les deux jours 10 talles prises au hasard sur chaque parcelle, sur lesquelles on notait la présence d'une ébauche florale dont on mesurait l'élongation. Deux stades ont été considérés : **début montaison**, lorsque l'ébauche florale est visible mais avec une élongation <100mm, **pleine montaison**, lorsque l'élongation des entrenoeuds supérieurs à 100 mm est visible¹⁷.

¹⁷ Le seuil de 100 mm est donné en référence au stade « épi 10 cm ».



Festuca ovina

Rumex obtusifolius



Dactylis glomerata

Aegopodium podagraria

Figure 3-4. Type de multiplication végétative (croissance clonale). Adapté de Klimes *et al.* (1997).

Lorsque la gaine de la dernière feuille a atteint sa longueur définitive et que l'inflorescence devient visible, on considère que le stade **épiaison** est atteint. Le stade **floraison** est caractérisé par un épi totalement développé, dont les étamines sont bien visibles et le pollen mûr, pendant que le stade **maturation** se caractérise par la formation de graines (avec l'épi et la tige en cours de dessèchement). A l'échelle du peuplement, un changement de stade phénologique est enregistré quand il y a en moyenne au moins 10 talles par mètre linéaire au nouveau stade. A partir du stade épiaison, la hauteur en place des talles (ME, cm) a été mesurée chaque semaine avec un herbomètre stick jusqu'à stabilisation. A la maturation, les graines ont été collectées pour déterminer le trait « masse d'une graine ». Pour ce faire, un sous-échantillon de 100 graines par espèce a été compté, séché (60 °C, 48 h) et pesé.

Clonalité

Pour déterminer à quel type de multiplication végétative (croissance clonale) on pouvait rattacher chaque espèce implantée, nous avons utilisé une base de données (<http://www.butbn.cas.cz/klimes/>) basée sur la classification réalisée par Klimes *et al.* (1997). Quatre types ont été identifiés (Figure 3-4):

- Type « *Aegopodium podagraria* »: rhizome sous la surface du sol (hypogéotrope) supérieur à 10 cm en longueur ;
- Type « *Dactylis glomerata* »: rhizome sous la surface du sol (hypogéotrope) inférieur à 10 cm en longueur ;
- Type « *Festuca ovina* »: graminoides gazonnantes ;
- Type « *Rumex obtusifolius* »: rhizomes à ras du sol inférieur à 10 cm en longueur.

Nous avons finalement conservé uniquement trois indices de clonalité, basés sur la longueur des rhizomes, pour avoir une estimation quantitative du trait de clonalité. Nous avons attribué une note de « zéro » pour le type « *Festuca ovina* » (absence de rhizome), de « un » pour les types « *Rumex obtusifolius* » et « *Dactylis glomerata* » (entre nœuds courts, < 10 cm) et de « deux » pour le dernier type, « *Aegopodium podagraria* » (entre nœuds longs, > 10 cm).

3.4.6- Composition morphologique

La composition morphologique du couvert a été réalisée à partir de tris de sous échantillons de biomasse prélevés pendant la coupe du mois de mai 2003 et pour les trois

coupes communes de 2004 sur toutes les parcelles en pur (168 parcelles au total). Nous avons considéré *in fine* quatre catégories : les limbes verts (LV), les gaines, tiges et épis verts (GTV), les limbes secs (LS) et les gaines tiges et épis secs (GTS) ; sur la base de critères morphologiques (limbes vs tiges épis et gaines) et d'état (vert vs sec) influant fortement sur la qualité nutritive de l'herbe. Les catégories résultant de ces tris ont été placées 48 h à 60 °C, puis pesées afin d'en obtenir leur matière sèche. La composition morphologique a été calculée en % de la matière sèche d'une catégorie par rapport au total.

3.4.7- Valeur Nutritive

Pour déterminer la composition chimique et la valeur nutritive de la biomasse récoltée, pour toutes les parcelles de monoculture à sept dates de récolte, nous avons considéré quatre variables : i) la digestibilité cellulase, ii) la teneur en azote et iii) la teneur en hémicellulose et iv) la teneur en cellulose plus lignine. Compte tenu de la quantité d'échantillons disponibles, il n'était pas envisageable de procéder à une analyse chimique classique pour chacun d'eux. Nous avons donc opté pour une estimation indirecte de ces variables en utilisant la procédure d'estimation via la spectrométrie de réflectance dans le proche infrarouge (SPIR ou NIRS). La SPIR est basée sur des relations existantes entre les caractéristiques chimiques et physiques d'un produit et les absorbances à longueurs d'onde spécifiques dans la région du proche infrarouge. La SPIR a été utilisée pour ses avantages par rapport aux méthodes traditionnelles (rapidité, précision, récupération de l'échantillon, non polluant pour l'environnement ainsi que facilité d'utilisation). Les grandes lignes de cette démarche, réalisée en collaboration avec l'équipe RAPA de l'URH, sont est présentées ci-dessous.

Prélèvements

Pour les espèces cultivées en pur, un sous-échantillon a été prélevé au moment de la coupe commune d'août 2002, puis à chacune des trois coupes communes en 2003 et 2004. En septembre 2004, le jour de la mesure des traits, un échantillon de biomasse a été prélevé afin d'estimer la valeur nutritive de la végétation après trois semaines de repousse. Tous ces échantillons ont été utilisés pour une approche plante entière et comprennent l'ensemble des organes aériens récoltés au moment de la coupe quelque soit leur état (vert ou sec).

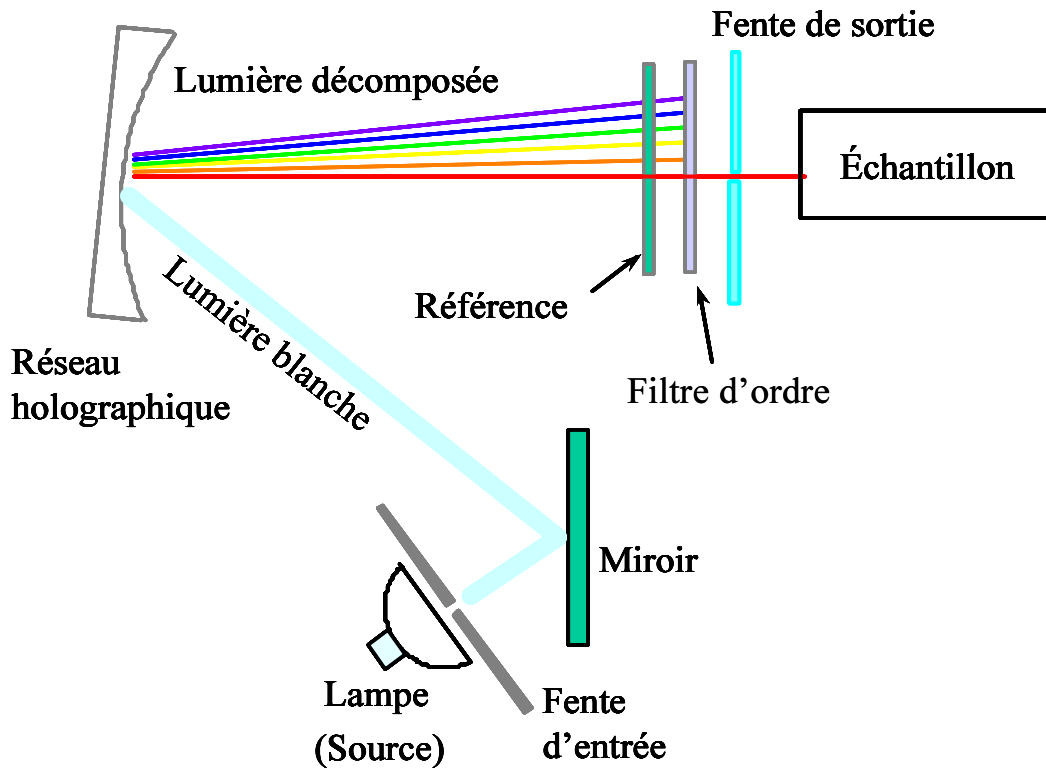


Figure 3-5. Système optique d'un spectrophotomètre de réflectance infra-rouge (adaptée FOSS).

Réalisation de la base des spectres infrarouge

Les échantillons ont été séchés en étuve ventilée 48 heures à 60°C, puis broyés avec un appareil de référence de type Cyclotec (Model 1093 FOSS TECATOR Inc., Höganäs, Sweden) avec une granulométrie de 1 mm. Les poudres ont ensuite été stockées dans des sachets hermétiques et dans un local sec à l'abri de la lumière. Avant analyse, les poudres seront repassées au moins 6 heures en étuve pour éliminer une éventuelle réhydratation.

L'acquisition des spectres a été réalisée par réflectance sur un spectrophotomètre à monochromateur (FOSS-NIRSystems 6500, Silver Spring, MD, USA). La Figure 3-5 représente la procédure de mesure et le trajet optique du faisceau lumineux.

Les échantillons (poudres végétales) ont été placés dans des coupelles circulaires de quartz de 50 mm de diamètre. Avant le remplissage des coupelles les échantillons ont été homogénéisés. Les coupelles tournent sur elles même lors du passage devant le monochromateur (spin system) ce qui permet une analyse complète de l'échantillon. Les échantillons ont été balayés par des rayons lumineux dans les régions visible et infrarouge (400 – 2500 nm) tous les 2 nm. Les données de réflectance enregistrées ont été stockées sous la forme du logarithme de l'inverse de la réflectance ($\log(1/R)$). Le spectre de réflectance de chaque échantillon ainsi obtenu correspond à la moyenne de 32 mesures prises et il est composé de 1050 points d'absorption.

La gestion de l'acquisition des spectres et de la base a été réalisée avec le logiciel ISISCAN (version 2.21, FOSS-NIRSystems).

Analyses spectrales

Après l'obtention des spectres de la base, les données ont été soumises à une correction multiplicative de la diffusion et à des traitements de normalisation et dérivation afin d'améliorer la qualité du signal et éliminer le bruit non désiré. Enfin les spectres corrigés ont été analysés par les algorithmes CENTER et SELECT (Shenk & Westerhaus, 1991) du logiciel WinISI. L'algorithme CENTER calcule le centre de la population spectrale et la distance de Mahalanobis (H) de chaque spectre au centre. Nous pouvons ainsi détecter les échantillons étrangers à la population et les analyser par des méthodes chimiques de référence. Ensuite l'algorithme SELECT a été appliqué à la base spectrale. Cette procédure nous permet de choisir les échantillons représentatifs de la population. Nous avons considéré que deux spectres sont similaires (« voisins ») si la distance H entre eux est plus faible que



Figure 3-6. Appareil pour la détermination des constituants pariétaux (Fibersac).

0,8. La procédure commence par le calcul de la distance H entre spectres deux à deux et par l'identification de l'échantillon avec le nombre le plus élevé de voisins. Ce spectre est donc choisi et les autres sont rejetés. La procédure s'applique donc sur le reste de la population jusqu'à ce qu'aucun spectre n'ait de voisins ($H < 0,8$).

144 échantillons représentatifs de la population ont été sélectionnés. Ces échantillons ont été analysés par les méthodes chimiques, et les résultats obtenus ont servi de base à la calibration des équations de prédiction (voir plus loin).

Analyses Chimiques

La digestibilité de la matière sèche (PCDMD) et de la matière organique (PCOMD) a été analysée par la méthode enzymatique pepsine-cellulase (Aufrère & Demarquilly, 1989). Cette méthode consiste d'un prétraitement par la pepsine dans l'acide chlorhydrique dilué (0.1 N) suivi d'un traitement par la cellulase de 24 heures chacun.

Les fractions en éléments pariétaux (hémicellulose, cellulose+lignine) ont été mesurées par différence entre dosages de la fibre détergente neutre - NDF - et de la fibre détergente acide - ADF - basés sur la méthode de Van Soest *et al.* (1991) en utilisant l'appareillage « Fibersac » (Figure 3-6). Les différents constituants pariétaux sont définis d'après le résidu organique insoluble obtenu après application successive des traitements par les détergents (NDS, solution au détergent neutre en base à Laurylsulfate et ADS, solution au détergent acide en base à bromure de cétyltriméthyl ammonium - CTAB). Les sachets sont maintenus pendant une heure dans l'appareil, à température constante (100°C) et sous agitation (pour assurer un flux uniforme des solutions à travers de chaque sachet), pour subir les attaques des différentes solutions (NDS et ADS). Pour calculer la teneur en composés pariétaux de la matière sèche, nous avons utilisé les résultats des dosages des fractions de fibres (NDF et ADF). Le résultat du NDF nous donne la teneur en parois cellulaires, soit, la somme hémicellulose, cellulose et lignine, pendant que l'ADF donne la teneur en cellulose et lignine. A partir de ces deux variables, il est donc possible de déterminer : la teneur des contenus cellulaire soluble ($C1 = 1 - NDF$), la teneur en hémicellulose ($C2 = NDF - ADF$) et en cellulose plus lignine ($C3 = ADF$)

La teneur en azote (N) de la matière sèche a été déterminée par la méthode Kjeldahl. Les matières azotées totales (MAT) ou teneur en protéines brutes (CP, « *crude proteins* ») ont été ensuite calculées à partir de la concentration en azote de la matière sèche en appliquant la

Tableau 3-6. Indicateurs statistiques du modèle de calibration et critères de validation du modèle.

Variables	N	Min-Max	SEC	SECV	r ²
N (%)	134	1.61-4.60	0.085	0.11	0.99
NDF (%)	136	40.52-65.45	1.398	1.559	0.98
ADF (%)	137	16.47-32.76	0.962	1.090	0.92
PCOMD (%)	136	44.85-88.0	2.4	2.9	0.94
PCDMD (%)	132	49.2-87.0	2.6	2.8	0.92

N: nombre d'échantillons utilisés pour l'établissement de la calibration;

Min-Max : Valeurs Minimum et Maximum ;

SEC : écart-type résiduel de la calibration ;

SECV: écart-type résiduel de la validation croisée;

r²: coefficient de détermination;

relation $\text{MAT} = \text{N}\% \times 6.25$ qui tient compte de la teneur moyenne en azote des protéines végétales (16 %N, soit $1/0.16 = 6.25$) (Gillet, 1980).

Développement des équations de calibration

L'obtention des équations de calibration consiste à étalonner les résultats obtenus à partir des méthodes de référence sur les valeurs de réflectance obtenues à partir du spectromètre. La méthode des moindres carrés partiels modifiés (MPLS) a été utilisée. Shenk & Westerhaus (1991) ont montré que pour des échantillons de fourrages, la précision de la méthode MPLS est plus élevée que celle de la méthode classique de la régression linéaire multiple. Les équations de calibration obtenues pour la plante entière ont été validées par la méthode de validation croisée, tandis que la validation externe a été appliquée à 30 échantillons tirés au hasard dans l'ensemble des échantillons des parcelles binaires.

La validation croisée consiste à utiliser les échantillons qui ont servi à la calibration pour la validation mais en suivant une procédure en plusieurs phases. A chaque phase, les échantillons de calibration et de validation sont indépendants. La validation croisée présente l'avantage de réduire le nombre d'échantillons utilisés.

La qualité des modèles d'étalonnage a été jugée par plusieurs critères : l'écart type résiduel des équations de calibration (SEC), l'écart type résiduel de la validation croisée (SECV) ou de la validation externe, le coefficient de détermination (r^2) pour la validation ainsi que la gamme d'application de l'équation et l'écart type des valeurs de référence. Le SEC et le SECV sont des indices de la précision des modèles d'étalonnage et de l'application pratique de ces modèles. Le coefficient de détermination est un indicateur pour estimer l'ajustement des données de validation au modèle.

Les résultats méthodologiques de la calibration des échantillons sont présentés au Tableau 3-6.

Ces équations de calibration ont été utilisées pour calculer la teneur en N, la digestibilité (PCDMD et PCOMD) et les teneurs en NDF et ADF du reste des échantillons. Avant leur application, la distance spectrale H entre l'échantillon et le centre de la population a été mesurée afin de s'assurer de l'application correcte du modèle sur les spectres. Les échantillons très éloignés de la population de calibration ($H > 3$) (Shenk & Westerhaus, 1991) ont été dosés par des méthodes chimiques.

3.5- Analyses statistiques

Des analyses de variance (ANOVA) ont été réalisées sur les données pour tester le niveau de signification des facteurs principaux : block, année, espèce, régime de coupe et niveau d'apport azoté ainsi que l'ensemble de leurs interactions. Les interactions qui n'étaient pas significatives ont été exclues du modèle final (Dagnélie, 1986). Toutes ces analyses ont utilisé le modèle linéaire généralisé (GLM model), en considérant l'effet année comme aléatoire et les effets espèces, régime de coupe et niveau d'apport azoté comme fixe. Lorsque testé (Chap. 4) l'effet saison a été rajouté dans le modèle comme un facteur répété dans le temps. Préalablement aux analyses, les données de composition chimique des tissus ont été normalisées par la fonction Arcsinus (racine carrée) (Dagnélie, 1986). Les analyses ont été réalisées en utilisant le progiciel SAS (SAS Institute, 1999). Les analyses en composante principale (Statistica 6, StatSoft Inc., Tulsa, USA) ont été utilisées pour étudier les interactions significatives entre les principaux facteurs (Kempton, 1984).

Les relations entre les traits (Chap. 5) et les indicateurs de performance du couvert ont été étudiées par analyse de covariance (Statgraphics Plus, Manugistics, USA).

Les relations entre les traits (Chap. 6) ont été réalisées en analyse des composantes principales (PCA, Statgraphics Plus package, Manugistics, USA). Les analyse canoniques (Canonical correlations analysis, CCA) ont été réalisées avec le progiciel PC-ORD (v.3.04, MjM software, Oregon, USA).

Le détail des procédures et des modalités d'analyses sont présentées dans la section « data analysis » de chacun des articles (Chap. 4 à 6).

CHAPITRE 4 :

SEASONAL PRODUCTIVITY AND NUTRITIVE VALUE OF NATIVE TEMPERATE GRASSES. RESPONSES TO CUTTING FREQUENCY AND N SUPPLY.

Laise da Silveira Pontes, Pascal Carrère, Jean-François Soussana, Frédérique Louault and Donato Andueza

Summary

Monocultures of 13 perennial C₃ grass species known to co-occur in semi-natural grassland communities were compared in a factorial field design crossing two levels of N supply and cutting frequency. Above-ground dry matter yield (DMY), crude protein (CP) content and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD) were measured during two successive years. Species identity was the single largest source of variability for DMY and PCDMD, while CP was more responsive to management factors. The highest average DMY and PCDMD was achieved in spring for *Festuca arundinacea* (562 g m⁻²) and in autumn for *Phleum pratense* (771 g kg⁻¹), respectively. *Poa trivialis* and *Festuca rubra* displayed the lowest DMY and PCDMD values, respectively, independently of season. Species ranking was compared according to their annual digestible dry matter (DDM) and crude protein yields. Species with highest PCDMD and CP did not lead to highest annual productivity of digestible dry-matter and crude proteins, due to a lower DMY. Plant CP content increased by an average of 46 and 34 g kg⁻¹ for all species in response to an increase in cutting frequency and nitrogen supply, respectively. Differences between years and seasons indicated the importance of plant morphology and phenology, mainly in relation to nutritional parameters, and the influence of environmental factors in species performance. The CP content and PCDMD tended to increase during the time course of the year, while the DMY was stronger in spring and lower in summer for most species. The results show that the diversity of grass species plays a major role for the agronomic performances of multi-species grasslands.

Keywords: crude protein; digestibility; fertilization; grassland; native grasses; NIRS;

Introduction

The utilization of semi-natural grasslands in livestock farming systems, under more extensive management, has attracted more interest in recent years (Bruinenberg *et al.*, 2002; Duru and Hubert, 2003; Marriott *et al.*, 2004) as a result of a increased concern about the quality of the environment and of agricultural product. Indeed, these botanically diverse ecosystems allow the reconciliation of ecological and economical goals by the use of native plant species for meat and milk production (Milne, 2004). Therefore, to secure the forage system, it is necessary to evaluate the productivity and nutritive value of forages from such grasslands to assess proper management practices, allowing different targets to be achieved in terms of herbage yield, quality and grassland sustainability. It is well established that the yield and the nutritive value of semi-natural grasslands are strongly affected by management factors such as the cutting regime and the nitrogen fertilization (Jeangros *et al.*, 1994; Kramberger and Gselman, 2000; Nevens and Rehuel, 2003). However, little is known about the impact of management practices on the performance of the most abundant species found in these communities. Cutting frequency affects the productivity (Binnie and Chestnutt, 1991) and the nutritive value (Santis *et al.*, 2004) of forage plants, partly through alterations in their morphological development. Nitrogen supply has a well known positive effect on above-ground productivity of forage plants (Bélanger *et al.*, 1992, Kirkham and Wilkins, 1994, Nevens and Rehuel, 2003), but usually has little direct effect on the energetic value of forages (Salette, 1982). However, Duru and Ducrocq (2002) have reported a greater decline in lamina digestibility during regrowth for *Dactylis glomerata* under N addition compared with plants suffering from N deficiency.

Seasonal changes in the nutritive value of crop forage species (e.g. *Lolium perenne*) have also been well documented (Cerqueira *et al.*, 2004; Miller and Thompson, 2005). Environmental factors (light, temperature) influence shoot development rate, i.e. leaf appearance rate and ageing (Lantinga *et al.*, 2002), lignified cell wall material deposition (Paine *et al.*, 1999) and are expressed in phenological development and forage quality (Buxon and Marten, 1989). For grasses, leaf digestibility is highest in the vegetative stage and declines with advancing phenological stage (Smethan, 1990). In spring, it is well established that this decrease in herbage digestibility is largely a consequence of a decrease in leaf:stem ratio (Waite *et al.*, 1964; Duru *et al.*, 2000), which is enhanced by a faster decline in stem digestibility compared with leaf digestibility (Bruinenberg *et al.*, 2002). Delagarde *et al.*

(2000) have shown that the N content of *Lolium perenne* leaves decreases with age to the same extent as in the sheaths and stems.

In semi natural temperate grasslands, perennial C₃ grasses are the most abundant plant type (Lazenby, 1988; Louault *et al.*, 2005). We have focused our study on thirteen perennial C₃ grass species, native to semi-natural grasslands in central France. As most of these species are not used in agricultural systems as cultivated grass crops, little is known about their nutritive value for domestic herbivores. For example, in Europe, only 2% of grassland species have been studied in breeding programs (Peeters, 2004).

The aim of this paper is to assess and to compare the above-ground dry matter yield and the nutritive value (crude protein content and pepsin-cellulase digestibility) of these grass species grown in monocultures. As these species are characterized by different phenologies in terms of dates and duration of flowering, seasonal variations were followed over two successive years. The impact of management practices (cutting and fertilization) were studied in a factorial field experiment crossing cutting frequency and nitrogen supply. We also included a cultivar of *Lolium perenne* for comparison with the sown native grasses.

Material and Methods

Site and experimental design

The study was carried out in an upland area of central France at Theix (45°43'N, 03°01'E, 870 m a.s.l.) on a granitic brown soil (Cambic soil, FAO). The local climate is semi-continental, with a mean annual temperature of 9°C ranging from 1°C in January to 20°C in August and with a mean annual rainfall of 760 mm.

In 2000, the seeds of 13 grass species were collected from their native habitat. The species studied were: *Alopecurus pratensis*, *Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis* and *Trisetum flavescens* (henceforth referred to by the first letter of generic names and their species names in the text). In 2001, these grasses were sown in pure stands in rows 14 cm apart; each stand occupied a 4.2 m² plot. In 2002, a cultivar of *Lolium perenne* (cv. Clerpin) was sown in spare plots to allow for comparison with the native grass monocultures. The complete experimental design comprises 168 monocultures arranged in a complete randomized block design, with three blocks and four plots per species and per treatment.

From spring 2002, a factorial design was used with two levels of cutting frequency (3 and 6 cuts per year, C- and C+, respectively) and two levels of N fertilization (120 and 360 kg N ha⁻¹ year⁻¹, N- and N+, respectively). These N supply levels were established to obtain limiting and non limiting N nutrition for the N- and N+ treatments, respectively. Each plot was subjected to repeated fertilizer application and mowing operations. The C+ plots were cut on April 28, May 26, June 30, August 11, September 15 and November 4 in 2003 and on May 3, June 3, July 12, August 12, September 23 and October 21 in 2004. The C- plots were cut once out of twice, starting on the second cutting date of C+. All cuts were carried out at 6 cm above ground level. The N fertilizer (NH₄NO₃) was supplied in split applications at the beginning of each regrowth period. At each application, 20 and 60 kg N ha⁻¹ for C+ and 40 and 120 kg N ha⁻¹ for C- were supplied for N- and N+ treatment, respectively. Each year, in early spring, 80 kg ha⁻¹yr⁻¹ of P₂O₅ and 240 kg ha⁻¹yr⁻¹ K₂O were supplied to ensure that phosphorous and potassium were not limiting for plant growth.

Soil volumetric water content (Figure 3-3) was followed fortnightly in the twelve *D. glomerata* plots using time domain reflectometry (TDR, Trime-FM, Medfield, USA). When TDR values were below 10%, the plots were irrigated. One hundred millimeters of water were supplied during the dry summers of 2003 (between July 7 and August 15) and 2004 (between June 28 and August 5).

Measurements

Dry matter yield

Cuts were done at 6 cm above ground level with a mower (Haldrup, Logstor, Denmark). The fresh harvested biomass was collected and weighed during two consecutive years (2003 and 2004). For each plot, a sub-sample of the fresh harvested biomass was collected and weighed. This sub-sample was then dried at 60°C for 48h and weighed to determine the dry matter (DM) content and to calculate the dry matter yield (DMY) of each plot (g DM m⁻²) at each date.

Nutritive value

The nutritive value of the herbage harvested was assessed using sub-samples collected for DMY during the cuts common to the two treatments, which correspond to spring, summer and autumn cuts (season values). These sub-samples were ground using a sample mill (Cyclotec, Model 1093 FOSS TECATOR Inc., Höganäs, Sweden) to pass through a 1 mm screen. Each forage sub-sample was analyzed using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to determine crude protein content (CP) and enzymatic pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD). NIR spectra were collected with a monochromator (FOSS-

Table 4-1. Analyses of variance for above-ground dry matter yield (DMY), crude protein (CP) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD) for 13 native grasses in 2003 and 2004. Degree of freedom (DF), variance explained and significance.

	DF	Variance explained (%) and significance					
		DMY		CP		PCDMD	
Block	2	<1	ns	<1	ns	<1	ns
Year	1	<1	ns	1.3	***	1.8	***
Species	13	24	***	9.2	***	31	***
Year x species	13	1.2	***	<1	***	1.0	***
Cut	1	1.8	***	26	***	19	***
Year x cut	1	<1	***	<1	***	<1	***
Species x cut	13	2.1	***	1.1	***	<1	***
Year x species x cut	12	<1	*	<1	*	<1	ns
N	1	3.4	***	16	***	3.5	***
Year x N	1	<1	ns	<1	ns	<1	*
Species x N	13	1.3	***	<1	***	<1	**
Cut x N	1	<1	**	<1	***	<1	ns
Species x cut x N	13	<1	*	<1	**	<1	*
Season	2	24	***	21	***	8.0	***
Season x year	2	19	***	3.6	***	1.2	***
Season x species	26	4.3	***	3.7	***	7.5	***
Season x year x species	26	1.1	***	1.0	***	1.9	***
Season x cut	2	4.6	***	2.9	***	6.5	***
Season x year x cut	2	<1	***	1.0	***	<1	***
Season x species x cut	26	<1	***	1.7	***	2.2	***
Season x year x species x cut	24	<1	ns	<1	***	<1	***
Season x N	2	<1	***	<1	***	<1	**
Season x year x N	2	<1	***	<1	***	<1	**
Season x species x N	26	<1	***	<1	***	<1	***
Season x year x cut x N	2	<1	***	<1	ns	<1	ns
Season x year x species x N	26	<1	ns	<1	*	<1	ns
Season x species x cut x N	26	<1	ns	<1	*	<1	*

*, P< 0.05 ; **, P< 0.01 ; ***, P< 0.001 ; ns, not significant.

NIRSystems 6500, Silver Spring, MD, USA) which scans the spectral range of 400 – 2500 nm. Modified Partial Least Square (MPLS) calibration equations were developed using 144 samples which were selected from overall the total spectra population collected (Shenk and Westerhaus, 1991). The calibration set was analysed for CP content (using Kjeldahl N x 6.25) and PCDMD (Aufrère and Demarquilly, 1989). All spectra and reference data were recorded and managed with the software WINISI Version 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA).

The statistical parameters of the calibration models obtained for CP and PCDMD respectively were as follows: range, 101-288 and 492-870 g kg⁻¹; standard error of cross-validation, 6.6 and 28.0 g kg⁻¹; R² of cross-validation, 0.92 for both.

Phenology

Plant phenological development is mostly triggered by photoperiod and, hence, occurs each year at approximately the same period in a given site (Lemaire and Salette, 1981). In our study, measurements of phenology were performed in 2005 on uncut plots to allow the complete development of each species. From April to June, twice a week, the developmental stage of each species in each plot was visually assessed to determine the times of beginning of flowering (visible anthers). It was expressed in thermal time (degree day, °C): sum of the positive average daily temperature from March 1 (close to the start of vegetative regrowth).

Statistical analyses

An analysis of variance (ANOVA) was performed on above-ground dry matter yield, crude protein content and dry matter digestibility data to test statistical significance of main factors: block, year, species, cutting regime, nitrogen supply and season and of their interactions. All response variables were analyzed using a GLM model, assuming years to be a random effect and species, N supply and cutting frequency to be fixed effects. The “season” effect was introduced in the model as a time repeated factor. Prior to ANOVA, the chemical composition data were transformed by Arcsine of square root (Dagnelie, 1986). The analysis were performed using the statistical analyses package SAS (SAS Institute, 1999).

Principal components analysis (Statistica 6, StatSoft Inc., Tulsa, USA) was used to study the significant interactions between the main sources of variation (species, season and cutting regime) (Kempton, 1984). Spearman rank correlations were calculated among seasons (Statgraphics Plus Manugistics, USA).

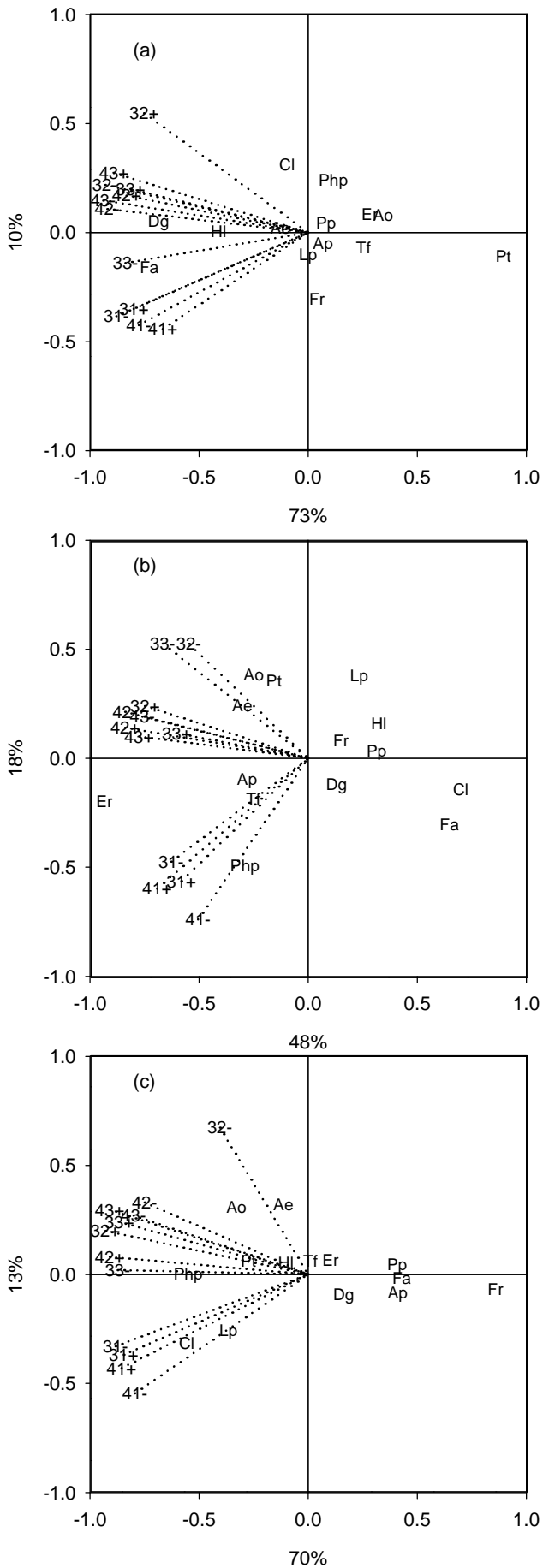


Figure 4-1. Two-dimensional biplots (Principal Components Analysis) based on the above-ground dry matter yield (a), crude protein (b) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (c). Data for 14 grass populations, two cutting frequencies and three seasons. Abbreviations show the year (2003=3 and 2004=4) and then the season (spring=1, summer=2 and autumn=3). “+” for 6 cuts per year and “-” for 3 cuts per year treatments. *Alopecurus pratensis* (Ap), *Anthoxanthum odoratum* (Ao), *Arrhenatherum elatius* (Ae), *Dactylis glomerata* (Dg), *Elytrigia repens* (Er), *Festuca arundinacea* (Fa), *Festuca rubra* (Fr), *Holcus lanatus* (HI), *Lolium perenne* (Lp), *Lolium perenne* cv. Clerpin (Lp/Cl), *Phleum pratense* (Php), *Poa pratensis* (Pp), *Poa trivialis* (Pt) and *Trisetum flavescens* (Tf).

Results

Outputs of the analysis of variance for DMY, CP and PCDMD are shown in Table 4-1. Species identity was the largest source of variation for both DMY and PCDMD, and explained near 24 and 31% of the total variance. For CP, cutting frequency and N supply effects were more important than species effects, accounting for approximately 42% of total variance. The seasonal variations had the greatest effect on DMY and CP, explaining, respectively, 24 and 21% of the total variance.

Only significant interactions for at least one variable are presented in Table 4-1. The three most important first order interactions were between season and years factors, season and species factors and between season and cut factors. When significant, the interactions with N supply accounted for less than 1.5% of the total variance. Despite a significant effect of second and third order interactions, a maximum of 2.2% of the variance was explained by these interactions (season x species x cut interaction in PCDMD, Table 4-1).

DMY, CP and PCDMD showed many significant interactions involving seasons, years and treatments (Table 4-1). To summarize these interactions, the results are reported in a principal component analysis (PCA) with means of species within seasons by year and by cutting frequency (Figure 4-1).

Principal components analysis

The first two components of PCA accounted together for about 83, 66 and 83% of the variation in DMY, CP and PCDMD, respectively (Figure 4-1). Increasing values on PCA axis 1 indicated declines in DMY, CP content and PCDMD. Therefore, on average, species with high values on axis 1 had lower values of DMY, CP and PCDMD. For example: *P. trivialis* displayed the lowest DMY in contrast to *D. glomerata* and *F. arundinacea* (Figure 4-1a). *L. perenne* (cv. Clerpin) and *F. arundinacea* stand out with lowest CP contents; conversely *E. repens* displayed the strongest CP content (Figure 4-1b). *F. rubra* displayed the lowest values of PCDMD in contrast to *L. perenne* (native and cultivar) (Figure 4-1c). The PCA analysis shows that the contrast in DMY, CP and PCDMD was greater between spring and the two other seasons than between summer and autumn. CP and PCDMD showed stronger differences between years for C- than for C+ (Figures 4-1b and 4-1c).

Year and seasonal variability

The two experimental years were contrasted from a climatic point of view (Annexe 3-1). As a consequence, the thermal time differed between the two years, and the regrowth duration (expressed in degree day, °C) was lower in 2004 than in 2003 for the summer and

Table 4-2. Seasonal means of thermal time (degree day, °C) at cutting date, above-ground dry matter yield (DMY, g DM m⁻²), crude protein content (CP, g kg⁻¹ DM) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD, g kg⁻¹ DM). Results are means (± SE) of 13 native grasses, three blocks and four treatments (n=156). The thermal time is the cumulated positive average daily temperature from the last cut, except for spring (cumulated temperature start from March 1). Data show the year x seasons interaction.

Year	Season	Thermal time		DMY	CP	PCDMD
2003		C+	C-	280 ± 6.2	183 ± 1.8	704 ± 3.8
	Spring	419	731	295 ± 11.1	165 ± 2.5	683 ± 5.9
	Summer	975	1465	278 ± 11.4	191 ± 3.1	687 ± 5.9
	Autumn	1397	1025	268 ± 9.6	194 ± 3.3	744 ± 7.0
2004				285 ± 9.4	193 ± 2.3	681 ± 3.5
	Spring	320	619	513 ± 11.4	151 ± 2.2	648 ± 4.9
	Summer	880	1129	156 ± 9.9	213 ± 2.7	690 ± 5.3
	Autumn	1172	940	184 ± 8.0	217 ± 4.0	707 ± 6.7

Table 4-3. Seasonal means for above-ground dry matter yield (DMY, g DM m⁻²), crude protein content (CP, g kg⁻¹ DM) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD, g kg⁻¹ DM) by cutting frequency. Results are means (± SE) of 13 native grasses, two levels of N supply, three blocks and two years (n=156). Data show the season x cutting frequency interaction.

	DMY	CP	PCDMD
C-	306 ± 9.0	165 ± 1.6	658 ± 3.3
Spring	482 ± 14.0	144 ± 2.1	656 ± 6.0
Summer	214 ± 11.6	181 ± 2.9	648 ± 4.8
Autumn	224 ± 10.3	171 ± 2.6	669 ± 6.1
C+	258 ± 6.6	211 ± 1.9	728 ± 3.4
Spring	327 ± 11.6	172 ± 2.3	675 ± 5.1
Summer	220 ± 11.9	222 ± 2.1	728 ± 4.3
Autumn	228 ± 8.6	239 ± 2.5	781 ± 6.1

spring seasons (Table 4-2). For both years, the DMY was higher in spring and the CP and PCDMD contents were higher in autumn than in the other seasons (Table 4-2). The DMY was higher in spring 2004 than spring 2003 and, conversely, higher in summer and autumn 2003 compared to 2004, while the reverse occurred for CP content. The PCDMD was higher in spring and autumn 2003 than in 2004.

Effects of cutting frequency and N supply

All interactions between species, N supply and cutting frequency factors were significant. However, ANOVA (Table 4-1) shows that the species x cutting frequency and species x N supply interactions account for a very low percentage of total variance (less than 2.1%). Therefore, the responses to management factors of the species studied here were mostly similar. For this reason, the effects of cutting frequency and N supply on dry matter yield and nutritive value parameters may first be analysed considering on average of all species.

DMY, CP and PCDMD increased significantly under N+ (315 ± 7.8 g DM m⁻², 205 ± 1.9 and 709 ± 3.5 g kg⁻¹ DM, respectively) than under N- (252 ± 7.0 g DM m⁻², 171 ± 1.9 and 677 ± 3.8 g kg⁻¹ DM, for DMY, CP and PCDMD, respectively).

The cutting treatments greatly influenced PCDMD and CP compared to DMY (Table 4-1; Table 4-3). On average, an increase of 68 and 46 g kg⁻¹ DM in PCDMD and in CP content, respectively, was observed at C+ compared to C-. The DMY declined, on average, by 43 g DM m⁻² at C+ compared to C-.

The cutting frequency x season interaction is shown in Table 4-3. Stronger values of DMY were observed in spring, mainly for C-, while differences between summer and autumn were smaller at both cutting frequencies. The CP content was higher at C+ than C- treatment. In the C- treatment, the strongest values of CP content were observed in summer, while in C+ treatment the CP increased regularly during the annual time course. For PCDMD, the lowest values were observed in summer for C- and in spring for C+ treatments.

The first order interactions between species and treatments¹⁸ were most important for DMY (Table 4-1). Therefore, responses of each species to cutting frequency and N supply were analysed for annual DMY (Figures 4-2a and b). The most productive species (*F. arundinacea*, *Dactylis glomerata* and *H. lanatus*) displayed large declines in DMY in response to an increase in cutting frequency. Two species (*L. perenne*, the native and the cultivar, and *P. trivialis*) only increased slightly their DMY at C+ compared to C- (Figure 4-

¹⁸ Species responses to cutting frequency and N supply for CP and PCDMD are shown in Appendix 4-2 and 4-3.

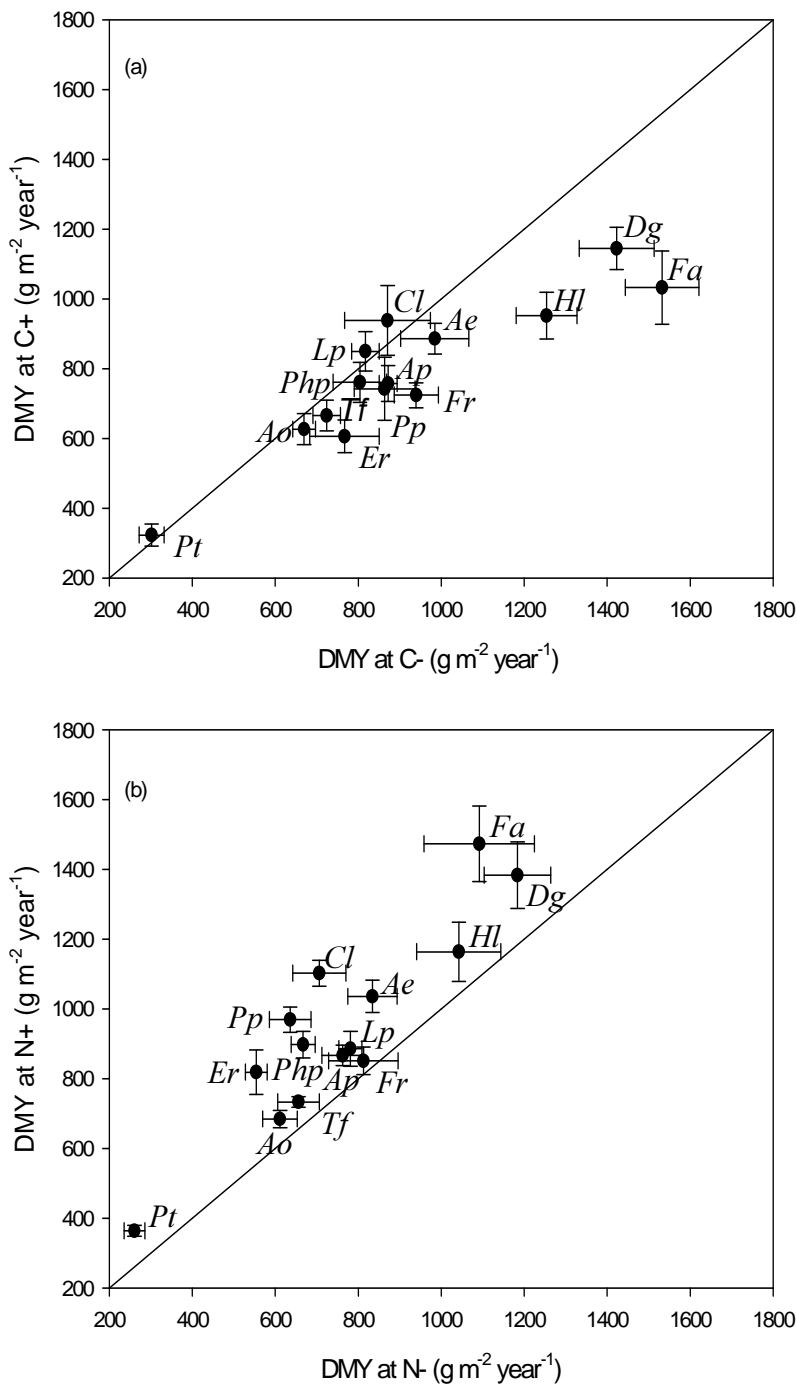


Figure 4-2. Annual dry matter yield (DMY) at each cutting frequency (a) and N supply levels (b) for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin (Cl). The results are means of two treatments and two years (n=48). C-, three cuts by year; C+, six cuts by year; N-, 120 kg N ha⁻¹ year⁻¹; N+, 360 kg N ha⁻¹ year⁻¹. The bars show the standard error. See Figure 4-1 for species code.

2a). The increase in DMY with N supply (N+ compared to N-) ranged between 39 and 381 g DM m⁻² year⁻¹ (for *F. rubra* and *F. arundinacea*, respectively, Figure 4-2b) for native species. The cultivar of *L. perenne* (Clerpin) displayed the highest increase in DMY with N supply (around 400 g DM m⁻² year⁻¹).

Interspecific variability by season

The species studied exhibit a large range of flowering dates (Table 4-4). *A. pratensis*, *A. odoratum* and *F. rubra* reached an advanced stage of maturity faster than the other species. Late flowering species such as *E. repens*, *L. perenne* and *Ph. pratense* remained in a vegetative stage until June (around degree day 1100). Under our experimental conditions, we have not measured a significant effect of management treatments and years on the beginning of flowering (data not shown).

The season x species interaction was significant for the three variables and contributed to explain from 3.7% (for CP) to 8.4% (for PCDMD) of the total variance (Table 4-1). The majority of species studied showed a stronger DMY in spring with lower values in summer (Table 4-4). *A. elatius*, *D. glomerata*, *L. perenne*, *P. pratensis* and *L. perenne* cv. Clerpin displayed different behaviours, with a reduction of DMY during the growing season. For CP content, an increase during growing season is observed for *A. elatius*, *D. glomerata*, *F. rubra*, *H. lanatus*, *P. pratensis* and *T. flavescens*, while the other species displayed a stronger CP during the summer. The majority of species showed an increase in PCDMD during growing season. Only *L. perenne*, *L. perenne* cv. Clerpin, *Ph. pratense* and *T. flavescens* displayed lower values in summer than in spring.

Annual digestible dry matter and crude protein yield per species

The annual production of digestible dry matter (DDMY) and crude protein (CPY) have been calculated from data in Table 4-4 as the product of DMY by PCDMD and CP content in each season. At the C+, PCDMD and CP content means of intermediary cuts were included and multiplied by their respective DMY values to calculate DDMY and CPY. Both variables are presented in average per species over two years and illustrated graphically in Figure 4-3 (DDMY) and Figure 4-4 (CPY). Species ranks for DDMY and CPY are significantly correlated (Spearman's rank coefficient of 0.91, P<0.01). *D. glomerata*, *F. arundinacea* and *H. lanatus* displayed the stronger DDMY and CPY, while *A. odoratum* and *P. trivialis* displayed the lowest values for both variables.

Table 4-4. Thermal time (degree day, °C) at beginning of flowering and seasonal mean of above-ground dry matter yield (DMY, g DM m⁻²), crude protein content (CP, g kg⁻¹ DM) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD, g kg⁻¹ DM) for 13 native grasses and *L. perenne* cv. Clerpin. Results are means (±SE) of four treatments and two years (n=24). Data show the season x species interaction.

Species	Beginning of flowering	DMY			CP			PCDMD		
		Spring	Summer	Autumn	Spring	Summer	Autumn	Spring	Summer	Autumn
<i>Alopecurus pratensis</i>	494	414 ± 44.3	175 ± 18.9	227 ± 13.0	169 ± 5.6	213 ± 6.5	205 ± 9.6	633 ± 11.9	654 ± 10.3	664 ± 22.0
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	498	330 ± 33.5	154 ± 17.8	164 ± 11.0	148 ± 5.3	221 ± 7.4	210 ± 8.0	645 ± 10.4	746 ± 15.0	801 ± 9.5
<i>Arrhenatherum elatius</i>	828	443 ± 32.9	275 ± 23.3	216 ± 9.7	157 ± 6.1	205 ± 6.1	226 ± 8.7	649 ± 9.3	711 ± 12.2	764 ± 15.6
<i>Dactylis glomerata</i>	748	513 ± 29.3	456 ± 27.6	314 ± 20.9	157 ± 5.2	184 ± 5.8	209 ± 11.5	673 ± 7.0	674 ± 9.1	702 ± 12.2
<i>Elytrigia repens</i>	1092	328 ± 29.4	178 ± 22.4	182 ± 12.4	185 ± 6.6	230 ± 7.6	228 ± 9.6	670 ± 8.4	693 ± 9.9	712 ± 16.1
<i>Festuca arundinacea</i>	748	562 ± 37.9	330 ± 25.9	390 ± 24.3	155 ± 6.0	179 ± 7.0	170 ± 8.7	626 ± 9.6	657 ± 9.6	675 ± 11.5
<i>Festuca rubra</i>	553	466 ± 31.3	155 ± 12.8	210 ± 25.3	152 ± 4.6	193 ± 5.1	205 ± 7.1	555 ± 9.0	613 ± 8.7	641 ± 14.6
<i>Holcus lanatus</i>	772	471 ± 29.6	310 ± 23.0	322 ± 17.6	149 ± 7.1	189 ± 6.6	195 ± 11.9	672 ± 7.8	701 ± 12.5	757 ± 10.7
<i>Lolium perenne</i>	968	420 ± 38.0	209 ± 17.2	204 ± 12.2	138 ± 5.8	201 ± 7.7	199 ± 8.3	757 ± 5.6	707 ± 17.2	763 ± 13.5
<i>Phleum pratense</i>	1049	308 ± 29.8	206 ± 28.9	368 ± 22.4	179 ± 4.5	205 ± 10.9	200 ± 9.0	763 ± 6.8	749 ± 12.5	771 ± 14.4
<i>Poa pratensis</i>	636	366 ± 29.0	220 ± 20.7	218 ± 20.5	147 ± 4.1	187 ± 7.7	200 ± 8.7	622 ± 8.5	657 ± 9.5	678 ± 18.3
<i>Poa trivialis</i>	617	261 ± 29.1	20 ± 4.7	32 ± 7.9	150 ± 7.1	219 ± 8.7	211 ± 12.5	709 ± 11.8	729 ± 17.4	786 ± 12.4
<i>Trisetum flavescens</i>	772	374 ± 26.7	131 ± 24.3	200 ± 15.3	171 ± 5.3	200 ± 5.2	212 ± 8.3	677 ± 11.5	671 ± 12.2	750 ± 16.5
<i>Lolium perenne</i> cv. Clerpin	1092	347 ± 30.2	311 ± 26.4	246 ± 19.1	149 ± 6.3	175 ± 7.2	173 ± 9.6	804 ± 5.7	707 ± 14.9	790 ± 11.4

Discussion

In situ studies at the scale of the plant community may confound patterns driven by intrinsic properties of the plant species with effects of underlying environmental factors, such as nutrients. By comparing species under the same environmental conditions and in monocultures, it becomes possible to assess their productivity and nutritive value along different gradients of management regimes.

Despite significant changes in the performance of the grasses with respect to cutting frequency and N supply, we found that species factor was the largest source of variability (around 27% of the total variance in DMY and PCDMD). Different species had distinct patterns of production and digestibility. In contrast, the CP content was less variable among the grass species and was relatively more affected by cutting frequency (26% of the total variance) and N supply (16% of total variance). Important changes in species performance were observed as the growing season progressed.

Above-ground dry matter yield and nutritive value per species

The parameters reported here (DMY, CP and PCDMD) are important aspects in the estimation of feeding value (Bruinenberg *et al.*, 2002). In addition to species productivity, the nutritive value factors have a determinant role in sward efficiency utilization, supplying herbivores with the necessary nutrients for maintenance and production (Schut and Ketelaars, 2003).

Classified by DDMY and CPY, the grasses may be grouped into: high (e.g. *D. glomerata*), intermediate (e.g. *A. elatius*) and low (e.g. *T. flavescens*) productions of energy (digestible dry-matter) and proteins. *P. trivialis* stands out of the other species with very low DDMY and CPY values (Figures 4-3 and 4-4). The most productive native grasses were *D. glomerata*, *F. arundinacea*, *H. lanatus* and *A. elatius* (Table 4-4 and at left in Figure 4-1a), which also displayed the highest digestible dry matter and crude protein yields (Figures 4-3 and 4-4). The high above-ground productivity of *D. glomerata* and *F. arundinacea* has often been reported (Kallenbach *et al.*, 2003; Rawnsley *et al.*, 2002) and these grasses have been bred and largely used in intensive forage production systems. However, high lignin concentration and other structural constituents are needed to support large plants parts (Christensen *et al.*, 1984) which can reduce the nutritive value of these species (see Figure 4-1b, c and Table 4-4). Morrison (1980) has reported a high lignin fraction in leaves of *F. arundinacea* in comparison to other cultivars of grass species such as *L. perenne*, *D. glomerata* and *Ph. pratense*. In contrast, *P. trivialis* combined a low productivity with a high

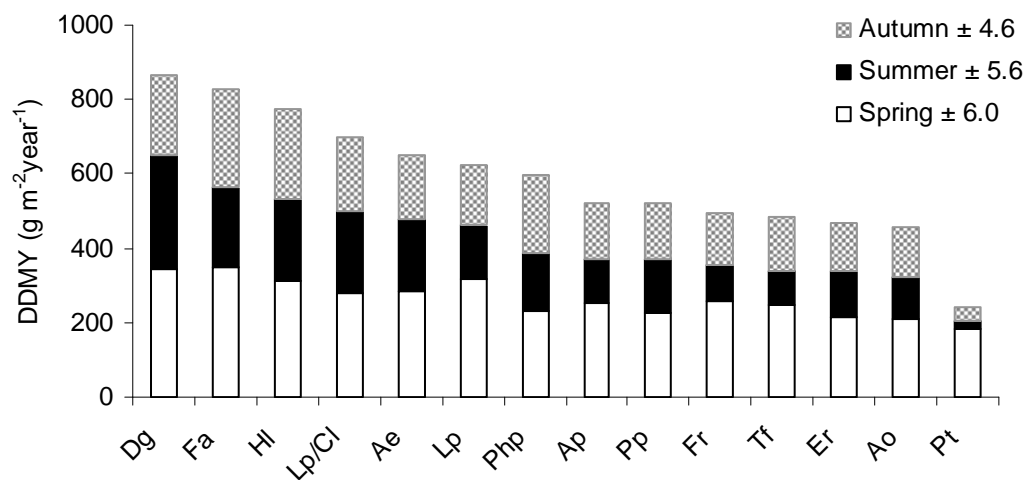


Figure 4-3. Seasonal digestible dry matter yield (DDMY, g m⁻² year⁻¹) for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin. Results are means (±SE) of four treatments and two years (n=24). See Figure 4-1 for species code.

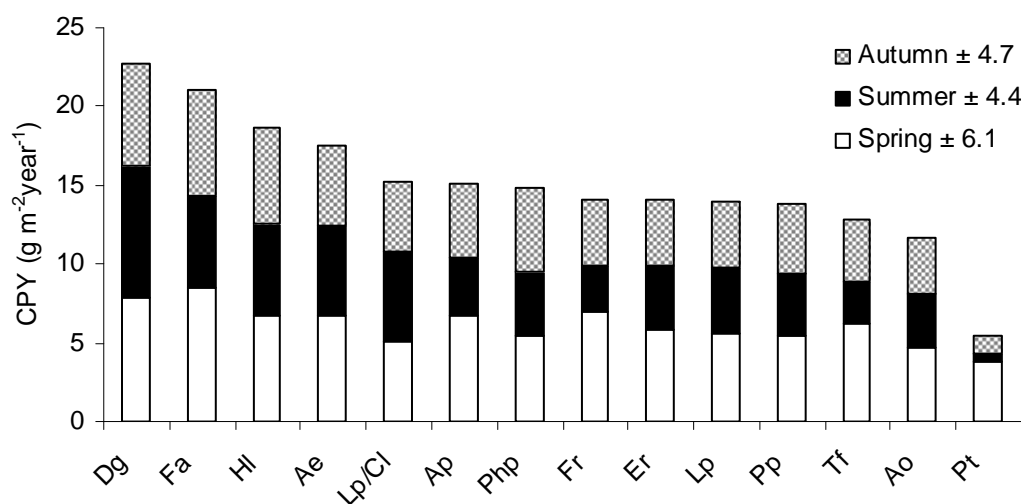


Figure 4-4. Seasonal crude protein yield (CPY, g m⁻² year⁻¹) for 13 native grasses and for *L. perenne* cv. Clerpin. Results are means (±SE) of four treatments and two years (n=24). See Figure 4-1 for species code.

digestibility. This finding probably reflects the low stature of *P. trivialis* since the harvested biomass was mostly composed of laminae which have a higher digestibility than sheaths and stems (Wilman and Riley, 1993).

A. pratensis, *F. rubra* and *P. pratensis* had consistently lower digestibility values in all seasons, ranging between 555 and 678 g kg⁻¹ DM (Table 4-4). *L. perenne* and *Ph. pratense* displayed the highest digestibility values (above 700 g kg⁻¹ DM in all seasons). These species are also associated with a high CP content, except for *L. perenne*. But, the highest digestibility and CP content of these species did not result in the highest digestible dry matter and CP yields due to their low dry matter yield. The same is observed for *E. repens* in relationship to CPY. Species with a high CP content were not necessarily the most digestible. For example, *E. repens* and *A. pratensis* displayed the highest CP content, but were not readily digestible, in contrast to *H. lanatus* (high digestibility and low CP content).

Frame (1991) has reported the digestibility for cultivars of five species studied here (*A. odoratum*, *F. rubra*, *H. lanatus*, *L. perenne* and *P. pratensis*) measured under two cutting regimes (six and three cuts per year). Our results for *H. lanatus* and *P. pratensis* were close to those reported by Frame (1991), a little lower for *F. rubra* and *L. perenne* (44 g kg⁻¹ DM difference, on average) but greater than those previously reported for *A. odoratum* (37 g kg⁻¹ DM difference, i.e. 5%). Frame (1991) also showed the superiority of *L. perenne* cv. Perma digestibility in relationship to other grasses.

Perennial ryegrass (*L. perenne*) is one of the most important forages in temperate regions (Chaves *et al.*, 2006) because it has a high forage yield and nutritive value (Smit *et al.*, 2005). Furthermore it is often used as a research standard (Bruinenberg *et al.*, 2002) and its nutritive value has been well documented in a large range of situations (Groot and Neuteboom, 1997; Deleгарde *et al.*, 2000; Fulkerson and Slack, 2003; Smit *et al.*, 2005; Chaves *et al.*, 2006). In our study, we chose the ryegrass cv. Clerpin as the standard. It showed to be superior to other grasses in terms of digestibility especially in summer, which may also be related to its late flowering. At other times of year, *A. odoratum*, *A. elatius*, *H. Lanatus*, *L. perenne* (native), *Ph. pratense* and *P. trivialis* were superior or close to ryegrass cv. Clerpin for digestibility. Furthermore, most of the native species studied have a greater crude protein content compared to ryegrass. Chaves *et al.* (2006) reported for a cultivar of *L. perenne* a decrease in CP content from 237 g kg⁻¹ DM in young material to only 50 g kg⁻¹ DM in mature grass. Typically, the nutritive value of native grasses is thought to be lower than the nutritive value of forages genetically selected to obtain high yields, which are usually abundantly fertilized and submitted to intensive management conditions. Our results show

that some “non-preferred” grasses presents a nutritive value comparable with that of a cultivar of *L. perenne* under the same conditions of management.

Seasonal patterns of above-ground dry matter yield

A seasonal pattern in the DMY was observed for the 13 native grasses (Table 4-2). Mazzanti *et al.* (1994) have measured, on *Festuca arundinacea*, a stronger energy conversion in herbage dry matter in spring (2.1 to 2.4 g MJ⁻¹) which results in greatest DMY in this season. This pattern can be explained by a lower proportion of assimilates being allocated to the roots during the reproductive growth of spring than during vegetative growth of summer or autumn and/or a greater net C uptake in the spring in relationship to others seasons (Belanger *et al.*, 1992). However, the season x year interaction explained 19% of variance in DMY. Therefore, different seasonal patterns were observed between years. While in 2004 the same pattern of seasonal DM production reported by Mazzanti *et al.* (1994) was obtained, with stronger DMY in spring (60%; 18% in summer; and 22% in autumn), in 2003 the species production was more uniformly distributed throughout the year (ca. 33% of annual DMY in each season). The lower DMY obtained during spring 2003 compared with spring 2004 was partly due to a higher water deficit (see Figure 3-3 between 130 and 150 Julian days, where soil water content was below 10% in 2003), while in 2004 the water deficit period occurred around 170 Julian days (in summer) which resulted in lower DMY in this period in relationship to 2003 (Table 4-2). Although, the year to year variability was reduced by irrigation during the drought spells (supply of 100 mm per year), low soil water contents occurred during limited time periods under our experimental conditions (Figure 3-3).

Seasonal patterns of nutritive value

On average of the 13 native grasses, a seasonal pattern was also observed in the nutritive value (Table 4-2). Since the phenological stage of the spring cut was reproductive for most species (see Table 4-2 and 4-4), lower values for CP and PCDMD were observed in spring. The increases in CP and PCDMD during the course of the year therefore reflect changes in phenological status.

Moreover, the low digestibility observed in summer at C- (Table 4-3) was associated to high temperatures, which tend to increase the deposition of lignified material, and thus reduce lamina digestibility (Paine *et al.*, 1999). This was confirmed by our results for ADF content (see Appendix 4-1), which displayed the same behavior as that of PCDMD, with higher values in summer. Duru and Ducrocq (2002) reported a difference of 70 g kg⁻¹ DM between spring and summer for *Dactylis glomerata*. However, under a frequent cutting regime, the digestibility increased during the growing season (Table 4-3). Changes in the

morphological structure of plants under frequent cuts, such as a decrease in sheath and stem length may overcome the effects of lignin deposition at high temperatures (Bruinenberg *et al.*, 2002).

Under standard harvesting dates, the differences in nutritive value of forage grasses may occur due to differences in phenological stage (Bruinenberg *et al.*, 2002). For early flowering species such as *A. pratensis* and *A. odoratum* (Table 4-4) a more advanced stage of maturity in spring had a negative effect on digestibility. Digestibility increased from spring to summer for *A. odoratum* (101 g kg⁻¹ DM), while *A. pratensis* maintained a similar digestibility during the growing season. The late flowering grasses (e.g. *L. perenne*, cv. Clerpin and *Ph. pratense*) retained a higher digestibility during the first spring than in summer. In Appendix 4-1, the changes in NDF content are shown.

Cutting frequency and nitrogen supply effects on productivity

It has been established that herbage production is inversely related to defoliation frequency in cut swards (Binnie and Chestnutt, 1991). In our study, increasing regrowth duration from 1 to 2 months increased, on average of all species, the harvested herbage by 19%. This decline was, however, stronger for grasses which were highly productive at a low cutting frequency (e.g. *F. arundinacea*, *Dactylis glomerata* and *H. lanatus*) (Figure 4-2a). When grown in plant communities, *L. perenne* and *F. rubra* are considered to be tolerant to frequent cuts (Briemle, 1997). In monocultures, the DMY of *F. rubra* was reduced by an increase in cutting frequency, while that of *L. perenne* was not significantly affected. The lower relative abundance of *F. rubra* in infrequently, compared to frequently, cut mixed swards (Duru, 1994) may result from a higher competition for light which tends to select tall plants that are also more productive (Carlen *et al.*, 2002). Therefore, different responses may be observed when comparing the performances of grasses in monocultures and in plant communities. Under favourable growing conditions (without between species competition), the DMY of *F. rubra* was close to values obtained with the most productive species (e.g. *A. elatius*).

Differences in growth responses to N fertiliser were observed between species (Figure 4-3b). *F. arundinacea*, *P. pratensis* and the cv. Clerpin displayed the highest response to N supply. Although *P. pratensis* had an intermediate productivity (Table 4-4), in agreement with Frame (1991), the productivity of this grass species responded strongly to inorganic N supply (+ 330 g DM m⁻² year⁻¹). Also in agreement with previous reports (Haggar, 1976; Frame, 1991) the cultivar of *L. perenne* responded better to N supply than the native population (Figure 4-3b).

Cutting frequency and Nitrogen supply effects on nutritive value

As we have found weak interactions between species and treatments (below 1.1% of total variance, Table 4-1), the treatments effects will be discussed on average for all species. Increasing the number of cuts and N supply led to a higher nutritive value. For example, the PCDMD was significantly increased at C+ compared to C- (by 70 g kg⁻¹ DM), presumably as a result of a reduced development of stems and spikes (Smethan, 1990), a higher leaf:stem ratio (Boval *et al.*, 2002) and a decrease in cell wall content in the frequent defoliation regime (Waite *et al.*, 1964) (see Appendix 4-1). Application of N fertilizer usually has little or no effect on herbage digestibility (Salette, 1982). Our study showed a weak increase in PCDMD (4.5% higher in N+ treatment) with increase in N supply.

The CP content declined with the increase in the herbage mass (Lemaire and Salette, 1984; Duru, 1994). A frequent defoliation, by reducing the standing herbage mass at cutting date (Lemaire and Salette, 1984; Lemaire and Gastal, 1997) significantly increased for all grass species the CP content. As CP content is directly related to N percentage in biomass, it was strongly influenced by an increase in N supply (17% higher in N+ treatment). For a given above-ground herbage mass, the CP content varies mainly with the nitrogen nutrition status (Lemaire and Salette, 1984).

This result asks the question of the performance of such species in field a natural condition. Indeed we could hypothesize that the low performances of such species in their native environment is due more to extensive conditions or poor fertility than to intrinsic quality of the species. Moreover, the species are probably present in low fertile environment because they are excluded of more fertile ones by more competitive (and more productive) species.

Conclusions

Our results show that native populations of perennial C₃ grasses display a large range of productivity, digestibility and crude protein content values, when grown in monocultures, indicating that the diversity of grass species is likely to play a major role for the agronomic performances of multi-species grasslands. Moreover, the seasonal distribution of growth and of herbage quality is species specific, as shown by the interactions between the grass species and the season. This functional diversity is likely to stabilise over the course of the growing season the productivity and the quality of multi-species grasslands as compared to sown grass swards consisting of a single cultivar.

The functional diversity of native grasses is also apparent in their contrasted productivity responses in monocultures to N supply and cutting frequency. However, there is less variability in the forage quality (digestibility and crude protein content) response to these management factors than with DMY response. Ultimately, this approach may allow us to understand and predict the consequences of changes in grass species dominance triggered by management factors for the agronomic value of temperate semi-natural grasslands.

Acknowledgements. We are grateful to Dr. Katja Klump and Dr. Juliette Bloor for helpful comments on a previous version of this manuscript. We thank also B. Pons, S. Toillon for their technical collaboration. LS Pontes acknowledges the support of INRA (EFPA and E&A) for a doctoral grant.

Appendix 4-1.

Neutral detergent fiber and acid detergent fiber

Material and Methods

The neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were determined by NIRS method, such as the others variables of nutritive value. The calibration was made according to the method described by Van Soest *et al.* (1991) using the Ankom apparatus (Ankom® Tech. Co., Fairport, NY, USA). The statistical parameters of the calibration models obtained for NDF and ADF were, respectively: range (405-655 and 165-328 g kg⁻¹), standard error of cross-validation (10.9 and 15.6 g kg⁻¹) and R² of cross-validation (0.92 and 0.98).

Results

Outputs of the analysis of variance for NDF and ADF are shown in Table 4-1.1. Only significant interactions for at least one variable are presented. Year, season and species factors were the largest source of variability (57% on average). The most important first order interaction was between season x species (Table 4-1.1).

The first two components of PCA accounted for about 84 and 80% of the variation in NDF and ADF, respectively (Figure 4-1.1). Increasing values on PCA axis 1 indicated a decrease in NDF and ADF. Therefore, species situated at right of PCA displayed lowers values of cell wall content. The PCA analysis showed greatest differences in both variables between spring and the others seasons than between summer and autumn.

Highest NDF and ADF values were observed in 2004 than in 2003 (Table 4-1.2), independently of the season. For both years, the grass shown lowers values of NDF and ADF in autumn (Table 4-1.2).

Results of the ANOVA (Table 4-1.1) showed that only a very low percentage of variance (<1.5%) were explained by species x cutting frequency or by species x N supply interactions. This out put suggests a similar response to management factors for the species studied here. For this reason the effect of cutting frequency and N supply on dry matter yield and nutritive value parameters are presented considering the average of all species. In terms of N supply response, the treatment N+ revealed a significant lower NDF (537 ± 2.3 g kg⁻¹ DM) and ADF (245 ± 1.5 g kg⁻¹ DM) than N- (556 ± 2.4 and 259 ± 1.5 g kg⁻¹ DM, for NDF and ADF, respectively).

In relationship to cutting frequency, on average, it was observed a decrease of 23 and 20 g kg⁻¹ DM in NDF and ADF, respectively, with an increase in cutting frequency. For both cutting frequency, the NDF decrease during annual time course, while the same was observed only in

C+ for ADF (Table 4-1.3). In C- a stronger ADF was observed in summer (Table 4-1.3). Only two native species, *D. glomerata* and *L. perenne*, and *L. perenne* cv. Clerpin displayed a stronger NDF during the summer than in spring, while for ADF four native species (*D. glomerata*, *H. lanatus*, *L. perenne* and *T. flavescens*) and *L. perenne* cv. Clerpin displayed stronger values during the summer than in spring (Table 4-1.4).

Table 4-1.1. Analyses of variance for neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) for 13 native's grasses in 2003 and 2004.

Source of variation	DF	Variance explained (%)			
		NDF		ADF	
Block	2	<1	ns	<1	ns
Year	1	9.7	***	7.5	***
Species	13	30.7	***	27.3	***
Year x species	13	<1	***	<1	***
Cut	1	4.0	***	7.7	***
Year x cut	1	<1	***	<1	***
Species x cut	13	1.0	***	1.3	***
N	1	3.0	***	3.8	***
Species x N	13	<1	***	<1	***
Species x cut x N	13	<1	*	<1	**
Season	2	20.5	***	16.2	***
Season x year	2	<1	***	3.4	***
Season x species	26	9.5	***	9.9	***
Season x year x species	26	1.5	***	1.5	***
Season x cut	2	3.2	***	4.4	***
Season x year x cut	2	<1	***	<1	***
Season x species x cut	26	2.2	***	2.1	***
Season x year x species x cut	24	<1	***	<1	***
Season x N	2	<1	*	<1	ns
Season x year x N	2	<1	**	<1	*
Season x species x N	26	<1	***	1.0	***

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001; ns, not significant.

Table 4-1.2. Seasonal means of neutral detergent fiber (NDF, g kg⁻¹ DM) and acid detergent fiber (ADF, g kg⁻¹ DM) in 2003 and 2004. Results are means (\pm SE) of 13 natives grasses, three blocks and four treatments (n=156).

Year	Season	NDF	ADF
2003		530 \pm 2.4	241 \pm 1.5
	Spring	549 \pm 3.7	241 \pm 2.3
	Summer	547 \pm 3.0	259 \pm 2.1
2004	Autumn	494 \pm 4.2	223 \pm 2.7
		563 \pm 2.1	260 \pm 1.3
	Spring	591 \pm 2.7	276 \pm 1.8
	Summer	565 \pm 2.9	263 \pm 2.0
	Autumn	533 \pm 3.5	241 \pm 2.1

Table 4-1.3. Seasonal means for neutral detergent fiber (NDF, g kg⁻¹ DM) and acid detergent fiber (ADF, g kg⁻¹ DM) by cutting frequency. Results are means (\pm SE) of 13 natives grasses, two level of N supply, three blocks and two years (n=156).

	NDF	ADF
C-	558 \pm 2.2	260 \pm 1.4
Spring	569 \pm 4.0	260 \pm 2.7
Summer	567 \pm 2.8	270 \pm 1.9
Autumn	537 \pm 3.8	250 \pm 2.3
C+	535 \pm 2.5	241 \pm 1.4
Spring	570 \pm 3.3	257 \pm 2.3
Summer	545 \pm 3.0	252 \pm 1.9
Autumn	489 \pm 3.6	214 \pm 1.9

Table 4-1.4. Seasonal mean of neutral detergent fiber (NDF, g kg⁻¹ DM) and acid detergent fiber (ADF, g kg⁻¹ DM) for 13 natives grasses and *L. perenne* cv. Clerpin. Results are means (\pm SE) of four treatments and two years (n=24).

Species	NDF			ADF		
	Spring	Summer	Autumn	Spring	Summer	Autumn
<i>Alopecurus pratensis</i>	592 \pm 6.5	570 \pm 3.7	535 \pm 11.3	277 \pm 5.4	267 \pm 2.7	246 \pm 7.3
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	568 \pm 9.3	518 \pm 4.6	447 \pm 4.7	257 \pm 6.3	234 \pm 3.4	191 \pm 3.4
<i>Arrhenatherum elatius</i>	572 \pm 6.7	537 \pm 7.1	492 \pm 8.3	266 \pm 5.3	257 \pm 3.6	226 \pm 5.5
<i>Dactylis glomerata</i>	587 \pm 4.8	603 \pm 4.3	555 \pm 6.3	276 \pm 3.5	298 \pm 2.8	258 \pm 5.2
<i>Elytrigia repens</i>	574 \pm 5.0	559 \pm 6.1	547 \pm 8.0	264 \pm 4.1	263 \pm 3.9	254 \pm 6.3
<i>Festuca arundinacea</i>	584 \pm 4.6	568 \pm 5.6	540 \pm 7.4	273 \pm 3.7	268 \pm 3.8	252 \pm 4.5
<i>Festuca rubra</i>	628 \pm 5.8	593 \pm 3.9	549 \pm 8.4	289 \pm 4.1	276 \pm 2.5	245 \pm 4.7
<i>Holcus lanatus</i>	559 \pm 6.7	556 \pm 6.0	481 \pm 7.0	258 \pm 5.1	271 \pm 3.8	218 \pm 5.0
<i>Lolium perenne</i>	502 \pm 7.5	545 \pm 6.0	496 \pm 7.5	228 \pm 5.5	256 \pm 4.0	225 \pm 5.0
<i>Phleum pratense</i>	535 \pm 6.0	521 \pm 4.4	501 \pm 6.1	234 \pm 4.5	227 \pm 2.7	226 \pm 3.8
<i>Poa pratensis</i>	601 \pm 6.2	572 \pm 4.4	535 \pm 9.2	284 \pm 4.4	274 \pm 3.2	246 \pm 5.6
<i>Poa trivialis</i>	535 \pm 9.8	502 \pm 8.8	462 \pm 16.2	241 \pm 7.0	218 \pm 6.2	202 \pm 9.7
<i>Trisetum flavescens</i>	570 \pm 8.1	569 \pm 4.4	508 \pm 9.4	255 \pm 5.8	265 \pm 3.1	230 \pm 6.1
<i>Lolium perenne</i> cv. Clerpin	475 \pm 6.1	544 \pm 4.6	470 \pm 8.7	216 \pm 4.5	266 \pm 3.5	217 \pm 5.6

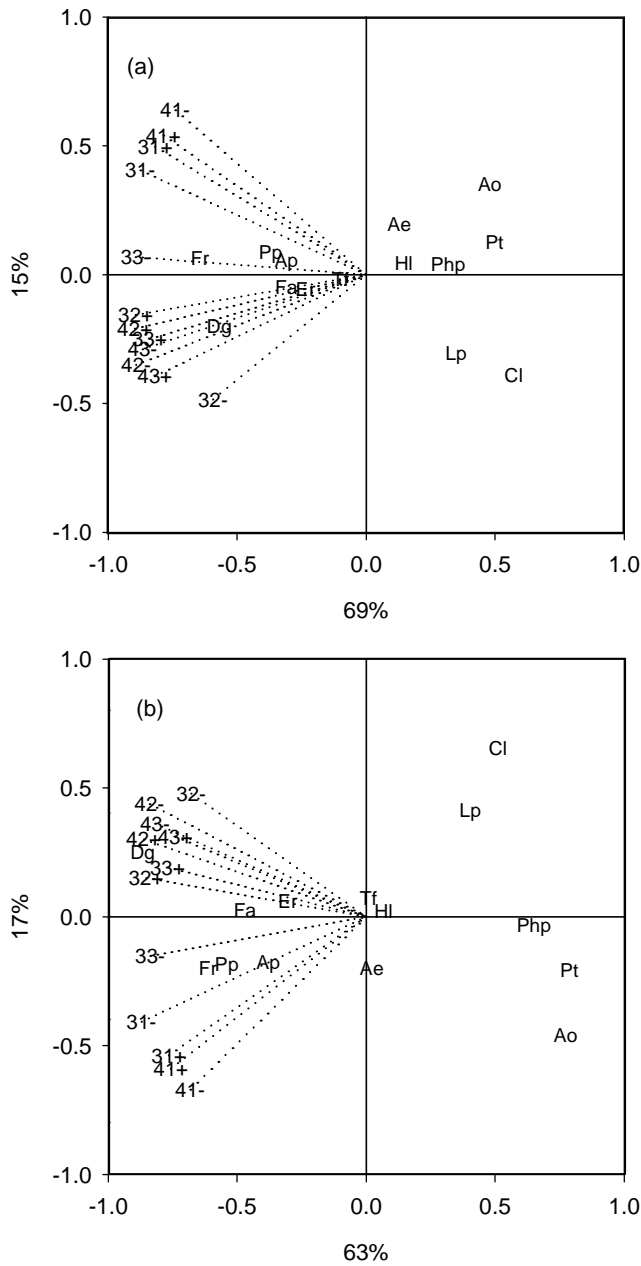


Figure 4-1.1. Two-dimensional biplots (Principal Components Analysis) based on the neutral detergent fiber (a) and acid detergent fiber (b) data for 14 grasses populations, and seasonal means per year and cutting frequency. The first data is the year (2003=3 and 2004=4), the second data is the season (spring=1, summer=2 and autumn=3) “+” for 6 cuts per year and “-” for 3 cuts per year treatments. *Alopecurus pratensis* (Ap), *Anthoxanthum odoratum* (Ao), *Arrhenatherum elatius* (Ae), *Dactylis glomerata* (Dg), *Elytrigia repens* (Er), *Festuca arundinacea* (Fa), *Festuca rubra* (Fr), *Holcus lanatus* (Hl), *Lolium perenne* (Lp), *Lolium perenne* cv. Clerpin (Cl), *Phleum pratense* (Php), *Poa pratensis* (Pp), *Poa trivialis* (Pt) and *Trisetum flavescens* (Tf).

Appendix 4-2. Effects of cutting regime and nitrogen supply on crude protein content (g kg⁻¹). Results are the means (\pm standard error) of 3 seasons and 3 replicates per treatment and species (n=24).

Species	C-	C+	N-	N+
<i>Alopecurus pratensis</i>	173 \pm 5.9	219 \pm 5.2	181 \pm 6.2	210 \pm 6.5
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	174 \pm 6.9	213 \pm 7.3	174 \pm 7.1	213 \pm 7.2
<i>Arrhenatherum elatius</i>	172 \pm 5.8	220 \pm 6.8	180 \pm 7.5	212 \pm 6.6
<i>Dactylis glomerata</i>	155 \pm 3.7	211 \pm 7.2	168 \pm 6.6	199 \pm 7.3
<i>Elytrigia repens</i>	185 \pm 5.0	244 \pm 6.0	200 \pm 6.7	229 \pm 7.3
<i>Festuca arundinacea</i>	143 \pm 4.5	193 \pm 4.5	147 \pm 5.2	189 \pm 5.0
<i>Festuca rubra</i>	168 \pm 4.8	199 \pm 6.0	168 \pm 5.4	198 \pm 5.6
<i>Holcus lanatus</i>	150 \pm 6.1	205 \pm 6.9	156 \pm 7.0	200 \pm 7.1
<i>Lolium perenne</i>	157 \pm 5.8	202 \pm 7.5	161 \pm 7.4	197 \pm 6.8
<i>Phleum pratense</i>	169 \pm 6.1	220 \pm 5.4	178 \pm 6.0	211 \pm 7.2
<i>Poa pratensis</i>	159 \pm 5.7	197 \pm 6.6	159 \pm 6.0	198 \pm 6.2
<i>Poa trivialis</i>	162 \pm 9.0	206 \pm 8.3	172 \pm 9.0	203 \pm 9.3
<i>Trisetum flavescens</i>	179 \pm 4.6	210 \pm 5.9	178 \pm 5.3	210 \pm 5.3
<i>Lolium perenne</i> cv. Clerpin	142 \pm 5.2	190 \pm 5.4	146 \pm 5.9	186 \pm 5.4

Appendix 4-3. Effects of cutting regime and nitrogen supply on pepsin-cellulase dry matter digestibility (g kg⁻¹). Results are the means (\pm standard error) of 3 seasons and 3 replicates per treatment and species (n=24).

Species	C-	C+	N-	N+
<i>Alopecurus pratensis</i>	595 \pm 8.1	706 \pm 9.4	634 \pm 12.6	667 \pm 12.4
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	701 \pm 13.8	760 \pm 13.5	714 \pm 14.4	748 \pm 14.0
<i>Arrhenatherum elatius</i>	670 \pm 9.6	746 \pm 12.6	693 \pm 13.8	723 \pm 11.5
<i>Dactylis glomerata</i>	649 \pm 4.8	717 \pm 6.6	674 \pm 7.1	692 \pm 8.9
<i>Elytrigia repens</i>	647 \pm 5.4	737 \pm 7.8	683 \pm 8.5	701 \pm 11.3
<i>Festuca arundinacea</i>	623 \pm 5.2	683 \pm 9.1	632 \pm 8.1	673 \pm 8.4
<i>Festuca rubra</i>	575 \pm 6.4	631 \pm 12.2	578 \pm 10.8	628 \pm 9.2
<i>Holcus lanatus</i>	681 \pm 9.2	739 \pm 9.2	686 \pm 10.2	734 \pm 9.0
<i>Lolium perenne</i>	708 \pm 12.5	777 \pm 5.8	732 \pm 11.0	753 \pm 11.5
<i>Phleum pratense</i>	726 \pm 8.3	796 \pm 6.7	757 \pm 9.8	766 \pm 9.3
<i>Poa pratensis</i>	614 \pm 6.8	691 \pm 10.8	630 \pm 10.1	675 \pm 10.9
<i>Poa trivialis</i>	712 \pm 15.8	750 \pm 10.0	718 \pm 13.3	750 \pm 11.9
<i>Trisetum flavescens</i>	668 \pm 9.7	730 \pm 12.9	684 \pm 12.4	715 \pm 12.2
<i>Lolium perenne</i> cv. Clerpin	740 \pm 13.9	795 \pm 6.0	756 \pm 12.6	779 \pm 10.4

CHAPITRE 5 :

LEAF TRAITS AFFECT THE PRODUCTIVITY AND NUTRITIVE VALUE OF CO-OCCURRING TEMPERATE PASTURE GRASSES

Laise da Silveira Pontes, Jean-François Soussana, Frédérique Louault, Donato Andueza and Pascal Carrère.

Summary

1. The aim of this study is to assess the role of leaf traits (leaf dry matter content, LDMC, leaf lamina N content, LNC, and specific leaf area, SLA) for the annual above-ground primary productivity and for the nutritive value (pepsin-cellulase digestibility and crude protein content) of 13 native perennial C₃ grass species.
2. These relationships were investigated over two years with monocultures grown in a fully factorial block design crossing the plant species, the cutting frequency and the N supply factors.
3. Plant species ranking for leaf traits were highly correlated between the two N supply and two cutting frequency treatments. A high leaf lamina N content per unit fresh matter reduced significantly the above-ground productivity of the grasses. The digestibility declined with LDMC and increased with SLA. The productivity increase in response to N supply was correlated to a decline in LDMC. Differences in N status among grass species affected together with leaf traits productivity and protein content.
4. We conclude that LDMC, LNC and SLA affect the above-ground productivity and the nutritive value of temperate pasture grasses.

Key words: grassland, leaf dry matter content, leaf nitrogen, plant functional traits, specific leaf area.

Introduction

Understanding the role of species for ecosystem functioning (carbon and/or nitrogen cycles, net primary productivity, litter decomposition rate) is a major objective of studies in ecology. There is a growing interest in using plant traits (Wright *et al.*, 2005) and the grouping of species by their traits into functional types as a form of simplification (Gitay & Noble, 1997). With this objective, Garnier *et al.* (2004) have proposed three leaf traits, specific leaf area - SLA, leaf dry matter content - LDMC and leaf nitrogen content - LNC, called 'functional markers', that allow to assess the impacts of plant community structure changes on ecosystem functioning.

The maximum relative growth rate (RGR) measured with seedlings in a controlled environment correlates with the LDMC, LNC and SLA (Lambers & Poorter, 1992). High SLA and low LDMC values are expected to correspond to intrinsically fast growing species that can expand their leaf area for a relatively low carbon cost (Lambers & Poorter, 1992), at the expense of the lifespan of leaves (Wright *et al.*, 2004). A high LNC is expected for these fast growing species as it is integral for proteins of photosynthetic machinery (Reich *et al.*, 1998; Wright *et al.*, 2004). In contrast, for slow-growing species characteristic of infertile environments, the conservation of the captured resources will gain high importance (Aerts & van der Peijl, 1993; Wilson *et al.*, 1999). This can be achieved by high leaf longevity which is also closely related to LDMC (Ryser, 1996; Ryser & Urbas, 2000). Therefore, there is a trade-off between leaf traits that lead to low nutrient loss rates and those that lead to a high dry matter production (Aerts & Chapin, 2000). With both monocultures and mixtures, the above-ground net primary productivity was negatively correlated with the plant N content (Craine *et al.*, 2002; Soussana *et al.*, 2005). High N use efficiency is considered to be advantageous under conditions of low soil fertility as it allows a high biomass production per unit of N taken up (Aerts & Chapin, 2000).

Leaf traits also affect herbivory which has a major importance for plant community structure and ecosystem functioning in grasslands. Grazing resistance is associated with both avoidance and tolerance traits (Diaz *et al.*, 2001). A high SLA increases digestibility (Duru *et al.*, 2004) and favours grazing tolerance through greater shoot regrowth ability (Westoby, 1999). To support a high regrowth rate, grazing tolerant plants require a high leaf N content (Lambers & Poorter, 1992). This characteristic generally increases leaf quality and selectivity by herbivores (Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2003; Cingolani *et al.*, 2005). Avoidance traits (such as high LDMC) are usually associated with low palatability (Diaz *et al.*, 2001).

The role of leaf traits as potentially useful predictors of ecosystem functioning has mostly been established by studies at the community scale, using trait values weighted by the relative abundance of species in the plant community (e.g. Garnier *et al.*, 2004). Changes in the values of community scale traits may result both from the replacement of species with different trait values (interspecific variation), and from within species variation in traits values (Garnier *et al.*, 2004). Moreover, not only the mean of community scale traits but also their variance can act on ecosystem processes, by promoting complementarity effects between species (e.g. Loreau *et al.*, 2001).

By comparing monocultures of different species, the effects of trait values on ecosystem processes can be directly studied in the absence of interferences between plant populations. To our knowledge only one study (Craine *et al.*, 2002) has directly tested the role of traits for above-ground net primary productivity by comparing plant populations grown in monocultures under realistic field conditions.

We have studied the role of leaf traits (LDMC, LNC and SLA) for the above-ground primary productivity and for the nutritive value for herbivores (digestibility and crude protein content) of 13 co-occurring perennial C₃ pasture grass species grown in monocultures. In order, to understand the role of the traits plasticity for plant responses to nutritional stress and disturbance, these plant populations were compared in a fully factorial block design crossing the N supply and the cutting frequency factors. We hypothesised that: i) the above-ground productivity would be negatively affected by LDMC and LNC and would be positively affected by SLA, ii) the nutritive value (digestibility and crude protein) would be positively affected by SLA and LNC and negatively by LDMC.

Materials and Methods

Plant material

Thirteen temperate native C₃ grasses that co-occur in semi-natural mesic grasslands, belonging to the class of *Arrhenatheretalia elatioris* (Pawłowski, 1928 in Guinochet, 1970) were studied: *Alopecurus pratensis*, *Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis* and *Trisetum flavescens*. During summer 2000, seeds of the grass species were collected in their native habitat in nearby (20 km range) moderate to high fertility permanent grasslands, which are managed by

grazing and cutting. Germination tests were carried in the dark at 20°C on moist filter paper to determine the proportion of viable seeds.

Experimental design

The experiment was established in an upland area of central France (Theix, 45°43'N, 03°01'E, 870 m a.s.l.) on a granitic brown soil (Cambic soil, FAO) (43% sand, 36% silt, 21% clay, pH (H₂O) 6.2, 5.2% OM). The local climate is semi-continental, with a mean annual temperature of 9 °C ranging from 1°C in January to 20 °C in August and an average annual rainfall of 760 mm.

A factorial complete block design crossing three factors (plant populations, cutting frequency and N supply) with three replicates per treatment's combination was used. Each of the three randomized complete block consisted of 56 individual plots of 4.2 m² (2.8 x 1.5 meters) each. In May 2001, in each plot, the grass monocultures were sown in rows (8 rows 18 cm apart) with 600 viable seeds per square meter except for *A. pratensis*, *A. elatius*, *E. repens* and *F. rubra*. With these four grass species, the viable seed density was ca. 50% lower as a result of low seed viability. In 2001, the swards were hand weeded and gaps were filled in some plots with additional seedlings grown in a greenhouse. Phosphorus (80 kg P₂O₅ ha⁻¹ yr⁻¹) and potassium (240 kg K₂O ha⁻¹ yr⁻¹) were supplied at non limiting rates for growth.

The cutting frequency and N fertilizer treatments were started in spring 2002. Two cutting frequencies (bimonthly and monthly cuts, C- and C+ respectively) and two levels of mineral N fertilizer supply (120 and 360 kg N ha⁻¹ year⁻¹, N- and N+ respectively) were compared.

In a given cutting treatment, all plots were cut simultaneously at 6 cm height with a mower (Haldrup, Logstor, Denmark). This height is close to the clipping height in semi-natural grassland (Belesky *et al.*, 2002 and Kramberger & Gselman, 2000). One cut out of two (cuts number 2, 4 and 6) was in common to the two cutting treatments.

N fertilizer (ammonium nitrate) was supplied in split applications after each cutting date. The annual fertilizer N supply was calculated to obtain limiting and non limiting N nutrition, at N- and N+, respectively. The degree of N limitation was estimated according to Lemaire & Gastal (1997) using the N nutrition index (NNI) method. The NNI is the ratio of shoot N content to the critical N content (N_c) which does not limit shoot growth. $N_c = 4.8 (DM)^{-0.32}$ where DM (t ha⁻¹) is the harvested shoot dry matter (Lemaire & Salette, 1984; Lemaire & Gastal, 1997).

The soil volumetric water content was followed fortnightly in the twelve *D. glomerata* plots using time domain reflectometry (TDR, Trime-FM, Medfield, USA). When TDR values

were below 10% the plots were irrigated. 100 mm of water were supplied during the dry summers of 2003 (between July 7 and August 15) and 2004 (between June 28 and August 5).

Above-ground net primary productivity

On cutting date, the fresh harvested biomass of the individual plot was automatically collected by the mower and weighted. A sub-sample was immediately taken, weighed and dried at 60°C for 48h to determine the dry matter (DM) content of the harvested biomass and calculate the above-ground net primary productivity (ANPP) of each plot (g DM m^{-2}). The annual ANPP ($\text{g DM m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) was calculated as the sum of the 6 (C+) and 3 (C-) cuts performed each year.

The stubble mass (residual shoot mass after cutting) was measured in 50 cm^2 quadrats in each C+N+ plot to calculate the ANPP per unit of shoot biomass (sANPP, $\text{g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) for the first spring regrowth in 2003 and 2004. Samples were clipped to ground level, washed, dried at 60°C for 48h and weighed. The sANPP was calculated according to Garnier *et al.* (2004) as the difference between the Log_e transformed values of shoot mass at the end (stubble plus cut biomass) and at the start (stubble biomass) of a regrowth period, divided by the regrowth duration.

Dry matter digestibility and crude protein content

The sub-samples used to determine DM content were ground with a 1 mm screen through a Cyclotec sample mill (Model 1093 FOSS TECATOR Inc., Höganäs, Sweden). Each forage sample was analysed via near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for crude protein (CP) content and enzymatic pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD). NIR spectra were collected with a Foss-NIRSystems 6500 monochromator (FOSS-NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) which scans the spectral range of 400 – 2500 nm. Modified Partial Least Square (MPLS) calibration equations were developed using 144 samples which were selected from overall the total spectra collected ($n=1512$). The calibration set were analysed for CP (using Kjeldahl N $\times 6.25$) and PCDMD (Aufrère & Demarquilly, 1989). All spectra and reference data were recorded and managed with the software WINISI Version 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). For CP and PCDMD, respectively, the results of calibration statistics obtained were: minimum and maximum range (101-288, 492-870 g kg^{-1}), standard error of cross-validation (6.6, 28 g kg^{-1}) and r^2 of cross-validation (0.92 for both).

Apparent nitrogen balance

The balance between the exports of organic N by cuts and the imports of inorganic N by fertilizer applications was calculated for each regrowth period. N exports were calculated

as the product of the ANPP and of the shoot N content for each cutting date. The annual N balance of each plot was then calculated by cumulating values obtained for each regrowth period. This balance is termed here apparent N balance, since it does not include N losses to the waters and to the atmosphere.

Leaf traits

Leaf traits were measured in June and in September 2003 and 2004, three weeks after a cut which was common to the C- and C+ cutting treatments. Ten tillers were collected at random in each plot, avoiding 20 cm edges, cut with scalpels at ground level and kept in a cold box. In the laboratory, the sheath length was measured (SL). The tiller basis was cut in de-ionized water and was then placed at 4°C in the dark for at least 6h to allow for full rehydration (Garnier *et al.*, 2001a). After rehydration, the lamina of the youngest fully expanded leaf of each of the ten individuals was measured (LL), weighed and their area was measured with an electronic planimeter (LI 3100, Li-cor, Lincoln, NE, USA). The leaves were then oven dried at 60°C for 48h and weighed. Leaf dry matter content (LDMC, leaf lamina dry mass/leaf lamina fresh mass) and specific leaf area (SLA, leaf lamina area/leaf lamina dry mass) were calculated. The leaf lamina N content (LNC) was determined with an elemental analyser (Carlo Erba Instruments, CNS NA 1500, ThermoFinnigan, Milan, Italy) for each sample. In June 2004, as a result of an early water deficit, no intact mature leaf was found at the time of sampling for *F. arundinacea*, *F. rubra*, *P. pratensis* and *P. trivialis* and accordingly leaf trait values could not be determined for these species.

Data analysis

Means over two years were calculated from annual means. Annual means of traits are means of two measurements (June and September). For each plot, annual means of PCDMD and CP were calculated as a weighted average, based on the harvested dry matter (ANPP) value at each cut. This procedure allows the calculation of a mean annual quality for the total herbage harvested each year.

Analysis of variance (ANOVA) were performed using the statistical analysis package SAS (SAS Institute, 2000) with the species (12 d.f.), cutting regime (1 d.f.), N supply (1 d.f.) and block (2 d.f.) factors. All interactions were initially included in the statistical model, except interactions with the 'block' factor since these cannot be studied in a block design. Non significant interactions were then excluded to obtain the final model (Dagnélie, 1986). Plant tissue composition data (LDMC, LNC, CP and PCDMD) were normalized prior to ANOVA using the Arcsin (square root) transformation.

Table 5-1. Statistical significance of *F* ratios in ANOVA's for leaf traits, productivity, nutritive value and N nutrition index of the grass populations. Means of two years were analyzed for each individual plot (n=156). The factors included in the model are: species, cutting frequency, N supply, block and theirs interactions (except with the block). LDMC, leaf dry matter content; LNC, leaf lamina N content; SLA, specific leaf area; ANPP, above-ground net primary productivity; CP, crude protein; PCDMD, pepsin-cellulase dry matter digestibility; NNI, Nitrogen Nutrition Index.

	Df	LDMC			LNC			SLA			ANPP			CP			PCDMD			NNI		
		VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>	VE	<i>F</i>	<i>P</i>
Species	12	74	54	***	44	81	***	91	167	***	72	84	***	18	35	***	55	71	***	20	25	***
Cut	1	2.3	20	***	6.3	135	***	<1	1.6	ns	4.6	64	***	40	921	***	25	390	***	<1	0.02	ns
N	1	5.4	47	***	36	796	***	1.5	34	***	8.1	112	***	33	766	***	7.8	120	***	67	1055	***
Block	2	2.8	12	***	6.4	70	***	1.3	15	***	<1	1.4	ns	<1	0.5	ns	<1	2.6	ns	<1	0.9	ns
Species * Cut	12	-	-	ns	-	-	ns	-	-	ns	3.8	4.4	***	2.0	3.6	***	3.4	4.4	***	2.6	3.4	***
Species * N	12	-	-	ns	1.5	2.9	**	-	-	ns	2.3	2.7	**	-	-	ns	-	1.9	*	2.1	2.7	**
Cut * N	1	-	-	ns	<1	17	***	-	-	ns	<1	6.8	*	<1	15	***	-	-	ns	<1	15	***

Only significant interactions for at least one variable are presented in Table 5-1.

VE, variance explained (%); Df, degree of freedom;

ns, not significant; *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001.

Relationships among leaf traits (LDMC, LNC and SLA) and between ANPP, CP and PCDMD were studied after Log_{10} transformation of values and using standardized major axis (SMA) regression (Wright *et al.*, 2004; Niklas, 2006). SMA slopes were calculated as the linear regression slope divided by the correlation coefficient (r) (Sokal & Rohlf, 1995). SMA slopes describe the best-fit lines or central axes of the correlation (Wright *et al.*, 2004). To study the relationship between leaf traits and ANPP, CP and PCDMD, analyses of covariance were performed (Statgraphics Plus, Manugistics, USA) using species means within each block ($n=39$) and the block as a fixed factor. The relative changes in traits and in ANPP, PCDMD and CP in response to the cutting frequency (C) and N supply (N) factors were calculated as $(C^+ - C^-)/C^-$ and as $(N^+ - N^-)/N^-$, respectively.

Results

The species and N supply factors were significant for all variables analysed (Table 5-1). The cutting frequency factor was significant for all variables, except the SLA and the NNI. Despite a significant effect for leaf traits, the block factor accounted only for a small share of the total variance (Table 5-1). For LNC, the species times N supply and the N supply times cutting frequency interactions were significant. For ANPP, CP, PCDMD and NNI all first order interactions were significant (except the species times N interaction for CP and the cut times N interaction for PCDMD). The species factor was the single largest source of variation, with 44 to 91 % of the total variance explained, for all variables but two (crude protein content, CP and Nitrogen Nutrition Index, NNI). For this reason, means per species of the four treatments and three blocks will first be presented, before analysing interactions with the N supply and cutting frequency factors.

Mean leaf trait values per species

Means per species of each leaf trait were calculated on average of the three blocks, four treatments and of the four measurement dates (Table 5-2). Mean LDMC values varied within a narrow range (193 to 267 mg g^{-1}) with a minimum for *H. lanatus* and a maximum for *F. rubra*. The mean SLA displayed a three fold variation among grass populations (11 to 32 $\text{m}^2 \text{kg}^{-1} \text{DM}$) with a minimum for *F. rubra* and a maximum for *H. lanatus*. The variability among grass populations of the mean LNC was intermediate (32 to 47 $\text{mg N g}^{-1} \text{DM}$) with a minimum for *F. arundinacea* and a maximum for *E. repens*.

Table 5-2. Mean leaf dry matter content (LDMC, mg g⁻¹), leaf lamina N content (LNC, mg g⁻¹ DM) and specific leaf area (SLA, m² kg⁻¹ DM) per species. Results are means (\pm s.e.) of four treatments and of four measurement dates (n=3).

Species	LDMC	LNC	SLA
<i>Alopecurus pratensis</i>	241 \pm 4.8	41.3 \pm 0.89	23.3 \pm 0.22
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	211 \pm 4.9	41.2 \pm 1.45	26.4 \pm 0.42
<i>Arrhenatherum elatius</i>	208 \pm 6.2	45.0 \pm 2.14	30.5 \pm 0.85
<i>Dactylis glomerata</i>	221 \pm 2.2	38.2 \pm 0.42	24.5 \pm 0.92
<i>Elytrigia repens</i>	222 \pm 4.5	47.2 \pm 0.93	26.7 \pm 0.46
<i>Festuca arundinacea</i>	222 \pm 2.0	31.9 \pm 1.20	17.7 \pm 0.48
<i>Festuca rubra</i>	267 \pm 1.3	34.3 \pm 0.41	10.6 \pm 0.27
<i>Holcus lanatus</i>	193 \pm 3.3	38.5 \pm 1.51	31.6 \pm 0.83
<i>Lolium perenne</i>	206 \pm 3.6	37.4 \pm 1.02	21.6 \pm 0.89
<i>Phleum pratense</i>	229 \pm 3.2	40.9 \pm 0.87	29.8 \pm 0.03
<i>Poa pratensis</i>	250 \pm 3.1	34.5 \pm 1.32	19.1 \pm 0.56
<i>Poa trivialis</i>	238 \pm 6.5	40.5 \pm 2.06	27.3 \pm 1.23
<i>Trisetum flavescens</i>	225 \pm 3.8	42.5 \pm 0.82	26.1 \pm 0.31

Table 5-3. Mean annual above-ground net primary productivity (ANPP, g DM m⁻² yr⁻¹), crude protein content (CP, g kg⁻¹ DM) and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD, g kg⁻¹ DM) per species. Results are means (\pm s.e.) of four treatments and of two years (n= 3).

Species	ANPP	CP	PCDMD
<i>Alopecurus pratensis</i>	815 \pm 5.3	179 \pm 2.3	634 \pm 7.5
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	648 \pm 14.2	175 \pm 0.8	699 \pm 5.8
<i>Arrhenatherum elatius</i>	935 \pm 44.7	182 \pm 3.1	692 \pm 0.7
<i>Dactylis glomerata</i>	1284 \pm 27.7	172 \pm 0.6	674 \pm 2.6
<i>Elytrigia repens</i>	687 \pm 18.9	199 \pm 0.8	682 \pm 3.5
<i>Festuca arundinacea</i>	1282 \pm 24.3	162 \pm 1.9	645 \pm 0.8
<i>Festuca rubra</i>	832 \pm 28.7	170 \pm 2.8	589 \pm 6.8
<i>Holcus lanatus</i>	1103 \pm 53.4	165 \pm 1.5	702 \pm 1.9
<i>Lolium perenne</i>	834 \pm 34.0	161 \pm 1.5	740 \pm 4.1
<i>Phleum pratense</i>	782 \pm 21.3	175 \pm 1.9	744 \pm 4.0
<i>Poa pratensis</i>	803 \pm 34.7	165 \pm 1.8	645 \pm 3.6
<i>Poa trivialis</i>	313 \pm 26.6	154 \pm 4.6	701 \pm 7.4
<i>Trisetum flavescens</i>	695 \pm 29.3	181 \pm 2.1	696 \pm 3.0

Mean ANPP and nutritive value per species

Means per species of above-ground net primary productivity (ANPP), shoot digestibility (PCDMD) and crude proteins content (CP) were calculated on average of the three blocks four treatments and four measurement dates (Table 5-3). The mean ANPP displayed a four fold difference between *P. trivialis* (313 g DM m⁻² yr⁻¹) and *D. glomerata* (1284 g DM m⁻² yr⁻¹). The shoot CP content was less variable, with a 22% range between *P. trivialis*, on the one hand, and *E. repens* on the other. *Ph. pratense* was the most digestible species (744 g kg⁻¹) and *F. rubra* was least digestible (589 g kg⁻¹). There were no significant correlations between the ANPP, the PCDMD and the CP of the species (data not shown).

Mean Nitrogen Nutrition Index and N balance per species

The mean nitrogen nutrition index (NNI) is shown in Figure 5-1a for each grass species and each N supply. At N-, the NNI ranged between 0.59 (*P. trivialis*) and 0.75 (*D. glomerata*). At N+, the NNI varied between 0.73 (*P. trivialis*) and 0.92 (*D. glomerata*). Pearson's correlations using means of the two N supply treatments show that NNI is significantly and positively correlated to ANPP (n=39, r=0.67, P<0.001) and CP (n=39, r=0.62, P<0.001). No correlations were found with the other variables (data not shown).

At N+ treatment, the apparent annual N balance was positive (indicating a net surplus of N) for all species, except *D. glomerata* and *F. arundinacea* (Figure 5-1b). At N- treatment, the N balance was negative (indicating a net deficiency of N) for all species but *P. trivialis*.

Relationships among leaf traits

Allometric relationships among means per species and per block (n=39) of the leaf traits were studied. SLA was negatively and significantly correlated to LDMC (Table 5-4a). A ten fold increase in SLA coincided with 2-fold declines in LDMC (SMA slopes of -0.31). SLA was also positively correlated (SMA slope of 0.37) with LNC. When individual data from each plot (n=156) were considered, the same correlations were found but with higher slopes. Moreover, a significant and negative correlation was also observed between LDMC and LNC (Table 5-4b).

Relationships between leaf traits, productivity and nutritive value

On average of the four treatments, Pearson's correlations show that productivity (ANPP) is negatively correlated (P<0.05) with LNC (Table 5-5) and with LDMC*LNC (the leaf lamina N content per unit fresh matter, P<0.001). Digestibility (PCDMD) is negatively correlated with LDMC (P<0.001) and positively with both SLA (P<0.001) and LNC (P<0.01). Finally, the crude protein content of shoots (CP) is positively correlated with LNC (P<0.001) and with LDMC*LNC (P<0.001).

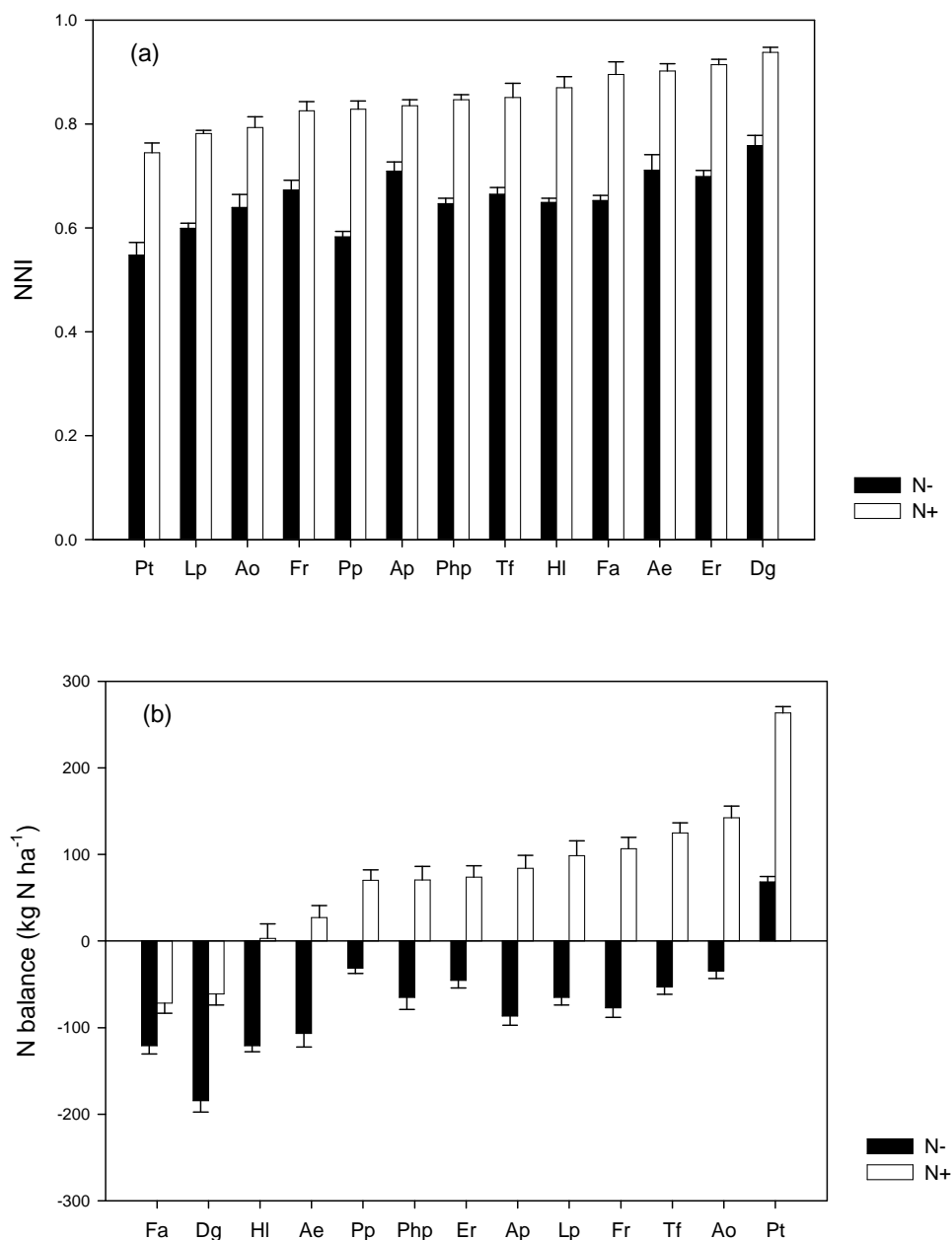


Figure 5-1. Nitrogen Nutrition Index (NNI, Figure 5-1a) and Nitrogen balance (Figure 5-1b). For the thirteen grasses studied (*Alopecurus pratensis* (Ap), *Anthoxanthum odoratum* (Ao), *Arrhenatherum elatius* (Ae), *Dactylis glomerata* (Dg), *Elytrigia repens* (Er), *Festuca arundinacea* (Fa), *Festuca rubra* (Fr), *Holcus lanatus* (Hl), *Lolium perenne* (Lp), *Phleum pratense* (Php), *Poa pratensis* (Pp), *Poa trivialis* (Pt) and *Trisetum flavescens* (Tf)) and two levels of N supply. The results are means of two cutting frequencies, three blocks and two years (n= 12). The bars show the standard error. N-, low N supply (120 kg N ha⁻¹ year⁻¹), N+, high N supply (360 kg N ha⁻¹ year⁻¹).

Table 5-4. Allometric relationships between means per plant species of leaf traits. Standardized major axis (SMA) regressions were calculated after log-transformation of each variable. LDMC, leaf dry matter content; LNC, Leaf lamina N content; SLA, specific leaf area.

a. Trait's values are means per plant species of four treatments and of four measurements dates (n=39).			
	LDMC	LNC	SLA
LDMC		NA (0.0538)	- 0.31 (\pm 0.077)***
LNC	-		0.37 (\pm 0.093)***
SLA	0.42	0.44	

b. Trait's values are means per plant species of four treatments and of four measurements dates (n=156).			
	LDMC	LNC	SLA
LDMC		-0.67 (\pm 0.091)***	-0.32 (\pm 0.041)***
LNC	0.20		0.51 (\pm 0.074)***
SLA	0.42	0.33	

Standardized major slopes with 95% confidence interval are given in the upper right section of the matrix (y variable is column 1, x variable in row 1). NA, not applicable: in these cases the correlation was clearly non-significant (P values given in parentheses). Adjusted coefficients of determination (r^2) are given in the lower left section of the matrix. ***, $P < 0.001$.

Table 5-5. Analyses of covariance between means per species of leaf traits and of productivity and forage quality variables. Individual values are means per plant species of four treatments and of two years (n=39, block factor was not significant). LDMC, leaf dry matter content; LNC, leaf lamina N content; SLA, specific leaf area; ANPP, above-ground net primary productivity; CP, crude protein content; PCDMD, pepsin-cellulase dry matter digestibility. Correlation coefficients are shown.

	LDMC	LNC	LDMC*LNC	SLA
ANPP	ns	-0.39*	-0.60***	ns
CP	ns	0.68***	0.62***	ns
PCDMD	-0.67***	0.43**	ns	0.74***

ns, not significant; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

Table 5-6. Analyses of covariance between means per species of leaf traits and of productivity and forage quality variables in each of four treatments (n=39, block factor was not significant). Same abbreviations as in Table 5-5. Correlation coefficients are shown.

	N-	N+	C-	C+
ANPP vs. LDMC	-0.33*	ns	ns	ns
ANPP vs. LNC	-0.41*	ns	-0.41*	ns
ANPP vs. LDMC*LNC	-0.61***	-0.53***	-0.65***	-0.52**
CP vs. LNC	0.62***	0.64***	0.53**	0.71***
CP vs. LDMC*LNC	0.50**	0.55***	0.47**	0.58***
PCDMD vs. LDMC	-0.66***	-0.65**	-0.52***	-0.72***
PCDMD vs. LNC	0.45*	0.38*	ns	0.49**
PCDMD vs. SLA	0.72***	0.72***	0.63***	0.79***

Only significant correlations for at least one factor level are presented.
ns, not significant; *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001.

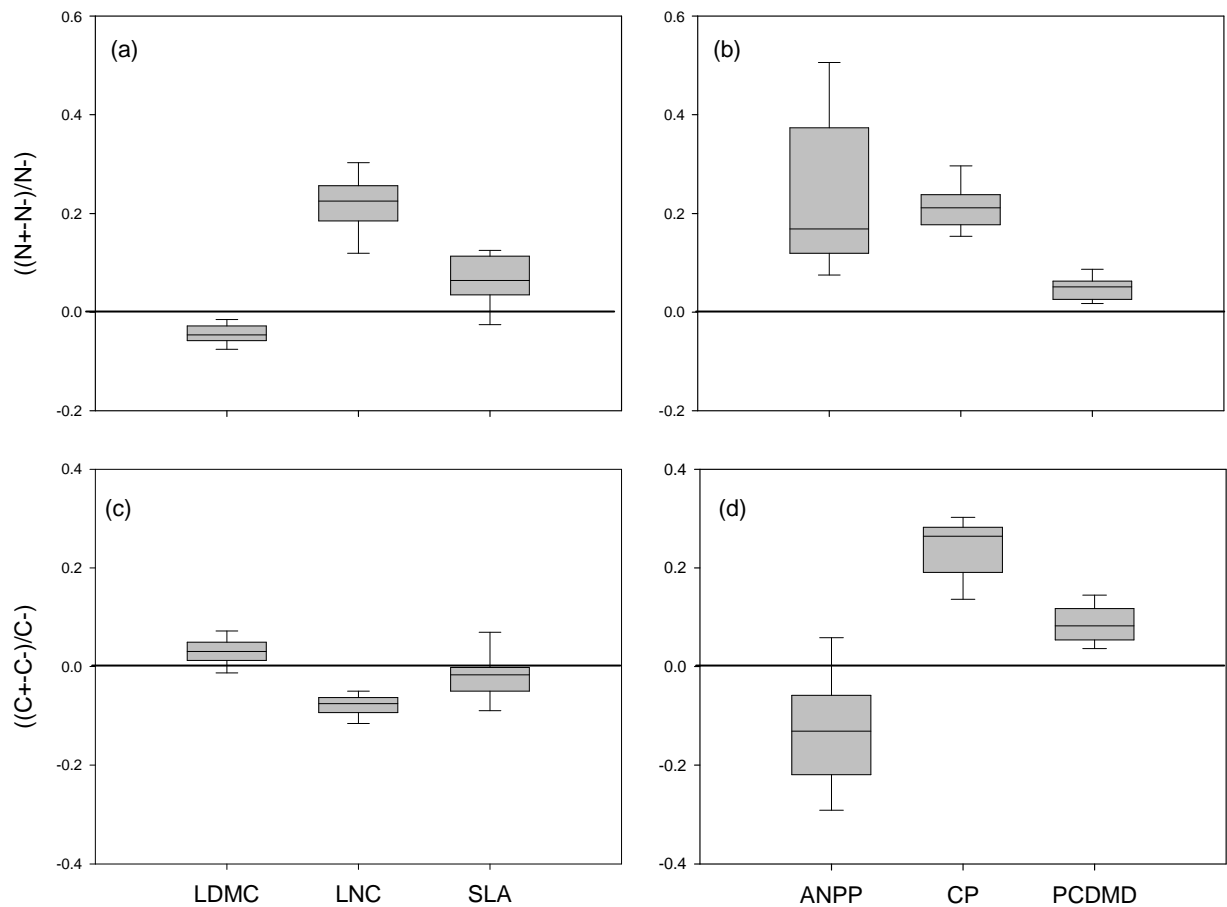


Figure 5-2. Box-and-Whisker plot of the responses to the N supply (a and b) and cutting frequency (c and d) factors of three leaf traits (a and c), and of above-ground DM productivity, DM digestibility and crude protein content (b and d). LDMC, leaf dry matter content; LNC, leaf lamina N content; SLA, specific leaf area; ANPP, above-ground net primary productivity; CP, crude protein; PCDMD, pepsin-cellulase dry matter digestibility. Values are means of two years per species (n=13). The center lines within each box show the location of the sample medians. The lower whisker is drawn from the lower quartile to the smallest point within 1.5 interquartile ranges from the lower quartile. The other whisker is drawn from the upper quartile.

Table 5-7. Analyses of covariance between the relative response of leaf traits and of productivity and forage quality variables to N supply (a) and cutting frequency (b) factors. Values are means per species of two years (n=39). Same abbreviations as in Table 5-5. Correlation coefficients are shown.

a. Relative response to N supply				
	LDMC	LDMC*LNC	LNC	SLA
ANPP	-0.36*	ns	ns	0.34*
CP	ns	ns	ns	ns
PCDMD	ns	ns	0.39*	ns

b. Relative response to cutting frequency				
	LDMC	LDMC*LNC	LNC	SLA
ANPP	-0.52*#	0.47*#	ns	0.48*
CP	ns	ns	ns	ns
PCDMD	0.56**#	ns	ns	ns

ns, not significant; *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001.
#, block significant at P<0.05

Table 5-8. Comparisons of species ranking (Spearman's rank correlation) for leaf traits, productivity and nutritive value variables among N supply and cutting frequency treatments. Values are means per plant species of two years (n=13). Same abbreviations as in Table 5-5.

	N supply	Cutting frequency
LDMC	0.98***	0.95***
LNC	0.94***	0.98***
SLA	0.98***	0.98***
ANPP	0.93***	0.94***
CP	0.96***	0.81***
PCDMD	0.97***	0.89***

***, P<0.001.

As the species times N supply and species times cutting frequency interactions were significant (Table 5-1), the role of leaf traits was further analysed at each level of these two factors (Table 5-6). ANPP was negatively correlated with LNC*LDMC for all factor levels. LDMC was always negatively correlated to PCDMD. SLA was always positively correlated to PCDMD. All leaf traits (LNC and LDMC*LNC) were significantly correlated to CP. Finally, LNC was also negatively correlated to PCDMD for all factor levels but C-.

Relative responses to cutting frequency and N supply

Relative responses to cutting frequency and N supply were plotted as box plots indicating the variability observed among species (Figure 5-2). For all species, LNC was increased by N supply and reduced by cutting frequency. In the same way, for most species, the SLA was increased by N supply (except for *D. glomerata*) and was reduced by cutting frequency (except for *D. glomerata*, *Ph. pratense* and *P. trivialis*). Relative responses to these factors of LDMC were mostly in the opposite direction (except for *F. arundinacea* and *P. trivialis*, Figure 5-2c).

The ANPP was usually increased by the N supply and reduced by the cutting frequency factors and displayed large but highly variable relative responses among species. Only two species (*L. perenne* and *P. trivialis*) had their production increased at a high compared to a low cutting frequency. There was a considerable variability in the relative response to N supply of the grass species (from 4.8 up to 52 % for an increase in N supply from 120 to 360 kg N ha⁻¹ yr⁻¹). In contrast, nutritive value variables (PCDMD and CP) were stimulated by cutting frequency and N supply with relatively small variation among species.

In response to N supply, changes in ANPP were negatively correlated to LDMC and were positively correlated to SLA (Table 5-7a). The ANPP response to cutting frequency was also correlated to LDMC, LDMC*LNC and SLA. The relative response of PCDMD to N supply and to cutting frequency was correlated to that of LNC and LDMC, respectively (Table 5-7ab).

Species ranking across N supply and cutting frequency treatments

Spearman's rank coefficients were calculated between N supply and cutting frequency treatments. For all traits as well as for productivity and nutritive value variables, the species ranking was highly correlated ($P < 0.001$) between the two N supply and two cutting frequency (Table 5-8) treatments.

Table 5-9. Multiple regressions between above-ground dry matter productivity and leaf traits with the N nutrition index (NNI) as a predictor variable. Individual data are means of four treatments and two years for each species (n=39). All values were log-transformed prior to regression analysis. The variables included in the model were obtained by forward selection. There was no large colinearity (colinearity < 0.5) between variables included in the model. Same abbreviations as in Table 5-5.

		Coefficient	<i>P</i>	Adjusted <i>r</i>²
ANPP	Constant	0.85 ± 0.398		
	Block	0.1 ± 0.04	*	
	NNI	0.06 ± 0.005	***	
	LDMC*LNC	-0.0003 ± 0.00003	***	
	Model		***	0.89

*, P<0.05; ***, P<0.001.

N nutrition index and leaf traits as predictors of the productivity and nutritive value

A multiple regression analysis was performed using a forward selection method on means of the four treatments to assess the predictive ability of the LDMC, LNC and SLA traits for ANPP, PCDMD and CP (Table 5-9). 36% of the total variance in ANPP was predicted by a single trait, the leaf N content per unit fresh mass (LDMC*LNC; n=39; P<0.001):

$$\text{ANPP} = 54.6 \pm 5.65 - 0.0028 \pm 0.00063 (\text{LDMC} * \text{LNC})$$

No combination of traits was found to predict better than a single leaf trait (see Table 5-4) the mean per species of CP and of PCDMD. When the NNI was introduced in the multiple regression analysis, the combination of NNI and LDMC*LNC accounted for 89% of the total variance in ANPP (Table 5-9).

Discussion

Leaf traits (LDMC, LNC and SLA) have been called ‘functional markers’ (Garnier *et al.*, 2004) as they have been shown to affect during succession ecosystem processes such as productivity and litter decomposition. We have investigated with perennial C₃ pasture grasses grown in monocultures the relationships between these leaf traits, the above-ground primary productivity (ANPP) and the nutritive value (pepsin-cellulase digestibility and crude protein contents) of shoots, the latter being a strong determinant of herbivory (Garcia *et al.*, 2003) in grassland ecosystems.

Between and within species variation in leaf traits

The grass species that originated from a common habitat (semi-natural grasslands of moderate to high fertility) had contrasting leaf trait values and, although the traits measured showed some within species variation, on average 70% of the total variance in LDMC, LNC and SLA originated from the species factor (Table 5-1). The plasticity of these leaf traits in response to nutrients and disturbance was on average small (average relative changes less than 14%, Figure 5-2), except for the 23% increase in LNC in response to N supply. Therefore, in agreement with other findings at plant community scale (Garnier *et al.*, 2004), the within species variation in leaf traits was less than the between species variation.

Moreover, the species ranks of all leaf traits were conserved for two contrasted levels of N supply and of cutting frequency (Table 5-8). This in good agreement with previous results showing that species ranks for LDMC and SLA are conserved both between different

years and sites (Garnier *et al.*, 2001b) and in response to resource gradients (Wilson *et al.*, 1999; Al Haj Khaled *et al.*, 2005).

Correlations among traits

Given the predominant effect of the species factor for leaf traits, the relationships between these traits were first assessed based on means per species of the four treatments (Table 5-4a). The results confirm the positive correlation between SLA and LNC and the negative correlation of LDMC with SLA (Wilson *et al.*, 1999; Wright *et al.*, 2004). SMA slopes reported in Table 5-4a are based on means of four treatments (between species variation) and are therefore lower than those calculated with data from individual treatments (Table 5-4b). For example, the SMA slope between SLA and LNC reaches 0.51 with all data and 0.37 for means per treatment. Only the first value fits within the range reported by Wright *et al.* (2001).

Above-ground primary productivity

In this study, the ANPP was measured as the increment in total shoot dry-matter above cutting height (6 cm). With cuts each month or every two months, the fraction of dead shoot material at cutting date was low (less than 5%, data not shown) and therefore the shoot DM accumulation can be interpreted in terms of above-ground primary productivity.

During succession in Mediterranean old-fields, SLA, LDMC and LNC were not significantly correlated with ANPP (Garnier *et al.* 2004). Instead, these traits were significantly correlated with the ANPP per unit of shoot biomass (sANPP, $\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$), which has also been termed production efficiency (Reich *et al.*, 1992). Under our conditions, the initial shoot mass at the start of regrowth corresponds to stubbles. The total stubble mass ranged between 400 and 1300 g DM m^{-2} in the C+N+ treatment and differed significantly ($P < 0.001$) among species. However, the sANPP was not significantly correlated to LDMC, SLA and LNC (data not shown). In contrast, the ANPP was correlated both with LNC and with SLA in this treatment (C+N+, data not shown).

Leaf traits, nitrogen use efficiency and above ground net primary productivity

At both N supplies, the N nutrition index values were below one (Figure 5-1), indicating that shoot growth was limited by plant N availability. High N use efficiency is considered to be advantageous under conditions of low soil fertility, because it entails a high biomass production per unit of nutrients taken up. In a previous study with grass mixtures, the relative growth rate was significantly correlated with N use efficiency (Soussana *et al.*, 2005).

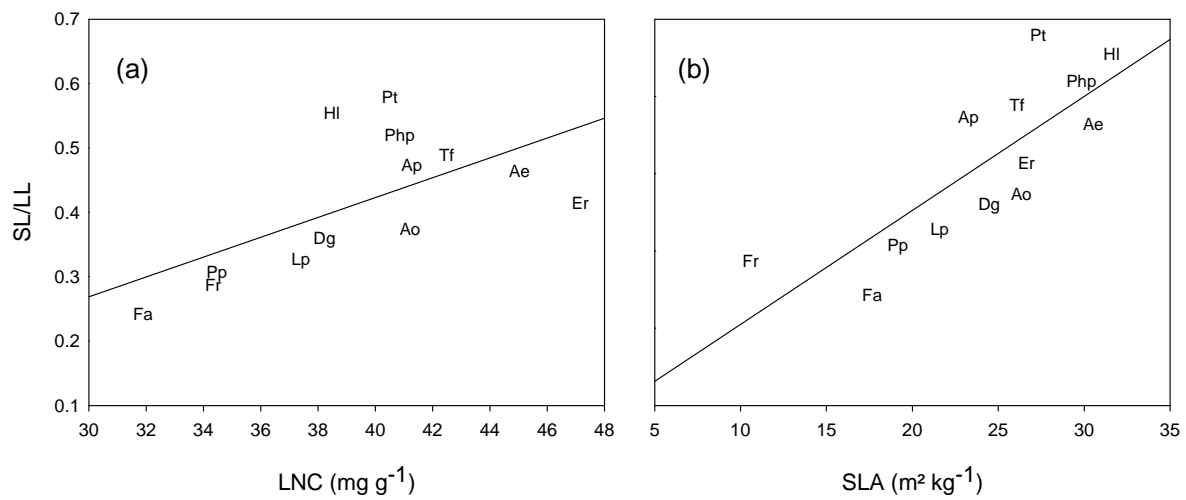


Figure 5-3. Relationships between the ratio of sheath to leaf lamina length (SL/LL) the leaf lamina N content (LNC) (a), and the specific leaf area (SLA) (b). (a) $n=13$, $r^2=0.62$, $P<0.05$; (b) $n=13$, $r^2=0.81$, $P<0.001$. Values are means of two years and of four treatments per species. See Figure 5-1 for the abbreviations of species names.

The mean residence time of N in the plant and the N productivity, which is the ratio of biomass production per unit time to the amount of N in the plant, are the two components of the N use efficiency (Berendse & Aerts, 1987). A high N productivity is strongly correlated with high leaf N content in juvenile plants (reviewed by Aerts & Chapin, 2000). By contrast, with dense grass stands N productivity is negatively correlated with the plant N content (Soussana *et al.*, 2005). Craine *et al.* (2002) have also reported for N limited plants a negative relationship between the ANPP and the plant N content.

In good agreement with Craine *et al.* (2002), our results show that the ANPP is negatively correlated to the leaf N content (LNC, Table 5-5), which suggests that a high leaf N content would reduce the above-ground primary productivity through a reduction in N productivity. However, when the LNC is calculated on a dry-matter basis, this correlation is not found for each factor level. In contrast, the ANPP is highly correlated with the leaf lamina N content per unit fresh matter basis (calculated as LNC times LDMC, $P < 0.001$). The N content in lamina fresh matter is therefore likely to be a key trait that would affect the shoot growth of N limited grasses, through changes in N productivity.

The second component of the N use efficiency is the mean residence time of N in the plant tissues. In plants that are not severely disturbed, a long leaf lifespan favours N conservation (Chapin, 1980; Berendse & Aerts, 1987; Aerts & Chapin, 2000). However, defoliation removes 3 to 6 times more N than leaf senescence in grass monocultures cut each month or every two months (Soussana *et al.*, 2005). Using two different cutting frequencies, Berendse & Elberse (1989) demonstrated the importance of remobilisation of N coming from the roots and stubble after cutting in determining the residence time of N in the plant. Nitrogen pools located in the roots and stubble had relatively slow turnover rates in comparison to that of leaves (Soussana *et al.*, 2005). We have found a positive relationship between the LNC and the ratio of sheath to leaf lamina length (SL/LL; $n=13$, $r = 0.62$, $P < 0.05$, Figure 5-3a). Grasses with a high LNC (low N productivity) would therefore invest relatively more in sheaths compared to laminae, which would reduce N losses by defoliation, and thereby increase the mean residence time of N. Therefore, our results suggest a trade-off between the two components of NUE (Aerts & Chapin, 2000): grasses with high lamina N content and high sheath fraction would have a low N productivity but a high mean residence time of N. Conversely, grasses with low LNC and low sheath fraction would have a high N productivity but a relatively low mean residence time of N.

Our results do not confirm previous findings by Poorter & Jong (1999) who reported a positive relationship between ANPP and SLA. According to Reich *et al.* (1992), different patterns of biomass allocation may cause the lack of relationship between ANPP and SLA. Species with low SLA have been shown to allocate a relatively large fraction of their total biomass to foliage. On the contrary, species with high SLA have a relatively large fraction of the above-ground biomass allocated to stems, due to a higher efficiency of their foliage biomass (Reich *et al.*, 1992; Wright *et al.*, 2001). Under our conditions, the SLA was positively correlated ($n=13$, $r = 0.81$, $P<0.001$) with the sheath to leaf lamina length ratio (Figure 5-3b). Therefore, in good agreement with the hypothesis by Reich *et al.* (1992), a high SLA grass would allocate relatively more growth to sheath than to leaf lamina. Because of this trade-off with the sheath to lamina ratio, the SLA would not affect the ANPP.

The role of plant nitrogen status

The N nutrition index method is based on the concept of a critical N concentration (Lemaire & Gastal, 1997) and has been successfully applied to pasture species differing by their shoot architecture, by their tiller density and by their location in a dense canopy (Löttscher *et al.*, 2003). At the first cut after the start of the experiment, the N nutrition index did not differ significantly among grass species before the application of N treatment (data not shown). Then, on average of the two years, significant differences in N nutrition indices were found among grasses (Table 5-1), with for example high NNI values for *D. glomerata* and low values for *L. perenne* and *P. trivialis*.

Such differences in plant N status among plant species suggest that N capture differed as a consequence of species differences in root uptake activity and in the architecture of root systems (Ryser & Lambers, 1995; Craine *et al.*, 2002). Indeed, for a given N supply level, there was a negative correlation between the NNI and the apparent annual N balance ($r=-0.75$ at N- and $r=-0.71$ at N+; $P<0.001$), which indicated that grasses with a low NNI were not able to absorb efficiently the soil N.

When differences in NNI were taken into account by using a multiple regression approach (with LDMC and LNC), the model accounted for 89% of the total variance in ANPP (Table 5-9). We therefore conclude that plant species differences in above-ground productivity were presumably affected both by N capture (through root traits affecting NNI) and by N use efficiency (through LNC, LDMC and sheath:leaf ratio).

Relationships between leaf traits and nutritive value

In agreement with previous results (Louault *et al.*, 2005) among plant species, the digestibility of shoot biomass (PCDMD) declined with LDMC and increased with SLA. A

low investment in cell wall material, such as lignin, hemicellulose and cellulose and relatively more cytoplasmic elements such as proteins (Van Arendonk & Poorter, 1994) favour the digestibility of leaves from species with a low LDMC and a high SLA. Therefore, our results confirm that SLA is a good indicator for classifying grass species with respect to their digestibility, in good agreement with the suggestion made by Duru *et al.* (2004) based on two species (*F. rubra* and *D. glomerata*). Species differences in crude protein content scaled with the leaf lamina N content on average of all treatments (Table 5-6).

Effects of inorganic N supply and of cutting frequency

On average of all species, the N supply increased LNC and SLA but reduced LDMC (Figure 5-2a). These changes in morphological and chemical characteristics are associated with an improved capture of resources (Ryser & Lambers, 1995) and tend to increase the growth rate and the competitive ability of grasses, while presumably reducing their N use efficiency. Moreover, the responses to N supply of ANPP and LDMC were negatively correlated, which suggests that a lower LDMC contributed to the increase in productivity in response to N supply.

In agreement with previous observations (Binnie & Chestnutt, 1991), herbage production (ANPP) was inversely related to defoliation frequency. The productivity decline in response to cutting frequency was apparently partly induced by the increase in LDMC (Table 5-7).

Grazing avoidance has been associated with changes in leaf morphology that reduce both the digestibility (higher LDMC) and the prehension (lower SLA) of leaves by grazers (Westoby, 1999; Diaz *et al.*, 2001; Cingolani *et al.*, 2005). Defoliation by cutting and by grazing could trigger the same type of avoidance response, by favouring the development of relatively low prehension and unpalatable leaves. Indeed, an increased cutting frequency reduced the palatability (significant decline in LNC and significant increase in LDMC) and there was also a trend towards a decline in prehensibility (lower SLA, see Figure 5-2) of the grass leaves. Nevertheless, at the plant shoot level, the nutritive value (PCDMD and CP) was increased in response to cutting frequency, presumably as a result of the reduced development of stems and spikes (data not shown) in the frequent, compared to infrequent, defoliation regime. Clearly, more factors than the plasticity of leaf traits are involved in the responses of grass populations to management factors. Phenology affects the balance between vegetative and reproductive shoots, which has important consequences for forage quality in response to defoliation frequency (Bruinenberg *et al.*, 2002, Garcia *et al.*, 2003).

Conclusions

We have shown that three leaf traits affect the productivity and nutritive value of perennial pasture grasses grown in monocultures. In agreement with our hypotheses, the above-ground productivity was reduced in species which displayed a high leaf lamina N content per unit fresh matter. Moreover, we confirm that SLA and LDMC are two predictors of shoot digestibility and that the crude protein content is a function of leaf lamina N content per unit fresh matter. However, in contrast to our hypothesis, we did not find a significant effect of the SLA on the above-ground productivity, presumably as a result of a trade-off between SLA and the fraction of laminae in shoots.

The primary productivity increase in response to N supply correlates with the decline in LDMC. Therefore, the plasticity of leaf traits plays apparently a role for the response of grass species to nutrients and to disturbance. Moreover, the above-ground productivity is better predicted by leaf traits when the differences in N status among grass species are considered. This indicates that root traits, which are likely to affect the N nutrition status, should also be considered in order to better account for grass species differences in productivity. The possible implication of other traits such as tiller density and leaf lifespan also requires further investigation.

Acknowledgements We are grateful to Dr. Denis VILE for helpful comments on a previous version of this manuscript. We thank Dr. M. Lafarge for advice on the field trial setup, Dr. C. Picon-Cochard for stubble mass data and B. Pons and S. Toillon for their technical collaboration. LS Pontes acknowledges the support of INRA for a doctoral grant.

CHAPITRE 6 :

THE ROLE OF PLANT TRAITS FOR PRODUCTIVITY, NUTRITIVE VALUE AND RESPONSES TO NUTRIENTS AND DISTURBANCE. A STUDY WITH 13 TEMPERATE NATIVES PASTURE GRASSES GROWN IN MONOCULTURES

Laise da Silveira Pontes, Jean-François Soussana, Pascal Carrère, Donato Andueza and Frédérique Louault

Summary

3. Our goal was to determine the relationship among 21 leaf and whole-plant traits and the annual above-ground primary productivity and the nutritive value (pepsin-cellulase digestibility and crude protein content) for 13 native perennial C₃ grass species.
4. These relationships were investigated during two years with monocultures grown in a fully factorial block design crossing the plant species, the cutting frequency and the N supply factors. Ranking species for traits was compared to available data on species occurrence along gradients of nutrient availability and disturbance.
5. Interspecific effect was the most important factor in the variation of traits values. The traits showed a greater plasticity in response to N supply rather than in response to cutting frequency. Species from less productive habitats tend to have a higher leaf lifespan and later spring growth. Species from more disturbed habitat tend to have characteristics associated to a lower palatability (e.g. lower leaf N content). Species which are closer to a ruderal strategy have smaller plants and seeds with higher tiller density.
4. Taller plants with large leaves had a higher N status, above-ground use efficiency and hence, a greater productivity. A high leaf N, plant cellular content and number of green mature leaves reduced significantly the productivity of the grasses. The digestibility declined mainly with plant fiber and leaf dry matter content, phyllochron, leaf lifespan and increased with specific leaf area. Both crude protein and digestibility were higher in species that tend to start shoot growth earlier in spring and the digestibility was also higher in species that tend to flower later.

5. We conclude that the correlations of simple traits (leaf or whole-plant) among species will be useful in predicting the agronomic characteristics of temperate pasture grasses and the parameters associated to their strategies and habitat characteristics.

Keywords: plant functional traits, pepsin-cellulase digestibility, primary productivity, crude proteins, disturbance, nitrogen.

Introduction

Plant species from similar habitats can show wide variation in their agronomic characteristics (productivity and nutritive value) due their distinct morphological, chemical composition or phenological traits, which can be altered by the changes in nutrients availability and disturbance regime (Lavorel & Garnier, 2002). These plant traits may, for example, inform about preference of species for more or less fertile conditions (Al Haj Khaled *et al.*, 2005), their tolerance to disturbance (Louault *et al.*, 2005) or allow evaluating the effects of a species for ecosystem properties (Poorter & Jong, 1999; Duru *et al.*, 2004; Garnier *et al.*, 2004).

Advances in the search for associations between the traits and habitat characteristics have been made, which contribute to predict the behaviour of species communities in response to land use. For example, Diaz *et al.* (2001) related that the best prediction of species grazing response was achieved by combining plant height, life history (annual and perennial) and leaf mass. Small height and leaf size were associated to grazing avoidance. Hodgson *et al.* (1999) suggest a set of seven “soft” predictor variables (canopy-height, flowering period, flowering start, lateral spread, leaf dry matter content, leaf dry weight and specific leaf area) which indicate the species strategies concerning resources availability and degree of disturbance (C-S-R triangle of Grime *et al.*, 1988). Wright *et al.* (2005) cited six key leaf traits, the “leaf economics spectrum”, which characterise species with quick returns on investments of nutrients (high leaf nutrient concentrations, high rates of photosynthesis and respiration, short leaf lifespan and low dry mass investment per leaf area) and those with a slower potential rate of return. Garnier *et al.* (2004) have proposed three leaf traits called ‘functional markers’ (specific leaf area, leaf dry matter content and leaf nitrogen concentration) to assess the impacts of plant community structure changes on ecosystem functioning (such as litter decomposition and production efficiency). Therefore, different

propositions of set of traits have been made with the objective to explain the ecosystem functioning.

As the changes in the values of community scale traits may be result from the replacement of species with different trait values (Garnier *et al.*, 2004), when comparing the response and/or effect traits, different species are being compared. A basic assumption of functional ecology is that this species replacement occurs because different suites of traits confer different relative ecological advantages as the environment changes (Tilman, 1988; Grime, 2001). Studying individually species, the role of each trait for ecosystem processes (e.g. productivity and nutritive value) can be directly determined in the absence of interferences between plant populations. Moreover, a deeper understanding of the relationship among traits may increase our ability to classify plant species functionally (Craine *et al.*, 2002).

In this context, Pontes *et al.* (CH5) have studied the role of three leaf traits (LDMC, LNC and SLA) for the above-ground primary productivity and for the nutritive value for herbivores (digestibility and crude protein content) of 13 co-occurring perennial C₃ pasture grass species grown in monocultures. These leaf traits have been shown to affect the nutritive value. Species with contrasted SLA values displayed similar above-ground productivity apparently as a result of different patterns of biomass allocation between leaf lamina and sheath. When the differences in N status among grass species were considered, the above-ground productivity and the crude protein content were well predicted by these leaf traits. The role of the N nutrition status underlined the possible implication of other traits (such as root traits).

In this paper, our objective is to understand with a larger set of traits, the role of trade-offs and correlations among traits, presumably as a result of different adaptations to stress and disturbance, for the productivity and nutritive value. We studied 13 natives C₃ perennial grass species to characterise semi-natural grasslands and we measured a large suite of traits that span a range of process levels. We have studied the correlations across species between these traits. Moreover, we investigated how these traits are correlated both to ecological indices of stress and disturbance and to productivity and nutritive value.

Material and Methods

Plant material

Thirteen temperate native C₃ grasses that co-occur in semi-natural mesic grasslands, belonging to the class of *Arrhenatheretalia elatioris* (Pawłowski, 1928 in Guinochet, 1970) were studied: *Alopecurus pratensis*, *Anthoxanthum odoratum*, *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens*, *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis* and *Trisetum flavescens*.

Experimental design

A factorial complete block design crossing three factors (species, cutting frequency and N supply) with three replicates per treatment's combination was used. Each of the three randomized complete block consisted of 56 individual plots of 4.2 m² (2.8 x 1.5 meters) each. The natives grass species were sown in pure stands in 2001.

Two cutting frequencies (bimonthly and monthly cuts, C- and C+ respectively) and two levels of mineral N fertilizer supply (120 and 360 kg N ha⁻¹ year⁻¹, N- and N+ respectively) were compared. The plots were cut at 6 cm height with a mower (Haldrup, Logstor, Denmark). One cut out of two (cuts number 2, 4 and 6) was in common to the two cutting treatments. N fertilizer (ammonium nitrate) was supplied in split applications after each cutting date. The annual fertilizer N supply was calculated to obtain limiting and non limiting N nutrition, at N- and N+, respectively. The degree of N limitation was estimated according to Lemaire & Gastal (1997) using the N nutrition index (NNI) method (Lemaire & Salette, 1984; Lemaire & Gastal, 1997). Phosphorus (80 kg P₂O₅ ha⁻¹ yr⁻¹) and potassium (240 kg K₂O ha⁻¹ yr⁻¹) were supplied at non limiting rates for growth.

More details about this experiment (such as seed density and water supply), as well as detailed site characteristics, are provided by Pontes *et al.* (CH5).

Above-ground net primary productivity and nutritive value

At each cutting date the fresh mass of each plot was mown to 6 cm height with a mower (Haldrup, Logstor, Denmark) and the harvested biomass was collected and weighted. During two consecutive years (2003 and 2004), a sub sample of fresh harvested biomass was collected for each individual plot and weighted. The sub-sample was dried at 60°C for 48h and weighted, to determine dry matter (DM) content and allow to calculate the dry matter yield of each plot (t ha⁻¹) at each date. The annual above-ground net primary productivity (ANPP) was calculating by adding the yield of the 6 (C+) and 3 (C-) cuts done each year. Thereafter, these sub-samples were ground with a Cyclotec sample mill (Model 1093 FOSS

Table 6-1. List of traits and their codes and units.

Traits	Code	Units
Leaf length	LL	mm
Individual leaf lamina area	LA	cm ²
Individual leaf lamina dry mass	LDM	mg
Leaf dry matter content	LDMC	mg DM g FM ⁻¹
Specific leaf area	SLA	m ² kg ⁻¹
Phyllochron	PH	degree day
Leaf lifespan	LLS	degree day
Leaf lamina N content	LNC	mg g ⁻¹
Number of growing leaves	NG	number/tiller
Number of mature leaves	NM	number/tiller
Sheath length	SL	mm
Vegetative plant height elongated	VE	mm
Mature plant height elongated	ME	cm
Plant cellular content	C1	g kg ⁻¹
Plant hemicellulose content	C2	g kg ⁻¹
Plant cellulose and lignin content	C3	g kg ⁻¹
Tiller density	TD	tillers/m ²
Earliness of growth	EG	-
Clonal growth*	CG	-
Beginning of flowering period*	BF	degree day
Seed Mass*	SM	mg/seed

* The values of these traits are presented here on average of species.

TECATOR Inc., Höganäs, Sweden) to pass through a 1 mm screen. Each forage sample was analyzed via near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for crude protein (CP) content and enzymatic pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD). NIR spectra were collected with a Foss-NIRSystems 6500 monochromator (FOSS-NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) which scans the spectral range of 400 – 2500 nm. Modified Partial Least Square (MPLS) calibration equations were developed using 144 samples which were selected from overall the total spectra collected. The calibration set was analysed for CP (using Kjeldahl N x 6.25) and PCDMD (Aufrère & Demarquilly, 1989). All spectra and reference data were recorded and managed with the software WINISI Version 1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). The results of calibration statistics were described by Pontes *et al.* (CH5).

Radiation interception and radiation use efficiency

Photosynthetically active radiation (PAR) interception (RI) at ground level was measured using a sunfleck ceptometer (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA) placed successively above and below (at ground level) the grass canopy perpendicular to the grass rows. Measurements were performed at weekly intervals from April to October in 2003 with two replicates per individual grass plot. Above-ground radiation use efficiency (ARUE, g DM mol⁻¹ intercepted PAR) was calculated for each regrowth as:

$$ARUE = ANPP / (\Sigma IPAR * RI)$$

where $\Sigma IPAR$ (mol PAR m⁻²) is the sum of the incident PAR over the regrowth period. IPAR ($\mu\text{mol PAR m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was calculated from global radiation (R_g , W m⁻²), measured continuously with an automated weather station (Pyranomètre CIMEL type 180), located in the same site, as $IPAR = 2.02 R_g$ (Bonhomme, 1993). RI is the mean of measurement of each regrowth periode. Annual means of ARUE and RI were then calculated for the 2003 growing season (April to October).

The plant traits studied and their measurement

The list of the 21 traits measured and their codes is presented in Table 6-1. Ten of these traits were measured in June and in September 2003 and 2004, three weeks after a cut which was common to the C- and C+ cutting treatments. Ten tillers were collected at random in each plot, avoiding 20 cm edges, cut with scalpels at ground level and kept in a cold box. In the laboratory, elongated vegetative plant height (VE), sheath length (SL), number of growing (NG) and of mature (NM) leaves were measured. After these measurements, the tiller basis was cut in de-ionized water and was then placed at 4°C in the dark for at least 6h to allow for full rehydration (Garnier *et al.*, 2001a). After rehydration, the length (LL), fresh mass (LFM) and area (LA) of the youngest fully expanded leaves of each of the ten individuals

Table 6-2. Nutrient requirements and tolerance to disturbance of the 13 grass species. Nutrient requirements are expressed as Ellenberg nitrogen number (N_E), according to Ellenberg *et al.* (1992) and as stress tolerance (S) according to Grime *et al.* (1988). Tolerance to disturbance is expressed as the indicator value for mowing tolerance (M) according to Briemle (1997) and as the ruderality (R) according to Grime *et al.* (1988).

	Nutrient requirements		Tolerance to disturbance	
	N_E	S	M	R
<i>Alopecurus pratensis</i>	7	1	7	1
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	3*	4	7	4
<i>Arrhenatherum elatius</i>	7	1	6	1
<i>Dactylis glomerata</i>	6	1	8	1
<i>Elytrigia repens</i>	7	0	-	2
<i>Festuca arundinacea</i>	5	3	7	3
<i>Festuca rubra</i>	3*	3	9	3
<i>Holcus lanatus</i>	5	3	6	3
<i>Lolium perenne</i>	7	1	8	4
<i>Phleum pratense</i>	7	1	-	4
<i>Poa pratensis</i>	6	3	9	3
<i>Poa trivialis</i>	7	1	8	4
<i>Trisetum flavescens</i>	5	3	7	3

*According to Ellenberg (1988) cited by Elberse & Berendse (1993).

were measured. The LA was measured using an electronic planimeter (LI 3100, Li-cor, Lincoln, NE, USA). The leaves were then oven dried at 60°C for 48h and weighed. Leaf dry matter content (LDMC, leaf lamina dry mass/leaf lamina fresh mass) and specific leaf area (SLA, leaf lamina area/leaf lamina dry mass) were calculated. The leaf lamina N content (LNC) was then determined by elemental analysis (Carlo Erba Instruments, CNS NA 1500 ThermoFinnigan, Milan, Italy). In June 2004, as a result of an early water deficit, no intact mature leaf was found at the time of sampling for *F. arundinacea*, *F. rubra*, *P. pratensis* and *P. trivialis*, accordingly, leaf trait values could not be determined for these species.

In 2003, the phyllochron (PH) was determined on 8 labelled tillers in each C- plot. The measurements were made during two time periods (between June 3 and 13 and between July 17 July and August 8). The phyllochron was calculated between two successive observations as the thermal time in degree-days (calculated as the daily temperature sum above 0°C) between the appearance of two newly emerged leaves. The leaf lifespan (LLS) was then calculated according to (Lemaire & Agnusdei, 1999) as the product of the phyllochron and of the number of mature leaves.

At each common cutting date, the tiller density (TD) per unit ground area was determined from the mean tiller mass and from the harvested DM. In each plot, 16 tillers were sampled at random, cut to a 6 cm height, dried at 60°C for 48h and weighed. The total tiller density (TD) was calculated as the ratio of the harvested DM to the mean individual tiller mass.

According to Klimes *et al.* (1997), the 13 grass species were classified in four clonal growth types, numbered from 0 to 2: turf graminoids (*Festuca ovina* type), grasses with stems below 10 cm length (epigeotropic as the *Rumex obtusifolius* type or hypogeotropic as the *Dactylis glomerata* type) and grasses with hypogeotropic stems above 10 cm length (as the *Aegopodium podagraria* type). These types were assumed to be species specific (Klimes *et al.*, 1997).

During spring, each week, the earliness of growth (EG) based on visual evaluations of the fraction of green shoots in the standing herbage mass on a scale from 0 to 6.

Chemical composition traits

Two (0.40 m²) quadrats were sampled at the same date as trait measurements in September 2004, for neutral and acid detergent fiber (NDF and ADF) determination. Each forage subsample was analysed via NIRS with the same procedure as for CP and PCDMD. The statistical parameters of the calibration models obtained for NDF and ADF, respectively, were as follows: range, 405-655 and 165-328 g kg⁻¹; standard error of cross-validation, 15.6

Table 6-3. ANOVA's for the traits, radiation interception (RI) and above-ground radiation use efficiency (ARUE). The cutting frequency (C), nitrogen supply (N) and species factors and their interactions were tested in a model with the block effect. See Table 6-1 for trait's codes. VE, % variance explained.

	Species		C		N		Block		C*Species		N*Species		C*N	
	VE	P	VE	P	VE	P	VE	P	VE	P	VE	P	VE	P
LL	90	***	<1	*	3.4	***	<1	***	1.7	***	1.2	***	<1	*
LA	92	***	<1	**	2.0	***	<1	**	1.5	***	<1	**	-	ns
LDM	95	***	<1	*	<1	***	<1	**	1.2	***	<1	***	-	ns
PH	62	***	-	-	4.4	***	5.0	***	-	-	4.8	*	-	-
LLS	55	***	-	-	5.0	***	3.0	**	-	-	6.8	**	-	ns
NG	83	***	<1	*	<1	ns	<1	ns	-	ns	-	ns	-	ns
NM	61	***	1.4	**	<1	ns	<1	ns	7.7	***	6.5	**	-	ns
SL	65	***	<1	ns	16	***	1.2	**	3.4	**	3.2	**	-	ns
VE	82	***	<1	ns	8.1	***	1.3	***	2.7	***	1.7	***	-	ns
ME	96	***	-	-	<1	ns	<1	ns	-	-	-	ns	-	-
C1	79	***	2.5	***	<1	**	1.2	**	-	ns	4.2	***	-	ns
C2	82	***	<1	*	<1	ns	<1	ns	-	ns	3.1	*	-	ns
C3	74	***	3.6	***	1.3	**	2.4	***	-	ns	4.4	***	-	ns
EG	48	***	12	***	6.3	***	<1	ns	-	ns	5.8	*	-	ns
TD	79	***	<1	ns	<1	ns	<1	ns	-	ns	4.3	**	-	ns
RI	66	***	19	***	4.5	***	<1	ns	2.2	***	1.8	***	-	ns
ARUE	68	***	<1	ns	6.8	***	<1	ns	6.2	***	4.1	**	-	ns

*, P<0.05 ; **, P<0.01 ; ***, P<0.001 ; ns, not significant.

and 10.9 g kg⁻¹; r² of cross-validation, 0.98 and 0.92. From the values of the fibre fractions (NDF and ADF), cell soluble (C1), hemicellulose (C2) and cellulose plus lignin (C3) contents were calculated.

Phenology traits

In 2005, the phenology was studied in the C- plots. In order to allow for a full reproductive development of the grasses, the spring cuts were suppressed. From April to June, once a week, the developmental stage of each species in each plot was assessed visually to determine the beginning of flowering (BF) stage (visible anthers). Ten mature individuals per grass population were measured for elongated height (ME). Spikes were placed in nylon bags and seeds were harvested. A subsample of 100 seeds per species was sorted, oven dried (60°C, 48h) and weighed (SM). In 2005, because of its low perennity, *Poa trivialis* could not be included in the measurements. For this species we used the values from Grime *et al.* (1988) for SM and ME. For BF we used counts dates of newly appeared reproductive tillers obtained in 2003 and 2004 from observations made each week (from April to August). The BF stage was determined when at least 10 tillers per linear meter were at anthesis (GEVES, 2004).

Indicators of nutrients requirement and disturbance tolerance

The indicator value for nutrient requirements according to Ellenberg *et al.* (1992) was used to rank grass species for their occurrence along nutrient gradients. This indicator is valid for Central Europe (Ryser & Urbas, 2000) and is expressed on a scale of 1 to 9, high values indicating plants occurring mainly at nutrient-rich sites (Table 6-2). To describe plant adaptation to disturbance we used the indicator value for mowing tolerance, M, according Briemle (1997), which reflects the frequency of removal of above-ground biomass that a plant species tolerates on a scale from 1 to 9. The grass species were also characterised by their established strategy (associations between the three primary strategies, C-S-R), according to Grime *et al.* (1988). An index between 0 and 8 expressing stress tolerance (S) and ruderality (R) was used according to the proportion of the respective primary strategies in the established strategy (see Ryser & Urbas, 2000).

Data analysis

Means over two years were calculated from annual means. Annual means of traits are means of two measurements dates (June and September). For each plot, annual means of PCDMD and CP were calculated as a weighted average, based on the harvested dry matter (ANPP) value at each cut. This procedure allows the calculation of a mean annual quality for the total herbage harvested each year.

Table 6-4. Mean traits and radiation interception (RI) and above-ground radiation use efficiency (ARUE) per plant population. For most of the traits results are means (n=48) of two years and four treatments. For PH and LLS, the values are means of measurements obtained in 2003 only (n=12). CG was obtained according to Klimes *et al.* (1997). BF and SM were obtained from measurements in 2005, except for *Poa trivialis* (For *P. trivialis*, BF were measures of 2003 and 2004; SM and ME are given according to Grime *et al.*, 1988). Standard error of means (s.e.m) and coefficient of variation (CV) are presented. See Table 6-1 for trait's codes.

	Unit	Ap	Ao	Ae	Dg	Er	Fa	Fr	Hl	Lp	Php	Pp	Pt	Tf	s.e.m	CV
LL	mm	195	148	158	263	157	299	149	149	173	128	168	70	128	3.7	34
LA	cm ²	6.9	6.2	5.2	11.9	5.5	15.1	1.1	7.5	3.9	4.0	4.6	1.0	3.8	0.22	65
LDM	mg	29.3	23.9	17.2	48.9	20.2	87.3	10.4	24.1	17.7	13.4	24.3	3.8	14.1	1.06	81
PH	degree day	173	225	173	181	172	274	235	153	192	127	342	122	217	11.5	34
LLS	degree day	475	497	467	460	413	672	687	339	467	343	829	395	552	45.4	31
NG	number/tiller	1.2	1.1	1.1	1.6	1.1	1.0	1.0	1.1	1.1	1.3	1.1	1.2	1.2	0.02	13
NM	number/tiller	2.6	2.3	2.4	2.6	2.5	2.4	2.8	2.3	2.4	2.8	2.4	3.2	2.6	0.05	9.8
SL	mm	93	56	74	95	66	73	43	83	57	66	52	40	63	2.3	26
VE	mm	310	214	249	378	239	380	207	242	236	199	232	121	200	5.4	29
ME	cm	89	64	128	116	96	121	79	98	78	70	78	60	73	2.0	24
C1	g kg ⁻¹	446	534	506	448	465	464	437	490	525	488	474	563	490	4.7	7.6
C2	g kg ⁻¹	294	264	265	291	292	287	312	273	260	287	286	254	279	2.1	5.8
C3	g kg ⁻¹	260	202	228	261	243	248	251	237	215	226	240	183	231	3.1	9.7
EG		3.9	3.5	4.2	3.2	4.0	3.0	2.9	3.8	3.6	3.6	3.1	3.4	3.7	0.09	12
BF	degree day	619	623	953	873	1217	873	678	897	1093	1174	761	742	897	54.2	22
SM	mg/seed	0.93	0.57	3.0	1.0	1.83	2.77	0.94	0.50	1.79	0.25	0.27	0.09	0.22	0.269	89
CG		1	1	1	1	2	1	0	0	1	1	2	2	0	-	-
TD	tillers/m ²	2364	4118	3148	2772	2487	2478	11963	4733	4672	4047	5721	3579	3430	359.8	58
RI		0.73	0.75	0.75	0.81	0.78	0.83	0.72	0.81	0.78	0.82	0.80	0.42	0.75	0.010	14
ARUE	g DM mol ⁻¹	0.12	0.09	0.14	0.18	0.09	0.17	0.14	0.16	0.11	0.12	0.12	0.06	0.11	0.005	27

Alopecurus pratensis (Ap), *Anthoxanthum odoratum* (Ao), *Arrhenatherum elatius* (Ae), *Dactylis glomerata* (Dg), *Elytrigia repens* (Er), *Festuca arundinacea* (Fa), *Festuca rubra* (Fr), *Holcus lanatus* (Hl), *Lolium perenne* (Lp), *Phleum pratense* (Php), *Poa pratensis* (Pp), *Poa trivialis* (Pt), *Trisetum flavescens* (Tf).

An analysis of variance (ANOVA) was performed using the statistical analysis package SAS (SAS Institute, 2000) for traits (means of two growing periods and two years, n=156), with the species (12 D.F.), blocks (2 D.F.), cutting regime (1 D.F.) and nitrogen supply (1 D.F.) factors. Three traits (CG, BF and SM) were not analysed by ANOVA, since only values per species were available. All interactions were initially included in the statistical model, except interactions with the 'block' factor since these cannot be studied in a block design. Non significant interactions were then excluded to obtain the final model (Dagnélie, 1986). Plant tissue composition data (C1 and C3) were normalized prior to ANOVA using the Arcsin (square root) transformation. One trait for fiber content (C2) was not selected for the statistical analyses since the sum of C1, C2 and C3 is by definition equal to 100%.

Relationships among traits were studied by principal components analysis (PCA) with the Statgraphics Plus package (Manugistics, USA). Canonical correlations analysis (CCA) was performed with the PC-ORD software (v.3.04, MjM software, Oregon, USA). To study these relationships, we have used means over two years and over the four treatments of the traits of each native grass species within each block (n=39). For PH, LLS and ME annual means per species for the C- treatments were used. To study the relationship between traits and ANPP, CP and PCDMD, analyses of covariance were performed (Statgraphics Plus, Manugistics, USA) using species means within each block (n=39) and the block as a fixed factor. The relative changes in traits and in ANPP, PCDMD and CP in response to the cutting frequency (C) and N supply (N) factors were calculated as $(C^+ - C^-)/C^-$ and as $(N^+ - N^-)/N^-$, respectively.

Results

Means per species of annual above-ground net primary productivity (ANPP), nutritive value (CP and PCDMD), Nitrogen Nutrition Index (NNI) and the three leaf traits (LDMC, LNC and SLA), as well as ANOVA data for these variables have already been presented by Pontes *et al.* (CH5).

Effects of the cutting frequency and N supply factors

The species effect was significant for all variables (Table 6-3). A major part of the total variance was accounted for by the species factor (with 48 to 95% of the total variance). The cutting frequency factor was significant for RI and ARUE and for all traits except for plant size (SL and VE), SLA, TD and C2. Only three variables (NM, TD and ME) were not affected by N supply. The treatments did not affect significantly TD. The first order

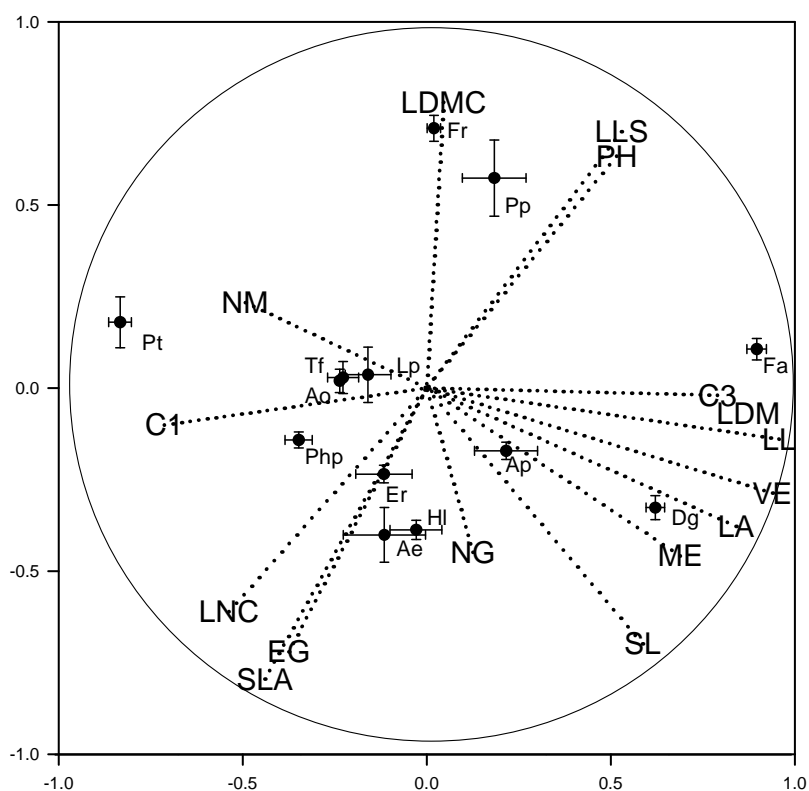


Figure 6-1. First two components (axis 1=42%; axis 2=26%) of a PCA with 16 traits (codes as in Table 6-1) and 13 native grass species (codes as in Table 6-4). Each trait value is the mean of two years, four treatments and two growing periods, except for LLS, PH and ME (one year) (n=39). The bars show the standard error.

Table 6-5. Comparisons of species ranking (Sperman's rank correlation) for traits among N supply and cutting frequency treatments. Values are means per species of two years (n=13), except PH, LLS and ME (one year). See Table 6-1 for trait's codes.

	N supply	Cutting frequency
LL	0.95**	0.95**
LA	0.99**	0.98***
LDM	0.98***	0.98***
LDMC	0.97***	0.96***
SLA	0.98***	0.97***
PH	0.77**	-
LLS	0.80**	-
LNC	0.91**	0.97***
NG	0.86**	0.93**
NM	0.80**	0.70*
SL	0.95**	0.92**
VE	0.95**	0.88**
ME	0.99**	-
C1	0.87**	0.90**
C2	0.87**	0.89**
C3	0.87**	0.96***
EG	0.78**	0.87**
TD	0.81**	0.92**

*, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001.

interactions were significant¹⁹ between species and N supply for RI, ARUE and 15 traits and between species and cutting frequency for RI, ARUE and 9 traits. However, maximum of 7.7% (for NM) of total variance was explained per these interactions (Table 6-3). A significant interaction between the cutting frequency and N supply factors was observed for LL and LNC (Table 6-3), indicating that there are different responses at N supply in each cutting frequency. Higher increase of LL in response to N supply was observed in C+, while a higher increase in LNC in response to N supply was observed in C-.

Mean trait values per species

Means of trait values over all species are shown in Table 6-4. The variability of traits between species is illustrated by the coefficient of variation (CV). Size related leaf traits like LA and LDM (CV of 65 and 81%, respectively) showed at least a 15-fold range across species. At the plant level, the vegetative height (VE) was the trait with the stronger coefficient of variation (29%). The fibre fractions (C1, C2 and C3) showed the smallest variability between species (CV between 5.8 and 9.7%). The 13 species studied here showed a large variability in seed mass (SM, CV of 89%). At the plant population level, larger variability was also observed for tiller density (TD, CV of 58%).

Relationships among plant traits

The first two axes of the PCA (Figure 6-1) account for about 68% of the total variation in the data of the 16 trait means. The tiller density was not included in this multivariate analysis, as it is characterized at the plant population scale. Increasing values on PCA axis 1 indicate taller plants (high VE and ME) with larger leaves (high LDM, LL and LA) and a low number of mature leaves (NM). The cellulose plus lignin content (C3) is positively correlated with this axis and negatively correlated with C1, the soluble cell content. The second axis contrasts plants with a high LDMC, LLS and PH from plants with a high SLA and LNC, which grow early (EG).

Species ranks across N supply and cutting frequency treatments

Spearman's rank coefficients were calculated between N supply and cutting frequency treatments. For all traits, the species ranks were highly correlated between the two N supply and two cutting frequency (Table 6-5) treatments.

Correlations between species ranks for traits and for ecological indices

The nutrients requirement of the grass species was estimated according to Ellenberg's nitrogen number (N_E) and to stress tolerance strategy (S) (Table 6-6). A high nutrients

¹⁹ Due to these significant interactions, correlations between traits and ANPP, CP and PCDMD were made within each level of N supply and cutting frequency (Appendix 6-1).

Table 6-6. Comparisons of species ranking (Sperman's rank correlation) between traits and the ecological characterization of species with respect to nutrient requirements and tolerance to disturbance. Values are means per species (n=13, excluding *L. perenne* cv. Clerpin). Nutrient requirements are expressed as Ellenberg nitrogen number (N_E) according to Ellenberg *et al.* (1992) and as stress tolerance (S) according to Grime *et al.* (1988). Tolerance to disturbance is expressed as the indicator value for mowing tolerance (M) according to Briemle (1997) and as the ruderality (R) according to Grime *et al.* (1988). See Table 6-1 for trait's codes.

	Nutrient requirements		Tolerance to disturbance	
	N _E	S	M	R
LL	ns	ns	ns	-0.57 *
LA	ns	ns	ns	-0.48 #
LDM	ns	ns	ns	ns
LDMC	ns	ns	0.64 *	ns
SLA	ns	ns	-0.68 *	ns
PH	-0.62 *	0.64 *	ns	ns
LLS	-0.52 #	0.56 #	ns	ns
LNC	ns	ns	-0.60 #	ns
NG	0.49 #	-0.50 #	ns	ns
NM	ns	ns	ns	ns
SL	ns	ns	-0.57 #	-0.66 *
VE	ns	ns	ns	-0.70 *
ME	ns	ns	ns	-0.79 **
C1	ns	ns	ns	0.64 *
C2	-0.49 #	ns	ns	ns
C3	ns	ns	ns	-0.70 *
EG	0.53 #	-0.48 #	-0.75 *	ns
CG	0.58 *	-0.48 #	ns	ns
BF	ns	-0.49 #	ns	ns
SM	ns	ns	ns	-0.51 #
TD	ns	0.48 #	ns	0.54 #

*, P<0.05 ; **, P<0.01; #, P<0.10; ns, not significant.

requirement (or low stress tolerance) was correlated (Spearman's rank correlation, $P < 0.1$) with greater number of growing leaves (NG), early spring growth (EG), lateral spread by rhizomes (CG) and with low phyllochron and leaf lifespan (PH and LLS). Moreover, stress tolerant plants tended to have a higher tiller density and a more precocious beginning of flowering, while plants with high nitrogen number tended to have a low content of hemicellulose (C2).

Tolerance to disturbance (by mowing), according to the index by Briemle (1997), was correlated positively with the leaf dry matter content (LDMC) and negatively with specific leaf area, leaf N content (SLA and LNC), sheath length (SL) and earliness of spring growth.

A negative correlation with the index of ruderality was found for leaf, seed and sheath size (LL, LA, SM, and SL), plant height (VE and ME), and the cellulose and lignin contents (C3) of shoots. This index was positively correlated with tiller density (TD) and with the soluble content of shoot tissues (C1) (Table 6-6).

Correlations between above-ground productivity, nutritive value and traits

On average of the four treatments, Pearson's correlations show that the annual above-ground net primary productivity (ANPP) is positively correlated to leaf, plant and seed size (LA, LL, LDM, SL, VE, ME and SM) and to the fiber fractions (C2 and C3). ANPP is negatively correlated with the soluble content of shoots (C1), with the leaf lamina N content (LNC) and with the number of mature leaves (NM) (Table 6-7).

The above-ground net primary productivity was further analysed using a radiation based growth analysis. The mean light interception (RI) over the growing season by the grass canopy was positively correlated with leaf size (LL, LA, LDM, Table 6-7), plant height (SL, VE, ME) and fiber fractions (C2 and C3) and was negatively correlated with soluble content (C1) and with the number of mature leaves per tiller (NM).

The mean radiation use efficiency (ARUE) over the growing season was highly correlated with the nitrogen nutrition index (NNI) ($n=39$, $r=0.67$, $P < 0.001$). Both of these variables were highly and positively correlated with leaf size and plant height (LA, LL, SL, LDM, ME and VE) and the fiber fractions (C2 and C3). A negative correlation was found with the soluble content of shoots (C1). Also, ARUE was negatively correlated with number of mature leaves per tiller (NM) and with leaf N content (LNC).

Pepsin-cellulase digestibility of shoots (PCDMD) is positively correlated with specific leaf area, leaf N content (SLA and LNC), soluble content of shoot tissues (C1), early growth and late flowering (EG and BF). PCDMD is negatively correlated with leaf lamina length and dry-matter content (LL and LDMC), with phyllochron and leaf lifespan (PH and LLS), with

Table 6-7. Analyses of covariance between leaf traits, radiation interception (RI), above-ground radiation use efficiency (ARUE), Nitrogen nutrition index (NNI), above-ground net primary productivity (ANPP), crude protein content (CP) and dry matter digestibility (PCDMD). Individual values are means per species of four treatments and of two years (n=39). For CG, BF and SM, values are means per species (n=13). See Table 6-1 for trait's codes.

	RI	ARUE	NNI	ANPP	CP	PCDMD
LL	0.60***	0.73***	0.55**	0.82***	ns	-0.35*
LA	0.54***	0.67***	0.55***	0.76***	ns	ns
LDM	0.47**	0.64***	0.41*	0.71***	ns	ns
LDMC	ns	ns	ns	ns	ns	-0.67***
SLA	ns	ns	ns	ns	ns	0.74***
PH	ns	ns	ns	ns	ns	-0.49**
LLS	ns	ns	ns	ns	ns	-0.56***
LNC	ns	-0.44*	ns	-0.39*	0.71***	0.43*
NG	ns	ns	0.41*	ns	ns	ns
NM	-0.72***	-0.38*	ns	-0.58***	ns	ns
SL	0.50**	0.58***	0.71***	0.66***	ns	ns
VE	0.61***	0.75***	0.66***	0.84***	ns	ns
ME	0.45**	0.73***	0.74***	0.76***	ns	ns
C1	-0.56***	-0.63***	-0.64*	-0.61***	ns	0.68***
C2	0.41*	0.45**	0.49*	0.39*	ns	-0.71***
C3	0.63***	0.71***	0.71***	0.69***	ns	-0.60***
EG	ns	ns	ns	ns	0.58***	0.47**
CG	ns	ns	ns	ns	ns	ns
BF	ns	ns	ns	ns	ns	0.60*
SM	ns	ns	ns	ns	ns	ns
TD	ns	ns	ns	ns	ns	-0.47**

*, P<0.05 ; **, P<0.01 ; ***, P<0.001 ; ns, not significant.

tiller density (TD) and with the fiber fractions (C2 and C3). Finally the CP content of shoots is positively correlated with LNC, with C2 and with EG.

Relative responses to cutting frequency and N supply

Relative responses to N supply and cutting frequency were plotted as box plots indicating the variability observed among species (Figure 6-2a). For all species, individual leaf area and length (LA and LL), leaf lamina N content (LNC) and plant size (SL and VE) were increased by N supply. For most, but not all species, LDM, SLA, C1, TD and EG were also increased by N supply. On average, the relative responses to N supply of the leaf dry matter content (LDMC), of the shoot's cellulose and lignin content (C3) and of the phyllochron and leaf lifespan were negative (PH and LLS).

Smaller responses of plant traits to cutting frequency were observed among species (Figure 6-2b). On average, an increase in cutting frequency increased the LDMC, NM, SL, C1, C2, TD and EG. In contrast, the relative responses to cutting frequency of LL, LA, LDM, SLA, LNC, NG, VE and C3 were on average negative.

Canonical correlations analysis of plant traits, productivity and digestibility

A canonical correlations analysis (CCA) was performed with two year means for the 13 native grass species to assess the relationships between plant traits, on the one hand, and productivity and digestibility (ANPP and PCDMD), on the other. Twelve traits were selected for this multivariate analysis (Figure 6-3), as this set of traits displayed the best level of variance explained.

The first two axes account for 51% of the total variance. PCDMD is highly correlated ($r=-0.86$) with the first axis (32.6% of the variance). ANPP is highly correlated ($r=-0.70$) with the second axis (18.3% of the variance). According to a Monte-Carlo test, both ANPP and PCDMD are significantly correlated ($P<0.01$) with plant traits. The third axis accounts for 33% of the total variance and is neither correlated with ANPP nor with PCDMD.

The first axis contrasts highly digestible grasses (e.g. *L. perenne* and *Ph. pratense*) with high SLA, LNC and C1, low PH and LLS and early spring growth (EG) and low digestible grasses such as *F. rubra* and *P. pratensis* which have the opposite trait values. The second axis contrasts grass species in relation to their above-ground net productivity. Highly productive species (e.g. *D. glomerata* and *F. arundinacea*) are characterized by a high leaf and plant size (LL, VE and ME), by low C1, LNC and NM values and by a late start of growth in spring. In contrast, grass species such as *P. trivialis* which display opposite trait values are less productive.

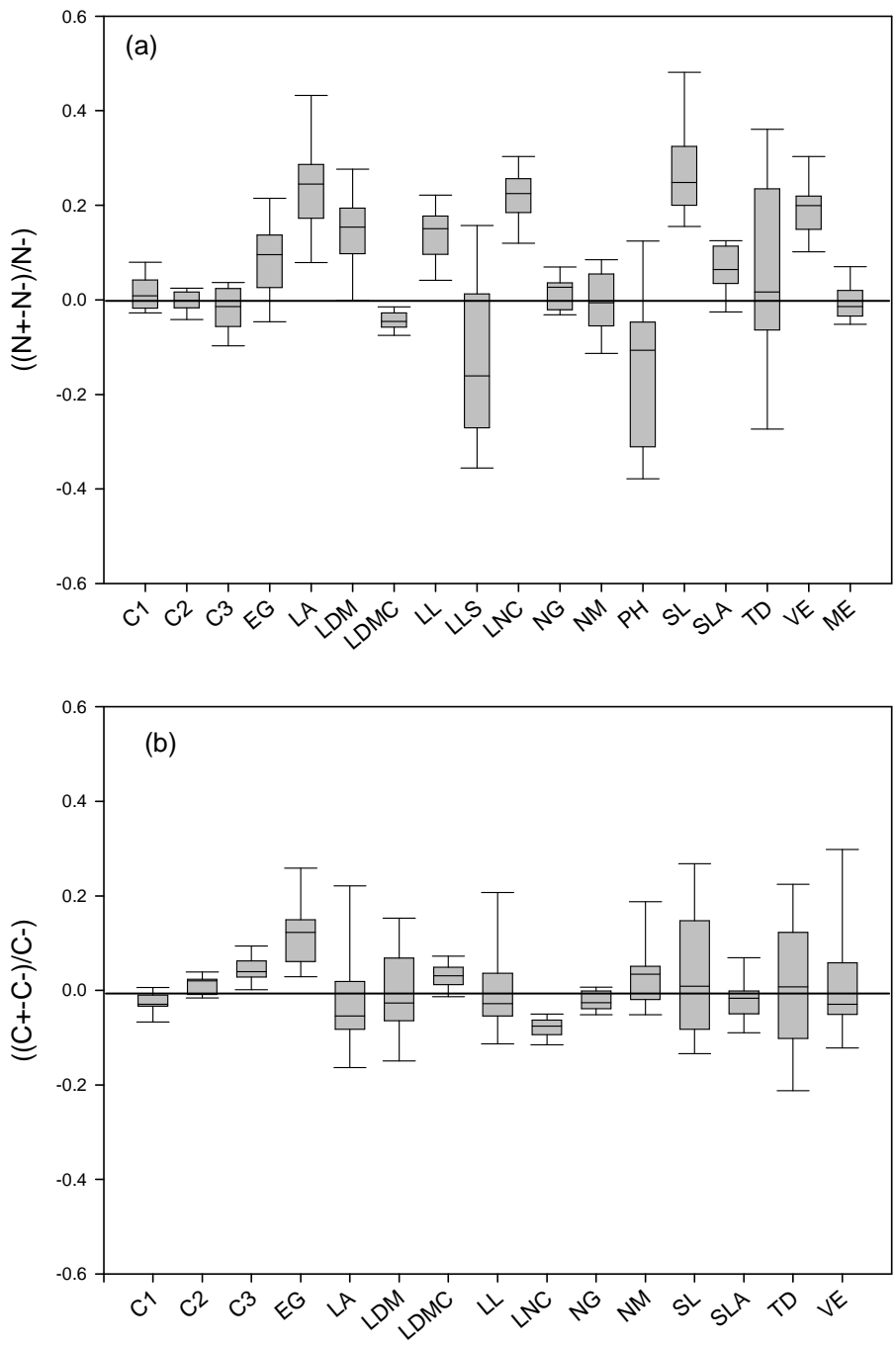


Figure 6-2. Box-and-Whisker plots of the responses to the N supply (a) and cutting frequency (b) factors of leaf traits. Values are means of two years per species, except for LLS, PH and ME (one year) (n=13). The center lines within each box show the location of the sample medians. The lower whisker is drawn from the lower quartile to the smallest point within 1.5 interquartile ranges from the lower quartile. The other whisker is drawn from the upper quartile. See Table 6-1 for traits code.

Discussion

We assessed with perennial C3 pasture grasses grown in monocultures the role of a set of plant traits (leaf and shoot morphological traits, traits related to phenology and clonal growth and chemical composition traits) for above-ground net primary productivity (ANPP) and nutritive value (pepsine-cellulase digestibility and crude protein contents). Moreover, we have studied the correlations between these traits and ecological indices and plant strategies related to nutrients requirements and tolerance to disturbance.

Results from the same field experiment (Pontes *et al.*, CH5) have shown the role of three leaf traits (SLA, LDMC and LNC) for the ANPP and for the nutritive value. A high LNC reduced significantly the ANPP of the grasses. The digestibility declined with LDMC and increased with SLA. Here, we use a larger set of traits in order to assess their potential effect on productivity and nutritive value and their potential role as response traits to N availability and to disturbance by mowing.

Given the predominant effect of the species factor for traits, these relationships were mostly assessed based on means per species over two years and over two cutting frequency and two N supply treatments. Indeed, the species ranks were conserved across treatments (Table 6-5) and, moreover, although the species times N supply and species times cutting frequency interactions were significant with some traits (Table 6-3), these interactions accounted only for a small fraction of the total variability (ca. 3% each). Interspecific rankings of most of the traits are unaffected by years, by seasons (see Appendix 6-2) and by treatments (Table 6-5).

Correlations among traits

The plant height (VE and ME), which has a key role for competitive ability (Westoby, 1998; Weiher *et al.*, 1999; Pywell *et al.*, 2003), was strongly and positively correlated to leaf, sheath and seed size on axis 1 and was negatively correlated with the number of mature leaves (Figure 6-1). Cingolani *et al.* (2005) and Pickup *et al.* (2005) observed that taller species had a lower SLA and a need for greater mechanical support is suggested as an explanation for this pattern. However, according to Pickup *et al.* (2005) this decline (e.g. SLA with leaf size) is not found in all types of vegetation. Under our conditions, the SLA was not correlated to plant size traits. However, the increase in mechanical support with leaf size and height is confirmed by the strong positive correlation of these variables with the cellulose and lignin content of shoot tissues (for example, C3 and VE, $r=0.74$ at $P<0.01$, $n=13$) and by the negative

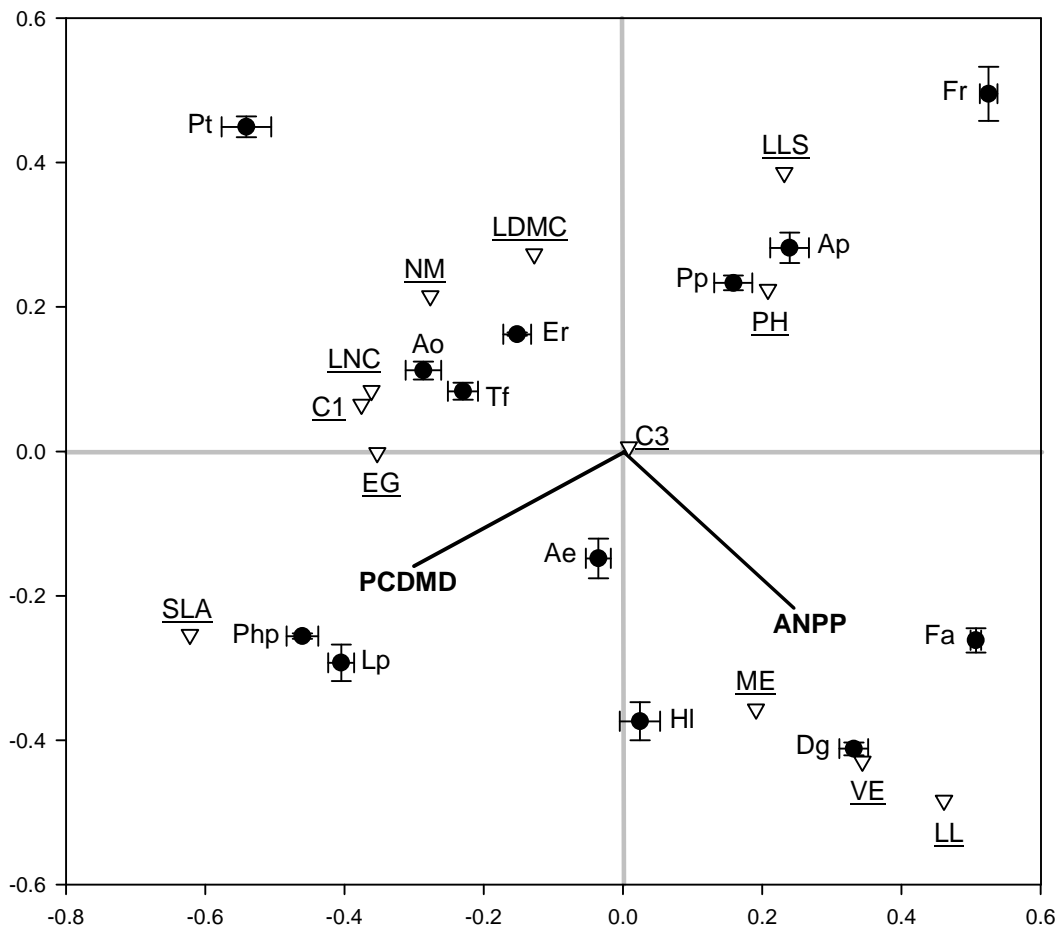


Figure 6-3. Canonical Correlations Analysis (CCA). Ordination of traits (in bold, codes as in Table 6-1), above-ground net primary productivity (ANPP), and pepsin-cellulase dry matter digestibility (PCDMD) and species (in italic) (n=39). The first two axes represent 51% of the variance. See Table 6-4 for species codes.

correlation with the soluble content of shoots (for example, C1 and VE, $r=-0.62$ at $P<0.05$, $n=13$).

Our results also confirm the positive correlation between leaf lifespan (LLS) and LDMC and the negative correlation of these two traits with LNC and SLA (see Ryser, 1996; Reich *et al.*, 1992; Wilson, 1999; Wright *et al.*, 2004) (Figure 6-1). From Figure 6-1, it is apparent that grasses with low phyllochron and low leaf lifespan tend to have shoot growth earlier (EG) in spring. Since these characteristics are also associated to high SLA and high LNC, these grass species are characterized by a fast turnover of leaves with high photosynthetic capacity. The combination of these two sets of traits is likely to increase both the duration and the intensity of the photosynthetic activity (Lavorel & Garnier, 2002).

Effects of inorganic N supply and of cutting frequency

The greatest plasticity of traits was in response to N supply rather than in response to cutting frequency (Figure 6-2). All leaf and plant size traits were increased by N supply, by 21% on average. Reductions in LDMC and LLS and increase in SLA with increase in N supply have also been reported by Al Haj Khaled *et al.* (2005) in a study with monocultures of native pasture species. These trends can be interpreted as the consequence of trade-offs between resource acquisition and resource conservation, which vary with nutrients availability (Ryser & Urbas, 2000). High LLS is important for nutrient conservation, while high SLA or low LDMC are related to high relative growth rate (Reich *et al.*, 1992).

The percentage of total variance explained by cutting frequency was less than 2.5% for all traits, except EG (12%), LNC (6.3%, Pontes *et al.*, CH5) and C3 (3.6%). A high cutting frequency reduced the leaf lamina N content, the shoot soluble content and increased the cellulose and lignin content, possibly as a result of an avoidance mechanism.

Correlations between traits, plant strategies and ecological indices

Although our study concerns grasses grown in monocultures, we have attempted to relate the traits (averaged over two years, two cutting frequencies and two N supply treatments) with indices that either characterize plant strategies (the S and R indices from Grime *et al.*, 1988) or the degree of nutrients availability and of disturbance in plant communities where these species are found (the N_E and M indices by Ellenberg *et al.*, 1992 and by Briemle, 1997). Values of the N_E index show that most grasses are found in moderate to high nutrients availability habitats (N_E values between 5 and 7), which are typical of agriculturally managed semi-natural grasslands, while two grass species are more typical of nutrient poor communities (*F. rubra* and *A. odoratum*). Values of the M index show that most grass species belong to rather disturbed habitats, corresponding to agricultural grasslands,

which tend to be frequently grazed and cut. R values indicate that these perennial grasses are low to moderate ruderals (maximum R value of 4 on a scale from 0 to 8).

A low nutrients requirement (or high stress tolerance) was correlated with late spring growth (EG, $P < 0.10$), with high phyllochron (PH) and high leaf lifespan (LLS, $P < 0.10$) values (Table 6-6). These traits values tend to be associated to nutrients conservation. For example, a long leaf lifespan favours N conservation (Chapin, 1980; Berendse & Aerts, 1987; Aerts & Chapin, 2000). A late spring growth could reduce the duration of the vegetative growth period and, thereby, the N demand associated to active leaf photosynthesis.

Tolerance to disturbance was correlated positively with the leaf dry matter content (LDMC) and negatively with specific leaf area (SLA), leaf N content (LNC, $P < 0.10$) and earliness of spring growth. A negative correlation with the index of ruderality was found for leaf, seed and sheath size (LL, LA, SM, and SL), plant height (VE and ME), and the cellulose and lignin contents (C3) of shoots. This index was also positively correlated with tiller density (TD, $P < 0.10$) and with the soluble content of shoot tissues (C1) (Table 6-6). These results suggest that grazing avoidance through small leaf or plant size (Moles & Westoby, 2000; Diaz *et al.*, 2001) could be a characteristic of grasses found in highly disturbed communities. Low values of SLA, LNC and high values of LDMC are associated with low palatability, contributing to grazing avoidance (Westoby, 1999; Diaz *et al.*, 2001; Cingolani *et al.*, 2005).

Height at maturity (ME) and seed mass (SM) are both important traits of LHS (leaf-height-seed) Westoby's scheme (1998), which separates out two distinct aspects of the response to disturbance, with ME expressing the amount of growth attempted between disturbances and SM (inverse of seed output per unit reproductive effort) expressing the capacity to colonize growth opportunities at a distance. Therefore, low mature height (ME) and seed mass (SM) are expected for more ruderal species.

Although SLA and LDMC are important traits with respect to the prediction of plant strategies, mainly in locating plant species on the resource use axis of Grime *et al.* (1988), among the 13 studied grass species these traits were significantly associated only with tolerance to disturbance (M, Table 6-6). With our limited number of grass species, the lateral spread through rhizomes was correlated to nutrients requirement and to stress tolerance strategy (N_E and S, Table 6-6). This trait indicates the capacity of species to expand horizontally and exploit nutrient rich patches (Cornelissen *et al.*, 2003).

Relationship between plant traits and above ground net primary productivity (ANPP)

On average of the two years and of the four management treatments, the ANPP was positively correlated with radiation interception by the grass monocultures ($n=39$, $r=0.79$ at $P<0.001$) and displayed a higher correlation coefficient with the above-ground radiation use efficiency ($n=39$, $r=0.95$ at $P<0.001$). In turn, radiation interception and above-ground radiation use efficiency (ARUE) were highly correlated with the nitrogen nutrition index (NNI) of the grass monocultures ($n=39$, $r=0.57$ and $r=0.67$, respectively, $P<0.001$). These results show that a major determinant of the mean ANPP of the grass species was their mean nitrogen status, which was limiting growth (Pontes *et al.*, CH5), and increased both ARUE and radiation interception. A number of studies have shown the dependency of grass growth on radiation interception and use (Gosse *et al.*, 1986; Sinclair & Horie, 1989; Dewar, 1996). Nitrogen supply has been shown to increase both radiation interception and use (Bélanger *et al.*, 1992; Booij *et al.*, 1996; Akmal & Janssens, 2004). However, the between species variation in light interception and use has not been studied extensively with native grass species (e.g. Sinoquet & Cruz, 1993 with *Digitaria decumbens*; Kätterer *et al.*, 1998 with a cultivar of *Phalaris arundinacea*).

Weihner *et al.* (1999) have related competitive-ability to plant height. Stronger competitors have tall stature and large peak biomass (Pywell *et al.*, 2003). ANPP, ARUE and NNI were highly correlated to all traits related to leaf and plant size (LL, LA, LDM, SL, VE, ME). Species differences in ANPP scaled with the leaf and plant size on average of all treatments, and also on average of each N supply and cutting frequency level (Appendix 6-1). Tall plants with large leaves had a higher N status, ARUE and ANPP. Moreover, most of these size dependent traits (i.e. LL, LA, SL, VE and ME) were negatively correlated with a ruderal strategy (Table 6-6). We can therefore hypothesize that the less ruderal grass species invested more in root development and perennity, which allowed a higher capture of nitrogen and, hence, a higher ARUE and ANPP. A further test of this hypothesis would require to study root density and root traits. Yet, another hypothesis would be that short plants accumulated more dry-matter in non harvested stubbles. However, there was no correlation between stubble mass and plant or leaf size (see Appendix 6-3).

Significant correlations were found between the size of the grass plants and their chemical composition. For example, ME was positively correlated with C3 ($n=13$, $r=0.59$ at $P<0.05$) and this chemical composition trait was also correlated with ANPP (Table 6-7). Indeed, high lignin concentration and other structural constituents are needed to support large plants (Cingolani *et al.*, 2005).

Pontes *et al.* (CH5) have suggested that species with a high leaf N content display a low ANPP due to a low N productivity, which reduces the N use efficiency. However, we have also shown that high LNC grasses may suffer lower N losses by defoliation as they have a larger fraction of sheath material which tends to increase the mean residence time of N (Pontes *et al.*, CH5). Our results do not indicate a significant role of specific leaf area (SLA) and leaf lifespan (LLS) for the ANPP.

The LNC was significantly and negatively correlated to LLS ($n=13$, $r=-0.65$ at $P<0.05$), indicating that leaves from species with high LNC are short-lived, and thereby have a low N productivity and a low residence time of N (in uncut conditions). However, no correlations were found between ANPP and LLS, in contrast to a previous report (Poorter & Jong, 1999; Reich *et al.*, 1992). As for LNC and SLA (Pontes *et al.*, CH5), we have found a significant relationship, but negative, between the LLS and the ratio of sheath to leaf lamina length ($n=13$, $r=-0.77$ at $P<0.01$). Grasses with a high LLS and a low SLA invest relatively more in lamina than sheaths, which increases N losses through defoliation (Soussana *et al.*, 2005), and thereby reduces the mean residence time of N. Therefore, although both SLA and LLS may affect the relative growth rate (Poorter & Remkes, 1990; Lambers & Poorter, 1992; Reich *et al.*, 1992), a trade-off with the amount of structural material which reduces N losses may explain why these traits did not affect significantly ANPP (Reich *et al.*, 1992).

The number of green mature leaves was negatively correlated with all plant size traits (Figure 6-1) and, hence, with ANPP (Table 6-7). Shorter plants maintained a higher NM, which may limit the possibility for an optimal distribution of N between leaves, since N in old leaves must be moved to new leaves, increasing the opportunity for photosynthesis increases (Gutschick, 1999; Franklin & Agren, 2002).

Relationship between traits and nutritive value

The role of the functional markers (LDMC, LNC and SLA) for the nutritive value has been discussed in Pontes *et al.* (CH5).

The nutritive value is strongly affected by the phenological stage of grasses via changes in morphological composition (leaf:stem ratio). All traits related to proportion of stems in aerial vegetation mass could be indicators of plant quality as these stems are less digestible and less palatable than leaves (Bruinenberg *et al.*, 2002). Therefore, strong correlations were found between PCDMD and soluble content and fiber fractions of whole plant (C1, C2 and C3), on average of all treatments (Table 6-7), and also on average of an each N supply and cutting frequency level (Appendix 6-1). Reduction in digestibility due to increase in C2 and C3, can also be related to a high cell wall content of leaves. Grasses with a

long leaf lifespan tend to invest significant resources in leaf protection and, as a consequence, tend to be relatively resistant to decomposition (Cornelissen & Thompson, 1997) and enzymatic digestibility (Table 6-7). These characteristics reduce leaf digestibility by increasing cell wall material and reducing cytoplasmic and vacuolar compounds (Van Arendonk & Poorter, 1994).

Our data show that a higher tiller density tends to reduce the digestibility (Table 6-7). In contrast, Christensen *et al.* (1984) have suggested that selection for tiller density (with *Phalaris arundinacea* species) has no effect on nutritive value.

The PCDMD was positively correlated to late flowering (BF) and both, CP and PCDMD were positively correlated to early vegetative growth (EG, Table 6-7). A longer duration of the vegetative growth, allowed these grasses to be in the vegetative stage at cutting date.

Conclusions

We conclude that for 13 temperate pasture grasses grown in monocultures, simple traits (leaf or whole-plant traits) are related to key agronomic characteristics (above-ground productivity and nutritive value). However, distinct traits affected productivity and nutritive value. Only leaf N content and fiber fractions (C1 and C3) were associated to both agronomic characteristics, but in the opposite direction. A high fiber content in shoots and a low N content in leaves both tend to increase the productivity and to reduce the nutritive value.

Taller plants with larger leaves were more productive due their greater radiation interception, above-ground radiation use and N status. In opposite, plants with a larger number of mature, N rich leaves and with a high soluble content of shoots were less productive. Conservative plant traits (high LLS, PH, LDMC and low SLA, low LNC), which are typical of species from less productive habitats, reduced the digestibility.

We have also found that plant response to disturbance and nutrients availability affects the digestibility of grasses. The phyllochron which was significantly correlated to Ellenberg's nitrogen number was also correlated to digestibility, indicating that species from N rich environments tend to have a higher digestibility through reduced phyllochron. Moreover, species from more disturbed habitats tended to have a lower digestibility through a higher leaf dry-matter content, a lower specific leaf area and a delayed spring growth.

Acknowledgements We are grateful to Dr. Pierre LOISEAU for helpful comments on a previous version of this manuscript. We thank B. Pons and S. Toillon for their technical collaboration. LS Pontes acknowledges the support of INRA for a doctoral grant.

Appendix 6-1. Analyses of covariance between means per species of traits and of productivity and forage quality variables in each of four treatments (n=39, block factor was not significant). List of traits and their codes and units are given in Table 6-1. Correlation coefficients are shown.

Above-ground net primary productivity (ANPP)

	ANPP			
	N-	N+	C-	C+
LL	0.77***	0.82***	0.82***	0.78***
LA	0.70***	0.77***	0.77***	0.70***
LDM	0.63***	0.73***	0.72***	0.64***
PH	ns	ns	-	-
LLS	ns	ns	-	-
NG	ns	ns	ns	0.34*
NM	-0.49**	-0.61***	-0.64***	-0.44**
SL	0.62***	0.67***	0.71***	0.58***
VE	0.80***	0.84***	0.84***	0.79***
ME	0.67***	0.72***	-	-
C1	-0.60***	-0.51**	-0.62***	-0.55***
C2	0.41*	ns	0.42*	0.35*
C3	0.69***	0.61***	0.71***	0.66***
TD	ns	ns	ns	ns
EG	ns	ns	ns	ns

*, P<0.05 ; **, P<0.01; ***, P<0.001; ns, not significant.

Crude protein content (CP)

	CP			
	N-	N+	C-	C+
LL	ns	ns	ns	ns
LA	ns	ns	ns	ns
LDM	ns	ns	ns	ns
PH	ns	ns	-	-
LLS	ns	ns	-	-
NG	ns	ns	ns	ns
NM	ns	ns	ns	-0.26*
SL	ns	ns	ns	0.48**
VE	ns	ns	ns	ns
ME	ns	ns	-	-
C1	-0.36*	-0.35*	-0.46**	ns
C2	0.35*	ns	0.48**	ns
C3	0.34*	0.34*	0.42*	ns
TD	ns	ns	ns	ns
EG	0.45**	0.54***	0.49**	0.55***

*, P<0.05 ; **, P<0.01; ***, P<0.001; ns, not significant.

Dry matter digestibility (PCDMD)

	PCDMD			
	N-	N+	C-	C+
LL	ns	-0.35*	-0.37*	ns
LA	ns	ns	ns	ns
LDM	ns	ns	ns	ns
PH	-0.37*	-0.49**	-	-
LLS	-0.43**	-0.55***	-	-
NG	ns	ns	ns	ns
NM	ns	ns	ns	ns
SL	ns	ns	ns	ns
VE	ns	-0.34*	-0.37*	ns
ME	ns	ns	-	-
C1	0.62***	0.63***	0.64***	0.63***
C2	-0.65***	-0.67***	-0.65***	-0.70***
C3	-0.55***	-0.56***	-0.58***	-0.54***
TD	-0.47**	-0.40*	-0.40*	-0.51**
EG	0.49**	0.35*	ns	0.55***

*, P<0.05 ; **, P<0.01; ***, P<0.001; ns, not significant.

Appendix 6-2. Comparisons of species ranking (Sperman's rank correlation) for traits among seasons (spring (spg) and summer (sum)) and years (3=2003; 4=2004). List of traits and their codes and units are given in Table 6-1. Values are means per species (n=13).

	spg3 x sum3	spg3 x sum4	sum3 x sumr4	spg4 x sum4	spg3 x spg4	spg4 x sum3
LL	0.74*	0.75**	0.87**	0.93**	ns	0.70*
LA	0.93**	0.94**	0.97***	0.93**	0.92**	0.98**
LDM	0.95**	0.91**	0.98***	0.87*	0.98**	0.93**
LDMC	0.81**	0.84**	0.85**	ns	ns	ns
SLA	0.91**	0.76**	0.87**	0.70*	0.92**	0.87*
PH	0.86**	-	-	-	-	-
LLS	0.64*	-	-	-	-	-
LNC	0.85**	0.58*	0.67*	0.73*	0.98**	0.82*
NG	0.62*	0.80**	ns	ns	0.87*	ns
NM	ns	ns	0.64*	ns	ns	ns
SL	0.81**	0.84**	0.94**	ns	ns	ns
VE	0.72*	0.82**	0.91**	0.85*	0.82*	0.80*
TD	ns	ns	ns	ns	0.85**	ns

*, P<0.05 ; **, P<0.01 ; ***, P<0.001 ; ns, not significant.

Appendix 6-3. Analyses of covariance between traits and stubble mass. List of traits and their codes and units are given in Table 6-1. Values are means per species of two years in C+N+ treatment (n=39).

	Stubble mass
LL	ns
LA	ns
LDM	ns
LDMC	0.24 *
SLA	-0.41 *
PH	ns
LLS	ns
LNC	-0.24 *
NG	ns
NM	ns
SL	ns
VE	ns
ME	ns
C1	ns
C2	ns
C3	ns
EG	-0.34 **
GC	-0.31 *
SM	ns
TD	ns

*, P<0.05 ; **, P<0.01; ns, not significant.

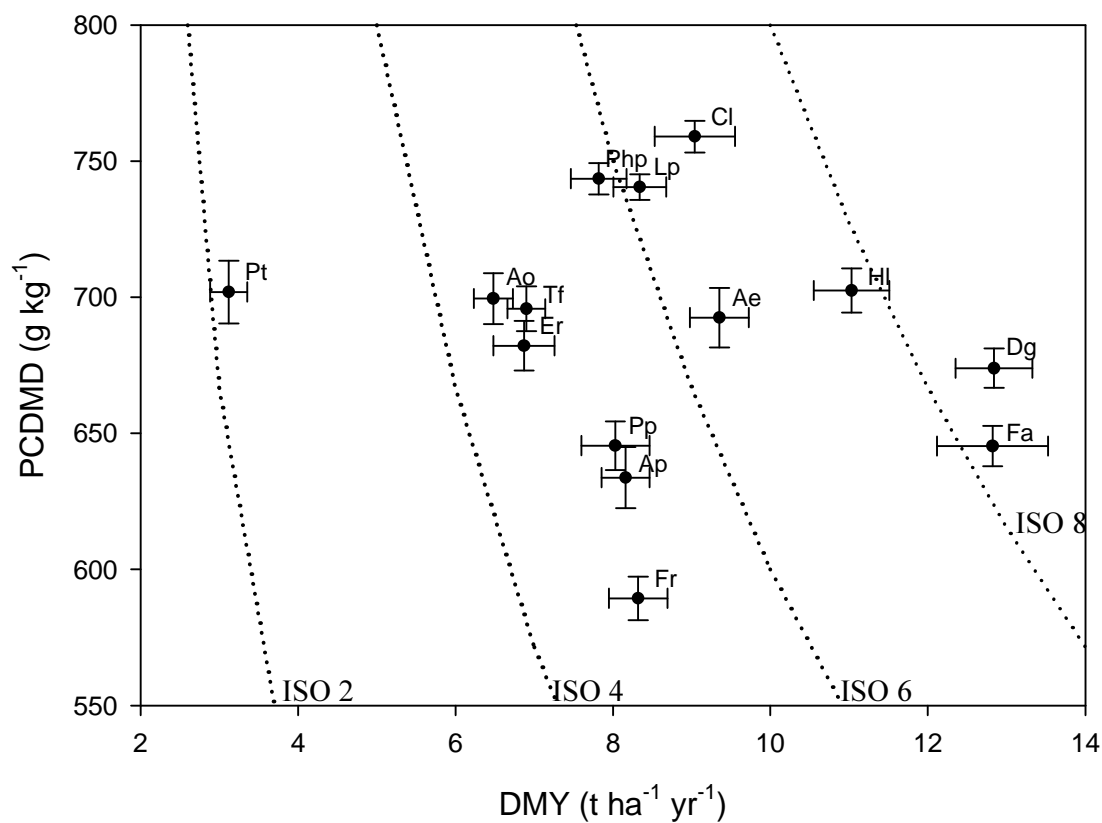


Figure 7-1. Production (DMY) et digestibilité (PCDMD) de la matière sèche de 13 espèces de graminées natives et du cultivar de *Lolium perenne* (cv. Clerpin). Les lignes marquées ISO 2, ISO 4, ISO 6 et ISO 8 correspondent aux valeurs de DMY et de PCDMD pour lesquelles la production de matière sèche digestible est respectivement égale à 2, 4, 6 et 8 t de matière sèche digestible ha⁻¹ an⁻¹. Les résultats sont des moyennes de deux années et de quatre traitements (n=24). Les barres verticales et horizontales représentent l'erreur standard.

CHAPITRE 7 : SYNTHESE ET PERSPECTIVES

7.1- Performances des graminées prairiales étudiées

Le premier objectif de ce travail de thèse était d'accroître nos connaissances sur les performances agronomiques des graminées natives des prairies permanentes de moyenne montagne en termes de production et de valeur nutritive.

Valeur énergétique et azotée

Les résultats obtenus au cours des deux années d'expérimentation, font apparaître des écarts importants entre les espèces étudiées, aussi bien en termes de quantité (production) que de qualité (valeur nutritive) de la biomasse récoltée. Dans notre essai, le facteur espèce représente la principale source de variation de la performance agronomique (Cf Chap.-4). Il explique à lui seul près de 25% de la variance totale de la production (DMY) et près du tiers de celle liée à la digestibilité de la matière sèche (PCDMD).

Pour analyser le sens de ces variations interspécifiques, nous avons, pour chaque espèce, exprimé les paramètres de qualité : PCDMD et CP, en fonction de la production de biomasse récoltée (DMY). Cette synthèse, présentée dans les Figures 7.1 et 7.2, permet d'analyser le positionnement des espèces par rapport à des iso-lignes, qui représentent soit la valeur énergétique, production de matière sèche digestible ($DDMY = DMY * PCDMD^{20}$, Figure 7-1), soit la valeur azotée, production de matière azotée totale ($CPY = DMY * CP^{21}$, Figure 7-2). Il apparaît clairement que la gamme de variation est plus faible pour la qualité que pour la quantité produite. Nous avons notamment enregistré un taux de variation de 1 à 4 de la production totale annuelle entre espèces. *Dactylis glomerata* et *Festuca arundinacea* sont les espèces présentant la plus forte DMY. Elles présentent également une très forte production de matière sèche digestible (DDMY, Figure 7-1), malgré une digestibilité assez moyenne. Inversement, *Poa trivialis*, pour une digestibilité légèrement supérieure, affiche des valeurs

²⁰ Pour la DMY, nous avons utilisé les moyennes des 2 ans (somme de toutes les coupes) et de quatre traitements. Pour la PCDMD, nous avons utilisé la moyenne pondérée par la production de 2 ans et quatre traitements.

²¹ Pour la CP, même démarche que pour la PCDMD.

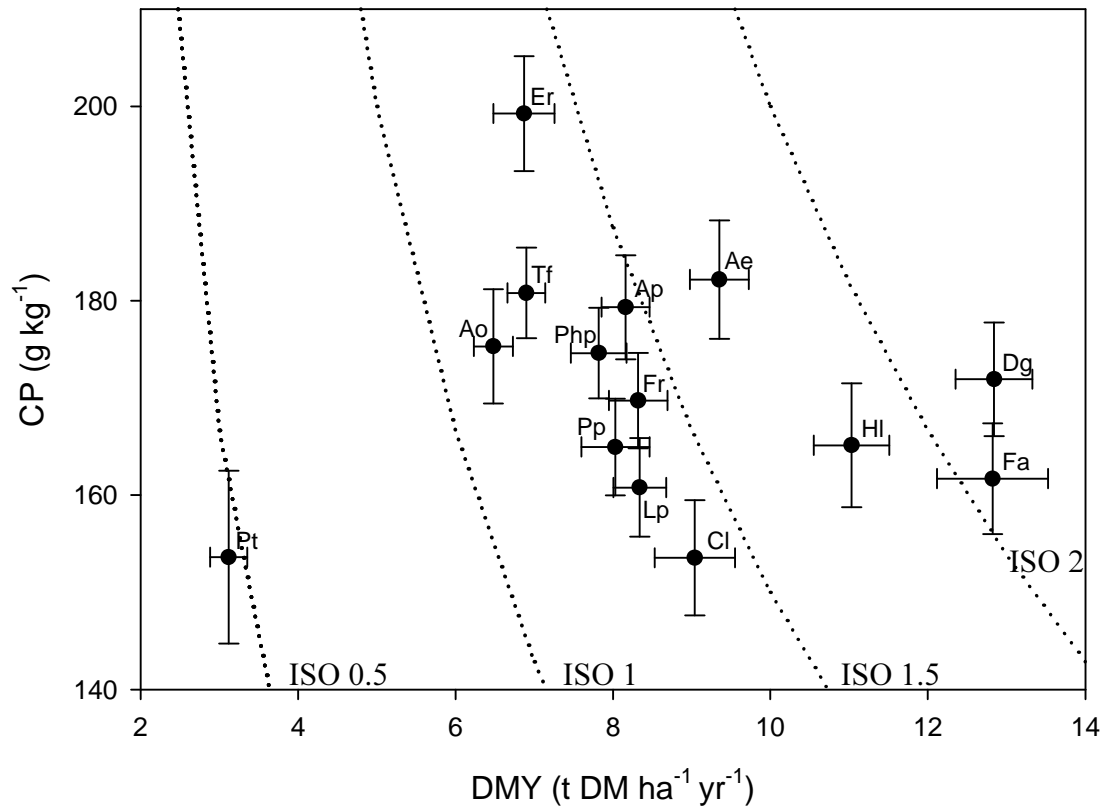


Figure 7-2. Production (DMY) et matière azotée totale (CP) de la matière sèche de 13 espèces de graminées natives et du cultivar de *Lolium perenne* (cv. Clerpin). Les lignes marquées ISO 0.5, ISO 1, ISO 1.5 et ISO 2 correspondent aux valeurs de DMY et de CP pour lesquelles la production de matière azotées totales est respectivement égale à 0.5, 1, 1.5 et 2 t de matière azoté totale ha⁻¹ an⁻¹. Les résultats sont des moyennes de deux années et de quatre traitements (n=24). Les barres verticales et horizontales représentent l'erreur standard.

faibles de DDMY, car c'est l'espèce la moins productive. Entre ces deux extrêmes, nous avons identifié un gradient de variation. *Arrhenatherum elatius*, *Holcus lanatus* et *Lolium perenne* (natif et cultivar) ont présenté une forte DDMY, entre 6 et 8 t ha⁻¹ an⁻¹. Ces valeurs résultent soit d'une forte production, soit d'une bonne digestibilité. Les espèces avec une DDMY comprise entre 4 et 6 t ha⁻¹ an⁻¹ ont montré différents comportements. Par exemple, *Festuca rubra* a une bonne production mais une faible digestibilité, alors qu'inversement, *Anthoxanthum odoratum* a combiné une forte digestibilité avec une faible production.

Si de la même manière on analyse le positionnement des espèces par rapport à la production de matière azotée totale (CPY, Figure 7-2), on constate que *Dactylis glomerata* et *Festuca arundinacea* ont montré la plus forte CPY, et ce pour la même raison que celle évoquée précédemment. L'intérêt agronomique de ces deux espèces provient donc de leur très forte productivité. A un niveau moindre *Holcus lanatus* présente le même schéma, alors que pour *Arrhenatherum elatius* les fortes valeurs de CPY enregistrées sont davantage liées à un fort taux en matière azotée totale (CP). Cela est encore plus marquant chez une espèce comme *Elytrigia repens*, pour laquelle nous avons mesuré le taux de CP le plus élevé (200 g kg⁻¹), taux qui lui permet d'obtenir des valeurs de CPY de l'ordre de 1.5 t ha⁻¹ an⁻¹, similaires à celles calculées pour le cultivar Clerpin. Il est probable que la capacité d'*Elytrigia repens* à recycler fortement l'azote via ses rhizomes, lui permette de maintenir des taux de CP très élevés.

Cette première approche, basée sur la seule analyse des variations conjointes entre production et valeur nutritive, laisse entrevoir des possibilités de compensation importante en termes de valeur agronomique. Les mécanismes sous-jacents, qui déterminent les différentes stratégies seront discutés ultérieurement dans cette synthèse.

Le rôle de la phénologie

Un second facteur de variation des performances agronomiques des espèces est la différence de précocité. Pour évaluer l'impact du développement phénologique sur la valeur nutritive des espèces, nous avons suivi le développement de chacune d'elles au cours du premier cycle²². Cinq stades principaux ont été identifiés : végétatif, montaison (début et fin), épiaison, floraison et maturation. En se basant sur la date (en jour ou en degré jour) du stade, nous avons identifié trois groupes de précocité (Tableau 7-1). Ces résultats peuvent fournir

²² Cette étude a été réalisée en 2005 au cours de deux stages co-encadrés par L. da Silveira Pontes et P. Carrère. Les premiers résultats sont présentés en annexe de ce travail.

Tableau 7-1. Date des stades de développement phénologique des trois groupes d'espèces. Les valeurs représentent la date du stade pour l'espèce la plus précoce et par l'espèce la plus tardive à l'intérieur du groupe. La valeur **en gras** donne la date moyenne pour le groupe de précocité concerné. Pour chaque groupe, la première ligne exprime des valeurs en jour calendaire, la seconde en degrés jour. Pour le stade végétatif, les valeurs représentent la date de prélèvement de l'échantillon pour caractérisation des paramètres de valeur nutritive du stade.

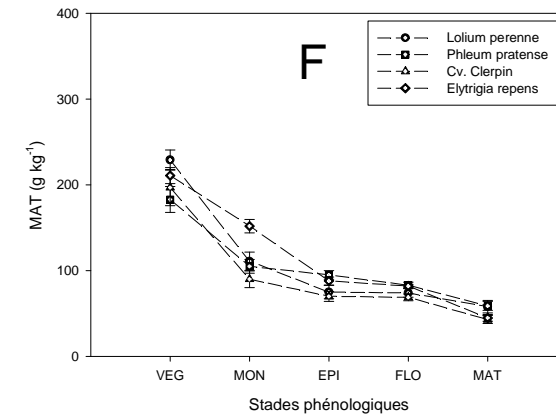
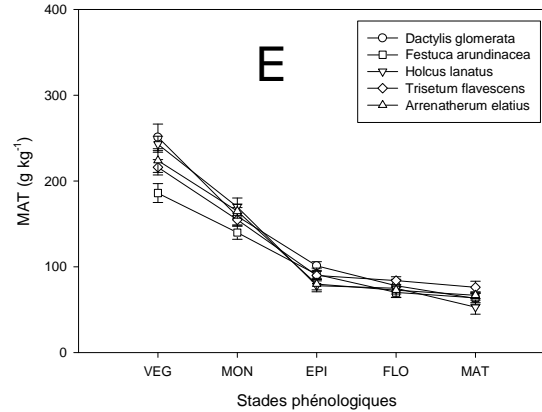
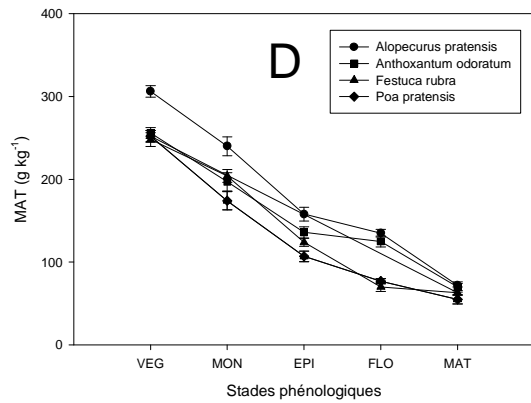
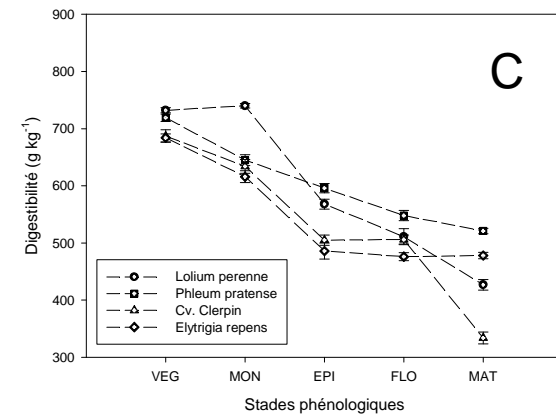
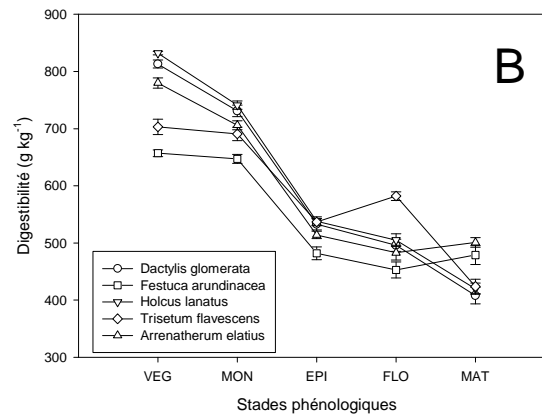
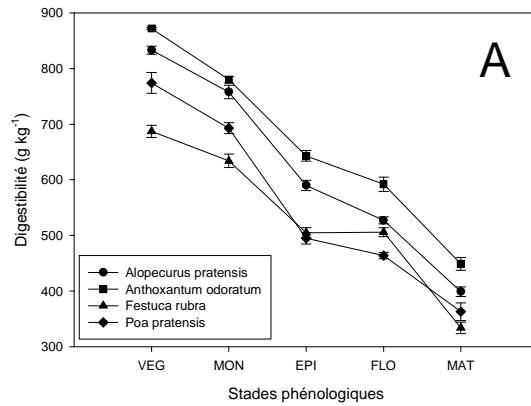
		Végétatif	Début montaison	Fin montaison	Epiaison	Floraison	Maturation
Espèces précoces <i>Alopecurus pratensis</i> <i>Anthoxanthum odoratum</i> <i>Festuca rubra</i> <i>Poa pratensis</i>	Date	[8avril- 11avril] 10 avril	[13 avril-4 mai] 24 avril	[25 avril-9mai] 2 mai	[10mai-24 mai] 17 mai	[16 mai-3 juin] 25 mai	[24 juin-5juillet] 30 juin
	°Jour	359 ± 3.5	476 ± 99	531 ± 81	690 ± 71	856 ± 178	1339 ± 100
Espèces intermédiaires <i>Dactylis glomerata</i> <i>Festuca arundinacea</i> <i>Holcus lanatus</i> <i>Trisetum flavescens</i> <i>Arrhenatherum elatius</i>	Date	[26avril-6mai] 1 mai	[4 mai-9 mai] 7 mai	[12mai-20mai] 16 mai	[31 mai-6 juin] 3 juin	[13 juin-23juin] 18 juin	[5 juillet-11juillet] 8 juillet
	°Jour	525 ± 65	619 ± 8	676 ± 41	913 ± 40	1089 ± 71	1478 ± 40
Espèces tardives <i>Lolium perenne</i> <i>Phleum pratense</i> <i>L. p. cv Clerpin</i> <i>Elytrigia repens</i>	Date	[3mai-9mai] 6 mai	[11 mai-23mai] 17 mai	[31 mai-8 juin] 4 juin	[17 juin-23juin] 20 juin	[27 juin-29 juin] 28 juin	[20juillet-29juillet] 25 juillet
	°Jour	589 ± 24	689 ± 62	923 ± 50	1155 ± 62	1190 ± 156	1777 ± 88

des éléments d'analyse des différences de valeur nutritive entre espèce enregistrées dans notre essai, dans lequel toutes les espèces ont été fauchées le même jour, donc à des stades différents entre groupes de précocité.

L'âge de la pousse est fréquemment considéré comme le premier facteur de variation de la valeur nutritive (Buxton & Marten, 1989 ; Chaves *et al.*, 2006). Les raisons évoquées sont la lignification progressive des tissus au cours de leur croissance, la diminution du rapport feuilles:tiges, la sénescence des organes ou la dilution de l'azote dans la matière sèche au cours de la phase de repousse (Waite *et al.*, 1964 ; Fleury, 1994). Cependant, la vitesse à laquelle ces changements se produisent est plus ou moins importante selon les espèces considérées. Le maintien d'une certaine stabilité de la valeur nutritive au cours du premier cycle de développement peut être considéré comme un critère intéressant de performance agronomique de l'espèce. Nos résultats montrent que la digestibilité a diminué lentement jusqu'à un stade compris entre la montaison et l'épiaison (voir Figure 7-3 et Annexe 7-1). Ce palier est plus marqué chez les espèces précoces et intermédiaires (*Poa pratensis*, *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus*, Figure 7-3 a et b) que chez les espèces tardives, comme *Phleum pratense* (Figure 7-3 c). Pour la plupart des espèces, la digestibilité chute ensuite brutalement entre les stades de floraison et maturation (Figure 7-3 et Annexe 7-1). Cependant chez certaines espèce la chute de digestibilité peut être plus précoce : entre les stades végétatif et montaison chez *Phleum pratense* (-74 g kg^{-1}), ou entre les stades montaison et épiaison pour *Elytrigia repens* et *Festuca arundinacea*.

Le classement de digestibilité entre espèces a été maintenu entre le stade végétatif et le stade montaison (coefficient de rang « Spearman » de 0.85 à $P < 0.01$, $n=13$) et entre le stade d'épiaison et le stade floraison (coefficient de rang « Spearman » de 0.87 à $P < 0.01$, $n=13$), mais pas sur l'ensemble du cycle de développement. Ces résultats illustrent la difficulté de classer les espèces sur la base de leur digestibilité, et ce, car toutes les espèces ne présentent pas la même dynamique de dégradation de la digestibilité au cours de leur développement reproductif. Il faut cependant noter que si nous considérons, pour chaque espèce, la moyenne de digestibilité entre les stades étudiés, le classement des espèces obtenu est similaire (coefficient du test de rang « Spearman Rank Correlations » de 0.64 à $P < 0.05$, $n=13$) à celui obtenu en considérant la moyenne de digestibilité mesurée sur l'ensemble des coupes (moyennes entre 2003 et 2004).

Pour une espèce donnée, notamment lors du premier cycle de la végétation, la quantité ingérée par l'animal diminue au fur et à mesure que la qualité de la végétation diminue conjointement avec l'avancement du développement phénologique (Weiss & Demarquilly,



Espèces précoces

Espèces intermédiaires

Espèces tardives

Figure 7.3. Digestibilité pepsine cellulase de la matière sèche (A, B et C) et matière azotée totale (D, E et F) à chaque stade phénologique et pour chaque espèce dans chaque groupe de précocité (A et D pour les espèces précoces, B et E pour les espèces intermédiaires et C et F pour les plus tardives).

1970). Donc, la capacité qu'a une espèce à maintenir une qualité la plus constante possible au cours de son développement apparaît, du point de vue fourrager, comme une caractéristique importante et positive. Au long du premier cycle, les moindres réductions de digestibilité ont été observées pour l'espèce *Phleum pratense* ($2.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$).

Comme la quantité de matière sèche varie dans le sens opposé à la digestibilité (Weiss & Demarquilly, 1970), nous pourrions nous attendre à ce que les espèces les plus productives présentent des réductions de digestibilité plus marquées au cours de leur développement. Cela a été constaté chez *Dactylis glomerata* ($5.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) et *Holcus lanatus* ($5.9 \text{ g kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$). Cependant cette vitesse de réduction de la digestibilité est aussi importante chez *Anthoxanthum odoratum* ($5.8 \text{ g kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) alors que cette espèce présente une production nettement plus faible. L'inverse a été enregistré pour *Festuca arundinacea*, qui est l'une des espèces les plus productives de la collection, et pour laquelle la vitesse de réduction de la digestibilité n'est que de ($2.7 \text{ g kg}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) entre le stade végétatif et le stade de maturation. A noter cependant que cette espèce présente la digestibilité la plus faible au stade végétatif (seulement 657 g kg^{-1} , Annexe 7-1).

La matière azotée totale varie au cours du premier cycle de façon similaire à la digestibilité pour la plupart des espèces (Figure 7-3, Annexe 7-2). Les réductions ont été plus prononcées entre les stades de montaison et d'épiaison et entre les stades de floraison et de maturation. Cependant, chez *Lolium perenne* (natif et cultivar) les réductions en CP ont été plus marquées au début du premier cycle, entre les stades végétatif et montaison, que par la suite.

Le décalage temporel de phénologie des espèces, constitue une caractéristique importante des prairies permanentes. En effet, lorsque le nombre d'espèces est important, on a une très forte probabilité d'avoir de forts décalages de précocité. Cette complémentarité des espèces entraîne une plus grande stabilité de la production et de la digestibilité moyenne. Deux cas peuvent se présenter : (i) les espèces précoces assurent l'essentiel de la production en sortie d'hiver, le relais est pris ensuite par les espèces plus tardives ; (ii) le mélange de plantes à des stades différents maintient une digestibilité moyenne plus stable. Ce seconde cas permet une plus grande souplesse d'utilisation, puisque la diminution de la valeur nutritive du fourrage au cours du temps est moins rapide lorsque la composition botanique est diversifiée et la phénologie différente entre les espèces (Fleury, 1994). Ces différences sont encore plus prononcées, si on intègre dans le raisonnement la variété des facteurs de gestion utilisables.

Réponses des performances agronomiques à la coupe et à l'apport d'azote

Cela nous conduit à aborder un second objectif plus spécifique de notre travail qui était d'analyser les variations des performances agronomiques en réponse à deux facteurs de gestion : la fréquence de coupe et la disponibilité en azote.

Il est largement établi (Jeangros, 1993 ; Marriott & Carrère, 1998 ; Herben & Huber-Sannwald, 2002 ; Louault *et al.*, 2005) que le niveau d'exploitation influence la composition botanique de la prairie, en particulier en modifiant l'abondance relative des espèces. Une modalité de gestion donnée va favoriser ou défavoriser certaines espèces par rapport à d'autres, pouvant conduire à des mécanismes de remplacement d'espèces. Ces variations de composition botanique vont avoir des conséquences importantes pour la productivité totale de l'écosystème. Jeangros (1993) et Jeangros *et al.* (1994) ont étudié sur des prairies permanentes l'effet de la fréquence de coupe et de la fertilisation azotée sur la composition botanique et la production. Ils ont observé qu'une fréquence de coupe modérée (deux coupes par an) et une fertilisation azotée élevée (200 kg N/ha/an) favorisent le développement des graminées et augmentent leur contribution à la biomasse (78%). Dans leur travail, seulement 6 espèces (*Poa pratensis*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Poa trivialis*, *Elytrigia repens* et *Phleum pratense*) constituent 62% de la flore. La forte proportion d'espèces plus productives (e.g. *Dactylis glomerata*, *Elytrigia repens* et *Phleum pratense*) a contribué à une bonne valorisation des apports d'azote, en augmentant la production de biomasse. Pour le traitement géré sans azote le pourcentage minimum de graminées (47% de la biomasse) a été observé avec deux coupes par an (Jeangros, 1993).

Dans notre essai en collection, des effets similaires de réponse aux facteurs de gestion ont été enregistrés. La fertilisation azotée a permis d'augmenter la production de 56% pour le cultivar de *Lolium perenne* (Clerpin). Les espèces natives, *Poa pratensis*, *Elytrigia repens* et *Poa trivialis* ont augmenté leurs productions de 53, 48 et 40%, respectivement, grâce à l'apport supplémentaire de 240 kg N ha⁻¹an⁻¹ (différence entre traitements N- et N+). La plus faible valorisation de l'azote a été enregistrée pour *Festuca rubra* (+5%). Nous avons constaté qu'une intensité d'utilisation plus élevée (6 coupes/an) a entraîné, en moyenne, une diminution du rendement en matière sèche pour la plupart des espèces, sauf pour *Lolium perenne* et *Poa trivialis*. La plus forte réduction de la production a été constatée pour les espèces : *Festuca arundinacea* (48%), *Holcus lanatus* (32%) et *Festuca rubra* (30%). Ce résultat est en accord avec ceux de Jeangros *et al.* (1994) qui ont conclu, sur des prairies semi

Tableau 7-2. Effet des traitements, fréquence de coupe et fertilisation azotée sur la composition morphologique de la biomasse récoltée. Les valeurs de chaque catégorie sont des pourcentages moyens (\pm se) des organes pour 13 espèces et quatre dates de récolte (printemps 2003 et printemps, été et automne 2004).

	Feuilles vertes	Feuilles sèches	Tiges vertes	Tiges sèches
Coupe	***	***	***	***
C-	52.7 \pm 1.19	9.4 \pm 0.57	37.5 \pm 1.39	0.4 \pm 0.07
C+	64.7 \pm 1.37	4.2 \pm 0.23	31.0 \pm 1.47	0.1 \pm 0.02
Azote#	ns	ns	ns	ns
120	57.5 \pm 1.40	7.2 \pm 0.49	35.1 \pm 1.56	0.2 \pm 0.05
360	59.9 \pm 1.26	6.4 \pm 0.43	33.4 \pm 1.32	0.3 \pm 0.04

***, $P < 0.001$; ns, not significant. # kg N ha⁻¹ an⁻¹.

naturelles, qu'une intensité d'utilisation élevée, au-delà de 4 coupes/an, pouvait conduire à moyen terme à une diminution du rendement en matière sèche.

Nos résultats montrent que la digestibilité des espèces est davantage influencée par la fréquence des coupes que par la fertilisation azotée, conformément aux observations déjà faites sur d'autres expérimentations (Demarquilly, 1970 ; Jeangros & Scephovic, 1996 ; Duru *et al.*, 1998). Des coupes fréquentes permettent de récolter un fourrage plus jeune et plus digestible, riche en matière azotée et minéraux (Jeangros & Scephovic, 1996 ; Santis *et al.*, 2004), avec peu de constituants pariétaux (Cf Annexe 4-1). Des coupes fréquentes affectent également la composition morphologique en maintenant une proportion de feuilles verte plus importante dans la biomasse (Tableau 7-2). Cela se traduit par une valeur nutritive plus élevée qu'avec des coupes tardives, qui favorisent le développement des tiges. Dans notre expérimentation, l'effet de la fréquence de coupe sur la digestibilité de la matière sèche (Cf Annexe 4-3) a été particulièrement marqué chez *Alopecurus pratensis* (+19%), *Elytrigia repens* (+14%), *Poa pratensis* (+13%), *Arrhenatherum elatius* (+12%) et *Dactylis glomerata* (+11%). Pour les autres espèces les différences de digestibilité entre les deux fréquences de coupe n'ont pas dépassé 10%. L'amélioration des matières azotées totales a été marquée pour : *Holcus lanatus*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, cv. Clerpin, *Elytrigia repens* et *Phleum pratense* (entre +30 et 37%) lorsque l'on passe de 3 à 6 coupes par an (Annexe 4-2).

La fertilisation azotée a exercé un léger effet positif sur la digestibilité (entre 1.2 et 8.6% d'augmentation pour les espèces *Phleum pratense* et *Festuca rubra*, respectivement), pendant que l'augmentation en CP a été plus prononcée (entre 15 et 28% pour les espèces *Elytrigia repens* et *Holcus lanatus*, respectivement). En analysant l'effet de la fertilisation azotée sur les changements de composition morphologique, nous n'avons pas constaté de différences significatives entre les deux niveaux d'azote (Tableau 7-2). Ce résultat est un élément tendant à expliquer pourquoi la fertilisation azotée n'a pas provoqué de diminution sensible de la digestibilité.

Dans la première partie de cette synthèse, nous avons caractérisé la grande variabilité interspécifique des performances des espèces prairiales issues de prairies permanente de moyenne montagne. Ces variations ont encore été accentuées par les différences de réponse aux facteurs de gestion, fréquence de coupe et fertilisation azotée. Dans une seconde partie, nous tenterons de synthétiser les principaux résultats de cette expérimentation concernant le rôle des traits pour prédire les performances agronomiques (production et valeur nutritive).

Tableaux 7-3. Synthèse des relations entre : (i) indices écologiques et traits de réponse (n=13); (ii) processus et traits d'effet (n=39). 0, pas de corrélation significative ($P>0.95$) ; +, corrélation positive ($P<0.05$ ou #, $P<0.10$) ; -, corrélation négative ($P<0.05$ ou #, $P<0.10$). N_E , indice Ellenberg (Ellenberg *et al.*, 1992) pour l'azote ; M, indice de l'adaptation à la perturbation (Briemle, 1997) ; ANPP, production aérienne de matière sèche ; CP, matières azotées totales ; PCDMD, digestibilité pepsine cellulase de la matière sèche. Voir Tableaux 6-1 (Chap. 6) pour la liste d'abréviation des traits.

	Traits de réponse		Traits d'effet		
	N_E	M	ANPP	CP	PCDMD
LL	0	0	+	0	-
LA	0	0	+	0	0
LDM	0	0	+	0	0
LDMC	0	+	0	0	-
SLA	0	-	0	0	+
PH	-	0	0	0	-
LLS	- #	0	0	0	-
LNC	0	- #	-	+	+
NG	+ #	0	0	0	0
NM	0	0	-	0	0
SL	0	- #	+	0	0
VE	0	0	+	0	0
ME	0	0	+	0	0
C1	0	0	-	0	+
C2	- #	0	+	0	-
C3	0	0	+	0	-
EG	+ #	-	0	+	+
CG	+	0	0	0	0
BF	0	0	0	0	+
SM	0	0	0	0	0
TD	0	0	0	0	-

7.2- Traits d'effet sur les performances

L'approche fonctionnelle postule qu'une espèce végétale peut être caractérisée par un ensemble de traits qui reflète son fonctionnement dans un milieu donné. Ces traits peuvent être associés à la réponse des plantes à un facteur de l'environnement ou déterminer l'effet des plantes sur une fonction de l'écosystème. Par extension, les mêmes traits impliqués dans la réponse des plantes aux conditions de milieu peuvent aussi avoir un effet sur le fonctionnement de l'écosystème (Lavorel & Garnier, 2002). Notre travail sur la détermination des traits des espèces végétales et de leurs relations avec les caractéristiques agronomiques contribue au développement de cette approche.

Donc, au-delà de la caractérisation de la performance des espèces fourragères natives, ce travail de thèse a eu comme objectif de déterminer **les traits fonctionnels des graminées prairiales qui rendent compte de leur productivité aérienne et de leur valeur nutritive**. Avant d'aborder la synthèse de cette démarche et de discuter ses implications, nous rappellerons brièvement les principaux résultats :

- i) Nous avons montré que parmi les facteurs étudiés (espèces, fréquence de coupe et fertilisation azotée), l'espèce a été la principale source de variation pour la plupart des traits.
- ii) Les descripteurs de la taille des organes aériens et de la plante entière (LL, LA, LDM, SL, VE et ME) ont été analysés comme des traits d'effet pour la production de biomasse aérienne (Tableau 7-3). Nous avons montré que ces traits sont reliés à l'interception de rayonnement (RI) et à l'efficacité d'utilisation du rayonnement (ARUE), deux processus qui étaient apparemment limités par la nutrition azotée (NNI). En effet, RI et ARUE étaient corrélés positivement à NNI et cet indice indiquait une limitation par l'azote ($NNI < 1$) de la croissance aérienne pour toutes les espèces. Par ailleurs, la production aérienne était corrélée de manière négative à la teneur en azote par unité de matière fraîche des limbes ($LNC * LDMC$), apparemment du fait d'une réduction de la productivité de l'azote lorsque cette teneur augmente. Enfin, nos résultats n'indiquent pas un rôle de la surface spécifique foliaire (SLA) ou de la durée de vie des feuilles (LLS) pour la production.
- iii) Pour la valeur nutritive, les traits foliaires (LDMC, SLA, PH et LLS) correspondaient tous à des traits d'effet pour la digestibilité (Tableau 7-3). La

teneur en azote des limbes (LNC) était également positivement corrélée au contenu en matières azotées totales de la plante (CP). Les traits déterminés au niveau de l'individu, comme les fractions de fibres (C1, C2 et C3, mesurées au stade végétative) étaient également de bons indicateurs de la digestibilité des espèces. Enfin, la densité des talles a été négativement corrélée à la digestibilité. Ces relations ont été conservées en moyenne par espèce comme pour chaque niveau des traitements (fréquence de coupe et fertilisation azotée).

Nous complétons ci-dessous la discussion présentée aux Chapitre 5 et 6 sur le rôle des traits aériens pour la productivité des graminées étudiées, en comparant les apports de plusieurs méthodes d'analyse de croissance.

Traits d'effet pour la productivité aérienne

De nombreuses études ont concerné l'implication des traits pour la vitesse spécifique de croissance potentielle (RGR, *Relative Growth Rate*, $\text{g g}^{-1} \text{ jour}^{-1}$) et pour le compromis qui semble universel entre acquisition et conservation des ressources par les végétaux (Lambers & Poorter, 1992 ; Niemann *et al.*, 1992 ; Van Arendonk & Poorter, 1994). Une vitesse de croissance élevée est caractéristique des espèces d'environnement rudéral ou compétitif, au sens de Grime (1979), tandis que les environnements limités en nutriments, seraient dominés par des espèces ayant une moindre vitesse intrinsèque de croissance (Grime, 1979 ; Poorter & Remkes, 1990). Ces différences auraient un sens adaptatif. Par exemple, pour les espèces de stratégie rudérale, une vitesse de croissance élevée est nécessaire pour produire de nombreuses plantules qui se reproduisent rapidement, ce qui autorise un fort potentiel de colonisation (Lambers & Poorter, 1992). Cependant, entre espèces croissant dans les mêmes conditions environnementales, il existe de grandes différences de RGR mesuré sans compétition (Niemann *et al.*, 1992 ; Shipley, 2002). Ces différences interspécifiques de RGR résultent de différences de physiologie et de morphologie des plantes (Shipley, 2002), qui peuvent être analysées par des méthodes d'analyse de croissance.

De nombreuses méthodes d'analyse de croissance ont été proposées, qui reposent soit sur une décomposition de la vitesse relative de croissance de la plante, soit sur une décomposition des processus concernant la capture et la conversion de ressources majeures comme la lumière et l'azote.

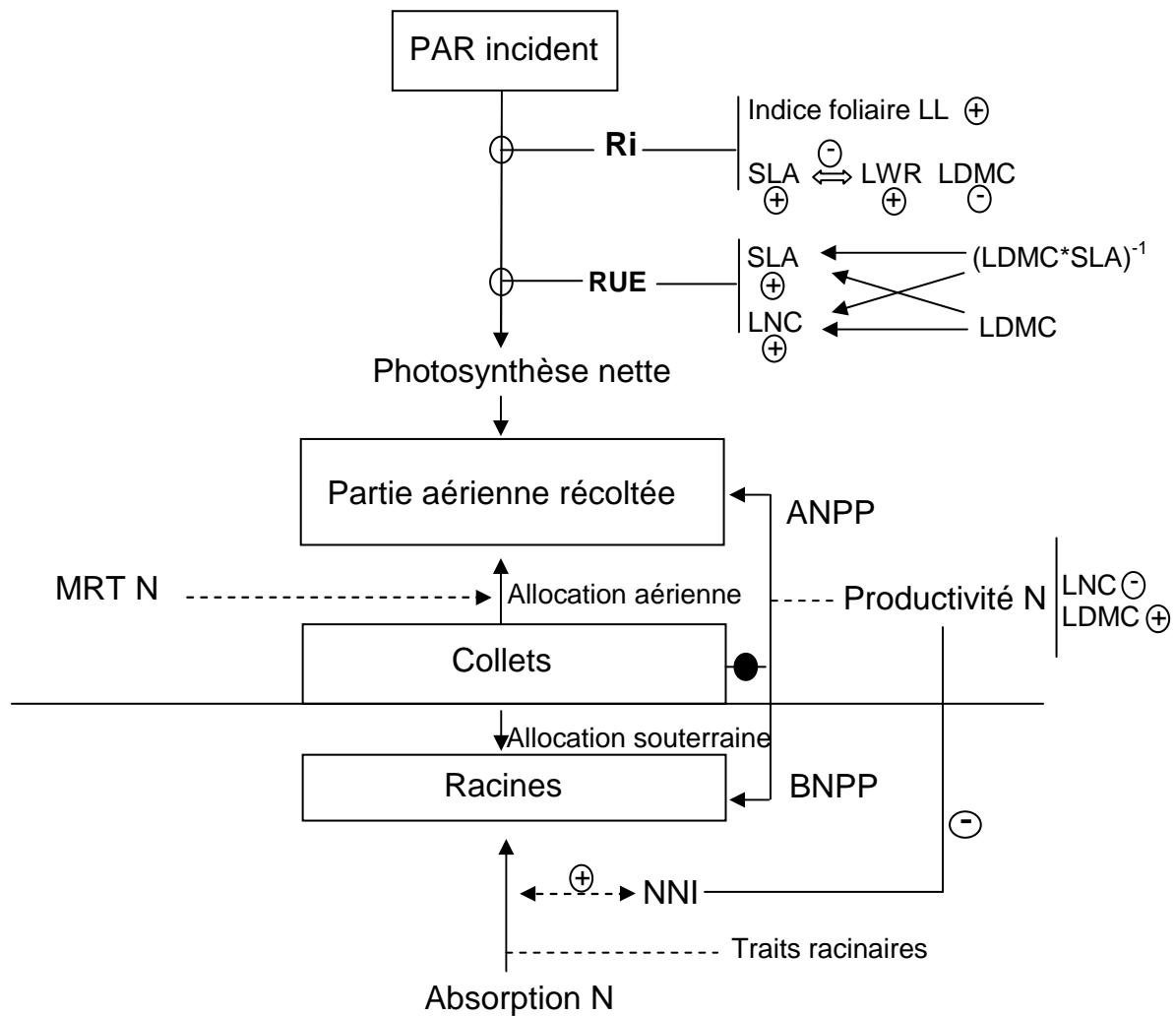


Figure 7-4. Schéma résumant les principaux processus pour C et N qui sont affectés par des traits aériens et souterrains chez un peuplement de graminées. Les flux sont indiqués par des flèches pleines. Le rôle des traits est indiqué par des flèches en tirets. Abréviations utilisées : ANPP, BNPP, productivité primaire nette aérienne et souterraine; NNI, indice de nutrition azotée ; MRT N, temps moyen de résidence de l'azote. RI et RUE, efficacités d'interception et d'utilisation du rayonnement photosynthétiquement actif. Voir Tableaux 6-1 (Chap. 6) pour la liste d'abréviations des traits.

Analyse de croissance basée sur l'assimilation du carbone

La vitesse relative de croissance pondérale de la plante entière (*RGR*) a souvent été décomposée en deux termes multiplicatifs : le taux d'assimilation nette photosynthétique (*NAR*, gC cm⁻² jour⁻¹) et le ratio de surface foliaire dans la plante entière (*LAR*, cm² g⁻¹) (Lambers & Poorter, 1992).

$$RGR = (1/fc) \times NAR \times LAR \quad (Eq. 1)$$

Où *fc* (g C g⁻¹ MS) est la teneur en C de la plante entière.

A son tour le *LAR* peut être décomposé en deux termes multiplicatifs : la surface spécifique des limbes (*SLA*) et la fraction pondérale de limbes dans la plante entière (*LWR*).

$$RGR = (1/fc) \times NAR \times SLA \times LWR \quad (Eq. 2)$$

Nos résultats montrent que les espèces à fort *SLA* tendent à avoir un *LWR* plus faible. En effet, la proportion de gaines augmente pour les espèces dont le *SLA* est le plus élevé (corrélation négative entre *SLA* et rapport de longueur des gaines et des limbes *SL/LL*, voir Figures 5-3b). Les deux composantes du *LAR* (*SLA* et *LWR*) tendraient donc à se compenser. Par conséquent, les différences de croissance aériennes entre espèces étudiées seraient plutôt liées à des différences de *NAR*, qu'à des différences de *LAR*. On doit toutefois remarquer que l'équation 2 ne rend pas compte de la croissance aérienne, mais du taux relatif de croissance de la plante entière, taux que nous n'avons pas pu déterminer expérimentalement au champ.

Toutefois, la plupart des études récentes ont utilisé un taux d'assimilation nette par unité de masse des limbes, ce mode d'expression rendant mieux compte des corrélations presque universelles entre traits (Wright *et al.*, 2005). On écrit alors :

$$RGR = (1/fc) \times (NAR' / LDMC) \times LWR \quad (Eq. 3)$$

Où *NAR'* (g C g⁻¹ MS jour⁻¹) est le taux d'assimilation nette par unité de matière fraîche des limbes et *LDMC* est la teneur en matière sèche des limbes.

Analyse de croissance basée sur l'interception et l'utilisation du rayonnement

La vitesse de croissance des parties aériennes peut être décomposée (Monteith, 1977) en considérant deux processus : l'interception et l'utilisation (ou conversion) du rayonnement photosynthétiquement actif (Figure 7-4). L'efficacité d'interception (*RI*) sera fonction des traits liés au nombre et à la surface individuelle des limbes (par exemple, la longueur des limbes), qui constituent des composantes de l'indice foliaire. Une augmentation du *SLA* ou

du LWR tend à augmenter la surface foliaire et l'interception du rayonnement (Lambers & Poorter, 1992), mais nous avons vu que les valeurs de ces deux traits tendent à se compenser. L'effet négatif d'une augmentation du LDMC sur l'efficacité d'interception (Figure 7-4) a été montré par Niinemets (1999).

La maximisation de l'efficacité d'utilisation du rayonnement (RUE) résulterait d'une coordination entre SLA et LNC (Reich *et al.*, 1997 ; Reich, 1998 ; Garnier *et al.*, 1999 ; Reich *et al.*, 1999 ; Shipley *et al.*, 2005). Le SLA indique la surface d'interception de la lumière par unité de masse foliaire (Hunt & Cornelissen, 1997). Ce trait varie en fonction inverse de la teneur en matière sèche (LDMC) et de l'épaisseur des feuilles (Witkowski & Lamont, 1991), deux paramètres liés négativement à la vitesse de photosynthèse (Garnier *et al.*, 1999 ; Niinemets, 1999). La coordination entre les deux traits, SLA et LNC, permet d'optimiser la quantité d'azote foliaire organique par unité de surface (Evans & Poorter, 2001). Cependant, cette coordination modifie aussi l'épaisseur²³ et la densité (rapport matière sèche sur volume) des limbes, puisque ces deux variables sont causalement liées aux deux précédentes (Shipley *et al.*, 2005).

Les résultats obtenus montrent que les espèces ont été différenciées tant par leur efficacité d'interception, liée au potentiel morphogénétique et à la taille des organes capteurs, que par leur efficacité de conversion liée à un potentiel photosynthétique qui dépendait en partie du statut azoté de la plante puisque le RUE était fortement corrélé à l'indice de nutrition azotée des plantes (Chap. 6).

Comme le souligne ce dernier résultat, on peut questionner la pertinence d'une analyse de croissance reposant uniquement sur l'interception et la conversion du rayonnement sans considérer la limitation par l'azote qui est fréquente chez les graminées prairiales (Lemaire & Gastal, 1984, 1997).

Analyse de croissance basée sur l'assimilation et l'utilisation de l'azote

Le taux relatif de croissance peut être décomposé en considérant l'absorption et l'efficacité d'utilisation de l'azote. Avec les mêmes notations, on montre que :

$$RGR = NU \times NUE \quad (Eq. 4)$$

²³ Vile *et al.* (2005) suggèrent que l'épaisseur des limbes, trait difficile à mesurer, peut être estimé par $(SLA \times LDMC)^{-1}$.

Où NU est le taux d'absorption d'azote par unité de masse ($\text{g N g}^{-1}\text{MS j}^{-1}$) et NUE est l'efficacité d'utilisation de l'azote ($\text{g MS g}^{-1}\text{ N}$) (Soussana *et al.*, 2005). Dans une expérience au champ, aucun de ces termes n'est toutefois connu avec précision. Pour approcher NU, on peut faire les deux hypothèses suivantes, qui correspondent bien à nos conditions expérimentales :

- H1. A l'échelle d'une repousse, la quantité d'azote dans les racines et les collets est supposée constante.
- H2. La sénescence des feuilles est négligeable dans les peuplements fauchés (Table 7-2). On peut donc négliger la résorption d'azote à la sénescence.

Moyennant ces deux hypothèses, on peut considérer que l'azote absorbé est entièrement consacré à la croissance foliaire²⁴ et, réciproquement, que seule l'absorption d'azote permet l'accumulation d'azote dans les feuilles²⁵.

La quantité d'azote absorbée chaque jour par unité de masse de la plante correspond alors à la quantité d'azote des feuilles par unité de masse de la plante ($\text{LNC} \times \text{LWR}$) et divisée par la durée de vie des feuilles (LLS, qui correspond à un temps moyen de résidence de l'azote dans la feuille):

$$NU = \text{LNC} \times \text{LWR} / \text{LLS} \quad (\text{Eq. 5})$$

Où LNC est la teneur en azote des feuilles ($\text{g N g}^{-1}\text{ MS}$) et LLS la durée de vie des feuilles (exprimée par commodité en jours).

En combinant les deux modes d'analyse de croissance, on peut calculer NUE selon l'équation 4 comme le ratio entre RGR (Eq. 3) et NU (Eq. 5).

$$NUE = \text{RGR}/\text{NU} = [(1/fc) \times (\text{NAR}' / \text{LDMC}) \times \text{LWR}] / [\text{LNC} \times \text{LWR} / \text{LLS}]$$

Après réarrangement :

$$NUE = (1/fc) \times (\text{NAR}' \times \text{LLS}) / (\text{LNC} \times \text{LDMC}) \quad (\text{Eq. 6})$$

L'efficacité d'utilisation de l'azote diminuerait donc avec la teneur en azote par unité de matière fraîche des limbes ($\text{LNC} \times \text{LDMC}$), ce qui expliquerait que la production de matière sèche (ANPP, Chapitre 5) soit négativement corrélée à ce trait. Par ailleurs, cette

²⁴ On néglige ainsi la mise en réserve de l'azote.

²⁵ On néglige ainsi la remobilisation d'azote (ou on la suppose égale à l'échelle d'une repousse à la mise en réserve).

équation indique qu'une augmentation de la durée de vie des feuilles (LLS) permettrait d'accroître l'efficacité d'utilisation de l'azote, ce qui pourrait rendre compte de l'augmentation de la productivité en coupes peu fréquentes (C-) par rapport aux coupes fréquentes. En revanche, les différences de LLS entre espèces ne se sont pas suffisamment exprimées dans nos conditions expérimentales (la plupart des feuilles étant coupées avant d'entrer en sénescence) pour affecter l'efficacité d'utilisation de l'azote et la vitesse de croissance.

Une analyse de la limitation de la croissance par le statut en azote des plantes

La vitesse d'absorption d'azote par unité de matière sèche de la plante (NU, équation 5) constitue l'autre terme qui limite la vitesse relative de croissance pour une efficacité d'utilisation de l'azote donnée. Cette vitesse varie en fonction de l'indice de nutrition azotée de la plante.

NNI, l'indice de nutrition azotée est défini comme le rapport entre la teneur en azote des parties aériennes de la plante (N/M , g N g⁻¹ MS) et la teneur en azote critique (N_c , g N g⁻¹ MS) qui est la teneur la plus basse permettant de maximiser la vitesse de croissance aérienne.

$$N/M = NNI \times N_c$$

Or, N_c décroît de manière allométrique (Lemaire & Gastal, 1984) avec la masse des parties aériennes (M , g MS m⁻²). Comme l'ont montré Lemaire *et al.* (1989b) :

$$\begin{aligned} N_c &= a M^{-b} \\ N/M &= NNI \times a M^b \\ N &= NNI \times a M^{(1-b)} \end{aligned} \quad (\text{Eq. 7})$$

Selon les hypothèses H1 et H2, la vitesse d'absorption est égale à la dérivée de la quantité d'azote des parties aériennes (N , g N m⁻²) au cours de la repousse. En supposant NNI constant :

$$dN/dt = a (1-b) NNI (dM^b/dt)$$

Enfin, on peut calculer NU en fonction de NNI :

$$NU = (1/Mp) dN/dt = a (1-b) NNI (dM^b/dt)/Mp$$

Où Mp est la biomasse totale des plantes (g MS m⁻²), ou encore :

$$NU = a (1-b) \times NNI \times LWR \times (dM^b/dt)/M \quad (\text{Eq. 8})$$

Cette décomposition montre que NU, qui conditionne avec NUE la vitesse relative de croissance, augmente avec l'indice de nutrition azotée et avec la fraction de biomasse foliaire.

On peut ainsi rendre compte du rôle positif de l'indice de nutrition azotée pour la productivité aérienne (Cf Chap. 5, Tableau 5-9), via son effet sur l'absorption d'azote. Le statut azoté de la plante peut aussi avoir un effet indirect sur l'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE, équation 6), en augmentant l'assimilation nette photosynthétique.

Bien qu'elles aient été cultivées dans les mêmes conditions environnementales, nous avons observé (Figures 5-1a et 5-1b) des bilans apparents d'azote et des indices de nutrition azotée contrastés selon les espèces de graminées. Les espèces les moins productives ont présenté un reliquat d'azote plus fort et un indice de nutrition azotée plus faible que les espèces les plus productives. Comment expliquer cette apparente contradiction, puisque pour une espèce donnée l'indice de nutrition azotée varie généralement en fonction de la disponibilité de l'azote dans le sol ?

La première stratégie pour échapper à une limitation en nutriments est d'investir dans leur acquisition. On peut supposer que les espèces productives qui ont maintenu un fort NNI et qui ont utilisé l'azote apporté avaient une stratégie compétitive pour l'absorption d'azote. Cette stratégie reposerait sur le développement d'un système racinaire à forte surface d'échange et sur des racines à forte capacité d'absorption d'azote. En retour, la plus forte production de biomasse aérienne peut permettre à ces espèces une plus forte allocation de biomasse aux racines, augmentant ainsi leur capacité d'acquisition des nutriments. Les espèces dont les limbes étaient les moins riches en azote (LNCxLDMC) ont généralement présenté une plus forte productivité grâce à une plus grande efficacité d'utilisation de l'azote, qui en retour leur a permis d'investir dans le développement et/ou l'activité métabolique du système racinaire.

A l'inverse, d'autres espèces de graminées étaient peu productives, présentaient un indice de nutrition azotée bas et n'absorbaient qu'une faible partie de l'azote apporté. Ces graminées, avaient généralement une faible efficacité d'utilisation de l'azote (fort LNCxLDMC) et on peut supposer que le développement et/ou l'activité de leur système racinaire était insuffisant pour assurer une absorption d'azote optimale. Ces graminées auraient une stratégie conservatrice, elles se développeraient lentement y compris dans des environnements riches en nutriments.

La prise en compte des traits racinaires serait nécessaire pour parvenir à une meilleure compréhension de l'acquisition et de l'utilisation de ressources souterraines, comme l'azote, et de ses conséquences pour la productivité aérienne.

7.3- Interpréter les relations entre les traits comme des stratégies fonctionnelles

Groupes de traits pour la productivité et la valeur nutritive

Nos résultats montrent que la productivité et la valeur nutritive dépendent des valeurs de deux groupes distincts de traits. Alors que tous les traits qui décrivent la taille des organes aériens sont des indicateurs de la productivité (Tableaux 6-7), les principaux traits liés à la digestibilité (e.g., LDMC et SLA) n'expliquent pas la productivité. Seulement deux traits « durs » ont été aussi bien corrélés à la production qu'à la digestibilité : le contenu cellulaire et la teneur en cellulose plus lignine.

Les stratégies fonctionnelles décrivent des patrons de variation des traits, en fonction des facteurs environnementaux et peuvent contribuer à expliquer les différentes performances des espèces. Ces stratégies peuvent être décrites par un syndrome de traits, comme par exemple le syndrome des traits impliqués dans le compromis entre acquisition et conservation des ressources. Les espèces adaptées aux milieux peu fertiles ont généralement des stratégies de conservation de ressources caractérisées par un syndrome de traits : faible surface foliaire spécifique, faible productivité de l'azote, petite taille, teneur en matière sèche et durée de vie des feuilles élevées (Grime *et al.*, 1988 ; Aerts & van der Peijl, 1993 ; van der Werf *et al.*, 1993).

Festuca rubra et *Anthoxanthum odoratum*, typiques selon Ellenberg de milieux assez peu fertiles, ont toutefois montré des valeurs de traits contrastées. Les feuilles de *F. rubra* avaient une durée de vie longue, la plus forte teneur en matière sèche et la plus faible teneur en azote, ce qui a entraîné une faible digestibilité. Cependant, *A. odoratum* a été caractérisé par une bonne digestibilité, avec des valeurs de traits opposées à celles observées chez *F. rubra*. Gaucherand (2005) a constaté que *F. rubra* maintient une stratégie plus conservatrice, tant en milieu pauvre qu'en milieu riche. Cependant, *A. odoratum* a été classée par Ansquer *et al.* (2004) comme une espèce de stratégie « capture de ressources », donc typique de milieux riches, ce qui semble contradictoire avec l'indice d'Ellenberg.

La classification de Ansquer *et al.* (2004) a été réalisée sur 17 graminées cultivées en monocultures sur la base d'un seul trait : la teneur en matière sèche des limbes (LDMC). En effet, ce trait était bien corrélé à deux caractéristiques agronomiques : le stade épis à 10 cm et la digestibilité. Nos résultats permettent de confirmer la corrélation entre LDMC et

Tableau 7-4. Rang des 13 espèces de graminées pour la productivité et la valeur nutritive, ainsi que pour deux traits foliaires. Quatre groupes d'espèces ont été proposés à partir de ces rangs (voir texte). ANPP, production aérienne de matière sèche ; CP, matières azotées totales ; PCDMD, digestibilité pepsine cellulase de la matière sèche ; LDMC, teneur en matière sèche des limbes, LNC, teneur en azote des limbes.

Groupe	Espèces	Rang ANPP	Rang PCDMD	Rang CP	Rang LNC	Rang LDMC
1	<i>Dactylis glomerata</i>	1	9	7	9	9
1	<i>Festuca arundinacea</i>	2	11	11	13	7
2	<i>Holcus lanatus</i>	3	3	9	8	13
2	<i>Arrhenatherum elatius</i>	4	7	14	2	11
2	<i>Lolium perenne</i>	5	2	12	10	12
3	<i>Festuca rubra</i>	6	13	8	12	1
3	<i>Alopecurus pratensis</i>	7	12	4	4	3
3	<i>Poa pratensis</i>	8	10	10	11	2
4	<i>Phleum pratense</i>	9	1	6	6	5
4	<i>Trisetum flavescens</i>	10	6	3	3	6
4	<i>Elytrigia repens</i>	11	8	1	1	8
4	<i>Anthoxanthum odoratum</i>	12	5	5	5	10
4	<i>Poa trivialis</i>	13	4	13	7	4

digestibilité. En revanche, nous n'avons pas obtenu de corrélation significative du LDMC avec les stades phénologiques observés (début montaison et début épiaison).

Classement des espèces par un ensemble de traits d'effet

Nous avons montré qu'il était nécessaire de prendre en compte plusieurs traits pour pouvoir prédire la productivité et la valeur nutritive des graminées en culture pure. De plus, il est apparu difficile de prédire la productivité aérienne sans tenir compte des différences de nutrition azotée entre espèces, par exemple via l'indice de nutrition azotée.

Les syndromes de traits d'effet nous ont permis de grouper les espèces étudiées, en les classant en quatre catégories selon leurs valeurs de performances dans nos conditions expérimentales. On distingue quatre niveaux de productivité (très fort, fort, faible, très faible) et seulement deux niveaux de digestibilité (fort et faible), car les groupes de productivité ne correspondent qu'approximativement à des groupes de digestibilité (Tableau 7-4). On peut également remarquer que cette classification ne rend pas compte de la teneur en matières azotées totales (CP), qui n'est pas reliée aux groupes de productivité.

Cette classification peut être positionnée dans l'analyse canonique des correspondances (CCA) déjà présentée dans la Figure 6.3. La séparation des groupes est cohérente avec celle de la CCA (Figure 7-5) et la CCA permet de caractériser les groupes par d'autres traits :

- **Groupe 1.** Espèces très productives et de faible digestibilité : *Festuca arundinacea* et *Dactylis glomerata*. Ces espèces ont été caractérisées par des traits qui décrivent une grande taille des plantes (LL, VE et ME) et de faibles teneurs en azote (LNC) et en matière sèche (LDMC) des limbes.
- **Groupe 2.** Espèces productives et de forte digestibilité : *Arrhenatherum elatius*, *Holcus lanatus* et *Lolium perenne*. Ces espèces sont caractérisées par les plus faibles teneurs en matière sèche des limbes (LDMC) et par des durées de vie faibles des feuilles (LLS).
- **Groupe 3.** Espèces peu productives et de faible digestibilité : *Alopecurus pratensis*, *Festuca rubra* et *Poa pratensis*. Ces espèces sont caractérisées par les plus fortes teneurs en matière sèche des limbes (LDMC) et par des durées de vie fortes des limbes.

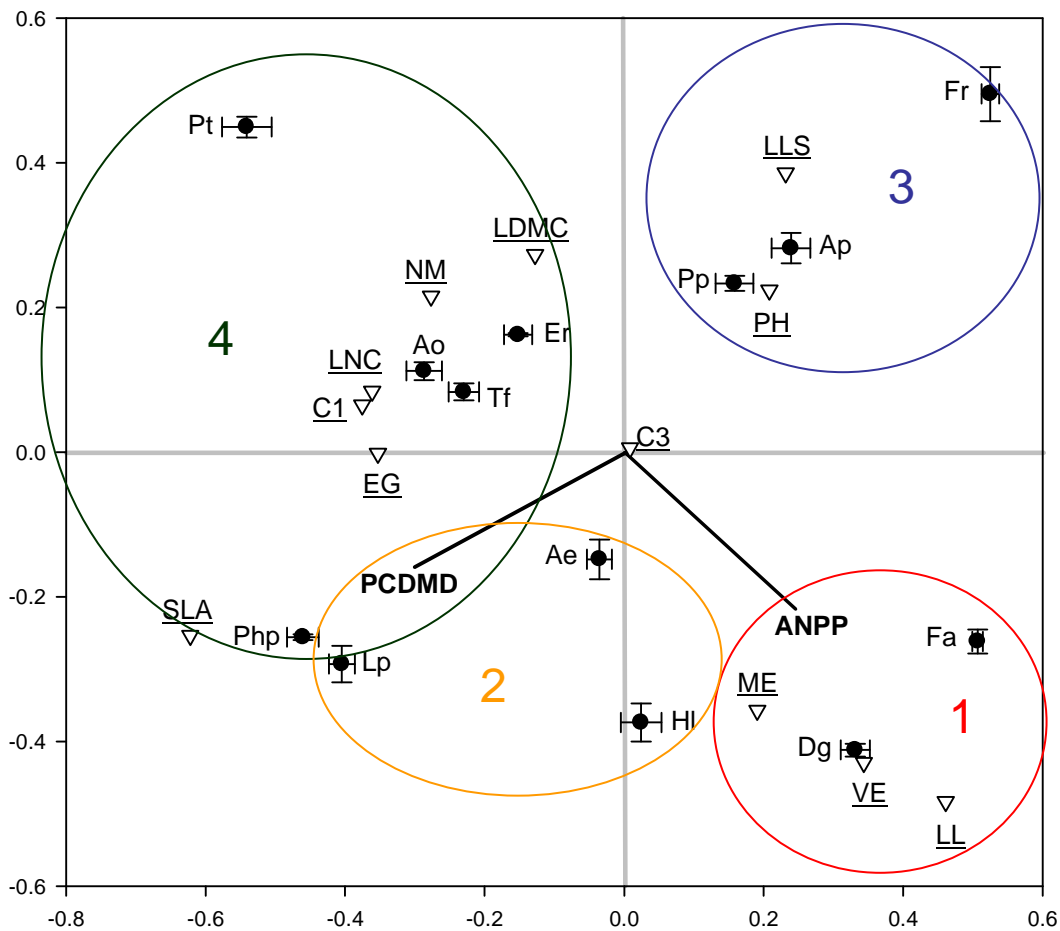


Figure 7-5. Groupes d'espèces de graminées du tableau 7-4 figurés sur l'analyse canonique des correspondances de la Figure 6-3. Les groupes d'espèces sont positionnés par rapport à la productivité (ANPP) et à la digestibilité (PCDMD), ainsi que par rapport aux traits dans le plan formé par les deux premiers axes qui rendent compte de 50% de la variance totale observée.

- **Groupe 4.** Espèces très peu productives et de forte digestibilité : *Anthoxanthum odoratum*, *Elytrigia repens*, *Phleum pratense*, *Poa trivialis* et *Trisetum flavescens*. Ces espèces sont notamment caractérisées par leur petite taille et par de fortes teneurs en azote des limbes.

Notre analyse des associations entre les traits fonctionnels et les caractéristiques agronomiques suggère l'impossibilité de prédire leurs performances agronomiques en culture pure sur la base d'un trait unique. Cruz *et al.* (2002) ont proposé une typologie de graminées sur la base de la seule teneur en matière sèche des limbes (LDMC), avec comme objectif de disposer d'un outil de diagnostic pour la gestion de prairies naturelles. Nos résultats ont montré que le LDMC ne suffisait pas à rendre compte de la productivité aérienne en culture pure, mais que ce trait était un bon prédicteur de la digestibilité.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous n'avons pas pour objectif de formuler ou d'évaluer un outil de diagnostic basé sur les traits qui soit directement utilisable pour la gestion des prairies permanentes. La productivité et la valeur nutritive (Carrère *et al.*, 2006) sont en effet modifiées par l'association avec d'autres espèces, ce qui rendrait hasardeuse une extrapolation directe de nos résultats à l'échelle d'une communauté.

Plasticité des traits en réponse à la défoliation et à l'azote

Le classement des espèces sur la base d'un trait doit rester constant entre espèces quand les conditions environnementales varient, même si la valeur absolue de ce trait varie (Garnier *et al.*, 2001b ; Cornelissen *et al.*, 2003). Malgré la plasticité des traits mesurée aux différents niveaux de fertilisation azotée et de fréquence de coupe, les classements des espèces ont été conservés pour l'ensemble des traits étudiés (Tableaux 6-5). Une plus forte variabilité temporelle a été constatée dans le classement des espèces, particulièrement pour des traits comme le LDMC (voir aussi Garnier *et al.*, 2001b), la longueur de la gaine et le nombre de feuilles (en croissance et mature). Ces variations des valeurs de traits pendant les périodes de mesures peuvent être fonction des facteurs climatiques, comme la température, la teneur en eau du sol et le rayonnement (Allard *et al.*, 1991 ; Buxton & Fales, 1994 ; Al Haj Khaled, 2005).

Les stratégies de réponse des plantes à l'augmentation de la fréquence de coupe indiquent une tendance à l'évitement, avec des conséquences négatives, au niveau des limbes, pour la valeur nutritive. Ces stratégies consistent en des mécanismes qui visent la réduction de

la probabilité et de l'intensité de la défoliation (Briske, 1996; Cornelissen *et al.*, 1999 ; Diaz *et al.*, 2001). Une fréquence de coupe élevée a augmenté la teneur en matière sèche et a réduit la teneur en azote des limbes pour la plupart des espèces. Un faible contenu cellulaire et un contenu en cellulose et lignine plus élevé ont aussi été constatés, au niveau de la plante en comparant les espèces au même stade (trois semaines de repousse). Nos résultats ont aussi montré que les traits (e.g. LDMC, LNC et SLA) qui peuvent être modifiés par des stratégies d'évitement permettent de classer les espèces par rapport au degré de perturbation des milieux (Tableaux 6-6).

Selon Westoby (1999), un SLA élevé favoriserait un taux relatif de croissance élevé comme mécanisme de tolérance au pâturage. Cependant, nos résultats ont montré que les espèces typiques de milieux peu perturbés ont présenté un SLA plus élevé. Donc, les réponses des espèces à la perturbation ont plutôt été caractérisées par des stratégies d'évitement, via des changements de la qualité des tissus, que par des stratégies de tolérance, via des mécanismes qui augmenteraient la croissance des espèces après une défoliation (Briske, 1996).

Les stratégies de réponse des graminées à l'azote indiquent une réduction du phyllochrone, de la durée de vie des feuilles et de la teneur en matière sèche des limbes, en réponse à un apport plus élevé d'azote. Ces changements vont dans le sens d'une moindre conservation des nutriments (Reich *et al.*, 1992). De plus, les espèces issues de milieux riches (indice d'Ellenberg) sont caractérisées par une courte durée de vie des feuilles et par un grand nombre de feuilles en croissance (Tableau 7-3). Ces espèces investissent aussi plus dans la colonisation végétative (CG) et augmentent la durée de leur période de croissance (démarrage précoce, EG), ce qui indique une stratégie compétitrice maximisant la capture des nutriments (Tableau 7-3). Toutefois, les plantes issues de ces milieux riches en nutriments ne sont pas plus productives que les autres.

Traits de réponse et traits d'effet

Certains traits ont été corrélés à la fois aux indices écologiques et aux performances agronomiques. La corrélation d'un trait à un indice écologique indique qu'il constitue un trait de réponse au gradient (azote ou perturbation) représenté par l'indice écologique. Les traits corrélés à la productivité ou à la valeur nutritive sont des traits d'effet. La superposition d'un trait de réponse et d'un trait d'effet permet de caractériser un trait fonctionnel, au sens de Lavorel & Garnier (2002).

Tableau 7-5. Valeur moyenne, minimum et maximum de la surface foliaire spécifique ($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) pour des espèces de graminées étudiées : (a) dans la collection de Theix, (b) par Al Haj Khaled *et al.* (2005) dans une collection située à Toulouse, (c) en prairie permanente à Theix dans un essai de longue durée de pâturage (voir Louault *et al.*, 2005) et, (d) en culture pure en milieu contrôlé par Van der Werf *et al.* (1998). Le nombre d'espèces de graminées présent dans chaque étude a été spécifié entre parenthèses.

Référence	Moyenne	Minimum	Maximum
a (n=13)	24	11	32
b (n=14)	27	17	36
c (n=10)	28	19	37
d (n=22)	37	19	59

Comme nous n'avons comparé qu'un échantillon réduit de graminées, les corrélations aux indices écologiques des traits sont rarement significatives à $P < 0.05$ (Tableau 7-3). Toutefois, nous avons pu montrer que la digestibilité était affectée par plusieurs traits fonctionnels :

- le phyllochrone, qui était significativement corrélé à l'indice N d'Ellenberg, était aussi corrélé significativement à la digestibilité, indiquant que des espèces de milieux plus riches en azote tendent à avoir une digestibilité plus grande, via des valeurs plus faibles de phyllochrone.
- Les espèces d'habitats plus perturbés tendaient à avoir une digestibilité réduite, via un LDMC plus élevé, un SLA plus bas et un démarrage plus tardif de la croissance au printemps.

Il faut souligner que les corrélations directes entre indices écologiques, productivité et digestibilité ne sont pas significatives. Par exemple, les espèces d'habitats plus perturbés n'avaient pas une digestibilité moindre, compte tenu des valeurs prises par d'autres traits.

Diversité fonctionnelle

Dans notre étude, nous avons observé une forte gamme de variation des traits. Pour illustrer cette gamme, on peut la comparer à celle obtenue dans des études en communauté, sur la base des différences entre les valeurs extrêmes des traits fonctionnels (Diaz & Cabido, 2001). A titre d'illustration, nous avons comparé l'amplitude de variation du SLA, un trait couramment mesuré, avec celle observée dans trois autres expériences concernant des espèces prairiales et en ne considérant que les graminées (Tableau 7-5). L'amplitude de variation du SLA dans notre expérience est proche de celle observée dans une autre collection par Al Haj Khaled *et al.* (2005) et de celle obtenue dans une communauté par Louault²⁶ *et al.* (2005). En revanche dans une expérience en milieu contrôlé, Van der Werf *et al.* (1998) a obtenu une amplitude de variation comparable mais des valeurs moyennes de SLA plus élevées, probablement parce que ce trait a été mesuré sur des plantes jeunes et dans des conditions artificielles d'éclairage.

Il est important de remarquer que les traits analysés au cours de cette thèse ont été mesurés sur des espèces en culture pure, donc sans effet de la compétition interspécifique. Des variations adaptatives aux contraintes imposées par la compétition pour les ressources,

²⁶ Communication personnelle, donnée de base non publiées mais synthétisées par Louault *et al.* (2005).

comme un effet d'ombrage (Allard *et al.*, 1991), peuvent avoir d'importantes conséquences sur les valeurs de traits. Dans la collection de Theix, une comparaison des valeurs de traits foliaires obtenues en culture pure et en association binaire avec un compétiteur (cultivar de Dactyle) ont montré des différences significatives entre espèces des valeurs de traits (Carrère *et al.*, 2006).

Dans une communauté prairiale, une large gamme de variation des traits pourrait faciliter la coexistence entre espèces végétales en augmentant la diversité fonctionnelle de ces communautés. La diversité fonctionnelle peut être définie comme la valeur et la gamme de variation des traits fonctionnels des organismes présents dans un écosystème donné (Tilman, 2001). Lorsque cette diversité augmente, une plus grande amplitude des valeurs de traits est représentée, ce qui pourrait faciliter la coexistence des espèces et créerait davantage d'opportunités pour un usage efficace des ressources dans un environnement variable dans l'espace et dans le temps (Gaucherand, 2005).

La complémentarité des niches²⁷ constitue l'un des mécanismes pour expliquer le rôle de la diversité fonctionnelle dans la dynamique de l'écosystème (Diaz & Cabido, 2001 ; Loreau *et al.*, 2001). Cette complémentarité contribue à expliquer la coexistence de plusieurs espèces végétales, alors que celles-ci sont en compétition pour un petit nombre de ressources majeures (lumière, eau, azote...).

La **complémentarité temporelle** peut être caractérisée par un décalage phénologique (périodes de floraison), qui permet un décalage temporel dans l'utilisation des ressources. La complémentarité temporelle contribue, par exemple, à tempérer les pertes d'azote des prairies permanentes tout en maintenant un niveau élevé de ressources en nutriments (Soussana *et al.*, 2004). Nos résultats ont montré trois grands groupes d'espèces (Tableaux 7-1), que l'on peut classer par leur précocité de développement reproductif. Ces différences peuvent permettre une exploitation temporelle plus uniforme des ressources par la communauté.

La **complémentarité spatiale** mène à une exploitation complémentaire de la lumière, et des ressources du sol, soit par la capacité de certaines espèces à exploiter des micro-habitats où les conditions sont moins favorables (Grime, 1998), soit du fait de variations de l'architecture des plantes (e.g. angles foliaire vs. horizontal). La complémentarité des architectures peut augmenter les efficacités d'interception et de conversion du rayonnement par la communauté (Faurie *et al.*, 1996 ; Soussana & Lafarge, 1998).

²⁷ Situation dans laquelle des espèces se chevauchent dans l'utilisation d'une ressource sont très différentes pour l'utilisation d'une autre ressource (Ricklefs & Miller, 2005).

Les graminées peuvent également se différencier beaucoup au niveau de leurs profondeurs d'enracinement et de la plasticité de leurs capacités d'absorption, ce qui autorise des effets importants de complémentarité pour l'absorption des nutriments et de l'eau (Soussana & Lafarge, 1998).

Notre étude en culture pure a permis de mettre en évidence une amplitude de variation importante pour la plupart des traits aériens étudiés. Cette amplitude témoigne d'une diversité fonctionnelle qui contribue à la coexistence de ces espèces dans la prairie permanente et qui facilite une utilisation efficace de ressources comme la lumière.

7.4- Perspectives

Plusieurs perspectives scientifiques s'ouvrent à l'issue de cette thèse. Certaines ont été abordées dans le cadre du même dispositif expérimental. D'autres nécessitent d'autres approches (modélisation, études à l'échelle de la communauté).

Effets de la compétition interspécifique et complémentarité entre espèces

Le dispositif de collection implanté à Theix a permis d'étudier les valeurs des traits et les performances de cinq graminées en mélange binaire avec un compétiteur (cultivar de dactyle). De plus, des mélanges de six graminées natives ont été constitués afin d'étudier les effets de complémentarité entre espèces. Les résultats de ces essais montrent : des valeurs de traits, de productivité et de valeur nutritive (Carrère *et al.*, 2006) des graminées natives qui sont modifiées dans les associations binaires comparées aux cultures pures. Il faut cependant encore évaluer si le classement des espèces est modifié par la compétition interspécifique.

En réanalysant des essais comparant des cultures pures et des mélanges de plusieurs espèces Hector & Loreau (2002) ont proposé une décomposition en deux termes des effets de la diversité spécifique pour la productivité :

- un terme de sélection, qui rend compte de l'augmentation de la production du mélange lorsque les espèces les plus productives sont sélectionnées,
- un terme de complémentarité, qui indique l'augmentation relative de la production ('overyielding') qui peut résulter d'un accroissement de la diversité spécifique.

On peut remarquer qu'en l'absence d'interactions (positives ou négatives) entre espèces, la production d'un mélange s'explique entièrement par l'effet de sélection. Sous cette hypothèse, la production des mélanges de six espèces pourrait être déduite directement de la

production en culture pure, pondérée par les abondances relatives de chaque espèce. Il sera donc intéressant d'analyser ces effets sur le dispositif de collection afin de déterminer le poids relatif de l'effet de sélection et de l'effet de complémentarité, ce qui permettra d'évaluer dans quelle mesure nos résultats de performances à l'échelle d'une population peuvent être extrapolés pour une communauté.

Les traits racinaires

Dans le cas de ce travail de thèse, seulement les traits aériens ont été étudiés. Toutefois, les traits racinaires des graminées ont aussi été analysés sur le même dispositif avec deux objectifs principaux (Picon-Cochard, rapport d'évaluation de l'unité d'agronomie, 2005) :

- (i) faire avancer les connaissances sur les valeurs prises par les traits morphologiques des principales graminées ;
- (ii) déterminer les traits d'effet pour la production aérienne et établir des corrélations avec les traits aériens ;

Nous avons démontré que la prédiction de la productivité par les traits foliaires a été améliorée quand les différences de statut azoté (NNI) entre espèces étaient considérées. Cela suggère l'importance d'une prise en compte des traits racinaires, qui affectent la capacité d'absorption (nutrition azotée) des nutriments et par conséquent la productivité des espèces. Les relations entre les traits racinaires et la production seront établies. Quatre traits racinaires ont été mesurés par Picon-Cochard et Revaillet (voir Revaillet & Picon-Cochard, 2005, pour la méthodologie utilisée) : la densité des tissus ; la longueur par unité de masse ; le diamètre et la concentration en N des racines. Comme les racines sont soumises aux même *trade-off* que les feuilles (Roumet *et al.*, 2006), quelques relations sont attendues entre traits. Par exemple, des traits racinaires qui maximisent l'acquisition des ressources (fortes longueur par unité de masse et forte concentration en azote) pour les espèces compétitrices et des traits racinaires qui maximisent la conservation des ressources et la persistance des racines pour les espèces conservatrices (forte densité des tissus, large diamètre des racines, les deux en favorisent la plus grande longévité des racines, (Ryser, 1996 ; Craine *et al.*, 2001). Les traits racinaires pertinents pour discriminer les stratégies des espèces en relation avec l'acquisition de ressources peuvent être également les discriminer pour la productivité. Cette hypothèse reste cependant à confirmer grâce aux résultats obtenus par Picon-Cochard et Revaillet (équipe FGEP).

Modélisation mécaniste

Les études en cultures pures permettent la construction d'une base de données standardisée de valeurs de traits. La constitution de ces bases de données permet d'envisager l'implémentation de modèles, paramétrés à partir de mesures des traits des espèces.

Le modèle GEMINI (**G**rassland **E**cosystem **M**odel with **I**ndividual centered **I**nteractions) » (Soussana *et al.*, 2000a et b) est en cours de paramétrisation (thèse de Vincent Maire) sur les populations de graminées que nous avons étudiées. Ce modèle permet de simuler la croissance et la morphogénèse d'une ou plusieurs espèces prairiales associées, en calculant explicitement les compétitions pour la lumière et pour l'azote entre populations associées. L'extension du modèle pour inclure la phénologie et la valeur nutritive est en cours. Ce type de modèle mécaniste semble nécessaire pour changer d'échelle de la population à la communauté et évaluer ainsi le rôle des traits à la fois pour la dominance des espèces et pour les performances agronomiques de la communauté.

Modélisation par équations structurales

L'objectif de la modélisation par équations structurales (MES) est de tester statistiquement un modèle prédictif, en analysant le rôle de chaque variable. Ce type d'analyse permet par exemple de quantifier et de prédire la réponse coordonnée d'un ensemble de traits, et donc de comprendre des stratégies fonctionnelles. Par exemple, Vile (2005), a utilisé la MES pour quantifier la notion de stratégie pour des espèces herbacées en phase d'établissement au cours d'une succession post-culturale.

Le modèle semi-mécaniste que nous proposons ci-dessus (équations 6 et 8) pourrait être testé par une approche de modélisation structurale afin d'évaluer son pouvoir de prédiction de la productivité (ANPP) en évaluant le poids des interactions entre variables, ce qui n'est pas possible dans un modèle de régression multiple.

Le rôle des choix des herbivores pour la valeur alimentaire

Enfin, il serait intéressant de compléter les approches que nous avons présentées en ce qui concerne la valeur nutritive par des tests de choix d'herbivores domestiques. Il serait alors possible de déterminer quel niveau d'ingestion est atteint pour chaque espèce et quelles sont

les préférences exprimées par les herbivores en conditions de test, selon les valeurs de composition chimique, la phénologie et les traits de chaque espèce offerte en mélange.

BIBLIOGRAPHIE

- Aarssen L. W. 1997. High productivity in grassland ecosystems: effected by species diversity or productive species? *Oikos* **80**(1): 183-184.
- Aerts R. and Van der Peijl M. 1993. A simple model to explain the dominance of low-productive perennials in nutrient-poor habitats. *Oikos* **66**: 144-147.
- Aerts R. and IIIChapin F. S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of process and patterns. *Advances in Ecological Research* **30**: 1-67.
- Akmal M. and Janssens M. J. J. 2004. Productivity and light use efficiency of perennial ryegrass with contrasting water and nitrogen supplies. *Field Crops Research* **88**: 143-155.
- Al Haj Khaled R., Duru M., Théau J. P., Plantureux S. and Cruz P. 2005. Variations in leaf traits through seasons and N-availability levels and its consequences for ranking grassland species. *Journal of Vegetation Science* **16**: 391-398.
- Al Haj Khaled, R. 2005. *L'évaluation des caractéristiques agronomiques d'espèces prairiales par leurs traits de vie comme préalable à la gestion des communautés à flore complexe*. Thèse. Institut National Polytechnique de Lorraine, 199 p.
- Allard G., Nelson C.J. and Pallardy S.G. 1991. Shade effects on growth of the tall fescue: I. Leaf anatomy and dry matter partitioning. *Crop Science* **31**: 163-167.
- Andrieu, J., Demarquilly C., et Sauvant D. 1988. Tables de la valeur nutritive des aliments. *In Alimentation des bovins, ovins & caprins*, INRA Ed, Paris. 351-443.
- Ansquer P., Theau J. P., Cruz P., Viegas J., Al Haj Khaled R. et Duru M. 2004. Caractérisation de la diversité fonctionnelle des prairies à flore complexe : vers la construction d'outils de gestion. *Fourrages* **179**: 353-368.
- Armstrong R. H., Common T. G. and Smith H. K. 1986. The voluntary intake and *in vivo* digestibility of herbage harvested from indigenous hill plant communities. *Grass Forage Science* **41**: 53-60.
- Arnaud R., Montard F. X. de and Niqueux M. 1978. Influence du mode d'exploitation sur la production d'une prairie permanente en altitude. *Fourrages* **75**: 29-54.
- Aufrère J. and Demarquilly C. 1989. Predicting organic matter digestibility of forage by two pepsin-cellulase methods. *In Proceedings of the 16th International Grassland Congress, Nice, France* **2**: 877-878.
- Bailey D.W. 2005. Identification and creation of optimum habitat conditions for livestock. *Rangeland Ecology and Management* **58**: 109-118.

- Balent G. and Duru M. 1984. Influence des modes d'exploitation sur les caractéristiques et l'évolution des surfaces pastorales. *Agronomie* **4**: 113-124.
- Balent G., Duru M., Gibon A., Magda D. and Théau J. P. 1997. *Les prairies permanentes de milieu océanique et de montagne humide*. Outils de diagnostic agro-écologique et guide pour leur utilisation, Groupe de Recherche Agronomie-SAD INRA Toulouse. 3-51.
- Baumont R., Ginane C., Garcia F. and Carrère P. 2006. How herbivores optimise diet quality and intake in heterogeneous pastures, and consequences on vegetation dynamics, Pastoral systems in marginal environments. In Milne, ed. A satellite meeting of the International Grassland Congress, Glasgow 3-6 July 2006, Wageningen Academic Publisher. 39-50.
- Baumont R., Prache S., Meuret M. and Morand-Fehr P. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livestock Production Science* **64**(1): 15-28.
- Bélangier G., Gastal F. and Lemaire G. 1992. Growth analysis of a tall fescue sward fertilized with different rates of nitrogen. *Crop Science* **32**: 1371-1376.
- Belesky D.P., Feldhake C.M. and Boyer D.G. 2002. Forage and pasture management. Herbage productivity and botanical composition of hill pasture as a function of clipping and site features. *Agronomy Journal* **94**: 351-358.
- Béranger C. 1992. Systèmes extensifs et extensification. Problèmes généraux. In Fourrages, N° hors-série "L'extensification en production fourragère". 9-14.
- Berendse F., and Aerts R. 1987. Nitrogen-use efficiency: a biologically meaningful definition? *Functional Ecology* **1**: 293-296.
- Berendse F. and Elberse W.T. 1989. Competition and nutrient losses from the plant. In Lambers H., Konings H., Cambridge M. L. and Pons T. L. eds. *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. The Hague, Netherlands: SPB Academic Publishing, 269-284.
- Binnie R.C. and Chestnutt D.M.B. 1991. Effect of regrowth interval on the productivity of swards defoliated by cutting and grazing. *Grass and Forage Science* **46**: 343-350.
- Bircham J.S. 1981. *Herbage growth and utilisation under continuous stocking management*. Ph.D. Thesis, University of Edinburg, 300 p.
- Bissels S., Donath T.W., Hölzel N. and Otte A. 2006. Effects of different mowing regimes on seedling recruitment. *Alluvial Grasslands Basic and Applied Ecology*, in press.
- Bonhomme R. 1993. The solar radiation: characterization and distribution in the canopy. In Varlet-Grancher C., Bonhomme R. and Sinoquet H. eds. *Crop structure and light microclimate. Characterization and applications*. INRA Editions, Paris. p.17-28.

- Booij R., Kreuzer A.D.H., Smit A.L. and van der Werf A. 1996. Effect of nitrogen availability on dry matter production, nitrogen uptake and light interception of Brussels sprouts and leeks. *Netherlands Journal of Agricultural Science* **44**(1): 3-19.
- Boval M., Cruz P., Ledet J.E., Coppry O. and Archimede H. 2002. Effect of nitrogen on intake and digestibility of a tropical grass grazed by Creole heifers. *Journal of Agricultural Science* **138**, 73-84.
- Briemle G. 1997. Zur Anwendbarkeit ökologischer Wertzahlen im Grünland. *Angewandte Botanik* **71**, 219-228.
- Briske D. 1996. Strategies of plant survival in grazed systems: a functional interpretation. 37-67. In J. Hodgson, A. W. Illius, eds. *The ecology and management of grazing systems*. Wallingford, CAB International, 37-67.
- Bruinenberg M.H., Valk H., Korevaar H. and Struik P.C. 2002. Factors affecting digestibility of temperate forages from semi-natural grasslands: a review. *Grass and Forage Science* **57**, 292-301.
- Buxton D.R. and Marten G.C. 1989. Forage quality of plant parts of perennial grasses and relationship to phenology. *Crop Science* **29**: 429-435.
- Buxton D.R. and Fales S.L. 1994. Plant environment and quality. In : G.C. Fahey, Collins M., Mertens D.R. and Moser L.E. Editors. *Forage quality, evaluation and utilisation*. Madison, WI: American Society of Agronomy, p.155-199.
- Carlen C., Kölliker R., Reidy B., Lüscher A. and Nösberger J. 2002. Effect of season and cutting frequency on root and shoot competition between *Festuca pratensis* and *Dactylis glomerata*. *Grass and Forage Science* **57**: 247-254.
- Carrère P., Louault F., and Soussana J.F. 1997. Tissue turnover within grass-clover mixed sward grazed by sheep. Methodology for calculating growth, senescence and intake fluxes. *Journal of Applied Ecology* **34**: 333-348.
- Carrère P., Dumont B., Cordonnier S., Orth D., Teyssonneyre F. et Pettit M. 2002. L'exploitation des prairies de montagne peut-elle concilier biodiversité et production fourragère ? In Actes du colloque INRA-ENITA, 14 et 15 Novembre 2002, Agriculture et produits alimentaires de montagne, ENITAC, Lempdes, France. Collection Actes, **8**: 41-46.
- Carrère P., Pontes L.S., Fabre P., Andueza D., Louault F. and Soussana J.F. 2006. The interspecific plant competition affects the production and the nutritive value of grassland species. In Lloveras J., Gonzalez-Rodriguez A., Vazquez-Yañez O., Piñeiro J., Santamaria

- O., Olea L. and Poblaciones M.J. eds. Proceedings 21th EGF, 03-06 April 2006. Grassland Science in Europe 11: 544-546.
- Carvalho P.C.F., Ribeiro Filho H.M.N., Poli, C.H.E.C. *et al.* 2001. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. *In* Mattos W.R.S. ed. *A produção animal na visão dos brasileiros*. Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, **Anais....** Piracicaba, 2001, v. 1, p. 853-871.
- Cerqueira E.D., Saenz A.M. and Rabotnikof C.M. 2004. Seasonal nutritive value of native grasses of Argentine Calden Forest Range. *Journal of Arid Environments* **59**: 645-656.
- Chapin F.S.III. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review in Ecology and Systematic* **11**: 233-260.
- Chaves A.V., Waghorn G.C., Brookes I.M. and Woodfield D.R. 2006. Effect of maturation and initial harvest dates on the nutritive characteristics of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Animal Feed Science and Technology* **127**: 293-318.
- Christensen D.W., Stuthman D. and Hovin A.W. 1984. Associations among morphological and digestibility characters in reed canary grass. *Crop Science* **24**: 675-678.
- Cingolani A.M., Posse G. and Collantes M.B. 2005. Plant functional traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonian steppe grasslands. *Journal of Applied Ecology* **42**: 50-59.
- Coleman S.W. and Moore J.E. 2003. Feed quality and animal performance. *Field Crops Research* **84**:17-29.
- Collins R.P. and Rhodes I. 1995. Stolon characteristics related to winter survival in white clover. *Journal of Agricultural Science* **124**:11-16.
- Cornelissen J.H.C. and Thompson K. 1997. Functional leaf attributes predict litter decomposition rate in herbaceous plants. *New Phytologist* **135**: 109-114.
- Cornelissen J.H.C., Perez-Harguindeguy N., Diaz S., Grime J., Marzano B., Cabido M., Vendramini F. and Cerabolini B. 1999. Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents. *New Phytologist* **143**: 191-200.
- Cornelissen J.H.C., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D.E., Reich P.B., Steege H.T., Morgan H.D., van der Heijden M.G.A., Pausas J.G. and Poorter H. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurements of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **51**: 335-380.
- Craine J.M., Berin D.M., Reich P.B. and Tilman D.G. 1999. Measurement of leaf longevity of 14 species of grasses and forbs using a novel approach. *New Phytologist* **142**: 475-481.

- Craine J.M., Froehle J., Tilman D.G., Wedin D.A. and Chapin F.S. 2001. The relationships among root and leaf traits of 76 grassland species and relative abundance along fertility and disturbance gradients. *Oikos* **93**(2): 274-285.
- Craine J.M., Tilman D., Wedin D., Reich P., Tjoelker M. and Knops J. 2002. Functional traits, productivity and effects on nitrogen cycling of 33 grassland species. *Functional Ecology* **16**: 563-574.
- Craine J.M. 2005. Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *Journal of Ecology* **93**(6): 1041-1052.
- Cruz P., Duru M., Théron O., Théau J. P., Ducourtioux C., Jouany C., Al Haj Khaled R. et Ansquer P. 2002. Une nouvelle approche pour caractériser les prairies naturelles et leur valeur d'usage. *Fourrages* **172**: 335-354.
- D'Angelo G.H., Postulka E.B. and Ferrari L. 2005. Infrequent and intense defoliation benefits dry-matter accumulation and persistence of clipped *Arrhenatherum elatius*. *Grass Forage Science* **60**: 17-24.
- Dagnélie P. 1986. *Théorie et méthodes statistiques. Volume II Les méthodes de l'inférence statistique*, 2nd edition. Gembloux, Belgique: Les Presses Agronomiques de Gembloux. 463 p.
- Davis T.H. and Riley J. 1992. Reseeding in the Falkland Islands. Herbage production of a range of grass species and cultivars. *Grass Forage Science* **47**: 62-69.
- Deinum B. 1984. Chemical composition and nutritive value of herbage in relation to climate. In Riley H., and Skjilvag A.O., eds. *The impact of climate on grass production and quality. Proceedings...* p.338-350.
- Delegarde R., Peyraud J.L., Delaby L. and Faverdin P. 2000. Vertical distribution of biomass, chemical composition and pepsin-cellulase digestibility in a perennial ryegrass sward: interaction with month of year, regrowth age and time of day. *Animal Feed Science and Technology* **84**: 49-68.
- Demarquilly C. 1982. Influence des facteurs climatiques sur la composition et la valeur nutritive de l'herbe. Actions du climat sur l'animal au pâturage. Ed. INRA Publ., Theix. 15p.
- Demarquilly C. and Andrieu J. 1988. Les fourrages. In *Alimentation des bovins, ovins et caprins*, INRA Edition, Paris. p.315-335.
- Demarquilly C., Chenost M. and Giger S. 1995. Pertes fécales et digestibilité des aliments et des rations. In R. Jarrige, Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M. H. Farce, and M. Journet, eds. *Nutrition des Ruminants Domestiques*, Versailles: INRA Publications 602-647.

- Demarquilly C. 1970. Influence de la fertilisation azotée sur la valeur alimentaire des fourrages verts. *Annales de Zootechnie* **19**: 423-437.
- Dewar R.C. 1996. The correlation between plant growth and intercepted radiation: An interpretation in terms of optimal plant nitrogen content. *Annals of Botany* **78** (1): 125-136.
- Diaz S., Noy-Meir I. and Cabido M. 2001. Can grazing response of herbaceous plants be predicted from simple vegetative traits? *Journal of Applied Ecology* **38**: 497-508.
- Diaz S. and Cabido M. 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* **16**(11): 646-655.
- Diaz S., Hodgson J.G., Thompson K., Cabido M., Cornelissen J.H.C., Jalili A., Montserrat-Marti G., Grime J.P., Zarrinkamar F., Asri Y., Band S. R., Basconcelo S., Castro-Diez P., Funes G., Hamzehee B., Khoshnevi M., Pérez-Harguindeguy N., Perz-Rontomé M.C., Shirvany F.A., Vendramini F., Yazdani S., Abbas-Azimi R., Boggard A., Boustani S., Charles M., Dehghan M., Torres-Espuny L. de, Falczuk V., Guerrero-Campo J., Hynd A., Jones G., Kowsarry E., Kazemi-Saeed F., Maestro-Martinez M., Romo-Diez A., Shaw S., Siavash B., Villar-Salvador P. and Zak M. R. 2004. The plant traits that drive ecosystems: evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science* **15**: 295-304.
- Dumont B., Carrère P. and D'Hour P. 2002. Foraging in patchy grasslands: diet selection by sheep and cattle is affected by the abundance and spatial distribution of preferred species. *Animal Research* **51**: 367-381.
- Duru M. 1992. Diagnostic de la nutrition minérale de prairies permanentes de printemps. Etablissement de références. *Agronomie* **12**: 219-233.
- Duru M. 1994. Mineral nutritional status and botanical composition of pastures. II. Effects on nitrogen concentration and digestibility of herbage. *European Journal of Agronomy* **3**: 125-133.
- Duru M., Calvière I. et Tirilly V. 1995. Evolution de la digestibilité in vitro du dactyle et de la fétuque élevée au printemps. *Fourrages* **141**: 63-74.
- Duru M. and Calvière I. 1996. Effects of phosphorus and nitrogen nutrition status and of botanical composition of permanent pastures on their growth in spring. *Agronomie* **16**: 201-268.
- Duru M. and Ducrocq H. 1997. A nitrogen and phosphorus herbage nutrient index as a tool for assessing the effect of N and P supply on the dry matter yield of permanent pastures. *Nutrient cycling in Agroecosystems* **47**: 56-69.
- Duru M., Balent G., Gibon A., Magda D., Théau J.P., Cruz P. et Jouany C. 1998.

- Fonctionnement et dynamique des prairies permanentes. Exemple des Pyrénées Centrales. *Fourrages* **153**: 97-113.
- Duru M., Feuillerac E. and Ducrocq H. 1999. In vitro digestibility response of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) to growth and defoliation: a simple model. *Journal of agricultural Science* **133**: 379-388.
- Duru M., Delprat V., Fabre C. and Feuillerac E. 2000. Effect of nitrogen fertiliser supply and winter cutting on morphological composition and herbage digestibility of a *Dactylis glomerata* L. sward in spring. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**: 33-42.
- Duru M. and Ducrocq H. 2002. A model of lamina digestibility of orchard grass as influenced by nitrogen and defoliation. *Crop Science* **42**, 214-223.
- Duru M. and Hubert B. 2003. Management of grazing systems: from decision and biophysical models to principles for action. *Agronomie* **23**: 689-703.
- Duru M., Cruz P. and Magda D. 2004. Using plant traits to compare sward structure and composition of grass species across environmental gradients. *Applied Vegetation Science* **7**: 11-18.
- Dyer A.R., Goldberg D.E., Turkington R. and Sayre C. 2001. Effects of growing conditions and source habitat on plant traits and functional group definition. *Functional Ecology* **15**: 85-95.
- Elberse W.T. and Berendse F. 1993. A comparative study of the growth and morphology of 8 grass species from habitats with different nutrient availabilities. *Functional Ecology* **7**(2): 223-229.
- Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W. and Pauliben D. 1992. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica* **18**: 1-258.
- Evans J.R. and Poorter H. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment* **24**: 755-767.
- Eviner V.T. and Chapin F.S.III. 2003. Functional matrix: a conceptual framework for predicting multiple plant effects on ecosystem processes. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics* **34**: 455-485.
- Farruggia A., Gastal F. and Scholefield D. 2004. Assessment of the nitrogen status of grassland. *Grass and Forage Science* **59**: 113-120.
- Faurie O., Soussana J.F. and Sinoquet H. 1996. Radiation interception, partitioning and use in grass-clover mixtures. *Annals of Botany* **77** : 35-45.

- Ferraro D.O. and Oosterheld M. 2002. Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos* **98**: 125-133.
- Fleury P. 1994. *Le diagnostic agronomique des végétations prairiales et son utilisation dans la gestion des exploitations agricoles. Méthodes et applications dans les Alpes du Nord*. Thèse. INP de Lorraine. 139p.
- Ford C.W., Morrison I.M. and Wilson J.R. 1979. Temperature effects on lignin, hemicellulose and cellulose in tropical and temperate grasses. *Australian Journal Agricultural Research* **30**: 621-633.
- Frame J. 1991. Herbage production and quality of a range of secondary grass species at five rates of fertilizer nitrogen application. *Grass and Forage Science* **46**, 139-151.
- Franklin O. and Agren G.I. 2002. Leaf senescence and resorption as mechanisms of maximizing photosynthetic production during canopy development at N limitation. *Functional Ecology* **16**: 727-733.
- Fulkerson W. J. and Slack K. 2003. Effect of defoliation height and redefoliation interval on regrowth and survival of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in subtropical dairy pastures. *Australian Journal of Experimental Agriculture* **43**, 121-125.
- Garcia F., Carrère P., Soussana J. F. and Baumont R. 2002. Selective defoliation has a major influence on heterogeneity development in swards extensively grazed by sheep. In Durand J.L., Emile J.C., Huyghe Ch. And Lemaire G. eds. *Multi-function grasslands, quality forages, animal products and landscapes*. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, France, 2002. p. 248-249.
- Garcia .F, Carrère P., Soussana J. F. and Baumont R. 2003. How do severity and frequency of grazing affect sward characteristics and the choices of sheep during the grazing season? *Grass and Forage Science* **58**: 138-150.
- Durand J.L., Emile J.C., Huyghe C. and Lemaire G. 2002. *Multi-Function Grasslands, Quality Forages, Animal Products and Landscapes*. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, France, 2002. 248-249.
- Garnier E. 1992. Growth analysis of congeneric annual and perennial grass species. *Journal of Ecology* **80**: 665-675.
- Garnier E., Shipley B., Roumet C. and Laurent G. 2001a. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* **15**: 688-695.

- Garnier E., Laurent G., Bellmann A., Debain S., Berthelie P., Ducout B., Roumet C. and Navas M.L. 2001b. Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *New Phytologist* **152**: 69-83.
- Garnier E., Cortez J., Billes G., Navas M.L., Roumet C., Debussche M., Laurent G., Blanchard A., Aubry D., Bellmann A., Neill C. and Toussaint J. P. 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637.
- Gastal F. and Nelson C. J. 1994. Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. *Plant Physiology* **105**: 191-197.
- Gaucherand S. 2005. *Effets des pratiques pastorales sur la biodiversité et sa dynamique dans les pelouses des Alpes du Nord*. Thèse. ENSA, Montpellier. 109p.
- Geves. 2004. Expérimentation CTPS. Classement des variétés de plantes fourragères inscrites en liste A sur le catalogue officiel français: Précocité des graminées fourragères, dormances de luzerne et types de trèfle blanc. <http://www.geves.fr/>.
- Gillet M. 1980. *Les graminées fourragères*. Bordas, Paris 306 p.
- Gitay H. and Noble I.R. 1997. What are plant functional types and how should we seek them? In T.M. Smith, H.H. Shugart, F.I. Woodward, eds. *Plant Functional types*, Cambridge University Press: Cambridge, 3-19.
- Gosse G., Varlet-Grancher C., Bonhomme R., Chartier M., Allirand J.M. et Lemaire G. 1986. Production maximale de matière sèche et rayonnement solaire intercepté par un couvert végétal. *Agronomie* **6**: 47-56.
- Grime J.P. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* **111**: 1169-1194.
- Grime J.P. 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. Bath, UK: John Wiley and Sons.
- Grime J.P., Hodgson J.G. and Hunt R. 1988. *Comparative plant ecology: a functional approach to common British species*. Unwin Hyman, London.
- Grime J.P. 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* **86**: 902-910.
- Grime J.P. 2001. *Plant strategies, vegetation processes and ecosystem properties*. Second edition. John Wiley and Sons, Chichester.
- Groot J.C.J. and Neuteboon J.H. 1997. Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **75**: 227-236.
- Guérin H. 1999. Valeur alimentaire des fourrages cultivés. In Roberge G., and Toutain B.,

- eds. *Cultures fourragères tropicales*. Collection Repères, CIRAD, Montpellier, France. 93-141.
- Guinochet M. 1970. Clé des classes, ordres et alliances phytosociologiques de la France. *Naturalia. Monspel. Sér. Bot.* **21**:79-119.
- Gutschick V.P. 1999. Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. *New Phytologist* **143**: 3-18.
- Haggar R.J. 1976. The seasonal productivity, quality and response to nitrogen of four indigenous grasses compared with *Lolium perenne*. *Journal of the British Grassland Society* **31**: 197-207.
- Halim R.A., Buxton D.R., Hattendorf M.J. and Carlson R.E. 1989. Water-stress effects on alfalfa forage quality after adjustment for maturity differences. *Agronomy Journal* **81**: 189-194.
- Herben T. and Huber-Sannwald E. 2002. Effect of management on species richness of grasslands: sward-scale processes lead to large-scale patterns. *In Proceedings 19th EGF, 27-30 may 2002, Grassland Science in Europe* **7**: 635-643.
- Hervieu B. 2002. Multi-functionality: a conceptual framework for a new organisation of research and development on grassland and livestock systems. *In Proceedings 19th EGF, 27-30 may 2002. Grassland Science in Europe* **7**: 1-2.
- Hodgson J.G., Wilson P.J., Hunt R., Grime J.P. and Thompson K. 1999. Allocating C-S-R plant functional types: a soft approach to a hard problem. *Oikos* **85**: 282-294.
- Hume D.E. 1991. Effect of cutting on production and tillering in prairie grass (*Bromus willdenowii* K.) compared with 2 ryegrasses (*Lolium*) species. 1. Vegetative Plants. *Annals of Botany* **67**(6): 533-541.
- Hunt R. and Cornelissen J.H.C. 1997. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. *New Phytologist* **135**(3): 395-417.
- Jarrige R. 1988. Ingestion et digestion des aliments. In : *Alimentation des bovins, ovins & caprins*, INRA Edition, Paris. 29-56.
- Jeangros B. 1993. Prairies permanentes en montagne I. Effets de la fréquence des coupes et de la fertilisation azotée sur la composition botanique. *Revue Suisse d'Agriculture* **25**: 345-360.
- Jeangros B., Aeby P., Ravenel L. et Troxler J. 1994. Prairies permanentes en montagne. II. Effets de la fréquence des coupes et de la fertilisation azotée sur le rendement en matière sèche. *Revue Suisse d'Agriculture* **26** (6): 367-372.
- Jeangros B. et Scephovic J. 1996. Prairies permanentes en montagne III. Effets de la fréquence

- des coupes et de la fertilisation azotée sur la qualité du fourrage. *Revue Suisse d'Agriculture* **28**: 213-221.
- Jeannin B., Garel J.P., Louyot J., De Montard F.X. et Petit M. 1979. Production et utilisation rationnelle des pâturages d'altitude dans les montagnes humides du massif central. *In Utilisation par les ruminants des pâturages d'altitude et des parcours méditerranéens*. X^{ème} Journées Grenier de Theix, INRA Edition, 137-155.
- Kallenbach R.L., Bishop-hurley G.J., Massie M.D., Rottinghaus G.E. and West C. P. 2003. Herbage mass, nutritive value and ergovaline concentration of stockpiled tall fescue. *Crop Science* **43**: 1001-1005.
- Kätterer T., Andrén O. and Pettersson R. 1998. Growth and nitrogen dynamics of reed canary grass (*Phalaris arundinacea* L.) subjected to daily fertilization and irrigation in the field. *Field Crops Research* **55**: 153-164.
- Kempton R.A. 1984. The use of biplots in interpreting variety by environment interactions. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* **103**: 123-135.
- Kirkham F.W. and Wilkins R.J. 1994. The productivity and response to inorganic fertilizers of species-rich wetland hay meadows on the Somerset Moors: the effect of nitrogen, phosphorus and potassium on herbage production. *Grass and Forage Science* **49**: 163-175.
- Klimes L., Klimesova J., Hendriks R. and Gronendael J.V. 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. *In* Kroon H., Groenendael J.V., eds. *The ecology and evolution of clonal plants*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers, 1-29.
- Kramberger B., and Gselman A. 2000. Changes in productivity and botanical composition of semi-natural grassland as a consequence of cutting frequency. *Rostlinna Vyroba* **46** (7): 325-330.
- Kristensen E.S. 1988. Influence of defoliation regime on herbage production and characteristics of intake by dairy cows as affected by grazing intensity. *Grass and Forage Science* **43**: 239-251.
- Lambers H. and Poorter H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: A search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* **23**: 187-261.
- Lantinga E.A., Duru M. and Groot J.C.J. 2002. Dynamics of plant architecture at sward level and consequences for grass digestibility: modelling approaches. *In* Proceedings of the 19th EGF meeting, Grassland Science in Europe **7**: 45-55.

- Lavorel S., McIntyre S., Landsberg J. and Forbes T.D.A. 1997. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution* **12**(12): 474-478.
- Lavorel S. and Garnier E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* **16**: 545-556.
- Lavorel S., Quétier F., Gaucherand S. and Choler P. 2004. Apports des traits fonctionnels végétaux pour l'évaluation écologique des trajectoires de gestion en milieux prairiaux. *Fourrages* **178**: 179-191.
- Lavorel S., Diaz S., Hans J., Cornelissen J. H. C., Garnier E., Harrison S. P., McIntyre S., Pausas J. G., Pérez-Harguindeguy N., Roumet C. and Urcelay C. 2005. Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? In J. Canadell, L. F. Pitelka, and D. Pataki, eds. *Terrestrial Ecosystems in a changing world*. IGBP book series. Springer-Verlag, in press.
- Lazenby A. 1988. The grass crop in perspective: selection, plant performance and animal production. In M.B. Jones, and A. Lazenby, eds. *The grass crop*. Sufflok: St Edmundsbury Press 311-360.
- Leafé E. L. 1988. Introduction - The history of improved grasslands. In M. B. Jones, and A. Lazenby, eds. *The Grass Crop*, Chapman and Hall, UK, London, 1-23.
- Lemaire G. and Salette J. 1984. Relation entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères. I. Etude de l'effet du milieu. *Agronomie* **4**: 423-430.
- Lemaire G. and Salette J. 1981. Conséquences du rythme de croissance de l'herbe sur la conduite du pâturage au printemps. Possibilités de prévisions. *Fourrages* **85**: 23-37.
- Lemaire G., Durand J.L. and Lila M. 1989a. Effect of water deficit on the quality of Lucerne (*Medicago sativa* L.). Proceedings XVIth International Grassland Congress, Nice, France, 839-840.
- Lemaire G., Gastal F. and Salette J. 1989b. Analysis of the effect of N nutrition on the dry matter yield of a sward by reference to potential yield and optimum N content. In Hentgen, A. ed. XVI International Grassland Congress, Nice, France. p.179-180.
- Lemaire G. and Chapman D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. In J. Hodgson, and A. W. Illius, eds. *The ecology and management of grazing systems*. Wallingford, CAB International, 3-36.
- Lemaire G. and Gastal F. 1997. N uptake and distribution in plant canopies. In G. Lemaire, ed. *Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops*, Heidelberg: Springer-Verlag, 3-43.

- Lemaire G., Agnusdei M. 1999. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilisation. *In* Moraes A., Nabinger C., Carvalho P.C.F., Alves S.J. and Lustosa S.B.C., eds. *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. Curitiba, Brasil: Imprensa da Universidade Federal do Parana, 165-186.
- Lemaire G., Wilkins R. and Hodgson J. 2005. Challenges for grassland science: managing research priorities. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **108**: 99-108.
- Loiseau P., Louault F. et L'Homme G. 1998. Gestion des écosystèmes pâturés en situations extensives : apports de l'écologie fonctionnelle et perspectives de recherches appliquées en moyenne montagne humide. *Annales de Zootechnie* **47**: 395-406.
- Loiseau P., Alvarez G., Martin C. et Duparque A. 2002. Fonctionnement de l'écosystème prairial et environnement : le rôle des cycles biogéochimiques. *In* Actes du colloque INRA-ENITA, 14 et 15 Novembre 2002, Agriculture et produits alimentaires de montagne, ENITAC, Lempdes, France. Collection Actes, **8**: 47-51.
- Loiseau P., Louault F., Le Roux X. and Bardy M. 2005. Does extensification of rich grasslands alter the C and N cycles, directly or via species composition? *Basic and Applied Ecology* **6**: 275-287.
- Loreau M., Naeem S., Inchausti P., Bengtsson J., Grime J.P., Hector A., Hooper D.U., Huston M.A., Raffaelli D., Schmid B., Tilman D. and Wardle D.A. 2001. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current knowledge and future challenges. *Science* **294**: 804-808.
- Lötscher M, Stroh K, Schnyder H. 2003. Vertical leaf nitrogen distribution in relation to nitrogen status in grassland plants. *Annals of Botany* **92**: 679-688.
- Louault F., Michalet-Doreau B., Petit M. and Soussana J.F. 2002. Potentialités des prairies permanentes de montagne pour la production fourragère et la gestion de l'espace. *In* Actes du colloque INRA-ENITA, 14 et 15 Novembre 2002, Agriculture et produits alimentaires de montagne, ENITAC, Lempdes, France. Collection Actes, **8**: 33-39.
- Louault F., Pillar V.D., Aufrère J., Garnier E. and Soussana J.F.. 2005. Plant traits functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *Journal of Vegetation Science* **16**: 151-160.
- Marriott C.A. and Carrère P. 1998. Structure and dynamics of grazed vegetation. *Annales de Zootechnie* **47**: 359-369.
- Marriott C.A., Barthram G.T., Bolton G.R. 1999. Seasonal dynamics of leaf extension and losses to senescence and herbivory in extensively managed sown ryegrass-white clover swards. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* **132**: 77-89.

- Marriott C.A., Fothergill M., Jeangros B., Scotton M. and Louault F. 2004. Long-term impacts of extensification of grassland management on biodiversity and productivity in upland areas. A review. *Agronomie* **24**: 447-462.
- Mazzanti A., Lemaire G. and Gastal F. 1994. The effect of nitrogen fertilization upon the herbage production of tall fescue swards continuously grazed with sheep. 1. Herbage growth dynamics. *Grass and Forage Science* **49**: 111-120.
- McIntyre S., Lavorel S., Landsberg J. and Forbes T.D.A. 1999. Disturbance response in vegetation towards a global perspective on functional traits. *Journal of Vegetation Science* **10**(5): 621-630.
- McNaughton S.J. 1977. Diversity and stability of ecological communities: a comment on the role of empiricism in ecology. *American Naturalist* **111**: 515-525.
- Mikhailova E.A., Bryant R.B., Cherney D.J.R., Post C.J. and Vassenev I.I. 2000. Botanical composition, soil and forage quality under different management regimes in Russian grasslands. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **80**: 213-226.
- Miller S.M. and Thompson R.P. 2005. Seasonal patterns of diet composition, herbage intake and digestibility identify limitations to performance of weaner sheep grazing native pasture in the Falkland Islands. *Grass and Forage Science* **60**: 356-366.
- Milne J. 2004. Forage plant characteristics: how to meet animal requirements. Proceedings of the 19th EGF meeting, *Grassland Science in Europe*, **7**: 31-43.
- Moles A.T. and Westoby M. 2000. Do small leaves expand faster than large leaves, and do shorter expansion times reduce herbivore damage? *Oikos* **90**: 517-524.
- Monteith J.L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. *Phil. Trans. R. Soc. Lond., B.*, **281**: 277-294.
- Morrison I. M. 1980. Changes in the lignin and hemicellulose concentrations of ten varieties of temperate grasses with increasing maturity. *Grass and Forage Science* **35**: 287-293.
- Mould F.L. 2003. Predicting feed quality – chemical analysis and in vitro evaluation. *Field Crops Research* **84**: 31-44.
- Nevens F. and Rehuel D. 2003. Effects of cutting or grazing grass swards on herbage yield, nitrogen uptake and residual soil nitrate at different levels of N fertilization. *Grass and Forage Science* **58**: 431-449.
- Niemann G.J., Pureveen J.B.M., Eijkel G.G., Poorter H. and Boon J.J. 1992. Differences in relative growth rate in 11 grasses correlate with differences in chemical composition as determined by pyrolysis mass spectrometry. *Oecologia* **89**(4): 567-573.
- Niemeläinen O., Jauhiainen L. and Miettinen E. 2001. Yield profile of tall fescue (*Festua*

- arundinacea*) in comparison with meadow fescue (*F. pratensis*) in Finland. *Grass and Forage Science* **56**: 249-258.
- Niinemets U. 1999. Components of leaf dry mass per area – thickness and density – alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytologist* **144**: 35-47.
- Niklas K.J. 1994. *Plant allometry. The scaling of form and process*. First Edition, Chicago, USA: The University of Chicago Press. p.395.
- Niklas K.J. 2006. Plant allometry, leaf nitrogen and phosphorus stoichiometry, and interspecific trends in annual growth rates. *Annals of Botany* **97**: 155-163.
- Nösberger J. and Staszewski Z. 2002. Overview of the changes in research on grasslands in Europe. In : Procc 19th EGF, 27-30 may 2002. *Grassland Science in Europe* **7**: 17-27.
- Paine L.K., Undersander D. and Casler M.D. 1999. Pasture growth, production and quality under rotational and continuous grazing management. *Journal of Production Agriculture* **12**: 569-577.
- Park R.S., Agnew R.E., Gordon F.J. and Steen R.W.J. 1998. The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Animal Feed Science Technology* **72**: 155-167.
- Parsons A.J., Jonhson I.R. and Williams J.H.H. 1988. Leaf age structure and canopy photosynthesis in rotationally and continuously grazed sward. *Grass and Forage Science* **43**: 1-14.
- Parsons A.J., Carrère P. and Schwinning S. 2000. Dynamics of heterogeneity in a grazed sward. In G. Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, P. C. F. Carvalho and C. Nabinger, eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*, CAB International. p.289-316.
- Peco B., Sanchez A.M. and Azcarate F.M. 2006. Abandonment in grazing systems: consequences for vegetation and soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **113**: 284-294.
- Peeters A. 2004. *Wild and sown grasses. Profiles of a temperate species selection: ecology, biodiversity and use*. Rome: FAO and Blackwell Publishing. 311 p.
- Pérez-Harguindeguy N., Diaz S., Vendramini F., Cornelissen J.H.C., Gurvich D.E. and Cabido M. 2003. Leaf traits and herbivore selection in the field and in cafeteria experiments. *Australian Ecology* **28**: 642-650.
- Pickup M., Westoby M. and Basden A. 2005. Dry mass costs of deploying leaf area in relation to leaf size. *Functional Ecology* **19**: 88-97.

- Poorter H. and Remkes C. 1990. Leaf area ratio and net assimilation rate of 24 wild species differing in relative growth rate. *Oecologia* **83**: 553-559.
- Poorter H. and Jong R. 1999. A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* **143**: 163-176.
- Pywell R.F., Bullock J.M., Roy D.B., Warman L., Walker K.J. and Rothery P. 2003. Plant traits as predictors of performance in ecological restoration. *Journal of Applied Ecology* **40**: 65-77.
- Raunkiaer C. 1934. *The life form of plants and statistical plant geography*. Oxford University press.
- Rawnsley R.P., Donaghy D.J., Fulkerson W.J. and Lane P.A. 2002. Changes in the physiology and feed quality of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) during regrowth. *Grass and Forage Science* **57**: 203-211.
- Reich P.B., Walters M.B. and Ellsworth D.S. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* **62** (3): 365-392.
- Reich P.B., Walters M.B. and Ellsworth D.S. 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proc. of the National Academy of Science* **94**: 13730-13734.
- Reich P.B., Ellsworth D.S. and Walters M.B. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis-nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology* **12**: 948-958.
- Revaillet S. et Picon-Cochard C. 2005. Méthodes de numérisation et d'analyse d'images de racines de graminées prairiales. *Cah. Tech. INRA* **55** : 33-44.
- Ricklefs R.E. and Miller G.L. 2005. *Ecologie*. 4ème édition, traduction, De Boeck Université Edition, Bruxelles, 821 p.
- Roumet C., Urcelay C. and Diaz S. 2006. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist* **170**: 357-368.
- Rusch G.M. and Oesterheld M. 1997. Relationship between productivity, and species and functional group diversity in grazed and non-grazed Pampas grasslands. *Oikos* **78**: 519-526.
- Ryser P. and Lambers H. 1995. Root and leaf attributes accounting for the performance of fast- and slow-growing grasses at different nutrient supply. *Plant and Soil* **170**: 251-265.

- Ryser P. 1996. The importance of tissue density for growth and life span of leaves and roots: a comparison of five ecologically contrasting grasses. *Functional Ecology* **10**: 717-723.
- Ryser P. and Urbas P. 2000. Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos* **91**, 41-50.
- Salette J. 1982. The role of fertilizers in improving herbage quality and optimization of its utilization. In Optimizing yields – The role of fertilizers. *In Proceedings of 12th Congress International Potash Institute Bern*. p.117-144.
- Santis G.D., Ianucci A., Dantone D. and Chiaravalle E. 2004. Changes during growth in the nutritive value of components of berseen clover (*Trifolium alexandrinum* L.) under different cutting treatments in a Mediterranean region. *Grass and Forage Science* **59**: 378-388.
- SAS Institute. 1999. SAS/Stat, version 8, SAS Institute, Cary, NC.
- Sauvant D. 1988. La composition et l'analyse des aliments *In Alimentation des bovins, ovins et caprins*, INRA Edition, Paris. p.305-314.
- Schut A.G.T. and Ketelaars J.J.M.H. 2003. Assessment of seasonal dry-matter yield and quality of grass swards with imaging spectroscopy. *Grass and Forage Science* **58**: 385-396.
- Seoane J.R., Beaulieu C., Florez J. and Dupuis G. 1991. Evaluation of the nutritive value of grass hays for growing sheep. *Canadian Journal of Animal Science* **71**(4): 1135-1147.
- Shenk J.S. and Westerhaus M.O. 1991. Population definition, sample selection, calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* **31**, 469-474.
- Shipley B. 2002. Trade-offs between net assimilation rate and specific leaf area in determining relative growth rate: relationship with daily irradiance. *Functional Ecology* **16**: 682-689.
- Shipley B., Vile D., Garnier E., Wright I.J. and Poorter H. 2005. Functional linkages between leaf traits and net photosynthetic rate: reconciling empirical and mechanistic models. *Functional Ecology* **19**: 602-615.
- Shugart H.H. 1997. Plant and ecosystem functional types. *In Smith T.M., Shugart H.H. and F. Woodward I., eds. Plant functional types. Their relevance to ecosystem properties and Global changes*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 20-43.
- Sinclair T.R. and Horie T. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A review. *Crop Science* **29**: 90-98.
- Sinnaeve G., Dardenne P. And Agneessens R. 1994. Global or local? A choice for NIR calibrations in analyses of forage quality. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **2**: 163-

175.

- Sinoquet H. and Cruz P. 1993. Analysis of light interception and use in pure and mixed stands of *Digitaria decumbens* and *Arachis pintoi*. *Acta Oecologica* **14** (3): 327-339.
- Smethan M.L. 1990. Pasture Management. In *Pastures, their ecology and management*. R.H.M. Langer, ed. Auckland: Oxford University Press. 197-240.
- Smit H.J., Tas B.M., Taweel H.Z. and Tamminga S. 2005. Effects of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars on herbage production, nutritional quality and herbage intake of grazing dairy cows. *Grass and Forage Science* **60**: 297-309.
- Smith T.M., Shugart H.H. and Woodward F.I. 1977. *Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press
- Sokal R.R. and Rohlf F.J. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York: W.H. Freeman, 850 p.
- Soussana J.F. and Lafarge M. 1998. Competition for resources between neighbouring species and patch scale vegetation dynamics in temperate grasslands. *Annales de Zootechnies* **47** :371-382.
- Soussana J.F., Teyssonneyre F. and Thiéry J. 2000. Un modèle dynamique d'allocation basé sur l'hypothèse d'une co-limitation de la croissance végétale par les absorptions de lumière et d'azote. In Bonhomme R. and Maillard P. eds. *Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales*, INRA, p.87-116.
- Soussana J.F., Teyssonneyre F. and Thiéry J. 2000. Un modèle stimulant les compétitions pour la lumière et pour l'azote entre espèces herbacées à croissance clonale. In Bonhomme R. and Maillard P. eds. *Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales*, INRA, p.325-350.
- Soussana, J.F., Carrère P., Loiseau P., Lafarge M., Louault F., Cochard C., Ceshia E. and Teyssonneyre F. 2004. *Les écosystèmes prairiaux*. In l'Inra en Auvergne, Du gène à l'assiette. Revue d'Auvergne, n° 568-569, **117** : 53-79.
- Soussana J.F., Teyssonneyre F., Picon-Cochard C. and Dawson L. 2005. A trade-off between nitrogen uptake and use increases responsiveness to elevated CO₂ in infrequently cut mixed C₃ grasses. *New Phytologist* **166**: 217-230.
- Stuth J., Jama A. and Tolleson D. 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research* **84**: 45-56.
- Sugiyama S. 2005. Developmental basis of interspecific differences in leaf size and specific leaf area among C₃ grass species. *Functional Ecology* **19**: 916-924.
- Tilman D. 1988. *Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities*.

Princeton, USA: Princeton University Press.

- Tilman D. 2001. Functional diversity. In Levin S.A. ed. *Encyclopedia of biodiversity*. Academic Press, San Diego.
- Tremblay G.F., Bélanger G. And Drapeau R. 2005. Nitrogen fertilizer application and developmental stage affect silage quality of timothy (*Phleum pratense* L.). *Grass and Forage Science* **60**: 337-355.
- Van Arendonk J.J.C.M. and Poorter H. 1994. The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. *Plant, Cell and Environment* **17**: 963-970.
- Van der Werf A., Nuenen M.V., Visser A.J. and Lambers H. 1993. Contribution of physiological and morphological plant traits to a species' competitive ability at high and low nitrogen supply. A hypothesis for inherently fast- and slow-growing monocotyledonous species. *Oecologia* **94**: 434-440.
- Van der Werf A., Geerts R.H.E.M., Jacobs F.H.H., Korevaar H., Oomes M.J.M. and Visser W. 1998. The importance of relative growth rate and associated traits for competition between species during vegetation succession. In Lambers H., Poorter H. and Van Vuuren M.M.I. eds. *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*. AH Leiden, The Netherlands. p. 489-502.
- Van Soest P.J. and Wine R.H. 1967. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. IV Determination of plant cell-wall constituents. *Journal Assoc. of Anal.* **50**: 50-55.
- Van Soest P.J., Robertson J.B. and Lewis B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**: 3583-3597.
- Vendramini F., Diaz S., Gurvich D.E., Wilson P.J., Thompson K. And Hodgson J.G. 2002. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in floras with succulent species. *New Phytologist* **154**(1) : 147-157.
- Vermorel M. 1988. Nutrition énergétique. In *Alimentation des bovins, ovins & caprins*. INRA Edition, Paris. 57-74.
- Vile D. 2005. *Significations fonctionnelle et écologique des traits des espèces végétales : exemple dans une succession post-culturale méditerranéenne et généralisations*. Thèse U. Montpellier II, France, 109 p.
- Waite R., Johnston M.J. and Armstrong D.G. 1964. The evaluation of artificially dried grass as a source of energy for sheep. I. The effect of stage of maturity on the apparent

- digestibility of rye-grass, cocksfoot and timothy. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge **62**: 391-398.
- Watt T.A. 1987. A comparison of two cultivars of *Holcus lanatus* with *Lolium perenne*, under cutting. *Grass and Forage Science* **42**: 43-48.
- Weihner E., van der Werf A., Thompson K., Michael R., Garnier E. And Eriksson O. 1999. Challenging Theophrastus: A common core list of plant traits for functional ecology. *Journal of Vegetation Science* **10**: 609-620.
- Weiss P. et Demarquilly C. 1970. Valeur alimentaire des fourrages verts. *Fourrages* **42** :1-20.
- Westoby M. 1998. A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and soil* **199**: 213-227.
- Westoby M. 1999. A LHS strategy scheme in relation to grazing and fire. In D. Eldridge, D. Freudenberger, Editors. Proceedings of the VIth International Rangeland Congress, Queensland, Australia: *Australian Rangeland Society*, 893-896.
- Westoby M., Falster D.S., Moles A.T., Vesk P.A. and Wright J.J. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual review of Ecology and Systematics* **33**: 125-159.
- Wilman D. and Riley J.A. 1993. Potential nutritive value of a wide range of grassland species. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge **120**, 43-49.
- Wilson P.J., Thompson K. and Hodgson J.G. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytologist* **143**: 155-162.
- Wilson J.B. and Lee W.G. 2000. C-S-R triangle theory: community-level predictions, tests, evaluation of criticisms, and relation to other theories. *Oikos* **91**(1): 77-96.
- Witkowski E.T.F. and Lamont B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* **88**: 486-493.
- Woodward F.I. and Kelly C.K. 1997. Plant functional types: towards a definition by environmental constraints. In *Plant functional types. Their relevance to ecosystem properties and Global changes*. T. M. Smith, H. H. Shugart, F. I. Woodward, eds. Cambridge, UK: Cambridge University Press. p.47-65.
- Wright I.J., Reich P.B. and Westoby M. 2001. Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats. *Functional Ecology* **15**: 423-434.
- Wright I.J., Reich P.B., Westoby M., Ackerly D.D., Baruch Z., Bongers F., Cavender-Bares J., Chapin T., Cornelissen J.H.C., Diemer M., Flexas J., Garnier E., Groom P.K., Gulias J., Hikosaka K., Lamont B.B., Lee T., Lee W., Lusk C., Midgley J.J., Navas M.L.,

Niinemets U., Oleksyn J., Osada N., Poorter H., Poot P., Prior L., Pyankov V.I., Roumet C., Thomas S.C., Tjoelker M.G., Veneklaas E.J. and Villar R. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821-827.

Wright I.J., Reich P.B., Cornelissen J.H.C., Falster D.S., Garnier E., Hikosaka K., Lamont K. B. B., Lee W., Oleksyn J., Osada N., Poorter H., Villar R., Warton D. I. and Westoby M. 2005. Assessing the generality of global leaf traits relationships. *New Phytologist* **166**: 485-496.

Annexes Chapitre 3

Annexe 3-1. Précipitations et températures mensuelles moyennes enregistrées à la station météorologique de Theix (Massif-Central, France, altitude 890 m) pour les années de l'expérimentation.

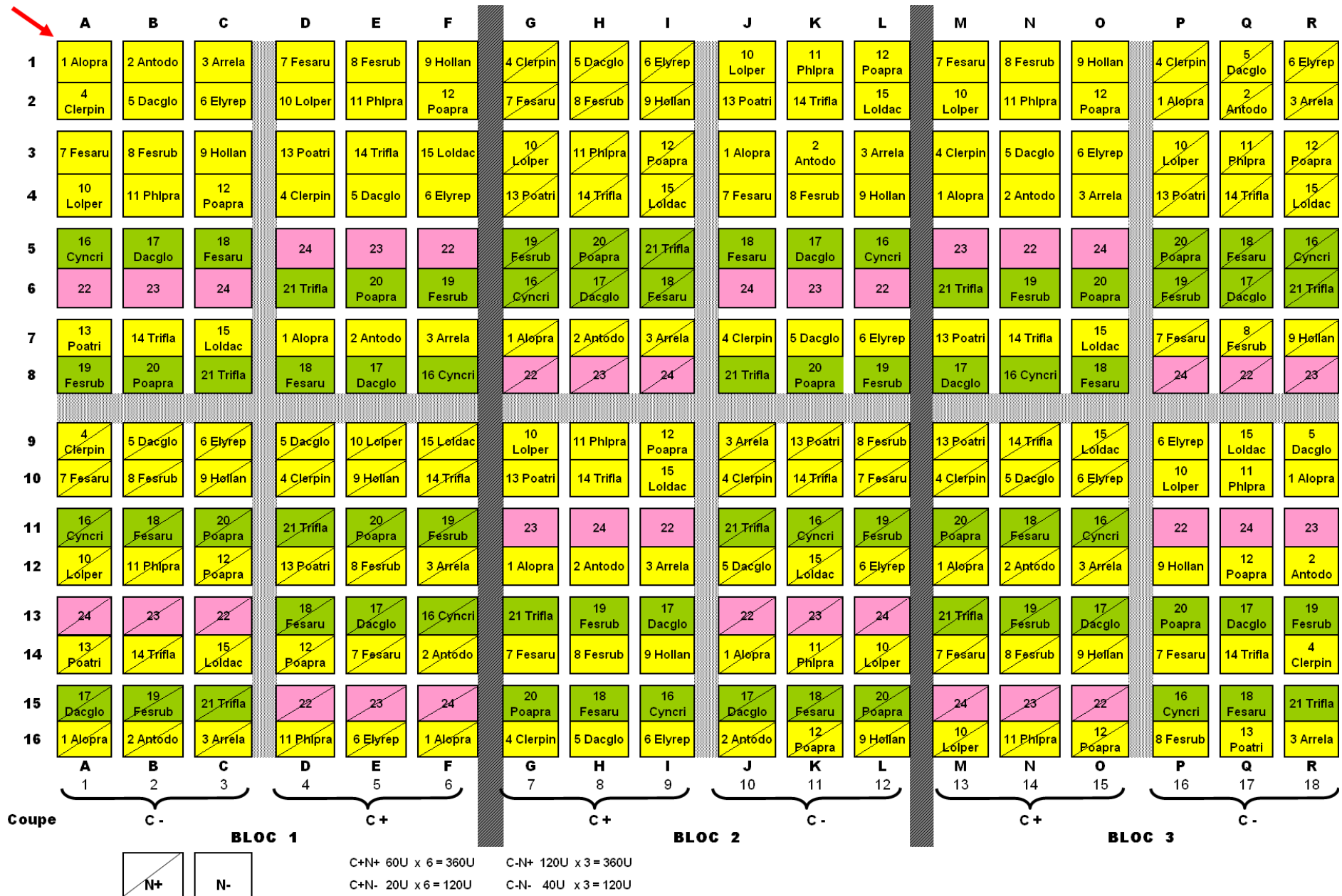
	Précipitation (mm)				Moyenne*
	2002	2003	2004	2005	
Janvier	16	45	92	48	41
Février	45	58	25	21	43
Mars	7	59	45	29	33
Avril	27	28	102	106	73
Mai	56	26	18	82	84
Junin	70	114	21	39	84
Juillet	72	86	87	47	64
Août	89	85	163	17	63
Septembre	61	52	29	54	96
Octobre	43	105	96	45	76
Novembre	101	54	46	50	69
Décembre	46	81	40	41	50

*Correspond à la moyenne entre 1986 et 2002.

	Température (°C)				Moyenne*
	2002	2003	2004	2005	
Janvier	3.5	-1.0	1.4	3.2	2.0
Février	4.2	-0.2	1.7	0.9	2.6
Mars	5.9	6.6	2.8	5.4	5.1
Avril	7.0	8.0	6.0	7.4	6.3
Mai	9.7	11.8	9.2	11.5	11.2
Junin	16.1	19.4	15.0	16.3	13.6
Juillet	15.2	17.5	15.5	17.1	16.7
Août	15.1	20.7	16.4	15.0	16.7
Septembre	11.7	12.8	13.8	13.3	12.8
Octobre	9.7	7.4	10.9	12.0	9.7
Novembre	6.2	6.5	3.5	3.1	4.7
Décembre	4.5	2.6	2.3	-1.6	2.8

*Correspond à la moyenne entre 1986 et 2002.

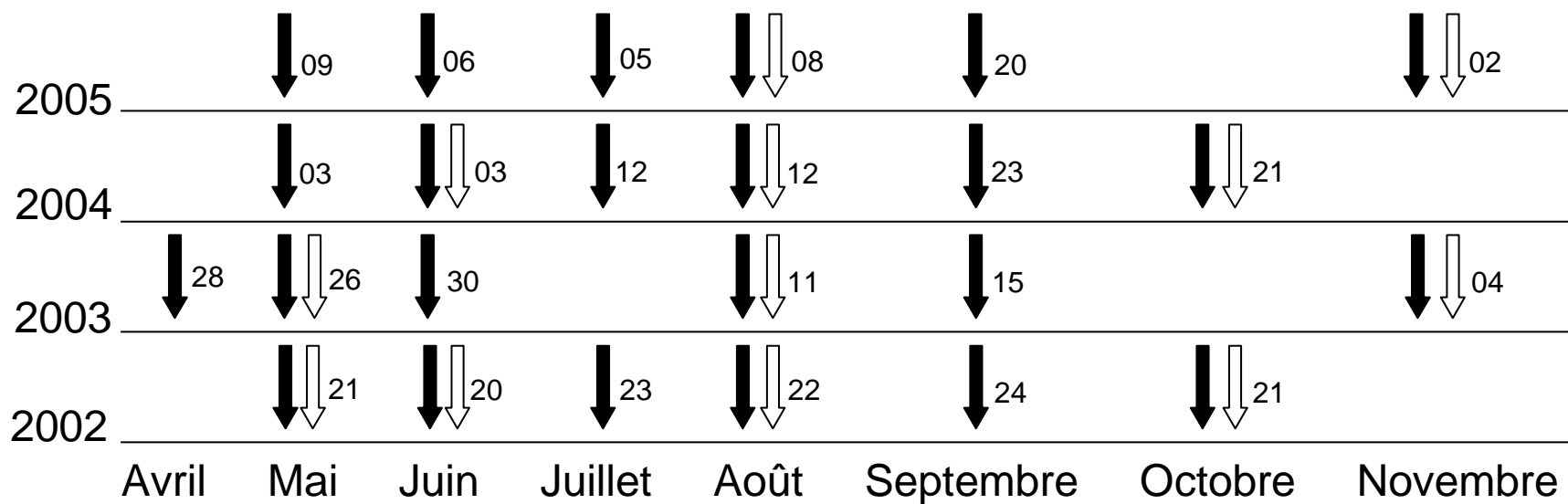
Annexe 3-2. Schéma du dispositif expérimental "Collection".



Annexe 3-3. Planning de coupe sur les traitements C+ et C- au cours des quatre années d'expérimentation.

Les dates de coupe sont présentées pour chaque traitement : flèches noires pour le C+ et flèches blanches pour le C-).

Le chiffre mentionné à coté de chaque flèches indique la date exacte (jour dans le mois) de la coupe pour l'année considérée.



Annexes Chapitre 7

Annexe 7-1. Digestibilité (moyenne et *s.e.* ; g kg⁻¹) à chaque stade de développement phénologique pour chacune des espèces.

Espèces	Végétatif		Montaison		Epiaison		Floraison		Maturation	
	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>
<i>Alopecurus pratensis</i>	833	7,3	758	12,2	590	9,3	527	6,3	399	8,6
<i>Anthoxantum odoratum</i>	872	2,0	780	6,1	643	9,6	592	13,1	449	11,4
<i>Arrhenatherum elatius</i>	780	8,9	706	8,0	514	6,5	483	12,8	501	8,4
<i>Lolium p. cv. Clerpin</i>	753	4,3	746	5,2	579	8,9	539	5,2	491	10,9
<i>Dactylis glomerata</i>	813	7,1	731	10,0	533	10,1	496	10,8	408	14,6
<i>Elymus repens</i>	684	6,9	616	10,5	486	13,9	476	7,0	478	5,5
<i>Festuca arundinacea</i>	657	5,8	647	7,9	482	11,1	453	14,0	479	16,3
<i>Festuca rubra</i>	687	11,0	634	12,1	505	9,1	506	7,9	334	10,3
<i>Holcus lanatus</i>	832	3,2	741	7,3	538	7,7	505	11,0	420	9,8
<i>Lolium perenne</i>	732	4,5	740	4,0	568	8,8	511	13,8	427	9,3
<i>Phleum pratense</i>	719	6,4	645	9,4	596	8,1	548	9,1	521	4,9
<i>Poa pratensis</i>	774	18,7	693	9,8	495	10,2	464	5,8	363	15,6
<i>Trisetum flavescens</i>	703	13,6	691	11,7	537	5,6	582	7,7	424	12,8

Annexe 7-2. Matière azotée totale (moyenne et *s.e.* ; g kg⁻¹) à chaque stade de développement phénologique pour chacune des espèces.

Espèces	Végétatif		Montaison		Epiaison		Floraison		Maturation	
	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>	Moy	<i>se</i>
<i>Alopecurus pratensis</i>	306	7,1	240	11,4	158	8,2	135	4,5	72	2,1
<i>Anthoxantum odoratum</i>	256	6,3	197	11,0	136	6,7	125	6,5	70	6,3
<i>Arrhenatherum elatius</i>	224	13,8	165	8,2	80	6,7	73	4,5	67	3,8
<i>Lolium p. cv. Clerpin</i>	197	21,0	90	9,8	70	5,7	69	4,0	43	4,7
<i>Dactylis glomerata</i>	251	15,4	159	10,0	101	5,2	78	6,0	63	6,5
<i>Elymus repens</i>	211	9,3	152	7,9	88	4,6	82	1,9	45	3,8
<i>Festuca arundinacea</i>	186	10,9	140	7,9	91	7,4	70	5,9	64	5,9
<i>Festuca rubra</i>	248	8,3	204	7,7	124	4,7	70	5,5	63	2,8
<i>Holcus lanatus</i>	243	9,2	170	10,3	78	7,2	75	10,5	53	8,2
<i>Lolium perenne</i>	229	11,7	111	10,7	75	7,8	74	5,0	58	7,3
<i>Phleum pratense</i>	183	15,1	105	8,0	95	5,0	83	3,8	59	5,3
<i>Poa pratensis</i>	252	6,9	174	11,0	107	6,3	77	3,1	55	5,5
<i>Trisetum flavescens</i>	216	8,9	155	7,7	90	5,0	84	4,5	76	7,1

