



HAL
open science

Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial

Marine Zwicke

► **To cite this version:**

Marine Zwicke. Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2013. Français. NNT : 2013CLF22428 . tel-01020033

HAL Id: tel-01020033

<https://theses.hal.science/tel-01020033>

Submitted on 7 Jul 2014

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.

***ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE,
SANTÉ, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT***

N° d'ordre : 625

Thèse

Présentée à l'Université Blaise Pascal
pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

(Spécialité : Ecologie)

soutenue le 19 décembre 2013

Marine ZWICKE

Impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales de l'écosystème prairial

Impacts of heat wave and severe drought on plant community structure and functioning of grassland ecosystem

Jean-Louis JULIEN <i>Professeur, Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand</i>	Président
Didier ALARD <i>Professeur, Université Bordeaux 1</i>	Rapporteur
Philippe CHOLER <i>Chargé de Recherche, CNRS-LECA, Grenoble</i>	Rapporteur
Marie-Pascale PRUD'HOMME <i>Professeur, Université de Caen, France</i>	Examineur
Jean-Louis DURAND <i>Chargé de Recherche, INRA- P3F, Lusignan</i>	Examineur
Catherine PICON-COCHARD <i>Chargé de Recherche, INRA-UREP, Clermont-Ferrand</i>	Directeur de Thèse

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

« La joie de regarder et de comprendre est le plus beau cadeau de la nature ». Albert Einstein

« Vous arrivez devant la nature avec des théories, la nature flanque tout par terre ». Pierre-Auguste Renoir

REMERCIEMENTS

J'achève enfin l'écriture de ces pages après presque quatre années... quelques chapitres de ma vie ! Une grande aventure dans le monde de la science, des rencontres inoubliables et une expérience professionnelle et personnelle vraiment enrichissante... une page qui se tourne sur la partie visible de l'iceberg ! C'est avec toute ma gratitude et ma reconnaissance que je me dois de remercier tous ceux qui m'ont fait confiance, ceux qui m'ont aidée que ce soit à la sueur de leur front, ou avec leur cerveau en ébullition, avec leur écoute, leur attention, leur générosité, leur amitié... toute forme de soutien possible que certains n'imaginent pas ! Tous ceux sans qui ce travail aurait été impossible, tous ceux sans qui je n'aurais jamais pu remplir ces pages, tous ceux qui m'ont transmis leurs savoirs et qui m'ont aidée à réfléchir dans l'appropriation de mon sujet de thèse vaste et ambitieux... ainsi que toutes les petites mains dans l'ombre et la lumière de ce projet ! Et tous ceux qui m'ont soutenue... ils sont nombreux ! J'espère que ce manuscrit sera à l'image du soutien que vous m'avez offert !

Je tiens à remercier tout d'abord tout l'UREP, super équipe au sein de laquelle j'ai évolué vers le monde de la recherche, avec une ambiance pleine de jeunesse et de dynamisme... un vrai plaisir de vous avoir tous rencontrés, de travailler à vos côtés et de partager la vie interne de l'unité. Merci Jean-François de m'avoir fait confiance et de m'avoir faite entrer dans le monde de la science. Merci Catherine de m'avoir permis de réaliser cette thèse et de m'avoir encadrée. Merci de m'avoir donné la confiance et l'autonomie. Merci Pascal pour ton écoute, ta compréhension, ton soutien, tes bons conseils et ta pédagogie. Merci aussi pour ton expérience et ta patience.

Je remercie également tous les membres de mon comité de thèse, Florence, Annette, Marie-Pascale et Hervé, pour m'avoir fait confiance et pour m'avoir aidée à construire ce projet. Merci aussi d'avoir accepté de collaborer. Merci Florence pour ta bienveillance sur la santé des plantes qu'on a bien fait souffrir ! Merci Annette et Marie-Pascale pour votre accueil enjoué et chaleureux qui m'ont permis d'analyser mes 680 échantillons et des poussières avec plaisir ! Merci à toutes les trois de m'avoir conseillée dans les méthodes et l'analyse de ce travail, merci pour votre contribution, votre investissement et vos disponibilités, et merci de m'avoir soutenue pendant les mois d'écriture. Merci pour cette collaboration scientifiquement et humainement enrichissante.

Je remercie tous les membres de mon jury de thèse sans qui je n'aurais jamais pu finaliser ce projet ! Merci d'avoir accepté de lire et d'évaluer mon travail. Merci à mes rapporteurs, Didier Alard et Philippe Choler. Merci à mes examinateurs Marie-

Pascale Prud'Homme, Jean-Louis Durand et Jean-Louis Julien. Un merci particulier également à Jean-Louis Julien pour m'avoir permis de poursuivre mon cursus dans la filière végétale... histoires de circonstances, mais pas sans conséquences !

Merci à tous ceux qui ont usé de la corne sur les manip' ! Merci Giorgio, Robert, Frédérique, Bernard et Oliver de m'avoir appris tant de choses sur le terrain... au tout début... quand j'ai commencé mes toutes premières séries de cartons et mes premières images infrarouges ! Un merci tout particulier à Bernard, Olivier, Michel Frein, Frédérique, Juliette, Amélie et Lionel pour m'avoir transmis vos connaissances en botanique... moments passionnément échangés ! Alors Bernard, tu vois des poils ? Merci Lionel de m'avoir supportée et soutenue sur le terrain. Merci d'avoir toujours assuré ! Merci pour ton sérieux, ton écoute, ta gentillesse et ton amitié ! Merci Patrick pour ton ingéniosité et ton efficacité, ton sérieux et ta générosité. Merci pour toutes les heures supplémentaires, le travail physique et usant pour lequel je t'ai souvent sollicité. Merci aussi à Alexandre. Merci pour ta bonne humeur et ta musique à toutes les saucés sur la plateforme ! Des bons souvenirs... très rock and roll ! Merci à tous les trois pour votre soutien dans nos séries de mesures à l'infini ! Merci aussi à Olivier, Bernard, et Vincent de m'avoir aidée et soutenue tout au long de ces années intenses de manip... Merci également pour votre bonne humeur et les crises de rire partagées, même dans les moments les plus difficiles ! Merci de m'avoir toujours accompagnée dans les conditions les plus extrêmes à l'image de mon sujet... chaleurs ardentes sur Validate et sur la plateforme... mais aussi les jours de gel et sous la neige... et parfois même les weekends quand nécessaire ! Merci de m'avoir permis de réaliser mes mesures dans les meilleures conditions.

Merci Robert pour ton expérience et tes compétences qui ont été indispensables à l'élaboration des dispositifs. Ce travail énorme toujours contre la montre ! Merci à ceux qui ont participé à la réalisation de la manip' VALIDATE avant que j'arrive... Merci aussi aux collègues du PIAF d'avoir contribué à l'élaboration et à l'installation de la plateforme... la seule chose qu'on a oublié, c'est de la baptiser ! Merci Boris pour la programmation. Merci aussi à Tété, Patrice, Christophe et Hervé pour vos idées et votre contribution.

Un grand merci aussi à mes trois stagiaires qui ont aussi été indispensables à la réalisation de ces travaux. Caroline, Céline et Julie, c'était vraiment un plaisir de vous rencontrer, de vous former et de vous avoir à mes côtés pour avancer. J'espère ne pas vous avoir trop épuisées !

Merci à Laurence et Annick pour leur gentillesse et leur disponibilité. Merci aussi à toutes les deux pour les monstres administratifs que vous affrontez à notre place ! Merci Annick et Pascal d'avoir toujours trouvé le moyen de financer le matériel nécessaire, jusqu'au dernier boulon, même quand c'était plus possible !

Merci à l'équipe APAC et l'équipe PIAF pour tout le matériel dont j'ai pu disposer à volonté ! Merci aussi pour votre soutien et votre gentillesse, ainsi que pour toutes les discussions intéressantes et sympathiques sur le site de Crouël.

Un merci général à tous les collègues, anciens et nouveaux, avec qui j'ai partagé la vie quotidienne du site de Crouël. Merci pour les séminaires intéressants, le dynamisme et la jeunesse, pour les discussions enrichissantes qui m'ont aidée à construire cette thèse, pour les conseils sur le terrain ou au labo, pour les discussions de couloirs et les pauses cigarettes... un cadre de travail des plus agréables et des plus sympathiques. Merci aussi pour votre soutien. Merci à tous les collègues de l'UREP: Anne-Isabelle, Amélie, Mathilde, Rémi, Katja, Juliette, Julien, Lionel, Frédérique, Vincent M., Seb, Gaël, Damien, Raphaël, Nazia, Haytem, Angela, Marie-Lise, Giorgio, Robert, Tiphaine, Nathalie, Pascal, Gianni, Patrick, Bernard P., Sandrine, Olivier, Vincent G., Alexandre, Annick, Jean-Luc, Jean-Marie, Sylvie. Merci de m'avoir toujours soutenue ! Merci aussi à Franck pour sa bonne humeur contagieuse, son écoute et son service 'café chaud' à domicile ! Merci à tous les thésards que j'ai pu rencontrer pendant ces 4 années intenses, avec qui j'ai pu échanger mes connaissances et expériences, rigoler, et surtout me rendre compte que la thèse, c'est le marathon pour tout le monde ! Merci particulièrement à Amélie et Anne-Isabelle, avec qui ce fut un plaisir de partager le même bureau ! Merci pour votre soutien, vos bons conseils, nos discussions enrichissantes, votre gentillesse et votre amitié ! Merci aussi à Rémi et Vincent pour m'avoir écoutée et transmis vos connaissances avec tant de générosité. Merci à Rie pour sa gaieté et sa bonne humeur inépuisable. Merci à Pauline pour avoir partagé mon bureau et pour m'avoir supportée pendant mes derniers mois sur le site de Crouël... pas toujours sous mon meilleur jour ! Merci Haytem et Romain pour toutes les pauses café gourmandes et sucrées ! Merci à tous les étudiants avec qui j'ai partagé la vie du labo, Louise, Lise, Jérémy, André, Adeline, Yannick.

Merci aux collègues de l'équipe GDEC : Joëlle, Bernard B., Nicole, David C., Vincent A., Jacques, Fred. On a bien failli avoir quelques accidents dans les couloirs ... merci de m'avoir toujours cédée le passage dans mes pas de course ! Merci pour votre gentillesse et votre générosité. Merci aussi à Gérard B. et Jean K.

Merci aux collègues du PIAF : Pierre, Christian, Patrice, Christophe, Stéphane, Pascal, Tété, Marc B., Marc V., Marc S., Boris, Bruno, Catherine C, Dominique, Brigitte, Jérôme, Norbert. Merci pour toutes les pauses 'café' où j'ai toujours été généreusement reçue ! Merci pour votre gentillesse, votre soutien et toutes les discussions intéressantes. Merci aux anciens thésards, copains du PIAF, Guillaume, Alexandre, Rémi, Fabieno, Mathieu, David. Merci pour les échanges scientifiques et amicaux, les bonnes rigolades et discussions sur tout... absolument tout !

Un merci particulier à Matthieu B. pour m'avoir aidée, soutenue et supportée.

Merci à tous les copains des Adayades... souvenirs mémorables qui ont amorcé ces années de thèse ! Merci super PP+ pour ta bonne humeur et les fous rires ! Merci à tous les occupants du bungalow pour les « afters adayades »... super d'enfer ! Merci à Mickaël, Vincent, Pierre, Alexandre, Olivier, Matthieu, Carole ... Merci à toute l'équipe de Volley. Merci à Pascal pour l'organisation des soirées ADAS qui sont toujours sympathiques. Et merci pour l'accès au piano et les pauses café musicales !

Merci à toute l'équipe de l'UMR EVA pour m'avoir écoutée, conseillée et encouragée à chacune de mes visites. Merci aussi à Marie-Laure, Camille et Pierre-Jean pour leur soutien technique pendant ces quelques semaines de manip' intenses... on a réussi à passer les 680 échantillons, pile poil dans les temps !! Merci aussi à toute la promo de Master pour leur bonne humeur, leur soutien et leurs encouragements pendant ces longues séries d'échantillons ! C'était un plaisir de partager la salle de TP et les paillasses !

Un merci tout particulier à Annette, Sébastien, et leurs deux filles adorables pour m'avoir reçue chez vous si chaleureusement, pour les bonhommes de neiges et les igloos dans le jardin, pour ce séjour ressourçant, complètement atypique et super sympa !

Merci à toute l'équipe de l'Ecotron pour leur accueil toujours sympathique et leur si bon café ! Merci à Oliver et Lionel pour tous les bons moments passés pendant ces heures transpirantes sous les dômes ! Merci aussi à Angela pour sa gentillesse et sa générosité et merci aussi de nous avoir reçus chez toi à Montpellier.

Merci à toute ma famille, que j'adore, pour m'avoir toujours aidée à recharger les piles. Merci de m'avoir accompagnée, encouragée et soutenue. Merci à mes parents, mon frère et ma sœur pour votre amour inconditionnel. Merci pour vos visites à Clermont qui m'ont toujours fait du bien. Jacky, c'est quand tu veux pour la rando ! Merci à Patrick et Evelyne, Poussy et Mamie, Corinette et Jacky,

tonton Vince et Anaïs, Jules, Clem et Didier, Pierre et Frédérique. Merci à tous pour votre soutien. Merci pour toutes les discussions intéressantes qui agrémentent les repas de familles et qui m'ont souvent aidée à prendre du recul. Merci les p'tites cousines... Margot, Clothilde, Blanche, et Anouk pour votre fraîcheur innocente et ressourçante, et pour tous vos câlins tout mignons. Merci aussi à Jérôme et Sophie pour leurs visites à Clermont et leur soutien arrosé sans sulfite ! Et enfin, un grand merci à Patrick pour son ' SOS relecture-orthographe, 24/24 - 7/7 ' !

Merci à tous mes potes... d'ici et d'ailleurs ! Merci à tous ceux qui m'ont soutenue et qui m'ont toujours aidée à garder le sourire et la bonne humeur pendant les mois les plus difficiles. Merci à toutes ceux qui sont venus m'aider dans l'ombre... je pense à Fanette, Matthieu Katheline, Anne-Isabelle, Rémi, Maire-Lise, Vincent M., Yaurik, Pierre, Brice, Fabien... Merci aussi à Guillaume, Vince et Sabrina, Marine et Zélie pour tous les moments de détente qui m'ont permis de m'aérer un peu entre les pages de ce manuscrit. Merci aussi à Mick pour ton écoute et tes relectures, ta cuisine... et tes muffins ! Merci à Fanette et ses trois coloc', Marion, Jeanne et Jennifer pour votre générosité pendant ses longs mois d'écriture et pour les pauses musicales à la guitare qui m'ont aidée à décrocher quand j'en avais besoin. Merci aussi à tous vos amis qui m'ont souvent réconfortée. Un merci tout particulier à Anne-Isabelle, Katheline, Rie, Amélie et Marie-Lise pour leur soutien des derniers mois et leurs encouragements réconfortants. Merci aussi de m'avoir relue. Merci aussi à Damien et Lauriane, Frank, Louise, Pauline pour tous les moments passés à papoter, à rigoler et à décompresser. Merci à mes amis d'enfance Claire, Olivia et Stéphanie pour votre soutien à distance et votre amitié depuis toujours. Merci aussi à Benoit et Flo, Julien, les Freds, Yann et son frangin pour toutes les crises de rire qui rechargent les piles !

Merci à la troupe 280 SE de m'avoir fait confiance et de m'avoir accompagnée dans la rédaction de ce manuscrit. Merci de m'avoir offert une expérience unique et enrichissante qui m'a beaucoup aidée pendant mes moments de doute. Merci aussi à tout l'atelier théâtre de Georges Brassens pour votre gentillesse.... Merci à Marc et toutes ses danseuses pour les heures transpirantes et défoulantes ! Merci pour votre dynamisme et votre bonne humeur inépuisables.

MERCI à tous ceux qui ont relu et corrigé mon travail... Un grand MERCI à ceux qui m'ont accompagnée dans cette épreuve de la thèse... une sacrée épreuve de la vie !

J'espère très fort n'oublier personne ! ... Alors un dernier MERCI à ceux que j'aurai oublié !

Et enfin.... bonne lecture à tous ceux qui tourneront les pages suivantes !

RESUME

En Europe, les prairies permanentes représentent l'une des principales formes d'utilisation des terres. La durabilité des services rendus par ces écosystèmes est étroitement liée à la structure et au fonctionnement des communautés végétales qui les composent. La stabilité des processus écosystémiques, sous l'impact des fluctuations environnementales, va alors dépendre des mécanismes de résistance et de récupération propres à ces communautés. Les risques d'apparition d'extrêmes climatiques liés à l'évolution du climat, rendent nécessaire une adaptation des agro-écosystèmes à cette fluctuation climatique accrue. Cela implique de mieux comprendre les mécanismes par lesquels la variabilité du climat influe sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales, et comment les pratiques agricoles impactent ces réponses.

Cette thèse a pour objectif d'évaluer la vulnérabilité des prairies permanentes à un extrême climatique combinant une canicule et une sécheresse, dans un contexte de changement climatique. Afin d'identifier et de caractériser les mécanismes intrinsèques de la résistance à la sécheresse des communautés végétales, une démarche expérimentale mobilisant les concepts de l'écologie fonctionnelle a été développée. Les effets de la variabilité climatique sur la structure (diversité, composition) et le fonctionnement des communautés végétales ont d'abord été analysés *in situ* pendant 3 ans, après simulation d'une canicule-sécheresse dans les conditions climatiques actuelles et sous climat modifié (réchauffement et réduction des précipitations). Pour évaluer l'influence de la gestion sur la réponse des communautés végétales aux perturbations climatiques, deux fréquences de fauches ont été appliquées. Ce travail présente l'originalité d'avoir étudié conjointement le fonctionnement aérien et souterrain de la végétation. Sont considérées la production de biomasse, la démographie et la durée de vie des racines, afin de déterminer le rôle du système racinaire dans la résistance et la récupération des communautés végétales après une canicule sécheresse.

Nous montrons un effet direct de l'extrême climatique sur la sénescence aérienne et la croissance racinaire dans les deux régimes de fauches. En réponse à un déficit hydrique modéré, la stratégie d'évitement au stress par le maintien de la croissance racinaire a été favorisée par des fauches non fréquentes. A l'automne suivant, les précipitations ont permis un reverdissement rapide de la couverture végétale et la production de nouvelles racines. Une baisse significative de la production de biomasse aérienne annuelle sous climat modifié, et suite à l'application de l'extrême climatique, a été observée pendant les 3 années d'expérimentation. En revanche, la production racinaire n'a pas été significativement affectée. Néanmoins une acclimatation de la croissance racinaire a été mise en évidence un an après l'extrême, en particulier dans les communautés de fauches non fréquemment. Ces changements de fonctionnement aériens et souterrains peuvent s'expliquer en partie par des modifications de la composition botanique. De plus, en réponse aux perturbations climatiques, la mortalité racinaire a été interrompue. Ces résultats inattendus ont donc entraîné une augmentation de la durée de vie des racines et suggèrent un effet négatif sur le turnover racinaire et les cycles biogéochimiques.

Une expérimentation complémentaire à l'étude *in situ* a été menée en conditions semi-contrôlées pour déterminer les mécanismes intrinsèques de la résistance à la sécheresse de la prairie permanente. Des traits morphologiques et physiologiques, aériens et souterrains, ont été mesurés sur des monocultures de sept populations prairiales en conditions optimales, puis en conditions de sécheresse afin de caractériser leurs stratégies de survie. Les résultats ont mis en évidence le rôle du système racinaire dans la survie des plantes. En effet la morphologie des racines est étroitement liée à la stratégie d'évitement du stress par le maintien des prélèvements hydriques. Elles contribuent également à la stratégie de tolérance en accumulant du saccharose et/ou des fructanes. De plus, les populations à croissance rapide et capables

d'accumuler les fructanes dans les méristèmes foliaires ont montré une meilleure survie. Ces résultats confirment le rôle des fructanes dans la tolérance à la sécheresse par un renforcement de la stabilité membranaire, permettant le maintien en vie des méristèmes foliaires et des racines. A partir d'une analyse corrélative – trait-fonction– nous avons identifié quatre types fonctionnels mobilisant à différents degrés les stratégies complémentaires d'évitement et de tolérance à la sécheresse.

En conclusion, les mécanismes de résistance et de récupération de la prairie permanente à un extrême climatique reposent essentiellement sur la survie du système racinaire et des méristèmes foliaires qui dépend des réserves en sucres solubles. La gestion de la prairie par des fauches modérées améliore significativement la stratégie d'évitement de la sécheresse, *via* le maintien de la croissance racinaire. Elle pourrait aussi favoriser la tolérance du stress en sélectionnant les espèces prairiales capables d'accumuler des fructanes. De plus, la diversité des réponses observées à l'échelle des populations, suggère qu'il est nécessaire de préserver la diversité fonctionnelle au sein des communautés végétales pour assurer la durabilité des services de la prairie permanente. Enfin, des indicateurs de résistance à la sécheresse et des seuils de tolérance sont proposés. Ils permettront en perspectives de ce travail d'améliorer la simulation des impacts du changement climatique sur les prairies de moyennes montagnes par des modèles biogéochimiques de simulation des prairies.

Mots clés : changement climatique, extrême climatique, sécheresse, canicule, prairie permanente, diversité, résistance, récupération, résilience, stratégies fonctionnelles, fauches, production, traits aériens et racinaires, démographie racinaire, acclimatation, évitement de la sécheresse, réserves glucidiques, fructanes, tolérance à la sécheresse.

ABSTRACT

In Europe, grassland is one of the dominant forms of land use. The sustainability of their environmental and ecological services is linked to plant community structure and functioning. Under climatic constraints, the stability of community functioning will depend on plant resistance and recovery mechanisms. Actually, increase in climate variability linked to climate change, is expected to lead to more frequent and more intense climate extremes. Therefore, it is necessary to adapt ecosystem management to climate variability increase. This imply to improve our knowledge on mechanisms by which climate drivers modify the structure and the functioning of plant community, and to determine how the agricultural practices affect these responses.

Therefore, this study aimed to characterise vulnerability of perennial grassland to combined heat wave and severe drought and to determine mechanisms of plant community resistance to drought. For this, an experimental approach was developed based on the functional ecology concepts.

The effect of climate variability on the structure (diversity and composition) and the functioning of plant community were first analyzed *in situ* during three years. Microclimate of the vegetation was manipulated to simulate warming, precipitation reduction, heat wave combined to severe drought. To analyse the role of grassland management in plant community responses to climate disturbances, two contrasted cutting frequencies were applied. This work has the originality to analyse both above- and below-ground processes of plant community. Thus, above- and below-ground biomass production, root demography and longevity were considered to determine the role of root system in resistance and recovery of plant community after a severe drought.

In both cutting frequencies, our results showed direct effects of climate extreme on leaf senescence and root growth. However, in response to moderate water deficit, drought avoidance through maintenance of root growth was favoured by infrequent cutting frequency. After rehydration in the following autumn, canopy greenness and root growth rapidly recovered. Annual above-ground production was significantly decreased by climate change and climate extreme during the three years of the experiment. However no effect was observed on root production but acclimation of root growth was observed one year after the climate extreme, particularly under infrequent cuts. Plant community structure was significantly modified by climate disturbance and could explain change in community functioning. In addition, root mortality was surprisingly decreased in response to climate disturbance that consequently increases root longevity. These results suggest negative effects of climate disturbances on root turnover with lasting effects on nutrient cycles.

To determine intrinsic mechanisms of plant community for drought resistance and recovery, an additional experiment was carried out in semi-controlled conditions. Therefore, morphological and physiological leaf and root traits were measured under full irrigation, moderate and severe drought on monocultures of seven perennial grassland populations to study plant functional strategies of drought survival. Roots were implicated in drought avoidance by maintaining water uptake and drought tolerance by accumulating sucrose and/or fructans. Morphological and physiological root traits were thus correlated to plant survival after drought. These results highlighted the role of roots in drought survival. Populations showing fructans accumulation in leaf meristems and rapid resource acquisition strategies were even more efficient for drought survival. These results also confirmed the role of fructans in drought tolerance by stabilizing cell membrane stability of leaf meristems and roots. Therefore several morphological and physiological plant traits were identified in order

to predict plant strategies of resource acquisition and drought resistance. According to these traits, four functional types were finally determined.

In conclusion, intrinsic mechanisms of plant community for resistance and recovery to climate extreme is mainly based on root and leaf meristem survival during drought which depends in part on water soluble carbohydrate reserves. Moderate cutting frequency significantly improves drought avoidance strategies by maintenance of root growth, and could also favour drought tolerance by selecting grassland populations able to accumulate fructans. In addition, the diversity of plant strategies for drought resistance and recovery observed on grassland populations promote the role of functional diversity within plant community for resistance and recovery after climate disturbance. Finally, indicators of drought survival and tolerance thresholds of water deficit are proposed. They could be used to improve biogeochemical models of grassland simulation in a context of climate change including extremes.

Keywords : climate change, climate extreme, drought, heat wave, perennial grassland, diversity, resistance, recovery, resilience, functional strategies, cuttings, production, leaf and root traits, root demography, acclimation, drought avoidance, water soluble carbohydrates, fructanes, drought tolerance.

SOMMAIRE

Remerciements.....	5
Résumé.....	9
Abstract.....	11
Introduction générale.....	23
Chapitre 1 : Etat de l'art.....	25
1. La vulnérabilité des écosystèmes face au changement climatique.....	25
a. Le changement climatique.....	25
b. Fonctionnement d'un écosystème.....	28
c. Le cas spécifique de la prairie permanente.....	35
2. Réponses de l'écosystème prairial au réchauffement global, à la variabilité des précipitations et aux événements extrêmes.....	37
a. Effets du réchauffement global sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales.....	38
b. Effets de la variabilité des précipitations sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales	44
c. Effets des extrêmes sur la structure et le fonctionnement des communautés végétales.....	49
3. Approche fonctionnelle pour comprendre la réponse des prairies permanentes au changement climatique au changement climatique.....	52
a. Comprendre le fonctionnement des communautés végétales.....	52
b. Les stratégies fonctionnelles des populations végétales.....	53
ii. acquisition des ressources.....	55
iii. Résistance à la sécheresse.....	55
4. Bilan des connaissances	62
5. Objectifs, hypothèses, et justification de la démarche.....	64
a. Les objectifs de la thèse.....	64
b. Les hypothèses de recherche.....	64
c. Justification de la démarche.....	65
d. Présentation du plan de thèse.....	69
Chapitre 2: Matériels et Méthodes.....	71
1. Présentation de l'expérimentation <i>in situ</i>	71

a.	Le site expérimental.....	72
b.	Le design expérimental.....	72
c.	Les communautés végétales.....	72
d.	Les traitements.....	74
i.	Les quatre scénarios climatiques	74
ii.	Les deux régimes de fauches.....	78
e.	Mesures des conditions environnementales.....	78
f.	Mesures réalisées sur la végétation <i>in situ</i>	79
g.	Analyses statistiques.....	80
2.	Présentation de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées.....	81
a.	Le matériel végétal.....	81
b.	Le dispositif expérimental.....	84
c.	Les traitements hydriques.....	86
d.	Le design expérimental.....	86
e.	Mesures des conditions environnementales.....	86
f.	Mesures réalisées sur les populations végétales.....	88
g.	Analyses statistiques.....	90
Chapitre 3:	Effet du changement climatique et d'une canicule-sécheresse sur les processus aériens des communautés végétales <i>in situ</i>	91
1.	Partie Article.....	93
	<i>Lasting effects of climate disturbance on perennial grassland above ground biomass production under two cutting frequencies</i>	
2.	Etude complémentaire.....	127
	<i>Effets des perturbations climatiques sur la structure et la composition des communautés végétales in situ</i>	
Chapitre 4 :	Effet du changement climatique et d'une canicule-sécheresse sur les processus racinaires des communautés végétales <i>in situ</i>	135
	<i>Cutting frequency and soil depth modulate root demography and root longevity responses to climate disturbances in perennial grassland</i>	
Chapitre 5 :	Stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse des populations prairiales..	169
1.	Partite Article.....	171
	<i>Which plant strategies and functional traits drive drought of perennial herbaceous populations from upland grasslands</i>	

2. Etude complémentaire.....	211
<i>How roots contribute to the one-year recovery of spring forage production after a severe drought</i>	
Chapitre 6: Discussion générale.....	217
1. Limites et contraintes de la démarche expérimentales.....	217
a. Expérimentation <i>in situ</i>	217
b. Expérimentation en conditions semi-contrôlées.....	219
2. Bilan de la thèse.....	220
a. Vulnérabilité de la structure et des processus aériens au changement climatique et à un extrême climatique.....	220
b. Acclimatation des processus racinaire en réponse à un extrême climatique.....	221
c. Stratégie de survie à la sécheresse.....	223
d. Rôle de la gestion dans la résistance et la résilience de l'écosystème prairial.....	225
3. Perspectives de recherche.....	229
Conclusion générale.....	235
Annexe 1 : Compléments météorologiques du climat de référence pour le site étudié.....	237
Annexe 2: Compléments méthodologiques des mesures réalisées <i>in situ</i> sur le compartiment aérien.....	241
Annexe 3 : Compléments méthodologiques des mesures réalisées <i>in situ</i> sur le compartiment racinaire.....	247
Annexe 4 : Compléments méthodologiques des mesures réalisées <i>in situ</i> sur les populations dominantes des communautés végétales.....	251
Annexe 5 : Compléments méthodologiques des mesures réalisées en conditions semi-contrôlées.....	255
Annexe 6 : Résultats complémentaires de l'expérimentation <i>in situ</i>.....	265
Annexe 7 : Résultats complémentaires de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées.....	269
Références bibliographiques.....	273

TABLE DES FIGURES

Figure 1-1. Schéma théorique illustrant la probabilité d'apparition des événements extrêmes sous l'effet d'une augmentation de la moyenne et de la variabilité du climat.....	26
Figure 1-2. Changements physiques et biologiques en lien avec le réchauffement moyen de la température de l'air observé sur la période 1970-2004.....	28
Figure 1-3. Cycles du carbone et de l'azote dans un écosystème.....	29
Figure 1-4. Représentation graphique des trois relations théoriques entre la diversité et le fonctionnement des écosystèmes.....	31
Figure 1-5. Schéma conceptuel illustrant la différence entre 'engineering' et 'ecological resilience'.....	32
Figure 1-6. Principaux processus et filtres environnementaux à l'origine de la structure des communautés végétales.....	34
Figure 1-7. Répartition des prairies permanentes en Europe.....	36
Figure 1-8. (a) Effet directs de la température de l'air sur la photosynthèse et la respiration (b) et le développement des Poacées.....	38
Figure 1-9. Seuils de température associés aux différents stades de développement des Poacées.....	39
Figure 1-10. Effets directs et indirects de la température sur les processus de fonctionnement des écosystèmes.....	43
Figure 1-11. Schéma conceptuel de l'effet de la variabilité des précipitations sur la disponibilité en eau du sol et la réponse des écosystèmes terrestres des milieux tempérés.....	44
Figure 1-12. Réponses des Poacées au déficit hydrique à l'échelle de la plante entière et des méristèmes foliaires.....	45
Figure 1-13. Réponses des écosystèmes terrestres au réchauffement et à l'augmentation de la variabilité des précipitations.....	48
Figure 1-14. Cadre théorique permettant d'étudier la réponse des écosystèmes à un événement extrême.....	49
Figure 1-15. Approche fonctionnelle permettant de comprendre les effets des populations végétales sur le fonctionnement et la structure des communautés et leurs réponses à des perturbations environnementales.....	53
Figure 1-16. Stratégies de réponses à la sécheresse.....	56
Figure 1-17. Principaux traits racinaires permettant d'augmenter les prélèvements hydriques en profondeur.....	58
Figure 1-18. Schéma des principales voies métaboliques des sucres solubles dans les différents compartiments de la cellule végétale.....	60
Figure 1-19. Interactions entre les fructanes et la membrane lipidique des cellules.....	61
Figure 1-20. Différents niveaux de réponse des communautés végétales, de l'individu à l'abondance des espèces.....	67
Figure 1-21. Cadre conceptuel sous-jacent à la démarche de la thèse.....	69
Figure 2-1. Conditions météorologiques mensuelles de référence (1969-1999) pour le site de Saint Genes-Champanelle.....	71
Figure 2-2. Représentation d'un bloc expérimental regroupant 4 plots sur lesquels les traitements climatiques....	72
Figure 2-3. Composition des communautés végétales au printemps.....	73
Figure 2-4. Installation expérimentale du système de réchauffement passif et d'exclusion de pluie et du système de réchauffement actif.....	76
Figure 2-5. Bacs et tubes semi-enterrés pendant l'hiver (8 mars 2011).....	84
Figure 2-6. Plateforme expérimentale sur le site INRA de Crouël (Clermont-Ferrand).....	85
Figure 2-7. Schéma de la plateforme avec la répartition des cultures en tubes et en bacs et des différentes populations.....	87
Figure 3-1. Time-course of treatments applied during the growing season for the three years of the experiment...	98
Figure 3-2. Time-courses of soil temperature (°C) differences between treatments and controls, and soil volumetric water content measured during the 3-year experiment in Cut+ and Cut- treatments.....	103
Figure 3-3. Relationships between community green tissue percentage or relative abundance of grasses, legumes, and forbs within green tissue, with climatic water balance	106
Figure 3-4. Temporal patterns of canopy green tissue percentage after the end of the experimental heat-wave until the end of the rehydration period in 2009, according to the four climatic treatments and the two cutting frequencies.....	107
Figure 3-5. Biomass production measured in 2009 during resistance to dehydration and recovery after rehydration for the four climatic treatments and the two cutting frequencies.....	108

Figure 3-6. Relationship between annual production or ANPP response with growing season-cumulated climatic water balance (P - PET, mm), according to the four climatic treatments and two cutting frequencies.....	109
Figure 3-S1. Daily variation in canopy surface temperature measured during the experimental heat-wave.....	125
Figure 3-S2. Temporal patterns of soil water content at 0-15 cm, measured in 2009, according to the four climate treatments for Cut-.....	126
Figure 3-7. Diversité spécifique des Poacées, des Fabacées et des dicotylédones non fixatrices pendant les trois années d'expérimentation.....	128
Figure 3-8. Abondances relatives des espèces dominantes observées au printemps, par la méthode des points quadrats, pendant les trois années d'expérimentation.....	130
Figure 3-9. Ordination canonique des correspondances entre les abondances relatives des populations dominantes observées au printemps en 2010 et en 2011 le long des gradients environnementaux.....	132
Figure 4-1. Time course of soil temperature and soil volumetric water content measured between each sampling date in 2009 and 2010, according to four climate treatments and the two cutting frequencies.....	145
Figure 4-2. Time course of root length growth rate measured at a depth of 0-5 cm and of 15-20 cm according to the four climate treatments and the two cutting frequencies.....	146
Figure 4-3. Relationships between root growth rate and cumulated climatic water deficit during the simulated heat wave and cumulated precipitation after rehydration, measured at a depth of 0-5 cm and of 15-20 cm, according to the four climate treatments and the two cutting frequencies.....	149
Figure 4-4. Time course of root mortality rate measured at a depth of 0-5 cm and of 15-20 cm according to the four climate treatments and the two cutting frequencies.....	151
Figure 4-5. Cumulated root length production, root length mortality and net root length production measured during summer and in autumn 2009, according to the four climate treatments, the two cutting frequencies and the two soil depths.....	152
Figure 4-6. Root length production, root length mortality and net root length production measured in 2009 and 2010 according to the four treatments, the two cutting frequencies and the two soil depths.....	153
Figure 5-1. Time course of volumetric soil water content for each population, measured under full irrigation and during drought treatment, at 10 cm, 40 cm and 100 cm below soil surface.....	178
Figure 5-2. Total WSC content and DP _{≥5} fructans content in basal meristem, root system and root apices of the seven herbaceous populations during the course of the drought treatment and in the control irrigated treatment at the end of drought.....	184
Figure 5-3. DP ₃₋₄ Fructans content and sucrose content in basal meristem, root system and root apices of seven herbaceous populations during the course of the drought treatment and in the control irrigated treatment at the end of drought.....	185
Figure 5-4. Cell membrane stability in leaf meristem, in root system, in root apices of the seven herbaceous populations measured at the end of drought in irrigated control and drought treatments.....	190
Figure 5-5. Mean percentage of plant survival after two weeks of rehydration and plant recovery in the following spring for the seven herbaceous populations.....	192
Figure 5-6. Biplot of the first two principal component analysis between traits measured on seven herbaceous populations under full irrigation in spring, during moderate drought, under severe drought and after drought.....	194
Figure 5-S1. Root profile in the soil of seven herbaceous populations under full irrigation in spring, during moderate drought, under severe drought and on the control irrigated treatment at the end of drought.....	207
Figure 5-S2. Total WSC content in plant organs of seven herbaceous populations, according to soil depth, measured under full irrigation in spring, during moderate drought and severe drought.....	208
Figure 5-S3. Fructose and glucose contents in leaf meristem, root system and root apices of the seven populations of herbaceous species during the course of the drought treatment and on the control irrigated treatment at the end of drought.....	209
Figure 5-S4. Cell membrane stability in storage organs of <i>Taraxacum officinalis</i> , <i>Trisetum flavescens</i> , <i>Poa pratensis</i> and <i>Poa trivialis</i> , measured at the end of drought in irrigated control and drought treatments.....	210
Figure 6-1. Effets directs de la sécheresse sur les principaux traits aériens et souterrains impliqués dans les stratégies d'acquisition des ressources et de résistance à la sécheresse	224
Figure 6-2. Effet combinés d'une canicule-sécheresse et d'une fréquence de fauches modérée sur la structure et le fonctionnement de la prairie permanente.....	229
Figure 6-3. Perspectives de recherche.....	234
Figure A1-1. Histogrammes du cumul des précipitations et des températures moyennes annuels observés sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence	237
Figure A1-2. Histogrammes des cumuls de précipitations saisonnières observées sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période référence	238
Figure A1-3. Histogrammes des températures moyennes journalières pour les 4 saisons de l'année observées sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence.....	239

Figure A1-4. Histogrammes des maximums de température de l'air en été observés sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence	240
Figure A3-1. Technique du Minirhizotron.....	247
Figure A3-2. Analyse d'une image racinaire visualisée dans le logiciel WinRhizoTron©.....	248
Figure A4-1. Conductance stomatique des quatre populations dominantes des communautés végétales mesurée <i>in situ</i> après 2 mois d'acclimatation au réchauffement nocturne.....	253
Figure A4-2. Schéma de dissection des talles de <i>D. glomerata</i> pour les mesures de teneurs en sucres dans les limbes et les gaines.....	254
Figure A5-1. Prélèvements des cultures en tubes, et schéma de découpage de la colonne de sol et des racines.....	256
Figure A5-2. Ajustement non-linéaire d'un profil racinaire basé sur une courbe logistique LDR.....	258
Figure A5-3. Mesures de photosynthèse du couvert en système fermé sur les cultures en bacs.....	262
Figure A6-1. Dynamique de la production aérienne des communautés végétales selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches.....	265
Figure A6-2. Dynamique de la production aérienne des types fonctionnels selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches	266
Figure A6-3. Teneurs en azote des fourrages exportés en 2010 et 2011 selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches	267
Figure A7-1. Relations entre l'élongation foliaire maximale et la teneur en eau du sol.....	269
Figure A7-2. Effets directs de la teneur en eau du sol sur la sénescence foliaire.....	270
Figure A7-3. Relations observées entre la teneur en fructanes à degré de polymérisation ≥ 5 et la stabilité membranaire des cellules racinaires	271
Figure A7-4. Coupes transversales de racines prélevées à 0-15cm après coloration ou non au TTC et observées au microscope électronique à la fin de la sécheresse sévère.....	271

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1-1. Principaux traits mesurés sur les herbacées et leurs fonctions écologiques associées.....	54
Tableau 2-1. Composition initiale des communautés observée en avril 2009 selon la méthode des points quadrats.....	73
Tableau 2-2. Descriptif des traitements climatiques appliqués sur les communautés végétales en 2009.....	75
Tableau 2-3. Calendrier des fauches appliquées pendant les trois années d'expérimentation sur les traitements de fauches.....	78
Tableau 2-4. Mesures réalisées, pendant l'expérimentation <i>in situ</i> , à l'échelle des communautés et des populations végétales sur les compartiments aériens et souterrains.....	79
Tableau 2-5. Taux de réussite au test de germination et densités de semis réalisées pour la mise en culture des populations étudiées.....	83
Tableau 2-6. Dates des coupes réalisées sur les cultures en bacs et en tubes pendant la durée de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées.....	84
Tableau 2-7. Mesures réalisées en conditions semi-contrôlées à l'échelle des populations végétales dans les cultures en bacs et en tubes	89
Tableau 3-1. Annual and seasonal air temperature, cumulated precipitations and climatic water balance: cumulated P - PET, for the four climatic treatments.....	100
Tableau 3-2. Effects of climate and cutting treatments, date of observation and their interactions on green tissue percentage of community and plant functional type abundances in green tissue, observed during the dehydration and subsequent rehydration periods.....	105
Tableau 3-3. Effects of climate and cutting treatments, year, and their interactions on annual biomass production of community and plant functional types analyzed across all three years and for each year.....	110
Tableau 3-4. Shoot N export cumulated over three years for the four climatic treatments and the two cutting frequencies.....	110
Table 3-S1. Annual and seasonal air temperature, cumulated precipitations, and cumulated climatic water balance of the experimental site for the reference period (1969-1999).....	125
Tableau 3-5. Résultats statistiques des ANOVA multifactorielles réalisées sur la diversité spécifique des communautés végétales, les indices de Shannon-Wiener et de Pielou, et sur la redondance fonctionnelle des Poacées, des Fabacées et des dicotylédones non-fixatrices, pendant les trois années d'expérimentation.....	128
Tableau 3-6. Résultats statistiques des ANOVA multi-factorielles réalisées sur les abondances relatives des espèces dominantes observées au printemps dans les communautés par la méthode des points quadrats.....	129
Tableau 4-1. Effects of climate treatments, cutting frequencies and soil depths and their interactions on root length growth rate observed during the course of experiment.....	147
Tableau 4-2. Effects of climate treatments, cutting frequencies and soil depths and their interactions on root	

length mortality rate observed during the course of experiment.....	148
Tableau 4-3. Effects of climate treatments, cutting frequencies and soil depths on root length production, root length mortality and net root length production measured during summer and autumn in 2009 and during 2009 and 2010.....	154
Tableau 4-4. Mean root longevity measured during the experiment according to four climate treatments, two cutting frequencies and two soil depths.....	155
Tableau 4-S1. Effect of climate treatments, cutting frequency and their interaction on soil temperature and soil water content during the course of the experiment.....	168
Tableau 5-1. Climate conditions under full irrigation in spring, moderate and severe drought, during the first two weeks of rehydration and the recovery period in 2011 and 2012.....	177
Tableau 5-2. Mean values of plant traits measured under full irrigation, moderate drought and severe drought....	182
Tableau 5-3. Effects of moderate drought and severe drought on plant traits measured for the seven herbaceous populations.....	187
Tableau 5-4. Correlations among plant traits measured under full irrigation, moderate drought and severe drought in order to determine traits associated to dehydration avoidance and dehydration tolerance strategies, plant survival and one-year recovery of aerial green tissue.....	193
Tableau 5-5. Spring forage production, root standing mass and root-shoot ratio observed in spring before the drought treatment and one year after, and resilience index of spring forage production	214
Tableau 5-6. Lasting effects of drought on spring forage production, root standing mass and root-shoot ratio observed one year after the drought treatment.....	214
Tableau 5-7. Correlation among plant traits measured under full irrigation in spring, moderate and severe drought in 2011 and one year after in spring 2012.....	215
Tableau 6-1. Types fonctionnels basés sur les stratégies d'acquisition des ressources, d'évitement et de tolérance à la sécheresse, identifiés chez les sept populations prairiales étudiées.....	225
Tableau A2-1. Effet bloc et effets des traitements sur la diversité des communautés végétales <i>in situ</i> et l'abondance des types fonctionnels au stade initial.....	242
Tableau A2-2. Effet bloc et effets des traitements sur l'abondance des espèces dominantes des communautés végétales <i>in situ</i> au stade initial.....	242
Tableau A2-3. Effet bloc et effets des traitements sur l'abondance des espèces subordonnées des communautés végétales <i>in situ</i> au stade initial.....	243
Tableau A3. Effet bloc et effets des traitements sur les cumuls de longueur racinaire totale et par classe de diamètre (D1 : < 0.1 mm ; 0.1 < D2 < 0.2 mm ; D3 > 0.2mm) au stade initial.....	250
Tableau A5. Ordre de prélèvement des populations végétales à chaque campagne de mesures.....	256

TABLE DES ENCADRES

Encadré 1-1. Définitions des concepts utilisés pour décrire la dynamique des systèmes biologiques.....	30
Encadré 1-2. Principaux processus biologiques et physiques impliquées dans la résilience écologique des systèmes pâturés.....	33

LISTE DES ABREVIATIONS

Abbreviations	Significations	Unit / Reference
ANPP	Above-ground net primary production	g DM m ⁻²
CO ₂	Carbon dioxide	
CH ₄	Methane	
CMS	Cell membrane stability	%
D ₉₅	95% rooting depth	cm
D _{max}	Maximum rooting depth	cm
Gs	Leaf stomatal conductance	mmol m ⁻² s ⁻¹
HDP	Fructan with degree of polymerization (DP) ≥5 contents	mg g ⁻¹ DM
LDMC	Leaf dry matter content	g FM g ⁻¹ DM
LER _{max}	Maximum leaf elongation rate	mm d ⁻¹
LNC	Leaf nitrogen content per dry matter	gN g ⁻¹ DM
LRWC	Leaf relative water content	%
LS	Leaf senescence	%
MWC	Leaf meristem water content	%
N export	Nitrogen content of harvested forage	g N m ⁻²
N ₂	Diazote	
N ₂ O	Nitrous oxide	
NH ₄ ⁺	Ammonium	
NO ₃ ⁻	Nitrate	
NUE	Nitrogen use efficiency	g DM g ⁻¹ N day ⁻¹
Osug	Amount of water soluble carbohydrates in storage organs	mg
P	Precipitations	mm
PAR	Photosynthetically active radiation	W m ⁻²
PET	Cumulated potential evapotranspiration	mm
P-PET	Cumulated climatic water balance	mm
RDMC	Root dry matter content	g FM g ⁻¹ DM
RECOV	One-year recovery of canopy green tissue	%
RI	Resilience index of spring forage production	
RLM	Root length mortality	mm cm ⁻²
RLP	Root length production	mm cm ⁻²
RLP _{net}	Net root length production	mm cm ⁻²
RM	Root Mass	kg DM m ⁻³
RNC	Root Nitrogen Content per dry matter	gN g ⁻¹ DM
RRWC	Root relative water content	%
RS	Root-shoot ratio	
Rsug	Amount of water soluble carbohydrates in roots	mg
SLA	Specific leaf area	m ² g ⁻¹ DM
SRL	Specific Root Length	m g ⁻¹ DM
SP	Spring forage production	g DM m ⁻²
SURV	Survival rate of plant after two weeks of rehydration	%
SWC	Soil water content	m ³ m ⁻³ or %
SWCel	Soil water content at the end of leaf growth	m ³ m ⁻³
SWCs	Soil water content at 50% of leaf senescence	m ³ m ⁻³
T	Air temperature	°C
TotSug	Amount of water soluble carbohydrates in root and storage organs	mg
Tr	Leaf transpiration	mmol m ⁻² s ⁻¹
Tsoil	Soil temperature	°C
VPD	Vapor pressure deficit	Pa
WSC	Water soluble carbohydrate content	mg g ⁻¹ DM
WU	Water used	g kg ⁻¹

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation des terres pour la production alimentaire est l'une des activités anthropiques qui a contribué fortement à la dégradation des écosystèmes depuis les 50 dernières années (MEA, 2005). De plus, la durabilité des services offerts par les systèmes biologiques, comme la production alimentaire, la purification de l'air et de l'eau, le maintien de la biodiversité et la régulation des invasions par les pathogènes, est d'autant plus menacée par les tendances actuelles d'évolution du climat (IPCC, 2007b). L'intensification des extrêmes climatiques est un aspect émergent du changement climatique qui implique un besoin urgent d'améliorer notre compréhension des conséquences écologiques et agronomiques, à plus ou moins longs termes, que peuvent avoir ces phénomènes brutaux et imprévisibles (IPCC, 2012). Pour cela, la manipulation des facteurs climatiques à l'échelle de l'écosystème est une approche expérimentale nécessaire, car elle permet de conserver les processus biotiques et abiotiques impliqués dans le fonctionnement du système (Jentsch *et al.*, 2007; Beier *et al.*, 2012).

Ce travail de thèse a pour objectif de mettre en évidence les effets directs d'une canicule-sécheresse, *via* la production aérienne et souterraine, et indirects, *via* des changements de composition spécifique sur les communautés végétales rencontrées en prairie permanente de moyennes montagnes. Il vise à évaluer leur capacité à résister et à récupérer, ainsi que le rôle de la gestion dans ces processus. Le cadre conceptuel de la thèse repose sur une approche fonctionnelle basée sur différentes échelles spatiales (de l'organe à la communauté) et temporelle (perturbation climatique, récupération court terme et trois ans après). Elle vise à identifier les traits aériens et souterrains impliqués dans la résistance à la sécheresse pour relier le fonctionnement et la structure des communautés végétales soumises à un extrême climatique. La suite de cette partie introductive reprend les connaissances préexistantes qui nous ont conduits à développer les questions et les hypothèses de la thèse. Puis la démarche et la justification des choix réalisés pour l'élaboration de ce travail sont présentées en dernière partie de ce chapitre.

Chapitre 1 :

ETAT DE L'ART

1. La vulnérabilité des écosystèmes face au changement climatique

a. Le changement climatique

Le climat peut se définir comme un ensemble de facteurs fluctuants, qui dans leur succession saisonnière, caractérisent une région ou un site (de Parcevaux & Hubert, 2007). A l'échelle du globe, il est essentiellement conditionné par la distribution de l'énergie solaire, la circulation atmosphérique, et les transferts de vapeur d'eau, ainsi que par leurs interactions avec les surfaces océaniques et continentales (IPCC, 2001a). Les conditions météorologiques qui caractérisent le climat sont le plus souvent décrites par la moyenne et la variabilité des températures, des précipitations, du vent, du rayonnement, de l'humidité, et de la couverture nuageuse sur une période donnée (IPCC, 2007a). Au cours des siècles, le climat évolue avec des fluctuations d'amplitudes et de périodicités irrégulières, mais avec une alternance relativement régulière entre des ères glaciaires de longues durées (~ 80 000 ans) et interglaciaires plus clémentes et plus courtes (10 000 à 20 000 ans). Il est admis que l'actuelle période interglaciaire a débuté il y a quelques dix millénaires (IPCC, 2007a). Si l'histoire du climat de la planète est de plus en plus connue, les causes de ces fluctuations ne font pas l'unanimité. Cependant, les variations de l'activité solaire, les modifications des paramètres de l'orbite terrestre, les fluctuations de l'activité volcanique, du champ magnétique, et de la composition de l'atmosphère, considérée comme la plus instable, sont les hypothèses les plus avancées (IPCC, 2007a).

Depuis la révolution industrielle au milieu du 18^e siècle, l'impact des activités anthropiques s'est ajouté à la variabilité naturelle du climat ; et les concentrations des gaz à effet de serre n'ont cessé d'augmenter avec une rapidité sans précédent dans l'histoire de la planète (IPCC, 2007a). La concentration en dioxyde de carbone (CO₂) est ainsi passé de 280 ppm à 400 ppm¹ de 1750 à 2013 (IPCC, 2007a). De par des mécanismes rétroactifs, la température moyenne de surface a augmenté de 0.6° C (avec une incertitude de ± 0.2° C) depuis 1860 (IPCC, 2007a). Le XX^e siècle a probablement été le plus chaud depuis 1 000 ans

¹ ppm : (parties par million) désigne le rapport du nombre de molécules de gaz à effet de serre au nombre de molécules d'air sec. 300ppm signifient 300 molécules de gaz à effet de serre par million de molécules d'air sec.

et la décennie 1990 a connu le réchauffement le plus important de ce siècle. La véracité de ce changement climatique a été apportée par de nombreux rapports sur l'évolution du climat (IPCC, 2001b, 2007b, 2012). Il est appréhendé via une modification significative de la moyenne (annuelle ou saisonnière) des facteurs climatiques sur une période prolongée par rapport à une moyenne de référence d'au moins 30 ans (IPCC, 2012). En plus de la tendance moyenne de l'évolution du climat, de nouvelles inquiétudes apparaissent depuis une décennie concernant l'augmentation de la variabilité climatique car la conjugaison de ces deux phénomènes accroît fortement les risques d'apparition d'extrêmes climatiques (Fig. 1-1), tels que les canicules - sécheresses² (Meehl *et al.*, 2000a, 2000b; Easterling, 2000; Tebaldi *et al.*, 2006; IPCC, 2012). En d'autres termes, si la variabilité autour de la moyenne augmente, la probabilité d'avoir un événement extrême est d'autant plus élevée. Un extrême climatique se définit statistiquement par des anomalies climatiques, c'est-à-dire des valeurs au-dessus (ou en-dessous) des valeurs maximales (ou minimales) observées sur une période de référence d'au moins 30 ans (IPCC, 2012).

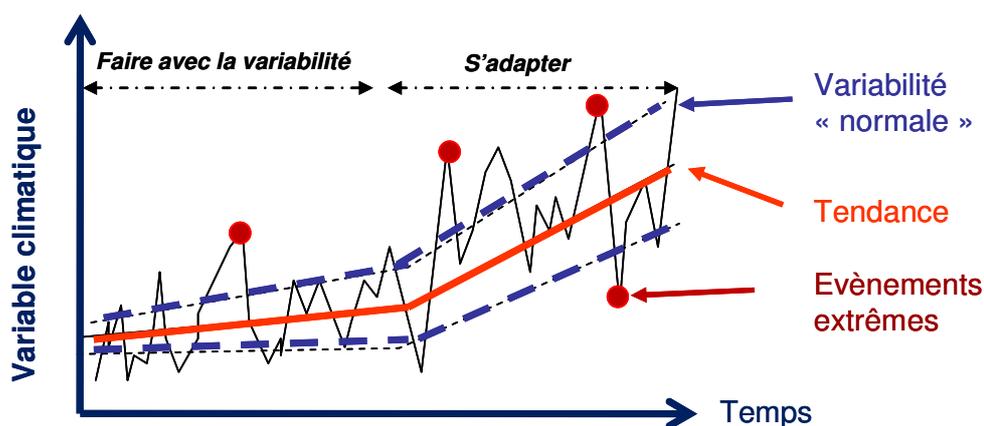


Figure 1-1. Schéma théorique illustrant la probabilité d'apparition des événements extrêmes sous l'effet d'une augmentation de la moyenne et de la variabilité du climat.

D'après des modèles climatiques, les différents scénarios sur l'évolution de la concentration des gaz à effet de serre, du plus optimiste au plus pessimiste, prévoient une augmentation de la concentration en CO₂ comprise entre 540 et 970 ppm, un réchauffement de la température de l'air compris entre 1,1 et 6,4°C et une réduction de la pluviométrie estivale de l'ordre de 10 à 30% en Europe d'ici la fin du XXI^e siècle (IPCC, 2007b). De plus, les maximums de températures observés actuellement tous les 20 ans en Europe pourraient augmenter de 1 à 3°C d'ici 2050, et de 2 à 5°C d'ici la fin du XXI^e siècle (IPCC, 2012). Les

² Déficit pluviométrique accompagné de températures très supérieures aux normales saisonnières, ce qui a pour conséquences d'induire un assèchement très précoce des sols superficiels (Meteo France, 2011).

sécheresses estivales observées actuellement tous les 100 ans dans le Sud de l'Europe pourraient avoir une récurrence de 10 à 50 ans d'ici 2070 (Lehner *et al.*, 2006; IPCC, 2012). D'autres modèles de simulations suggèrent également un effet rémanent de ces extrêmes climatiques d'une saison à une autre, ce qui aggraverait l'ampleur des conséquences biologiques et économiques pour le secteur agricole (Wang, 2005).

Ces différents facteurs climatiques intervenant dans la régulation des processus physiques et biologiques des écosystèmes sont susceptibles de modifier leur fonctionnement. De nombreux changements physiques, tels que la réduction de la couverture neigeuse, l'augmentation du niveau de la mer ont déjà été recensés et coïncident avec le réchauffement climatique observé (Fig. 1-2) (IPCC, 2007b). Au niveau des producteurs primaires terrestres, des phénomènes de migration ont été observés avec le déplacement en haute altitude ou latitudes d'arbres forestiers (Thompson & Mackey, 2009). Des changements dans la phénologie et la productivité des plantes ont également été remarqués (Seguin & Soussana, 2008). Ces phénomènes soulignent ainsi une sensibilité, parfois élevée, des écosystèmes au changement climatique actuel. Avec ces effets en cascades, la biodiversité est d'ores et déjà menacée, et on estime qu'environ 50% des espèces actuellement connues sont susceptibles de disparaître d'ici 300 à 400 ans (Pimm *et al.*, 1995; Pimm & Raven, 2000; Chapin *et al.*, 2000). Certains scientifiques évoquent même une future crise biologique (Myers & Knoll, 2001).

L'histoire de la planète a déjà été marquée par de nombreux changements climatiques, parfois violents, avec des conséquences plus ou moins importantes sur la biodiversité. Par exemple, pendant la période de l'Eocène³ la plus chaude (+12°C par rapport à la moyenne actuelle) la plus riche en CO₂ atmosphérique (> 1000 ppm) il y a environ 50 million d'années, des enregistrements fossiles de végétaux ont révélé un turnover important des espèces avec parfois une diversité très élevée dans certaines régions du globe (Willis *et al.*, 2010; Willis & MacDonald, 2011). En réponse à ces fortes concentrations en CO₂, les plantes ont montré une certaine capacité d'adaptation en ajustant par exemple leur densité stomatique (Beerling & Woodward, 1996). Mais ces processus d'adaptation relativement lents s'opèrent sous l'effet de changements progressifs des conditions du milieu (Emerson & Gillespie, 2008). Ainsi de nombreuses questions émanent quant à la capacité d'adaptation des écosystèmes et des systèmes agricoles à la rapidité des changements moyens, ainsi qu'aux changements brutaux

³ Maximum thermique du passage de Paléocène-Eocène il y a 50 à 60 millions d'années.

du climat (MEA, 2005; IPCC, 2012). Dans ce contexte, comprendre la capacité d'adaptation d'un écosystème au changement impose d'en comprendre plus clairement le fonctionnement.

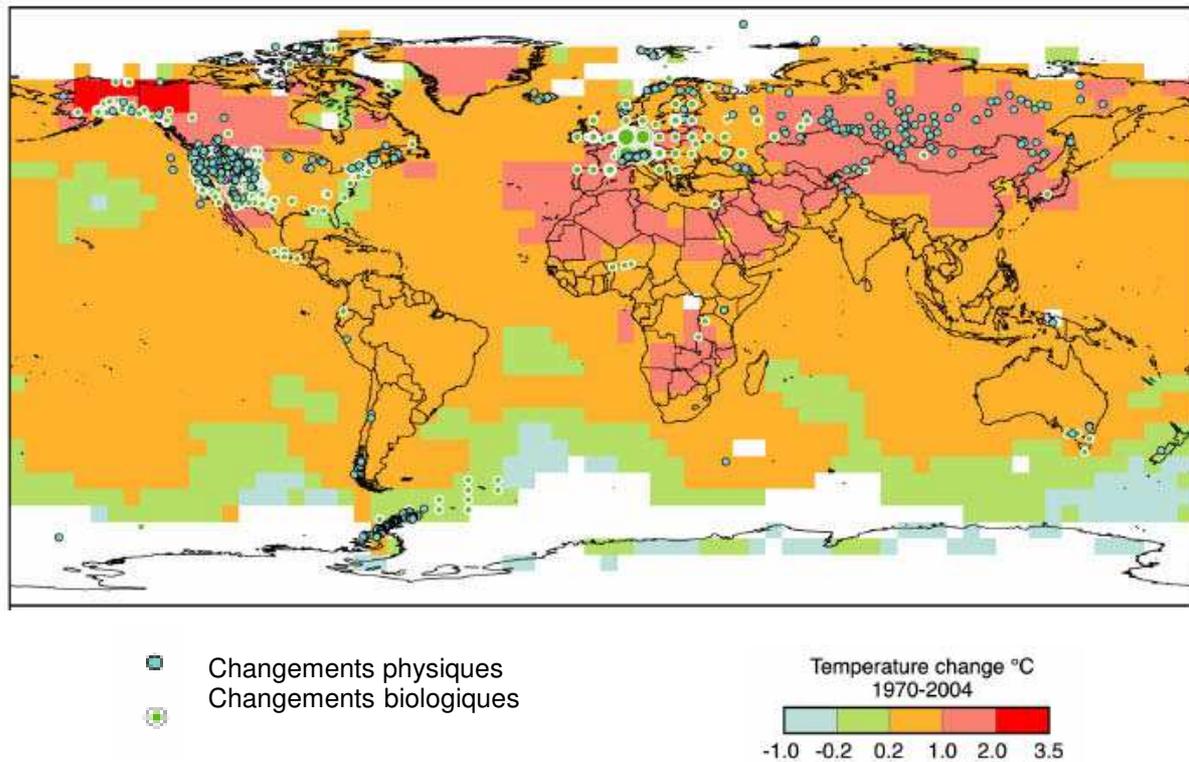


Figure 1-2. Changements physiques (diminution de la couverture neigeuse et glaciaire, modification des courants marins...) et biologiques (migrations d'espèces, impacts sur l'abondance et la diversité des espèces au sein des écosystèmes terrestres, marins et d'eau douce) en lien avec le réchauffement moyen de la température de l'air observé sur la période 1970-2004. La carte a été réalisée à partir de 29 000 séries de données, les zones blanches représentent les zones pour lesquelles les données sont indisponibles. (source : IPCC, 2007b)

b. Fonctionnement d'un écosystème

On peut définir un écosystème, comme un ensemble d'organismes vivants en interaction et associés aux conditions environnementales du milieu dans lequel ils vivent (Tansley, 1935). Les écosystèmes sont des systèmes complexes au sein desquels les composantes biotiques et abiotiques du système sont reliées entre elles par des échanges énergétiques, d'eau, de matière et de nutriments (cycles biogéochimiques). L'énergie entre dans le système principalement grâce à l'énergie solaire, le carbone est assimilé par les producteurs primaires autotrophes (plantes, algues, bactéries), via la photosynthèse (Fig. 1-3). Puis, le carbone est transféré aux autres organismes par ingestion de la matière fraîche, ou par décomposition des matières organiques (Davet, 1996), et est réémis directement dans l'atmosphère par la respiration. Les matières organiques végétales représentent la principale source de carbone pour les organismes du sol (Steinaker & Wilson, 2005; Fontaine *et al.*, 2007). Le carbone du sol est réémis dans l'atmosphère sous forme de CO₂ par la respiration des microorganismes ou des

enzymes libres du sol (Maire *et al.*, 2012). L'azote entre dans le système principalement par la fixation de l'azote atmosphérique (N_2) des bactéries, ou directement par la fertilisation azotée dans le cas des systèmes anthropisés. L'azote, sous forme de N_2 , est réémis par les micro-organismes après les processus de nitrification et dénitrification (Fig. 1-3). Les différents composés (NH_4^+ : ammonium ; NO_3^- : nitrates) obtenus par ces processus contribuent directement à l'alimentation minérale des organismes autotrophes.

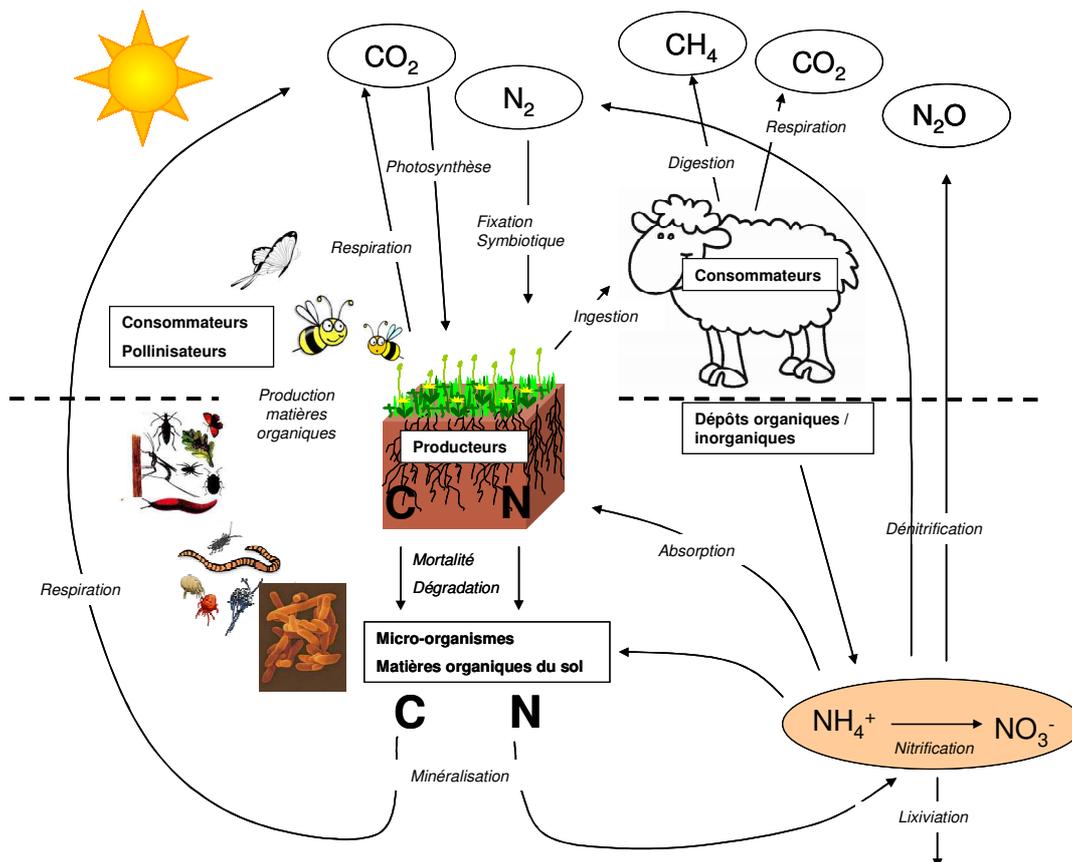


Figure 1-3. Cycles du carbone et de l'azote dans un écosystème. Les différents processus à l'interface entre les différents compartiments de l'écosystème sont représentés en italique. (Adapté de Balesdent *et al.* (2005))

Les propriétés d'un écosystème émergent donc de ce réseau d'interactions entre des processus lents et rapides organisés sur différentes échelles spatiales (Odum & Barrett, 1971). Ces sont aussi des systèmes dynamiques qui tendent à évoluer vers un état théorique stable (Odum, 1969), au sein desquels la diversité des espèces, leur fonctionnement et leurs attributs génétiques sont maintenus, et contribuent à la résilience du système (Grimm *et al.*, 1992). Néanmoins, soumis à des perturbations environnementales, liées au climat ou la gestion, ces processus de fonctionnement sont modifiés dans le temps et dans l'espace. Depuis une trentaine d'années, les écologues cherchent à comprendre comment la variabilité et la diversité interagissent pour maintenir le fonctionnement des écosystèmes dans son état d'équilibre, d'où l'apparition de nombreux concepts dans la littérature (Encadré 1-1).

Encadré 1-1 : Définitions des concepts utilisés pour décrire la dynamique des systèmes biologiques

Stabilité : un système est considéré stable si et seulement si ses processus de fonctionnement (variables du système, comme la production, les cycles biogéochimiques, etc.) retournent à leur équilibre initial après avoir été perturbés. Un système est 'localement' stable lorsqu'il revient à son stade initial après de petites perturbations et 'globalement' stable quand il revient à son stade initial après de fortes perturbations (Pimm, 1984).

Bassin d'attraction : L'ensemble des valeurs des variables du système au sein duquel le système oscille autour de son stade d'équilibre définit son domaine de stabilité (Pimm 1984).

Persistance : la durée pendant laquelle les variables du système sont maintenues autour de leur stade d'équilibre avant d'être modifiées, caractérise la persistance du système (Pimm, 1984).

Résistance : le degré auquel les variables du système sont modifiées lors d'une perturbation permet de définir la résistance du système. L'inverse de la résistance est la sensibilité. (Pimm, 1984)

Récupération : processus de réorganisation de la structure et des fonctions d'un système après avoir été soumis à une perturbation (Folke et al. 2004)

Variabilité : la variance, l'erreur standard ou le coefficient de variation des variables du système peuvent être utilisés pour caractériser leur variabilité sur une période donnée (Pimm, 1984; Tilman et al., 1998; Worm & Duffy, 2003).

'Engineering resilience' : caractérisée par une unité de temps, la résilience d'ingénierie représente la rapidité à laquelle le système retourne à son stade d'équilibre après une perturbation (Holling, 1996).

'Ecological resilience' : la résilience écologique mesure la quantité de changement ou de perturbation nécessaire pour faire basculer la structure et les processus de fonctionnement d'un système vers un autre état d'équilibre caractérisé par une structure et des processus de fonctionnement différents (Holling, 1996)

Depuis ces 20 dernières années, les débats sur le rôle de la biodiversité dans le fonctionnement des écosystèmes se sont également multipliés (Hector *et al.*, 2001; Naeem, 2002). La diversité pourrait renforcer les fonctions écosystémiques telles que la séquestration du carbone, le cycle des nutriments et la résistance contre les invasions biologiques (Naeem *et al.*, 1994; Heijden *et al.*, 1998; Loreau *et al.*, 2002; Hooper & Dukes, 2003; Hooper *et al.*, 2005; Hector & Bagchi, 2007). Dans les milieux de productivité intermédiaire, une augmentation de la diversité spécifique et/ou fonctionnelle renforce les processus de fonctionnement tels que la production de biomasse ('overyielding') (Díaz *et al.*, 2003; Hooper *et al.*, 2005), la quantité des ressources (eau et nutriments) consommées, et la décomposition de la matière organique (Hooper & Vitousek, 1997, 1998). Bien qu'ayant un effet négatif sur la densité des populations, il a également été montré qu'une augmentation de la diversité renforce la stabilité des systèmes biologiques (Tilman & Downing, 1994; Tilman, 1996, 1999, 2006; Tilman *et al.*, 1996; Lehman & Tilman, 2000; Cottingham *et al.*, 2001).

Plusieurs théories ont alors été proposées pour expliquer la relation positive entre la diversité et le fonctionnement des écosystèmes (Fig. 1-4). La première hypothèse repose sur la présence d'interactions positives entre les organismes, telles que la complémentarité des niches écologiques (Tilman, 1997; Loreau, 2000; Dukes, 2001; Loreau & Hector, 2001; Tilman *et al.*, 2001; Felten & Schmid, 2008) ou la facilitation (Choler *et al.*, 2001; Bruno *et*

al., 2003; Michalet *et al.*, 2006; Brooker *et al.*, 2007; Beltrán *et al.*, 2012). Ainsi, la complémentarité des niches entre les populations permettrait un meilleur partage des ressources entre elles. La facilitation constituerait une amélioration de leurs performances (niche réalisée) par l'effet positif d'une espèce sur une autre. La seconde hypothèse propose qu'une diversité élevée augmente la probabilité d'avoir des espèces présentant un effet fort sur le fonctionnement des écosystèmes ('sampling effect') (Hooper & Vitousek, 1997; Tilman, 1999). Dans ce cas, deux interprétations sont alors possibles: soit il s'agit d'une propriété intrinsèque des communautés qui influence leur fonctionnement (Hooper & Vitousek, 1997); soit il s'agit d'un artefact expérimental lié au caractère aléatoire de l'assemblage des espèces sans qu'il s'agisse d'une règle générale (Huston, 1997).

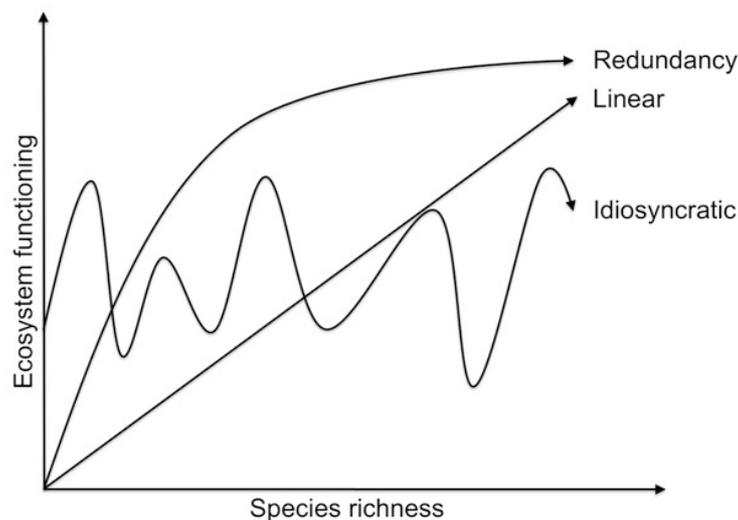


Figure 1-4. Représentation graphique des trois relations théoriques entre la diversité et le fonctionnement des écosystèmes. La relation linéaire peut être observée lorsque l'ajout d'une nouvelle espèce renforce le fonctionnement. La relation de redondance apparaît lorsque plusieurs espèces ont la même influence sur le fonctionnement de l'écosystème. Dans ce cas, l'ajout d'une nouvelle espèce a une influence positive sur le fonctionnement uniquement si elle possède un caractère nouveau pour la communauté. Or la probabilité que cela soit possible diminue à mesure que la diversité augmente. La relation idiosyncratique est observée lorsque les espèces de l'écosystème présentent des effets différents sur le fonctionnement ou lorsque les interactions biotiques renforcent (facilitation, complémentarité) ou inhibent (compétition) les processus de fonctionnement. Dans ce cas, l'ajout d'une nouvelle espèce dans le système peut avoir un effet positif ou négatif non prévisible sur le fonctionnement, et l'effet composition sur le fonctionnement de l'écosystème domine celui de la diversité. (source : Wall & Nielsen, 2012).

Pour expliquer l'effet positif de la diversité sur la stabilité, Tilman *et al.* (1998) proposent un premier mécanisme lié à la diminution de la variation des populations lorsqu'elles sont agrégées en communautés ('portfolio effect'). Ce mécanisme repose sur un effet de compensation dynamique entre les espèces. De plus, la nature asymptotique de la relation diversité-stabilité (Fig. 1-4) amène à la théorie de la redondance fonctionnelle ('functional redundancy') qui considère que les niches écologiques des organismes peuvent se chevaucher

quand la diversité est très élevée (Naeem, 1998; Yashi & Loreau, 1999). En ayant des niveaux de tolérances différents à des perturbations ou à un stress, les organismes ayant un rôle similaire sur le fonctionnement assurent une meilleure résistance et/ou stabilité du système.

Néanmoins, de nombreuses contradictions entre modèles théoriques, échelles d'études et données expérimentales persistent (Schläpfer & Schmid, 1999; Cottingham *et al.*, 2001; Worm & Duffy, 2003; Thompson & Starzomski, 2006) et ne permettent pas d'établir des règles générales, ni de prévoir l'évolution des systèmes naturels sous l'influence des changements globaux (Chapin *et al.*, 2000; McGill *et al.*, 2006). Il faut souligner cependant, que malgré leurs divergences, ces théories sur la stabilité, telles que précédemment définies, font toutes référence à l'existence d'un stade d'équilibre autour duquel oscillent en permanence les variables du système (Pimm, 1984). Grâce à des observations menées à long terme, de nouveaux concepts sur la dynamique et le fonctionnement des écosystèmes ont émergé, en faisant l'hypothèse que les écosystèmes peuvent atteindre plusieurs stades d'équilibre différents (Folke *et al.*, 2004). Holling (1973) introduit le concept de résilience pour comprendre l'aspect non-linéaire du fonctionnement des écosystèmes à travers le temps et distingue deux types de résilience selon la définition de la stabilité considérée (Holling, 1996) (Fig. 1-5).

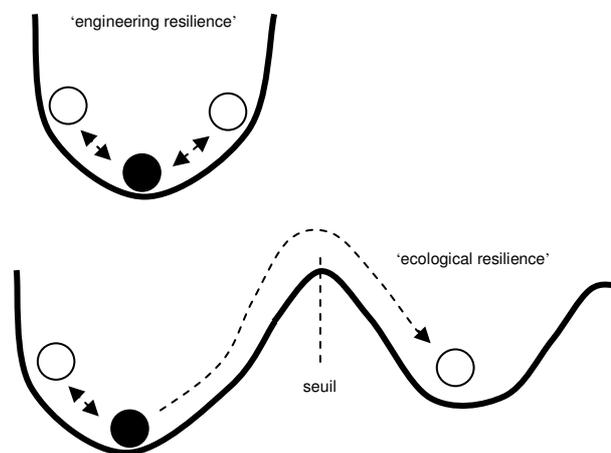


Figure 1-5. Schéma conceptuel illustrant la différence entre 'engineering' et 'ecological resilience'. La différence entre 'engineering' et 'ecological resilience' peut être illustrée de manière heuristique par une balle dans une coupe (Scheffer et al. 1993, Walker et al. 2004). La coupe représente le domaine de stabilité dans l'espace ou son 'bassin d'attraction', dans lequel les variables d'intérêt du système sont relativement stables. La balle représente l'état du système à un moment donné. Le concept de la résilience 'engineering', suppose qu'il existe un seul bassin d'attraction et le fond du bassin représente l'état d'équilibre idéal. Le concept de la résilience écologique repose sur l'hypothèse qu'il existe plusieurs bassins d'attractions possibles pour un même système. Ainsi le système peut bouger au sein d'un même bassin ou passer d'un bassin à un autre après avoir franchi un seuil (adapté de Holling, 1996)

Ainsi, il définit la résilience 'engineering' comme le temps nécessaire à un processus de l'écosystème pour revenir à son stade d'équilibre initial après une perturbation. Mais lorsque un certain seuil de perturbation est franchi, la structure et les processus de fonctionnement du système peuvent se réorganiser et atteindre un nouveau stade d'équilibre (Walker & Meyers, 2004; Briske *et al.*, 2006). La capacité du système à se réorganiser est alors appelée résilience écologique ('ecological resilience') (Holling, 1996). Ainsi, Peterson *et al.* (1998) proposent un cadre théorique basé sur un ensemble de processus spatiaux et temporels au sein desquels les espèces interagissent et contribuent à la résilience écologique du système. Les changements induits par une perturbation peuvent être épisodiques ou continus. Ainsi, pour éviter les erreurs d'interprétation, Walker & Abel (2002) suggèrent une échelle de temps minimum d'au moins 10 ans, bien qu'un suivi basé sur un ou plusieurs siècles est encore plus approprié.

Encadré 1-2 : Principaux processus biologiques et physiques impliqués dans la résilience écologique des systèmes pâturés. Certains sont indépendants des activités anthropiques, mais les pratiques agricoles peuvent être adaptées pour tirer avantage de ces processus. (D'après Walker & Abel, 2002)

- Le climat

- Les périodes de précipitations importantes permettent les processus de récupération de la couverture végétale après une importante perturbation.

- Le sol

- Les propriétés du sol qui permettent une bonne infiltration de l'eau, une faible érosion.
- La présence de litières au sol résistantes à la dégradation pour modifier le microclimat et/ou limiter le développement de nouvelles plantules.
- La juxtaposition de couches pédologiques de propriétés différentes pour restituer ou retenir l'eau permet à la végétation de survivre à des périodes de sécheresse.
- Les caractéristiques pédoclimatiques peuvent aussi favoriser le maintien de la couverture végétale herbacée et limiter l'enracinement des ligneux.

- La topographie

- Le relief du paysage détermine les flux d'eau et de nutriments, et peut ainsi induire des zones de fertilité élevée.

- La végétation

- La végétation assure le maintien des nutriments dans les couches superficielles du sol, d'autant plus que la diversité est élevée.
- Les populations végétales présentant un ratio aérien-souterrain élevé et une importante dissémination des graines est nécessaire au maintien de la couverture végétale et de sa diversité.
- Les communautés végétales de diversité élevée et dotée d'une importante redondance fonctionnelle renforcent le maintien des différents processus de fonctionnement du système lors d'une forte perturbation.
- La variabilité génétique au sein des populations permet aussi une plasticité des réponses aux perturbations et une meilleure capacité d'adaptation.
- La banque de graines du sol et les diverses propagules (ou organes de réserves) peuvent assurer une certaine 'mémoire' qui influencera la structure des communautés végétales pendant les phases de réorganisation après de fortes perturbations.

Bien que les observations à long terme représentent un intérêt majeur pour la compréhension des dynamiques et les processus d'évolution des écosystèmes sur des échelles de temps plus longues (Encadré 1-2), elles sont généralement limitées statistiquement par un

nombre de répétitions restreint et par l'absence d'un témoin (Carpenter, 1990). De plus, elles sont parfois limitées par l'impossibilité de tester l'effet des interactions, telles que la présence d'événements extrêmes et les pratiques de gestion par exemple (Smith, 2011a). Ainsi, des expérimentations multi-factorielles menées au champ sont nécessaires pour tester les réponses des écosystèmes à des gradients de perturbations et déterminer des seuils de vulnérabilité pour lesquels des changements de fonctionnement s'observent (Smith, 2011a; Jentsch *et al.*, 2012).

Dans cette thèse, nous nous intéressons essentiellement au fonctionnement des communautés végétales. Nous considérons que les communautés végétales peuvent être caractérisées par trois grands aspects : (1) la qualité, caractérisée essentiellement par la composition et la richesse spécifique, (2) la quantité qui fait référence aux processus aériens et souterrains tels que la production de biomasse, la dégradation des matières organiques, etc. , (3) la stabilité, qui fait référence au maintien dans le temps et dans l'espace de la qualité et de la quantité (Worm & Duffy, 2003; Reiss *et al.*, 2009). La structure et le fonctionnement des communautés végétales sont étroitement liés et sont en permanence sous l'influence d'interactions biotiques et abiotiques, agissant comme des filtres environnementaux (Davis *et al.*, 1998; Lortie *et al.*, 2004) (Fig. 1-6).

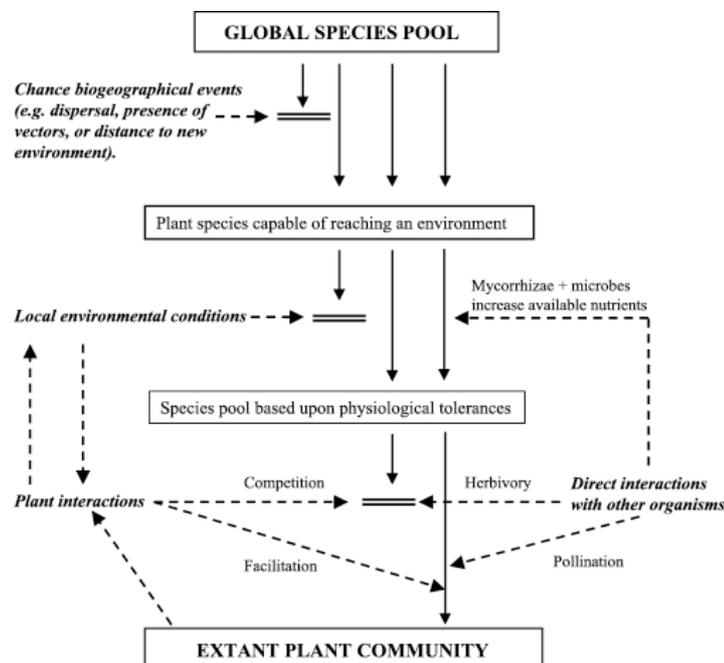


Figure 1-6. Principaux processus et filtres environnementaux à l'origine de la structure des communautés végétales. L'importance relative de ces processus varie dans le temps et l'espace. Chaque processus et filtres (italiques) sont représentés par les lignes horizontales. Les flèches pleines représentent le mouvement des espèces à travers les filtres, les flèches en pointillé représentent l'action des processus sur la structure des communautés. (source : Lortie *et al.* 2004)

Bien qu'un nombre croissant d'études empiriques et expérimentales ont mis en évidence les effets des filtres environnementaux et de la compétition sur la structure des communautés, les processus d'assemblage des espèces au sein des communautés végétales restent mal connus (Mayfield & Levine, 2010). Or il est nécessaire de comprendre comment ces filtres environnementaux agissent sur la stabilité de l'écosystème (voir Hector *et al.*, 2001), pour pouvoir assurer la pérennité des systèmes et des services apportés aux sociétés humaines dans un contexte de changement climatique (Gunderson *et al.*, 2002; Folke *et al.*, 2002). En effet, l'homme fait partie intégrante du fonctionnement des écosystèmes en agissant directement ou indirectement sur leurs processus (MEA, 2005). Lors d'une perturbation, telle qu'une modification des pratiques agricoles ou la survenue d'un événement extrême, la stabilité de la structure et des processus écosystémiques vont dépendre à la fois de leur résistance et de leur capacité de récupération (Grimm *et al.*, 1992; Smith, 2011a). Ce sont donc ces trois notions qui nous intéressent particulièrement dans notre analyse du fonctionnement des systèmes biologiques.

c. Le cas spécifique de la prairie permanente

En Europe, les prairies permanentes sont des surfaces en herbe, semées depuis plus de 6 ans ou jamais renouvelées, où la présence de ligneux est faible (<5%) (AGRESTE, 2010; Plantureux *et al.*, 2012). Elles sont généralement maintenues au stade herbacé par des pratiques agricoles, tels que la fauche ou le pâturage, sans lesquels la végétation évoluerait en friches avant d'atteindre le stade arbustif (Huyghe, 2009). Par ailleurs, leur composition floristique résulte essentiellement des conditions pédoclimatiques et des pratiques de gestion. Les communautés végétales sont généralement dominées par des Poacées pérennes, associées à des Fabacées et autres dicotylédones (Pärtel *et al.*, 2005). Ces communautés le plus souvent sont diversifiées, avec parfois une grande hétérogénéité des habitats à l'échelle du paysage. On parle alors de 'mosaïque' ou de fragmentation des habitats (Pärtel *et al.*, 2005). Ainsi, des fonctions patrimoniales, agronomiques et écologiques sont associées à ces espaces, en terme de conservation de la biodiversité, de l'esthétique des paysages, de qualité de l'herbe produite, du maintien et de la dépollution des sols (Clergué *et al.*, 2005).

Les prairies permanentes occupent 22% du territoire européen (FAOSTAT data, <http://faostat.fao.org>) (Fig. 1-7). En France, elles représentent environ 30% de la surface agricole utile et sont localisées principalement dans les zones peu mécanisables, telles que les montagnes (INA P-G, 2003). La plupart de ces surfaces (70% en France) ont pour vocation de produire des fourrages pour les herbivores des exploitations agricoles (Amiaud & Plantureux,

2011). De 1970 à 2000, l'intérêt porté à ces surfaces était moindre et les pratiques intensives de l'agriculture ont ainsi conduit à une perte d'environ un tiers de la surface initiale, au profit des terres arables en pourtour des bassins céréaliers, ou des friches et des landes dans les zones soumises à la déprise agricole, en voie d'afforestation spontanée (INA P-G, 2003). En revanche, depuis les 10 dernières années, la multifonctionnalité des prairies permanentes est de plus en plus soulignée (Carrère *et al.*, 2002 ; Hopkins & Holz, 2006; Amiaud & Carrère, 2012). En effet, d'un point de vue écologique, la prairie permanente peut être considérée comme un 'agro-écosystème' (Bryant & Snow, 2008) dont les processus de fonctionnement peuvent être associés à des services agronomiques et/ou environnementaux profitables aux sociétés anthropiques (MEA, 2005).

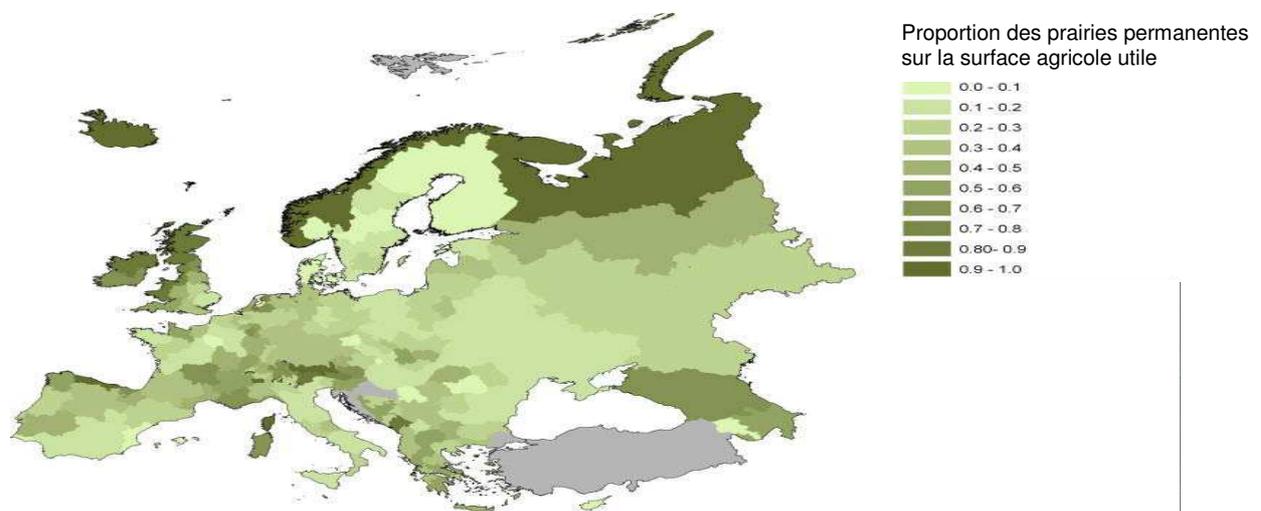


Figure 1-7. Répartition des prairies permanentes en Europe (% de la surface agricole utile) observée sur la période 1995-2004. (source : Smit *et al.*, 2008)

Bien que le potentiel de production des prairies varie selon leur composition et leurs conditions pédoclimatiques (Carrère *et al.*, 2012a), le pic de biomasse est généralement atteint à la fin du printemps (fin de premier cycle des graminées), période pendant laquelle les conditions environnementales sont le plus souvent non-limitantes et où les Poacées sont en phase de reproduction (Baumont *et al.*, 2011). D'autre part, le mode de gestion par la fauche et/ou le pâturage influence aussi la productivité (Ferraro & Oosterheld, 2002), la qualité et la diversité des prairies permanentes (Balent *et al.*, 1993; Duru *et al.*, 2005; Pärtel *et al.*, 2005; Plantureux *et al.*, 2005). De manière générale, la coupe modifie la vitesse de croissance et la phénologie des espèces, en maintenant la croissance végétative, et retarde l'apparition des tissus sénescents (Parsons & Penning, 1988). En revanche, dans un système de coupes peu fréquentes, la restitution au sol des tissus aériens sénescents modifie les cycles

biogéochimiques et favorise la diversité végétale (Plantureux, 1996; Plantureux *et al.*, 2005). En Europe, l'agriculture intensive, et plus particulièrement le labour, les semis et les changements des techniques de production d'ensilage ont conduit, depuis les 50 dernières années, à des pertes importantes de la biodiversité (faune et flore) associée aux prairies semi-naturelles (Carrère *et al.*, 2002; Soussana & Duru, 2007).

Les prairies constituent un excellent modèle en écologie expérimentale, du fait qu'elles soient constituées de plantes herbacées à cycle de développement rapide. Elles peuvent être manipulées aisément, présentent des dynamiques rapides d'évolution et peuvent recéler une diversité biologique élevée. Ces raisons expliquent qu'une part significative des connaissances sur les relations biodiversité - fonctionnement des écosystèmes, sur les cycles biogéochimiques et sur les impacts du changement climatique, ait été acquise en prairie. C'est pourquoi la prairie permanente est le modèle biologique étudié dans ce travail de thèse pour traiter de l'effet d'une canicule-sécheresse sur le fonctionnement des écosystèmes. De plus, des épisodes récents de canicule-sécheresse en Europe ont mis en exergue la vulnérabilité de la production fourragère aux extrêmes climatiques. En effet, avec des températures dépassant de 6°C les normales saisonnières et des déficits de pluviométrie atteignant 300 mm, la sécheresse et la canicule de l'été 2003 ont entraîné une baisse de la production fourragère de 40% en moyenne (AGRESTE, 2009). Les conséquences économiques de cette perte de rendement ont été estimées à 4 milliards d'Euros pour la France et à 13 milliards d'Euros pour l'Europe (COPA COPEGA, 2003), ce qui souligne le besoin urgent d'adaptation des pratiques agricoles à la variabilité climatique actuelle.

2. Réponses de l'écosystème prairial au réchauffement global, à la variabilité des précipitations et aux événements extrêmes

Les principaux facteurs climatiques (CO₂, température, précipitations) peuvent avoir des effets directs et indirects sur la structure et le fonctionnement de l'écosystème prairial. Depuis les années 1990, de nombreuses études expérimentales et empiriques se sont intéressées aux effets de l'augmentation de la concentration en CO₂ sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales. Bien que les résultats sont parfois nuancés par les méthodes expérimentales ou les communautés considérées, les résultats montrent en générale que la photosynthèse, la croissance et la production augmentent (Long *et al.*, 2004; Ainsworth & Long, 2005). De plus, des changements d'abondance relative et de diversité spécifique ont été observés (Chapin *et al.*, 2000). La plupart des études ont montré également une augmentation

de la proportion des Fabacées et une diminution de celle des Poacées dans les communautés herbacées (Owensby *et al.*, 1993; Teyssonneyre *et al.*, 2002; Niklaus & Körner, 2004). Des études complémentaires ont été menées pour comprendre les interactions possibles entre les principaux facteurs climatiques et ont montré que les effets des facteurs combinés peuvent induire des réponses différentes de celles observées à partir des facteurs considérés indépendamment (Norby & Luo, 2004; Luo *et al.*, 2008).

Si de plus en plus d'études visent à comprendre comment les facteurs du climat influencent la structure et le fonctionnement des communautés végétales, le rôle de la variabilité climatique, et plus particulièrement des extrêmes climatiques est moins bien connu (Jentsch *et al.*, 2007; Smith, 2011b). C'est pourquoi dans notre analyse de la littérature, nous nous sommes intéressés à la fois aux effets indépendants et combinés du réchauffement de l'air, de la variabilité des précipitations et des événements extrêmes de type canicule-sécheresse sur le fonctionnement et la structure des prairies permanentes.

a. Effets du réchauffement global sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales

Effets du réchauffement global sur le fonctionnement aérien des communautés végétales

Chez les végétaux, la température a un effet direct sur l'ensemble des processus biochimiques, tels que la photosynthèse et la respiration, à l'origine de leur croissance et de leur développement (Fig. 1-8).

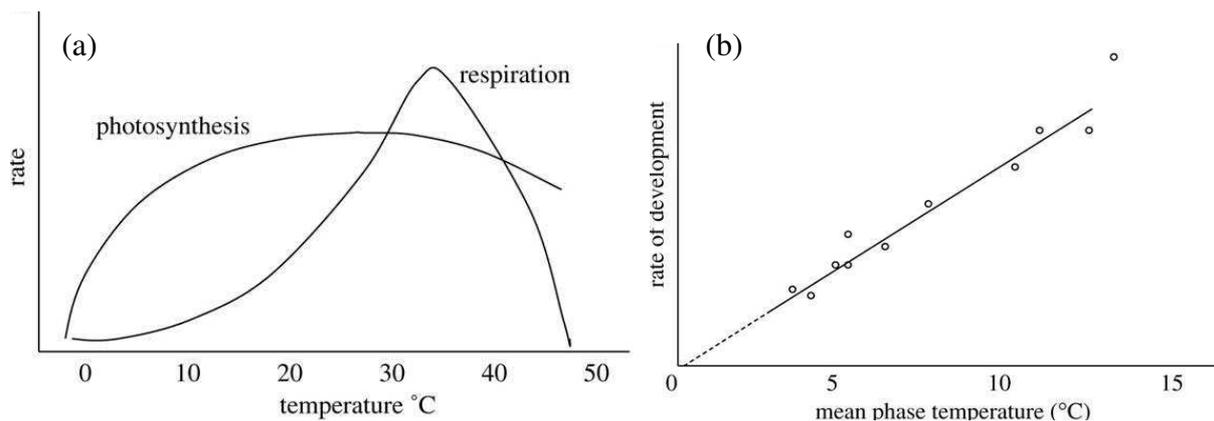


Figure 1-8. (a) Effet directs de la température de l'air sur la photosynthèse et la respiration (b) et le développement des Poacées (Source : Porter & Semenov, 2005).

Dans les zones tempérées, la photosynthèse des Poacées présente un optimum thermique aux environs de 20-25°C (Porter & Semenov, 2005). Selon les saisons, les températures dépassent cet optimum, périodes pendant lesquelles un rayonnement solaire important est

également associé. En moyenne montagne, la croissance aérienne des populations prairiales démarre pour un seuil de température de l'air de 5°C, puis s'accélère avec le réchauffement printanier et peut atteindre jusqu'à 10 kg MS ha⁻¹ j⁻¹ (Soussana & Lemaire, 2007). Puis la somme des températures et des seuils thermiques influencent le développement phénologique des populations végétales (Went, 1953; Porter & Semenov, 2005) (Fig. 1-9). Ensuite en été, des températures plus fortes limitent parfois la croissance et par conséquent, la production fourragère (Baumont *et al.*, 2011).

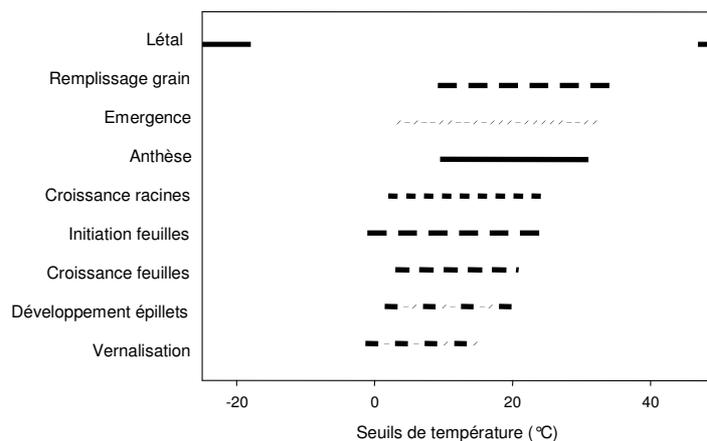


Figure 1-9. Seuils de température associés aux différents stades de développement des Poacées (d'après Porter & Semenov, 2005).

En stimulant la photosynthèse et la respiration du système, la croissance et le développement des plantes, le réchauffement de l'air peut avoir des effets positifs sur la production aérienne des communautés végétales (Shaver *et al.*, 2000; Luo, 2007; Wu *et al.*, 2011). Néanmoins, les résultats expérimentaux diffèrent parfois selon la géographie des sites considérés et les populations étudiées (Peñuelas *et al.*, 2004). Par exemple, sur un couvert de ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.), un réchauffement de l'air de 3°C n'a pas eu d'effet significatif sur l'assimilation nette du carbone (Casella & Soussana, 1997). D'autre part, sur une durée prolongée, le réchauffement moyen peut entraîner une acclimatation de la photosynthèse (Kattge & Knorr, 2007; Maire, 2009) et de la respiration (Gifford, 2003), principalement *via* des mécanismes de rétrocontrôle par les sucres solubles jusqu'à la modification de l'expression de certains gènes (Larcher, 1995). Ainsi, il est nécessaire de considérer à la fois (1) les processus de fonctionnement à l'échelle de la communauté végétale pour décrire les réponses du système, et (2) l'échelle des populations pour identifier les espèces ou groupes d'espèces plus ou moins tolérantes au réchauffement global.

Après un an d'acclimatation, des effets indirects du réchauffement ont été mis en évidence sur la durée de la saison de végétation ou sur la phénologie des populations, avec une date de floraison plus précoce (Parmesan & Yohe, 2003; Sherry *et al.*, 2007; Lemmens *et al.*, 2008; Bloor *et al.*, 2010). Néanmoins, cet effet est plus ou moins marqué selon les populations considérées (Jensen, 2003). Ce phénomène peut s'accompagner d'une augmentation de la production printanière à l'échelle des communautés végétales (Bloor *et al.*, 2010). Mais les saisons suivantes, cet effet positif sur la production est réduit du fait de la contrainte hydrique et d'une plus faible disponibilité en nutriments en été (Luo, 2007). En effet, le réchauffement de l'air conduit à une augmentation de l'évapotranspiration et par conséquent à une diminution de la disponibilité en eau du sol (Harte *et al.*, 1995; Wan *et al.*, 2002; Llorens *et al.*, 2004; Huntington, 2006). La production annuelle des communautés végétales peut donc dans certains cas être affectée positivement (Rustad *et al.*, 2001; Dukes *et al.*, 2005; Grime *et al.*, 2008) ou négativement (De Boeck *et al.*, 2006, 2007a, 2008). Parfois, l'effet printanier compense seulement les pertes associées aux saisons suivantes (Bloor *et al.*, 2010). A plus long terme, l'effet positif du réchauffement disparaît et des pertes significatives de la production annuelle des communautés végétales ont été mesurées (De Boeck *et al.*, 2008; Cantarel *et al.*, 2013). Ainsi, des effets rémanents du réchauffement après acclimatation des plantes ne peuvent être exclus (Sherry *et al.*, 2008), et des changements de la quantité de litière produite pourrait également influencer la disponibilité de l'azote à plus long terme (Zhou *et al.*, 2009).

Effets du réchauffement global sur la structure des communautés végétales

La composition des espèces au sein des communautés reflètent les interactions entre les différents organismes sous les contraintes environnementales. Ainsi, en modifiant directement l'activité et la phénologie des populations végétales, le réchauffement peut induire des changements de distribution des populations végétales (Peñuelas & Boada, 2003; Parmesan & Yohe, 2003; Grime *et al.*, 2008). De plus, les plantes C₄ présentant des optimums de température pour la photosynthèse et la croissance supérieurs aux plantes C₃ (Sage & Monson, 1999) seraient favorisées par le réchauffement global (Wan *et al.*, 2005; Luo, 2007; Sherry *et al.*, 2008). Dans des prairies alpines, des changements de composition ont également été mis en évidence avec une augmentation de l'abondance des ligneux et la diminution des dicotylédones herbacées (Harte & Shaw, 1995; Valpine & Harte, 2001), bien qu'une étude similaire n'a montré aucun effet significatif (Price & Waser, 2000). Ces résultats

différents pourraient s'expliquer par une couverture neigeuse plus importante au cours des saisons (Price & Waser, 2000).

Dans les prairies permanentes des milieux plus tempérés, où le recouvrement neigeux dure moins longtemps, les changements phénologiques liés au réchauffement, tels que précédemment décrits, peuvent réduire la complémentarité existante entre les groupes taxonomiques (Keddy, 1992). En effet, la proportion des Poacées diminue au profit des Fabacées après plusieurs années d'exposition à un réchauffement de l'air (+3°C) (Cleland *et al.*, 2006; Bloor *et al.*, 2010; Cantarel *et al.*, 2013). En fait, les Fabacées ont un optimum thermique plus élevé que celui des Poacées, ce qui pourrait renforcer leur fixation symbiotique (Soussana & Hartwig, 1996). Néanmoins, Grime *et al.* (2008) suggèrent que ces effets observés ne sont que transitoires car la proportion des différents groupes taxonomiques reste relativement stable sur une période de 13 ans d'exposition au réchauffement de l'air. A l'échelle des populations, les résultats expérimentaux sont relativement variables, mais indiquent généralement des changements dans l'abondance des populations dominantes (Grime *et al.*, 2000; Valpine & Harte, 2001; Zavaleta *et al.*, 2003; Bloor *et al.*, 2010). Le réchauffement de l'air pourrait aussi favoriser la diversité végétale (Zavaleta *et al.*, 2003), bien que des observations *in situ* réalisées à plus long terme ont montré peu ou pas d'effet (Price & Waser, 2000; Grime *et al.*, 2008; Bloor *et al.*, 2010; Cantarel *et al.*, 2013).

D'autre part, les changements phénologiques des populations végétales et les changements de composition pourraient également altérer d'autres interactions biotiques tels que les processus de pollinisation par les insectes (Memmott *et al.*, 2007).

Effets du réchauffement sur le fonctionnement souterrain des communautés végétales

Si les effets du réchauffement climatique ont été relativement bien étudiés sur la partie visible des plantes, moins d'études ont été réalisées sur le compartiment racinaire. La partie souterraine des plantes est en partie protégée des variations thermiques par l'effet tampon du sol, bien que cet effet de protection s'atténue lorsque le sol est directement exposé au rayonnement solaire. En réponse à des températures du sol plus élevées, une augmentation de la production et de la mortalité racinaire, et par conséquent du turnover racinaire a été observée (Fitter *et al.*, 1999; Gill & Jackson, 2000; Wan *et al.*, 2005; Pilon *et al.*, 2013). Ces effets pourraient s'expliquer par l'augmentation de la photosynthèse et de l'allocation aux racines des photo-assimilats (Pendall *et al.*, 2004). En revanche, d'autres expérimentations ont montré un effet négatif du réchauffement sur la production racinaire, ce qui peut être attribué

à la diminution de la disponibilité en eau du sol (Majdi & Öhrvik, 2004; De Boeck *et al.*, 2007b, 2008). En fait, les résultats observés dépendent des communautés étudiées, mais également de la méthode d'observation utilisée (Arnone *et al.*, 2000; Luo, 2007; Milchunas, 2009). De plus, la variabilité de la morphologie racinaire peut influencer la dynamique de fonctionnement, la longévité et la fonction des racines (Eissenstat *et al.*, 2000; Norby *et al.*, 2000; Wan *et al.*, 2007; Picon-Cochard *et al.*, 2012). Il a été montré récemment que les effets du réchauffement sur les processus de fonctionnement racinaires sont plus marqués sur les racines fines (diamètre < 0.1mm) que sur les racines plus grosses (Pilon *et al.*, 2013). Néanmoins, très peu d'études se sont intéressées aux effets du réchauffement sur la morphologie racinaire. De plus, l'augmentation des températures induit une augmentation de la teneur en azote des racines (King *et al.*, 1997; Kandeler *et al.*, 1998; Wan *et al.*, 2004). Cela pourrait indirectement modifier la production, la mortalité et le turnover racinaire (Eissenstat *et al.*, 2000; Pregitzer *et al.*, 2002), et par conséquent le cycle de l'azote (Zak *et al.*, 2000).

Bien que les micro-organismes soient très réactifs à la variation des processus racinaires (Pendall *et al.*, 2004, 2008), le réchauffement du sol augmente aussi directement la masse et l'activité microbienne (Kandeler *et al.*, 1998; Bardgett & Chan, 1999; Zhang *et al.*, 2005; Castro *et al.*, 2010). Ces effets sur l'activité microbienne et racinaire en réponse au réchauffement vont alors augmenter la respiration du sol (Byrne & Kiely, 2006; Luo, 2007). Ainsi, les flux de carbone réémis dans l'atmosphère augmentent sensiblement dans la majorité des écosystèmes terrestres (Rustad *et al.*, 2001), bien que les résultats sont parfois controversés selon les méthodes de réchauffement utilisées et la géographie des sites étudiés (Luo, 2007). Les effets du réchauffement sur la respiration du sol sont d'autant plus marqués quand le système étudié est situé dans des régions froides des hautes latitudes (Kirschbaum, 1995; Conant *et al.*, 2011). A plus long terme, il a été montré que la réponse de la respiration du sol au réchauffement diminue (Rustad *et al.*, 2001) à l'issue d'une acclimatation des micro-organismes du sol (Luo *et al.*, 2001) ou de l'épuisement des substrats nécessaires à l'activité microbienne (Gu *et al.*, 2004; Eliasson *et al.*, 2005).

En stimulant l'activité microbienne, la décomposition de la matière organique augmente aussi (Emmett *et al.*, 2004). Cependant, de nombreuses incertitudes persistent sur le stockage du carbone dans les sols sous l'effet du réchauffement à plus long terme (Conant *et al.*, 2011). Bien que les réponses observées *in-situ* soient très variables d'un site à un autre, il a été

observé que le réchauffement du sol stimule aussi les processus de minéralisation de l'azote (Shaw & Harte, 2001; Emmett *et al.*, 2004). Cela a pour effet de favoriser l'assimilation de l'azote par les plantes (Ineson *et al.*, 1998; Bardgett & Chan, 1999; Rustad *et al.*, 2001; Sardans *et al.*, 2008). Néanmoins à plus long terme, la disponibilité en azote pourrait devenir limitante réduisant ainsi la quantité et la qualité des litières produites (An *et al.*, 2005; Luo, 2007), ce qui pourrait conduire à long terme à un changement dans la composition des communautés microbiennes en faveur des champignons (Zhang *et al.*, 2005). Les champignons du sol présentent une meilleure tolérance aux conditions de fortes températures et d'humidité du sol réduite (Holland & Coleman, 1987). Ainsi, ces effets indirects de la température sur les communautés microbiennes peuvent aussi expliquer une sensibilité plus faible de la respiration à long terme.

Les effets du réchauffement sur le fonctionnement des écosystèmes sont donc relativement bien décrits dans la littérature (Fig. 1-10), mais il est encore difficile de prédire l'évolution des processus aériens et souterrains de la prairie permanente car de nombreuses incertitudes persistent quant à la plasticité des espèces et les interactions possibles entre les facteurs climatiques et biotiques (Luo *et al.*, 2008).

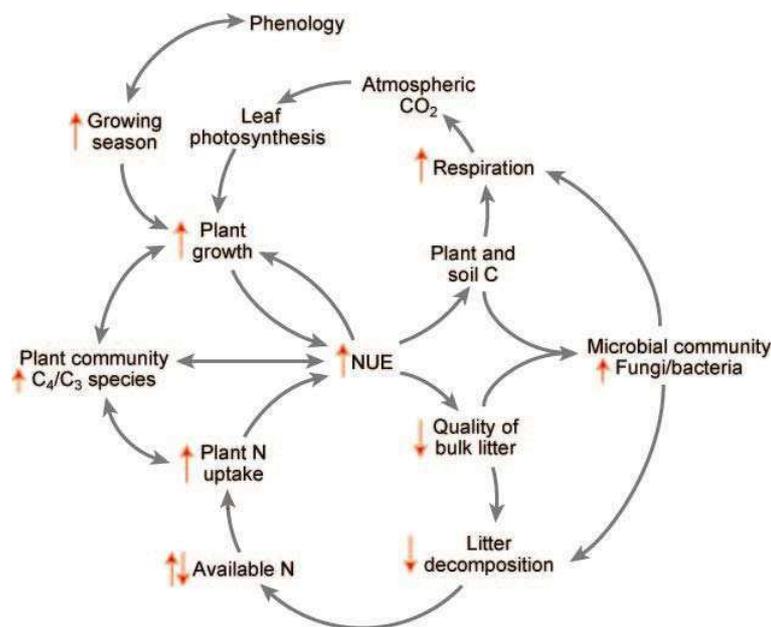


Figure 1-10. Effets directs et indirects de la température sur les processus de fonctionnement des écosystèmes, tels que les cycles du carbone et de l'azote. Le réchauffement rallonge la saison de végétation, modifie la composition des espèces (ex : plantes C₄ plus abondantes) et augmente la croissance des plantes. Cette croissance est associée à une augmentation de l'absorption et de l'efficacité d'utilisation (NUE) de l'azote du sol. Le réchauffement stimule aussi la respiration du sol qui est compensée par une augmentation de l'assimilation du carbone par les plantes. Néanmoins, le stock de carbone dans le sol n'est pas modifié. Les changements de composition des communautés végétales peuvent modifier la qualité et la quantité des litières produites, ce qui pourrait diminuer à plus long terme la disponibilité en azote du sol. (source : Luo, 2007).

En agissant directement sur les processus d'évapotranspiration, le réchauffement global est susceptible de limiter la disponibilité en eau du sol (Harte *et al.*, 1995; Wan *et al.*, 2002; Llorens *et al.*, 2004; Huntington, 2006). Nous analyserons donc dans les parties suivantes l'effet de la contrainte hydrique, puis les interactions observées avec le réchauffement de l'air sur la structure et le fonctionnement des communautés végétales.

b. Effets de la variabilité des précipitations sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales

Bien que de nombreuses incertitudes persistent, les projections climatiques prévoient une augmentation de la variabilité des précipitations inter et intra-annuelles, caractérisée par des événements pluvieux plus importants et des intervalles plus longs entre ces événements (IPCC, 2007b). Ainsi dans les milieux tempérés, l'augmentation de la variabilité des précipitations pourrait amplifier la variabilité de la disponibilité en eau et induire des sécheresses saisonnières en altérant les processus d'évapotranspiration et de lessivage des nutriments (Porporato *et al.*, 2004; Knapp *et al.*, 2008). En agissant directement sur la disponibilité en eau du sol, la variabilité des précipitations est un des principaux facteurs qui conditionnent le fonctionnement des écosystèmes terrestres (Knapp *et al.*, 2008) (Fig. 1-11).

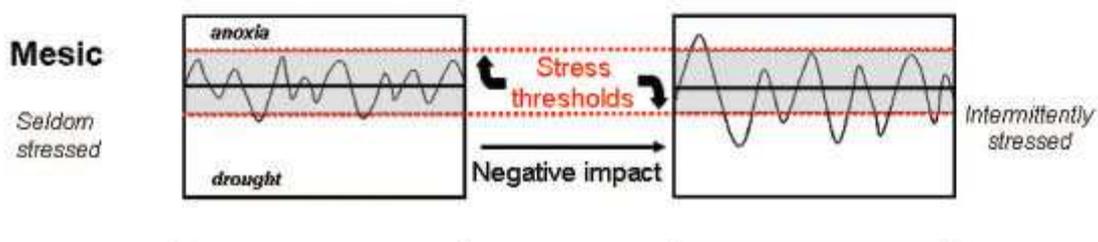


Figure 1-11. Schéma conceptuel de l'effet de la variabilité des précipitations sur la disponibilité en eau du sol et la réponse des écosystèmes terrestres des milieux tempérés. Le rectangle représente le 'niveau' d'humidité du sol dans l'écosystème. Au sein de ce compartiment, la ligne noire en gras représente l'humidité du sol, la courbe noire, ses fluctuations. Les pointillés représentent les seuils théoriques d'humidité du sol pour lesquels le système est soumis à une sécheresse (seuil minimum) ou à un engorgement (seuil maximum). La zone en gris caractérise ainsi les conditions optimales pour le fonctionnement du système. Selon la variabilité actuelle des précipitations, le système n'est que temporairement stressé (à gauche). Mais si la variabilité des précipitations augmente, le système sera soumis à des stress plus forts et plus fréquents (à droite).

Effets de la variabilité des précipitations sur le fonctionnement aérien des communautés végétales

La disponibilité en eau est un facteur limitant pour toute forme de vie et la productivité des biomes terrestres est reliée positivement à l'efficacité d'utilisation de l'eau (Webb *et al.*, 1978). Plusieurs études ont également montré une relation positive entre la production des communautés et les précipitations annuelles (Lieth, 1973; Knapp & Smith, 2001; Scurlock *et*

al., 2002; Garbulsky & Peñuelas, 2010). Néanmoins, ces résultats sont issus généralement d'observations à long terme ou de comparaisons entre sites qui ne permettent pas d'exclure les effets de la température, ni de comprendre les effets de la variabilité saisonnière des précipitations. Or des changements dans la distribution des précipitations saisonnières sont susceptibles de modifier le fonctionnement des écosystèmes (Knapp *et al.*, 2008).

En été, les plantes peuvent ajuster leurs processus écophysologiques, telles que la photosynthèse, la régulation stomatique, l'allocation des assimilats dans les différents organes en réponse à un déficit hydrique temporaire (Chaves & Pereira, 1992; Volaire *et al.*, 2009) (Fig. 1-12). La diminution de la disponibilité en eau du sol en été peut induire le flétrissement des parties aériennes si le stress s'intensifie (Hsiao, 1973). Bien que l'appareil photosynthétique ne soit dégradé que dans des situations de stress sévère (Chaves & Pereira, 1992), la réduction des précipitations peut réduire l'assimilation nette du carbone et la production à l'échelle de l'écosystème (Knapp *et al.*, 2002; Fay *et al.*, 2008, 2011; Wu *et al.*, 2011).

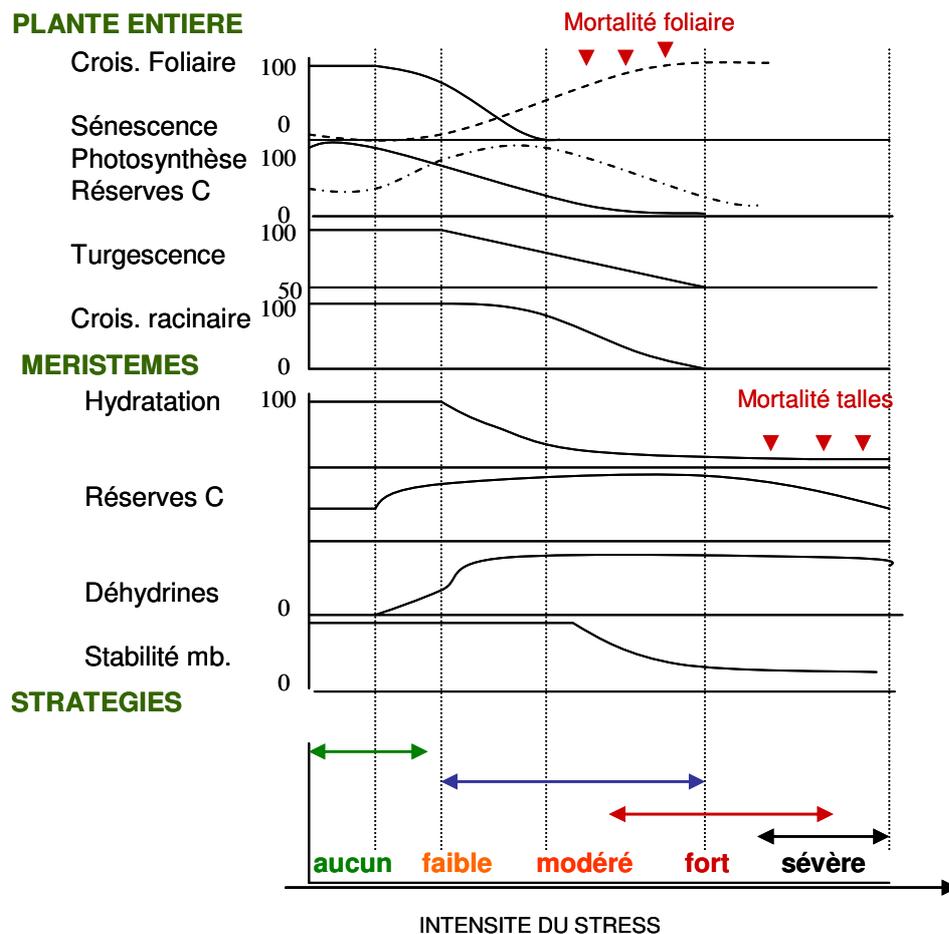


Figure 1-12. Réponses des Poacées au déficit hydrique à l'échelle de la plante entière et des méristèmes foliaires (source : Volaire *et al.*, 2009)

En prairies permanentes, ces résultats sont parfois controversés. Le plus souvent, une perte de production annuelle est observée (Grime *et al.*, 2000; Kahmen *et al.*, 2005; Gilgen & Buchmann, 2009), mais les résultats expérimentaux montrent parfois aucun effet significatif (Kreyling *et al.*, 2008; Jentsch *et al.*, 2011). La saison, l'intensité et la durée de la période pendant laquelle les précipitations sont réduites jouent un rôle prépondérant dans la réponse des communautés végétales et peuvent expliquer l'absence ou la présence d'effets selon le système considéré (Swemmer *et al.*, 2007; Cherwin & Knapp, 2012). A l'échelle des populations, la tolérance aux variations hydriques dépend des populations considérées (Porter & Semenov, 2005). Ainsi, dans les communautés les plus diversifiées, la résistance de la production peut être attribuée à des processus de compensation entre les populations végétales (Yashi & Loreau, 1999).

Effets de la variabilité des précipitations sur la structure des communautés végétales

Le long des gradients géographiques, la richesse spécifique est positivement liée aux précipitations annuelles (Adler & Levine, 2007). Il apparaît de plus en plus évident dans la littérature que l'augmentation de la variabilité des précipitations est susceptible d'avoir des conséquences directes et indirectes sur la composition et la structure des communautés végétales (Tylianakis *et al.*, 2008). En agissant directement sur les performances des populations végétales, les interactions compétitives et hiérarchiques peuvent être altérées et ainsi augmenter le risque d'extinction des populations les moins abondantes (Valpine & Harte, 2001; Klanderud & Totland, 2005). Bien qu'il soit difficile de dissocier l'effet des précipitations de celui du réchauffement, des observations menées sur plusieurs années ont montré que la variabilité de la diversité spécifique est étroitement liée à la variabilité interannuelle des précipitations (Tilman & El Haddi, 1992; Sternberg *et al.*, 1999; Zavaleta *et al.*, 2003; Grime *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2011; Cantarel *et al.*, 2013). Ces effets s'expliqueraient à la fois par une réponse directe des communautés à la variation de l'humidité du sol et par des effets indirects, à plus long terme, de la réduction de la production (Knapp *et al.*, 2002).

A l'inverse, d'autres résultats expérimentaux montrent une faible sensibilité de la diversité spécifique à la variabilité des précipitations (Wang *et al.*, 2007; Adler & Levine, 2007; De Boeck *et al.*, 2008; Bloor *et al.*, 2010). Cela pourrait s'expliquer par la plasticité physiologique (Chaves *et al.*, 2003) et génétique des populations végétales (Fay *et al.*, 2003). En fait, la sensibilité des communautés végétales serait variable selon le degré de changement

des précipitations et le milieu considéré (Knapp *et al.*, 2008), la productivité (Grime *et al.*, 2000; Bloor *et al.*, 2010) et la diversité initiale (Tilman & Downing, 1994; Pfisterer & Schmid, 2002; De Boeck *et al.*, 2008). Des résultats empiriques montrent des changements dans la distribution des espèces en Europe avec un risque d'extinction et une vulnérabilité accrue de la diversité à la variabilité des précipitations (Thuiller *et al.*, 2005). Néanmoins, il est encore difficile d'établir un consensus quant à l'évolution de la diversité et de la distribution des populations végétales car de nombreuses interactions avec les autres niveaux trophiques peuvent aussi influencer la structure et la composition des communautés végétales (Suttle *et al.*, 2007; Tylianakis *et al.*, 2008; Van der Putten *et al.*, 2010). Ainsi, il est nécessaire de multiplier les expérimentations *in situ* pour caractériser les effets directs et indirects de la variabilité des précipitations sur la structure et la composition des prairies permanentes et de déterminer les mécanismes de résistance impliqués dans leur stabilité dans le temps (Walther, 2010).

Effets de la variabilité des précipitations sur le fonctionnement souterrain des communautés végétales

La disponibilité en eau du sol est un des principaux facteurs impliqué dans le fonctionnement des processus souterrains comme la croissance racinaire (Steinaker & Wilson, 2008; Comas *et al.*, 2010) ou l'activité microbienne (Stark & Firestone, 1995; Liu *et al.*, 2009). Le long des gradients climatiques, des observations à l'échelle des biomes terrestres montrent que la masse et la profondeur racinaire (Jackson *et al.*, 1996; Canadell *et al.*, 1996; Schenk & Jackson, 2002; Mokany *et al.*, 2006), ainsi que le turnover racinaire (Gill & Jackson, 2000) sont reliés aux précipitations annuelles. En revanche, à des échelles plus localisées, ces relations ne sont pas toujours vérifiées (Jackson *et al.*, 1996; Jobbagy & Jackson, 2000; Gill & Jackson, 2000). En prairies permanentes, la production racinaire est stimulée par une augmentation des précipitations (Bai *et al.*, 2010). A l'inverse, elle peut être réduite (Frank, 2007), non affectée (Gilgen & Buchmann, 2009; Jentsch *et al.*, 2011), voire stimulée (Dreesen *et al.*, 2012) par une diminution des précipitations. La divergence de ces résultats à l'échelle de la communauté peut s'expliquer à la fois par des assemblages différents d'espèces entre ces expérimentations, et par la plasticité du système racinaire à la variabilité des conditions hydriques (Skinner *et al.*, 1998; Skinner, 2008). A l'échelle des populations, une augmentation du root/shoot ratio et un maintien de la croissance racinaire sont parfois observés (Durand *et al.*, 2007; Volaire *et al.*, 2009; Skinner & Comas, 2010; Pérez-Ramos *et al.*, 2013).

La diminution en eau du sol peut aussi altérer les processus de fonctionnement du sol, tels que la respiration, la minéralisation de l'azote et la décomposition de la matière organique (Fitter *et al.*, 1999; Emmett *et al.*, 2004; Harper *et al.*, 2005). Ainsi, la variabilité des précipitations pourrait réduire à plus long terme la séquestration du carbone dans les sols (Knapp *et al.*, 2002).

Bien que les effets de la variabilité des précipitations sur les processus hydrologiques et le fonctionnement des plantes soient relativement bien connus (Fig. 1-12), de nombreuses incertitudes persistent quant à la réponse des communautés végétales. De plus les effets combinés du réchauffement de l'air sur les communautés végétales pourraient annuler les effets de la contrainte hydrique, via l'allongement de la saison de végétation (Bloor *et al.*, 2010; Pilon *et al.*, 2013) ou au contraire les amplifier, via l'augmentation de l'évapotranspiration (Huntington, 2006; Knapp *et al.*, 2008) (Fig. 1-13). Mais il est encore difficile d'anticiper les réponses des communautés végétales, car les résultats actuellement observés varient selon la composition initiale des communautés étudiées (Knapp *et al.*, 2008; Gilgen & Buchmann, 2009), et les méthodes de mesures utilisées pour l'étude des processus racinaires en particulier (Milchunas, 2009).

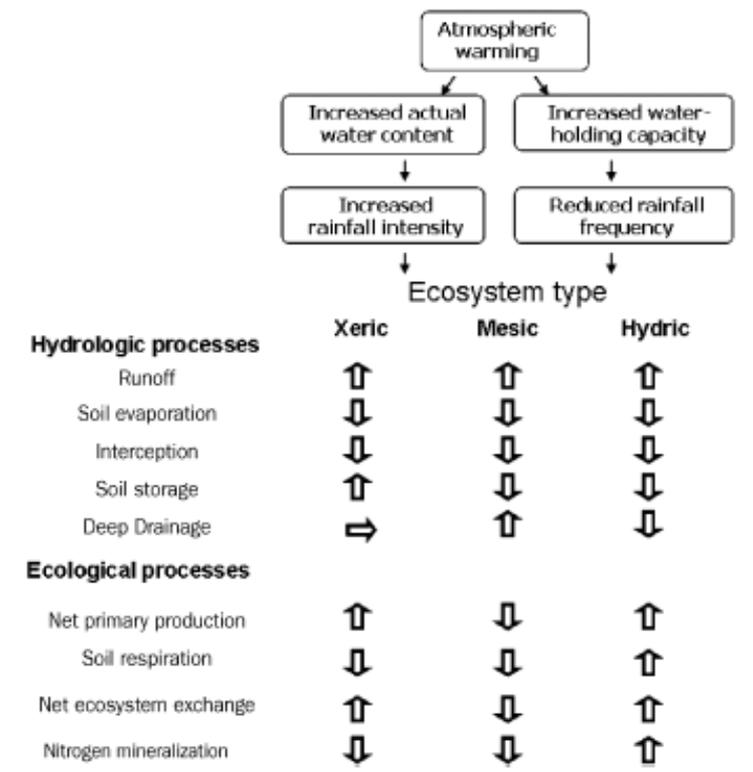


Figure 1-13. Réponses des écosystèmes terrestres au réchauffement et à l'augmentation de la variabilité des précipitations (source : Knapp *et al.*, 2008).

c. Effets des extrêmes climatiques sur la structure et le fonctionnement des communautés végétales

L'augmentation de la variabilité climatique augmente la probabilité d'apparition des événements climatiques extrêmes, avec le risque que l'intensité de ces événements dépasse la capacité d'adaptation des organismes (IPCC, 2012). Ainsi, la déviation des processus par rapport à un stade initial permet de caractériser la résistance et la vulnérabilité des processus (Pimm, 1984; Allen & Holling, 2002). Mais pour comprendre les capacités d'adaptation et les trajectoires possibles du système il est nécessaire de caractériser également la dynamique temporelle des processus de l'écosystème pendant la phase de récupération après la perturbation (Fig. 1-14) (Peterson *et al.*, 1998; Allen & Holling, 2002; Smith, 2011b). Nous analyserons dans la partie suivante les effets directs d'une perturbation climatique, telles que les vagues de chaleur ou les sécheresses estivales, ainsi que les différents processus impliqués dans la résistance et la récupération des communautés végétales.

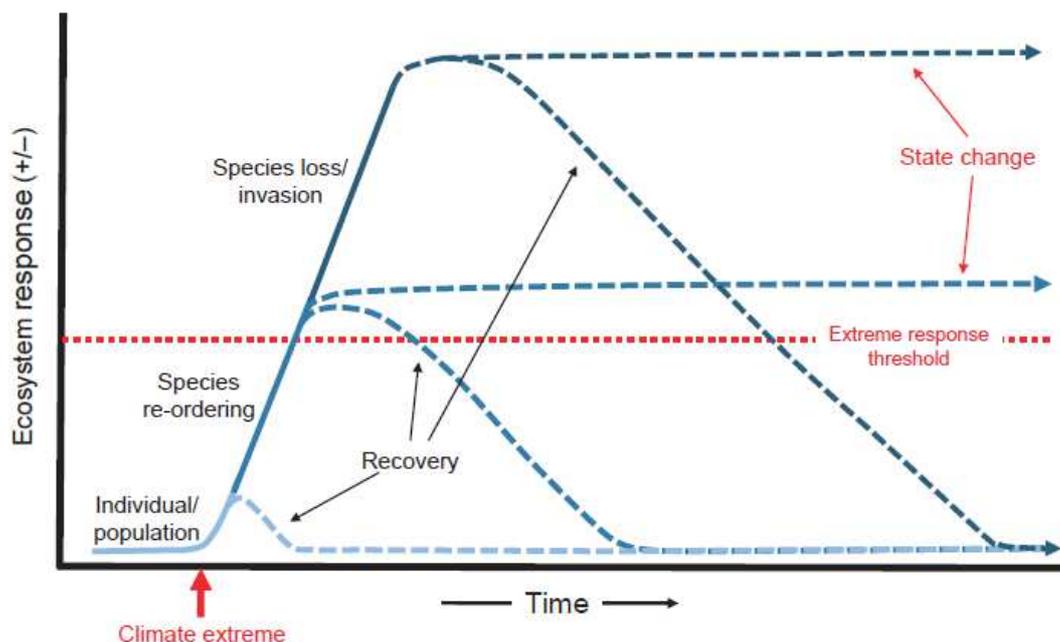


Figure 1-14. Cadre théorique permettant d'étudier la réponse des écosystèmes à un événement extrême. Un extrême climatique affecte tout d'abord le comportement des individus et/ou des populations (physiologie, croissance, fitness), ce qui induit un changement d'abondance, voire une extinction locale de certaines espèces, ou au contraire l'invasion de nouvelles espèces. Cela a ensuite un effet plus ou moins important sur le fonctionnement des communautés (production, cycles biogéochimiques). Ainsi un événement extrême peut être défini comme un événement climatique capable d'induire des changements dans la structure avec des effets en cascade sur le fonctionnement du système après avoir franchi un seuil critique (pointillés rouges). De telles réponses sont alors caractérisées par de longues périodes de récupération voire d'hystérèse. (source : Smith, 2011b)

Effets des extrêmes climatiques sur le fonctionnement et la structure des communautés végétales

Des exemples de canicule-sécheresse en Europe ont montré les lourdes conséquences pour l'économie, l'agriculture et les écosystèmes (Fink *et al.*, 2004). En effet, avec des anomalies de température de +6°C pendant l'été 2003 et un déficit pluviométrique annuel de 300 mm (Ciais *et al.*, 2005), la production fourragère a été réduite de 20 à 36% selon les régions (COPA COPEGA, 2003). Depuis cet exemple récent, les études se multiplient pour étudier l'impacts des extrêmes climatiques à l'échelle des communautés végétales (Jentsch *et al.*, 2007). Dans certains cas, elles ont montré une mortalité importante dans les milieux forestiers (Breshears *et al.*, 2005; Bigler *et al.*, 2006, 2007; Miriti *et al.*, 2007; Thibault & Brown, 2008), une baisse de la production dans les prairies permanentes (Tilman & El Haddi, 1992; Zavalloni *et al.*, 2008, 2009; Heisler-White *et al.*, 2009; Beierkuhnlein *et al.*, 2011; Cherwin & Knapp, 2012), avec des changements importants dans la structure des communautés (MacGillivray *et al.*, 1995; White & Campbell, 2000; Haddad *et al.*, 2002; Ciais *et al.*, 2005). A l'inverse, d'autres résultats ont montré des effets très faibles, voir négligeables sur les processus de fonctionnement, tels que la production aérienne et racinaire, les cycles biogéochimiques (Milbau *et al.*, 2005; Kreyling *et al.*, 2008; Heisler-White *et al.*, 2009; Jentsch *et al.*, 2011). La variation entre les sites et les communautés étudiées peuvent en partie expliquer ces résultats contradictoires, et soulignent la difficulté d'uniformiser les réponses des écosystèmes aux événements extrêmes (Beierkuhnlein *et al.*, 2011; Smith, 2011b; Kreyling *et al.*, 2012).

Selon la saison, la durée et l'intensité des événements extrêmes, le cycle de développement des différentes populations végétales peut être interrompu ou retardé, avec des périodes de floraison observées à l'automne ou au début de l'hiver par exemple (Luterbacher *et al.*, 2007). Néanmoins, en raccourcissant leur cycle de développement, les populations végétales pourraient limiter l'impact de la sécheresse estivale sur leur pérennité (Chaves & Oliveira, 2004). Ainsi, on peut supposer que l'effet du réchauffement moyen des températures de l'air sur la phénologie des populations végétales, tel que précédemment décrit (voir § 2.a, Chap. 1) pourrait favoriser la pérennité des communautés végétales (Reyer *et al.*, 2013). Peu d'études ont été réalisées pour confirmer cette hypothèse et de nombreuses incertitudes persistent car des effets stochastiques sur la coexistence des populations peuvent être observés après un événement extrême (Kreyling *et al.*, 2011)

Résistance des communautés végétales à un extrême climatique

En prairies permanentes, le rôle de la diversité pour contribuer à la résistance des processus de fonctionnement pendant des périodes de sécheresse sévère a plusieurs fois été mis en évidence (Tilman & Downing, 1994; Hooper *et al.*, 2005), mais d'autres résultats expérimentaux ont montré un effet non significatif (Peer *et al.*, 2001; Kahmen *et al.*, 2005; Van Ruijven & Berendse, 2010). Ainsi, la composition des communautés, plus que la diversité, pourrait expliquer la résistance des processus de fonctionnement (Walker *et al.*, 1999; Eriksson, 2000).

Pendant une canicule sécheresse, un rayonnement important et la diminution de la disponibilité en nutriments peuvent se combiner à la température et au déficit hydrique et ainsi aggraver le stress physiologique des populations végétales (Chaves *et al.*, 2003; Sardans *et al.*, 2008; De Boeck & Verbeeck, 2011). Bien que les plantes soient capables d'ajuster leur métabolisme et de s'acclimater à des changements moyens de l'environnement (voir § 2.a, Chap. 1), de telles acclimations sont impossibles dans le cas d'un stress sévère. Alors, les populations végétales sont confrontées à des stress physiologiques qui nécessitent des compromis métaboliques concernant essentiellement l'efficacité d'utilisation de l'eau et de l'azote (Gutschick & BassiriRad, 2003; Craine *et al.*, 2012) pour maintenir la turgescence, la croissance, et/ou la sénescence pour assurer la survie des méristèmes (Volaire *et al.*, 2009; Pérez-Ramos *et al.*, 2013) (Fig. 1-12). Dans ces conditions, la résistance des processus de fonctionnement des communautés végétales est directement liée à la résistance des différentes populations aux stress environnementaux (Volaire *et al.*, 2009). Ainsi, il est nécessaire de déterminer les mécanismes physiologiques, morphologiques et/ou phénologiques des populations végétales, impliqués dans la résistance à des stress sévères, pour comprendre les processus de résistance à l'échelle des communautés.

Mécanismes de récupération des communautés végétales après une perturbation

Peu d'expérimentations ont été conduites pour étudier les mécanismes de récupération après un extrême. La croissance végétative et régénérative contribuent à la récupération de la production aérienne après perturbation. Quand des zones de sol nu apparaissent à l'issue d'une mortalité importante de certaines populations, la recolonisation du milieu dépend essentiellement de la banque de graines (Leishman & Westoby, 1994; Thompson *et al.*, 1997; Akinola *et al.*, 1998) et de méristèmes dans le sol (Klimešová & Klimeš, 2007). Cette dernière peut être définie comme une réserve de méristèmes en dormance, que ce soit à la base des tiges ou sur des organes de réserves comme les rhizomes, les stolons, les tubercules,

les bulbes, etc. (Klimešová & Klimeš, 2007). Ainsi les différences entre espèces concernant ces processus de régénération influencent la structure et la composition de la communauté après la perturbation (Klimeš *et al.*, 1997; Thompson *et al.*, 1997; Grime, 2001; Stampfli & Zeiter, 2004, 2008).

De plus, Vartanian (1981) a souligné le rôle de la survie du système racinaire dans la récupération rapide des transferts de l'eau et d'azote à l'échelle de la plante. A l'échelle des communautés végétales, Shinoda *et al.* (2010) ont en effet montré que la survie des racines contribue à la récupération de la production aérienne. Bien que le rôle du système racinaire dans l'alimentation en eau et en nutriment soit reconnu (Poorter & Garnier, 1999; Hernández *et al.*, 2010), très peu d'études ont été réalisées *in situ* pour caractériser la capacité des racines à survivre et à récupérer après un extrême climatique.

3. Approche fonctionnelle pour comprendre la réponse des prairies permanentes au changement climatique

a. Comprendre le fonctionnement des communautés végétales

Face à la complexité des systèmes naturels, il est particulièrement difficile d'établir des consensus sur le fonctionnement des communautés végétales. Cependant, des fonctions écologiques similaires peuvent être observées dans des écosystèmes de composition très différente. Par exemple, il existe 5 régions avec un climat méditerranéen dans le monde, très éloignées géographiquement et constituées d'une faune et d'une flore différentes, mais d'une structure et d'un fonctionnement similaires (Di Castri & Mooney, 1973; Arroyo *et al.*, 1991). Ainsi, la convergence de ces milieux géographiquement éloignés suggère que des groupes d'espèces peuvent être définis selon leur fonctionnement et leurs effets sur les processus de l'écosystème.

Pour comprendre le fonctionnement des communautés végétales, des valeurs de caractères (traits) peuvent être utilisés pour décrire les fonctions vitales des différentes espèces. Les traits dits fonctionnels sont des caractéristiques morphologiques, physiologiques ou régénératives mesurables sur les individus (Gitay & Noble, 1997; Vile, 2005) (Tableau 1-1). Ils peuvent être considérés comme des indicateurs (1) de la réponse des espèces aux variations des conditions environnementales (traits de réponse) et (2) de leurs effets sur le fonctionnement de l'écosystème (traits d'effet) (Diaz & Cabido, 1997; Lavorel & Garnier, 2002) (Fig. 1-15).

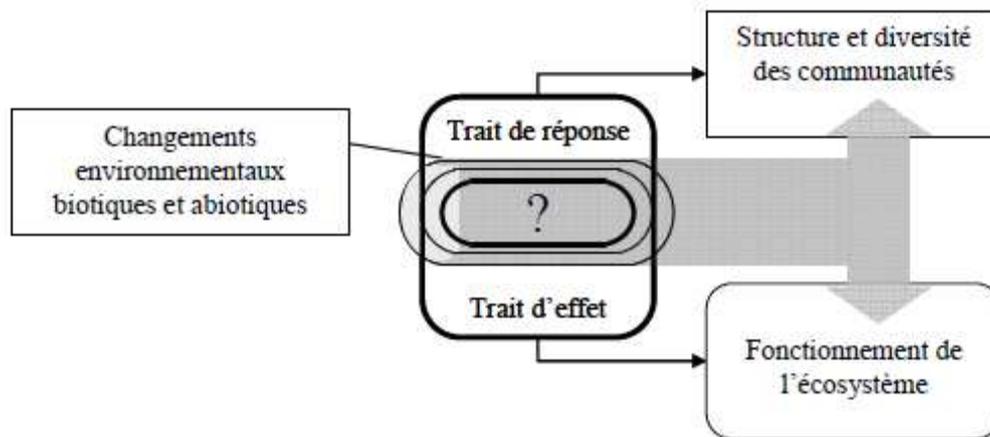


Figure 1-15. Approche fonctionnelle permettant de comprendre les effets des populations végétales sur le fonctionnement et la structure des communautés et leurs réponses à des perturbations environnementales. (D'après Lavorel & Garnier, 2002).

A l'échelle des communautés, les propriétés fonctionnelles sont directement liées aux traits des espèces dominantes car elles représentent la plus grande biomasse au sein de l'ensemble ('Mass-ratio hypothesis') (Grime, 1998; Garnier *et al.*, 2004). On peut également définir la diversité fonctionnelle comme la diversité d'une communauté végétale en valeurs de traits (Lavorel *et al.*, 1997). Une telle approche fonctionnelle permet ainsi de modéliser la complexité des systèmes naturels et de faciliter les comparaisons entre les modèles théoriques et les données expérimentales (Lavorel *et al.*, 1997; Lavorel & Garnier, 2002; Suding *et al.*, 2008; Gross *et al.*, 2009).

b. Les stratégies fonctionnelles des populations végétales

La co-variation des traits fonctionnels, mesurée à l'échelle des populations le long des gradients environnementaux, telle que la disponibilité en ressources, permet de déterminer des stratégies fonctionnelles à partir d'axes de spécialisation (Westoby *et al.*, 2002; Vile, 2005). Autrement dit, la variation de ces traits reflète (1) la capacité de chaque population à s'adapter aux facteurs de l'environnement (Reich *et al.*, 2003), (2) leurs compromis physiologiques liés aux contraintes du milieu telles qu'un déficit en eau ou en nutriments du sol par exemple (Westoby *et al.*, 2002; Maire *et al.*, 2009), (3) la réalisation de leur niche écologique (Bruno *et al.*, 2003). A partir d'analyse corrélative de l'ensemble des traits mesurés, il devient possible de classer les espèces sur des axes de spécialisation qui caractérisent leurs compromis écologiques et qui permettent de comprendre comment elles coexistent au sein d'une même communauté végétale.

Tableau 1-1. Principaux traits mesurés sur les herbacées et leurs fonctions écologiques associées (D'après Cornelissen *et al.*, 2003).

TRAITS	Unit	description	function
Whole plant traits			
growth form	-	canopy structure and height	plant strategy of growth
live form	-	perennating tissues, bud localisation	plant's survival strategy
plant height	cm	height of photosynthetic apparatus	competitive vigour for light acquisition
clonality	-	ability of plant to reproduce vegetatively	competitive vigour for land colonisation and resource acquisition, persistence after environmental disturbance
spinescence	-	type, size and density of spines	anti-herbivores defense
flammability	-	combustibility of the entire plant	fire regime contribution
Leaf traits			
SLA	mm ² g ⁻¹	specific leaf area	potential relative growth rate, photosynthetic rate
leaf size	mm ²	projected surface area	leaf energy, water balance, allometry, ecological strategy of environmental constraint
LDMC	mg g ⁻¹	leaf dry matter content	density of leaf tissue, resistance to physical constraints (herbivory, wind...)
LNC	mg g ⁻¹	leaf nitrogen content	photosynthetic rate, forage quality, indicator of soil N availability, nutrient cycling
LPC	mg g ⁻¹	leaf phosphorus content	forage quality, indicator of soil P availability, nutrient cycling
physical strenght of leaves	N, J m ⁻¹	leaf resistance to fracture	carbon investment, structural protection against biotic and abiotic stresses
leaf life span	month	period at which one leaf is physiologically active	nutrient conservation, resistance to decomposition
leaf phenology	Month year ⁻¹	seasonal timing of green foliage	life cycle, competitive vigour
photosynthetic pathway	-	photosynthetic metabolism (C3, C4, CAM)	water, nutrient and CO2 use
leaf frost sensitivity	%	leaf sensitivity to freezing	physical properties of cell membrane to damage
Stem traits			
SSD	mg mm ⁻³	stem specific density	structural strength, allometry, defense against pathogens, C storage
Below-ground traits			
SRL	m g ⁻¹	specific root lenght	water and nutrient acquisition strategy, allometry, root turnover, association with mycorrhizae
fine root diameter	mm		penetration force on soil, dessication resistance, hydraulic conductivity
Dmax, D95	cm	root distribution in the soil	water and nutrient acquisition strategy, competitive vigor for nutrient and water, C sequestration
nutrient uptake strategy	-		nitrogen fixation, symbiose
Regenerative traits			
dispersal mode	-	seed, fruit or spores dispersed	competitive vigor
dispersule size and shape		dispersal structure or propagule (lenght, wide and thickness)	seed bank persistence
seed mass	mg		competitive vigor for dispersion and land colonisation, seed bank persistence
resprouting capacity	-	capacity of plant to resprout after disturbance	plant's survival strategy

i. Acquisition des ressources

Dans les milieux herbacés productifs, l'eau, la lumière et les nutriments du sol sont les principaux facteurs limitants de l'environnement (Grime, 2001). Deux grandes stratégies opposées ont été définies pour l'acquisition de ces ressources (Grime, 2001; Westoby *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2006; Maire *et al.*, 2009). La première se caractérise par une croissance rapide avec un renouvellement des tissus importants et une forte capacité à acquérir les ressources mais une faible capacité à conserver les nutriments. Ces espèces dites 'exploitatrices' présentent des valeurs élevées de surface spécifique foliaire (SLA), de longueur spécifique des racines (SRL), de teneur en azote foliaire et racinaire (LNC, RNC), de photosynthèse et de vitesse de croissance, mais des tissus foliaires et racinaires peu denses (LDMC, RDMC) (Grime *et al.*, 1997; Grime, 2001; Wright *et al.*, 2004; Tjoelker *et al.*, 2005; Roumet *et al.*, 2006). A l'inverse, les espèces dites 'conservatrices' ont des caractéristiques opposées. Généralement, les espèces à stratégie de capture sont dominantes dans les milieux productifs, alors que les conservatrices sont plus abondantes dans les milieux peu productifs, plus pauvres en nutriments (Grime, 2001). Les traits racinaires, comme le RDMC par exemple, sont également des indicateurs des stratégies d'acquisition des ressources. D'autres traits, tels le SRL, le diamètre, l'ordre de ramification, l'épaisseur du cortex sont aussi associés aux propriétés hydrauliques des racines (North & Nobel, 1991; Rieger & Litvin, 1999; Wahl & Ryser, 2000; Huang & Eissenstat, 2000) (Tableau 1-1).

ii. Résistance à la sécheresse

La sécheresse a pour effet de réduire la teneur en eau des tissus et de limiter la productivité des plantes (Fig. 1-12) dans les systèmes naturels ou agricoles (Swindale & Bidinger, 1981; Boyer, 1982). De manière la plus commune, la résistance à la sécheresse dans les régions tempérées est souvent définie comme la capacité à maintenir une croissance significative sans déclin majeur de la population ou la densité de talles (Jones *et al.*, 1981). Cette définition fait référence aux attentes agronomiques des utilisateurs de la prairie. D'un point de vue écophysio-logique, la résistance à la sécheresse peut être définie comme la capacité des plantes à maintenir leurs tissus vivants et à produire de nouveaux tissus au retour des précipitations (Jones *et al.*, 1981). Ainsi, cette deuxième définition se rattache davantage aux mécanismes impliqués dans la pérennité des communautés végétales et la stabilité de la production pluri-annuelle.

Chez les espèces pérennes, il existe une multitude de mécanismes morphologiques, anatomiques et/ou physiologiques en réponse à la sécheresse, qui peuvent être regroupés

selon deux grandes stratégies (Fig. 1-16) : l'évitement et la tolérance (Jones *et al.*, 1981; Ludlow, 1989; Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009).

Stratégie d'évitement de la sécheresse

L'évitement de la sécheresse ('drought avoidance') se caractérise essentiellement par les mécanismes permettant à la fois de maintenir les prélèvements hydriques et de réduire les pertes en eau par transpiration, afin d'éviter ou de retarder l'effet du stress hydrique sur l'hydratation des tissus (Jones *et al.*, 1981; Ludlow, 1989; Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009). A court terme, une telle balance hydrique est assurée principalement par la régulation de l'ouverture stomatique (Chaves & Pereira, 1992). Ainsi, des traits morphologiques et physiologiques, tels que la conductance stomatique, la surface spécifique foliaire (SLA), la sénescence foliaire, l'efficacité d'utilisation de l'eau, peuvent être mesurés en conditions de sécheresse pour caractériser la stratégie d'évitement (Grime, 2001; Ackerly, 2004; Pérez-Ramos *et al.*, 2013).

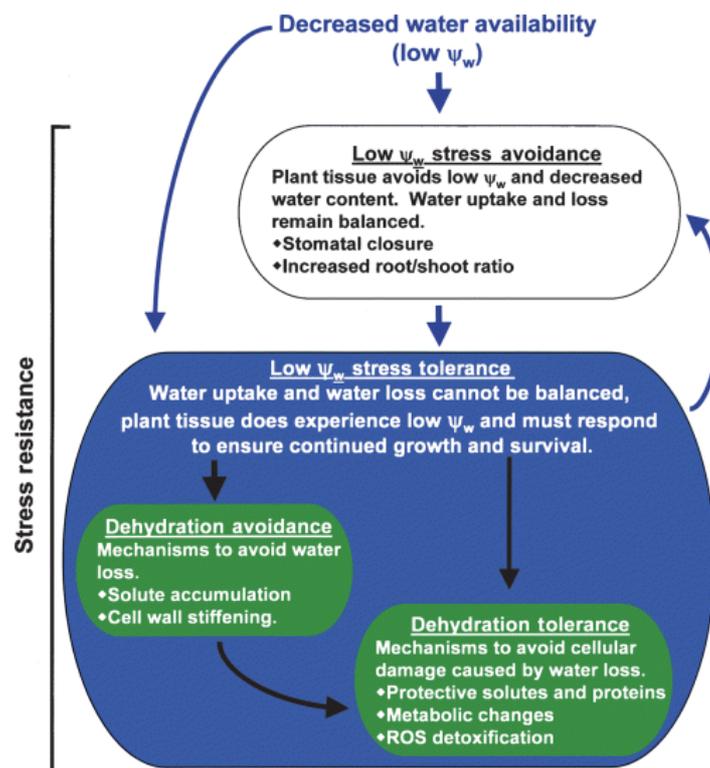


Figure 1-16. Stratégies de réponses à la sécheresse. Dans la stratégie d'évitement au stress, les plantes régulent l'ouverture stomatique pour limiter les pertes hydriques et maintenir les prélèvements hydriques via le continuum hydraulique. De cette manière les plantes retardent l'effet du stress sur la teneur en eau des tissus. En d'autres termes, elles maintiennent le stress à l'extérieur de la plante. Lorsque cela n'est pas possible, la teneur en eau des tissus est fortement réduite, le stress entre à l'intérieur des tissus. Les plantes doivent ajuster leur métabolisme pour éviter ou tolérer la déshydratation. Ce diagramme se réfère à la terminologie de Levitt (1972). (Source : Verslues *et al.*, 2006)

La stratégie d'évitement est également associée aux mécanismes permettant de maintenir, voire de maximiser les prélèvements hydriques pendant le stress (Jones *et al.*, 1981; Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009). Généralement les espèces bien adaptées à la sécheresse sont caractérisées par des racines profondes et denses (Schulze *et al.*, 1996; Jackson *et al.*, 1996; Paz, 2003; Volaire, 2008) et une longueur spécifique du système racinaire importante (Huang & Eissenstat, 2000). Le maintien de la croissance racinaire pendant le stress a aussi été reconnu comme un mécanisme important de la stratégie d'évitement à la sécheresse (Chaves & Pereira, 1992; Comas & Eissenstat, 2004; Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009; Lelièvre *et al.*, 2011; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). Des travaux récents menés sur des céréales de grandes cultures, ont permis d'identifier des traits racinaires tels que la précocité et la vitesse de croissance racinaire, l'angle de pénétration des racines dans le sol, et le gravitropisme des apex pour optimiser les prélèvements hydriques en profondeur dans les milieux limités en eau (Wasson *et al.*, 2012). Pour les espèces à système racinaire peu profond, l'aptitude à développer un système racinaire plus dense a également été reconnue comme un mécanisme efficace pour l'évitement (Carter *et al.*, 1999; Pantalone *et al.*, 1999; Price *et al.*, 2002; Wasson *et al.*, 2012). Plusieurs traits racinaires ont été identifiés comme présentant des avantages sélectifs (Wasson *et al.*, 2012) (Fig. 1-17) : (1) ceux permettant d'augmenter les prélèvements hydriques en profondeur, tels que la profondeur d'enracinement, la vitesse de croissance racinaire et le gravitropisme des apex ; (2) ceux permettant d'augmenter la densité racinaire dans les couches de sol moyennes et profondes, tels que le développement de racines fines (ordres 2 ou 3) ; (3) ceux permettant de réduire la densité racinaire à la surface du sol ; (4) ceux permettant de diminuer la résistance hydraulique des racines au transfert de l'eau, tels que des racines fines et un cortex peu épais, pour réduire la résistance du transfert radial, et des vaisseaux de gros diamètre pour réduire la résistance du transfert axial.

L'anatomie et la structure des racines, qui conditionnent leurs propriétés hydrauliques des racines, jouent un rôle important dans la résistance des prélèvements hydriques (Chaves & Pereira, 1992; Chaves, 2002; Pinheiro & Chaves, 2011). En fait, il existe deux modes de transfert de l'eau dans le système racinaire (Fig. 1-17). Le transfert radial s'opère de la surface de la racine jusqu'aux vaisseaux, qui assurent ensuite le transfert axial pour alimenter en eau et en nutriments les différents organes (Passioura, 1981). Il a été montré que la résistance du transfert radial peut être associée au diamètre racinaire et à l'épaisseur du cortex (Rieger &

Litvin, 1999; Steudle, 2000) tandis que la résistance du transfert axial augmente avec un diamètre réduit des vaisseaux du xylème (Wasson *et al.*, 2012).

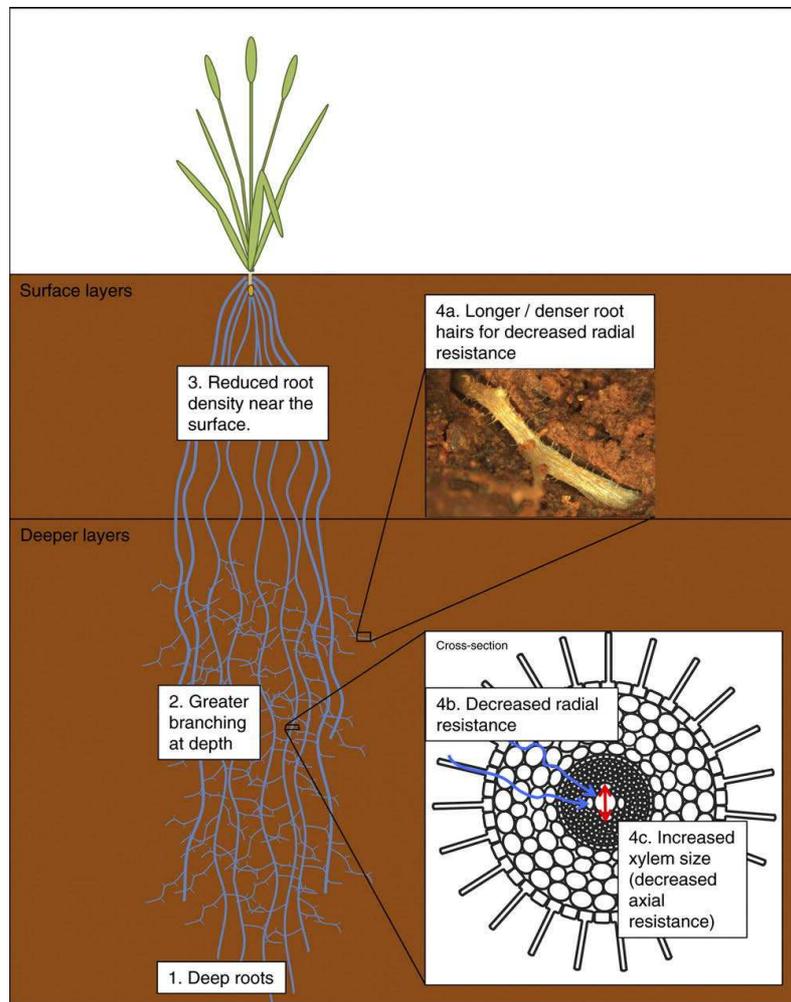


Figure 1-17. Principaux traits racinaires permettant d'augmenter les prélèvements hydriques en profondeur. (Source : Wasson *et al.*, 2012)

Stratégies de tolérance à la sécheresse

Lorsque le stress devient de plus en plus sévère, ces mécanismes d'évitement sont rarement suffisants pour protéger les tissus de la déshydratation. D'autres mécanismes impliqués dans la tolérance à la sécheresse ('drought tolerance') sont nécessaires et peuvent être regroupés en deux grandes catégories : l'évitement et la tolérance de la déshydratation (Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009) (Fig. 1-16).

- Stratégie d'évitement de la déshydratation ('dehydration delay')

Quand la transpiration est minimisée par la fermeture des stomates et que le stress perdure, le principal mécanisme pour retarder la déshydratation est l'ajustement osmotique (Verslues *et*

al., 2006; Volaire *et al.*, 2009). En fait, les constituants solubles, tels que des acides aminés et des sucres non-structuraux, sont mobilisés du cytoplasme vers la vacuole afin de créer un gradient osmotique pour maintenir la turgescence des cellules (Zhang *et al.*, 1999; Verslues *et al.*, 2006). De plus, en se gonflant d'eau, la vacuole protège mécaniquement les parois qui risqueraient de se déformer sous l'effet de la déshydratation (Verslues *et al.*, 2006).

- Stratégie de tolérance à la déshydratation ('dehydration tolerance')

Lorsque le stress se prolonge, il devient de plus en plus difficile pour la plante d'éviter la déshydratation des tissus. Les mécanismes de tolérance sont alors nécessaires pour survivre à la sécheresse. Ils visent essentiellement à préserver l'intégrité cellulaire, par la stabilisation des membranes, à protéger les protéines de la dénaturation et/ou à lutter contre le stress oxydatif (Verslues *et al.*, 2006). Des protéines dites 'chaperonnes', comme les déhydrines et les protéines LEA, ainsi que des acides aminés, tels que la proline, sont communément associés dans la littérature à la protection des membranes, ainsi que dans la lutte contre le stress oxydatif des radicaux libres (Smirnoff & Cumbes, 1989; Ingram & Bartels, 1996; Smirnoff, 1998; Volaire *et al.*, 1998a; Bohnert & Sheveleva, 1998; Volaire, 2002; Hinch & Hagemann, 2004; Pinheiro *et al.*, 2004; Mohammadkhani & Heidari, 2008). Or, les sucres non structuraux sont des éléments solubles qui peuvent aussi être remobilisés pendant la sénescence aérienne en condition de sécheresse (Volaire & Thomas, 1995) et ont récemment été associés aux mécanismes '*dehydration delay*' et '*dehydration tolerance*' en contribuant à la fois aux ajustements osmotiques de la cellule et à la stabilisation des membranes (Livingston *et al.*, 2009).

Mécanismes biochimiques impliqués dans les stratégies de tolérance à la sécheresse

Dans les milieux tempérés, les herbacées sont capables, pendant la saison de végétation, d'accumuler, dans les méristèmes et les organes de réserves, des quantités importantes de sucres solubles, en particulier les fructanes (Chatterton *et al.*, 1989; Pollock & Cairns, 1991; Prud'homme *et al.*, 1993; Guerrand *et al.*, 1996; Pavis *et al.*, 2001a). Ces oligosaccharides produits par 15% des espèces à fleurs (Hendry, 1987, 1993), sont des polymères de fructoses solubles synthétisés et stockés dans les vacuoles à partir du saccharose par des fructosyl-transférases (FTs), (Fig. 1-18 ; Vikn & Smeekens, 1999).

L'hydrolyse des fructanes, par les exohydrolases, permet de maintenir des apports en fructose et en glucose de la vacuole vers les tissus. Les voies de synthèse des fructanes impliquent plusieurs familles d'enzymes (Fig. 1-18) qui dépendent des génotypes considérés

(Livingston *et al.*, 1993; Pavis *et al.*, 2001a). Les espèces à fructanes seraient capables de survivre aux faibles températures en hiver et auraient un développement plus précoce au printemps (Pollock & Jones, 1979; Pollock, 1982; Hendry, 1987; Pollock & Cairns, 1991). Elles présenteraient ainsi un avantage sélectif par rapport aux espèces accumulatrices d'amidon dans les milieux tempérés pour survivre aux hivers froids.

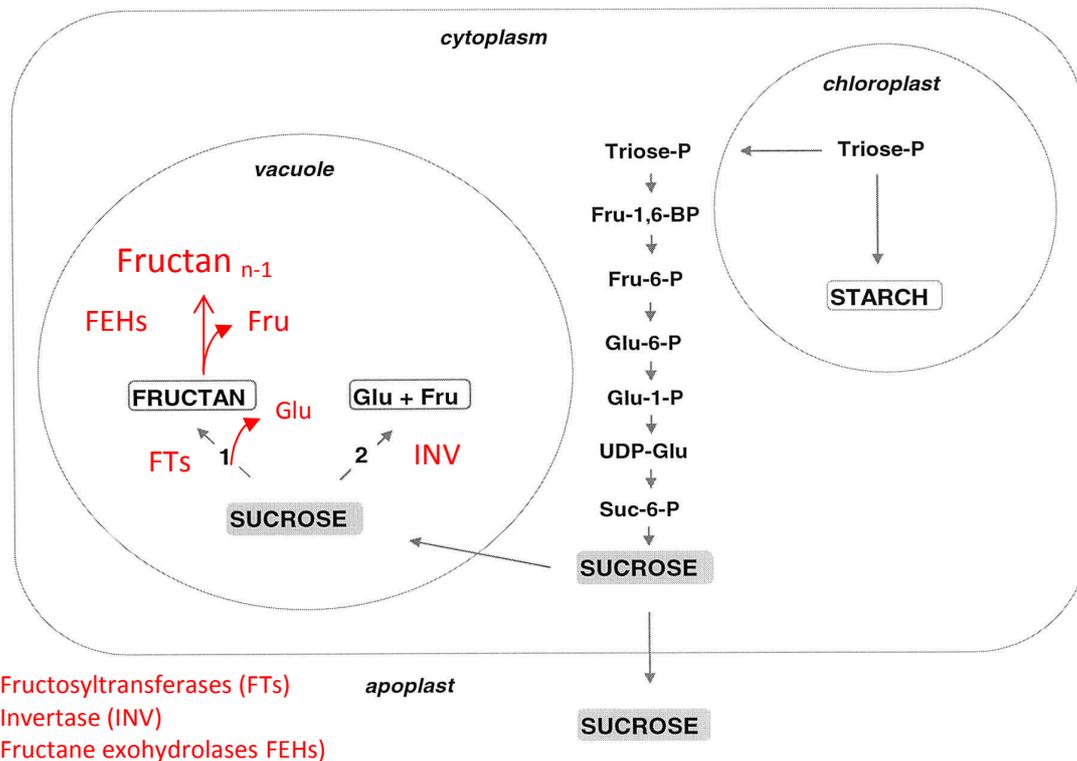


Figure 1-18. Schéma des principales voies métaboliques des sucres solubles dans une cellule végétale. Une forte activité photosynthétique est associée à des flux de carbone importants du chloroplaste vers le cytoplasme, ce qui a pour effet d'augmenter la concentration des intermédiaires utilisés pour la synthèse du saccharose. Le saccharose ainsi obtenu est ensuite distribué à la vacuole (stockage) ou dans l'apoplaste (exports). Dans la vacuole, le saccharose peut être converti en fructans par des fructosyltransférases (1) ou hydrolysé en glucose (Glu) et fructose (Fru) par une invertase (2). (Source : Vijn & Smeekens, 1999).

Mais depuis les vingt dernières années, l'intérêt des fructanes se porte aussi sur leur rôle dans la résistance au stress environnementaux, tels que les sécheresses sévères (Valluru & Van den Ende, 2008). Une étude biogéographique a d'abord montré que les espèces capables de synthétiser les fructanes sont associées à des zones climatiques caractérisées par des sécheresses saisonnières (Hendry, 1993). Puis, il a été montré en effet que la synthèse des fructanes est impliquée dans la réponse à la sécheresse et contribue à une meilleure résistance (Pilon-Smits *et al.*, 1995, 1999; De Roover *et al.*, 2000; Amiard *et al.*, 2003). *In vitro*, les fructanes sont capables de stabiliser les membranes des liposomes soumis à un stress hydrique (Vereyken *et al.*, 2001, 2003; Hinch *et al.*, 2002, 2007; Valluru & Van den Ende, 2008) en

interagissant avec les phospholipides membranaires par des liaisons hydrogènes pour réduire les flux d'eau sortant de la cellule (Fig. 1-19).

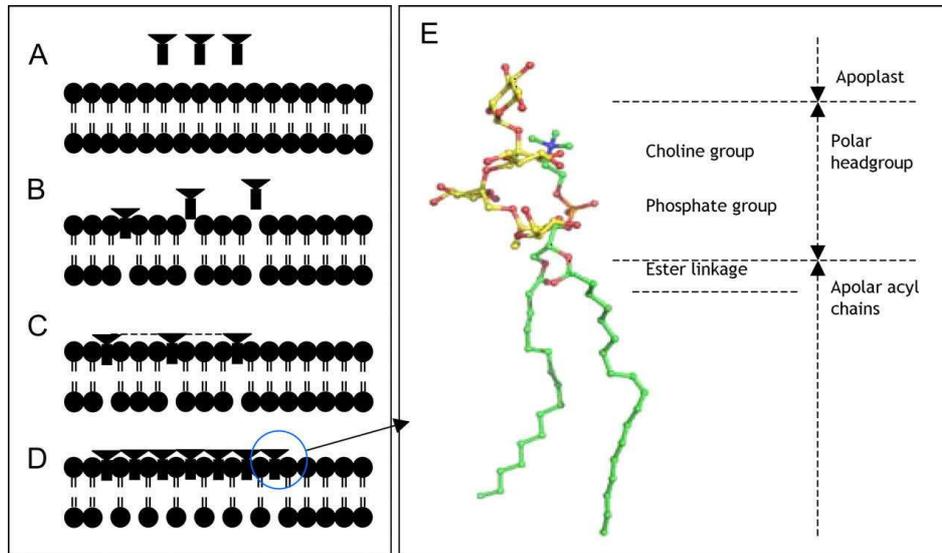


Figure 1-19. Interactions entre les fructanes et la membrane lipidique des cellules. Au début du stress, les fructanes s'approchent de la membrane (A). Puis les fructanes se fixent aux phospholipides par des liaisons hydrogènes (B, C, E) et permettent ainsi de réduire les flux d'eau sortant de la cellule en formant une barrière protectrice et stabilisatrice de la couche lipidique (D).

In vivo, l'accumulation des fructanes dans les méristèmes foliaires a été identifiée comme un mécanisme important dans la tolérance à la déshydratation des herbacées méditerranéennes (Thomas, 1991; Hendry, 1993; Volaire *et al.*, 1998). Par leur longue chaîne carbonée, les fructanes peuvent également servir de réserves pour la croissance de nouveaux tissus après le stress (Volaire & Thomas, 1995; Thomas & James, 1999; Garcia *et al.*, 2011). Mais l'effet de la sécheresse sur le métabolisme des fructanes est très dépendant de l'espèce considérée. Ils peuvent être accumulés (Volaire & Lelievre, 1997; Volaire *et al.*, 1998b; Thomas & James, 1999), modifiés au niveau de la chaîne carbonée (degré de polymérisation) (Thomas, 1991; Volaire *et al.*, 1998b; Thomas & James, 1999) ou réduits (Thomas, 1991; Spollen & Nelson, 1994; Clark *et al.*, 2004). Dans cette dernière situation, il est probable que l'hydrolyse des fructanes soit aussi impliquée dans les mécanismes de tolérance à la sécheresse, *via* le saccharose.

Chez les plantes du désert, le saccharose a été identifié comme l'un des constituants majeurs de la tolérance à la déshydratation des limbes, en contribuant aux ajustements osmotiques et en protégeant les membranes et les protéines de la dénaturation (Ingram & Bartels, 1996; Scott, 2000). Chez des herbacées méditerranéennes, une accumulation de saccharose a aussi été observée dans les méristèmes foliaires (Volaire & Thomas, 1995). Une étude plus récente sur le ray-grass anglais (*Lolium perenne* L.) a montré que le saccharose

s'accumule dans les tissus foliaires et racinaires en réponse à la sécheresse (Amiard *et al.*, 2003). Le saccharose a été également très étudié dans les mécanismes de défense immunitaire et serait impliqué dans de nombreuses voies de signalisation (Moghaddam & Van den Ende, 2012). Or, il existe des similitudes entre les mécanismes de défenses aux stress biotiques et abiotiques (Moghaddam & Van den Ende, 2012).

Ainsi, le rôle des sucres dans la tolérance à la sécheresse est de plus en plus souligné dans la littérature et amène à penser que l'épuisement en carbone serait un des principaux facteurs physiologiques responsables de la mortalité des plantes lors d'un stress sévère ('carbon starvation hypothesis') (McDowell, 2011). En effet, une fois la photosynthèse affectée, la concentration en sucres solubles diminue dans les feuilles (Chaves & Pereira, 1992) et serait perçue par la plante comme un signal pour promouvoir la sénescence et la mobilisation des réserves (Ingram & Bartels, 1996; Wingler & Roitsch, 2008; Pinheiro & Chaves, 2011) (Fig. 1-12). Les sucres disponibles sont consommés pour le maintien de la croissance racinaire et/ou pour la respiration de maintenance, ce qui peut conduire à une insuffisance en carbone si le stress perdure (McDowell *et al.*, 2008; McDowell & Sevanto, 2010; McDowell, 2011). Cependant, des interactions entre l'épuisement en carbone et la perte de conductivité hydraulique ne peuvent être exclues dans les processus physiologiques de la mortalité (Zeppel *et al.*, 2011, 2013; McDowell, 2011; Sala *et al.*, 2012). En effet, il a été observé chez les ligneux l'apparition de bulles d'air (cavitation) dans les vaisseaux de xylème à l'issue d'un stress sévère, pouvant conduire à la rupture du continuum hydraulique et par conséquent à la déshydratation et à la mortalité des cellules, voire de l'individu (Brodribb & Cochard, 2009). Ce phénomène de cavitation reste très peu étudié chez les herbacées (Holloway-Phillips & Brodribb, 2011) et les processus de mortalité en condition de sécheresse sont encore mal connus (McDowell *et al.*, 2008).

4. Bilan des connaissances

De l'analyse de la littérature il ressort clairement que les principaux facteurs de l'environnement, telles que la température de l'air et les précipitations ont une influence directe sur les processus de fonctionnement aériens et souterrains des écosystèmes. La température et la variabilité des précipitations agissent directement sur la disponibilité en eau, la croissance des plantes, leur développement phénologique, la production aérienne et souterraine et sur les cycles biogéochimiques. La modification de ces processus peut avoir des effets indirects sur le climat, la structure et la couverture végétale. Si l'on dispose dans la

littérature de nombreux résultats sur les réponses des communautés végétales au réchauffement global et à la variabilité des précipitations, on constate en revanche que peu d'études ont été réalisées *in situ* afin de tester les effets combinés de ces deux facteurs environnementaux. Qui plus est, à notre connaissance, aucune étude n'a intégré dans sa démarche un extrême climatique.

Des études convergentes montrent que la trajectoire des changements dans la structure et le fonctionnement des communautés dépendra non seulement de l'intensité des perturbations environnementales (Beier *et al.*, 2012), mais également de la capacité des communautés végétales à résister, ainsi que des processus impliqués dans la récupération (Smith *et al.*, 2009). Les arguments développés par les auteurs laissent penser que ces processus de résistance et de récupération sont directement liés à la composition des communautés végétales et nécessitent d'être étudiés à différentes échelles spatio-temporelles, c'est-à-dire de l'individu à la communauté, pendant la perturbation jusqu'aux années, voire décennies qui suivent (Peterson *et al.*, 1998). Cela plaide pour le développement d'essais *in situ* conduits sur le long terme. Nous pouvons en déduire également que pour analyser la résistance et la récupération des prairies permanentes aux événements extrêmes, il est nécessaire de déterminer les stratégies fonctionnelles de résistance et de récupération des populations dominantes.

Dans les milieux tempérés, la résistance à la sécheresse se caractérise essentiellement par la capacité des plantes à maintenir une croissance significative, sans déclin majeur de la couverture végétale. Plusieurs traits racinaires ont été identifiés pour renforcer la stratégie d'évitement (Wasson *et al.*, 2012), mais peu d'études des traits racinaires ont été réalisées en situation de sécheresse sur des herbacées fourragères (Huang and Gao, 2000; BassiriRad and Caldwell, 1992, 2006; Cui and Caldwell, 1997). La notion de tolérance se rapporte plutôt à la capacité des plantes à survivre et à repousser au retour des précipitations automnales. De nombreux mécanismes de tolérance ont déjà été identifiés à l'échelle de l'individu et des populations (Verslues *et al.*, 2006; Volaire *et al.*, 2009), mais peu d'espèces ont été étudiées. Or la sensibilité des espèces à des stress environnementaux dépend des génotypes et des écotypes considérés (Porter & Semenov, 2005). Compte tenu de la diversité des mécanismes impliqués et des interactions possibles, il apparaît nécessaire de réaliser des expérimentations en conditions contrôlées ou semi-contrôlées pour permettre des comparaisons interspécifiques et identifier les types fonctionnels associés aux différentes stratégies de résistance à la

sécheresse. De plus, certains traits foliaires et racinaires comme la teneur en matière sèche, la surface foliaire, etc., bien connus dans la littérature pour les stratégies d'acquisition des ressources, ne semblent pas toujours appropriés pour caractériser les stratégies fonctionnelles de la résistance à la sécheresse (Volaire, 2008). Il apparaît donc utile, pour améliorer notre compréhension des mécanismes impliqués dans les stratégies de résistance à la sécheresse, d'identifier des traits supplémentaires, et plus particulièrement des traits racinaires.

5. Objectifs, hypothèses, et justification de la démarche

a. Les objectifs de la thèse

Le cadre global de ce travail de thèse est d'étudier les effets du changement climatique et d'un extrême climatique, tel qu'une canicule-sécheresse sur le fonctionnement et la structure de l'écosystème prairial. La problématique centrale de la thèse est de déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance et la récupération à court terme des communautés végétales, *via* la diversité des stratégies fonctionnelles pour l'acquisition des ressources et la résistance à la sécheresse. Elle sera complétée par l'étude du rôle joué par les pratiques agricoles (gestion) pour renforcer ces processus.

Sur la base de l'analyse de la littérature, et de notre connaissance actuelle des mécanismes de résistance et de résilience des communautés prairiales à des événements extrêmes, ce travail de thèse a pour principaux objectifs :

- (1) d'analyser les effets directs d'une canicule-sécheresse sur le fonctionnement et la structure de la prairie permanente, en prenant en compte les interactions possibles avec le réchauffement moyen, la variabilité des précipitations et la gestion par la fauche ;
- (2) de déterminer les mécanismes physiologiques impliqués dans la stabilité de la structure des communautés et des processus de fonctionnement après une perturbation extrême.

b. Les hypothèses de recherche

Compte tenu de l'état de l'art préalablement établi, et des exemples récents de canicule-sécheresses en Europe, nous avons construit plusieurs hypothèses pour répondre à nos objectifs:

(H1) : La canicule et la sécheresse de l'année 2003 (températures dépassant de 6°C les normales saisonnières, déficits de pluviométrie atteignant 300 mm) ont entraîné une baisse de la production fourragère estimée à 40% par rapport aux moyennes annuelles de la décennie précédente. Ce fait nous indique qu'une canicule-sécheresse est à même d'induire une perte

importante de la production fourragère, avec des effets rémanents possibles. Nous faisons donc l'hypothèse que cela peut s'expliquer par des changements dans la structure et la composition des communautés végétales. Néanmoins des études (voire § 2.a, Chap. 1) relatent que sous l'effet d'un accroissement de la température, les processus aériens et souterrains de l'écosystème (production aérienne et racinaire, mortalité et turnover racinaires) sont stimulés. Nous pensons donc que ces effets positifs d'un climat plus chaud pourraient améliorer la résistance et/ou la récupération des communautés végétales après un extrême climatique.

(H2) : Les racines sont directement impliquées dans les stratégies d'acquisition des ressources (absorption des nutriments et conductivité hydraulique) et d'évitement à la sécheresse (maintien de prélèvements hydriques) (voir § 3.b, Chap. 1). Cela suggère que la tolérance à la déshydratation et la survie des racines à un extrême climatique auraient un rôle prépondérant dans la résistance et la récupération des processus de l'écosystème prairial.

(H3) : La théorie de la redondance fonctionnelle suggère qu'une diversité élevée conduit à un chevauchement des niches écologiques des espèces qui renforce la stabilité des processus de l'écosystème (voir § 1.b, Chap. 1). Ainsi, nous faisons l'hypothèse que la diversité spécifique et la redondance fonctionnelle des communautés pourraient avoir un effet positif sur la résistance et la récupération de la production aérienne et/ou souterraine de l'écosystème prairial soumis à un extrême climatique.

(H4) : Des études sur le métabolisme des sucres de réserve dans les plantes herbacées (fructanes et saccharose par exemple) laissent apparaître un lien direct entre la teneur en sucre et la résistance de ces espèces à la sécheresse (voir § 3.b, Chap. 1). Nous pouvons donc faire l'hypothèse que la capacité des populations dominantes à accumuler des sucres solubles dans les méristèmes foliaires, les racines et/ou les organes de réserves serait un processus clef dans les stratégies de survie et de récupération de ces espèces.

(H5) : En partant des observations réalisées au champ, il apparaît que les pratiques agricoles affectent la morphologie et le fonctionnement des plantes (voir § 1.c). Cela suggère qu'en agissant sur le métabolisme des réserves glucidiques, la structure et la composition des communautés végétales, un régime de fauches intensif pourrait réduire la capacité de résistance et de récupération des processus aériens et souterrains de l'écosystème prairial.

c. Justification de la démarche

Ce travail de thèse est basé sur une approche structurelle et fonctionnelle, inspirée de celle proposée par Suding *et al.* (2003) (Fig. 1-20), avec la volonté de coupler les processus aériens et souterrains dans notre analyse du fonctionnement et de la structure de l'écosystème prairial.

Notre démarche est donc hiérarchisée sur plusieurs échelles spatiales (de la communauté végétale à l'organe de la plante) et temporelles afin d'évaluer la capacité de résistance et de récupération de l'écosystème prairial et de déterminer les mécanismes sous-jacents. Pour cela, deux expérimentations complémentaires ont été réalisées. Les choix adoptés dans l'élaboration de ce travail sont justifiés dans la partie suivante mais les détails concernant la mise en place des dispositifs et les mesures réalisées sont présentés dans le Chapitre. 2.

Expérimentation in situ, suivi des communautés végétales pendant 3 ans

Notre démarche commence par analyser *in situ* les réponses des communautés végétales et des groupes fonctionnels aux perturbations climatiques sous l'effet de la gestion par la fauche. Les expérimentations *in situ* permettent d'étudier le fonctionnement des écosystèmes avec un minimum d'artefacts (Carpenter, 1990; Beier *et al.*, 2004, 2012). De plus, les manipulations multifactorielles du climat sont des outils importants pour comprendre l'action des facteurs climatiques sur le fonctionnement des écosystèmes (Norby & Luo, 2004; Jentsch *et al.*, 2007; Mikkelsen *et al.*, 2007; Beier *et al.*, 2012). Pour manipuler le microclimat (températures et précipitations) de la végétation *in situ*, un ensemble de dispositifs originaux a été choisi avec la volonté de réduire les biais expérimentaux. Ainsi pour simuler un accroissement important de la température, à même de mimer un épisode caniculaire, nous avons utilisé un dispositif mobilisant le réchauffement par infrarouge. Cette technique présente l'avantage de chauffer la végétation de la même manière que le rayonnement solaire avec un minimum d'effets indésirables sur la végétation et le sol (Nijs *et al.*, 1996; Beier *et al.*, 2004). Un dispositif de réchauffement passif a donc été retenu pour augmenter les températures minimales pendant la nuit (Beier *et al.*, 2004). Ce système est basé sur l'utilisation de rideaux automatiques la nuit et permet de maintenir le rayonnement infrarouge réémis par le sol pendant la nuit au sein de la végétation avec un gradient thermique réaliste. Ce système automatique permet aussi d'intercepter les précipitations naturelles et de contrôler ainsi les apports d'eau. Cela nous permet de simuler une sécheresse dans des conditions *in situ*, par un contrôle minutieux des apports d'eau. En complément, un dispositif de réchauffement actif, basé sur l'utilisation de lampes infrarouges, a été choisi pour simuler *in situ* une vague de chaleur avec un différentiel de température constant (Kimball, 2005; Kimball *et al.*, 2007).

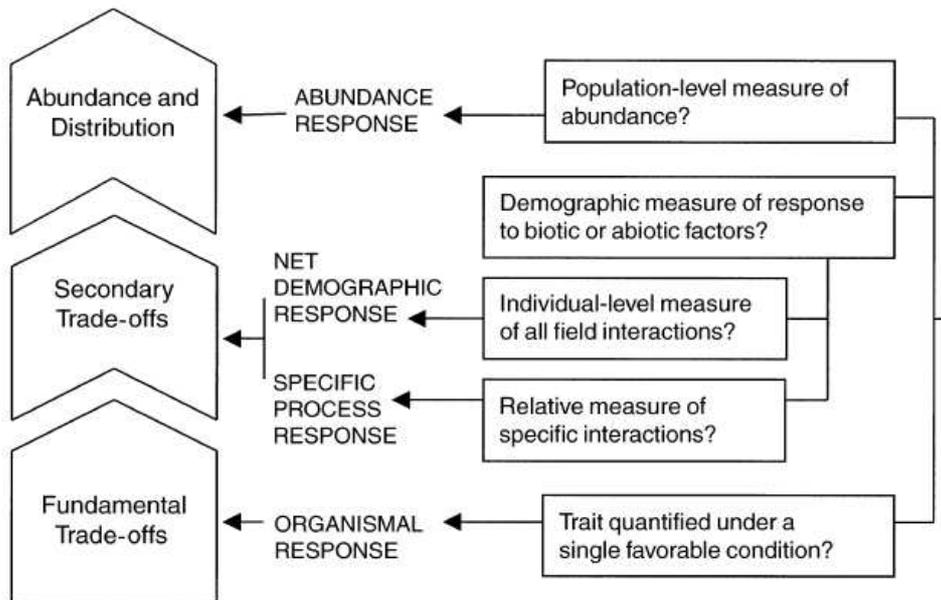


Figure 1-20. Différents niveaux de réponse des communautés végétales, de l'individu à l'abondance des espèces. Les compromis fondamentaux s'exercent à l'échelle de l'individu et peuvent être mesurés par les traits fonctionnels en conditions optimales. Les compromis secondaires sont directement liés aux compromis fondamentaux et correspondent à la réponse des organismes aux facteurs de l'environnement. Ils peuvent donc être déterminés par l'étude des traits sous des gradients environnementaux ou à la suite d'une perturbation. A partir de ces compromis, il est possible d'évaluer l'abondance des populations le long des gradients écologiques (source : Suding *et al.*, 2003)

Cette expérimentation suivie pendant 3 ans, a produit des résultats (voir Chapitres 3 et 4) qui nous ont conduits à nous questionner sur les principaux processus de fonctionnement aériens et souterrains à l'échelle des communautés impliquées. En recoupant nos observations et l'analyse de la littérature nous avons choisi de focaliser notre étude sur la production de biomasse, la composition fonctionnelle et spécifique de la couverture végétale, et la démographie racinaire. En effet ces mécanismes permettent de modéliser les éléments clés de la réponse du couvert à des perturbations climatiques extrêmes.

Expérimentation en conditions semi-contrôlées, suivi des populations

Si notre analyse *in situ* apporte des éléments de réponses sur les régulations au sein de la communauté, elle ne permet pas d'analyser finement les mécanismes physiologiques sous-jacents. Pour ce faire, sur la base de la composition botanique des communautés étudiées dans notre première expérimentation, des espèces prairiales ont été sélectionnées selon leurs réponses spécifiques observées *in situ*. L'enjeu était de pouvoir réduire la complexité de la communauté végétale à quelques espèces modèles afin d'étudier les mécanismes de réponse à la sécheresse, à l'échelle des populations. Pour cela, une deuxième expérimentation a été menée à partir de monocultures en conditions semi-contrôlées. Afin de déterminer le rôle de la stratégie d'évitement dans la réponse à la sécheresse des populations étudiées, deux

systèmes de cultures ont été choisis de manière à contraindre (bacs) ou non (tubes) l'enracinement en profondeur du système racinaire. Pour limiter les biais expérimentaux sur le rayonnement ou le vent liés à l'utilisation de serres ou de chambres de cultures (Carpenter, 1989, 1990), nous avons développé une plateforme de « phénotypage » afin de manipuler à l'extérieur le facteur précipitation. Pour cela, un abri automatique et transparent a été utilisé pour intercepter les précipitations naturelles, et un réseau de balances a été mis en place pour contrôler les apports d'eau de chaque population, *via* un système d'acquisition des données, et permettre des comparaisons interspécifiques. Pour approcher les mécanismes physiologiques qui nous intéressent, nous avons mobilisé l'approche de l'écologie fonctionnelle en sélectionnant des traits morphologiques et physiologiques, aériens et souterrains, à même de nous renseigner sur le fonctionnement de ces populations.

Les traits mesurés ont été choisis selon les fonctions écologiques reliées à l'acquisition des ressources (la teneur en matière sèche, la vitesse de croissance foliaire, la profondeur d'enracinement et la distribution des racines, etc.), le statut hydrique (teneur en eau des limbes, racines et méristèmes foliaires), et le métabolisme des sucres solubles (teneurs en sucres totaux, fructanes, saccharose dans les méristèmes foliaires, racines, apex et organes de réserves). Ces traits ont d'abord été mesurés en conditions optimales pour déterminer les compromis fondamentaux (potentiel de croissance, acquisition des ressources) des différentes populations (Suding *et al.*, 2003). Puis les compromis secondaires ont été analysés en conditions de sécheresse modérée et sévère afin de caractériser les stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse.

Le cadre conceptuel de la thèse sous-jacent à notre démarche de travail est représenté dans la figure 1-21.

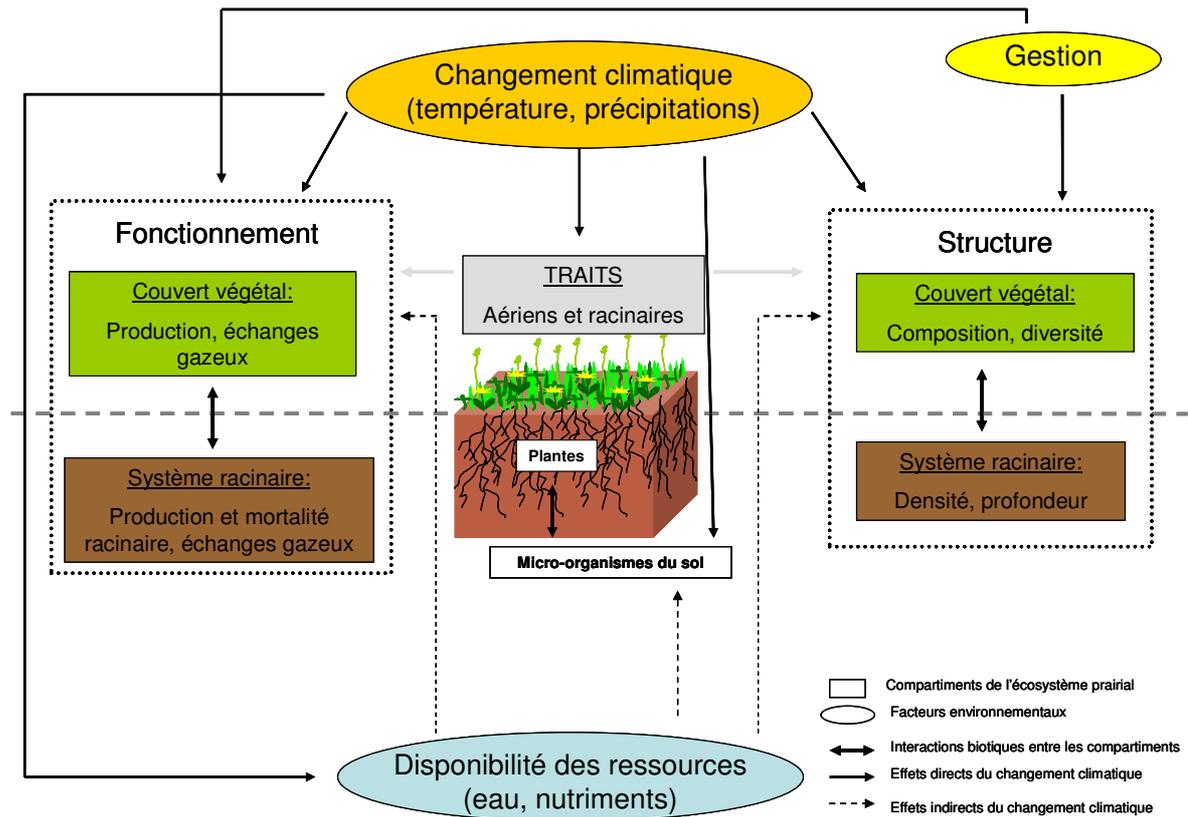


Figure 1-21. Cadre conceptuel sous-jacent à la démarche de la thèse

d. Présentation du plan de la thèse

Le chapitre suivant (Chap. 2) présente en détails la mise en place des deux expérimentations et les protocoles utilisés pour l'acquisition des données. Les résultats de cette thèse sont présentés sous forme d'article en anglais et sont organisés en trois grandes parties. Les résultats expérimentaux des processus aériens observés *in situ* à l'échelle des communautés seront présentés dans le chapitre 3. Ce chapitre a pour objectif de quantifier les effets directs et indirects du réchauffement moyen, de la variabilité des précipitations et d'une canicule-sécheresse sur la production de biomasse, sur la composition fonctionnelle et spécifique en interaction avec la fauche. Le chapitre 4 se concentre sur les processus racinaires étudiés sur la même expérimentation *in situ*. Il s'agira de déterminer le rôle du système racinaire dans la récupération des processus de fonctionnement aérien. Dans le chapitre 5, les stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse des populations prairiales sont caractérisées à partir des résultats de la deuxième expérimentation. Enfin dans un dernier chapitre (Chap. 6), ces résultats seront discutés et mis en perspectives avec la littérature récente.

Chapitre 2 :

MATERIELS ET METHODES

1. Présentation de l'expérimentation *in situ*

a. Le site expérimental

Les manipulations du climat *in-situ* se sont déroulées sur une parcelle située sur la commune de Saint Genès-Champanelle (France, 45°43'N, 03°01'E), à 880 m d'altitude. Le climat local est semi continental avec quelques influences océaniques, caractérisé par une saison froide et des événements neigeux étalés de Novembre à Mai, mais la neige est rarement persistante. L'analyse des conditions météo sur une période de référence de 30 ans (1969-1999) montrent que 90% des années observées présentent des précipitations annuelles comprises entre 600 et 1000 mm, soit une moyenne de 806 ± 141 mm par an, et sont essentiellement réparties au printemps et à l'automne (Fig. 2-1, Annexe 1). Seulement 5% des années observées ont un cumul annuel compris entre 500 et 600 mm ou supérieur à 1000 mm, et aucune année n'a été observée au-delà de ces seuils sur la période de référence. La température moyenne annuelle est 8.0 ± 0.8 °C, avec des moyennes saisonnières comprises entre 1.8 ± 1.3 °C et 14.8 ± 1.1 °C. La moyenne des minimums de température de l'air observée en hiver est -8.8 ± 2.9 °C, avec environ 42 ± 14 jours de gel par année. Les maximums de températures oscillent en moyenne autour de 23.8 ± 1.6 °C en été (Annexe 1).

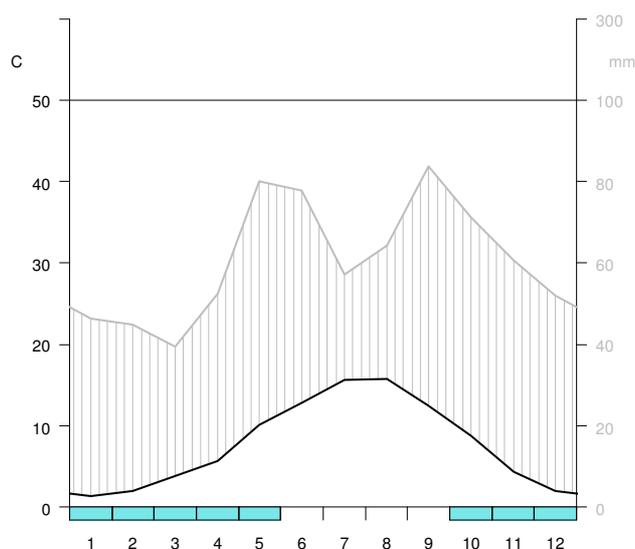


Figure 2-1. Conditions météorologiques mensuelles de référence (1969-1999) pour le site de Saint Genès-Champanelle (noir : températures ; gris : précipitations). Les rectangles bleus indiquent les mois présentant des risques de gel.

Le sol est sablo-limoneux de type brun granitique (50% sable, 24% limon, 25% argile et 39% matières organiques), avec un rapport C:N de 9.6 et un pH de 6.2. D'un bout à l'autre de la parcelle, la profondeur du sol varie de 0.74 à 1.12 m. La capacité au champ et le point de flétrissement théoriques, mesurés en laboratoire par la méthode de presse à membranes, ont été évalués à 25% et 13.4%, respectivement.

b. Le design expérimental

Dès les années 1980, les expérimentations *in situ* ont été largement critiquées à cause de leur faiblesse statistique liée au manque de répétitions (Hurlbert, 1984; Carpenter *et al.*, 1989; Carpenter, 1990). Afin d'analyser les effets d'un extrême climatique sur la prairie permanente dans des conditions de climat actuel et futur, en interaction avec la gestion, un dispositif factoriel a été élaboré selon un design en 'split-plot' (Philippeau, 1989; Dagnelie, 2003). La parcelle expérimentale a ainsi été découpée, dans sa longueur, en 4 blocs complets randomisés comprenant 4 plots (18 m²) sur lesquels ont été répartis quatre traitements climatiques. Puis chaque plot a été divisé en deux sous-plots pour l'application de deux régimes de fauches, comme facteur secondaire (Fig. 2-2). Finalement, le dispositif regroupe 32 sous-plots (9 m²), soit 4 répétitions par combinaison de traitement.

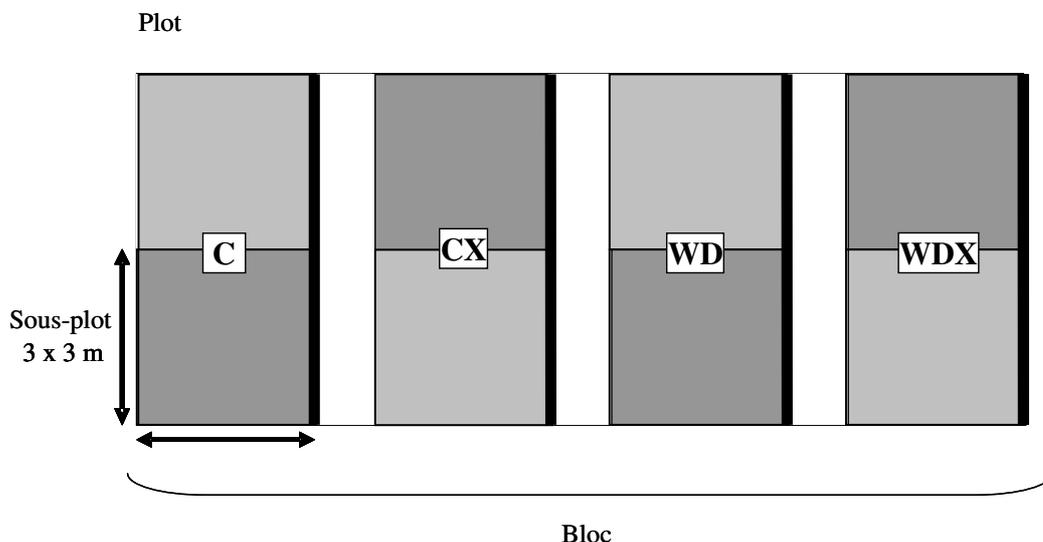


Figure 2-2. Représentation d'un bloc expérimental regroupant 4 plots sur lesquels les traitements climatiques (C ; CX ; WD et WDX) ont été répartis. Chaque plot est découpé en deux sous-plots pour l'application de deux modes de gestion (gris clairs et gris foncé)

c. Les communautés végétales

La végétation étudiée est une prairie permanente composée majoritairement de Poacées (51.5%), puis de Fabacées (20.8%) et dicotylédones non fixatrices (27.7%) (Fig. 2-3). Il y a 20 ans, cette prairie été fauchée et pâturée avec des apports réguliers d'engrais azotés inorganiques. Puis elle a été entièrement consacrée à la fauche sans apport d'engrais.



Figure 2-3. Composition des communautés végétales au printemps, avec une dominance remarquable des Poacées, suivies du pissenlit (*Taraxacum officinale*) (24 et 28 avril 2010)

La composition botanique initiale a été déterminée selon la méthode des points quadrats (Daget & Poissonet, 1971) (voir détails Annexe 2). Puis l'homogénéité de la composition et de la diversité des communautés végétales au sein de la parcelle expérimentale a été préalablement vérifiée (Annexe 2). La composition initiale des communautés végétales est présentée dans le Tableau 2-1. Seulement six espèces ont été présentes sur la majorité des points quadrats et ont été considérées comme dominantes (*Ap*, *Dg*, *Lp*, *Pp*, *Pt*, *To* et *Tr*). De nombreuses espèces n'ont été observées que très ponctuellement et n'ont pas été analysées dans ce travail de thèse (voir Chapitre 3).

Tableau 2-1. Composition initiale des communautés observée en avril 2009 selon la méthode des point quadrats (Daget & Poissonet, 1971).

Clades	Familles Botaniques	Abr.	Noms latins	Abondances Relatives
<u>Monocotylédones</u>	Poacées	<i>Ac</i>	<i>Agrostis capillaris</i>	2.5 ± 4.7
		<i>Ap</i>	<i>Alopecurus pratensis</i>	2.5 ± 2.7
		<i>Ae</i>	<i>Arrhenatherum elatius</i>	0.6 ± 1.4
		<i>Bm</i>	<i>Bromus mollis</i>	0.1 ± 0.4
		<i>Dg</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	4.1 ± 3.5
		<i>Er</i>	<i>Ekymus repens</i>	0.4 ± 2.4
		<i>Fa</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	0.1 ± 0.2
		<i>Hl</i>	<i>Holcus lanatus</i>	0.1 ± 0.2
		<i>Lp</i>	<i>Lolium perenne</i>	26.6 ± 10.6
		<i>Pp</i>	<i>Poa pratensis</i>	2.7 ± 2.5
		<i>Pt</i>	<i>Poa trivialis</i>	10.0 ± 6.4
		<i>Tf</i>	<i>Trisetum flavescens</i>	1.9 ± 2.5
		<u>Dicotylédones</u>	Apiacées	<i>As</i>
Astéracées	<i>Am</i>		<i>Achillea millefolium</i>	0.1 ± 0.3
	<i>To</i>		<i>Taxacum officinale</i>	26.8 ± 11.3
Brassicacées	<i>Sm</i>		<i>Stellaria media</i>	0.0 ± 0.2
Caryophyllacées	<i>Cf</i>		<i>Cerastium fontanum</i>	0.1 ± 0.2
	<i>Cg</i>		<i>Cerastium glomeratum</i>	0.0 ± 0.2
Fabacées	<i>Tp</i>		<i>Trifolium pratense</i>	0.0 ± 0.1
	<i>Tr</i>		<i>Trifolium repens</i>	20.7 ± 8.7
Renonculacées	<i>Racr</i>		<i>Ranunculus acris</i>	0.1 ± 0.5
Scrophulariacées	<i>Va</i>		<i>Veronica arvensis</i>	0.0 ± 0.1

d. Les traitements

i. Les quatre scénarios climatiques

L'objectif de cette expérimentation était de tester la vulnérabilité des communautés végétales à un changement de climat moyen, à des conditions de températures extrêmes et de sécheresse prolongée. Pour cela, la manipulation de la température et des précipitations a été réalisée de manière combinée sous forme de scénario climatique afin de conserver une variabilité saisonnière proche des conditions réelles. Quatre scénarios climatiques régionalisés ont été obtenus par le CERFACS⁴ à partir des températures et des précipitations journalières observées sur le site pendant la période de référence 1969-1999 et du modèle ARPEGE⁵ de Météo France. La méthode de régionalisation utilisée est une méthode de désagrégation statistique (Boé *et al.*, 2006), simulant ainsi une maille de 8 km de côté correspondant au site expérimental. Il faut souligner cependant que les modèles climatiques ne peuvent évidemment pas prédire un climat 50 ans à l'avance. En revanche, ils simulent une série climatique fictive, dont la distribution des températures et des précipitations nous a permis de définir nos quatre traitements expérimentaux (Tableau 2-2) :

(1) : Afin de s'affranchir des aléas climatiques pendant l'expérimentation, les conditions moyennes de référence pour la période actuelle (1969-1999) ont été appliquées au Control (C).

(2) : Le traitement WD (Warming + rainfall Decrease) avait pour objectif de simuler des conditions moyennes de températures et de précipitations dans un futur proche (2040-2050), selon le scénario SRES A1B du GIEC⁶. Ce traitement combine ainsi un réchauffement moyen de 0.7°C et une réduction des précipitations annuelles de 30%, répartie en été et en automne, soit -30% et -40% des précipitations estivales et automnales par rapport à C.

Ces deux traitements climatiques ont été appliqués pendant deux saisons de végétation (mars-novembre) en 2009 et 2010 par une technique de réchauffement nocturne passif et d'exclusion

⁴ Le CERFACS (**Centre Européen de Recherche et de Formation Avancée en Calcul Scientifique**) est un centre de recherche dont l'objectif est de développer des méthodes de simulation numérique avancées ainsi que les solutions algorithmiques.

⁵ Le modèle de prévision numérique planétaire ARPEGE (Action de Recherche Petite Echelle Grande Echelle) est un élément essentiel pour la prévision opérationnelle du temps à Météo-France. La version climat d'ARPEGE, nommée ARPEGE-Climat, a été développée dans les années 90 (Déqué *et al.*, 1994).

⁶ Le scénario SRES (Special Report on Emission Scenario) A1B décrit un monde futur dans lequel la croissance économique sera très rapide, la population mondiale atteindra un maximum au milieu du siècle avant de décliner ensuite. De nouvelles technologies plus efficaces seront développées avec des sources énergétiques variées mais de part relativement égale (IPCC, 2000)

de pluie (Beier *et al.*, 2004; Mikkelsen *et al.*, 2007). Puis, sur la base de ces deux scénarios, deux autres traitements incluant un extrême climatique pendant l'été 2009 ont été définis :

(3) Le traitement CX (Control + Extreme) se caractérise par des conditions de températures et de précipitations similaires à C, sauf pendant l'été 2009.

(4) Le traitement WDX (Warming + rainfall Decrease + Extreme) combine à la fois le réchauffement moyen de 0.7°C et la réduction des précipitations saisonnières inclus dans le traitement WD, ainsi qu' une réduction des précipitations supplémentaire pendant l'été 2009.

L'extrême climatique a été défini par rapport aux anomalies de précipitations et de température observées pendant la canicule de 2003 (Ciais *et al.*, 2005). Il a tout d'abord été caractérisé par une diminution progressive des précipitations à partir de juin 2009 conduisant à une sécheresse estivale (-30% et -68% pour CX et WDX par rapport à C). Puis mi-juillet 2009, une vague de chaleur de +6°C à été appliquée sur la végétation, pendant deux semaines sans précipitations, par réchauffement actif (Kimball, 2005; Kimball *et al.*, 2007).

Tableau 2-2. Descriptif des traitements climatiques appliqués sur les communautés végétales en 2009.

Treatments	Temperature		Precipitation		
	Annual	Summer	Annual	Summer	Autumn
C : Control	Actual	Actual	Actual	Actual	Actual
CX : Control + extreme	Actual	Heat Wave (HW)	-10%	-30%	Actual
WD : Warming + Drought	+ 0.7 °C	+ 0.7°C	-30%	-30%	-40%
WDX : Warming + Drought + extreme	+ 0.7 °C	+ 0.7 °C + HW	-36%	-68%	-40%

Le réchauffement passif

Ce système de réchauffement passif a été adapté à la prairie permanente (Mikkelsen *et al.* 2008) après avoir été développé sur des landes arbustives (Beier *et al.*, 2004). Afin de limiter les artefacts sur la végétation, 16 rideaux ont été installés sur la parcelle expérimentale en juin 2008, soit un an avant le début de l'expérimentation. Cette méthode de réchauffement consiste à bloquer les rayonnements infrarouges émis par le sol, puis de les réfléchir vers la surface du sol, avec un minimum d'artefacts sur les processus de l'écosystème, en couvrant la végétation pendant la nuit (Beier *et al.*, 2004). Les rideaux blancs, en tissu acrylique (3 x 9 m), ont été suspendus sur une structure métallique, entre 1.40 m et 1,90 m de hauteur, afin de permettre la décharge de l'eau en cas de pluie (Fig. 2-3 ; 2-4). Pour limiter la contamination du sol par la dégradation naturelle de la structure métallique, cette dernière a été construite en aluminium inoxydable. Grâce à un capteur situé à proximité du dispositif, l'ouverture et la fermeture des rideaux ont pu être contrôlées à la tombée de la nuit, puis au levé du jour. Afin

d'éviter les dégâts occasionnés par des vents trop forts ($> 8 \text{ m s}^{-1}$), le système a également été équipé d'un anémomètre de sécurité permettant de contrôler l'ouverture et la fermeture quand nécessaire. De plus, le réchauffement passif a dû être interrompu pendant l'hiver, pour limiter les dégâts occasionnés par le gel et les chutes de neige, et a donc été appliqué pendant la saison de végétation (mars-novembre) uniquement.

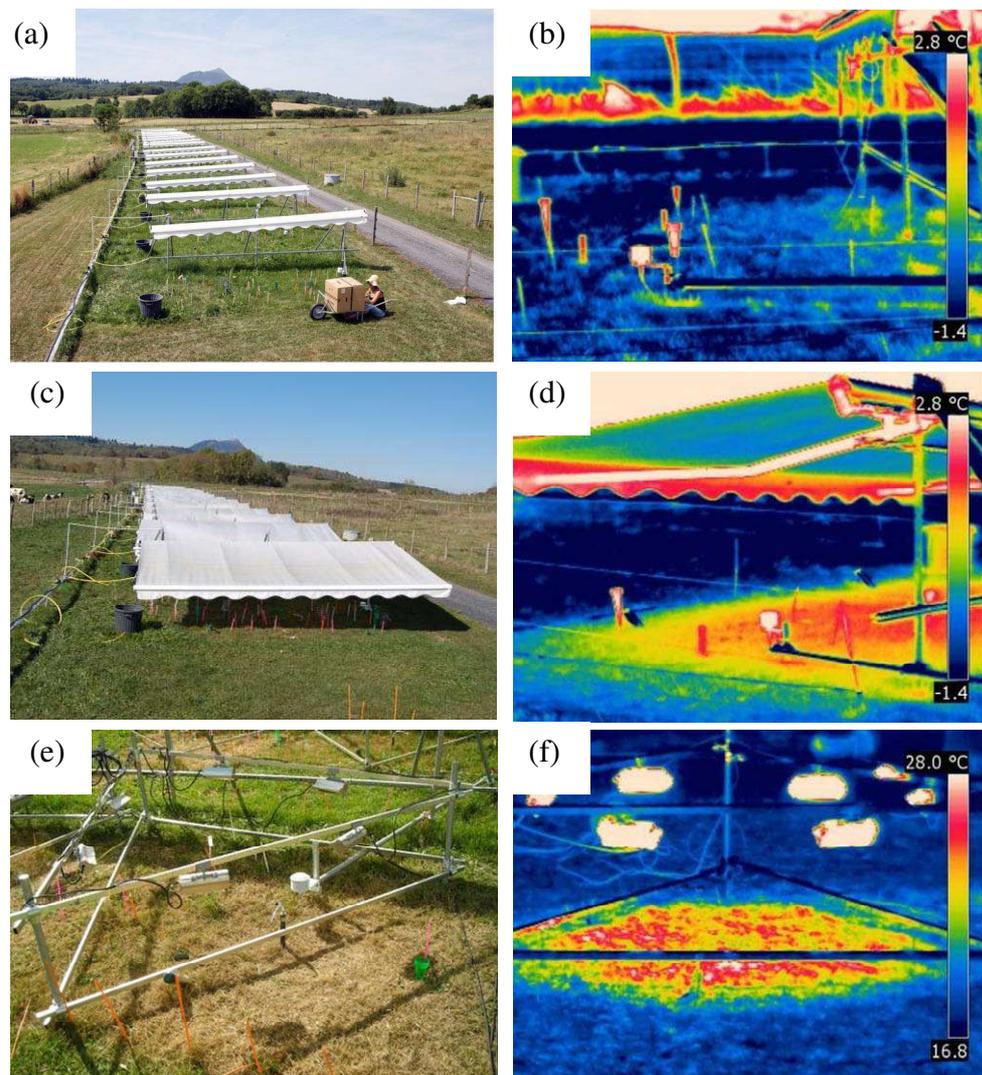


Figure 2-4. Installation expérimentale du système de réchauffement passif, d'exclusion de pluie (a, c, d) et du système de réchauffement actif (e, f). Les images infrarouges prises en fin de nuit (avril 2009, 6h) montrent un réchauffement de $+2^{\circ}\text{C}$ en moyenne sous l'effet des rideaux déployés (d) par rapport à la végétation du traitement C (b). L'installation en cercle des 6 radiateurs infrarouges (e) a permis de réchauffer ($+6^{\circ}\text{C}$) la végétation sur une surface d'environ 1.8 m de diamètre, de manière relativement homogène (f).

Le contrôle des précipitations

Le dispositif utilisé pour le réchauffement passif permet également d'exclure les précipitations naturelles, grâce à un capteur de pluie situé à proximité du système. L'eau interceptée par les rideaux a ensuite été collectée dans des bassines, puis évacuée par des

tuyaux à l'extérieur du dispositif (Fig. 2-4c). Lors d'un événement pluvieux en journée, environ 26% du rayonnement actif pour la photosynthèse était intercepté par les rideaux blancs sur tous les plots.

Les apports d'eau ont ensuite été réalisés par l'intermédiaire d'un système d'irrigation complémentaire. Deux arroseurs, ayant une capacité d'arrosage d'environ 9 L min^{-1} , ainsi que trois pluviomètres, ont été installés sur chaque plot. Afin de maintenir une distribution des précipitations similaire au climat local, les précipitations ont été apportées en 2009 et 2010 de manière hebdomadaire, selon les scénarios établis pour chaque traitement climatique (Tableau 2-2). Pour analyser les arrières effets des perturbations climatiques, les précipitations n'ont plus été manipulées en 2011. Par conséquent, chaque plot a été soumis à nouveau aux conditions de précipitations et de températures saisonnières locales.

Le réchauffement actif

Une canicule expérimentale a été appliquée sur les traitements CX et WDX, en juillet 2009 (8-22/07), quand les conditions du sol étaient les plus sèches. Le système utilisé pour simuler cette vague de chaleur (+ 6°C) est une technique de réchauffement direct par une source infrarouge, appelée FATI (Free Air Temperature Increase) (Nijs *et al.*, 1996). Ce système a ensuite été amélioré pour permettre de réchauffer une culture de blé au champ sur une plus large surface et de manière homogène (Kimball, 2005; Kimball *et al.*, 2007). C'est ce dernier système que nous avons adapté à la prairie. Pour cela, des structures triangulaires en aluminium de 3 m de côté (Fig. 2-4e) ont été assemblées pour porter 6 radiateurs infrarouges (MOR heaters IRLAX 10001, puissance maximum 1kW) inscrit dans un cercle, au dessus de chaque splot des traitements CX et WDX. Les 6 radiateurs, équidistants de 1m, ont été orientés de 30° vers le centre du cercle et de 50° par rapport à la verticale. Un réchauffement homogène sur une zone circulaire d'environ 1.80 m de diamètre a ainsi été obtenu.

Trois capteurs infrarouges (IR 120, Campbell Scientific, UK) ont été installés au dessus des traitements C, CX et WDX, puis connectés à une centrale d'acquisition des données (CR1000, Campbell Scientific, UK) et à un système de régulation automatique pour permettre de maintenir un différentiel de température de + 6°C en moyenne, entre les traitements chauffés et non chauffés. Ce système présente aussi l'avantage de conserver les fluctuations naturelles des températures au cours de la journée.

ii. Les deux régimes de fauches

Afin de comprendre l'effet de la gestion dans la réponse des communautés végétales aux perturbations climatiques, deux régimes de fauches contrastées ont été appliqués : (1) Fauches fréquentes (Cut+) ; (2) Fauches non fréquentes (Cut-). Ces traitements ont démarré à partir d'août 2008 sur l'ensemble du dispositif, avec deux fauches pour le traitement Cut+ et une fauche pour le traitement Cut-. Le calendrier des fauches pour les trois années d'expérimentation est présenté dans le Tableau 2-3.

Tableau 2-3. Calendrier des fauches appliquées pendant les trois années d'expérimentation sur les traitements Cut+ (fauches fréquentes) et Cut- (fauches non fréquentes)

2009		2010		2011	
Cut +	Cut -	Cut +	Cut -	Cut +	Cut -
15-mai		11-mai		17-mai	
16-juin	16-juin	7-juin	7-juin	15-juin	15-juin
27-juil.				27-juil.	
24-août	24-août	17-août		29-août	29-août
1-oct.		27-sept.	27-sept.	5-oct.	
16-nov.	16-nov.			9-nov.	9-nov.

e. Mesures des conditions environnementales

L'acquisition des conditions environnementales au sein de la végétation a pu être réalisée en continu. En effet, chaque plot a été équipé d'une sonde de température et d'humidité de l'air, située à 20 cm au dessus du couvert végétal. Sur chaque sous-plot, la température du sol a été mesurée à 0-10 cm avec des sondes platines (T107, Campbell, UK) ; et l'humidité du sol à 0-30 cm avec des sondes TDR (CS635, Campbell, UK). Les données ont été enregistrées toutes les minutes dans une centrale d'acquisition (CR1000, Campbell, UK), puis moyennées sur un intervalle de temps de 15 min. Pendant la canicule expérimentale, l'enregistrement continu des températures de surface a été possible grâce à des capteurs infrarouges, connectés à un système d'acquisition supplémentaire (voire § 1d, Chap. 1). De plus, des enregistrements ponctuels de la température de surface ont été réalisés avec une caméra (FLIR system Therma CAMTM S65HS) et un thermomètre infrarouges (Fluke 66 IR thermometer). Les images infrarouges obtenues par la caméra ont ensuite été analysées avec le logiciel 'FLIR system'.

Le rayonnement utile à la photosynthèse (PAR) et les précipitations sur le site ont été enregistrés en continu par une station météo secondaire située en bordure de l'expérience, à 1,5 m de hauteur. Enfin, des données complémentaires (vent par exemple) ont aussi été recueillies par une station du réseau Météo-France, située à 1 km du site.

f. Mesures réalisées sur la végétation *in situ*

Les mesures réalisées, à l'échelle des communautés et des populations, sont présentés dans le Tableau 2-4, tandis que les protocoles utilisés sont détaillés en annexe.

Tableau 2-4. Mesures réalisées, pendant l'expérimentation *in situ*, à l'échelle des communautés et des populations végétales sur les compartiments aériens et souterrains. Pour le détail des protocoles utilisés, se référer aux annexes. En noir figurent les paramètres qui sont analysés et présentés dans les chapitres de résultats ; en gris, les paramètres dont l'analyse est en cours et qui ne sont pas abordés dans cette thèse.

COMMUNAUTÉS				
Fonctionnement			Structure	
Aérien	Production de biomasse	Annexe 2	Composition spécifique	Annexe 2
	Sénescence aérienne	Annexe 2	Diversité spécifique	Annexe 2
	Azote exporté	Annexe 2	Composition fonctionnelle	Annexe 2
	Qualité des fourrages	Annexe 2	Redondance fonctionnelle	Annexe 2
Souterrains (0-5) cm et (15-20) cm	Production racinaire (vitesse de croissance, production totale et production nette)	Annexe 3	Longueur racinaire	Annexe 3
	Mortalité racinaire (vitesse de mortalité, longueur cumulée de racines mortes)	Annexe 3	Diamètre moyen	Annexe 3
	Durée de vie	Annexe 3	Proportion de racines fines/racines grossières	Annexe 3
	Turnover	Annexe 3		
POPULATIONS				
Traits morphologiques			Traits physiologiques	
Aérien	traits foliaires (SLA, LDMC)	Annexe 4	Traits foliaires (LNC, teneur en eau relative, conductance stomatique)	Annexe 4
			Potentiel hydrique	Annexe 4
			Teneur en eau des gaines	Annexe 4
			Teneurs en sucres solubles	Annexe 4
			Stabilité membranaire des méristèmes	Annexe 4
Souterrains	non mesurés in situ		non mesurés in situ	

Fonctionnement des communautés végétales

A l'échelle des communautés, la production de biomasse et l'azote exporté ont été déterminés à partir du matériel végétal récolté, à chaque date de fauche (Tableau 2-3), dans un quadrat de 50 cm de côté. Ces mesures avaient pour objectifs de déterminer la dynamique saisonnière de la production fourragère et d'évaluer l'utilisation de l'azote par les communautés végétales. Des observations de sénescence aérienne ont également été réalisées en 2009 pour mesurer la réponse directe des communautés aux traitements climatiques CX, WD et WDX. Sur le compartiment souterrain, une méthode d'observation racinaire non destructive a été utilisée (minirhizotron) pour déterminer la dynamique de croissance et de mortalité racinaire en 2009 et en 2010.

Ces paramètres mesurés dès le début de l'expérimentation en 2009 ont permis de déterminer le potentiel de production aérien et souterrain de la prairie au stade initial. Puis, le suivi des ces variables a été découpé en trois grandes périodes pour permettre d'évaluer la vulnérabilité de la prairie aux perturbations climatiques :

(1) La résistance au déficit hydrique modéré (WD) et à une canicule sécheresse d'ampleur comparable à celle de 2003 (CX et WDX) a été caractérisée pendant l'été 2009.

(2) Une phase de récupération en 2009, après réhydratation des traitements CX et WDX, nous a ensuite permis de déterminer la capacité de récupération des communautés végétales à l'automne.

(3) En 2010 et en 2011, le suivi des variables à plus long terme nous a permis de caractériser la stabilité de la production et d'évaluer la capacité de résilience des communautés végétales.

Composition et structure des communautés végétales

Une classification basée sur la taxonomie (Poacées, Fabacées, Dicotylédones non fixatrices) permet une première description des fonctions de la communauté considérée, telles que la fixation d'azote, la phénologie, les cycles de vie, la capacité photosynthétique (Díaz & Cabido, 2001). Ainsi, la composition des communautés a d'abord été caractérisée par l'abondance relative des Poacées, des Fabacées et des Dicotylédones non fixatrices dans le matériel végétal récolté à chaque fauche. Pendant l'été 2009, des observations ont également été réalisées pour déterminer la réponse directe de ces types fonctionnels aux traitements climatiques, et évaluer leur résistance, *via* leur abondance relative dans la couverture végétale non sénescente.

A partir des inventaires botaniques, la composition spécifique et la structure des communautés végétales ont été caractérisées par l'abondance relative des espèces, par la diversité (richesse spécifique, indice de Shannon, équitabilité des espèces et redondance fonctionnelle). Après avoir déterminé la composition et la structure initiale des communautés végétales (voir § 1.c, Chap. 2 ; Annexe 2), les inventaires botaniques réalisés au printemps 2010 et 2011 nous ont permis de mesurer les effets indirects des perturbations climatiques sur la prairie et d'identifier les espèces les plus vulnérables et les plus résistantes.

g. Analyses statistiques

Toutes les variables mesurées dans cette expérimentation *in situ* ont été analysées avec un modèle linéaire mixte selon un design 'split-plot' d'après Crawley (2007). Compte tenu de

l'hétérogénéité de la parcelle expérimentale dans sa longueur (gradient profondeur, composition botanique), un modèle linéaire mixte a permis d'améliorer la fiabilité statistique pour analyser les effets des facteurs considérés. Les effets fixes ont été définis par (1) les traitements climatiques, appliqués à l'échelle du plot et représentant ainsi le premier niveau de facteur ; (2) les régimes de fauches, appliqués à l'échelle du sous-plot et représentant le deuxième niveau de facteur ; et (3) l'interaction entre ces deux facteurs. Les effets aléatoires du modèle mixte ont ensuite été attribués au bloc. Afin de tester les effets des facteurs fixes, une analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs a ensuite été réalisée. Toutes ces analyses ont été faites dans le logiciel R (RCore Team, 2011) avec le package 'nlme' (Pinheiro *et al.*, 2012). Toutes les données de proportions (abondances relatives) ont été préalablement transformées par la fonction ArcSin (Racine carrée (abondance/100)) avant d'être analysées dans le modèle linéaire mixte. Quand nécessaire, les données ont été transformées par la fonction Log ou Log(x+1) pour améliorer les hypothèses de validité du modèle linéaire sur la normalité des résidus et l'homogénéité des variances. Les tests de normalité des résidus et d'homogénéité des variances ont été respectivement effectués par des tests de Shapiro-Wilk et de Fligner-Killen centré sur les médianes. Quand ces conditions de validité n'étaient pas respectées, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été réalisés à partir des facteurs simples. Ces tests ne permettant pas de tester l'interaction entre facteurs, nous avons ensuite réalisé des ANOVA à facteurs simples. Lorsque ces tests paramétriques et non paramétriques à facteurs simples fournissaient les mêmes résultats, le modèle linéaire mixte a été conservé afin de maintenir l'interaction 'climat x coupe' dans l'analyse. Quand les effets des facteurs fixes étaient significatifs à un seuil de 5%, des tests post-hoc (Tukey) ont été effectués avec le package R 'multcomp' (Hothorn *et al.*, 2008).

2. Présentation de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées

a. Le matériel végétal

Choix des espèces étudiées

Afin de déterminer les stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse des populations prairiales, six espèces présentes dans notre expérimentation *in situ* ont été choisies selon leurs réponses à l'extrême : *Dactylis glomerata* (Dg), *Festuca arundinacea* (Fa), *Poa pratensis* (Pp), *Poa trivialis* (Pt), *Trisetum flavescens* (Tf) et *Taraxacum officinale* (To). De plus ces espèces pérennes sont également caractéristiques des prairies de fauches et présentent un intérêt agronomique reconnu (Peeters, 2004; Antonetti *et al.*, 2006). Le cultivar méditerranéen

Dactylis glomerata cv Medly (*Md*), dont les réponses physiologiques à la sécheresse ont déjà été bien étudiées (Volaire, 1995; Volaire & Lelievre, 2001) a également été cultivé pour constituer le témoin résistant à la sécheresse de cette expérimentation.

Ces espèces ont été étudiées en monocultures à partir de semis. Les graines de *Dg*, *Fa*, *Pp*, *Pt*, ont été récoltées manuellement en 2000 sur les prairies permanentes de l'ORE⁷ à Theix (45°43'N, 3°01'E, 880 m a.s.l) (voir Pontes, 2006; Pontes *et al.*, 2007). Les graines de *To* proviennent du même site, mais ont été récoltées à la fin du printemps 2010. Toutes ces graines nous ont donc permis de cultiver 6 populations, issues de moyenne montagnes, avec une variabilité intra-spécifique liée à la nature de leur habitat, à la fertilité et à la gestion des prairies permanentes (intensité de l'utilisation, fauche et/ou pâturage). Les graines de *Md* sont des graines commercialisées qui proviennent de la RAGT⁸.

Préparation du sol

Toutes les espèces ont été étudiées dans des cultures en bacs et en tubes, afin de mettre en évidence les différentes stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse dans des conditions de système racinaire contraint et non contraint. Tout d'abord, environ 10 m³ de sol de prairies a été prélevé à sur l'ORE de Theix en mai 2010. Il s'agit d'un sol brun, composé de 12% argile, 17% limons, 59% sable, et 13% de matières organiques, qui a été préalablement tamisé à 7 mm de diamètre, puis séché à l'air libre jusqu'en aout 2010. La capacité au champ et le point de flétrissement théorique ont été mesuré à 22.3% et 15.7%, respectivement selon la méthode de Richards & Weaver (1943).

Deux types de cultures ont été préparés pour permettre la croissance des racines en profondeur dans des tubes (h = 150 cm ; Ø = 10 cm, PVC) ou les contraindre à rester en surface dans des bacs (50 x 50 cm ; h = 40 cm), de manière à caractériser le rôle du système racinaire dans les sols profonds dans la réponse à la sécheresse. Tous les bacs et les capuchons des tubes ont été percés au fond, puis pesés après avoir ajouté une couche de pouzzolane pour faciliter le drainage. Avant le remplissage des tubes, une pochette en plastique (h = 180 cm ; Ø = 10 cm) a d'abord été introduite dans chaque tube afin de faciliter le démoulage de la colonne du sol en prévision des prélèvements racinaires. Ensuite, des quantités de sol sec bien définies ont été ajoutées (116 kg dans les bacs ; 12 kg dans les

⁷ Observatoire de Recherche en Environnement Prairies Permanentes dont l'objectif est d'analyser, sur le long terme, les effets de la gestion sur les propriétés des écosystèmes et les conséquences environnementales.

⁸ La RAGT (Rouergue Auvergne Gévaudan Tarnais) crée, produit et commercialise des semences dans le monde entier. Elle couvre particulièrement les espèces majeures de grandes cultures et d'élevage en Europe.

tubes), mélangées à de l'engrais N-P-K (14-7-14, 3.5 kg m⁻³) de manière à homogénéiser les conditions de cultures et cultiver les populations dans des conditions non limitantes en nutriments. Pendant le remplissage des bacs, des tubes PVC transparents ont été introduits dans la diagonale à 45°, après avoir été préalablement pesés, en prévision des observations racinaires par la technique du minirhizotron. Le remplissage des tubes s'est réalisé en trois étapes (3 x 50 cm) afin de mimer le tassement du sol observé en conditions réelles, avec un gradient du plus tassé au fond vers le moins tassé en surface. Au total, 56 bacs et 105 tubes ont été préparés.

Préparation des monocultures

Avant les semis, des tests de germination ont été réalisés (Tableau 2-5) afin de vérifier le pouvoir germinatif des graines récoltées et ajuster la densité de manière à obtenir 2000 graines germables au m² dans toutes les cultures. Ces tests ont été effectués à 20°C dans l'obscurité pendant 2 semaines, sur du papier filtre humidifié.

Tableau 2-5. Taux de réussite au test de germination et densités de semis réalisées pour la mise en culture des populations étudiées.

Clades	Familles Botaniques	Abr.	Nom latin	Germination en test (%)	Densité semis réalisée (g m ⁻²)
<u>Monocotylédones</u>	Poacées	<i>Dg</i>	<i>Dactylis glomerata</i>	34	3320
		<i>Md</i>	<i>D. glomerata cv Medly</i>	73	2450
		<i>Fa</i>	<i>Festuca arundinacea</i>	86	2280
		<i>Pp</i>	<i>Poa pratensis</i>	34	3320
		<i>Pt</i>	<i>Poa trivialis</i>	91	2180
		<i>Tf</i>	<i>Trisetum flavescens</i>	46	3120
		<u>Dicotylédones</u>	Astéracées	<i>To</i>	<i>Taxacum officinalis</i>

Afin de caractériser les stratégies fonctionnelles de résistance à la sécheresse sur des populations bien développées, les semis ont été réalisés environ 6 mois avant le début de l'expérimentation (septembre 2010), en lignes dans les bacs (8 lignes par bacs espacées de 5 cm) et en poquets dans les tubes. Pour favoriser la germination des Poacées, les graines ont été introduites dans un sillon de 1 à 2 cm de profondeur avant d'être recouvertes par un sol bien tassé. Toutes les populations se sont ensuite développées à l'extérieur pour être exposées à des conditions hivernales et favoriser l'endurcissement des plantes (Volaire *et al.*, 2005) avant le début de l'expérimentation. Pour cela, toutes les cultures ont été semi-enterrées (Fig. 2-5) à partir d'octobre 2010 jusqu'à mi-avril 2011, de manière à utiliser le pouvoir tampon du sol comme isolant et préserver les jeunes plantules du gel pendant l'hiver. Un voile de forçage a également été installé au dessus des cultures pendant la nuit lorsque les prévisions

météorologiques annonçaient des risques de gel. Malgré ces précautions, des repiquages ont été nécessaires au début du printemps 2011 (mars 2011). Pour cela, des mottes de terres issues de bacs supplémentaires prévus à cet usage, ont été transplantées après avoir inciser les parties aériennes et racinaires des plantes pour stimuler la croissance et favoriser l'enracinement.



Figure. 2-5. Bacs (a) et tubes (b) semi-enterrés pendant l'hiver (8 mars 2011)

En avril 2011, toutes les cultures ont été sorties de terre et protégées par des plaques d'isolant StyrodurR©, dans le but de limiter les variations de températures du sol pendant l'expérimentation. Pour éviter un artefact sur le rayonnement à proximité du feuillage, un enrubannage vert a été utilisé pour recouvrir l'isolant (Fig. 2-6). Les populations végétales ont ensuite été maintenues au stade végétatif par des coupes régulières afin d'appliquer les traitements hydriques dans des conditions de développement similaires (Tableau 2-6).

Tableau 2-6. Dates des coupes réalisées sur les cultures en bacs et en tubes pendant la durée de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées.

Bacs		Tubes	
2011	2012	2011	2012
4-avr.	19-mars	6-avr.	19-mars
28-avr.	31-mai	26-avr.	31-mai
19-mai		16-mai	
15-juin		14-juin	
28-juil.		18-août	
28-sept		28-sept.	

b. Le dispositif expérimental

La plateforme expérimentale

En 2010, une plateforme de phénotypage a été mise en place sur le site INRA à Crouel (Clermont-Ferrand, 45°47'N, 03°05'E, 350 m a.s.l.) afin d'étudier la réponse des populations végétales à une sécheresse sévère avec un suivi automatisé des conditions environnementales.

Cette plateforme comprend 80 balances (Arpege Master K type N PAC + SAT MB, France), placées en extérieur sur une dalle en béton (11 x 20 m), et capables de résister à des contraintes mécaniques fortes ainsi qu'aux intempéries (Fig. 2-6a).

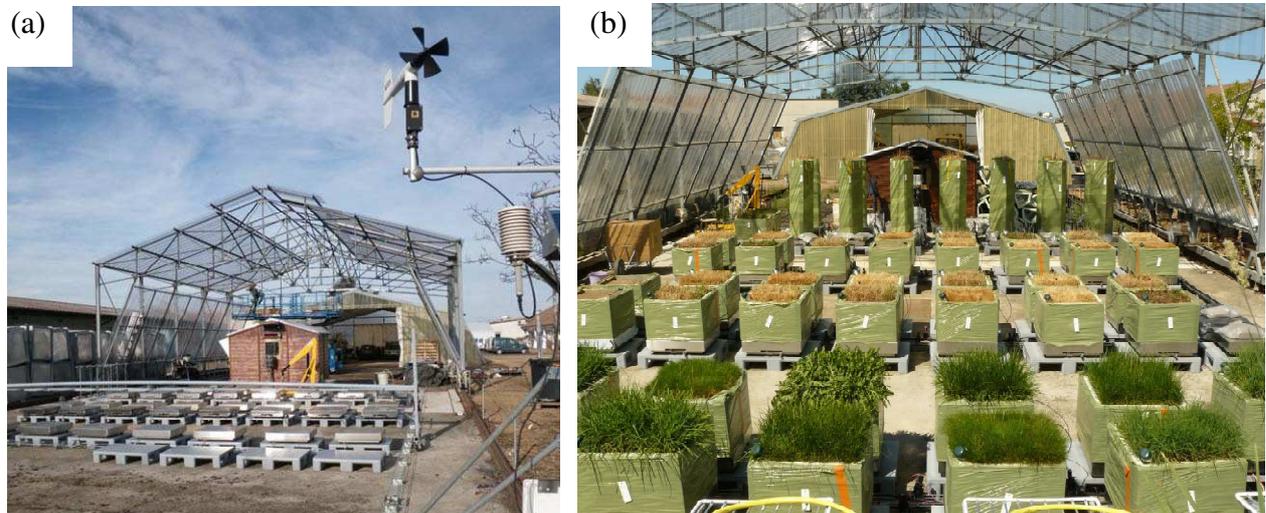


Figure 2-6. Plateforme expérimentale en préparation (a, novembre 2010) sur le site INRA de Crouël (Clermont-ferrand), puis en cours d'expérimentation (b, août 2011).

Irrigation des cultures et contrôle des précipitations

Les balances ont été utilisées comme outil de pilotage des apports d'eau de manière à contrôler la disponibilité en eau du sol. Les bacs et les tubes ayant été préalablement pesés, puis remplis avec des quantités de sol sec bien définies, la teneur en eau des cultures a pu être déduite à partir des pesées. De plus, une électrovanne a été associée à chaque balance afin de piloter par informatique l'irrigation des cultures. Une rampe d'arrosage sur roulettes, similaire à un dispositif d'irrigation en grande culture a été élaborée. En se positionnant au-dessus des cultures en bacs, nous avons pu simuler un événement pluvieux lors de chaque arrosage. Pour des raisons de sécurité principalement, cette rampe n'a pas pu être utilisé pour l'arrosage des tubes et a donc été remplacée par un système de goutte à goutte.

Pour contrôler les apports d'eau et de simuler une sécheresse sévère, les précipitations naturelles ont été interceptées par un abri (12.5 x 10.8m, h = 3.5m) en plexiglas transparent. Grâce à un capteur de pluies, connecté à un système de commande, cet abri a pu être déplacé automatiquement le long d'un rail afin de couvrir les populations en cas de pluies. Cet abri mobile nous a donc permis de contrôler le traitement sécheresse en limitant les artefacts sur le rayonnement et les vents.

c. Les traitements hydriques

L'objectif principal de cette expérimentation était d'analyser la réponse des populations prairiales à la sécheresse. Pour cela, tous les apports d'eau ont donc été contrôlés après l'installation des cultures sur la plateforme en avril 2011. Toutes les populations ont d'abord été maintenues à capacité au champ pour pouvoir analyser leur potentiel de production en conditions optimales. Pendant cette période, le stade végétatif a été maintenu par des coupes régulières (entre 5 et 7 cm de hauteurs). Puis, deux traitements hydriques ont été appliqués à partir du 29 juin 2011. Pendant que les populations témoins ('Control', n=3) étaient toujours maintenues à capacité au champ, l'arrosage des populations restantes a été interrompu pendant 50 jours et les précipitations ont été interceptées automatiquement par l'abri mobile pour induire le traitement sécheresse ('Drought', n=12). Ce traitement a d'abord été défini par une diminution progressive de l'humidité du sol pendant les 20 premiers jours ('moderate drought'); puis par un stress sévère pendant les 30 jours suivants ('severe drought'). Pour mesurer la survie des populations après le stress, les populations ont été progressivement réhydratées à partir de fin août 2011 et maintenues à capacité au champ jusqu'à la fin de la saison de végétation (novembre 2011). Elles ont ensuite été soumises aux précipitations locales jusqu'en juin 2012.

d. Le design expérimental

Les dimensions de l'abri étant inférieures à celles de la plateforme, les cultures ont dû être réparties selon les traitements appliqués, constituant ainsi deux blocs. Pour permettre la circulation de la rampe d'arrosage, toutes les cultures en tubes ont été installées aux deux extrémités de la plateforme. Toutes les cultures en bac ont été posées sur une balance individuelle tandis que celles en tubes ont été regroupés par trois (Fig. 2-7).

e. Mesures des conditions environnementales

Une station météorologique automatisée a été installée, à 2 m de hauteur, sur la plateforme (Fig. 2-6 ; 2-7). Les conditions de température et d'humidité de l'air, de rayonnement global, ainsi que la vitesse et la direction du vent ont été enregistrées toutes les 30 min par une centrale d'acquisition des données (CRX-10 Campbell Scientific Inc., Utah, USA).

Toutes les balances ont été branchées en série et connectées à un système informatique pour permettre l'acquisition et la gestion des données automatiquement. Toutes les 20 secondes, les pesées sont enregistrées, puis moyennées sur une période de 15 minutes avant d'être stockées. Grâce à ce système informatique, l'humidité du sol et l'évapotranspiration des

cultures ont pu être suivies en continu. Pour permettre d'étudier le profil hydrique du sol dans les cultures en tubes, des sondes d'humidité du sol (ECHO-5) ont également été installées, à trois profondeurs (-15 ; -40 ; -100 cm), dans trois tubes pour chaque population. Ces sondes ont été connectées à un boîtier d'acquisition des données (ECHO₂ Decagon Devices, USA), pour enregistrer et stocker les données sur un intervalle de 15 minutes.

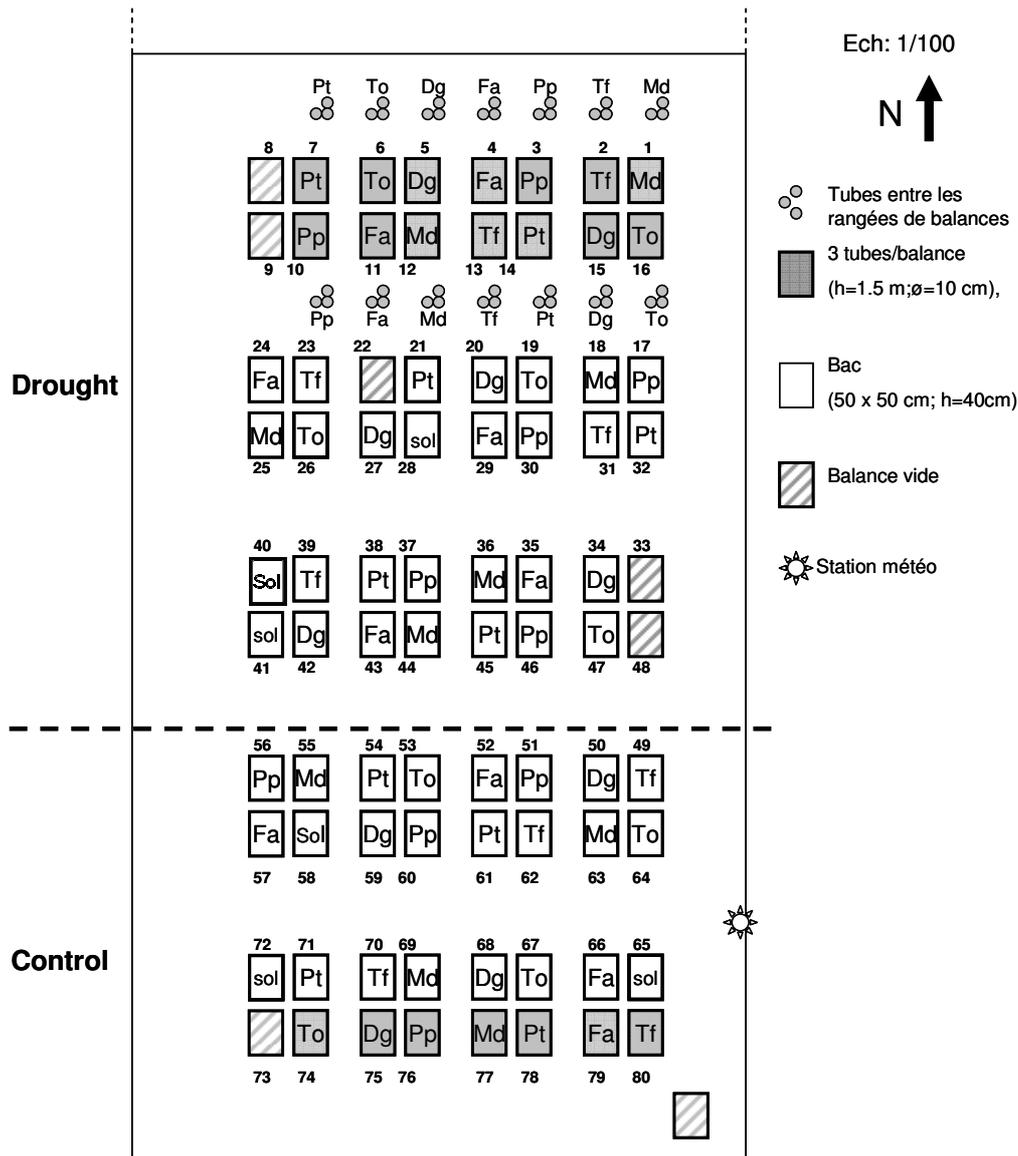


Figure 2-7. Schéma de la plateforme avec la répartition des cultures en tubes (gris) et en bacs (blanc) et des différentes populations (Dg : *D. glomerata* ; Fa : *F. arundinacea* ; Md : *D. glomerata* cv. Medly ; Pp : *P. pratensis* ; Pt : *P. trivialis* ; Tf : *T. Flavescens* ; To : *T. officinale*). Les numéros indiquent la numérotation des balances branchées en série.

f. Mesures réalisées sur les populations végétales

Les mesures réalisées sur les populations végétales dans les cultures en bacs et en tubes sont présentées dans le Tableau 2-7. Pour comparer leur potentiel de croissance en conditions optimales, et déterminer leurs stratégies d'acquisition des ressources et de résistance à la sécheresse, la vitesse maximale de croissance foliaire et la production printanière ont d'abord été analysées au printemps, puis des mesures de traits morphologiques et physiologiques ont été réalisés sur les compartiments aériens et souterrains. Pour cela, le matériel végétal a été prélevé, sur 3 tubes par populations, à cinq dates :

- (1) au stade initial avant la sécheresse (28-30/06/2011) pendant que les cultures étaient maintenues à capacité au champ ;
- (2) à l'arrêt de l'élongation foliaire (18-20/07/2011) soit à la fin du stress modéré ;
- (3) avant la réhydratation (22-24/08/2011), c'est-à-dire après que les populations aient été soumises à la sécheresse sévère ;
- (4) la semaine suivante (29-31/08/2011) pour les populations non soumises à la sécheresse afin d'analyser l'effet de la sécheresse sur les variables mesurées ;
- (5) le printemps de l'année suivante pour évaluer la capacité de résilience des populations prairiales (20-22/06/2012).

Bien que les traits foliaires mesurés avant sécheresse ne soient pas de bons indicateurs de la survie à la sécheresse, des traits fonctionnels standardisés (SLA, LDMC, LNC), les teneurs relatives des limbes et des gaines ont été analysées afin de déterminer les stratégies d'acquisition des ressources en conditions optimales et l'effet de la sécheresse sur le statut hydrique.

L'étude des populations en monoculture nous a permis d'étudier les traits racinaires de chaque espèce, ce qui est particulièrement difficile à réaliser dans les communautés diversifiées *in situ*. Ainsi, le profil racinaire a pu être déterminé pour chaque espèce pour en déduire leur stratégie d'acquisition des ressources. La distribution des racines dans le sol est effectivement un bon indicateur de la zone d'exploration des racines pour l'acquisition de l'eau et des nutriments (Jackson *et al.*, 1996; Cornelissen *et al.*, 2003). De plus, La réponse du système racinaire à la sécheresse a été analysée pour déterminer son rôle dans les stratégies de résistance à la sécheresse.

Tableau 2-7. Mesures réalisées en conditions semi-contrôlées à l'échelle des populations végétales dans les cultures en bacs et en tubes. Pour le détail des protocoles utilisés, se référer aux annexes. En noir figurent les paramètres qui sont analysés dans les chapitres de résultats ; en gris, les paramètres dont l'analyse est en cours et qui ne seront pas abordés dans cette thèse.

BACS				
Traits aériens			Traits racinaires	
Morphologie	Traits foliaires (SLA, LDMC)		Longueurs et densité racinaire Diamètre moyen Proportions de racines fines/grossières	
Physiologie	Potentiel hydrique des limbes Sénescence Teneur en eau des gaines			
Fonctionnement	Vitesse maximale d'élongation foliaire Potentiel de production de biomasse au printemps Photosynthèse du couvert, évapotranspiration et efficacité d'utilisation de l'eau	Annexe 6	Vitesses de croissance et mortalité racinaires Potentiel de production de biomasse au printemps Durée de vie et turnover racinaires	
TUBES				
Traits aériens			Traits racinaires	
Morphologie	Traits foliaires (SLA, LDMC)	Annexe 5	Profondeur maximum Distribution et profil racinaire	Annexe 5 Annexe 5
Physiologie	Teneur en eau relative des limbes	Annexe 5	Teneur en eau relatives des racines	Annexe 5
	Teneur en eau des gaines	Annexe 5	Teneurs en sucres solubles des racines et apex	Annexe 5
	Sénescence	Annexe 5	Stabilité membranaire des racines et apex	Annexe 5
	Teneurs en sucres solubles des méristèmes	Annexe 5		
	Stabilité membranaire des méristèmes	Annexe 5		
Fonctionnement	Vitesse maximale d'élongation foliaire	Annexe 5		
	Potentiel de production de biomasse au printemps	Annexe 5		

Enfin pour pouvoir améliorer notre compréhension des mécanismes de tolérance à la sécheresse et identifier les stratégies impliquées chez les populations prairiales de moyennes montagnes, des mesures de traits physiologiques ont également été réalisées à l'échelle de l'organe. Sur les herbacées Méditerranéennes, les méristèmes foliaires sont considérés comme des organes de survie. En assimilant les sucres solubles et en résistant à la dessiccation, ils sont capables d'assurer la production de nouvelles feuilles après la réhydratation (Volaire *et al.*, 1998b, 2009). Pour tester notre hypothèse sur le rôle des réserves dans la résistance à la sécheresse des herbacées prairiales de moyenne montagne (H4), des mesures de concentration en sucres solubles ont donc été réalisées sur des méristèmes foliaires. Afin de déterminer le rôle du système racinaire dans la survie de ces populations non acclimatées à des conditions

de sécheresse sévère (H2), des apex racinaires, et des racines de 5 strates de sol ont également été prélevés pour mesurer leurs teneurs en sucres solubles (voir détails Annexe 5). De plus, à la fin du traitement sécheresse, la tolérance à la dessiccation des organes de la plante a été déterminée par des mesures de stabilité membranaire.

g. Analyses statistiques

Toutes les variables mesurées ont été analysées par deux ANOVA à facteur simple ayant pour objectifs de (1) comparer les populations à chaque date d'observation (effet population) ; (2) puis de déterminer l'effet de la sécheresse sur chaque population étudiée (effet date). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel de programmation R (R Core Team, 2012). Les données de proportion ont été préalablement transformées par la fonction $\arcsin(\sqrt{x/100})$. Les hypothèses de normalité et d'homogénéité des variances ont été vérifiées par les tests de Shapiro et Fligner Killeen, respectivement. Quand nécessaire, les variables ont été transformées par la fonction racine carrée avant de réaliser les ANOVA. Quand les effets testés étaient significatifs, ces analyses ont été approfondies par des tests post hoc (Tukey) avec le package 'multcomp' (Hothorn & Bretz, 2009), afin de déterminer les différences interspécifiques et la réponse des populations au stress modéré et sévère.

Compte tenu des différences morphologiques des populations étudiées, l'élongation foliaire, la sénescence aérienne et la stabilité membranaire des organes ont également été analysées en fonction de l'humidité du sol, via des régressions linéaires.

Afin d'identifier les traits indicateurs de l'évitement et de la tolérance à la sécheresse, de la survie et de la récupération après sécheresse, une matrice de corrélation a été obtenue à partir des coefficients de Pearson. Cette analyse a été réalisée avec le package 'Hmisc' (Harrel & Dupont, 2007). Puis, une analyse en composante principale (package 'ade4' ; Dray and Dufour, 2007) a finalement permis de déterminer les stratégies d'acquisition des ressources et de résistance à la sécheresse des espèces étudiées et de définir des types fonctionnels en lien avec ces stratégies.

Chapitre 3 :

EFFETS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE ET D'UNE CANICULE-SECHERESSE SUR LES PROCESSUS AERIENS DES COMMUNAUTES VEGETALES *IN SITU*

Ce chapitre est consacré à l'analyse *in situ* des effets directs et indirects du réchauffement, de la variabilité des précipitations et d'une canicule-sécheresse sur le fonctionnement aérien et la structure des communautés végétales, en interaction avec la fréquence des fauches. Dans une première partie, les principaux résultats sur la production aérienne à l'échelle des communautés et des types fonctionnels (Poacées, Fabacées, Dicotylédones non fixatrice) sont présentés sous la forme d'un article scientifique publié dans la revue *Global Change Biology*. Puis dans une deuxième partie, une étude complémentaire développe les effets du climat et de la gestion sur la diversité spécifique des communautés végétales et sur l'abondance des espèces dominantes. Ce chapitre a donc pour objectifs (1) d'analyser les effets de la variabilité climatique sur la stabilité la production de biomasse aérienne, et (2) de comprendre comment la gestion intervient dans la réponse des communautés végétales au changement climatique et à une canicule-sécheresse.

Partie 1 – ARTICLE

LASTING EFFECTS OF CLIMATE DISTURBANCE ON PERENNIAL GRASSLAND ABOVE-GROUND BIOMASS PRODUCTION UNDER TWO CUTTING FREQUENCIES

Zwicke Marine¹, Alessio Giorgio A.¹, Thiery Lionel¹, Falcimagne Robert¹, Baumont René^{2,3},
Rossignol Nicolas^{2,3}, Soussana Jean-François¹, Picon-Cochard Catherine^{1*}

Published in Global Change Biology

1. INRA, UR874, Grassland Ecosystem Research Team, 5 chemin de Beaulieu, F-63100
Clermont-Ferrand, France

2. INRA, UMR1213, Herbivores, F-63122 St Genès Champanelle, France

3. Clermont Université, VetAgro Sup, UMR1213 Herbivores, BP 10448, F-63000 Clermont-
Ferrand, France

Corresponding author: Catherine Picon-Cochard, Tel: (+)33 473 62 45 84; Fax: (+)33 473
62 44 57; email: catherine.cochard@clermont.inra.fr

Keywords: extreme summer event, drought, heat-wave, future climate, resistance, recovery,
return-time, grasses, forbs, legumes, N export

Abstract

Climate extremes can ultimately reshape grassland services such as forage production and change plant functional type composition. This 3-year field research studied resistance to dehydration and recovery after rehydration of plant community and plant functional types in an upland perennial grassland subjected to climate and cutting frequency (Cut+, Cut-) disturbances by measuring green tissue percentage and above-ground biomass production (ANPP). In year one, a climate disturbance gradient was applied by co-manipulating temperature and precipitation. Four treatments were considered: control and warming-drought climatic treatment, with or without extreme summer event. In year two, control and warming-drought treatments were maintained without extreme. In year three, all treatments received ambient climatic conditions. We found that the grassland community was very sensitive to dehydration during the summer extreme: aerial senescence reached 80 % when cumulated climatic water balance fell to -156 mm and biomass declined by 78 % at the end of summer. In autumn, canopy greenness and biomass totally recovered in control but not in warming-drought treatment. However ANPP decreased under both climatic treatments, but the effect was stronger on Cut+ (-24 %) than Cut- (-15 %). This decline was not compensated by the presence of three functional types because they were negatively affected by the climatic treatments, suggesting an absence of buffering effect on grassland production. The following two years, lasting effects of climate disturbance on ANPP were observable. The unexpected stressful conditions of year three induced a decline in grassland production in the Cut+ control treatment. The fact that this treatment cumulated higher (45 %) N export over the three years suggests that N plays a key role in ANPP stability. As ANPP in this mesic perennial grassland did not show engineering resilience, long-term experimental manipulation is needed. Infrequent mowing appears more appropriate for sustaining grassland ANPP under future climate extremes.

Introduction

Climate and management are ecological disturbances that cause transient or permanent ecosystem shifts (Rykiel, 1985). Perennial grassland offers many ecological and agronomical services (forage production, biodiversity, carbon sequestration) that tie in to human activities and the sustainability of these agro-ecosystem services thus depends on the combined effects of both climate and management-driven disturbances (Soussana & Duru, 2007; Soussana & Lüscher, 2007; Tubiello *et al.*, 2007).

In addition to global climate change trends (higher atmospheric CO₂ and temperature, lower summer precipitation), increased climate variability is expected to lead to more frequent and more intense extreme events such as drought and heat waves that in the past were observed just once a century (Easterling *et al.*, 2000; Easterling & Apps, 2005; Lehner *et al.*, 2006; Seneviratne *et al.*, 2012). Recent examples in Europe have shown that extreme climate events have major ecological and economic consequences on agro-ecosystems (Ciais *et al.*, 2005), and can ultimately lead to unexpected trajectories of terrestrial ecosystems (Kreyling *et al.*, 2011; Smith, 2011). Understanding the factors and thresholds governing ecological resilience will increase our ability to predict ecosystem behaviour and adapt management practices to climate change in European grasslands (Howden *et al.*, 2007; Jentsch *et al.*, 2007; Soussana *et al.*, 2010; De Boeck & Verbeeck, 2011; Smith, 2011).

Field manipulation experiments show that in response to severe rainfall reduction the first symptom of drought observed in grassland is generally tissue withering, reflecting a loss of leaf turgor pressure (Kozlowski, 1972; Hsiao, 1973). In grasses, this is an adaptive strategy to limit water loss (Volaire *et al.*, 1998), and green tissue sustained during drought reflects the capacity of plants to use deep soil water, thus delaying tissue withering. Besides these early symptoms, grassland production generally decreases (Grime *et al.*, 2000; Kahmen *et al.*, 2005; Gilgen & Buchmann, 2009) but in some cases shows no significant change (Kreyling *et al.*, 2008; Jentsch *et al.*, 2011). The lack of above-ground net primary production (ANPP) response has been ascribed to a buffering effect induced by the presence of different functional types that limit the temporal variability of ANPP ('insurance hypothesis' according to Yachi & Loreau, 1999); or to the size of rain event (Swemmer *et al.*, 2007; Cherwin & Knapp, 2012). The message that emerges from these studies is that grassland response to occasional drought is difficult to predict. As few experiments have attempted to study the mechanisms underpinning ecosystem resistance and recovery in response to extreme events (Stampfli & Zeiter, 2004, 2008), there is no clear picture of the speed (or lag) at which European grassland plant communities can respond and adapt to sudden environmental

changes. Furthermore, few experiments have tackled grassland biomass response to combined drought and warming (reviewed by Wu *et al.*, 2011), and even fewer have considered combined climate and management disturbances (Loeser *et al.*, 2007; Vogel *et al.*, 2012; Walter *et al.*, 2012). Defoliation is likely to affect plant growth response to climate disturbance through changes in root shoot allocation (Oesterheld & McNaughton, 1991; Ferraro & Oesterheld, 2002), in carbohydrate metabolism such as modification of source-sink relationship and enzyme activity (Prudhomme *et al.*, 1992; Pavis *et al.*, 2001). Furthermore, at community scale, frequency of defoliation also affects grassland botanical composition that is expected to influence ecosystem responses to climate change (Teyssonneyre *et al.*, 2002; Swemmer & Knapp, 2008).

The aim of this 3-year field experiment was to study grassland ANPP response to climate and management disturbances, in control and warming-drought treatments with or without a summer extreme event applied in the first year. We also applied two contrasted cutting frequencies to compare the response of different plant communities modified by mowing and determine the best management practices for stabilizing ANPP. Ecosystem responses can be described by two key phases: resistance and recovery. Resistance is characterized by the deviation from the condition observed before stress (Pimm, 1984; Grimm *et al.*, 1992), while the subsequent recovery phase is defined as a reorganization period in order to return to initial state (Folke *et al.*, 2004). In year one, during and after the extreme event, resistance to dehydration (summer) and recovery after rehydration (autumn) were assessed by measuring canopy tissue greenness, relative abundance of the three plant functional types in green tissue, and community and functional types biomass production. In years two and three, ANPP measurements were used to assess the recovery capacity of the grassland. Climatic water balance (precipitation - potential evapotranspiration, P - PET) was used as an index of combined water stress and warming (Vicente-Serrano *et al.*, 2010) for ANPP and greenness response of grassland canopy and of plant functional types during and after the extreme event. We determined the climatic water balance thresholds leading to ANPP reduction over time. As perennial grasslands are complex systems, we hypothesized that the presence of different functional types within the community could buffer ANPP variability against climate disturbances. Furthermore, we aimed to test whether acclimation to warmer and drier climatic conditions was able to alleviate the decline in biomass production in the second and third year. Finally, we hypothesized that frequent defoliation may accentuate grassland ANPP vulnerability to summer extreme event.

Materials and methods

Experimental setup

The experimental site was located in the French Massif Central at Saint Genès-Champanelle (45°43'N, 03°01'E, 880 m a.s.l.). Local climate is semi-continental with oceanic influences. Average annual air temperature is 8.0 °C, with an annual cumulated rainfall of 806 mm (1969-1999 long-term average, Table S1). Soil is a sandy loam granitic brown soil (50 % sand, 24 % silt, 25 % clay) with 39 % organic matter, C:N = 9.6 and $\text{pH}_{\text{water}} = 5.9$. Soil depth ranges from 0.74 to 1.12 m. Soil water content (SWC, weight based) measured at field capacity and at wilting point was 25.0 % and 13.4 %, respectively, and was determined according to Richards & Weaver (1943) protocol.

Before 2002, the grassland was managed by mowing and grazing and received regular inputs of organic and inorganic N over 10 years, but since 2002 no inorganic fertilizer has been applied. At the start of the experiment in 2008, the studied vegetation was composed by grasses (51.5 %), forbs (27.7 %) and legumes (20.8 %). The dominant grass species were *Lolium perenne*, *Poa trivialis* and *Dactylis glomerata*, mixed with minor species such as *Agrostis capillaris*, *Alopecurus pratensis* and *Poa pratensis*. The dominant forb is *Taraxacum officinale* and the dominant legume is *Trifolium repens*. These groups were considered as functional types according to Diaz & Cabido (2001).

In 2008, four experimental blocks were established along a soil depth gradient, in which 16 plots (3 x 6 m each) were used as replicates for climate treatments. Each plot was then divided into subplots (3 x 3 m) to apply two cutting frequencies. Plots and subplots were randomly assigned to climate and cutting treatments, respectively. A 60 cm-wide border was not taken into account for all measurements due to possible border effects (precipitations, disturbances). From August 2008, the vegetation was cut either two or three times until end of October, then from 2009 to 2011 the following cutting treatments were applied from May until November: frequent cut (Cut+), i.e. 6, 4 and 6 cuts in 2009, 2010 and 2011, respectively; infrequent cut (Cut-), i.e. 3, 2 and 3 cuts in 2009, 2010 and 2011 respectively (Fig. 1). No fertilization was added during the experiment.

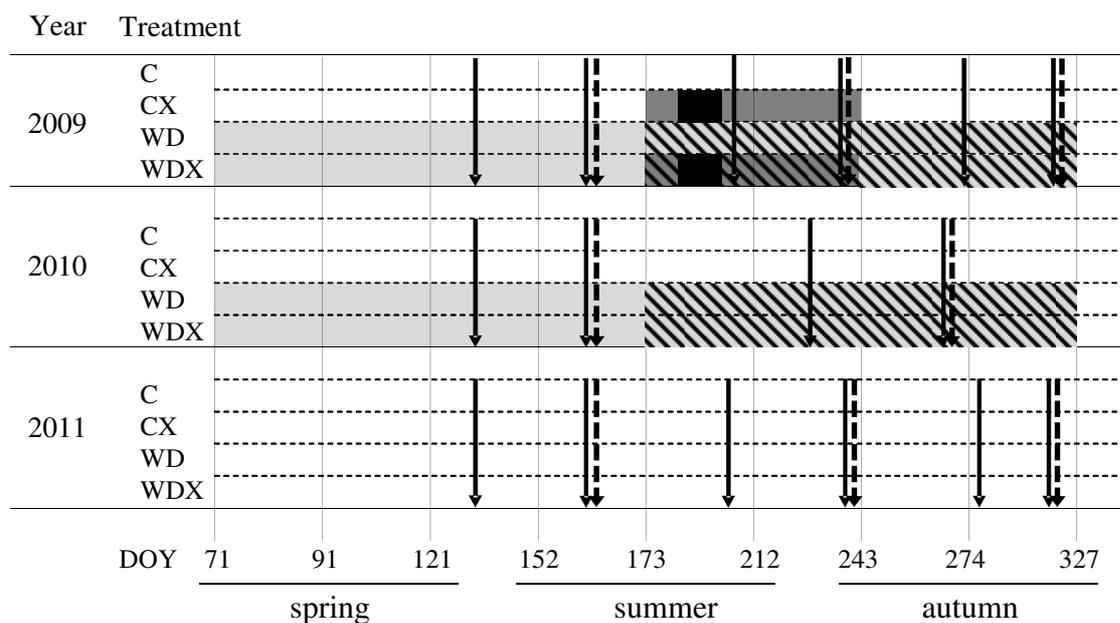


Figure 1. Time-course of treatments applied during the growing season for the three years of the experiment. Precipitations and temperatures were modified in 2009 and 2010 from March to November (DOY 71-334) according to control treatment (C) and warming-drought treatment (WD) without extreme event: night-time warming (light grey area, DOY 71-334) and reduced precipitation (dashed area in light grey areas, DOY 178-334). The extreme event was applied in 2009 from end June to end August (dark grey area: DOY 178-243), the heat-wave was applied in July (dark areas: DOY 189-203, CX and WDX treatments). Arrows indicate mowing dates (DOY 132, 167, 209, 236, 273, 320 in 2009; DOY 131, 158, 229, 270 in 2010 and DOY 137, 166, 208, 241, 278, 313 in 2011) for Cut+ (solid arrows) and Cut- (dashed arrows) treatments.

Climatic treatments

Two climatic conditions without an extreme summer event were simulated for the site based on the regionalized (9 x 9 km grid) climate model “Arpege4” (Boé *et al.*, 2006; Déqué, 2007; Déqué *et al.*, 2007). Control treatment (C) applied precipitations for the reference period (1969-1999) and ambient air temperature (Table 1); warming-drought treatment (WD) applied simulated future climatic conditions for the period 2040-2060 (A1B, IPCC, 2007). This treatment combined a rise in minimum air temperature by passive night-time warming and a drop in precipitation of 30 % and 40 % in summer and autumn, respectively (Table 1). These two climatic conditions were applied during the growing season from March to November in 2009 and 2010 (Day of year, DOY 71-327, Fig. 1). In addition, two other treatments were applied from June to August 2009 (DOY 173-243) to simulate an experimental extreme summer event in control (CX) and warming-drought (WDX) treatments. This extreme summer event was characterised by a drop in precipitation (dehydration period: DOY 173-212) combined with a two-week heat wave (DOY 189-203) by heating the canopy without

any precipitation. Then, a progressive rehydration was applied (rehydration period: DOY 213-243), according to control (CX, 144 mm) and warming-drought (WDX, 41 mm) treatments. Finally, summer precipitations on CX and WDX treatments were decreased by 30 % and 68 % compared with the C treatment, respectively (Table 1). Until 2010, CX and WDX were subjected to the same climatic conditions as C and WD treatments, respectively.

In 2011, all subplots were submitted to the ambient climatic conditions.

Passive night-time warming and controlled precipitation

Passive night-time warming was used to manipulate temperature (Beier *et al.*, 2004; Mikkelsen *et al.*, 2008). To achieve this manipulation, 16 automatic rainout shelters (3 m x 6 m, Warema 730E, Germany) were placed at 1.9 m above the soil surface on each plot in June 2008. These shelters were automatically opened every night during the growing season (DOY 71-327) in 2009 and 2010 (Fig. 1) on WD and WDX treatments, except in the event of wind speed $> 8 \text{ m s}^{-1}$ and frost to avoid system damage. Thus, night-time warming was running 74 % and 67 % of nights during 2009 and 2010, respectively. In these nights, nocturnal air warming was slightly affected (max 2 °C) depending on weather conditions, but daily average remained unchanged.

In case of precipitation, a rain sensor (Warema, Germany) activated the rainout shelters, which intercepted 26 % of the PAR at daytime. Since the shelters were running above all the plots during rain event, there were no biases due to shade between treatments. Therefore, all plots were submitted to the same light conditions during the experiment. Irrigation was controlled by fitting two sprinklers per plot (Miracle©, Netafim, Israël), and the amount of water was recorded with three rain gauges per plot. According to climatic treatments, irrigation was planned on a weekly basis to supply each plot with a set amount of water.

Experimental heat-wave

On DOY 189, six infra-red heaters (MOR Electric, Michigan, USA) (Kimball, 2005; Kimball *et al.*, 2008) per subplot were mounted in a circle inside triangular scaffolding at 58 cm height above the soil surface. Heaters were equidistantly 1 m apart, oriented 30 ° horizontally and 50 ° vertically towards the centre, to produce a homogeneous 1.8 m diameter warm circle. Three IR sensors (IR 120, Campbell Scientific, UK) were installed above C, CX and WDX plots, and connected to a data-logger (CR1000, Campbell Scientific, UK). Adding a voltage output module and dimmer made it possible to heat sub-plots at a constant surface temperature difference of +6 °C between unheated and heated sub-plots (Figure S1).

Table 1. Annual and seasonal air temperature (°C), cumulated precipitations (mm) and climatic water balance: cumulated P - PET (mm), for the four climatic treatments C, CX, WD and WDX whatever the cutting frequency, as measured in 2009, 2010. Mean values are shown (n=4). Data for 2011 were measured by a weather station as all the treatments received the same climatic conditions.

Year	Air temperature (°C)				Precipitations (mm)				P - PET (mm)				
	C	CX	WD	WDX	C	CX	WD	WDX	C	CX	WD	WDX	
2009	annual	8.9	8.8	8.8	8.8	773	695	566	492	51	-29	-156	-230
	spring	8.4	8.4	8.3	8.4	183	185	186	186	-25	-24	-23	-23
	summer	16.4	16.6	16.4	16.5	253	182	166	89	-75	-156	-171	-249
	autumn	9.9	9.7	9.7	9.7	229	229	130	133	82	83	-15	-11
	winter	0.7	0.7	0.5	0.5	108	99	84	84	69	69	52	53
2010	annual	7.5	7.7	7.4	7.3	766	769	608	606	88	95	-69	-66
	spring	6.8	6.8	6.5	6.5	213	230	246	241	20	23	37	34
	summer	15.7	15.9	15.9	15.8	236	243	158	162	-56	-51	-157	-150
	autumn	7.8	8.2	7.9	7.8	209	201	108	108	72	70	-1	-2
	winter	-0.7	-0.4	-0.9	-1.0	108	96	96	96	51	51	51	52
2011	annual	9.4	9.4	9.4	9.4	719	719	719	719	-54	-54	-54	-54
	spring	9.3	9.3	9.3	9.3	117	117	117	117	-141	-141	-141	-141
	summer	15.0	15.0	15.0	15.0	262	262	262	262	-31	-31	-31	-31
	autumn	10.7	10.7	10.7	10.7	136	136	136	136	-23	-23	-23	-23
	winter	1.0	1.0	1.0	1.0	204	204	204	204	141	141	141	141

Climatic measurements

An automatic weather station recorded precipitation, air temperature, solar radiation and wind speed in the experimental field 2 m above the ground. Each plot was also equipped with air temperature (T, °C) and relative humidity (%) sensors located 20 cm above the plant canopy. Soil volumetric water content (%) and soil temperature (°C) were measured in each sub-plot at 0-30 cm depth with a TDR probe (CS635, Campbell, UK) and at 0-10 cm depth with platinum sensors (T107, Campbell, UK), respectively. Data were recorded each minute and then averaged over 15-min intervals by the data-logger. Daily potential evapotranspiration rates (PET) were calculated according to FAO procedures (1998). In addition, SWC (0-15 cm, % mass basis) was measured six times from May to end of October 2009 (DOY 133, 189, 196, 204, 231, 302) on Cut-.

For each treatment, seasonal and annual cumulated climatic water balance (P - PET) was calculated as cumulated precipitation (P) - cumulated potential evapotranspiration (PET), and used as an indicator of water deficit (Vicente-Serrano *et al.*, 2010). This cumulated stress indicator was chosen to compare climate conditions in the 3-year study against the reference period (1986-1999). The presence of shelters at night induced no significant increase in daily PET according to Poirier *et al.* (2012), while the warming effect of the simulated heat-wave was taken into consideration as it modified PET by 17 to 27 % (data not shown).

Canopy green tissue measurements

Green tissue percentage (%) of the canopy was estimated from July to end October 2009 nine times (DOY 196, 203, 211, 225, 238, 253, 264, 275, 303) based on images taken in a 0.5 x 0.5 m quadrat placed near the centre of each subplot. Within community green tissue, the same images also served to estimate percentage of functional types, corresponding to the relative abundance of each group in the green tissue. These data were divided into two periods in order to study resistance to dehydration (July, DOY 196 to 211) and recovery after rehydration (August-October, DOY 225 to 303) at the community and functional type scales.

Above-ground and functional type biomass

For each harvest (arrows in Fig. 1), vegetation was cut to a height of 5 cm in the same quadrat used for green tissue measurements. The fresh-cut material was then placed in cool boxes, transferred to the lab, and separated into green and dead material. Within green material, functional types (grasses, legumes, forbs) were hand-sorted. Samples were oven-dried at 60 °C for 48 h and weighed to calculate above-ground biomass production and the biomass of

each functional type (green material, g DM m⁻²). Annual ANPP was calculated by cumulating green material of all harvests (g m⁻² y⁻¹).

Nitrogen export

For all cuts and years, nitrogen content (N, %) of harvested forage was analyzed using the Dumas method. N content of green tissue was predicted with NIRS calibration on 42 samples and used to predict green tissue N from N forage analyses. Samples were scanned with NIRS (Foss 6500, Silver Spring, USA), and lab determinations were performed on samples selected according to spectral profiles (Shenk & Westerhaus, 1994). N export of each cut was calculated by multiplying N content of green tissue by biomass production of the cut (gN m⁻²). N export was then cumulated over the 3-year experiment.

Statistical analysis

The experiment was analyzed as a split-plot design (Crawley, 2007), with climatic treatments as whole-plot fixed factor, and both cutting frequencies and climate x cutting interaction as fixed sub-plot factors. Each factor combination (climate, cut) was repeated four times, i.e. four blocks. Due to field heterogeneity based on soil depth, we used a linear mixed model with random effect attributed to blocks. All statistical analysis for linear mixed models was carried out in R (R Development Core Team, 2011) using the “nlme” package (Pinheiro *et al.*, 2011). Where necessary, biomass production data were log-transformed prior to analysis to conform to the assumptions of normality and homogeneity of variances. Prior to analysis, proportions data were arcsine-square root-transformed. When assumptions were not verified, Kruskal-Wallis tests were carried out. When non-parametric tests were similar to corresponding single-factor ANOVA, linear mixed models were used. Post-hoc comparisons were performed by a Tukey test using the “multcomp” package (Hothorn *et al.*, 2008).

Results

Inter-annual climatic conditions

During the first two years, climatic conditions in the C treatment were within the range of the reference climatic data for the study site (Table 1, Table S1). However in the third year (2011), weather conditions were warmer (T = +1.4 °C), drier (P = -87 mm) and more stressful (difference of annual cumulated climatic water balance, PET = 179 mm) than the reference climate and the first two years, especially in spring (T = +2.7 °C, P = -78 mm, PET = -141 mm) and autumn (T = +2.2 °C, P = -101 mm, PET = -23 mm; Table 1).

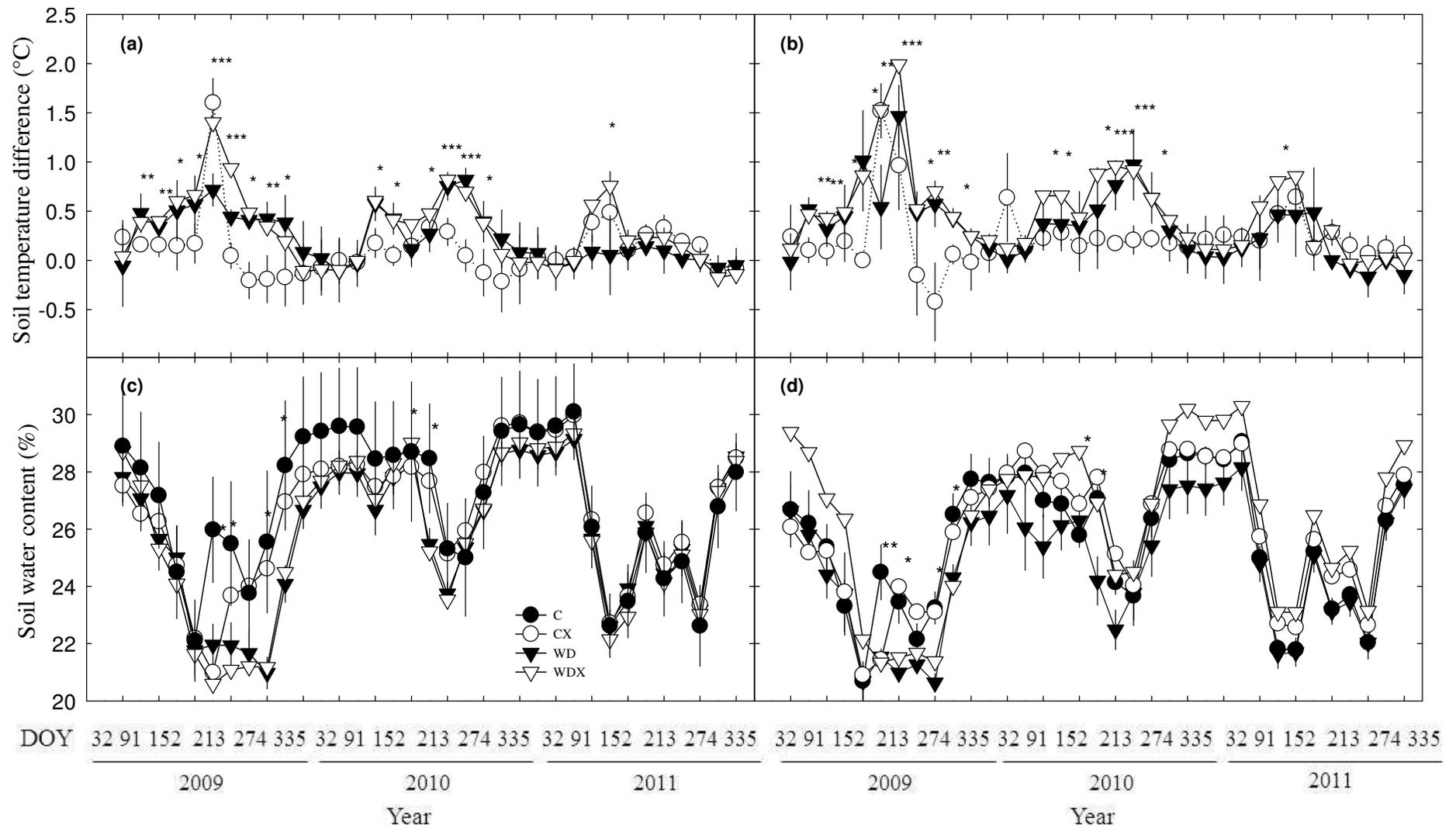


Figure 2. Time-courses of soil temperature (°C) differences between treatments and controls (a, b) and soil volumetric water content (c, d; %) measured during the 3-year experiment in Cut+ (a, c) and Cut- (b, d) treatments. Symbols represent monthly mean values of climatic treatments (C, CX, WD, WDX). Vertical bars represent standard errors (n=4). For each date (Day of year) and cutting frequency, stars indicate statistical difference (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$).

Soil water content and soil temperature in warming-drought treatment

In 2009 and 2010, passive night-time warming and the drop in precipitation in summer and autumn applied to WD and WDX treatments led to a reduction of SWC compared to the C treatment (Fig. 2 and Figure S2). A stronger effect was observed in the topsoil (0-15 cm, -34 % and -50 % in summer and autumn 2009, respectively) than in the deeper (0-30 cm) soil layer (-10 % average, $P < 0.05$). In addition, passive night-time warming combined with lower summer and autumn precipitation led to 0.8 °C warmer soil (0-10 cm) during the growing season (spring-summer-autumn; Fig. 2). In 2011, SWC values were similar to C treatment values for the three climate disturbance treatments. However, higher soil temperatures were observed on CX and WDX in May 2011 (+0.8 °C) in both cutting frequencies.

Climatic conditions during and after the extreme event

In 2009, the summer precipitations of the WDX treatment was 89 mm (Table 1), which corresponded to an extreme, as no real-world data for the 1969-1999 period showed lower values (Table S1). In this treatment, cumulated summer $P - PET = -249$ mm corresponded to a frequency of occurrence of 0.08 for the 1986-1999 reference period. In the CX treatment, the 182 mm applied in summer and the cumulated $P - PET = -156$ mm corresponded to a frequency of occurrence of 0.46 and 0.50, respectively.

The two-week heat-wave led to a significant 1.6 °C increase in soil temperature and to 50 % and 20 % drops in SWC in the 0-15 cm and 0-30 cm soil layers, respectively, compared to the C treatment (Fig. 2 and Figure S2). However, the wilting point (13.4 % mass basis) was never reached at 30 cm depth. These effects on soil temperature and SWC were similar between CX and WDX treatments.

During the recovery period in autumn (DOY 244-334), cumulated $P - PET$ was lower on WDX (-11 mm) than on CX treatment (83 mm) (Table 1). Soil temperature and volumetric SWC of the CX treatment increased up to control levels, whereas for the WDX treatment SWC remained lower and soil temperature remained higher than controls but similar to WD treatment (Fig. 2). In 2010, SWC of WDX was similar to the C treatment but higher than WD treatment in Cut-, despite the drop of precipitation for these treatments. Although climatic conditions were similar for all treatments in 2011, soil temperature was significantly higher in the CX and WDX treatments than in the C treatment (+0.5 °C) during the spring (DOY 121-151) (Fig. 2).

For each climatic treatment and all years, we observed higher soil temperatures (+1-2 °C, $P < 0.0001$) and SWCs (+9 %, $P < 0.05$) on Cut+ than Cut- plots, especially on DOY 121-182 (Fig. 2). However, in summer 2009 cutting frequency effect disappeared on CX, WD and WDX treatments but remained in C treatments (climate x cut interaction, $P < 0.05$).

Canopy green tissue percentage

During the dehydration period, canopy green tissue percentage fell from about 98 % (control) to 35 % (CX) and 20 % (WDX; $P < 0.0001$), i.e. 65 % and 80 % of senescent tissue, respectively. Canopy green tissue percentages were slightly higher in Cut+ than Cut- ($P < 0.001$; Fig. 3a, Table 2) and decreased in response to cumulated P - PET according to sigmoidal adjustments ($R^2 = 0.87$, $P < 0.0001$ and 0.78 , $P < 0.001$, for Cut+ and Cut-, respectively). Compared to the C treatment, 80 % of green tissue percentage was observed for cumulated P - PET of -174 mm and -158 mm for Cut+ and Cut-, respectively.

Table 2. Effects of climate and cutting treatments, date of observation and their interactions on green tissue percentage of community and plant functional type abundances in green tissue, observed during the dehydration (DOY 196, 203, 211) and subsequent rehydration (DOY 225, 238, 253, 264, 275, 303) periods. P values are shown. Bold values correspond to significant differences ($P < 0.05$). d.f.: degrees of freedom.

Period	Treatments	d.f.	Community	Grasses	Legumes	Forbs
dehydration (DOY 196-211)	climate	3	<.0001	0.256	0.001	0.268
	cut	1	0.0002	0.382	<.0001	<.0001
	date	2	0.006	0.545	<.0001	0.0007
	climate x cut	3	0.006	0.006	0.0002	0.036
	climate x date	4	0.005	0.223	0.059	0.173
	cut x date	2	0.050	0.818	0.035	0.316
	rehydration (DOY 225-303)	climate	3	<.0001	0.535	0.016
cut	1	0.344	0.003	<.0001	0.0001	
date	5	<.0001	0.001	0.354	0.006	
climate x cut	3	0.002	0.003	0.002	0.031	
climate x date	7	<.0001	0.139	0.696	0.044	
cut x date	5	0.008	0.101	0.595	0.101	

Relative abundances of grasses and forbs in community green tissue were unaffected by climatic treatments (Table 2), although their abundances increased in response to P - PET in Cut+ for grasses ($R^2 = 0.46$, $P > 0.01$) and in Cut- for forbs ($R^2 = 0.48$, $P > 0.01$) (Fig. 3b,d). Legume abundance in green tissue was lower in extreme treatments than in controls ($P < 0.001$) and in Cut- than in Cut+ ($P < 0.0001$; Fig. 3c, Table 2). The response of legumes to P - PET was fitted with a sigmoid curve ($R^2 = 0.76$ and 0.71 in Cut+ and Cut-, respectively, $P < 0.0001$). Differences between the two cutting frequencies observed in C and WD treatments disappeared in the extreme CX and WDX treatments (climate x cut interaction, $P < 0.001$).

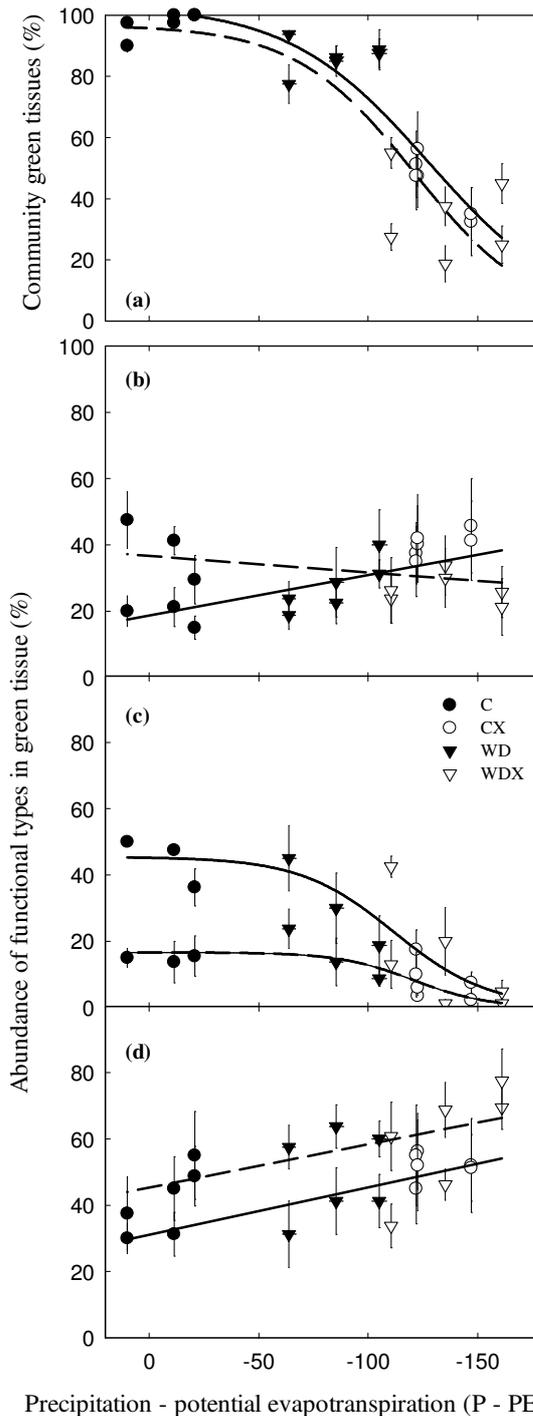


Figure 3. Relationships between (a) community green tissue percentage or relative abundance of (b) grasses, (c) legumes, and (d) forbs within green tissue, with climatic water balance (cumulated P - PET, mm from January to July 2009). Data correspond to three dates obtained during the rehydration period in July 2009 (DOY 196, 203, 211). Symbols represent mean values of climate treatments at each observation date. Vertical bars represent standard errors (n=4). Lines correspond to sigmoid (a: community, c: legumes), linear (b: grasses), and exponential (d: forbs) relationships for Cut+ (solid line) and Cut- (dashed line) treatments.

Canopy green tissue measured during the rehydration period (DOY 225-303) recovered fast on CX (in two weeks) but incompletely on WDX after 13 weeks compared to C, whatever the cutting frequency (Fig. 4, Table 2). This effect was maintained until DOY 303 in Cut- only

(climate x cut interaction, $P < 0.01$). Grass and forb abundances were unaffected by climatic treatments during the rehydration period (Table 2). Legume abundance in CX and WDX treatments recovered to the values of the C treatment and the WD treatment showed higher values than WDX ($P < 0.05$, Table 2).

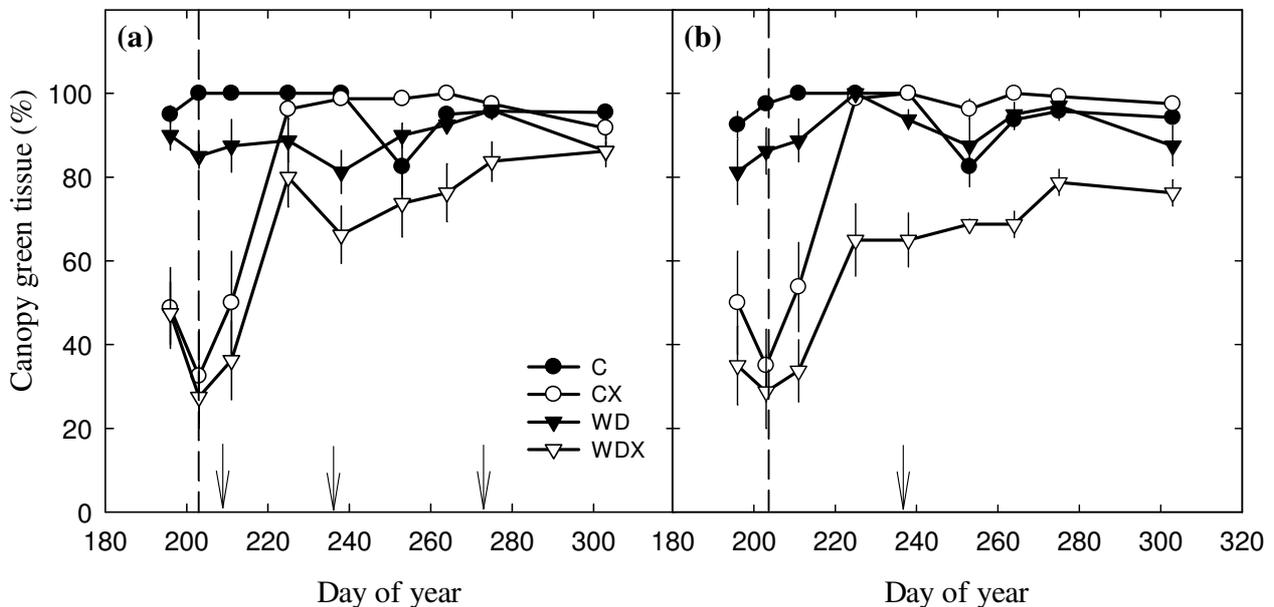


Figure 4. Temporal patterns of canopy green tissue percentage after the end of the experimental heat-wave (dashed lines, DOY 203) until the end of the rehydration period in 2009 (DOY 303), according to the four climatic treatments (C, CX, WD, WDX) and the two cutting frequencies (a: Cut+, b: Cut-). Symbols represent mean values of climate treatments. Vertical bars represent standard errors ($n=4$). Arrows correspond to mowing dates.

Above-ground biomass production during and after the extreme event

Compared to the C treatment, biomass in summer was markedly lower in warming-drought treatment (WD: -65 %, $P < 0.0001$) and in the two extreme treatments (CX: -61 %, WDX: -94 %, $P < 0.0001$), whatever the cutting frequency. However, the biomass decline was stronger in Cut+ than in Cut- for the CX treatment, but similar in Cut+ and Cut- for the WD and WDX treatments (Fig. 5a,b). Biomass production of the three functional types followed the same pattern as the community scale, except for legume production in Cut- for which no difference between climatic treatments were observed.

In autumn, biomass of CX treatment recovered in Cut+ and was higher in Cut-, in comparison with C treatment. In WD and WDX treatments, biomass production remained lower than in the C treatment and was even inexistent in Cut- (Fig. 5c,d). Biomass production of grasses and forbs followed the same pattern as the community, whereas legume biomass production remained very low.

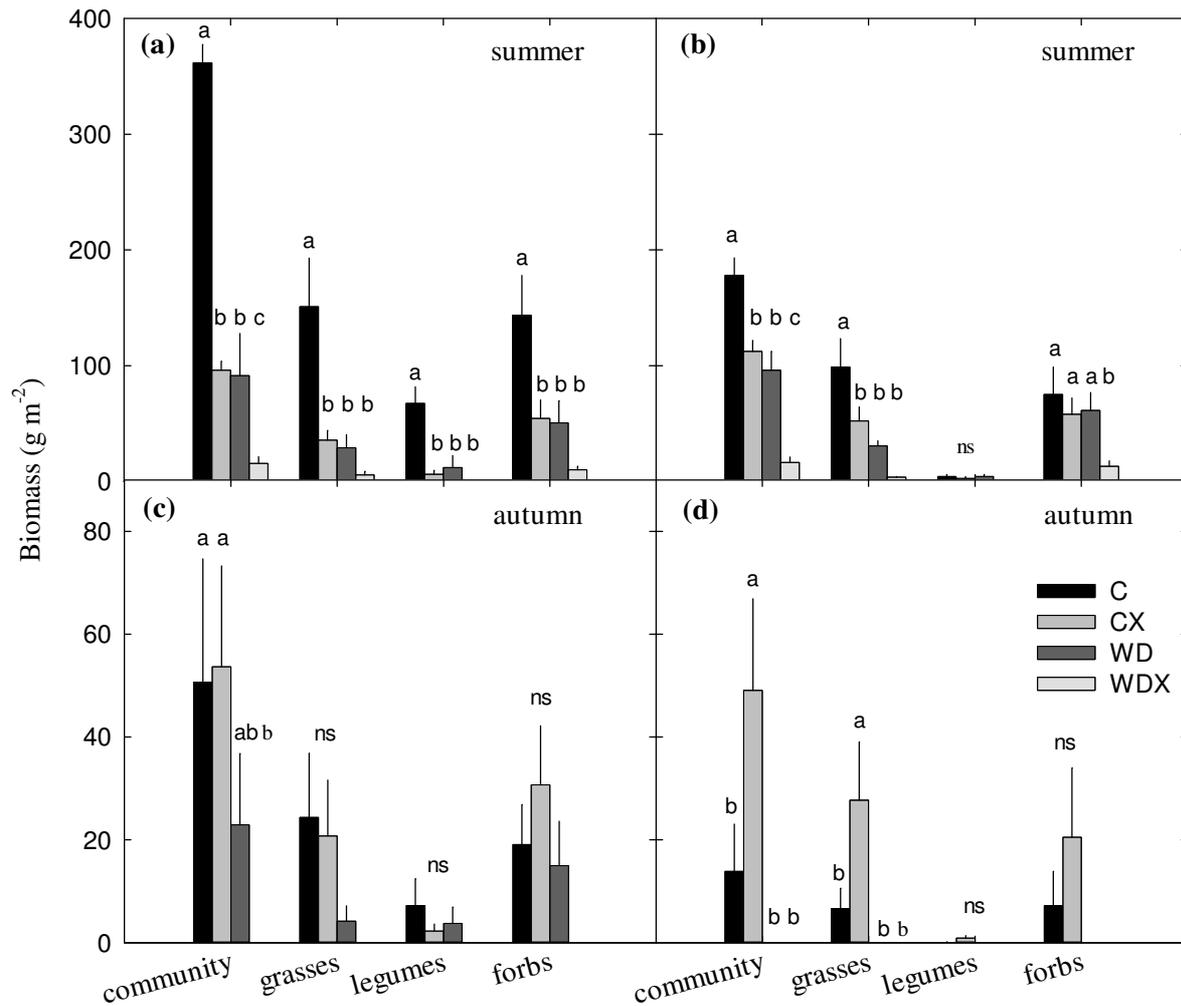


Figure 5. Biomass production (g m^{-2}) measured in 2009 during resistance to dehydration (summer, DOY 167-236) and recovery after rehydration (autumn, DOY 237-320) for the four climatic treatments (C, CX, WD and WDX) and the two cutting frequencies (a, c: Cut+ and b, d: Cut-). Mean values + standard errors are shown ($n=4$). For Cut+ and each period, cumulated biomass of two cuts is shown.

Annual biomass production (ANPP)

During the three years of the experiment, community ANPP was significantly affected by climate treatments but not by cutting frequency (Table 3). For Cut+ treatment, ANPP responded negatively to growing season cumulated P - PET (Fig. 6a). Compared to the C treatment, ANPP of CX, WD and WDX fell 28% and 25% in 2009 and 2010, respectively (Fig. 6a,b,c,d). In 2011, these significant differences were even higher in Cut- (-53%), but disappeared in Cut+ (climate x cut interaction, $P < 0.01$, Table 3, Fig. 6a,b).

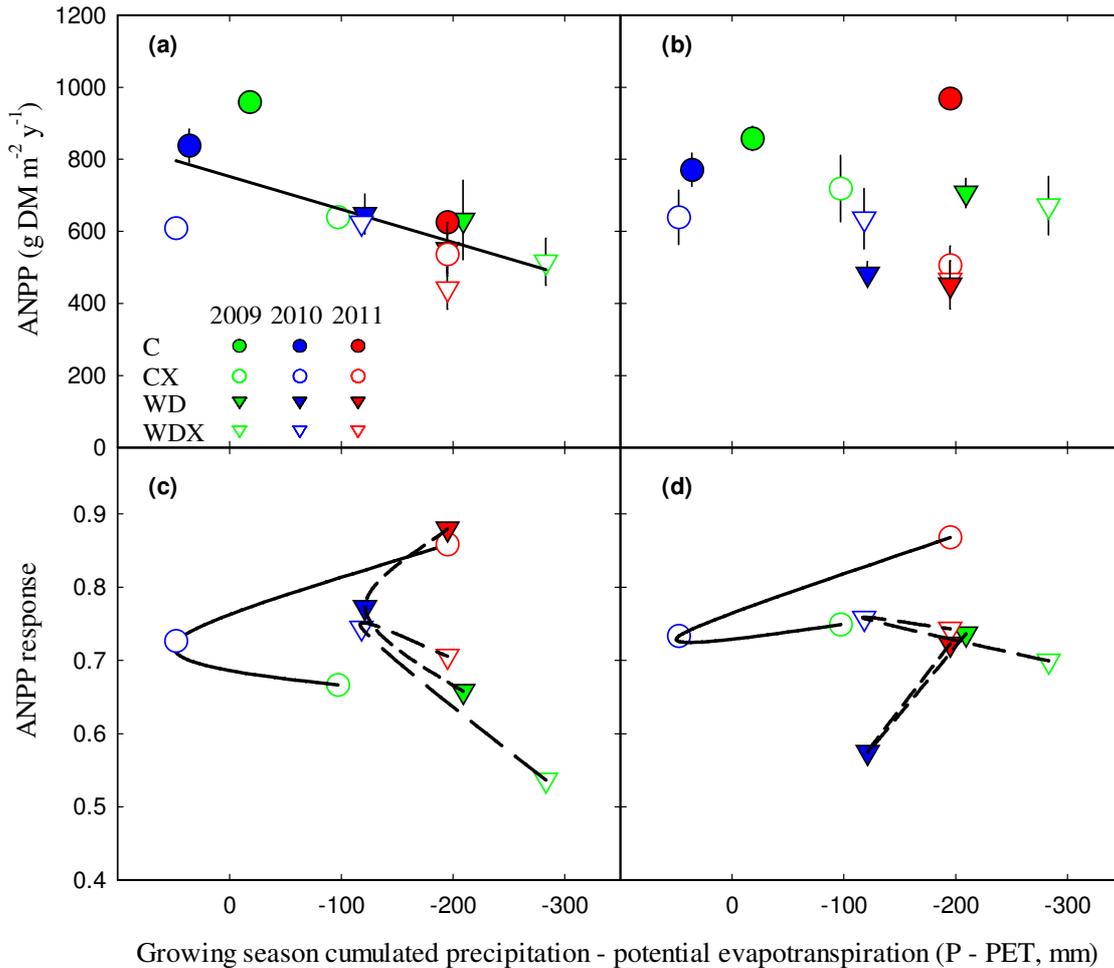


Figure 6. Relationship between annual production (green material, ANPP, $\text{g DM m}^{-2} \text{ y}^{-1}$) (a, b) or ANPP response that is the ratio between each climatic treatment and control treatments (c, d) with growing season-cumulated (spring, summer, autumn) climatic water balance ($P - PET$, mm), according to the four climatic treatments (C, CX, WD and WDX) and two cutting frequencies (a, c: Cut+; b, d: Cut-). Green, blue and red symbols correspond to years 2009, 2010 and 2011, respectively. Solid line corresponds to a significant ($R^2 = 0.46$, $P < 0.05$) linear relationship for Cut+. Lines in c and d show temporal dynamics of ANPP response. Vertical bars represent standard errors ($n=4$).

Climate treatment had a significant effect on forb ANPP in 2009 and grass ANPP in 2011 ($P < 0.05$, Table 3). For forbs, this effect corresponded to lower (78 %) values on WDX plots than C plots. For grasses, ANPPs of CX, WD and WDX treatments were lower (-58 %) than C treatments in Cut- plots. Functional type ANPPs were highly dependent on cutting frequency ($P < 0.0001$, Table 3). From the second cut in 2009, community composition of Cut- significantly diverged (94% of grasses; 2% of dicots; 4% of legumes) from Cut+ community composition (51% of grasses; 28% of dicots; 22% of legumes). Grass ANPP was 59 % higher in Cut- than in Cut+, whereas legume and forb ANPPs were 81 % and 62 % lower in Cut- than in Cut+, respectively.

Table 3. Effects of climate and cutting treatments, year, and their interactions on annual biomass production of community and plant functional types analyzed across all three years and for each year. P values are shown. Bold values correspond to significant differences ($P < 0.05$). d.f.: degrees of freedom.

Period	Treatments	d.f.	Community	Grasses	Legumes	Forbs
All years	climate	3	< 0.001	0.041	0.072	0.221
	cut	1	0.249	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	year	2	< 0.001	0.001	< 0.001	0.106
	climate x cut	3	0.252	0.048	0.099	0.348
	climate x year	4	0.928	0.480	0.471	0.212
	cut x year	2	0.972	0.341	0.008	0.775
	2009	climate	3	0.005	0.106	0.533
cut		1	0.216	< 0.001	0.004	< 0.001
climate x cut		3	0.284	0.924	0.377	0.076
2010	climate	3	0.008	0.218	0.076	0.844
	cut	1	0.294	0.014	< 0.001	0.001
	climate x cut	3	0.295	0.249	0.432	0.804
2011	climate	3	0.002	0.013	0.123	0.481
	cut	1	0.225	< 0.001	< 0.001	0.001
	climate x cut	3	0.010	0.007	0.242	0.692

N export cumulated over three years

Over the three years of the experiment, the Cut+ control treatment produced 70.1 gN m^{-2} whereas the other treatments produced on average 48.3 gN m^{-2} (Table 4). This between-treatment difference was not observed in Cut-. In addition, more N ($\times 1.87$) was produced and thus exported in Cut+ than in Cut- in C and WD treatments.

Table 4. Shoot N export (gN m^{-2}) cumulated over three years for the four climatic treatments C, CX, WD and WDX and two cutting frequencies Cut+ and Cut-. Mean values \pm SE are shown ($n=4$). Different letters indicate statistical difference ($P < 0.05$).

Year	Treatments	C	CX	WD	WDX
N export	Cut+	$70.1 \pm 4.50 \text{ a}$	$48.9 \pm 1.4 \text{ bc}$	$52.5 \pm 4.5 \text{ b}$	$43.6 \pm 3.9 \text{ bc}$
	Cut-	$36.4 \pm 7.9 \text{ bc}$	$34.2 \pm 4.2 \text{ bc}$	$29.1 \pm 0.8 \text{ c}$	$28.8 \pm 3.7 \text{ c}$

Discussion

Grassland resistance and recovery to climate disturbances

At community level, reduced growth, vegetation withering and senescence are commonly observed in grassland during drought events (Gilgen & Buchmann, 2009; Jentsch *et al.*, 2011; Hartmann & Niklaus, 2012). Once leaves senesce, plants can survive as long as meristematic tissues maintain their functional integrity (Volaire *et al.*, 2009). When community green tissue percentage was reduced by 80 % (average threshold of cumulated P - PET = -150 mm), forbs showed the highest relative abundance, confirming the drought resistance performance

of the dominant native dandelion (*Taraxacum officinale*) (Stewart-Wade *et al.*, 2002; Brock & Galen, 2005; McLeod *et al.*, 2012). Delay of aerial senescence is a common response of temperate grasses to water deficit, although resistance differs among species. However, earlier senescence can also be an efficient drought avoidance strategy if associated with rapid recovery (Passioura, 1996; Volaire, 1995, 2008; Chaves *et al.*, 2002; Volaire *et al.*, 2009). The dominant legumes species (*Trifolium repens*) is known to be particularly drought-intolerant due to its inability to control leaf water losses and its shallow root system (Hart, 1987; Lucero *et al.*, 1999; Clark *et al.*, 1999; Skinner *et al.*, 2004).

Total recovery of aerial green tissue was quickly observed (in two weeks) after rehydration under CX treatment (Fig. 4), as previously measured on artificial grassland (Zavalloni *et al.*, 2008). Recovery of green tissue may be associated to compensatory growth (Oosterheld & McNaughton, 1991), although this is not a general rule, as several authors have stressed (Mirzaei *et al.*, 2008; Hartmann & Niklaus, 2012). Here, the higher autumn biomass production by the plant community and grasses in Cut- compared to the C treatment (Fig. 5d) could reflect higher carbohydrate availability, lower cell damage in meristematic tissues, or the ability of the roots to use deep water (Horst & Nelson, 1979; van Staalduinen & Anten, 2005; Volaire *et al.*, 1998). Conversely, under WDX treatment, canopy green tissue recovery and community and plant functional types biomass productions were still incomplete three months after rehydration. This delayed recovery was clearly linked to SWC patterns (Fig. 2).

One month after the cessation of the extreme event, grasses and forbs were the dominant functional types (Fig. 5c,d) that could be attributed to the re-growth capacity of *D. glomerata*, *L. perenne* (Turner *et al.*, 2012) and *T. officinale* (Stewart-Wade *et al.*, 2002; Carter *et al.*, 2012).

ANPP response to climate disturbances

Although water availability is one of the most important factors for grassland production (Paruelo *et al.*, 1999; Knapp & Smith, 2001; Knapp *et al.*, 2002; Fay *et al.*, 2011), experiments show controversial effects of decreased precipitation, with some finding negative responses (Tilman & El Haddi, 1992; Shinoda *et al.*, 2010; van Ruijven & Berendse, 2010; Beierkuhnlein *et al.*, 2011; Klumpp *et al.*, 2011; Hartmann & Niklaus, 2012) and others finding no response (Kreyling *et al.*, 2008; Jentsch *et al.*, 2011; Cantarel *et al.*, 2013). These contrasting results could be linked to different thresholds of annual rainfall encountered by grassland (Gilgen & Buchmann, 2009) or to the size of the rain events (Cherwin & Knapp, 2012). In addition, plant diversity plays a role in buffering the disturbance effect on above-

ground production (De Boeck *et al.*, 2008; Kreyling *et al.*, 2008; Jentsch *et al.*, 2011). Here, we observed an average 28 % decline in ANPP for a cumulated summer P - PET of -156 mm (Table 1). Although WD and WDX received less precipitation in summer and autumn than CX, they showed similar ANPP. The ANPP of forbs was strongly affected in WDX, although forbs proved resistant during the stress period (Table 3, Fig. 5). This decline combined with the decline in grasses (only a tendency) has a negative effect on community production. Thus, the presence of different functional types within the community did not help maintain overall grassland ANPP, confirming results obtained by Gilgen & Buchmann (2009).

Lasting effects of climate disturbances on ANPP

In 2010 and 2011, we intended to evaluate the engineering resilience (return-time to control) of this upland grassland. Nevertheless, the ANPP of CX, WD and WDX treatments were surprisingly similar to that of the previous year (Fig. 6), although the CX treatment received the same precipitation as the C treatment in 2010. Community acclimation to climate disturbance such as reduced precipitation and warming did not therefore lead to further reduction of biomass but instead to a stabilization of biomass production, suggesting the existence of a new equilibrium state once a threshold has been passed (Gunderson, 2000; Scheffer & Carpenter, 2003; Walker & Meyers, 2004; Folke *et al.*, 2004; Briske *et al.*, 2006; Carpenter & Brock, 2006; Smith, 2011). Data on cumulated N export without N fertilization supply suggest that this lasting effect could be linked to N deficiency as highlighted by several authors (Haddad *et al.*, 2002; Boriken & Matzner, 2009; Bloor & Bardgett, 2012). Other data show a delay in response of the grass nitrogen nutrition index upon re-watering, suggesting lasting effects of water deficits on the N absorption capacity of roots in tall fescue species (Gonzalez-Dugo *et al.*, 2005). We suggest that the plant community ANPP could be modified by climate disturbance possibly *via* a change in species composition shaped by water use efficiency (De Boeck *et al.*, 2006), plant phenology (Reyer *et al.*, 2012) or root growth increase (Zhou *et al.*, 2012). Furthermore, climate stress conditions combined with N limitation may explain the longer return-time of ANPP, such as the eight years observed after only one climate disturbance had occurred (Haddad *et al.*, 2002). Thus, given the duration of this experiment, we are unable to conclude on the return-time capacity of this mesic upland perennial grassland. This further underlines the need for long-term climate manipulation experiments.

Cutting effect on ANPP stability in response to climate disturbance

Cutting frequency is known to affect grassland microclimatic conditions such as soil temperature and SWC (Wan *et al.*, 2002) and grasslands processes such as above-ground production or species composition (Teyssonneyre *et al.*, 2002; Picon-Cochard *et al.*, 2004; Vinther, 2006; Pontes *et al.*, 2007; Ilmarinen & Mikola, 2009). Our results showed that Cut+ treatment contributed to a slightly higher resistance and faster recovery of canopy green tissue but lower ANPP after climate disturbance (Figs. 3, 4, 6). This means that canopy greenness gives useful information on withering but not on biomass production. Furthermore, these results confirm that the plant community was more sensitive to drought under intensive management (Grime *et al.*, 2000; Vogel *et al.*, 2012). By maintaining the vegetation in immature state, defoliation can induce overcompensation of plant productivity (McNaughton, 1985; Turner *et al.*, 1993; Ferraro & Oesterheld, 2002). During the recovery period, this effect was observed only on CX in Cut- (Figure 5) confirming that compensatory response depends on level of stress (Oesterheld & McNaughton, 1991) and defoliation level (Dyer *et al.*, 1993), which suggest that extreme defoliation could induced decrease in plant production. Finally, the capacity to delay foliage senescence in the Cut+ treatment was unable to efficiently sustain grassland ANPP after the stress, as shown on grasses by Volaire *et al.* (1998). This could be due to acclimation by plants reducing carbohydrate levels in the leaf base (Prudhomme *et al.*, 1992; Morvan *et al.*, 1997), root growth (Williams *et al.*, 2003; Vinther, 2006), and root/shoot ratio (Ferraro & Oesterheld, 2002). In addition, high cutting frequency is known to change the community functional composition by favouring short fast-growing grasses that are less resistant to climate disturbance than conservative species in productive grasslands (Grime, 2001). Overall, the fact that cutting frequency induced two communities presenting different functional compositions (more grasses and less forbs and legumes in Cut- from cut two of the first year, not shown) did not ultimately buffer ANPP response to climate disturbance in this productive grassland.

However, the C treatment in Cut+ showed a marked reduction of ANPP in 2011 (Fig. 6), whereas in the C treatment in Cut-, ANPP was sustained even when faced with a new climate disturbance. As no N fertilization was applied during this experiment, we assume that biomass production in Cut+ was N-limited (Table 4). In Cut-, higher ANPP could also be explained by the fact that grasses (82 % of total biomass) are more efficient users of nitrogen (Maire *et al.*, 2009). The biomass response of the C treatment underlines the key role played by N and water limitations in perennial grassland production. Taken together, our results suggest that extensive management is the best option for sustaining grassland production in a

context of greater climate variability, as shown by Klumpp *et al.* (2011) and Vogel *et al.* (2012).

In conclusion, we showed that a one-time extreme event had pronounced lasting effects on an upland mesic perennial grassland two years later. Thus a threshold of -156 mm of climatic water deficit was sufficient to alter ANPP such as to reach a new equilibrium state. The presence of different functional types within this grassland community did not help buffering ANPP variability against the climate disturbances. This suggests that understanding ANPP response through functional types' level should be extended to species level by studying their abundance and physiology (photosynthesis, water-use efficiency, root production) in relation to drought survival and recovery. Furthermore the unexpected stressful conditions of the third year emphasizes that infrequent mowing could be the best management practice for N-limited mesic grassland. Finally this work underlines that more long-term manipulation experiments are needed to observe ANPP engineering resilience after climate and management disturbances.

Acknowledgements

We thank David Colosse, Olivier Darsonville, Vincent Guillot, Bernard Pons, Alexandre Salcedo and Yannick Palassio for their help with data collection and site management during the study period. We also thank Nadine Guillaumaud and Franck Poly (LEM Lyon), Nicolas Chemidlin Prévost-Bouré and Pierre-Alain Maron (INRA Dijon) for providing soil water content data. Florence Volaire is acknowledged for improving a previous version of the paper. This experiment was funded by the ANR (French National Research Agency) through the project 'VALIDATE' (2008-2011) and the EC FP7 European 'CARBO-Extreme' project. MZ received a doctoral fellowship from the Auvergne region and the FEDER (Fond Européen du Développement Régional, "L'Europe s'engage en Auvergne"); GA received a post-doctoral fellowship awarded by the ANR.

References

- Beier C, Emmett B, Gundersen P *et al.* (2004) Novel approaches to study climate change effects on terrestrial ecosystems in the field: drought and passive nighttime warming. *Ecosystems*, **7**, 583-597.
- Beierkuhnlein C, Thiel D, Jentsch A *et al.* (2011) Ecotypes of European grass species respond differently to warming and extreme drought. *Journal of Ecology*, **99**, 703-713.
- Bloor JMG, Bardgett RD (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **14**, 193-204.
- Boé J, Terray L, Habets F *et al.* (2006) A simple statistical-dynamical downscaling scheme based on weather types and conditional resampling. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, **111**, 1-20.
- Borken W, Matzner E (2009) Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils. *Global Change Biology*, **15**, 808-824.
- Briske DD, Fuhlendorf SD, Smeins FE (2006) A unified framework for assessment and application of ecological thresholds. *Rangeland Ecology & Management*, **59**, 225-236.
- Brock MT, Galen C (2005) Drought tolerance in the alpine dandelion, *Taraxacum ceratophorum* (Asteraceae), its exotic congener *Taraxacum officinale*, and interspecific hybrids under natural and experimental conditions. *American Journal of Botany*, **92**, 1311-1321.
- Cantarel AAM, Bloor JMG, Soussana JF (2013) Four years of simulated climate change reduces above-ground productivity and alters functional diversity in a grassland ecosystem. *Journal of Vegetation Science*, **24**, 113-126.
- Carpenter SR, Brock WA (2006) Rising variance: a leading indicator of ecological transition. *Ecology Letters*, **9**, 311-318.
- Carter DL, Van der Weide BL, Blair JM (2012) Drought-mediated stem and below-ground bud dynamics in restored grasslands. *Applied Vegetation Science*, **15**, 470-478.
- Chaves MM, Pereira JS, Maroco J *et al.* (2002) How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, **89**, 907-916.
- Cherwin K, Knapp AK (2012) Unexpected patterns of sensitivity to drought in three semi-arid grasslands. *Oecologia*, **169**, 845-852.
- Ciais P, Reichstein M, Viovy N *et al.* (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529-533.

- Clark H, Newton PCD, Barker DJ (1999) Physiological and morphological responses to elevated CO₂ and a soil moisture deficit of temperate pasture species growing in an established plant community. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 233-242.
- Crawley MJ (2007) Mixed-Effects Models, In: *The R Book*, pp.627-660. John Wiley & Sons Ltd.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Bossuyt H *et al.* (2006) How do climate warming and plant species richness affect water use in experimental grasslands? *Plant and Soil*, **288**, 249-261.
- De Boeck HJ, Lemmens C, Zavalloni C *et al.* (2008) Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, **5**, 585-594.
- De Boeck HJ & Verbeeck H (2011) Drought-associated changes in climate and their relevance for ecosystem experiments and models. *Biogeosciences*, **8**, 1121-1130.
- Déqué M (2007) Frequency of precipitation and temperature extremes over France in an anthropogenic scenario: Model results and statistical correction according to observed values. *Global and Planetary Change*, **57**, 16-26.
- Déqué M, Rowell DP, Luthi D *et al.* (2007) An intercomparison of regional climate simulations for Europe: assessing uncertainties in model projections. *Climatic Change*, **81**, 53-70.
- Diaz S, Cabido M (2001) Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646-655.
- Easterling W, Apps M (2005) Assessing the consequences of climate change for food and forest resources: A view from the IPCC. *Climatic Change*, **70**, 165-189.
- Easterling DR, Evans JL, Groisman PY *et al.* (2000) Observed variability and trends in extreme climate events: a brief review. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **81**, 417-425.
- FAO (1998) Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water requirements, <http://www.fao.org/docrep/X0490E/x0490e06.htm#penman%20monteith%20equation>
- Fay PA, Blair JM, Smith MD *et al.* (2011) Relative effects of precipitation variability and warming on tallgrass prairie ecosystem function. *Biogeosciences*, **8**, 3053-3068.
- Ferraro DO, Oesterheld M (2002) Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos*, **98**, 125-133.

- Folke C, Carpenter S, Walker B *et al.* (2004) Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, **35**, 557-581.
- Gilgen AK, Buchmann N (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525-2539.
- Gonzalez-Dugo V, Durand JL, Gastal F, Picon-Cochard C (2005) Short-term response of the nitrogen nutrition status of tall fescue and Italian ryegrass swards under water deficit. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 1269-1276.
- Grime JP (2001) Plant strategies, vegetation processes and ecosystems properties. John Wiley and Sons, Bath, UK. 2nd edition
- Grime JP, Brown VK, Thompson K *et al.* (2000) The response of two contrasting limestone grasslands to simulated climate change. *Science*, **289**, 762-765.
- Grimm V, Schmidt E, Wissel C (1992) On the application of stability concepts in ecology. *Ecological Modelling*, **63**, 143-161.
- Gunderson LH (2000) Ecological resilience - in theory and application. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **31**, 425-439.
- Haddad NM, Tilman D, Knops JMH (2002) Long-term oscillations in grassland productivity induced by drought. *Ecology Letters*, **5**, 110-120.
- Hart AL (1987) Physiology. In: *White Clover* (eds Baker MJ, Williams WM), pp. 125-152. CAB International.
- Hartmann AA, Niklaus PA (2012) Effects of simulated drought and nitrogen fertilizer on plant productivity and nitrous oxide (N₂O) emissions of two pastures. *Plant and Soil*, **361**, 411-426.
- Horst GL, Nelson CJ (1979) Compensatory growth of tall fescue following drought. *Agronomy Journal*, **71**, 559-563.
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, **50**, 346-363.
- Howden SM, Soussana JF, Tubiello FN *et al.* (2007) Adapting agriculture to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 19691-19696.
- Hsiao TC (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, **24**, 519-570.

- Ilmarinen K, Mikola J (2009) Soil feedback does not explain mowing effects on vegetation structure in a semi-natural grassland. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **35**, 838-848.
- IPCC (2007) Climate Change 2007: The Physical Science Basis. In: *Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z *et al.*). Cambridge University Press, Cambridge, UK, and New York, NY, USA.
- Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C (2007) A new generation of climate-change experiments: events, not trends. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **5**, 365-374.
- Jentsch A, Kreyling J, Elmer M *et al.* (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689-702.
- Kahmen A, Perner J, Buchmann N (2005) Diversity-dependent productivity in semi-natural grasslands following climate perturbations. *Functional Ecology*, **19**, 594-601.
- Kimball BA (2005) Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology*, **11**, 2041-2056.
- Kimball BA, Conley MM, Wang S *et al.* (2008) Infrared heater arrays for warming ecosystem field plots. *Global Change Biology*, **14**, 309-320.
- Klumpp K, Tallec T, Guix N *et al.* (2011) Long-term impacts of agricultural practices and climatic variability on carbon storage in a permanent pasture. *Global Change Biology*, **17**, 3534-3545.
- Knapp AK, Beier C, Briske DD *et al.* (2008) Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems. *Bioscience*, **58**, 811-821.
- Knapp AK, Fay PA, Blair JM *et al.* (2002) Rainfall variability, carbon cycling, and plant species diversity in a mesic grassland. *Science*, **298**, 2202-2205.
- Knapp AK, Smith MD (2001) Variation among biomes in temporal dynamics of aboveground primary production. *Science*, **291**, 481-484.
- Kozlowski TT (1972) Shrinking and swelling of plant tissues. In: *Water deficits and plant growth. Vol. III. Plant responses and control of water balance* (ed Kozlowski TT), pp 1-63. Academic Press.
- Kreyling J, Jentsch A, Beierkuhnlein C (2011) Stochastic trajectories of succession initiated by extreme climatic events. *Ecology Letters*, **14**, 758-764.
- Kreyling J, Wenigmann M, Beierkuhnlein C *et al.* (2008) Effects of extreme weather events on plant productivity and tissue die-back are modified by community composition. *Ecosystems*, **11**, 752-763.

- Lehner B, Doll P, Alcamo J *et al.* (2006) Estimating the impact of global change on flood and drought risks in Europe: A continental, integrated analysis. *Climatic Change*, **75**, 273-299.
- Lemmens C, De Boeck HJ, Zavalloni C *et al.* (2008) How is phenology of grassland species influenced by climate warming across a range of species richness? *Community Ecology*, **9**, 33-42.
- Loeser MRR, Sisk TD, Crews TE (2007) Impact of grazing intensity during drought in an Arizona grassland. *Conservation Biology*, **21**, 87-97.
- Lucero DW, Grieu P, Guckert A (1999) Effects of water deficit and plant interaction on morphological growth parameters and yield of white clover (*Trifolium repens L.*) and ryegrass (*Lolium perenne L.*) mixtures. *European Journal of Agronomy*, **11**, 167-177.
- Maire V, Gross N, Pontes LDS *et al.* (2009) Trade-off between root nitrogen acquisition and shoot nitrogen utilization across 13 co-occurring pasture grass species. *Functional Ecology*, **23**, 668-679.
- McLeod KA, Scascitelli M, Vellend M (2012) Detecting small-scale genotype-environment interactions in apomictic dandelion (*Taraxacum officinale*) populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **25**, 1667-1675.
- Mikkelsen TN, Beier C, Jonasson S *et al.* (2008) Experimental design of multifactor climate change experiments with elevated CO₂, warming and drought: the CLIMAITE project. *Functional Ecology*, **22**, 185-195.
- Mirzaei H, Kreyling J, Hussain MZ *et al.* (2008) A single drought event of 100-year recurrence enhances subsequent carbon uptake and changes carbon allocation in experimental grassland communities. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **171**, 681-689.
- Morvan A, Challe G, Prudhomme MP *et al.* (1997) Rise of fructan exohydrolase activity in stubble of *Lolium perenne* after defoliation is decreased by uniconazole, an inhibitor of the biosynthesis of gibberellins. *New Phytologist*, **136**, 81-88.
- Oosterheld M, McNaughton SJ (1991) Effect of stress and time for recovery on the amount of compensatory growth after grazing. *Oecologia*, **85**, 305-313.
- Paruelo JM, Lauenroth WK, Burke IC *et al.* (1999) Grassland precipitation-use efficiency varies across a resource gradient. *Ecosystems*, **2**, 64-68.
- Passioura JB (1996) Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regulation*, **20**, 79-83.
- Pavis N, Boucaud M, Prud'Homme MP (2001) Fructans and fructan-metabolizing enzymes in leaves of *Lolium perenne*. *New Phytologist*, **150**, 97-109.

- Picon-Cochard C, Teyssonneyre F, Besle JM *et al.* (2004) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on the productivity and herbage quality of a semi-natural grassland. *European Journal of Agronomy*, **20**, 363-377.
- Pimm SL (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321-326.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, *et al.* (2011). nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. *R package version 3.1-102*.
- Poirier M, Durand JL, Volaire F (2012) Persistence and production of perennial grasses under water deficits and extreme temperatures: importance of intraspecific vs. interspecific variability. *Global Change Biology*, **18**, 3632-3646.
- Pontes LS, Carrere P, Andueza D, Louault F, Soussana JF (2007) Seasonal productivity and nutritive value of temperate grasses found in semi-natural pastures in Europe: responses to cutting frequency and N supply. *Grass and Forage Science*, **62**, 485-496.
- Prudhomme MP, Gonzalez B, Billard JP *et al.* (1992) Carbohydrate content, fructan and sucrose enzyme-activities in roots, stubble and leaves of ryegrass (*Lolium perenne* L.) as affected by source sink modification after cutting. *Journal of Plant Physiology*, **140**, 282-291.
- R Development Core Team (2011) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
- Reyer C, Leuzinger S, Rammig A *et al.* (2012) A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. *Global Change Biology*, **19**, 75-89.
- Richards LA, Weaver LR (1943) Fifteen-atmosphere percentage as related to the permanent wilting percentage. *Soil Science*, **56**, 331-339.
- Rykiel EJ Jr (1985) Towards a definition of ecological disturbance. *Australian Journal of Ecology*, **10**, 361-365.
- Scheffer M, Carpenter SR (2003) Catastrophic regime shifts in ecosystems: linking theory to observation. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 648-656.
- Seneviratne SI, Nicholls N, Easterling D *et al.* (2012) Changes in climate extremes and their impacts on the natural physical environment. In: *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation* (eds Field CB, Barros V, Stocker TF *et al.*). A Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Cambridge University Press, Cambridge, UK, and New York, NY, USA, pp. 109-230.
- Shenk JS, Westerhaus MO (1994) The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: *Forage quality, evaluation, and utilization* (ed. Fahey GC,

- Collins M, Mertens DM and Moser ME), pp. 406–449. ASA, CSSA, and SSSA, Madison.
- Sherry RA, Zhou XH, Gu SL *et al.* (2007) Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 198-202.
- Shinoda M, Nachinshonhor GU, Nemoto M (2010) Impact of drought on vegetation dynamics of the Mongolian steppe: a field experiment. *Journal of Arid Environments*, **74**, 63-69.
- Skinner RH, Gustine DL, Sanderson MA (2004) Growth, water relations, and nutritive value of pasture species mixtures under moisture stress. *Crop Science*, **44**, 1361-1369.
- Smith MD (2011) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *Journal of Ecology*, **99**, 656-663.
- Soussana JF, Duru M (2007) Grassland science in Europe facing new challenges: biodiversity and global environmental change. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, **272**, 1-11.
- Soussana JF, Lüscher A (2007) Temperate grasslands and global atmospheric change: a review. *Grass and Forage Science*, **62**, 127-134.
- Soussana JF, Graux AI, Tubiello FN, (2010) Improving the use of modelling for projections of climate change impacts on crops and pastures. *Journal of Experimental Botany*, **61**, 2217-2228.
- Stampfli A, Zeiter M (2004) Plant regeneration directs changes in grassland composition after extreme drought: a 13-year study in southern Switzerland. *Journal of Ecology*, **92**, 568-576.
- Stampfli A, Zeiter M (2008) Mechanisms of structural change derived from patterns of seedling emergence and mortality in a semi-natural meadow. *Journal of Vegetation Science*, **19**, 563-574.
- Stewart-Wade SM, Neumann S, Collins LL *et al.* (2002) The biology of Canadian weeds. 117. *Taraxacum officinale* G.H. Webers ex Wiggers. *Canadian Journal of Plant Science*, **82**, 825-853.
- Swemmer AM, Knapp AK (2008) Defoliation synchronizes above-ground growth of co-occurring C₄ grass species. *Ecology*, **89**, 2860-2867.
- Swemmer AM, Knapp AK, Snyman HA (2007) Intra-seasonal precipitation patterns and above-ground productivity in three perennial grasslands. *Journal of Ecology*, **95**, 780-788.

- Teyssonneyre F, Picon-Cochard C, Falcimagne R *et al.* (2002) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on plant community structure in a temperate grassland. *Global Change Biology*, **8**, 1034-1046.
- Tilman D, El Haddi A (1992) Drought and biodiversity in grasslands. *Oecologia*, **89**, 257-264.
- Tubiello FN, Soussana JF, Howden SM (2007) Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 19686-19690.
- Turner LR, Holloway-Phillips MM, Rawnsley RP *et al.* (2012) The morphological and physiological responses of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.; syn. *Schedonorus phoenix* Scop.) to variable water availability. *Grass and Forage Science*, doi: 10.1111/j.1365-2494.2012.00866.x.
- van Ruijven J, Berendse F (2010) Diversity enhances community recovery, but not resistance, after drought. *Journal of Ecology*, **98**, 81-86.
- van Staalduinen MA, Anten NPR (2005) Differences in the compensatory growth of two co-occurring grass species in relation to water availability. *Oecologia*, **146**, 190-199.
- Vicente-Serrano SM, Begueria S, Lopez-Moreno JI (2010) A multiscalar drought index sensitive to global warming: the standardized precipitation evapotranspiration index. *Journal of Climate*, **23**, 1696-1718.
- Vinther FP (2006) Effects of cutting frequency on plant production, N-uptake and N₂ fixation in above- and below-ground plant biomass of perennial ryegrass-white clover swards. *Grass and Forage Science*, **61**, 154-163.
- Volaire F (1995) Growth, carbohydrate reserves and drought survival strategies of contrasting *Dactylis glomerata* populations in a Mediterranean environment. *Journal of Applied Ecology*, **32**, 56-66.
- Volaire F (2008) Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy*, **29**, 116-124.
- Volaire F, Norton MR, Lelievre F (2009) Summer drought survival strategies and sustainability of perennial temperate forage grasses in Mediterranean areas. *Crop Science*, **49**, 2386-2392.

- Volaire F, Thomas H, Lelievre F (1998) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New Phytologist*, **140**, 439-449.
- Vogel A, Scherer-Lorenzen M, Weigelt A (2012) Grassland resistance and resilience after drought depends on management intensity and species richness. *Plos One*, **7**, 1-10.
- Walker B, Meyers JA (2004) Thresholds in ecological and social-ecological systems: a developing database. *Ecology and Society*, **9**, 1-16.
- Walter J, Grant K, Beierkuhnlein C *et al.* (2012) Increased rainfall variability reduces biomass and forage quality of temperate grassland largely independent of mowing frequency. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **148**, 1-10.
- Wan S, Luo Y, Wallace LL (2002) Changes in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. *Global Change Biology*, **8**, 754-768.
- Williams BL, Dawson LA, Grayston SJ, Shand CA (2003) Impact of defoliation on the distribution of ¹⁵N-labelled synthetic sheep urine between shoots and roots of *Agrostis capillaris* and soil N pools. *Plant and Soil*, **251**, 269-278.
- Wu Z, Dijkstra P, Koch GW, Penuelas J, Hungate BA (2011) Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology*, **17**, 927-942.
- Yachi S, Loreau M (1999) Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proceedings of National Academic of Sciences*, **96**, 1463-1468.
- Zavalloni C, Gielen B, Lemmens CMHM *et al.* (2008) Does a warmer climate with frequent mild water shortages protect grassland communities against a prolonged drought? *Plant and Soil*, **308**, 119-130.
- Zhou XH, Fei SF, Sherry R *et al.* (2012) Root biomass dynamics under experimental warming and doubled precipitation in a tallgrass prairie. *Ecosystems*, **15**, 542-554.

SUPPORTING INFORMATION

Table S1. Annual and seasonal air temperature (T, °C), cumulated precipitations (P, mm), and cumulated climatic water balance (P - PET, mm) of the experimental site for the reference period (1969-1999). Mean values \pm SD are shown.

	Air temperature (°C)	Precipitations (mm)	P - PET (mm)
Annual	8.0 \pm 0.8	806 \pm 141	125 \pm 214
Spring	6.6 \pm 1.2	195 \pm 62	-6 \pm 100
Summer	14.8 \pm 1.1	218 \pm 69	-102 \pm 107
Autumn	8.5 \pm 1.1	237 \pm 86	136 \pm 86
Winter	1.8 \pm 1.3	156 \pm 49	97 \pm 59

Figure S1. Daily variation in canopy surface temperature (°C, 15 minutes data) measured during the experimental heat-wave applied in July 2009 (DOY 189-203). Surface temperature was measured on C (dark grey line), CX (dashed line) and WDX (black solid line) treatments.

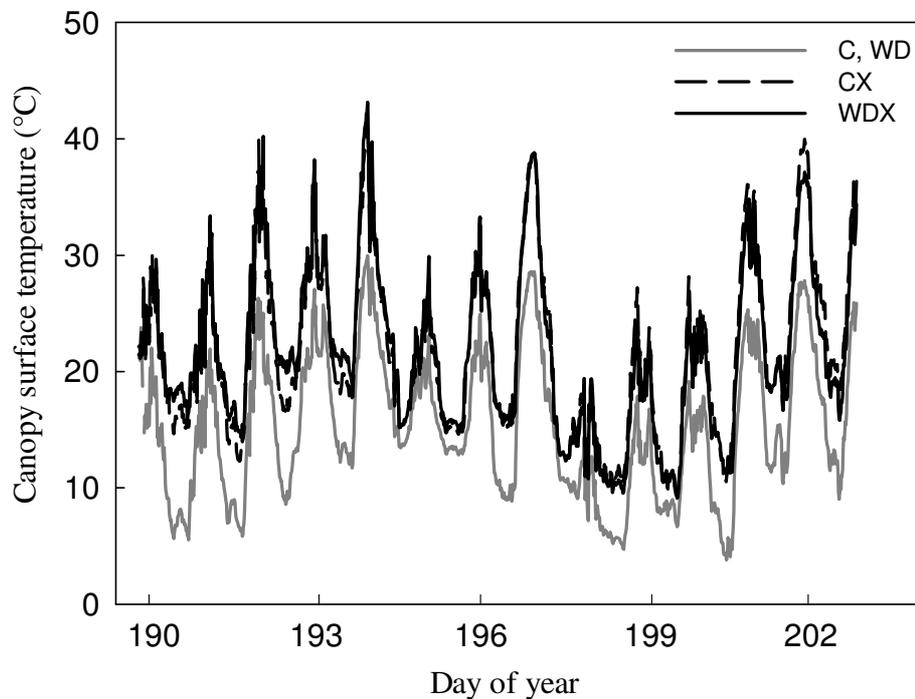
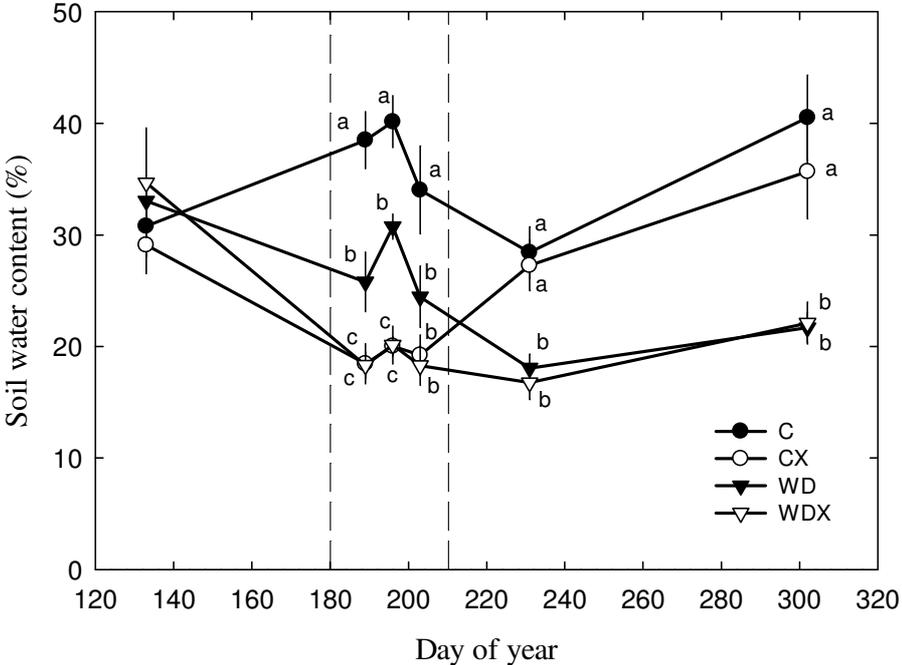


Figure S2. Temporal patterns of soil water content (0-15cm, %) measured in 2009 according to the four climate treatments, for Cut-. For each date, different letters, when shown, indicate statistical difference ($P < 0.05$). Vertical bars represent standard errors ($n=4$). Dashed lines correspond to start and end of reduced summer precipitation.



Partie 2 – ETUDE COMPLEMENTAIRE

EFFETS DES PERTURBATIONS CLIMATIQUES SUR LA STRUCTURE ET LA COMPOSITION DES COMMUNAUTES VEGETALES *IN SITU*

Cette étude complémentaire à la Partie 1, vise à apporter des éléments de compréhension sur les mécanismes par lesquels la stabilité de la production aérienne est maintenue malgré des contraintes climatiques. Selon les hypothèses de stabilité-diversité (voir § 1.b, Chapitre 1), nous avons supposé que les arrières effets observés sur la production de biomasse aérienne pourraient s'expliquer en partie par des changements de diversité et/ou de composition botanique à l'issue des perturbations climatiques. Nous pensons également que la redondance fonctionnelle a pu influencer positivement la réponse des types fonctionnels. La présence d'espèces résistantes aux contraintes climatiques pourrait en effet compenser la perte de fonction des espèces les plus sensibles. Cette étude complémentaire a donc pour objectif de confirmer ces hypothèses.

Pour cela, les effets de la variabilité climatique sur la diversité et la composition botanique ont été analysés *in situ* à partir des inventaires botaniques réalisés au printemps (voir § 1.c, Chapitre 2).

1. Diversité et redondance fonctionnelle

Diversité des communautés végétales

Au stade initial, les communautés végétales présentaient une richesse spécifique (S), un indice de Shannon-Wiener (H) et de Pielou (J : équitabilité) de 10.2, 1.81 et 0.78, respectivement. Pendant les trois années d'expérimentation, la richesse spécifique et l'indice de Shannon augmente significativement (Tableau 3-5) (+14% et +10% en moyenne pour S et H, respectivement). Mais les traitements climatiques et la fréquence des fauches n'ont eu aucun effet significatif sur ces deux indices de diversité (Tableau 3-5). En revanche, l'équitabilité des populations a été impactée par la fréquence des fauches. Elle était supérieure en Cut+ pour l'ensemble des traitements climatiques. Entre 2009 et 2011, l'équitabilité a augmenté sur C et WDX (+ 7% et 9%, respectivement), mais elle a diminué sur WD (-7%), alors qu'elle est restée stable sur CX.

Tableau 3-5. Résultats statistiques des ANOVA multifactorielles réalisées sur la diversité spécifique des communautés végétales (S), les indices de Shannon-Wiener (H) et de Pielou (J), ainsi que sur la redondance fonctionnelle des Poacées, des Fabacées et des dicotylédones non-fixatrices (Dicot.), pendant les trois années d'expérimentation

	S	H	J	Poacées	Fabacées	Dicot.
Climat	0.325	0.859	0.695	0.207	0.120	0.801
Coupe	0.238	0.274	0.032	0.052	0.001	0.631
Année	<0.0001	<0.0001	0.013	0.0567	0.545	0.007
Climat x Coupe	0.973	0.071	0.056	0.034	0.109	0.025
Climat x Année	0.331	0.380	0.020	0.3787	0.032	0.672
Coupe x Année	0.173	0.485	0.579	0.009	0.102	0.886

Redondance fonctionnelle

La redondance fonctionnelle a été considérée comme le nombre d'espèces par type fonctionnel (Poacées, Fabacées, Dicotylédones non fixatrices). Au stade initial, la diversité des Poacées (6.25) était supérieure à celle des autres groupes. En revanche, la redondance fonctionnelle était inexistante chez les légumineuses et les autres dicotylédones en 2009. Les années suivantes, la diversité spécifique au sein des Poacées et des dicotylédones non-fixatrices a montré une variabilité interannuelle significative (Tableau 3-5).

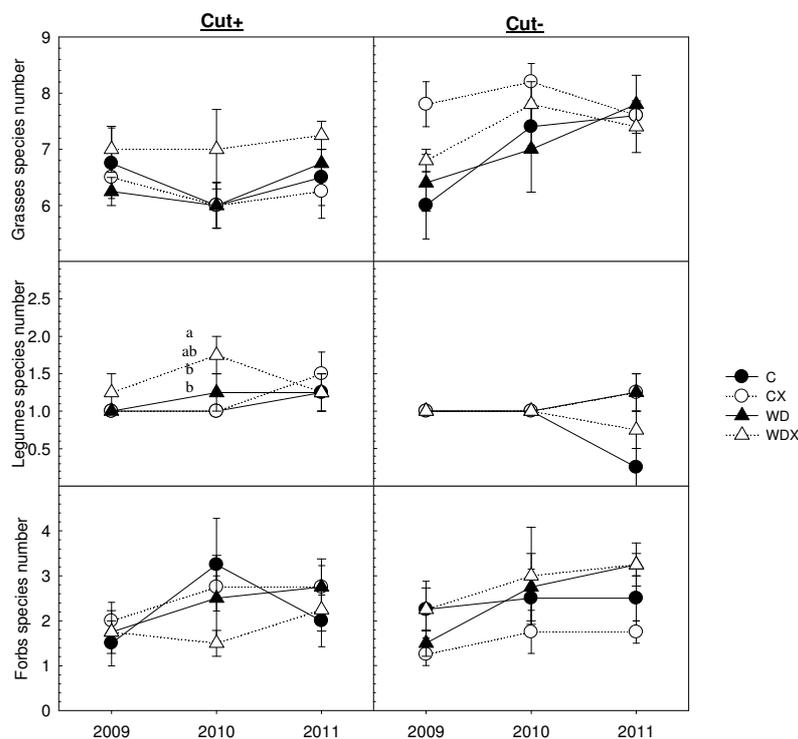


Figure 3-7. Diversité spécifique des Poacées ('Grasses'), des Fabacées ('Legumes') et des dicotylédones non fixatrices ('Forbs') pendant les trois années d'expérimentation.

A partir de 2010, la redondance fonctionnelle des Poacées en Cut- a significativement augmenté par rapport au stade initial sur C et CX (+ 20% en moyenne ; Tableau 3-5 ; Fig. 3-

7). En 2010, la diversité des Fabacées était supérieure en Cut+ par rapport à celle observée en Cut-. Elle a aussi significativement augmenté sur les traitements WD et WDX en 2010. Les deux années après l'extrême, la diversité des dicotylédones non-fixatrices a diminué en Cut+ sur CX (-36%) et WDX (-40%).

2. Effets des gradients environnementaux sur les populations dominantes des communautés végétales

Abondances relatives des populations dominantes

Pour la majorité des espèces dominantes, la variabilité interannuelle des abondances relatives a été significative (Tableau 3-6). Pendant les trois années d'expérimentation les abondances relatives de *Alopecurus pratensis* (Ap), *Dactylis glomerata* (Dg) et *Poa pratensis* (Pp) ont peu à peu augmenté par rapport au stade initial, tandis que celles de *Lolium perenne* (Lp), *Trifolium repens* (Tr), *Poa trivialis* (Pt) ont diminué (Fig. 3-8).

Tableau 3-6. Résultats statistiques (P-value) des ANOVA multi-factorielles réalisées sur les abondances relatives (après transformation par la fonction $\text{Asin}(\text{racine}(x/100))$) des espèces dominantes (80-100% de la couverture végétales) observées au printemps dans les communautés (mars-avril) par la méthode des points quadrats. (Ap : *Alopecurus pratensis* ; Dg : *Dactylis glomerata* ; Lp : *Lolium perenne* ; Pp : *Poa pratensis* ; Pt : *Poa trivialis* ; Tf : *Trisetum flavescens* ; To : *Taraxacum officinalis* ; Tr : *Trifolium repens*). En gras, $P < 0.05$.

	Ap	Dg	Lp	Pp	Pt	Tf	To	Tr
Climat	0.304	0.301	0.205	0.224	0.452	0.984	0.775	0.003
Coupe	0.106	< 0.001	0.011	0.534	0.009	0.572	0.001	< 0.001
Année	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.016	0.090	0.141	< 0.001
Climat x Coupe	0.010	0.004	0.055	0.188	0.639	0.795	0.985	0.158
Climat x Année	0.745	0.473	0.716	0.6907	0.463	0.965	0.484	0.636
Coupe x Année	0.453	0.019	< 0.001	0.437	0.4637	0.129	0.749	< 0.001
2009								
Climat	0.310	0.777	0.469	0.874	0.881	0.934	0.974	0.249
Coupe	0.622	0.389	0.326	0.815	0.642	0.076	0.278	0.085
Climat x Coupe	0.305	0.244	0.386	0.805	0.831	0.694	0.955	0.598
2010								
Climat	0.804	0.052	0.206	0.190	0.020	0.826	0.994	0.008
Coupe	0.611	0.077	0.347	0.953	0.060	0.556	0.019	0.002
Climat x Coupe	0.238	0.276	0.243	0.962	0.200	0.872	0.174	0.525
2011								
Climat	0.238	0.574	0.249	0.193	0.709	0.983	0.294	0.005
Coupe	0.112	0.004	0.002	0.189	0.046	0.800	0.063	< 0.001
Climat x Coupe	0.217	0.455	0.802	0.180	0.847	0.942	0.689	0.215

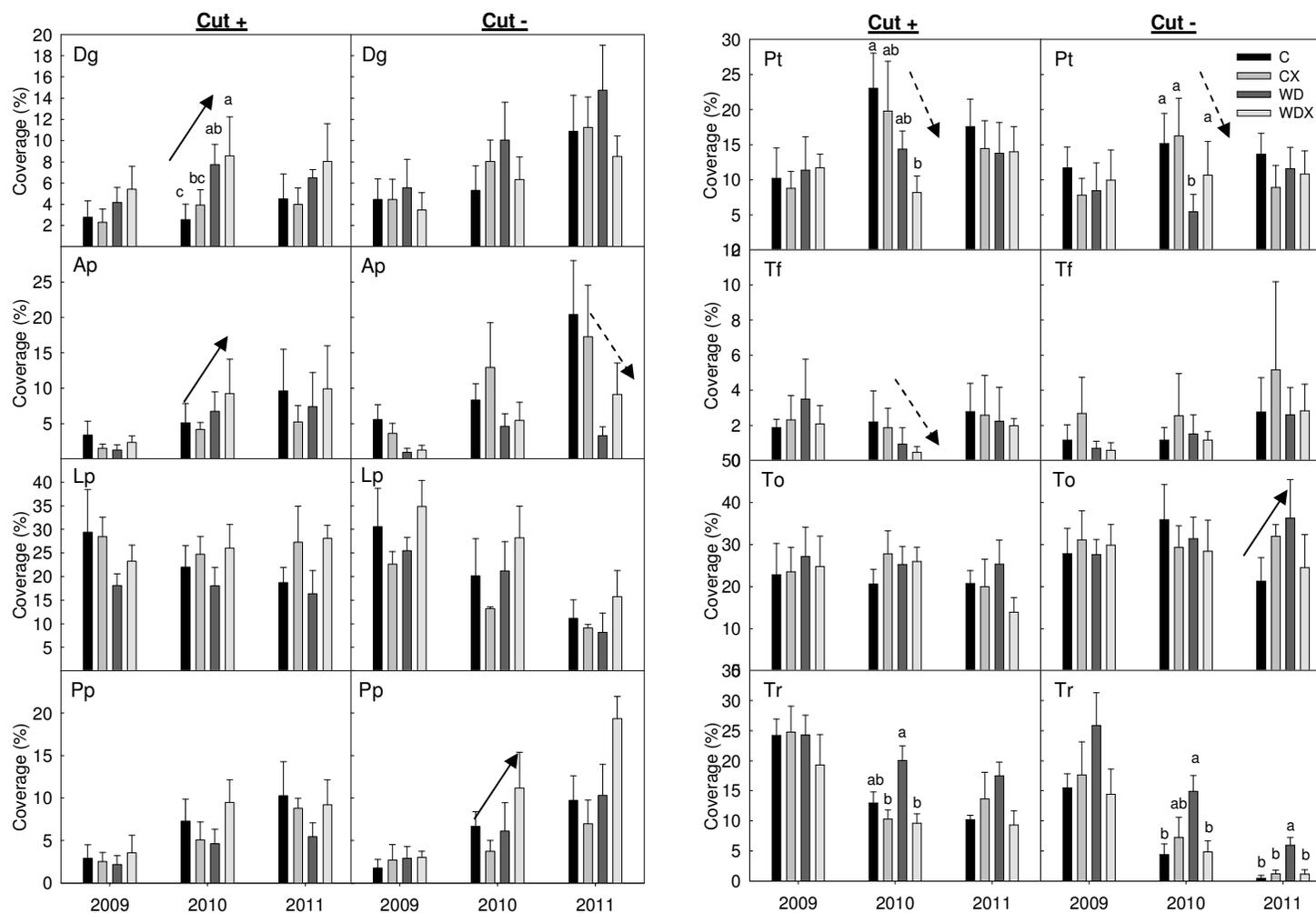


Figure 3-8. Abondances relatives (%) des espèces dominantes observées au printemps (mars-avril), par la méthode des points quadrats, pendant les trois années d'expérimentation. Les flèches noirs indiquent les effets du gradient de stress appliqué en 2009 (trait plein : effet négatif ; trait pointillé : effet positif) sur l'abondance des espèces dominantes. Elles schématisent les phénomènes de compensation entre les espèces dominantes dans le maintien de la couverture végétale. (Ap : *Alopecurus pratensis* ; Dg : *Dactylis glomerata* ; Lp : *Lolium perenne* ; Pp : *Poa pratensis* ; Pt : *Poa trivialis* ; Tf : *Trisetum flavescens* ; To : *Taraxacum officinalis* ; Tr : *Trifolium repens*)

Les traitements climatiques ont modifié l'abondance relative de *Tr* et *Pt* en 2010 (Tableau 3-6). En effet, l'abondance de WD en Cut-, et sur WDX en Cut+ (Fig. 3-8). Celle de *Tr* a augmenté sur le traitement WD quel que soit le mode de gestion. Ces effets ont disparu en 2011 pour *Pt* alors qu'ils se sont maintenus en 2011 pour *Tr*. La fauches fréquentes ont favorisée les abondances relatives de *Lp*, *Pt* et *Tr* en 2011 (Tableau 3-6), tandis que celles de *To* et *Dg* ont été supérieures en Cut- (Fig. 3-8). Selon la fréquence des fauches, les abondances relatives de *Ap* et *Dg* ont été modifiées par les traitements climatiques (Tableau 3-6). En Cut+, l'abondance de *Dg* a augmenté sur les traitements WD et WDX, alors que celle de *Ap* a diminué en Cut- (Fig. 3-8).

Effets des gradients environnementaux

Afin de déterminer les relations entre les variables environnementales et l'abondance des espèces prairiales, une analyse de correspondances multiples par ordination contrainte a été réalisée (CCA : Canonical Correspondance Analysis) à partir des abondances relatives des espèces dominantes (80-100% du recouvrement végétal) observées en 2010 et 2011. Les conditions environnementales de 2009 ont été utilisées pour décrire la répartition des espèces en 2010. Puis la répartition des espèces en 2011 a été analysée à partir des conditions environnementales de 2010, et à partir des conditions de juillet 2009, pour mettre en évidence les arrières effets du gradient de stress.

Les résultats ont montré que la composition botanique des communautés végétales a été modifiée par les précipitations annuelles, les conditions de température et d'humidité du sol, ainsi que par la fréquence des fauches. En effet, les 2 premiers axes de l'ordination expliquent 73.43% de la variance totale observée sur l'abondance relative des populations en 2010 ; et 81.1% en 2011 (Fig. 3-9). La projection des résultats sur ces axes montre que la réduction des précipitations annuelles a entraîné une diminution des abondances relatives de *Pt* et *Tr*, en particulier en 2010, soit un an après l'extrême climatique. A l'inverse elle a favorisée les abondances de *To* et *Dg*. La dominance de *Ap*, *Pp* et *Lp* a été influencée par la disponibilité en eau du sol. Les abondances de *Dg* et *T. repens* ont été modifiées par l'augmentation des températures du sol. A l'issue des fauches fréquentes, la dominance de *Pt*, *Tr*, et *Lp* a été favorisée, tandis celle de *To* a diminué.

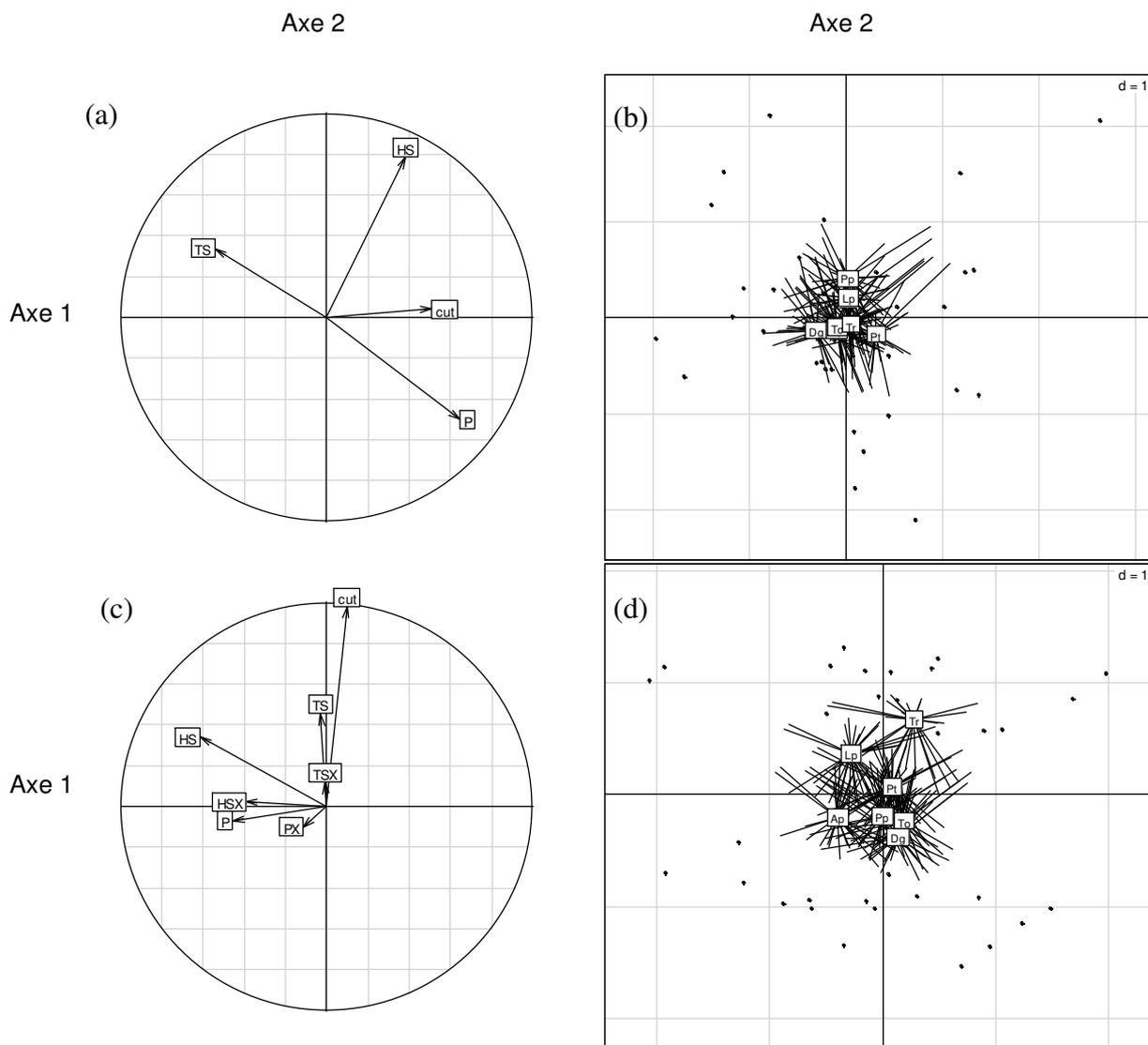


Figure 3-9. Ordination canonique des correspondances entre les abondances relatives des populations dominantes observées au printemps en 2010 (a,b) et en 2011 (c, d) le long des gradients environnementaux. Les figures a et c montrent la projection des variables environnementales sur les deux premiers axes de la CCA (TS : moyenne de température du sol annuelle ; TSX : moyenne de température en juillet 2009 ; HS : moyenne d'humidité du sol annuelle ; HSX : moyenne d'humidité du sol en juillet 2009 ; P : précipitation annuelle ; PX : précipitation en juillet 2009 ; cut : nombre des fauches an⁻¹). Les figures b et d montrent la répartition des espèces sur les deux premiers axes de la CCA (Ap : *Alopercurus pratensis* ; Dg : *Dactylis glomerata* ; Lp : *Lolium perenne* ; Pp : *Poa pratensis* ; Pt : *Poa trivialis* ; To : *Taraxacum officinalis* ; Tr : *Trifolium repens*)

3. Conclusion

Les résultats de cette étude complémentaire montre que la diversité spécifique des communautés végétales n'a pas été affectée par les perturbations climatiques. En revanche, la composition botanique des communautés a été modifiée avec une diminution de l'équitabilité des espèces. Ces résultats soulignent que les effets de la variabilité du climat sur le fonctionnement des communautés s'expliquent davantage par des changements de composition que par des changements de diversité (Grime *et al.*, 2008).

Les variations observées sur l'abondance des espèces dominantes ont mis en évidence des phénomènes de compensation au sein de la couverture végétale, et plus particulièrement au sein des Poacées. Ceci peut ainsi expliquer leur résistance aux perturbations climatique et la stabilité de leur production les deux années suivantes. Aucun phénomène de compensation n'a été observé au sein des Fabacées et des Dicotylédones non-fixatrices car leur redondance fonctionnelle initiale était trop faible. Compte tenu de la sensibilité de *T. repens* à la réduction des précipitations, l'abondance des Fabacées a diminué au sein de communautés. Ces résultats soulignent ainsi l'importance de la redondance fonctionnelle dans le maintien de la structure des communautés végétales (Walker, 1992).

P. trivialis et *T. repens* ont été les espèces les plus sensibles à la variabilité des précipitations issues des traitements, alors que *D. glomerata* et *T. officinale* ont été les plus résistantes. Ces deux espèces ont cependant été défavorisées par des fauches fréquentes, tandis que les plus sensibles ont augmenté à l'issue des fauches fréquentes. Ainsi, ces résultats montrent qu'en sélectionnant les populations dominantes, la fréquence des fauches pourrait influencer la résistance des communautés végétales à plus long terme.

Chapitre 4 :

EFFETS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE ET D'UNE CANICULE SECHERESSE SUR LES PROCESSUS RACINAIRES DES COMMUNAUTES VEGETALES *IN SITU*

Ce chapitre est consacré à l'analyse *in situ* des effets directs et indirects du réchauffement, de la variabilité des précipitations et d'une canicule-sécheresse sur le fonctionnement et la structure du système racinaire des communautés végétales, en interaction avec la fréquence des fauches de la prairie permanente. Les résultats du Chapitre 3 nous ont amenés à nous interroger sur le rôle du système racinaire dans la résistance et la récupération de la couverture végétale après un extrême climatique. De plus, nous avons cherché à mieux comprendre les arrières effets négatifs des perturbations climatiques sur la production de biomasse aérienne. Ce chapitre, sous la forme d'un article en préparation, présente les principaux résultats sur la démographie et la longévité racinaire des communautés étudiées *in situ* dans le chapitre 3.

CUTTING FREQUENCY AND SOIL DEPTH MODULATE ROOT DEMOGRAPHY
AND ROOT LONGEVITY RESPONSES TO CLIMATE DISTURBANCES IN
PERENNIAL GRASSLAND

Zwicke Marine, Laurent Julie, Picon-Cochard Catherine*

INRA, UR874, Grassland Ecosystem Research Team, 5 chemin de Beaulieu, F-63100
Clermont-Ferrand, France

* Corresponding author: Catherine Picon-Cochard, Tel: (+)33 473 62 45 84; Fax: (+)33 473
62 44 57; email: catherine.cochard@clermont.inra.fr;

Other email address: marine.zwicke@gmail.com

Keywords: summer extreme event, drought, heat wave, root growth, root mortality, root
production, root longevity, drought avoidance, root acclimation

Introduction

Recent studies on climate trends reported the risk of increased climate variability which is expected to induce more frequent and more intense climate extreme, such as drought and heat wave, previously observed only once a century (IPCC, 2012). Climate extremes may have important consequences for terrestrial ecosystems that may induce irreversible changes in ecosystem functioning after passing thresholds of stress intensity and duration (Briske *et al.*, 2003; Smith, 2011a). Consequently the durability of ecosystem services and human well-being may be threaten by climate extremes (MEA, 2005).

Grassland is one of major land area in Europe that offer many agronomical and ecological services, such as forage production, biodiversity and carbon sequestration, which could be greatly affected by climate change (Soussana & Lüscher, 2007; Tubiello *et al.*, 2007). Therefore, the sustainability of grassland services will depend on the combined effects of climate drivers and management (Soussana & Duru, 2007; Soussana & Lüscher, 2007; Tubiello *et al.*, 2007). In this context, more knowledge on factors and thresholds governing grassland resistance and recovery after climate extreme is necessary to improve ability to predict ecosystem behaviour and adapt grassland management to climate change (De Boeck *et al.*, 2010; Soussana *et al.*, 2010; Smith, 2011b).

Below-ground production represent approximately 40 to 85% of total net primary production of grasslands (Jackson *et al.*, 1996) that accounted for 80 to 90% of litter production in soil (Steinaker & Wilson, 2005). Root mortality is indeed the primary input of fresh organic matter in the soil (Hungate *et al.*, 1997) and small changes in soil carbon pool and nutrient cycling are expected to have important consequences on climate feedback (Pendall *et al.*, 2008). However, global datasets suggest that root turnover is driven in part by mean annual temperature and precipitation (Gill & Jackson, 2000), but less is known about root longevity, probably due to spatial and temporal scales at which studies have been investigated (Speleta *et al.*, 2007; Pendall *et al.*, 2008). Soil water content and soil temperature are recognized to affect in part timing of root production (Steinaker & Wilson, 2008; Comas *et al.*, 2010; Pilon *et al.*, 2013). In water-limited environments, grassland plant communities usually exhibit greater allocation to below-ground compartment (Jackson *et al.*, 1996; Schenk & Jackson, 2002; Mokany *et al.*, 2006).

While there is a growing number of studies on above-ground responses to climate extreme (Kahmen *et al.*, 2005b; Jentsch *et al.*, 2007, 2011; Kreyling *et al.*, 2008c; Gilgen & Buchmann, 2009; De Boeck *et al.*, 2010; De Boeck & Verbeeck, 2011; Zwicke *et al.*, 2013),

less studies have been investigated on below-ground responses to climate extreme (Gilgen & Buchmann, 2009; Jentsch *et al.*, 2011; Dreesen *et al.*, 2012). However, the key component of ecosystem responses to climate change may reside in the below-ground system of roots (Norby *et al.*, 2000). In temperate grasslands, below-ground production could be unaffected by drought (Gilgen & Buchmann, 2009; Jentsch *et al.*, 2011) or stimulated (Dreesen *et al.*, 2012). In addition, multiple climate drivers may have strong interactive effects on ecosystem responses (Shaw *et al.*, 2002; Zavaleta *et al.*, 2003; Henry *et al.*, 2005; Luo *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2008). For example, heat wave may have only transient effects but may deepen drought effects on ecosystem productivity (De Boeck *et al.*, 2010). Reduced precipitation may counteract positive effect of warming on root growth (Norby & Luo, 2004; Pendall *et al.*, 2004; Pilon *et al.*, 2013). Maintenance of root growth during water deficit is recognized as an important mechanisms of plant strategy for drought avoidance by ensuring water uptakes (Durand *et al.*, 2007; Volaire *et al.*, 2009; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). However, these strategies of drought resistance were mostly observed in controlled conditions and only on few species. Less work have been investigated *in situ* on plant community, which could be due to more difficulties to observe below-ground responses in the field. Therefore there is no consistent pattern of root production under drought conditions.

Defoliation of herbaceous populations is recognized to affect carbon allocation to below-ground system (Davidson & Milthorpe, 1966; Oosterheld & McNaughton, 1991; Ferraro & Oosterheld, 2002), carbon storage in the soil (Klumpp *et al.*, 2007) and plant community structure and composition that may influence grassland productivity and response to climate change (Teyssonneyre *et al.*, 2002; Picon-Cochard *et al.*, 2004; Swemmer *et al.*, 2007; Zwicke *et al.*, 2013). Furthermore, it was recently shown that grassland management may influence grassland resistance and recovery after drought (Klumpp *et al.*, 2011; Zwicke *et al.*, 2013). However, combined effects of warming and extreme event, such as drought and heat wave, with grassland management have never been investigated yet on root system dynamics.

We showed in a previous study that climate extreme significantly reduced green aerial tissue and above-ground production with negative lasting effects the following years (Zwicke *et al.*, 2013). For the same experiment, here we report response to climate disturbance of root growth, mortality dynamics and root longevity measured during two years with the minirhizotron method (Johnson *et al.*, 2001). The first year, four climate treatments were applied: control (C), control with summer extreme event (CX), warming-drought (WD) and warming-drought with summer extreme event (WDX). The second year, only two climate treatments were maintained (C and WD) to observe the recovery of below-ground plant

community. In addition, two cutting frequencies were applied during the two years to determine effect of management practices on root response to climate disturbance. As more than 80% of root biomass is located in the upper 20 cm (Schenk & Jackson, 2002), we chose to analyse the effect of climate at two soil layers (0-5 and 15-20 cm). For each soil layer, resistance of root growth and mortality to summer extreme event was first characterised by the deviation from the control (Pimm, 1984). Then, the root system recovery was measured the following autumn and until the end of the second year to assess reorganization processes in order to return to the control level (Folke *et al.*, 2002). Therefore, we hypothesize that (1) extreme event reduces root growth and root longevity by increasing root mortality, especially at the top soil layer, (2) root acclimation to warmer and drier climate increases root growth, root mortality and decreases longevity that may favor root resistance and recovery to climate extreme, (3) high cutting frequency, by reducing root growth, decreases root resistance and recovery to climate extreme.

Materials and Methods

Study site and experimental setup

Details of the experimental design, setup and meteorological conditions for the study site are described in Zwicke *et al.* (2013). Briefly, the studied permanent grassland is located in the French Massif Central (Saint Genès-Champanelle, France 45°43'N, 03°01'E, 880 m a.s.l.). The local climate is semi-continental with an average of daily temperature of 8.0 °C and annual cumulated rainfall of 806 mm (1969-1999 long-term average). Annual climatic water deficit ($P - PET$, mm) defined with annual precipitation (P , mm) - annual potential evapotranspiration (PET , mm) is 125 ± 214 mm with regular summer water deficit (-102 ± 107 mm). The soil is a sandy loam granitic brown soil (50 % sand, 24 % silt; 25 % clay; 39 % organic matter; C:N, 9.6; pH_{water} , 5.9). Before starting the experiment, the study site was subjected for 10 years to mowing and grazing with regular inputs of inorganic N until 2002. The native plant community was diverse (> 10 species) and dominated by grasses (51.5 %). Legumes and non-fixing forbs represented respectively 20.8 % and 27.7 % of the plant cover.

In 2008, four blocks were established in which 16 plots (3 x 6 m) were delimited to applied climate treatments, to take into account the soil depth gradient of the study site (from 74 to 112 cm). Each plot was divided in two subplots (3 x 3 m each) to apply cutting treatments. Therefore, plots and subplots were randomly assigned to climate and cutting treatments.

Cutting treatments

Cutting treatment was characterised by two cutting frequencies: frequent (Cut+) and infrequent (Cut-) cuts. Before starting the experiment, vegetation was cut two and three times, for Cut- and Cut+, respectively, from August to the end of October 2008. Then, the two cutting frequencies were applied during all the growing season in 2009 and 2010. On Cut+, plant communities were cut six and four times in 2009 (day of year, DOY 132, 167, 209, 236, 273, 320) and 2010 (DOY 131, 158, 229, 270), respectively. On Cut-, they were cut three and two times in 2009 (DOY 167, 236, 320) and 2010 (DOY 158, 270), respectively. For each cut, the vegetation was cut at 5 cm height.

Climate treatments

Four climate treatments were elaborated from long-term meteorological reference (1969-1999) for the site (see Zwicke *et al.* (2013) for details): control (C, precipitations for the reference period and ambient air temperature), control with summer extreme event (CX), warmer and drier climate (WD), warmer and drier climate with summer extreme event (WDX). Climate treatments were applied during the growing season in 2009 and 2010 (DOY 71-327). On WD and WDX treatments, warming and reduction of precipitation occurred during the growing seasons of the two years experiment (DOY 73-321). Warming was applied during the nights to increase minimum canopy temperature (nocturnal passive warming) by opening automatic rainout shelters. To avoid snow and frost damages during winter, automatic shelters were activated only during the growing season. Canopy temperature measured at the end of the night with a thermal camera (FLIR system ThermoCAMTM S65HS), increased by 2° C in comparison with C treatment. Reduction of precipitation applied in WD and WDX occurred in summer (DOY 152-242, -30 % in comparison to C) and autumn (DOY 243-327, -40 % in comparison to C) 2009 and 2010 by intercepting all precipitation above each plot with rainout shelters, which were automatically opened owing to a rain sensor (Warema 730E, Paderborn, Germany) during a rain event. As all rainout shelters were functioning, all plots were submitted to the same light conditions during the experiment. Consequently, no biases due to shade (26% of intercepted PAR) occurred between climate treatments. Then, water was weekly supplied by two sprinklers (Miracle©, Netafim, Tel Aviv, Israel), and recorded by three rain gauges per plot.

On CX and WDX treatments, the simulated extreme event was applied only in 2009 (DOY 173-243) and was first defined by a progressive reduction of summer precipitation (DOY 173-212), and secondly by two weeks of heat wave (DOY 189-202) simulated by active

warming with no precipitation (Zwicke *et al.*, 2013). Then, a progressive rehydration was applied from DOY 213 to 243, according to climate treatments (144 mm and 41 mm for CX and WDX, respectively). Compared to C, summer precipitation in 2009 was thus decreased by -28% and -65% on CX and WDX, respectively. Thereafter, climate conditions on CX and WDX were similar to C and WD, respectively, until the end of the year 2010.

In 2009, annual precipitation of C, CX, WD and WDX was 773, 695, 566 and 492 mm, respectively. In 2010, annual precipitation of C, CX, WD and WDX was 766, 769, 608 and 606 mm, respectively.

Experimental conditions

Climate conditions on the study site (air temperature, °C; precipitations, mm; net global radiation, $W m^{-2}$; wind speed, $m s^{-1}$) were recorded every 15 min using an automatic weather station installed at 2 m above soil surface in the middle of field experiment. Furthermore for each plot, air temperature and humidity were measured at 20 cm above soil surface. For each subplot, soil temperature (T_{soil} , °C) (T107, Campbell, UK) and volumetric soil water content (SWC, %) (TDR probes, CS635, Campbell, UK) were measured at a depth of 0-10 and 0-30 cm, respectively. Data were recorded each minute and then averaged over 15 min intervals by the data logger (CR1000, Campbell, UK). Daily potential evapotranspiration (PET, mm) was calculated according to FAO procedures (1998). According to Vicente-Serrano *et al.* (2010), cumulated water deficit ($P - PET$, mm) was used as a stress indicator and calculated as cumulated precipitation (P , mm) and cumulated PET until the end of the heat wave (DOY 1-202) in 2009.

Experimental conditions are fully described in Zwicke *et al.* (2013). Briefly, mean annual air temperature of 2009 and 2010 was on average 8.9°C and 7.5 °C, respectively, and mean annual $P - PET$ was 51 and 88 mm, respectively, which corresponded to climate reference for the site.

Root measurements

Root demography was measured in field conditions with a minirhizotron (BTC-2 camera, Bartz technology, USA). In 2008, one year before starting the experiment, one transparent acrylic tube (80 cm x 6 cm diameter, 4 mm thickness) per subplot was inserted in the soil with an angle of 45°. Root images (1.35 x 1.8 cm) were taken every 1.35 cm from the soil surface and recorded approximately once a month in 2009 (DOY 104, 139, 175, 189, 202, 251, 286, 323) and 2010 (DOY 39, 74, 103, 141, 175, 201, 243, 274, 321). Then, data were analysed on

three successive images at two soil layers (0-5 cm and 15-20 cm depths) using WinRHIZOTronMF software (V2005a, Regent Instrument, CA). All roots were individually followed until the end of the second year, measured (length, mm) and classified as either live or dead. In total, 14 928 roots were analyzed.

Protocols used for root length growth rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) and root length mortality rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) calculations mainly followed those described by Pilon *et al.* (2013). Briefly, for each soil depth and sampling date, root growth rate was calculated by summing the length of new roots and root extensions of existing live roots, divided by the number of days between each sampling date. From these values, resistance at the end of the extreme and recovery after rehydration of root growth rate were punctually characterized at DOY 202 and DOY 251, respectively. As root mortality was based on root disappearance (Johnson *et al.*, 2001), root mortality rate was determined by summing the length of roots that had disappeared between each sampling period divided by the number of days between each sampling date. Therefore, root mortality includes time of root mortality and root decomposition.

Root length production (RLP, mm cm^{-2}) and root length mortality (RLM, mm cm^{-2}) were calculated by summing the new and dead root lengths, respectively. To assess resistance of root production and root mortality to dehydration, recovery after rehydration and one year after, these data were respectively cumulated from DOY 175 to 202, from DOY 202 to 323 in 2009 and from DOY 39 to 321 in 2010. From these values, net root length production (RLP_{net} , mm cm^{-2}) was calculated as $\text{RLP}_{\text{net}} = \text{RLP} - \text{RLM}$.

Finally, median root longevity was determined with Kaplan Meier analysis (Allison 1995). Dates of root birth and death were assumed as the mid-point between sampling periods before and after appearance and disappearance, respectively.

Statistical analysis

All analyses were carried out as a split-plot experiment, following Crawley (2007). Climate treatments (C, CX, WD, WDX) and soil depth (0-5 cm, 15-20 cm) and their interactions were considered as whole-plot fixed factor; cutting frequencies (Cut+, Cut-) and their interactions with climate were considered as sub-plot fixed factor. In addition, total root length observed at the first sampling date (initial root length) was also added in the model as covariate to take into account previous heterogeneity within replicates. Each factor combination (climate, cut, soil depth) was repeated four times corresponding to four blocks. To exclude variability due to the field heterogeneity (soil depth and plant species composition), all statistical analyses were performed using a linear mixed model with a random effect attributed to blocks, and was

carried out in R (R Core Team, 2011) using the “nlme” package (Pinheiro *et al.*, 2011). Where necessary, data were square-root transformed to normalize the data prior to ANOVA analysis. When assumptions of normality and variance homogeneity were not verified, Kruskal-Wallis tests were carried out and compared to corresponding results of single-factor ANOVA. When non parametric and parametric tests were similar, linear mixed models were retained. Then, post-hoc comparisons were carried out by Tukey test using the “multcomp” package (Hothorn *et al.*, 2008). Kaplan-Meier analysis was carried out to determine median root longevity and run using the “survival” package in R (Therneau, 2012).

Results

Soil temperature and soil water content

During the growing seasons of 2009 (DOY 139-323) and 2010 (DOY 141; DOY201-321), soil temperature was significantly increased (0.55 °C on average) by combined nocturnal passive warming and reduction of precipitation (WD and WDX treatments) (Fig. 1a, 1b; Table S1). During the experimental heat wave (DOY 189-202), soil temperature on CX and WDX increased on average by 2.1 °C compared to C treatment. Then after rehydration, soil temperature on CX was similar to C, whereas for WDX it was still higher in autumn 2009 (0.8 °C on average, DOY 251-323). In addition for both years, soil temperature was punctually affected by cutting frequency, i.e. lower values were observed on Cut- than on Cut+ in early summer (2.3 °C, DOY 175) and in early autumn (0.5 °C, DOY 251-284 in 2009; and 1 °C DOY 243-274 in 2010).

Soil water content was not significantly affected by climate treatments until the onset of experimental heat wave in 2009. Therefore at the end of the experimental heat wave (DOY 202), soil water content was reduced on average by 21 % on CX, WD and WDX in comparison to C (Fig. 1c, 1d). After rehydration, soil water content was decreased on WD and WDX in comparison to C and CX (13.6 % on average, DOY 251 and 323). The following year, soil water content was reduced by 6.9 % on WD compared to C in summer (DOY 201). In addition, it was punctually affected by cutting frequency in early spring 2010 (DOY 175) with higher values in Cut+ than in Cut- (13 %).

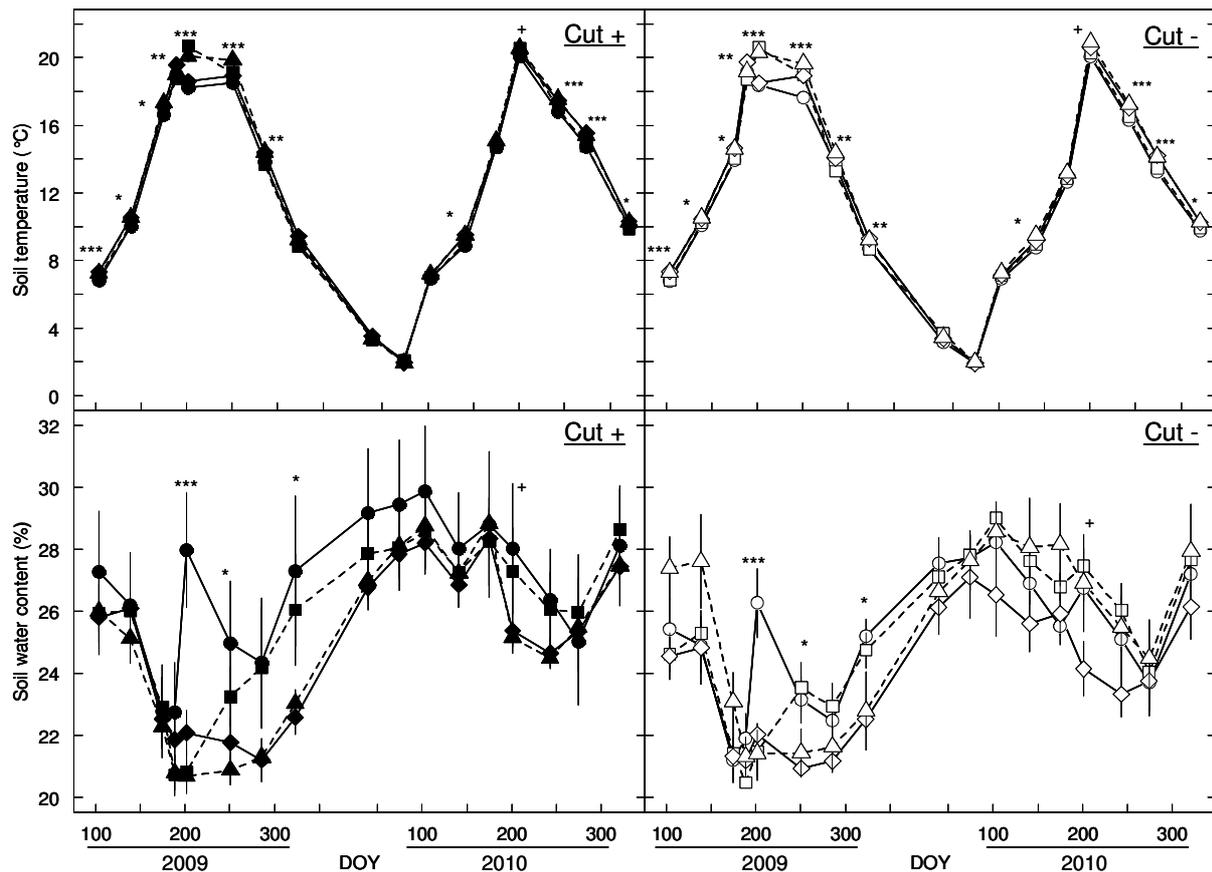


Figure 1. Time course of soil temperature (a, b) and soil volumetric water content (c, d) measured between each sampling date in 2009 and 2010, according to the four climate treatments (C: circles; CX: squares; WD: diamonds; WDX: triangles) and the two cutting frequencies (Cut+: black; Cut-: white). Bars represent standard errors for $n=4$. Symbols represent significant P-values (+, $P < 0.1$; *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$).

Root length growth rate

During the course of experiment, root growth rate showed a high variability between sampling periods ($P < 0.001$) and years ($P < 0.001$). In both years on C treatment, root growth peaked in late spring (DOY 139) and in the middle of summer (DOY 202) that was especially pronounced at 0-5 cm, and was the lowest during winter (DOY 39; Fig. 2). In 2010, seasonal pattern of root growth rate was similar to that of the previous year, but values were 22 % lower than observed in 2009. In addition, root growth rate was on average two fold higher at a depth of 0-5 cm than those observed at 15-20 cm in 2009 (DOY 189-323; Table 1, Fig. 2). But this effect was only punctually observed in 2010 (DOY 103 and 274; Table 1). Furthermore, cutting effects were significant just before the extreme event onset in early summer in 2009 (+7.6 % on Cut+, DOY 175; Table 1).

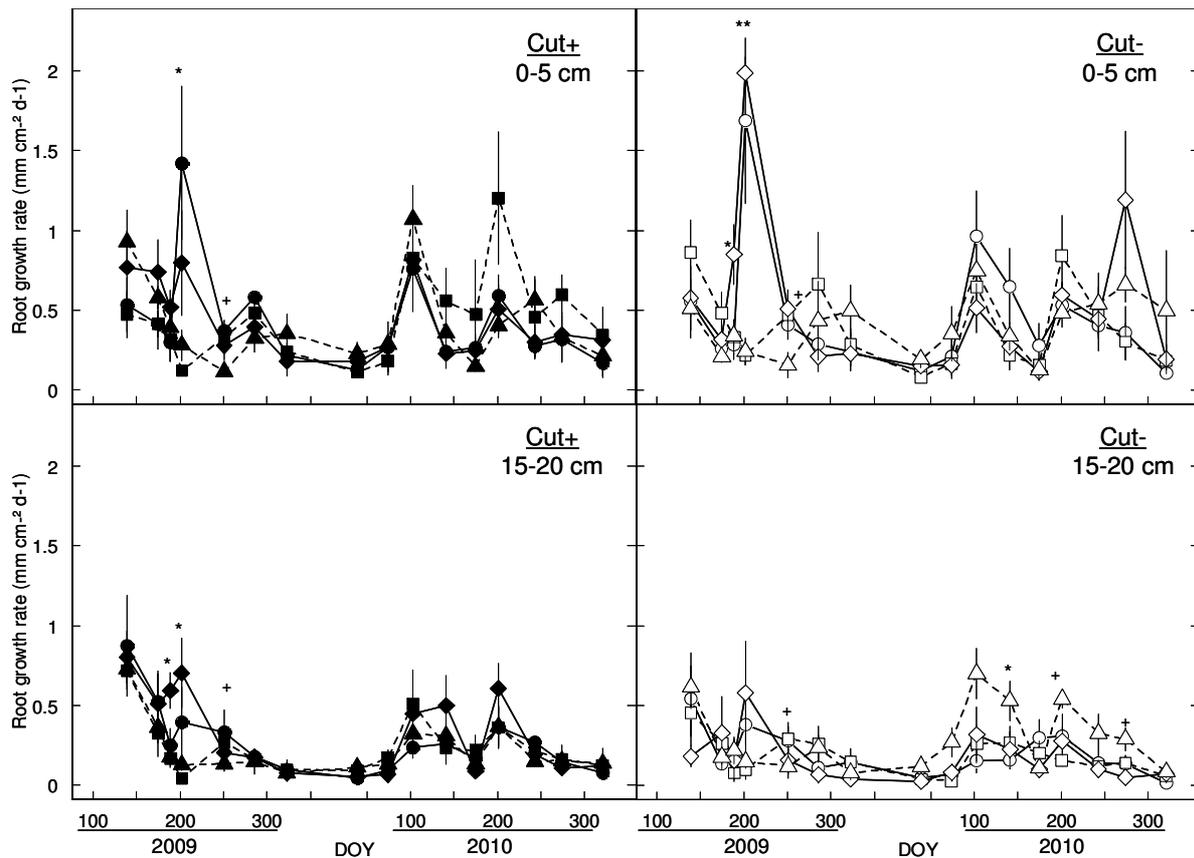


Figure 2. Time course of root length growth rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) measured at a depth of 0-5 cm (a, b) and of 15-20 cm (c, d) according to the four climate treatments (C: circles; CX: squares; WD: diamonds; WDX: triangles) and two the cutting frequencies (Cut+: black; Cut-: white). Bars represent standard errors for $n=4$. Symbols represent significant P-values (+, $P < 0.1$; *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$).

Climate effects on root growth rate were also punctually observed and were mainly dependent on cutting frequencies and soil depth (Table 1). Compared to C, WD treatment increased root growth rate in summer 2009 (DOY 189) at 0-5 cm in Cut- (+197 %) and at 15-20 cm in Cut+ (+136 %; Fig. 2; Table 1). On CX and WDX treatments, effects of the simulated heat wave (DOY 202) also differed between soil depths and cutting frequencies (Table 1, Fig. 2). Compared to C, root growth rate on CX and WDX was significantly reduced by 86 % at 0-5 cm, whereas it was not significantly different at 15-20 cm although low values were observed (Clim x D, $P < 0.01$; Table 1). After rehydration (DOY 251), root growth rate totally recovered on CX, but on WDX total recovery was observed later (DOY 286) (Fig. 2).

Table 1. Effects of climate treatments (Clim), cutting frequencies (Cut) and soil depths (D) and their interactions on root length growth rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) observed during the course of experiment. Values shown are F-values of ANOVA; Symbols represent significant P-values (+, $P < 0.1$; *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$).

Year	DOY	Initial length	Clim	Cut	D	Clim x Cut	Clim x D	Cut x D	Clim x Cut x D
2009	139	3.985	0.050 +	3.897 +	1.195	0.995	0.372	2.540	0.850
	175	0.021	1.271	12.594 **	3.869 +	1.477	0.473	0.020	1.330
	189	2.978 *	4.975 *	0.285	6.833 *	0.028	0.910	4.226 *	3.661 *
	202	5.521 *	12.636 **	3.101 +	15.832 ***	1.160	5.826 **	3.222 +	2.084
	251	0.703	3.745 +	1.434	5.774 *	0.320	1.129	2.918 +	0.385
	286	10.731 **	1.131	0.066	10.214 **	2.144	0.743	0.183	0.389
	323	13.696 ***	0.883	1.317	9.823 **	0.068	1.673	0.381	0.257
2010	39	35.342 ***	1.562	1.079	3.410 +	0.201	1.102	0.056	0.031
	74	16.043 ***	0.766	0.078	1.083	0.816	0.419	0.086	0.257
	103	22.871 ***	0.230	0.597	5.166 *	0.369	1.370	0.454	0.838
	141	0.642	0.196	0.004	0.205	1.491	1.857	0.190	2.929 *
	175	2.606	1.959	0.442	0.017	0.730	0.210	1.518	0.655
	201	15.149 ***	1.737	0.628	2.902 +	1.230	6.850 **	0.127	1.213
	243	29.222 ***	0.475	0.174	3.413 +	0.350	0.258	1.272	0.789
	274	32.876 ***	1.603	2.066	10.846 **	4.505 *	2.742 +	3.098 +	5.496 **
	321	8.471 **	0.433	0.736	3.855 +	0.588	0.201	0.176	1.380

Table 2. Effects of climate treatments (Clim), cutting frequencies (Cut) and soil depths (D) and their interactions on root length mortality rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) observed during the course of experiment. Values shown are F-values of ANCOVA; Symbols represent significant P-values (+, $P < 0.1$; *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$).

Year	DOY	Initial length	Clim	Cut	D	Clim x Cut	Clim x D	Cut x D	Clim x Cut x D
2009	139	5.286 *	1.028	5.194 *	2.485	1.833	1.694	7.275 *	0.815
	175	8.507 **	1.200	8.116 **	2.947 +	1.207	1.251	9.059 **	0.630
	189	10.865 **	2.247	14.076 ***	12.845 **	1.147	2.661 +	16.096 ***	1.423
	202	19.589 ***	4.604 *	5.810 *	11.911 **	0.302	4.884 **	7.996 **	0.931
	251	20.392 ***	3.491 +	16.061 ***	15.445 ***	3.874 *	3.012 *	12.029 **	3.071 *
	286	14.579 ***	6.043 *	6.823 *	15.255 ***	0.304	3.511 *	4.429 *	0.182
	323	15.857 ***	2.256	8.182 **	15.496 ***	0.975	0.768	4.976 *	0.937
2010	39	16.355 ***	0.701	0.077	1.382	0.653	0.139	0.114	1.715
	74	13.473	0.551	0.012	3.668	0.463	2.116	0.372	0.132
	103	20.314 ***	0.284	0.003	4.817 *	0.124	0.273	0.032	0.482
	141	33.945 ***	5.441 *	0.117	8.610 **	1.332	0.312	0.560	8.387 ***
	175	28.782 ***	0.100	2.633	7.710 **	1.473	0.268	0.252	1.392
	201	42.969 ***	0.194	3.595 +	4.802 *	0.728	2.321 +	4.002 +	0.631
	243	24.407 ***	0.364	0.723	3.644 +	0.698	0.323	0.286	0.568
	274	19.923 ***	0.440	0.410	13.964 ***	1.738	1.176	0.012	0.968
	321	17.391	0.697	0.006	0.024	1.660	1.486	3.641	1.035

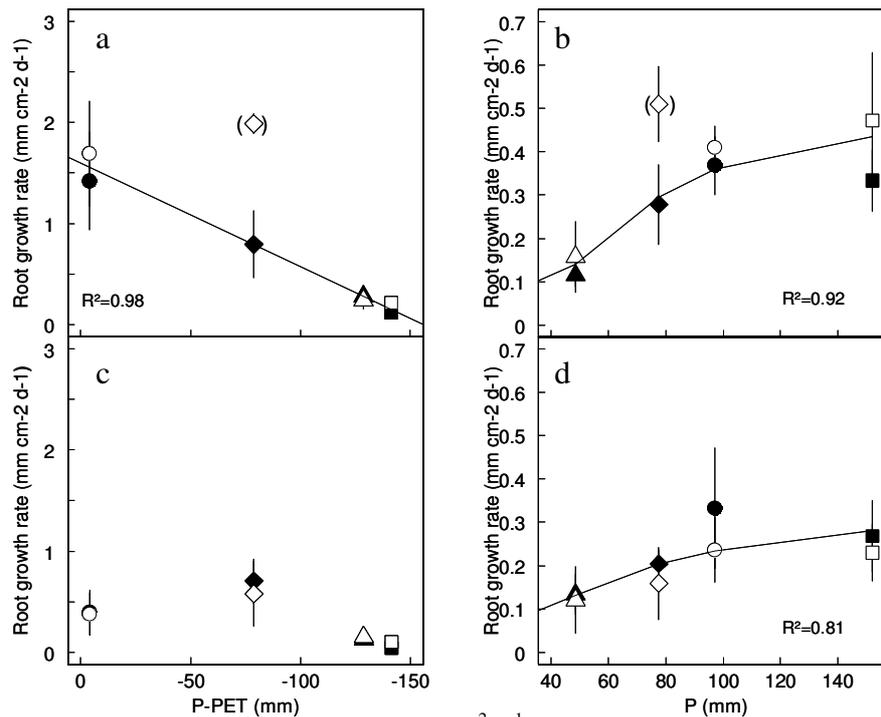


Figure 3. Relationships between root growth rate ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) and cumulated climatic water deficit ($P - \text{PET}$, mm) during the simulated heat wave (DOY 1-202; a, c) and cumulated precipitation after rehydration (DOY 202-251; b, d), measured at a depth of 0-5 cm (a, b) and of 15-20 cm (c, d), according to the four climate treatments (circles: C; squares: CX; diamonds: WD; triangles: WDX) and the two cutting frequencies (Cut+: black; Cut-: white). Vertical bars represent standard error for $n=4$. Lines correspond to significant linear (a) and sigmoid regressions (b, d) ($P < 0.05$). Symbols inside brackets were excluded from regressions.

Response to water deficit of root growth at 0-5 cm was characterised by a negative linear regression with $P - \text{PET}$ (Fig. 3a). However, a cutting effect was observed on resistance of root growth to moderate water deficit ($P - \text{PET} = -78$ mm) on WD treatment (+40% in Cut- than in Cut+). Then recovery of root growth was positively related to cumulated precipitation during the rehydration period (DOY 202-251) in both soil layers ($R^2 = 0.92$ and $R^2 = 0.80$ at 0-5 cm and 15-20 cm, respectively; Fig. 3c, 3d). In addition, cutting effect on root growth rate previously observed on WD was maintained during this period (cut x depth, $P < 0.1$; Table 1).

The following year, climate effects were observed for DOY 141, 201 and 274 but depended on cutting frequencies and soil depth (Table 1, Fig. 2). Root growth rate at 15-20 cm on WDX was twice as much than on C in spring (DOY 141). In Cut+, root growth rate at 0-5 cm on WD and WDX were similar to C but were lower than that observed on CX in summer 2010 (DOY 201). In addition in Cut-, root growth rate at 0-5 cm on WD and WDX were respectively two and three times higher than observed on C in autumn 2010 (DOY 274).

Root length mortality rate

Root mortality rate was significantly different between sampling periods ($P < 0.001$) and years ($P < 0.001$) and soil depth. On control treatment, root mortality rate peaked in the middle of summer (DOY 202) and in autumn 2009 (DOY 274; Fig. 4). In 2010, root mortality rate was 39% higher than that observed in 2009 ($P < 0.001$) due to a supplementary peak in early spring (DOY 103). In addition, root mortality rate was twice as much on Cut- than observed on Cut+ during 2009, but this cutting effect disappeared in 2010 (Table 2, Fig. 4). Furthermore, root mortality rate was on average 70% lower at a depth of 15-20 cm than observed in the upper soil layer in 2009 (DOY 189-323) and in 2010 (DOY 103-274; Table 2).

Climate treatments had not effect on root mortality rate until the experimental heat wave was applied and depended afterwards on soil depth considered (DOY 202; Table 2, Fig. 4). Root mortality rate at 0-5 cm was 75% lower on CX and WDX than on WD, whereas it was not significantly reduced at 15-20 cm. After rehydration (DOY 251), climate effects was observed only at 0-5 cm in Cut+ (+86% on CX and WDX compared to C; Table 2, Fig. 4a). Then in autumn (DOY 286), root mortality rates were reduced by 54% at 0-5 cm for both cutting frequencies (Clim x D, $P < 0.05$; Table 2, Fig. 4).

The following year, climate effects on root mortality rate were significantly observed in spring (DOY 141) depending on soil depths and cutting frequencies (Table 2). At 0-5 cm, root mortality rate was 81% higher on WDX than that observed on C in Cut+ (Fig. 4a). Nevertheless, it was 60% lower on CX and WDX than that observed on WD in Cut- (Fig. 4b). In the same time at 15-20 cm, root mortality rate on WDX was 72% lower than C treatment in Cut+ (Fig. 4c), while it was five times higher in Cut- (Fig. 4d).

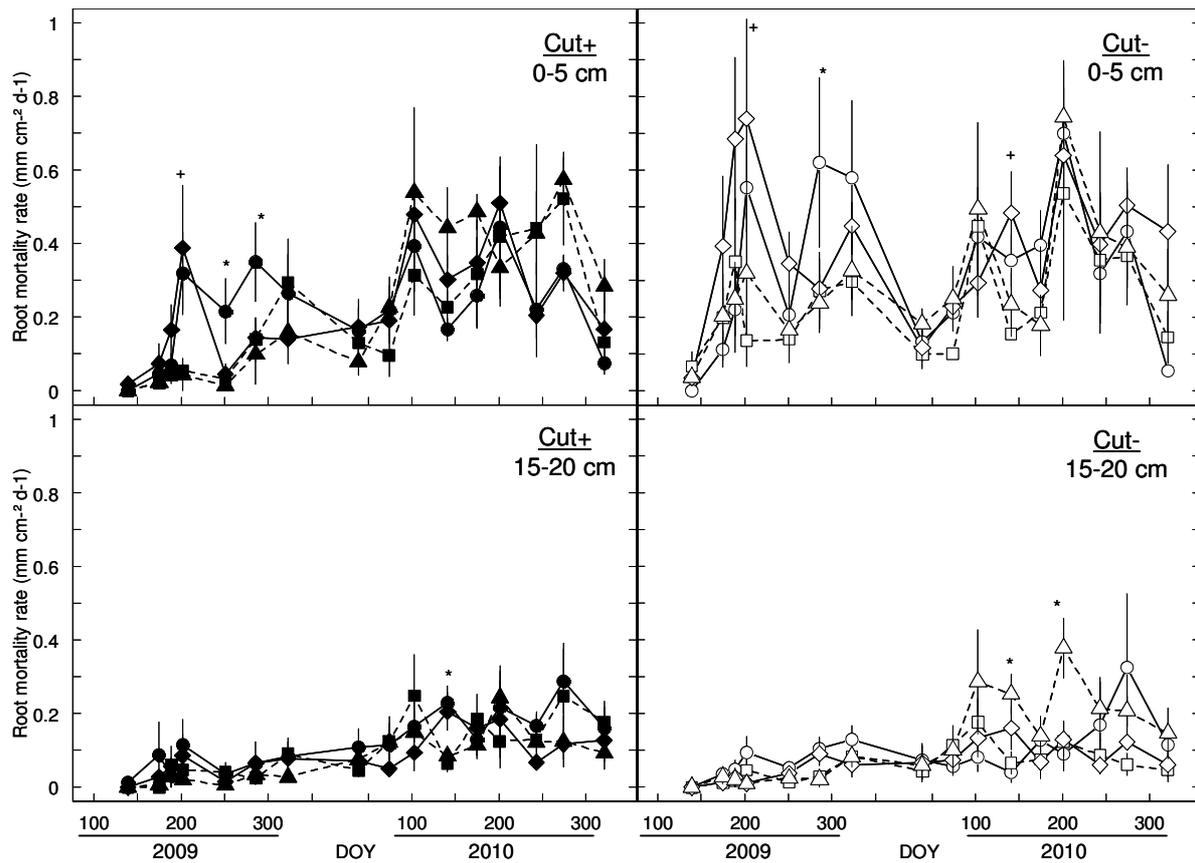


Figure 4. Time course of root mortality rate measured ($\text{mm cm}^{-2} \text{d}^{-1}$) at a depth of 0-5 cm (a, b) and of 15-20 cm (c, d) according to the four climate treatments (C: circles; CX: squares; WD: diamonds; WDX: triangles) and the two cutting frequencies (Cut+: black; Cut-: white). Bars represent standard errors for $n=4$. Symbols represent significant P-values (+, $P < 0.1$; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$).

Root length production (RLP), root length mortality (RLM) and net root length production (RLP_{net})

Overall, RLP was 42% lower at a depth of 15-20 cm than at 0-5 cm ($P < 0.05$), except in summer 2009. In addition, cutting effect was observed in autumn 2009 with lower RLP on Cut+ than on Cut- (-9%; $P < 0.05$). During the summer 2009, RLP was significantly affected by climate treatments ($P < 0.01$), which was mostly pronounced at 0-5 cm in Cut- (-59% on CX and WDX compared to WD, Fig. 5a). Then, climate effect disappeared during the recovery period in autumn 2009. In 2010, climate effects on RLP were dependent on cutting frequencies and soil depth considered (Fig. 6). In Cut-, RLP at 15-20 cm was 141% higher on WDX than observed on the other treatments. Although differences between climate treatments were not significant in Cut+, RLP at 0-5 cm trended to increase on CX (+76% compared to C).

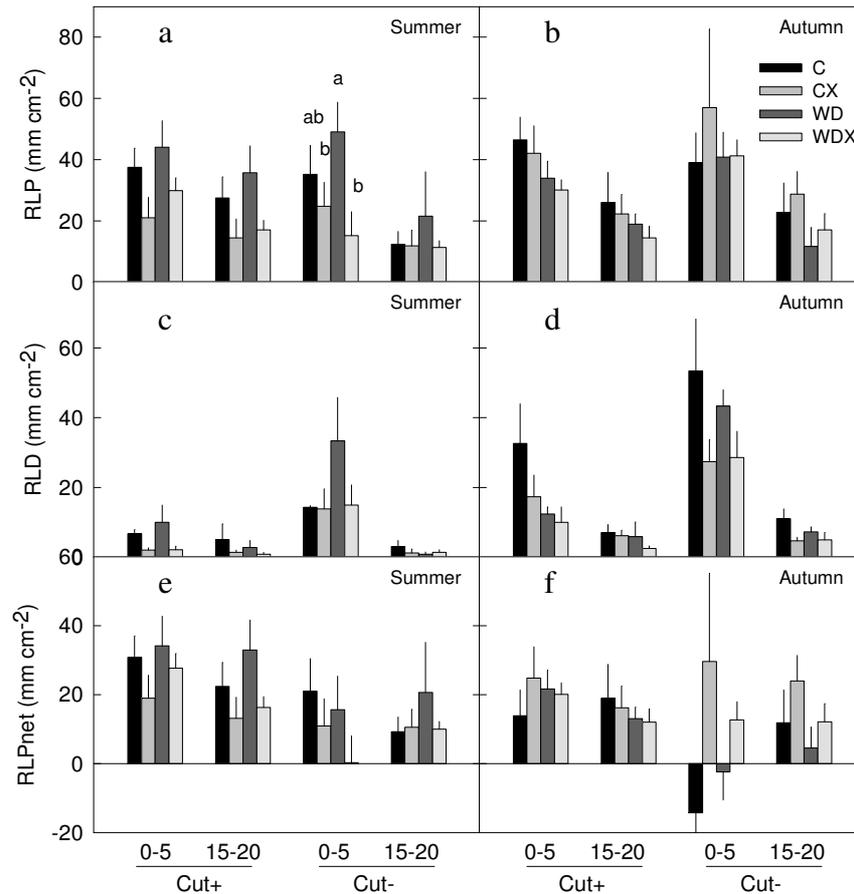


Figure 5. Cumulated root length production (RLP, mm cm⁻²) (a, b), root length mortality (RLM, mm cm⁻²) (c, d) and net root length production (RLP_{net}, mm cm⁻²) (e, f) measured during summer, (DOY 175-202) and in autumn 2009 (DOY 202-323), according to the four climate treatments, the two cutting frequencies and the two soil depths. Vertical bars represent standard error for n=4. Within each cutting frequency and soil depth, different letters indicate significant difference between treatments after Tukey test (P < 0.05).

Regarding to RLM, values at a depth of 0-5 cm were twice as much than those observed at 15-20 cm during all the experiment (P < 0.05). In addition, a cutting effect was observed in 2009 (-15% on Cut+, P < 0.001) but disappeared the following year. RLM marginally increased on WD in summer 2009 (+132%) and reduced on CX and WDX in autumn 2009 (-48%) in comparison with C (Fig. 5c, 5d). Finally in both soil depths, values of RLM were reduced on average by 46% on CX and WDX compared to C in 2009 (P < 0.05, Fig. 6b). Then, no climate effect was observed on RLM in 2010.

Regarding to RLP_{net}, cutting effect was observed in 2009 (+67% on Cut+, P < 0.05) and disappeared in 2010. In addition, RLP_{net} measured in 2009 was 4% higher at a depth of 15-20 cm than observed at 0-5 cm (P < 0.05). Furthermore for each considered period, no climate effect on RLP_{net} was observed (Fig. 5, Fig. 6). Nevertheless in 2010, RLP_{net} tended to increase on CX in Cut+ (+273%) and on WDX in Cut- (+249%) at a depth of 0-5 cm and 15-20 cm, respectively, in comparison with C (Clim x D, P < 0.1; Fig. 6f).

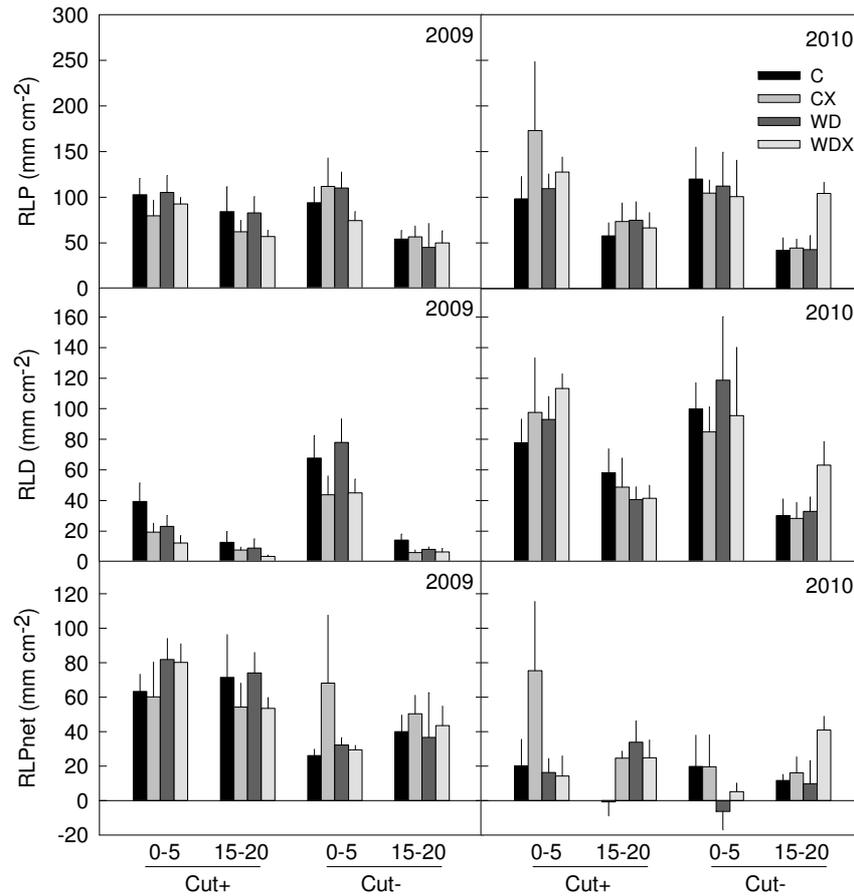


Figure 6. Root length production (RLP, mm cm^{-2}) (a, b), root length mortality (RLM, mm cm^{-2}) (c, d) and net root length production (RLP_{net} , mm cm^{-2}) (e, f) measured in 2009 (DOY 139-323) and 2010 (DOY 79-321) according to the four treatments, the two cutting frequencies and the two soil depths. Vertical bars represent standard error for $n=4$. Within each cutting frequency and soil depth, different letters indicate significant difference between treatments after Tukey test ($P < 0.05$).

Table 3. Effects of climate treatments (Clim), cutting frequencies (Cut) and soil depths (D) on root length production (RLP), root length mortality (RLM) and net root length production (RLP_{net}) measured during summer (DOY 175-202) and autumn (DOY 202-323) in 2009 and during 2009 (DOY 139-323) and 2010 (DOY 39-321). Values shown are F-values of ANOVA; Symbols represent significant P-values (+, P < 0.1; *, P < 0.05, **, P < 0.01, ***, P < 0.001).

Year	Period		Initial length		Clim		Cut		D		Clim x Cut		Clim x D		Cut x D		Clim x Cut x D
2009	Summer	RLP	32.123	***	7.461	**	0.044		2.123		0.865		1.049		1.338		0.413
		RLM	5.488	*	2.088		16.391	***	15.503	***	0.915		2.477	+	13.473	***	0.828
		RLP _{net}	15.077	***	2.763		6.327	*	0.698		0.326		1.079		1.074		0.126
	Autumn	RLP	20.732	***	2.330		5.246	*	11.354	***	0.892		0.178		0.857		0.746
		RLM	25.446	***	6.389	*	35.347	***	36.246	***	1.772		3.824	*	13.372	***	1.176
		RLP _{net}	0.788		1.829		2.356		0.385		1.522		1.272		1.795		0.222
2009	Annual	RLP	59.497	***	1.704		0.874		1.814	***	1.232		0.623		3.144	+	0.405
		RLM	24.074	***	4.631	*	43.602	***	42.540	***	1.757		2.326	+	22.972	***	1.379
		RLP _{net}	21.889	***	0.605		6.458	*	4.393	*	1.118		0.339		0.672		0.027
2010	Annual	RLP	25.327	***	1.023		0.053		6.873	*	1.617		1.556		0.167		1.147
		RLM	52.421	***	0.159		2.357		13.628	*	1.799		0.402		0.581		0.807
		RLP _{net}	0.000		1.508		1.802		0.005		1.787		2.813	+	2.275		0.587

Root longevity

Median root longevity was higher at a depth of 15-20 cm (502 ± 20 days) than at 0-5 cm (321 ± 12 days; $P < 0.001$). Regarding to climate treatments, the lowest median root longevity was observed on C (365 ± 26 days), and was increased by 102 days on CX and by 50 days for WD and WDX (Clim, $P < 0.001$). In addition, cutting effects were observed depending on soil depth and climate treatments (Clim x Cut x D, $P < 0.001$). At 0-5 cm, median root longevity was higher (+167 days) on Cut+ than on Cut-, except for CX treatment (Table 4). At a depth of 15-20 cm, cutting effect was observed only for WD and WDX.

Table 4. Mean root longevity (days \pm confidence interval, $\alpha \leq 0.05$) measured during the experiment according to four climate treatments, two cutting frequencies and two soil depths. Within each cutting frequency and soil depth, different letters indicate significant differences between climate treatments after Tukey test ($P < 0.05$).

Cutting frequencies	Soil depths	C		CX		WD		WDX	
Cut+	0-5 cm	358 ± 34	b	430 ± 35	a	465 ± 64	a	431 ± 33	a
	15-20 cm	467 ± 55	b	541 ± 39	ab	> 541	a	> 541	a
Cut-	0-5 cm	254 ± 29	b	398 ± 35	a	258 ± 22	b	240 ± 22	b
	15-20 cm	431 ± 51	b	> 541	a	401 ± 43	b	394 ± 35.5	b

Discussion

Root responses to climate disturbance

Our results suggested that root demography was differently affected by climate treatments, depending on intensity and duration of climate disturbances. In summer 2009, climate manipulation led to a gradient of water deficit ranged between -4 to -161 mm until DOY 202. As expected, root growth rate was maintained in both soil layers under moderate water deficit combined to passive warming applied on WD treatment ($P - PET = -78$ mm) (Fig. 3). Consequently, root length produced during summer 2009 trended to increase on this treatment (Fig. 5a). Although this effect at 0-5 cm could be attributed to the positive effect of soil warming (Fitter *et al.*, 1998, 1999; Products *et al.*, 2000; Wan *et al.*, 2007; Pilon *et al.*, 2013), it also suggests the ability of plants to exhibit drought avoidance strategy under moderate water deficit (Volaire *et al.*, 2009; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). Nevertheless contrary to observations of Pilon *et al.* (2013), the length of the growth period was not extended by warming in late autumn, probably due to lower precipitation and soil water content during this period (Fig. 1c, 1d). Consequently, a slight decrease in root length production was noticed in autumn 2009 on WD (Fig. 5b), and positive effect of warming on annual root length production was not observed in our study (Fig. 6a) that could be due to the interactive effect of rainfall decrease in this treatment. Therefore, these results suggest that positive effect of

warming on root growth was only transient in summer under moderate water deficit. Afterwards, if precipitation reduction remained in the following autumn, this positive effect disappeared, which underline the role of precipitation in root response.

Furthermore, root growth in the upper soil was strongly reduced by the extreme event applied on CX and WDX in summer 2009 (Fig. 2a, 2b, Fig. 3a), which underlines sensitivity of root growth to drought combined with high temperature (Gill & Jackson, 2000; Liu & Huang, 2005). Contrary to our hypothesis, resistance of root growth was not favoured by soil warming acclimation on WDX treatment. Nevertheless, these results suggest that positive effects of warming on resistance of root growth to water deficit could be inhibited after passing a threshold of 20°C for soil temperature (Fig. 1a, 1b) and a summer climatic water deficit of -100 mm (Fig. 3a). This could be linked to detrimental effects of water deficit on carbon fixation and aerial green tissues (Jentsch *et al.*, 2011; Zwicke *et al.*, 2013) that strongly reduced carbon allocation to roots. However, root growth rate (Fig. 2), seasonal and annual root length productions (Fig. 5, Fig. 6) were not significantly affected by climate treatments at 15-20 cm treatments that suggest lower sensitivity of root activity to climate drivers in deeper soil (Jobbagy & Jackson, 2000). Nevertheless, as root growth rate remained very low at a depth of 15-20 cm, no drought avoidance strategy was observed in the upper 20 cm soil layer in such upland grassland community under summer climate extreme.

Root length mortality was slightly increased on WD treatment (Fig. 5c, Fig. 6c), which confirms that warming plus reduction of precipitation can stimulate root mortality (Fitter *et al.*, 1998, 1999; Bai *et al.*, 2010; Pilon *et al.*, 2013). Nevertheless, root mortality rate was unexpectedly reduced by the summer extreme, especially at 0-5 cm (Fig. 4) and root length mortality was consequently lower in summer 2009, although climate effects were not significant. As mortality rate included time of root decomposition, underestimation of root mortality is probably encountered (Johnson *et al.*, 2001) and climate effects on decomposer activity could not be excluded during the simulated heat wave because turnover of structural material is sensitive to high temperature (Jentsch *et al.*, 2011; Farrar *et al.*, 2012).

Roots recovery to climate extreme

Root length growth exhibited fast recovery after rehydration (Fig. 2, Fig. 3), as observed by Vartanian (1981) and Jupp & Newman (1987). In semi-arid environments, ecophysiological processes involved in root growth of grasses can be rapidly stimulated by a rainfall event (Sala & Lauenroth, 1982). In such temperate herbaceous species, roots can store soluble carbohydrates, such as fructans (Pollock & Jones, 1979; Chatterton *et al.*, 1989; Pollock &

Cairns, 1991), which are strongly associated to drought resistance strategies in Mediterranean herbaceous populations by protecting membrane integrity or by fueling carbon for growth after rehydration (Volaire *et al.*, 1998; Thomas & James, 1999; Amiard *et al.*, 2003). Nevertheless, root recovery was lower on WDX than on CX, which could be attributed to lower green tissue (Zwicke *et al.* 2013) induced by lower soil water availability (Fig. 1, Fig. 3) . This result underlines close relationship between root production and above-ground production (Comas *et al.*, 2010; Pilon *et al.*, 2013). In addition, Prud'homme *et al.* (1993) showed that increasing temperature reduced carbohydrate allocation to the root system in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). Therefore, lower recovery of root growth rate in WDX could be attributed to a steep decline of carbohydrate reserves in roots (Fig 3a, 3b). Finally, annual root length production was not significantly reduced by the extreme event in 2009 (Fig. 6), which underlined the capacity of plant root system to totally recover after drought and heat wave.

Nevertheless, microbial activity rapidly recover when soil is rewet after summer drought (Bloor & Bardgett, 2012). Therefore, increased in root mortality rate and root length mortality should be visible during the recovery period if root death was induced by climate extreme. On the contrary, root length mortality was reduced on CX and WDX during the recovery period (Fig. 5d). Consequently, median root longevity was increased on these treatments during the experiment (Table 4). Therefore, these results suggest that roots were able to survive to the extreme event, which contradict our hypothesis. Root survival under stress and increase in median root longevity could be explained by important storage of carbohydrates in plant organs, such as rhizome, meristem or roots, available before the stress was applied in spring (Pollock & Jones, 1979; Chatterton *et al.*, 1989; Pollock & Cairns, 1991) that may ensure maintenance respiration (Huang *et al.*, 2012; Mitchell *et al.*, 2013). In addition, we also suggest that hydraulic redistribution from deep moist to dry soil layers could occur during the extreme event and therefore increasing root lifespan in the upper 20 cm of soil (Leffler *et al.*, 2005; Bauerle *et al.*, 2008).

In addition, our results showed an increase of root growth rate and root production in 2010, one year after the simulated climate extreme (Fig. 2, Fig.6b). In response to drought, change in root:shoot ratio is recognized as a mechanism of well-adapted plants to drought that enhance water uptake and reduce water loss by transpiration (Blum, 1996; Monneveux & Belhassen, 1996; Paz, 2003; Skinner, 2008; Skinner & Comas, 2010). For grasses, higher exploration of soil resources is important for sustaining regrowth after stress by defoliation (Becker *et al.*, 1997). Therefore these results on root growth rate and root production

observed in 2010 on CX and WDX suggest root acclimation to ensure higher resistance and recovery of plants when new drought will occur (Fig. 2). Furthermore, timing of root mortality seemed to be modified one year after the extreme event by an increase in the following spring (Fig. 4) that reflected the increase in root activities and turnover (Fitter *et al.*, 1999; Pendall *et al.*, 2004). As root mortality is the main input of soil organic matter in grasslands and the most important parameter for below-ground carbon and nutrient cycling (Gill & Jackson, 2000), increase in root longevity may consequently reduced nutrient cycling. In addition, warming and extreme event may increase the risk of nutrient leaching (Cui & Caldwell, 1997; Olesen & Bindi, 2002; Jentsch *et al.*, 2011), and consequently decrease nutrient availability the following year that could explain the increase in root allocation (Poorter & Nagel, 2000; Poorter, 2002). Therefore, these effects on below-ground activities could be responsible in part of lasting effects observed on above-ground production the same year in the same experiment (Zwicke *et al.*, 2013), although more studies on microbial activity and diversity have to be investigated to understand how carbon and nutrient cycling have been affected by climate extreme.

Cutting effects on root responses to climate disturbances

Although root activities were affected by climate disturbance in both cutting frequencies, our results showed that root response could be mediated by cutting frequencies (Fig. 3). As observed by Volder *et al.* (2007), cutting treatments firstly induced difference in root growth and mortality rates (Table 2, Table 3, Fig 2, Fig. 4). When plants became reproductive in spring, root extension is generally reduced (Matthew *et al.*; Ueno & Yoshihara, 1967; Steinaker & Wilson, 2008), which could explain higher root growth on Cut+ as plants were maintained at vegetative stage by frequent cuts (Fig. 2). This suggests differences in root distribution in the soil profile before climate disturbances were applied in summer 2009. Then, cutting effects on root growth and mortality rates showed opposite trends, especially on WD treatment at 0-5 cm (Fig. 2, Fig. 4). In fact, under moderate water deficit, plant communities showed higher ability of root growth maintenance in Cut- than in Cut+ (Fig. 3a). By opening canopy structure under Cut+, soil temperature increases (Wan *et al.*, 2002; Zwicke *et al.*, 2013), that could consequently increase the root sensitivity to high temperature in summer (Liu & Huang, 2005). During the simulated heat wave, resistance of root growth was similar between the two cutting frequencies, but the recovery after rehydration was higher on Cut-. This could be a result of higher root reserves (Chapin & Slack, 1979) due to cutting effect on carbohydrates storage (Morvan *et al.*, 1997). Increased defoliation is known

to stop or decrease root production because more allocation to above-ground tissues is needed to renew shoot growth (Davidson & Milthorpe, 1966).

Our results also showed that one-year recovery of root demography and root production varied according to cutting frequencies (Fig. 2, Fig. 6). Indeed, under low cutting frequency (Cut-), root activities increased after severe water deficit (WDX), especially at 15-20 cm. Previous results on the same experiment showed that composition of plant community was strongly affected by the climate extreme (Zwicke *et al.*, 2013). As it was previously shown that grasses are able to increase drought resistance after pre-drought treatment by enhancing photoprotection (Walter *et al.*, 2011), higher proportions of grasses, such as *D.glomerata*, could explain in part root acclimation observed in this treatment one year after the extreme event. Bruce *et al.* (2007) also suggest that genetic adaptation induced by stress may explain 'stress memory' to ensure quicker and more potent adaptation of plant to the following stressful period. In addition, as nutrient availability is one of most important factors for root growth (Poorter & Nagel, 2000; Poorter, 2002), the lack of root acclimation to severe water deficit in Cut+, could be explained by lower soil N availability due to higher N exports (Zwicke *et al.*, 2013) and also lower root mortality (Fig. 4, Fig. 6). However, in Cut+, this root acclimation was observed only on CX (Fig. 2, Fig. 6). These results suggest that cutting effect on root physiology and root production (Davidson & Milthorpe, 1966; Morvan *et al.*, 1997) combined to negative effects of warming on carbohydrates storages (Prud'homme *et al.*, 1993) may reduce the root adaptation after severe water deficit. Root acclimation at 0-5 cm could also be explained by cutting effect on composition of plant community that favour small species by modifying canopy structure and reducing light competition (Teyssonneyre *et al.*, 2002; Picon-Cochard *et al.*, 2004; Zwicke *et al.*, 2013).

Finally, these results suggest that low cutting frequencies may be more efficient for sustaining below-ground production and enhance drought avoidance strategy of plant community. In the context of climate change with more frequent and more intense extreme event, extensive management has to be considered to ensure grassland community resilience.

REFERENCES

- Amiard V, Morvan-Bertrand A, Billard JP, Huault C, Keller F, Prud'homme M-P (2003) Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Plant Physiology*, **132**, 2218–2229.
- Bai WM, Wan SQ, Niu SL, *et al.* (2010) Increased temperature and precipitation interact to affect root production, mortality, and turnover in a temperate steppe: implications for ecosystem C cycling. *Global Change Biology*, **16**, 1306–1316.
- Bauerle TL, Richards JH, Smart DR, Eissenstat DM (2008) Importance of internal hydraulic redistribution for prolonging the lifespan of roots in dry soil. *Plant, cell & environment*, **31**, 177–86.
- Becker G, Busso C, Montani T, Burgos M, Flemmer A, Toribio M (1997) Effects of defoliating *Stipa tenuis* and *Piptochaetium napostaense* at different phenological stages: root growth. *Journal of arid environments*, **35**, 269–283.
- Bloor JMGG, Bardgett RD (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **14**, 193–204.
- Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*, **20**, 135–148.
- De Boeck HJ, Dreesen FE, Janssens I a, Nijs I (2010) Whole-system responses of experimental plant communities to climate extremes imposed in different seasons. *The New phytologist*, **189**, 806–17.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Gielen B, *et al.* (2007) Combined effects of climate warming and plant diversity loss on above- and below-ground grassland productivity. *Environmental and Experimental Botany*, **60**, 95–104.
- De Boeck HJ, Verbeeck H (2011) Drought-associated changes in climate and their relevance for ecosystem experiments and models. *Biogeosciences*, **8**, 1121–1130.
- Briske DD, Fuhlendorf SD, Smeins FE (2003) Vegetation dynamics on rangelands : a critique of the current paradigms. *Journal of Applied Ecology*, **40**, 601–614.
- Bruce TJA, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA (2007) Stressful “memories” of plants : evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, **173**, 603–608.
- Chapin FSC, Slack M (1979) Effect of defoliation upon root growth, phosphate absorption and respiration in nutrient-limited tundra graminoids. *Oecologia*, **42**, 67–79.
- Chatterton N, Harrison P, Bennett JH, Asay KH (1989) Carbohydrate partitioning in 185 accessions of Gramineae grown under warm and cool temperatures. *Journal of Plant Physiology*, **134**, 169–179.

- Cherwin K, Knapp A (2012) Unexpected patterns of sensitivity to drought in three semi-arid grasslands. *Oecologia*, **169**, 845–852.
- Comas LHLH, Bauerle T, Eissenstat DM (2010) Biological and environmental factors controlling root dynamics and function: effects of root ageing and soil moisture. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **16**, 131–137.
- Cui M, Caldwell MM (1997) A large ephemeral release of nitrogen upon wetting of dry soil and corresponding root responses in the field. *Plant and Soil*, **191**, 291–299.
- Davidson J, Milthorpe FL (1966) The effect of defoliation on the carbon balance in *Dactylis glomerata*. *Annals of Botany*, **30**, 185–198.
- Dreesen FE, De Boeck HJ, Janssens IA, Nijs I (2012) Summer heat and drought extremes trigger unexpected changes in productivity of a temperate annual/biannual plant community. *Environmental and Experimental Botany*, **79**, 21–30.
- Durand JL, Bariac T, Ghesquière M, Biron P, Richard P, Humphreys M, Zwierzykowski Z (2007) Ranking of the depth of water extraction by individual grass plants, using natural ¹⁸O isotope abundance. *Environmental and Experimental Botany*, **60**, 137–144.
- FAO (1998) Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water requirements.
- Farrar J, Boddy E, Hill PW, Jones DL (2012) Discrete functional pools of soil organic matter in a UK grassland soil are differentially affected by temperature and priming. *Soil Biology and Biochemistry*, **49**, 52–60.
- Ferraro DO, Oesterheld M (2002) Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos*, **98**, 125–133.
- Fitter A, Graves J, Self G, Brown T (1998) Root production, turnover and respiration under two grassland types along an altitudinal gradient: influence of temperature and solar radiation. *Oecologia*, **114**, 20–30.
- Fitter AH, Self GK, Brown TK, Bogie DS, Graves JD, Benham DG, Ineson P (1999) Root production and turnover in an upland grassland subjected to artificial soil warming respond to radiation flux and nutrients, not temperature. *Oecologia*, **120**, 575–581.
- Folke C, Carpenter S, Elmqvist T, *et al.* (2002) *Resilience and sustainable development: building adaptive capacity in a world of transformations*. Stockholm, Sweden.
- Gilgen AK, Buchmann N (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525–2539.
- Gill R a., Jackson RB (2000) Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, **147**, 13–31.

- Henry HA, Juarez JD, Field CB, Vitousek PM (2005) Interactive effects of elevated CO₂, N deposition and climate change on extracellular enzyme activity and soil density fractionation in a California annual grassland. *Global Change Biology*, **11**, 1808–1815.
- Huang B, Rachmilevitch S, Xu J (2012) Root carbon and protein metabolism associated with heat tolerance. *Journal of experimental botany*, **63**, 3455–65.
- Hungate B, Holland E, Jackson R (1997) The fate of carbon in grasslands under carbon dioxide enrichment. *Nature*, **388**, 576–579.
- IPCC (2012) *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation* (CB Field, V Barros, TF Stocker, and Q Dahe, Eds.). Cambridge, Cambridge University Press.
- Jackson RB, Canadell J, Ehleringer JR, Mooney HA, Sala OE, Schulze ED (1996) A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia*, **108**, 389–411.
- Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C (2007) A new generation of climate-change experiments : events , not trends. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **5**, 365–374.
- Jentsch A, Kreyling J, Elmer M, *et al.* (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689–702.
- Jobbagy EG, Jackson RB (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*, **10**, 423–436.
- Johnson MG, Tingey DT, Phillips DL, Storm MJ (2001) Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental and Experimental Botany*, **45**, 263–289.
- Jupp AP, Newman EI (1987) Morphological and anatomical effects of severe drought on the roots of *Lolium perenne* L. *New Phytologist*, **105**, 393–402.
- Kahmen A, Perner J, Audorff V, Weisser W, Buchmann N (2005a) Effects of plant diversity, community composition and environmental parameters on productivity in montane European grasslands. *Oecologia*, **142**, 606–615.
- Kahmen A, Perner J, Buchmann N (2005b) Diversity-dependent productivity in semi-natural grasslands following climate perturbations. *Functional Ecology*, **19**, 594–601.
- Klumpp K, Soussana JF, Falcimagne R (2007) Effects of past and current disturbance on carbon cycling in grassland mesocosms. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **121**, 59–73.
- Klumpp K, Tallec T, Guix N, Soussana JF (2011) Long-term impacts of agricultural practices and climatic variability on carbon storage in a permanent pasture. *Global Change Biology*, **17**, 3534–3545.
- Kreyling J, Beierkuhnlein C, Ellis L, Jentsch A (2008a) Invasibility of grassland and heath communities exposed to extreme weather events - additive effects of diversity resistance and fluctuating physical environment. *Oikos*, **117**, 1542–1554.

- Kreyling J, Beierkuhnlein C, Elmer M, *et al.* (2008b) Soil biotic processes remain remarkably stable after 100-year extreme weather events in experimental grassland and heath. *Plant and Soil*, **308**, 175–188.
- Kreyling J, Wenigmann M, Beierkuhnlein C, Jentsch A (2008c) Effects of extreme weather events on plant productivity and tissue die-back are modified by community composition. *Ecosystems*, **11**, 752–763.
- Leffler A, Peek M, Ryel R, Ivans C, Caldwell MM, Sciences W (2005) Hydraulic redistribution through the root systems of senesced plants. *Ecology*, **86**, 633–642.
- Liu X, Huang B (2005) Root physiological factors involved in cool-season grass response to high soil temperature. *Environmental and Experimental Botany*, **53**, 233–245.
- Luo YQ, Gerten D, Le Maire G, *et al.* (2008) Modeled interactive effects of precipitation, temperature, and [CO₂] on ecosystem carbon and water dynamics in different climatic zones. *Global Change Biology*, **14**, 1986–1999.
- Matthew C, Xia JX, Chu ACP, Mackay AD, Hodgson J Relationship between root production and tiller appearance rates in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). In: *Plant root growth—an ecological perspective* (eds: Atkinson D), pp281–290. Blackwell science publisher, Oxford.
- MEA (2005) *Ecosystems and human well-being: Synthesis*. Millenium Ecosystem Assessment.
- Mitchell PJ, O’Grady AP, Tissue DT, White D a, Ottenschlaeger ML, Pinkard E a (2013) Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. *The New phytologist*, **197**, 862–72.
- Mokany K, Raison RJ, Prokushkin AS (2006) Critical analysis of root: shoot ratios in terrestrial biomes. *Global Change Biology*, **12**, 84–96.
- Monneveux P, Belhassen E (1996) The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth Regulation*, **20**, 85–92.
- Morvan A, Challe G, Prud’homme M-P, LeSaos J, Boucaud J (1997) Rise of fructan exohydrolase activity in stubble of *Lolium perenne* after defoliation is decreased by uniconazole, an inhibitor of the biosynthesis of gibberellins. *New Phytologist*, **136**, 81–88.
- Newman GS, Arthur M a., Muller RN (2006) Above- and belowground net primary production in a temperate mixed deciduous forest. *Ecosystems*, **9**, 317–329.
- Norby R, Jackson R, Division S, Ridge O (2000) Root dynamics and global change: seeking an ecosystem perspective. *New Phytologist*, **147**, 3–12.
- Norby RJ, Luo YQ (2004) Evaluating ecosystem responses to rising atmospheric CO₂ and global warming in a multi-factor world. *New Phytologist*, **162**, 281–293.

- Oosterheld M, McNaughton SJ (1991) Effect of stress and time for recovery on the amount of compensatory growth after grazing. *Oecologia*, **85**, 305–313.
- Olesen JE, Bindi M (2002) Consequences of climate change for European agricultural productivity, land use and policy. *European Journal of Agronomy*, **16**, 239–262.
- Paz H (2003) Root/Shoot allocation and root architecture in seedlings: variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica*, **35**, 318–332.
- Pendall E, Bridgham S, Hanson PJ, *et al.* (2004) Below-ground process responses to elevated CO₂ and temperature: a discussion of observations, measurement methods, and models. *New Phytologist*, **162**, 311–322.
- Pendall E, Rustad L, Schimel J (2008) Towards a predictive understanding of belowground process responses to climate change: have we moved any closer? *Functional Ecology*, **22**, 937–940.
- Pérez-Ramos IM, Volaire F, Fattet M, Blanchard A, Roumet C (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, **87**, 126–136.
- Picon-Cochard C, Teyssonneyre F, Besle JM, Soussana JF (2004) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on the productivity and herbage quality of a semi-natural grassland. *European Journal of Agronomy*, **20**, 363–377.
- Pilon R, Picon-Cochard C, Bloor JMG, *et al.* (2013) Grassland root demography responses to multiple climate change drivers depend on root morphology. *Plant and Soil*, **364**, 395–408.
- Pimm SL (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.
- Pollock CJ, Cairns AJ (1991) Fructan Metabolism in grasses and Cereals. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **42**, 77–101.
- Pollock C, Jones T (1979) Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. *New Phytologist*, **83**, 9–15.
- Poorter H (2002) Plant growth and carbon economy. *Encyclopedia of Life Sciences*,.
- Poorter H, Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology*, **27**.
- Products W, Pregitzer K, King J, Burton A, Brown S (2000) Responses of tree fine roots to temperature. *New Phytologist*, **146**, 105–115.
- Prud'homme M-P, Gastal F, Belanger G, Boucaud J (1993) Temperature effects on partitioning of ¹⁴C assimilates in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb .). *New Phytologist*, **123**, 255–261.

- Sala OE, Lauenroth WK (1982) Small rainfall events: an ecological role in semiarid regions. *Oecologia*, **53**, 301–304.
- Schenk HJ, Jackson RB (2002) Rooting depths, lateral root spreads and below-ground/above-ground allometries of plants in water-limited ecosystems. *Journal of Ecology*, **90**, 480–494.
- Shaw MR, Zavaleta ES, Chiariello NR, Cleland EE, Mooney HA, Field CB (2002) Grassland responses to global environmental changes suppressed by elevated CO₂. *Science*, **298**, 1987–1990.
- Skinner RH (2008) Yield, Root Growth, and Soil Water Content in Drought-Stressed Pasture Mixtures Containing Chicory. *Crop Science*, **48**, 380.
- Skinner RH, Comas LLH (2010) Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. *Crop Science*, **50**, 2178.
- Smith MD (2011a) The ecological role of climate extremes: current understanding and future prospects. *Journal of Ecology*, **99**, 651–655.
- Smith MD (2011b) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *Journal of Ecology*, **99**, 656–663.
- Soussana JF, Duru M (2007) Grassland science in Europe facing new challenges: biodiversity and global environmental change. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, **272**, 1–11.
- Soussana JF, Graux A-I, Tubiello FN (2010) Improving the use of modelling for projections of climate change impacts on crops and pastures. *Journal of experimental botany*, **61**, 2217–28.
- Soussana JF, Lüscher A (2007) Temperate grasslands and global atmospheric change: a review. *Grass and Forage Science*, **62**, 127–134.
- Speleta JFE, Espeleta J, Clark D (2007) Multi-scale variation in fine-root biomass in a tropical rain forest: a seven-year study. *Ecological monographs*, **77**, 377–404.
- Steinaker DF, Wilson SD (2005) Belowground litter contributions to nitrogen cycling at a Northern grassland–forest boundary. *Ecology*, **86**, 2825–2833.
- Steinaker DF, Wilson SD (2008) Phenology of fine roots and leaves in forest and grassland. *Journal of Ecology*, **96**, 1222–1229.
- Swemmer AM, Knapp AK, Snyman HA (2007) Intra-seasonal precipitation patterns and above-ground productivity in three perennial grasslands. *Journal of Ecology*, **95**, 780–788.
- Teyssonneyre F, Picon-Cochard C, Falcimagne R, Soussana JF (2002) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on plant community structure in a temperate grassland. *Global Change Biology*, **8**, 1034–1046.

- Therneau T (2012) A Package for Survival Analysis in S.
- Thomas H, James A (1999) Partitioning of sugars in *Lolium perenne* (perennial ryegrass) during drought and on rewatering. *New phytologist*, **142**, 295–305.
- Trillo N, Fernández RJ (2005) Wheat plant hydraulic properties under prolonged experimental drought: stronger decline in root-system conductance than in leaf area. *Plant and Soil*, **277**, 277–284.
- Tubiello FN, Soussana JF, Howden SM (2007) Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 19686–19690.
- Ueno M, Yoshihara K (1967) Spring and summer root growth of some temperate-region grasses and summer root Growth of tropical grasses. *Grass and Forage Science*, **22**, 148–152.
- Vartanian N (1981) Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems. *Plant and Soil*, **63**, 83–92.
- Vicente-Serrano SM, Beguería S, López-Moreno JI (2010) A multiscalar drought index sensitive to global warming: the standardized precipitation evapotranspiration index. *Journal of Climate*, **23**, 1696–1718.
- Volaire F, Norton MR, Lelievre F (2009) Summer drought survival strategies and sustainability of perennial temperate forage grasses in Mediterranean areas. *Crop Science*, **49**, 2386–2392.
- Volaire F, Thomas H, Lelievre F (1998) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New Phytologist*, **140**, 439–449.
- Volder A, Gifford RM, Evans JR (2007) Effects of elevated atmospheric CO₂, cutting frequency, and differential day/night atmospheric warming on root growth and turnover of *Phalaris* swards. *Global Change Biology*, **13**, 1040–1052.
- Walter J, Nagy L, Hein R, Rascher U, Beierkuhnlein C, Willner E, Jentsch A (2011) Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, **71**, 34–40.
- Wan S, Luo Y, Wallace LL (2002) Changes in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. *Global Change Biology*, **8**, 754–768.
- Wan S, Norby RJ, Ledford J, Weltzin JF (2007) Responses of soil respiration to elevated CO₂, air warming, and changing soil water availability in a model old-field grassland. *Global Change Biology*, **13**, 2411–2424.
- Wang YF, Yu SX, Wang J (2007) Biomass-dependent susceptibility to drought in experimental grassland communities. *Ecology Letters*, **10**, 401–410.

- Zavaleta ES, Shaw MR, Chiariello NR, Mooney HA, Field CB (2003) Additive effects of simulated climate changes, elevated CO₂, and nitrogen deposition on grassland diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 7650–7654.
- Zhou XH, Weng ES, Luo YQ (2008) Modeling patterns of nonlinearity in ecosystem responses to temperature, CO₂, and precipitation changes. *Ecological Applications*, **18**, 453–466.
- Zwicke M, Alessio G a, Thiery L, *et al.* (2013) Lasting effects of climate disturbance on perennial grassland above-ground biomass production under two cutting frequencies. *Global change biology*, **19**, 3435–3448.

SUPPORTING INFORMATION

Table S1. Effect of climate treatments (Clim), cutting frequency (Cut) and their interaction (Clim x Cut) on soil temperature (Tsoil, °C) and soil water content (SWC, m³ m⁻³) during the course of the experiment.

Year	DOY	Tsoil			Hsoil		
		Clim	Cut	Clim x Cut	Clim	Cut	Clim x Cut
2009	104	17.300 ***	0.083	0.269	0.692	0.681	0.774
	139	3.830 *	0.010	0.200	0.241	0.000	1.376
	175	4.055 *	668.883 ***	0.504	0.266	1.472	0.807
	189	7.470 **	1.020	0.220	1.587	0.186	0.284
	202	53.693 ***	0.124	0.368	17.403 ***	0.032	0.661
	251	22.732 ***	10.199 **	3.392 +	4.809 *	0.293	0.696
	286	10.680 **	4.930 *	0.480	2.517	0.760	0.429
	323	9.593 **	4.719 +	0.640	4.664 *	1.117	0.330
2010	39	0.604	0.003	1.382	1.252	1.098	0.169
	74	0.196	1.066	0.531	0.333	0.968	0.259
	103	2.486	0.379	0.328	1.070	1.133	0.523
	141	9.215 **	2.472	0.862	0.907	0.192	0.594
	175	2.130	463.420 ***	0.210	0.753	7.153 *	0.595
	201	3.013 +	0.342	0.991	3.422 +	0.043	1.117
	243	16.520 ***	22.190 ***	0.369	2.806	0.570	1.026
	274	27.640 ***	251.090 ***	0.290	0.192	3.932 +	0.068
321	4.269 *	0.989	0.834	0.746	1.070	0.351	

Chapitre 5 :

STRATEGIES FONCTIONNELLES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE DES POPULATIONS PRAIRIALES

Les deux chapitres précédents consacrés à l'analyse des communautés végétales *in situ* nous ont conduits à nous questionner sur les processus physiologiques impliqués dans la survie des populations. Dans le Chapitre 4, la survie du système racinaire à la sécheresse a été mise en évidence à l'échelle des communautés. A partir des changements de composition botanique observés dans le Chapitre 3, nous avons pu identifier des populations sensibles et résistantes à la réduction des précipitations. Nous avons donc émis l'hypothèse que le système racinaire joue un rôle essentiel dans la résistance à la sécheresse des herbacées de moyennes montagnes, en maintenant les prélèvements hydriques pendant le stress et/ou en accumulant de réserves afin de maintenir l'intégrité des cellules et fournir du carbone pour la repousse des parties aériennes après le stress. Dans une première partie, sous forme d'article en préparation, nous avons donc cherché à caractériser les stratégies de réponses à la sécheresse de ces populations dominantes, et à déterminer les traits associés à la survie. Puis une analyse complémentaire, présentée en deuxième partie, cherche à établir le lien entre les réserves en sucres dans les organes de la plante et la récupération de la production aérienne après une sécheresse sévère.

Partie 1 – ARTICLE

WHICH PLANT STRATEGIES AND FUNCTIONAL TRAITS DRIVE DROUGHT
SURVIVAL OF PERENNIAL HERBACEOUS POPULATIONS FROM UPLAND
GRASSLANDS

Zwicke Marine¹, Picon-Cochard Catherine¹, Morvan-Bertrand Annette^{2,3,4}, Marie-Pascale Prud'homme^{2,3,4}, Volaire Florence⁵

1. INRA, UR874, Grassland Ecosystem Research Team, 5 chemin de Beaulieu, F-63100 Clermont-Ferrand, France

2. Normandie University, France

3. UCBN, UMR 950 Ecophysiologie Végétale & Agronomie, nutrition NCS, F-14032 Caen, France

4. INRA, UMR 950 EVA, F-14032 Caen, France

5. INRA-CEFE, UMR5175 Centre d'Ecologie Fonctionnelle, Campus du CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier 5, France

Corresponding authors:

Catherine Picon-Cochard, Tel: (+)33 473 62 45 84; Fax: (+)33 473 62 44 57; email: catherine.cochard@clermont.inra.fr

Keywords: carbohydrates, drought survival, dehydration avoidance, dehydration tolerance, fructans, membrane stability, meristems, roots, water use,

Abstract

Extreme climatic events such as severe droughts are expected to increase as a consequence of climate change and will limit grassland production in temperate area. This study aims to determine the plant strategies involved in drought survival of temperate herbaceous populations. Six populations of native perennial species from upland grassland and one Mediterranean drought resistant cultivar were compared as monocultures, under semi-controlled and non-limiting rooting depth conditions. Plant traits, such as leaf elongation rate, leaf and root relative water contents, maximum and 95% rooting depths were first measured under full irrigation in spring to characterise resource acquisition strategies. Subsequently, drought resistance (avoidance and tolerance) strategies were analysed by measuring leaf and root traits, carbohydrate contents and membrane stability in plant organs under moderate drought (20 days without irrigation) and severe drought (30 days at soil water content $< 0.10 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$). Dehydration avoidance through water uptake was associated with deep roots and high root mass. Plant survival depended of $\text{DP} \geq 5$ fructan content in roots. However, dehydration tolerance of the root system was not enough to ensure plant survival, underlying the crucial role of leaf meristem in regrowth capacity after rehydration. Sucrose was the main carbohydrate involved in dehydration tolerance of the most sensitive populations while populations able to accumulate fructans in leaf meristem survived drought best. Plant survival also relied on leaf meristem hydration and membrane stability. No trade-off was found between resource acquisition under non-limiting conditions and drought resistance strategies. Four functional types are proposed based on resource acquisition and drought response strategies, supporting evidence for the role of a diversity of plant strategies to sustain drought resilience of grasslands under climate change.

Introduction

Most climate change models predict a greater climate variability, which will increase the occurrence and intensity of extreme events (IPCC, 2012). In temperate areas, more extreme rainfall regimes are expected to increase the duration and severity of drought (Knapp *et al.*, 2008). In Europe, grasslands cover 22% of the EU-25 land area (FAOSTAT data, <http://faostat.fao.org>) and provide numerous ecosystemic services such as forage production, carbon storage, soil protection and biodiversity preservation (MEA, 2005). Climate change will likely impact these ecosystems through shifts in grassland composition and production potential. Adaptive resilience of grasslands to extreme events will depend both on survival of plant communities and management of agricultural land area (Soussana and Lüscher, 2007; Tubiello *et al.*, 2007). To improve model predictions of grassland vulnerability under climate change in order to adapt grassland management to climate variability and to identify forage species and varieties that could survive extreme drought (Kemp and Culvenor, 1994; Chaves *et al.*, 2003; Lelièvre and Volaire, 2009), more knowledge is required to understand the mechanisms of resistance, survival and recovery of herbaceous species under severe drought (Chaves *et al.*, 2003; Soussana *et al.*, 2010; Zeppel *et al.*, 2011).

Perennial herbaceous plants resist and survive severe drought through adaptive strategies contributing to dehydration avoidance and dehydration tolerance (Ludlow, 1989; Blum, 1996). Under moderate drought, dehydration avoidance ensures the maintenance of plant tissue hydration and osmotic potential by maximizing water uptake through deep roots and/or high rooting density and minimizing water losses by stomatal control, reduction of leaf growth and ultimately by leaf senescence under intensifying water deficit (Ludlow, 1989; Volaire *et al.*, 2009). Under severe drought, dehydration tolerance ensures plant survival by the maintenance of cell integrity of key tissues (meristematic apices and meristems) through cell membrane stabilization, accumulation of water soluble carbohydrates and dehydrins (Voltaire *et al.*, 1998*a,b*), prevention of protein denaturation and antioxidant protection (Verslues *et al.*, 2006). The combination of these plant responses depend on species and genotypes and can be investigated by assessing plant functional traits associated with water status and efficiency of below and above-ground tissues both under non limiting irrigation and water stress (Voltaire, 2008; Pérez-Ramos *et al.*, 2013).

The present study aimed to characterize the mechanisms by which plants of temperate grassland resist to drought. The plant material originated from upland grasslands subjected to infrequent drought was therefore assumed to have a low dehydration tolerance with a dehydration avoidance strategy based on the maximization of water uptake by the root

system. Root traits have been generally measured in plants under non-limiting soil water conditions (Reich *et al.*, 1998; Wahl and Ryser, 2000; Comas and Eissenstat, 2004; Maire *et al.*, 2009; Hernández *et al.*, 2010; Picon-Cochard *et al.*, 2012) but only few studies have dealt with root traits of herbaceous populations in association with severe water stress (BassiriRad and Caldwell, 1992; Huang and Gao, 2000; Skinner and Comas, 2010). Roots are nevertheless involved in drought adaptation (Poorter and Garnier, 1999; Hernández *et al.*, 2010). A higher biomass allocation to roots has been commonly associated to species well-adapted to drought, which enhance water accessibility through deeper (Paz, 2003) or more extensive root systems (Comas and Eissenstat, 2004). However, the potential role of root traits such as water status of root apices and carbohydrate contents on drought survival remains to be investigated.

Indeed, water soluble carbohydrates (WSC) play a key role in drought tolerance and survival since they contribute both to osmotic adjustment, cell membrane stabilization and enhance regrowth recovery (Livingston *et al.*, 2009). Herbaceous of temperate area can accumulate in leaf meristem large amount of reserve carbohydrates mainly as fructans which are soluble fructose polymers (Chatterton *et al.*, 1989). A role for fructans in drought resistance was suggested by Hendry (1993), who stated that the appearance of fructan-producing taxa corresponded with a climatological shift toward seasonal drought. Additional evidence for a role of fructans in drought tolerance was provided by the finding that transgenic plants that accumulated low fructan levels were slightly more drought tolerant than wild-type plants without fructans (Pilon-Smits *et al.*, 1995, 1999). Moreover, fructans may directly stabilize membranes under water stress conditions by interaction with lipid headgroups (Vereyken *et al.*, 2001, 2003; Hinchey *et al.*, 2002, 2007; Valluru and Van den Ende, 2008). Therefore, carbohydrates and particularly fructan accumulation in leaf base meristem improves plant survival after drought (Volaire *et al.*, 1998a; Clark *et al.*, 2004). Fructans accumulated during drought can also play an indirect role in drought tolerance when they are hydrolyzed for fueling growth when the drought is relieved (Volaire *et al.*, 1998b; Thomas and James, 1999; Amiard *et al.*, 2003).

Under non-limiting environmental conditions, two contrasted strategies of plant for resource acquisition are recognized (Grime, 2001). Fast-growing species maximise light capture and resource acquisition whereas slow-growing species exhibit a conservation strategy characterised in particular by higher tissues density (Ryser and Urbas, 2000; Wahl and Ryser, 2000; Grime, 2001; Wright *et al.*, 2004; Shipley *et al.*, 2006). A classical paradigm of ecophysiology is to expect a trade-off between the capacity of a population to grow when

resources are abundant and its capacity to tolerate resource shortages (Bazzaz, 1996). This hypothesis was rejected for C4 grasses under moderate drought (Fernández and Reynolds, 2000) but was shown for a range of Mediterranean cultivars of *Dactylis glomerata* under severe drought (Annicchiarico *et al.*, 2011). Therefore, this study aimed to explore the relationships between plant strategies under both non limiting resource conditions and severe water stress. Therefore, this study also aimed to explore the relationships between plant resource acquisition strategies and plant mechanisms to resist to drought for temperate grassland populations.

In this study, seven populations of the major perennial herbaceous species from upland grasslands (Peeters, 2004; Antonetti *et al.*, 2006) were cultivated in semi-controlled conditions and in long tubes to analyse leaf and root traits, as well as the dynamics of carbohydrate concentration under moderate and severe drought when rooting depth is not restricted. Resource acquisition strategies were identified under full irrigation in spring. The dehydration avoidance strategy was assessed under moderate and intensifying drought. Dehydration tolerance of key-meristematic tissues was measured under severe drought. We tested the following hypothesis: (1) drought survival of temperate herbaceous mainly depends on dehydration avoidance through water acquisition strategies and (2) accumulation of WSC, especially fructans and sucrose in surviving tissues including roots could be associated with dehydration tolerance in this range of plant material subjected to infrequent severe drought; (3) there is a trade-off between a high resource acquisition under non limiting conditions and a high ability to survive severe drought.

Material and Methods

Plant material

We compared seven populations of six species: *Dactylis glomerata* (*Dg*); *Festuca arundinacea* (*Fa*); *Poa pratensis* (*Pp*); *Poa trivialis* (*Pt*); *Trisetum flavescens* (*Tf*) and *Taraxacum officinale* (*To*). Six populations originated from an upland area, with seeds collected in their native perennial grassland located in the French Massif Central (Theix, 45°43'N, 3°01'E, 880 m a.s.l., see Pontes *et al.*, 2007 for details). The seventh population was a Mediterranean cultivar of *Dactylis glomerata* cv Medly (RAGT) (*Md*) used as a control for high drought survival (Voltaire and Lelievre, 2001).

Experimental set-up and design

In summer 2010, granitic brown soil (12% clay, 17% loam, 59% sand, 13% organic matter) was extracted from an upland grassland (area of the population collection), sieved at 7 mm and left air-dried. Plastic sleeves were placed inside long tubes (PVC made, 150 cm deep, 10 cm diameter) in order easily process the whole root system at samplings. Air-dried soil (12.5 kg) mixed with slow released fertiliser (3.5 kg m⁻³, NPK 14-7-14) were added into the tubes closed at the bottom with a tapped cap. Soil water contents (SWC) measured at field capacity (22.3%) and wilting point (15.7%) were determined according to Richards & Weaver (1943) protocol. In September 2010, seeds were sown at a density of 2500 seeds m⁻² in 15 PVC tubes per population. In total 105 tubes (15/population) were kept outside in trenches during the following winter to allow plant vernalisation before starting the experiment.

In 2011, SWC of all tubes was maintained at field capacity by a drip irrigation system from the day of the year (DOY) 78. Three tubes per population were installed on a balance (Arpege Master K, type IP 67; N PAC + SAT MB, France) to measure plant water-use (WU) by gravimetry. To limit soil warming due to light radiation, tubes were insulated by polystyrene (50 mm thick, Styrodur ®). The drought treatment was applied from DOY 182 by stopping irrigation (12 tubes/population), whereas soil field capacity was maintained for the control treatment (3 tubes/population). During the drought period, all precipitations were intercepted by a transparent Plexiglas screen installed on rails and automatically controlled by a rain sensor. Thus, the drought treatment was first characterised by 20 days without watering during which the soil was progressively drying (moderate drought until the cessation of leaf growth, DOY 182-201), then by 30 more days without watering to reach a very low SWC (severe drought, DOY 202-231) (Fig. 1). From DOY 232, populations were progressively rehydrated and maintained at field capacity until the end of the growing season (DOY 306). Then, all populations received local precipitation until the end of the experiment in June 2012 (DOY 174).

During the course of the experiment, vegetative stage of populations was maintained by mowing plants approximately to a height of 5-7 cm (DOY 97, 116, 136, 165, 230, 271 in 2011; DOY 78, 151 in 2012).

Environmental conditions

The experiment took place outdoor at the INRA of Clermont-Ferrand (45°47'N, 03°05'E, 350 m a.s.l.). An automatic weather station recorded air temperature, solar radiation and wind speed (Table 1).

Table 1. Climate conditions under full irrigation in spring (DOY 78-181), moderate (DOY 182-201) and severe drought (DOY 202-231), during the first two weeks of rehydration (DOY 232-246) and the recovery period in 2011 (DOY 247-365) and 2012 (DOY 1-158).

Year	Period	Tair (°C)	minimum Tair (°C)	maximum Tair (°C)	Global radiation (J cm ⁻²)	PET (mm day ⁻¹)	PET (mm period ⁻¹)
2011	Pre-drought	15.2	9.2	21.6	1967	3.8	393
	Moderate drought	18.3	11.8	23.9	1980	4.1	83
	Severe drought	19.4	13.9	25.3	1853	4	121
	Rehydration	20.9	15	27.8	1753	3.9	58
	Recovery	12	7.4	17.3	860	1.4	161
2012	Recovery	8.1	3.3	13.1	1203	2.0	323

From DOY 132 to 326, volumetric SWC (m³ m⁻³) was measured every 15 min in the tube with horizontally inserted 5 cm long Echo dielectric capacity probes connected to a datalogger (ECHO₂ Decagon Devices, USA). Three probes were installed at 10; 40 and 100 cm depths below the soil surface on three tubes per population and on two tubes per population for the severe drought (Fig. 1), and on one tube per population for the control treatment.

Plant measurements

To collect plant material for plant trait measurements, three tubes per population were harvested at four sampling dates (SD): under full irrigation corresponding to initial state at last watering (DOY 179-181, SD1); at the end of moderate drought after the cessation of leaf growth (DOY 199-201, SD2); before rehydration corresponding to the end of severe drought (DOY 234-236, SD3); and after summer for the fully irrigated control plants (DOY 241-243, SD4).

Above-ground traits

Leaf length was measured every 2–3 days from DOY 146 to 193 on 36 mature tillers per population. Maximum leaf elongation rate (LER_{max}, mm d⁻¹) was calculated under full irrigation (DOY 146-181) and until the end of leaf growth (DOY 182-193), as the first indicator of stress response. Then, leaf senescence (LS) was assessed visually (0-100%) every 2-5 days (DOY 193-222).

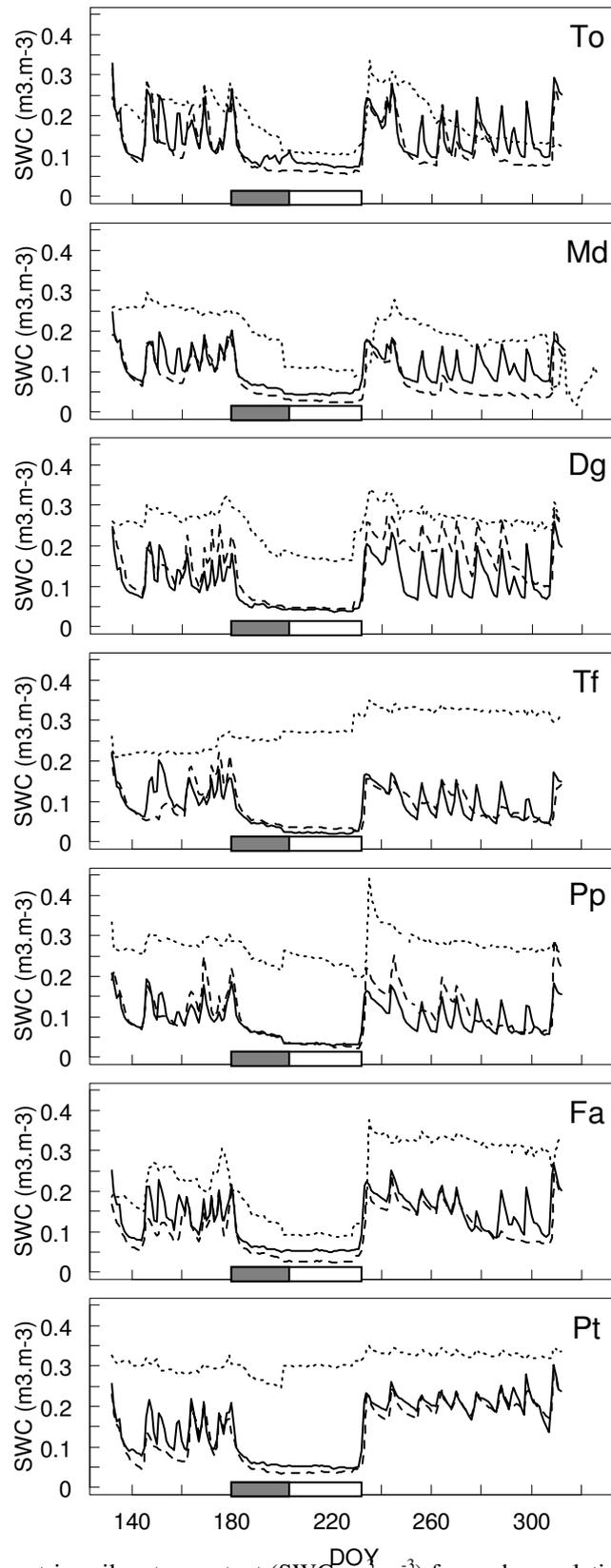


Figure 1. Time course of volumetric soil water content (SWC, $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-3}$) for each population, measured under full irrigation and during drought treatment, at 10 cm (full lines), 40 cm (dashed lines) and 100 cm (dotted lines) below soil surface. (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinale*). Grey and white areas in boxes represent moderate and severe drought periods, respectively.

For each SD, nine mature leaves per population were collected, weighed (FW) and then rehydrated with deionized water during 24h in the dark at 5°C (Garnier *et al.* 2001) and re-weighed (HW). Dry weight (DW) was determined after oven-drying at 60°C during 48h. Leaf relative water content (LRWC, %) was calculated as $RWC = (FW - DW) / (HW - DW)$. Before rehydration (SD3), it was impossible to sample leaves of *Pt* and *Fa* because of leaf senescence. Leaf meristems were sampled from shoot by manual dissection after removal of mature leaves. The length of the elongation zone, designated here as the leaf meristem, was determined approximately as two-third of the sheath length of the youngest fully expanded leaf (Lattanzi *et al.*, 2004; Wild, 2010). For determination of the water content of leaf meristems (MWC, %) each sample was weighed before and after 48h of oven-drying at 60°C. All remaining above-ground materials was manually sorted out in order to retire stolons of *Pt* and *Tf*. Then, all samples were oven-dried at 60°C for 48h before weighing to determine the total shoot mass (g).

Below-ground traits and root-shoot ratio (RS)

To characterise root mass profile, whole soil and root system were extracted. After carefully washing the roots, maximum rooting depth was measured (D_{max} , cm). The deepest root apices were collected (15 cm length) and rhizomes of *Pp* were manually removed. Then, all roots were collected according to five layers (0-15; 15-30; 30-40; 40-90; 90-150 cm from top to bottom). For each layer, roots were rehydrated during 24h in the dark before being weighed, oven-dried at 60°C for 48h and re-weighed. Root relative water content (RRWC, %) were calculated. Furthermore, total root mass (RM, kg DM m⁻³) was determined by summing root mass of separate layers. Then, root mass distribution in the tube was characterised by calculating the 95% rooting depth (D_{95} , cm, the depth including 95% of the root biomass) according to Schenk and Jackson (2002). Finally, initial root-shoot ratio (RS) was calculated at SD1 for each population as $RS = \text{root mass (g)} / \text{shoot mass (g)}$.

Water soluble carbohydrates (WSC) extraction and analysis

Fresh sub-samples of leaf meristems, roots, deepest root apices and storage organs (rhizomes, stolons and tap roots) were separately collected to measure WSC contents (mg g⁻¹ DM). Samples were quickly weighed, dropped in liquid nitrogen for metabolism fixation and preserved at -80°C before being freeze-dried. WSC were extracted in 80 % ethanol at 85°C and purified in mini-columns (Mobicols from MoBITec, Göttingen, Germany) with ion-exchange resins (see Amiard *et al.*, 2003 for details). WSC were analyzed by high

performance liquid chromatography (HPLC). Soluble sugars were separated on a cation exchange column (Sugar-PAK, 300 x 6.5 mm, Millipore Waters, MA, USA) eluted with Ca-EDTA (50 mg L⁻¹ in deionized water) at 0.5 mL min⁻¹ and detected by a differential refractometer. External standards used to quantify carbohydrates were glucose, fructose, sucrose and *Cichorium intybus* inulin (Sigma-Aldrich, MO, USA). The HPLC system allowed to quantify separately fructans with degree of polymerization of 3 and 4 (DP 3-4) and over 5 (DP ≥ 5).

Cell membrane stability (CMS) measurement

Tolerance to dehydration was estimated by CMS measured on separate plant tissues at the end of drought (SD3), according to the electrolyte leakage test principle (Blum and Ebercon, 1981). Three representative sub-samples of leaf meristems, roots from each soil layer, deepest root apices and storage organs were harvested and dropped into tubes filled with 10 mL of deionized water. After 24h of incubation in the dark, at ambient temperature (20°C) on a shaking plate, conductivity (C1) was measured with a conductimeter (Held Meter LF340, TetraCon® 325, Germany). Then, to destroy all cell membranes, samples were autoclaved at 120°C for 30 min, cooled to ambient temperature and a second conductivity measurement was carried out (C2) (Charrier and Améglio, 2011), CMS (%) was calculated as $CMS = (1 - C1 / C2) * 100$ (Volaire, 2002).

Plant survival and one-year recovery measurement

Plant survival and one-year recovery were assessed (n=3) by scoring the percentage of green tissue in the foliage (0-100 %) two weeks after the rehydration (DOY 246) and in spring 2012 (DOY 158), respectively.

Statistical analyses

Statistical analyses were carried out with R (R Core Team, 2012). Data proportions were arcsine-square root-transformed and when necessary, data were square root transformed prior to analysis to conform to the assumptions of normality and homogeneity of variances, which were verified by Shapiro's and Fligner Killeen's tests, respectively. For each SD, single factor one-way analysis of variance (ANOVA) and the post hoc Tukey test were performed with the 'multcomp' package (Hothorn and Bretz, 2009) to analyse inter-specific differences of measured traits. For each population, drought effects were analysed by one-way ANOVA to test the difference of traits measured between the SD. When the resulting P-value was significant ($P \leq 0.05$), effects of moderate drought and severe drought were respectively

determined by comparing SD1 to SD2, and SD2 to SD3 with post hoc Tukey test. As decrease of SWC depended on populations (Fig. 1), LER and LS were modelled respectively by linear and sigmoid regressions as a function of SWC to compare predicted thresholds of SWC for the end of leaf growth (SWC_{el}) and for 50% of leaf senescence (SWC_s) between populations.

Finally, to determine which plant traits are associated to drought avoidance, drought tolerance, plant survival and one-year recovery, Pearson's coefficients were calculated using the package 'Hmisc' (Harrel and Dupont, 2007). Then, a principal component analysis (PCA) was conducted with these traits, using the package 'ade4' (Dray and Dufour, 2007) to determine resource acquisition and drought resistance strategies of each population.

Results

Plant traits under full irrigation

Leaf and root traits in spring

Under full irrigation in spring (DOY 78-181), most plant traits differed significantly between the populations (Table 2). The LER_{max} was the highest for *Dg*, *Md* and *To* ($LER_{max} \geq 9 \text{ mm d}^{-1}$), whereas it was 2-3 times lower on *Tf*, *Fa*, *Pt* and *Pp* ($\leq 7 \text{ mm d}^{-1}$). The populations also differed on their root mass profile (Table 2, Fig. S1) which was significantly higher for *To* than for grasses ($> 7 \text{ kg m}^{-3}$). Within grasses, *Fa*, *Dg* and *Md* showed the highest RM ($\geq 5 \text{ kg m}^{-3}$), whereas the two *Poa* populations and *Tf* had the lowest ($< 4 \text{ kg m}^{-3}$). Deepest maximum and 95% rooting depths were observed for *To*, *Fa*, *Dg* and *Md* ($> 120 \text{ cm}$ and $> 70 \text{ cm}$ for D_{max} and D_{95} , respectively (Table 2), whereas *Pt* had the shortest root system ($D_{max} = 57 \pm 2 \text{ cm}$ and $D_{95} = 48 \pm 2 \text{ cm}$). R:S was significantly higher for *To* (2.21 ± 0.06) than for grasses, (between 0.34 ± 0.05 and 0.49 ± 0.01 for *Dg* and *Md*, respectively (Table 2). Finally, water used during the full irrigation period was significantly higher for *To* and *Fa* ($> 110 \text{ g kg}^{-1}$) than for populations with shallow root systems, such as *Tf*, *Pp* and *Pt* (Table 2).

Table 2. Mean values (\pm SE) of plant traits measured under full irrigation (DOY 78-181), moderate drought (DOY 182-201) and severe drought (DOY 202-231). Letters show significant differences between the seven herbaceous populations according to way ANOVA and Tukey tests ($P < 0.05$). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinale*)

Periods	Traits	Taproot	To	Md	Dg	Tf	Pp	Fa	Pt
<u>Full irrigation</u>	LRWC		96 \pm 1 ^{ab}	98 \pm 0 ^a	97 \pm 2 ^{ab}	96 \pm 1 ^{ab}	95 \pm 1 ^{ab}	96 \pm 1 ^{ab}	88 \pm 7 ^b
	MWC		79.9 \pm 2.5 ^a	76.5 \pm 2.1 ^{ab}	79.6 \pm 1.0 ^a	74.6 \pm 1.7 ^{ab}	74.1 \pm 2.7 ^{ab}	80.1 \pm 1.6 ^a	68.6 \pm 2.4 ^b
	LS		0	0	0	0	0	0	0
	RM	7.5 \pm 1.0 ^a	1.7 \pm 0.3 ^c	4.9 \pm 0.2 ^b	4.6 \pm 0.4 ^b	3.3 \pm 0.2 ^{bc}	3.6 \pm 0.3 ^{bc}	5.0 \pm 0.2 ^b	2.6 \pm 0.3 ^c
	RRWC	74.3 \pm 0.4 ^d	89.9 \pm 0.2 ^a	78.9 \pm 0.4 ^{bc}	81.1 \pm 0.5 ^b	80.5 \pm 0.1 ^b	77.2 \pm 0.3 ^c	79.4 \pm 0.7 ^b	79.6 \pm 0.3 ^b
	Dmax	146 \pm 4 ^a	-	134 \pm 9 ^a	122 \pm 7 ^{ab}	70 \pm 3 ^{cd}	100 \pm 13 ^{bc}	146 \pm 5 ^a	57 \pm 2 ^d
	D95	47 \pm 5 ^d	98 \pm 7 ^{ab}	82 \pm 3 ^{abc}	71 \pm 6 ^{bcd}	62 \pm 3 ^{cd}	60 \pm 2 ^{cd}	106 \pm 15 ^a	48 \pm 2 ^d
	LERmax		9.4 \pm 1.5 ^{abc}	10.3 \pm 0.7 ^{ab}	11.8 \pm 1.0 ^a	6.7 \pm 1.1 ^c	4.6 \pm 0.7 ^c	6.6 \pm 0.9 ^{bc}	3.3 \pm 0.3 ^c
	Root:Shoot		2.21 \pm 0.06 ^a	0.49 \pm 0.01 ^b	0.34 \pm 0.05 ^{bc}	0.34 \pm 0.03 ^c	0.46 \pm 0.03 ^{bc}	0.43 \pm 0.03 ^{bc}	0.41 \pm 0.03 ^{bc}
	WU		125 \pm 14 ^a	106 \pm 3 ^{ab}	111 \pm 5 ^{ab}	78 \pm 3 ^b	75 \pm 4 ^b	133 \pm 7 ^a	82 \pm 13 ^b
<u>Moderate drought</u>	LRWC		69 \pm 11 ^a	53 \pm 9 ^{ab}	39 \pm 4 ^{ab}	30 \pm 6 ^b	29 \pm 3 ^b	33 \pm 6 ^b	27 \pm 1 ^b
	MWC		63.0 \pm 1.9 ^a	47.8 \pm 2.1 ^{bc}	46.4 \pm 1.7 ^{bc}	40.5 \pm 0.5 ^{cd}	38.0 \pm 1.7 ^d	49.6 \pm 0.6 ^b	38.3 \pm 2.2 ^d
	LS		20.8 \pm 4.5 ^a	6.7 \pm 1.1 ^a	19.2 \pm 4.0 ^a	20.8 \pm 1.6 ^a	12.5 \pm 4.0 ^a	23.3 \pm 1.1 ^a	54.2 \pm 13.4 ^b
	RM	11.5 \pm 1.7 ^a	2.1 \pm 0.5 ^c	5.9 \pm 0.2 ^b	4.7 \pm 0.5 ^{bc}	3.7 \pm 0.3 ^{bc}	4.0 \pm 0.6 ^{bc}	4.9 \pm 0.3 ^{bc}	3.0 \pm 0.1 ^{bc}
	RRWC	66.0 \pm 1.1 ^d	84.6 \pm 0.8 ^a	69.5 \pm 1.0 ^{cd}	72.2 \pm 1.6 ^{bc}	75.7 \pm 0.9 ^b	71.3 \pm 2.0 ^{bcd}	69.4 \pm 1.0 ^{cd}	69.8 \pm 1.0 ^{bcd}
	Dmax	145 \pm 1 ^a	-	129 \pm 9 ^{ab}	134 \pm 11 ^a	78 \pm 7 ^c	95 \pm 2 ^{bc}	147 \pm 11 ^a	67 \pm 2 ^c
	D95	53 \pm 9 ^c	115 \pm 17 ^a	74 \pm 1 ^{bc}	67 \pm 5 ^{bc}	58 \pm 3 ^c	67 \pm 9 ^c	98 \pm 3 ^{ab}	49 \pm 2 ^c
	SWCel		0.085	0.094	0.096	0.071	0.098	0.057	0.081
	WU		103 \pm 5	75 \pm 4	76 \pm 4	46 \pm 3	47 \pm 5	70 \pm 16	37 \pm 9
	<u>Severe drought</u>	LRWC		16 \pm 7	28 \pm 7	19 \pm 7	3 \pm 7	16 \pm 7	-
MWC			43.8 \pm 1.6 ^a	46.2 \pm 12.9 ^a	35.5 \pm 8.0 ^{ab}	28.5 \pm 3.9 ^{ab}	26.3 \pm 3.6 ^{ab}	22.2 \pm 6.2 ^{ab}	14.6 \pm 7.0 ^b
LS			90 \pm 3 ^{bc}	81 \pm 4 ^c	96 \pm 2 ^{ab}	97 \pm 2 ^{ab}	90 \pm 4 ^{bc}	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a
RM		13.0 \pm 0.3 ^a	1.8 \pm 0.1 ^c	5.3 \pm 0.3 ^{bc}	4.9 \pm 0.3 ^{bc}	3.6 \pm 0.3 ^{de}	3.7 \pm 0.3 ^{cd}	5.0 \pm 0.2 ^b	2.8 \pm 0.2 ^{de}
RRWC		57 \pm 0 ^d	76.3 \pm 1.3 ^a	63.9 \pm 1.9 ^c	66.1 \pm 0.9 ^{bc}	70.7 \pm 2.4 ^{ab}	68.4 \pm 0.5 ^{bc}	67.0 \pm 0.8 ^{bc}	62.9 \pm 1.4 ^c
Dmax		149 \pm 2 ^a	-	133 \pm 10 ^a	136 \pm 7 ^a	85 \pm 4 ^b	91 \pm 7 ^b	150 \pm 12 ^a	61 \pm 4 ^b
D95		57 \pm 4 ^{cd}	113 \pm 7 ^a	78 \pm 3 ^b	67 \pm 8 ^b	61 \pm 2 ^{cd}	53 \pm 5 ^{bc}	93 \pm 1 ^a	56 \pm 5 ^{cd}
SWCs			0.085	0.052	0.092	0.110	0.102	0.053	0.137
WU			70 \pm 11	28 \pm 4	36 \pm 11	20 \pm 0	40 \pm 16	20 \pm 8	19 \pm 4

Dmax: maximum rooting depth (cm); D95: 95% rooting depth (cm); LERmax: maximum leaf elongation rate (mm d^{-1}); LRWC: leaf relative water content (%); LS: leaf senescence (%); MWC: water content of leaf meristem (%); M: total root mass (g m^{-3}); RRWC: root relative water content (%); SWCel: soil water content at the end of leaf growth ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$); SWCs: soil water content at 50% of leaf senescence ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$); WU: water used (g kg^{-1})

WSC contents in spring

At full irrigation in spring, WSC contents in leaf meristems and the deepest root apices were not different between populations (Fig.2; day 0). By contrast, populations were discriminated by WSC contents in roots ($P < 0.001$) according to three groups: (1) *To* and *Tf* ($\text{WSC} > 150 \text{ mg g}^{-1}$), (2) *Pp* ($120 < \text{WSC} < 150 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$), (3) *Dg*, *Md*, *Fa* and *Pt* ($\text{WSC} < 100 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) (Fig.2). Except for *Tf*, a gradient of WSC level was observed at the whole plant level with higher WSC content in leaf meristems ($183.2 \pm 15.2 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ on average) than observed in roots ($99.7 \pm 11.6 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) and in root apices ($26.1 \pm 5.8 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$; Fig. 2, Fig. S2). Within the root systems, there was no effect of soil layer on WSC, except for *Dg* ($P < 0.001$), for which WSC were higher in shallow than in deep roots (Fig. S2). As there was no interaction between soil layer and SD for all populations, WSC contents in the root system are presented as the weighed means of WSC contents of each root layer in Figures 2, 3 and S3.

For all populations and all analysed tissues, fructans with degree of polymerisation ($\text{DP} \geq 5$) were the dominant sugar compound ($73.2 \pm 1.6 \%$ on average in the whole plant; Fig. 2), followed by sucrose which represented $17.8 \pm 1.2 \%$ of WSC in average (Fig. 3). Thus, as total WSC contents, $\text{DP} \geq 5$ fructan contents were similar between populations in leaf meristems and root apices but differed in roots ($P < 0.001$). Populations were also discriminated by root sucrose content ($P < 0.001$). The ranking of species for $\text{DP} \geq 5$ fructan and sucrose contents in the root system was similar to the one found for root total WSC content. The monosaccharide contents (fructose and glucose) were very low compared to that of sucrose and fructans (Fig. S3). The forb (*To*) showed significantly higher fructose contents in leaf meristems and roots as well as glucose contents in roots than those in grasses ($P < 0.01$).

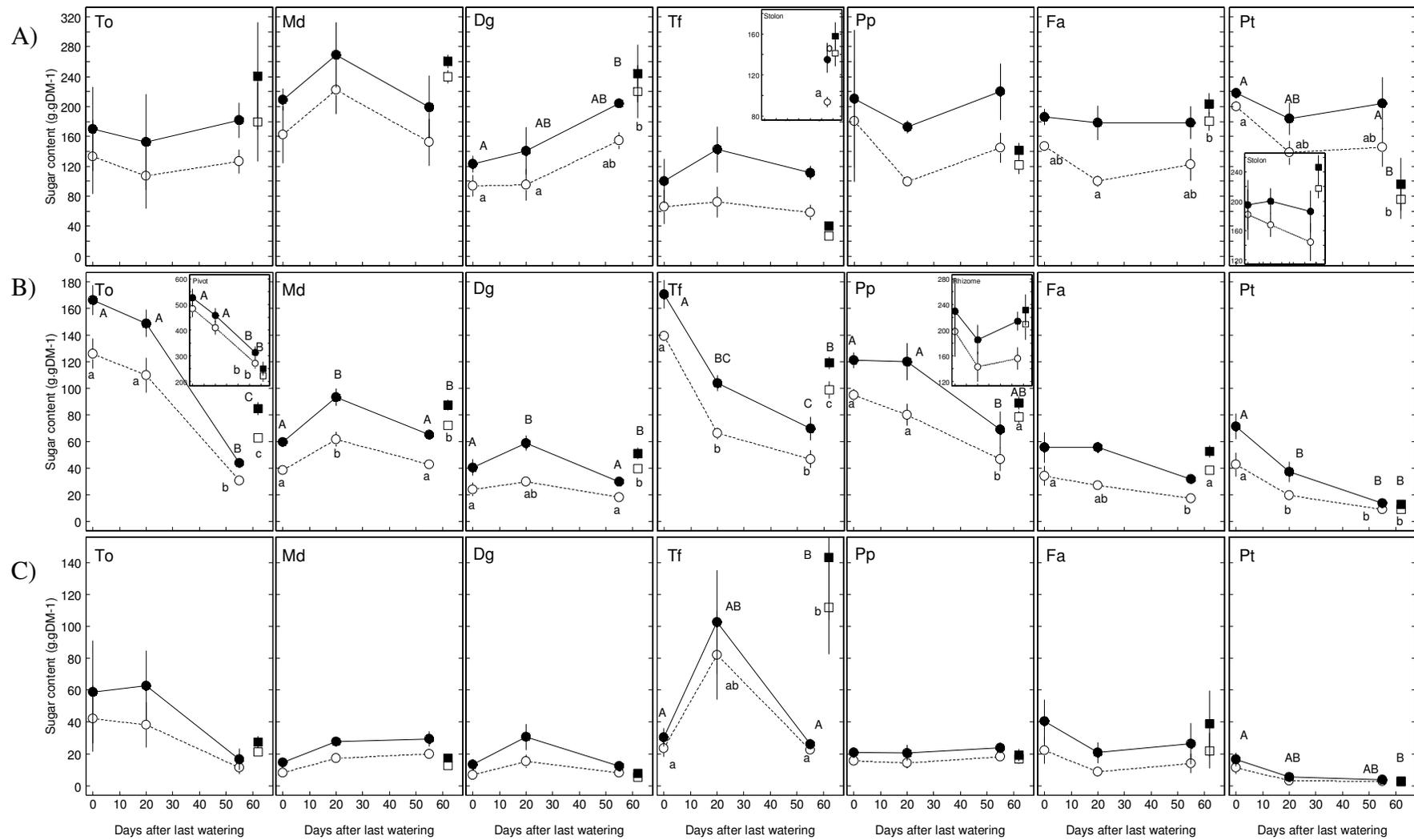


Figure 2. Total WSC content (black symbols) and DP_{≥5} fructans content (white symbols) in leaf meristem (A), root system (B) and root apices (C) of the seven herbaceous populations during the course of the drought treatment (circles) and in the control irrigated treatment (squares) at the end of drought. Letters indicate significant differences between sample dates according to Tukey tests (Total WSC: capitales; fructanes DP_{≥5}: minuscules). Mean values are shown ± se (n=3). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*)

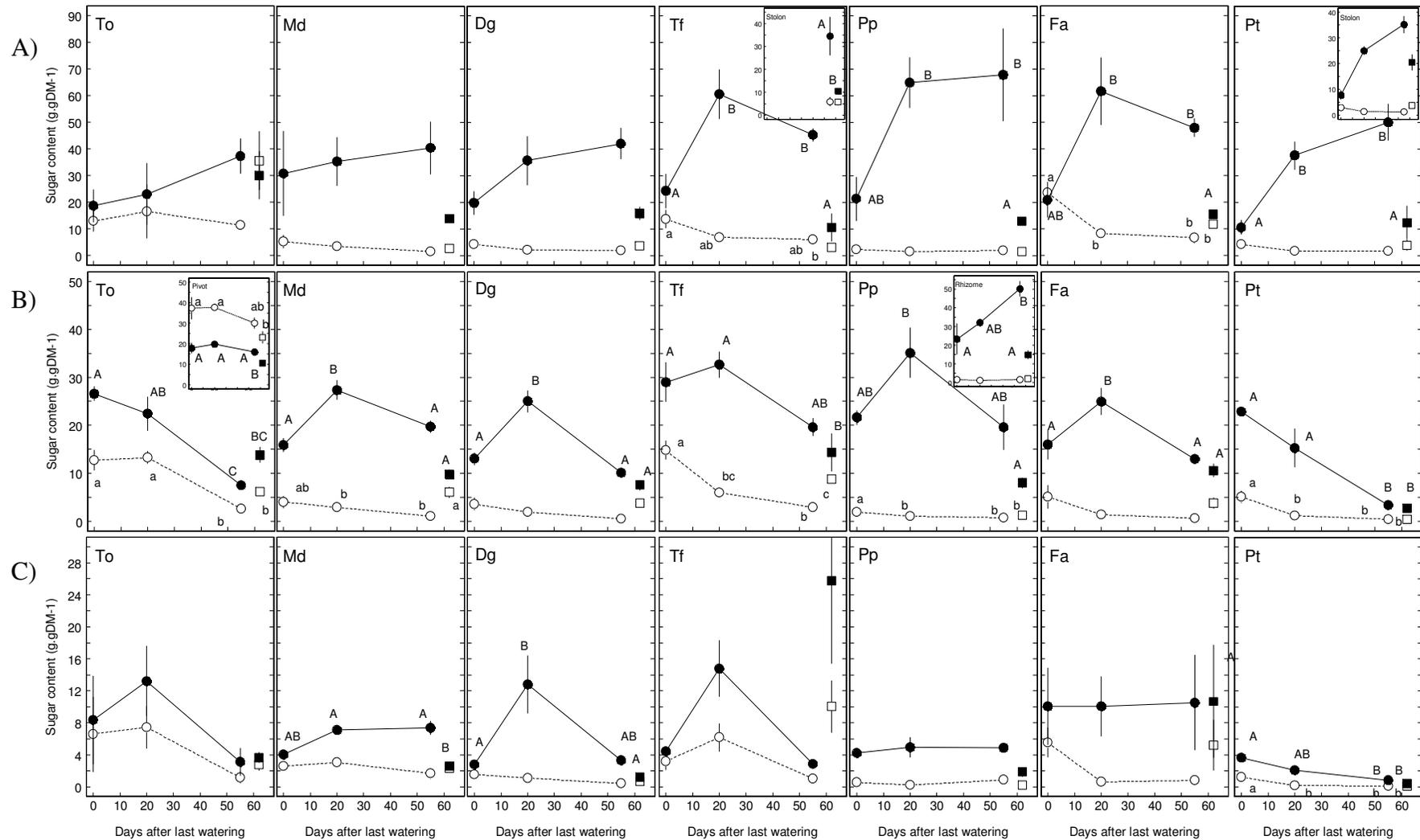


Figure 3. DP3-4 Fructans content (white symbols) and sucrose content (black symbols) in leaf meristem (A), root system (B) and root apices (C) of seven herbaceous populations during the course of the drought treatment (circles) and in the control irrigated treatment (squares) at the end of drought. Letters indicate significant differences between sample dates according to Tukey tests (sucrose: upper case; fructans DP3-4: lower case). Mean values are shown \pm se (n=3). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt; *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

Changes in WSC contents during summer for the fully irrigated control plants

During summer for the fully irrigated control plants, WSC content in leaf meristems increased for *Dg* (+ 120 mg g⁻¹ DW approximately), decreased for *Pt* (- 110 mg g⁻¹ DW approximately), whereas it remained constant in the other populations (Fig. 2A). Thus in summer, WSC content in this tissue differed between populations ($P < 0.001$) and were higher for *Md*, *Dg*, *Fa* and *To* (≥ 200 mg g⁻¹ DW) than for *Tf* (40.4 ± 1.2 mg g⁻¹ DW). In roots, total WSC content strongly decreased for *To*, *Tf* and *Pt* (- 81.9; -51.5 and -58.4 mg g⁻¹ DW, respectively; Fig. 1B). It remained constant for *Pp* and *Fa* and slightly increased for the two *Dactylis* populations. Despite these changes, populations remained discriminated by root WSC contents with a similar ranking to that observed in spring. In root apices, total WSC content increased for *Tf*, decreased for *Pt* and remained constant for the other populations (Fig. 2C). Consequently, and conversely to spring data, WSC contents in the deepest root apices differed between populations, due to the high WSC content for *Tf*. The content of high-DP fructans (DP ≥ 5), which are the main WSC compounds, followed the same trends than total WSC content (Fig. 2).

During summer, low-DP (DP 3-4) fructan and sucrose contents in leaf meristems (Fig. 3A) remained stable in fully irrigated control plants, excepted for *Tf* where the low DP fructan content decreased. They also remained stable in roots of the two *Dactylis* populations and in *Pp* and *Fa* but decreased in roots of *To*, *Tf* and *Pt* (Fig. 3B), concomitantly with the decrease of high-DP fructan contents in these last populations (Fig. 2B and 3B).

Plant responses to moderate drought

The moderate drought corresponded to the first 20 days without watering (DOY 182-201) until the cessation of leaf elongation.

Effects of moderate drought on leaf and root traits

After the last irrigation, SWC at -10 and -40 cm depths progressively decreased from 0.176 ± 0.004 m³ m⁻³ to 0.045 ± 0.004 m³ m⁻³ during the first 20 days (DOY 182-201). At -100 cm depth, the SWC declined to 0.102 ± 0.015 m³ m⁻³ on average for populations with deepest root system, such as *To*, *Md*, *Dg* and *Fa*, whereas it was less affected by the drought treatment for *Tf*, *Pp* and *Pt* (0.279 ± 0.018 m³ m⁻³; Fig. 1). WU of *To* was twice greater than that of *Tf*, *Pp* and *Pt* (43.3 g kg⁻¹ on average; Table 2). During this progressive water deficit, LER rapidly declined and stopped 10-12 days after the last irrigation (data not shown) at similar soil water content (SWC) for all populations (on average 0.083 ± 0.006 m³ m⁻³, Table 2).

Table 3: Effects of moderate drought (DOY 182-201) and severe drought (DOY 202-231) on plant traits measured for the seven herbaceous populations. T-values of Tukey's tests after one-way ANOVA are shown. Symbols indicate significant drought effect (+; P<0.1; * P≤0.05; **: P ≤0.01; ***: P≤0.001).

Periods	Traits	Taproot	To	Md	Dg	Tf	Pp	Fa	Pt
<u>Moderate drought</u>	LRWC		-2.352	-5.213 **	-8.565 ***	-7.994 **	-9.153 ***	-14.35 **	-9.829 **
	MWC		-5.88 **	-3.388 +	-7.486 **	-8.937 ***	-8.316 ***	-4.907 **	-3.766 *
	LS		-6.276 ***	-8.069 ***	-6.634 ***	-5.92 ***	-3.487 *	-8.225 ***	-4.652 **
	RM	2.424	0.87	2.937 +	0.089	1.188	0.628	-0.327	1.262
	RRWC	-8.803 ***	-4.109 *	-5.121 **	-5.877 **	-2.321	-3.458 *	-8.488 ***	-6.762 **
	Dmax		-0.122	-0.404	1.034	1.084	-0.438	0.086	2.458
	D95	0.676	-0.334	-2.306	-0.415	-1.002	0.729	-0.676	0.392
	WU		1.093	6.66 **	3.802 *	7.822 **	2.507	4.5 *	2.854 +
<u>Severe drought</u>	LRWC		-5.25 **	-2.901 +	-2.953 +	-3.292 *	-1.85	-4.612 *	-
	MWC		-5.976 **	-0.186	-2.135	-3.252 *	-2.838 +	-4.496 **	-3.568 *
	LS		-10.859 ***	-13.63 ***	-11.989 ***	-13.2 ***	-9.129 ***	-18.692 ***	-5.079 ***
	RM	0.902	-0.67	-1.947	0.433	-0.486	-0.397	0.430	-0.76
	RRWC	-9.591 ***	-6.373 **	-3.08 *	-4.07 *	-2.4	-1.713	-2.019	-4.794 ***
	Dmax		0.933	0.345	0.124	1.012	-0.311	0.172	-1.352
	D95	0.491	0.992	1.265	-0.003	0.883	-1.521	-0.399	1.316
	WU		-1.675	-8.976 **	-3.929 *	-5.661 *	-0.606	-3.278 +	-1.035

LRWC: Leaf relative Water Content (%); LS: Leaf Senescence (%); Wcm: Water Content of leaf meristem (%); RM: Total Root Mass (g m-3); RRWC: Root Relative Water Content (%); Dmax: maximum Rooting depth (cm); D95: 95% rooting depth (cm); WU: Water used (g kg⁻¹). (Dg: Dactylis glomerata; Fa: Festuca arundinacea; Md: Dactylis glomerata cv. Medly; Pp: Poa Pratensis; Pt: Poa trivialis; Tf: Trisetum flavescens; To: Taraxacum officinalis)

LRWC, RRWC, MWC and LS were significantly affected by the moderate drought (Table 3) and were the most discriminating variables between populations. Excluding taproot, which had a low RRWC not significantly different to those of grasses, *To* had the highest tissue hydration (LRWC and MWC > 60%; RRWC > 80% for fine roots; Table 2). Within grasses, *Dg* and *Md* maintained higher LRWC ($\geq 40\%$), whereas LRWC of *Fa*, *Tf*, *Pp* and *Pt* was highly affected by the moderate drought ($\leq 33\%$; Table 2). For the leaf meristems, MWC of *Pp* and *Pt* reached 38% approximately, a lower hydration than the meristems of *Fa*, *Dg* and *Md* ($\geq 40\%$; Table 2). Surprisingly, RRWC of *Tf* was significantly higher ($76 \pm 1\%$) than that observed on grasses with deeper roots, such as *Fa* and *Md* ($\leq 70\%$; Table 2). In response to moderate drought, LS was significantly greater for *Pt* ($\geq 55\%$), whereas *Dg* and *Md* had the lowest senescence ($\leq 25\%$; Table 2). RM, D_{\max} and D_{95} were not affected by the moderate drought, except for *Md* (Table 3), which produced new roots (1 kg m^{-3} ; Table 2), especially at the 0-15 cm soil layer (Figure S1).

Effects of moderate drought on WSC contents

In leaf meristems, there was no change in total WSC, as well as in $\text{DP} \geq 5$ fructan contents during the moderate drought (days 0-20 after the last watering; Fig. 2A). Nevertheless, $\text{DP} \geq 5$ fructan contents at the end of the moderate drought were highly discriminating due to a higher value in *Md* ($222.6 \pm 32.3 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) than in the upland populations ($161.8 \pm 12.4 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$, Fig. 2A). Similarly to high-DP fructans, DP 3-4 fructan contents were not altered by the moderate drought, except a decrease in *Fa* (Fig. 3A). While sucrose contents remained stable in leaf meristems of *To*, *Md* and *Dg*, they were strongly increased in *Tf*, *Pp*, *Fa* and *Pt* (Fig. 3A). Thus, at the end of the moderate drought period, sucrose content in leaf meristems was much higher in *Tf*, *Pp* and *Fa* than in *To*, *Md* and *Dg*. Moreover, sucrose content increased in stolons of *Pt* (Fig. 3A).

In roots, the patterns of WSC content changes during the moderate drought were very different between populations. For *To*, total WSC levels in roots and taproot were maintained without change in carbohydrate composition (Fig. 2B, Fig. 3B). For *Dg* and *Md*, total WSC content significantly increased in root system due to an accumulation of both $\text{DP} \geq 5$ fructans ($+ 33.9 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) and sucrose ($+ 11.5 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) in *Md*, and an accumulation of sucrose only in *Dg* ($+ 12.0 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$). Conversely, total WSC content decreased in roots of *Tf* and *Pt* (Fig. 2B) due to a decrease of both high- and low-DP fructan contents while sucrose levels remained stable (Fig. 3B). In roots of *Pp* and *Fa*, total WSC level remained stable but sugar composition was slightly modified with a decrease in DP3-4 fructan level in *Pp* and an

increase of sucrose level in *Fa* (Fig. 2B, Fig. 3B). In the deepest root apices, WSC contents and composition were not significantly modified by the moderate drought, except an increase of sucrose content in *Dg* and a decrease in DP3-4 fructan content in *Pt* (Fig. 2C, Fig.3C). Monosaccharides were altered by the moderate drought only in the taproot of *To* with an increase in fructose contents, and in root apices of *Fa* with a decrease in fructose content (Fig. S3).

Finally, the seven populations can then be separated in three groups according to the effect of the moderate drought on WSC metabolism: (1) population in which WSC metabolism was not altered (*To*); (2) populations showing an accumulation of fructans and/or sucrose in roots (*Md* and *Dg*) and (3) populations showing an accumulation of sucrose in leaf meristem (*Tf*, *Pp*, *Fa*, *Pt*).

Plant responses to severe drought

The severe drought corresponded to the 30 following days without watering (DOY 202-231).

Effects of severe drought on leaf and root traits

For all populations, the SWC at -10 and -40 cm soil depths was on average $0.042 \pm 0.001 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ during the severe drought (Fig. 1). For the populations with a shallow root system, such as *Tf*, *Pp* and *Pt*, the SWC at 1 m soil depth remained unaffected by the severe drought and was on average $0.272 \pm 0.003 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$; whereas it was decreased to $0.010 \pm 0.002 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ on average for *To*, *Fa*, *Dg* and *Md* (Fig. 1). WU ranged from 19 ± 4 to $70 \pm 11 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ between populations (Table 2).

After the end of leaf growth, the fraction of green tissues decreased rapidly and was related to decreasing SWC (data not shown). The SWC associated with 50% senescence (SWC_s) was much lower for *Md* ($0.052 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$) than for *Pt* ($0.137 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$) (Table 2). Then, LS reached 100% for *Pt* and *Fa* and was significantly higher than that observed on *To*, *Md* and *Pp* ($\leq 90\%$; Table 2). LRWC of the remaining living leaves of *To*, *Md*, *Tf* and *Pp* was very low (20%) and was not significantly different between these four populations. MWC was the highest for *Dg*, *Md* and *To*, and was the lowest for *Pt* ($\leq 15\%$). Taproot of *To* and roots of *Tf* had the highest RRWC at the end of the drought treatment ($> 70\%$, Table 2) and was $\geq 60\%$ for the other populations. At the end of the severe drought, CMS in plant organs was significantly affected by the drought treatment, except for leaf meristem and roots of *Md*, roots of *Pt* and leaf meristems and stolons of *Tf* (Fig. 4). Although the CMS of leaf meristem of *Md* tended to be higher ($> 50\%$) than that of the other populations, differences were not

significant. However, the CMS of roots, root apices and storage organs were significantly different between populations (Fig. 4; Fig. S4). The highest CMS in roots and root apices were measured on *Fa* and *Md*, respectively (> 30%). Root CMS of *To* and *Tf* was very low (< 20%) but was higher in taproot and stolons (>30%).

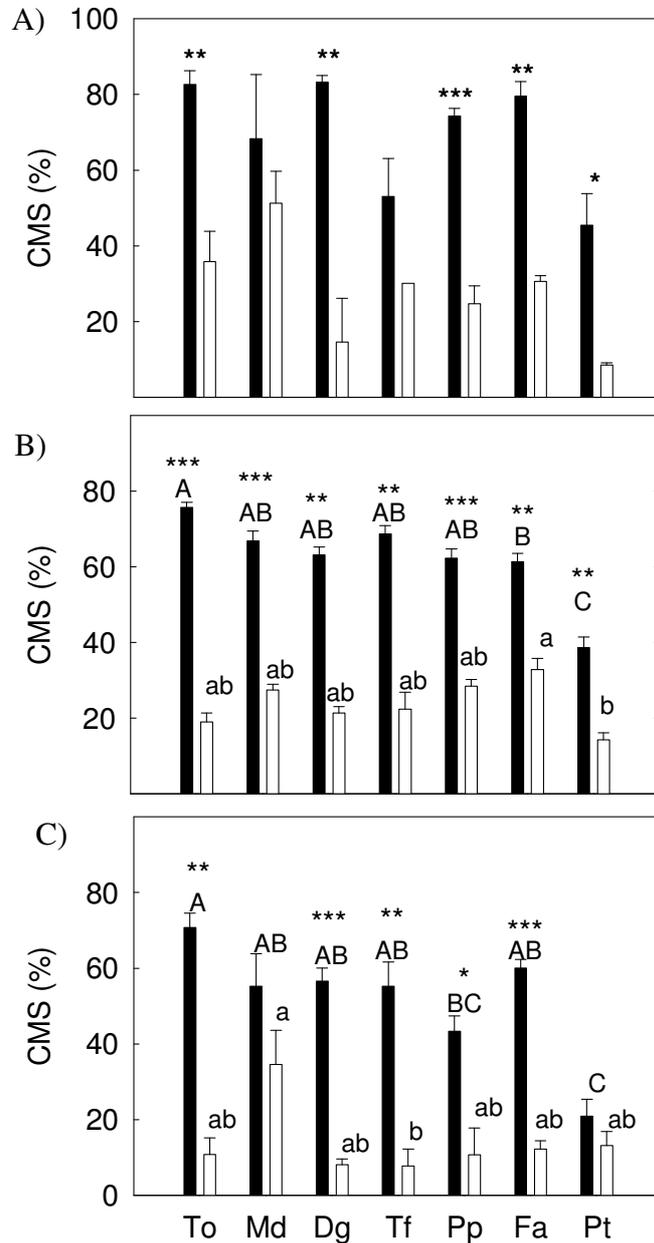


Figure 4. Cell membrane stability (CMS) in leaf meristem (A), in root system (B), in root apices (C) of the seven herbaceous populations measured at the end of drought in irrigated control (black) and drought (white) treatments. Mean values \pm SE are shown (n=3). Letters indicate significant differences between populations according to Tukey tests after ANOVA simple factor for Control (upper case) and Drought (lower case) treatments. Stars indicate significant effect of drought treatment on plant organs for each population (***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*)

Effects of severe drought on WSC contents

In leaf meristems, there was no change in total WSC, as well as in fructan and sucrose contents during the severe drought (days 20-50 after the last watering; Fig. 2A and 3A). For *Tf*, stolons appeared during the severe drought and showed high DP ≥ 5 fructan content ($93.6 \pm 4.8 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) (Fig. 1A). By contrast, total WSC contents decreased significantly in the root systems for *To*, *Md*, *Dg*, and *Pp* and tended to decrease in the other populations (Fig. 2B) due to both a decrease of high-DP fructans and sucrose (Fig. 2C and 3C). In the deepest root apices, total WSC content and WSC composition were not significantly modified by the severe drought.

In summary, the major effect of the severe drought in all populations was a decrease of fructan and sucrose contents in roots. Nevertheless, at the end of the severe drought, populations were discriminated by WSC contents in roots ($P < 0.001$) according to three groups: (1) *Md*, *Pp* and *Tf* ($\text{WSC} > 44 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$), (2) *To* ($58 < \text{WSC} < 61 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$), (3) *Dg*, *Fa* and *Pt* ($\text{WSC} < 56 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$) (Fig.2B). At the end of summer, WSC and DP ≥ 5 fructan contents were significantly lower in roots of plants submitted to drought than in roots of fully irrigated plants, except for *Fa* and *Pt* (Fig. 2A). Conversely, sucrose content in leaf meristems and roots was the highest in drought stress plants (Fig. 3A and 3B).

Plant survival and one-year recovery after drought

All populations were able to regrow when re-watered during two weeks after drought, but plant survival rates differed between populations (Fig. 5A). Thus, three groups of populations were identified: (1) high survival for *To* and *Md* ($> 90\%$), (2) intermediate survival for *Dg*, *Tf* and *Pp* (50-70%), and (3) low survival for *Fa* and *Pt* ($< 20\%$). However, the one-year recovery of aerial green tissue measured in spring was not significantly different between populations (Fig. 5B).

According to Pearson's correlations (Table 4), plant survival was positively correlated to the LER_{max} , RM , D_{max} and R:S measured in spring under full irrigation. Plant survival was also positively correlated to LRWC , WU and $\text{DP} \geq 5$ fructan contents in root system measured at the end of moderate drought. By contrast, it was negatively correlated to sucrose content in leaf meristems at the end of moderate drought. Plant survival was positively correlated to MWC and the CMS in leaf meristems measured at the end of the severe drought. In addition, it was negatively correlated to LS measured at the end of the severe drought. The plant recovery in the following spring was only correlated to SWC_{el} .

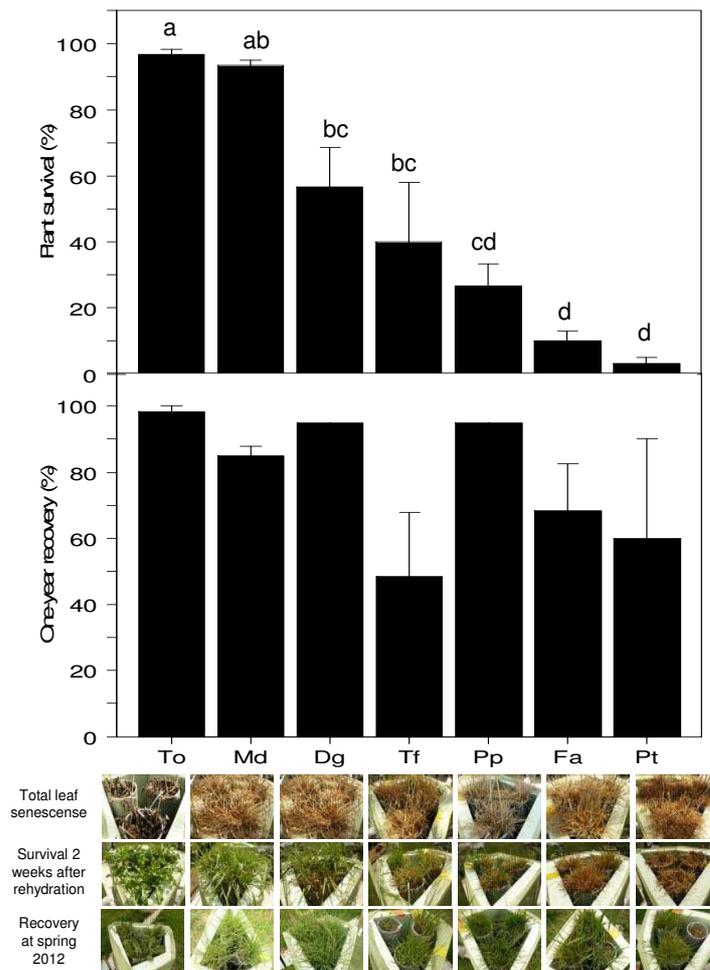


Figure 5. Mean (\pm SE) percentage of plant survival after two weeks of rehydration and plant recovery in the following spring for the seven herbaceous populations: Letters indicate significant differences between populations according to the post hoc Tukey test ($P < 0.05$). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

The dehydration avoidance by maximization of water uptake was assessed by WU and LRWC which were correlated to RM and D_{max} (Table 4). In addition, the dehydration avoidance through minimization of water loss by senescence was assessed by SWC_s which was negatively correlated to D_{max} and D_{95} . The dehydration tolerance by membrane protection was assessed by the CMS. In leaf meristems, it was not correlated to carbohydrate contents. By contrast, the CMS was correlated to sucrose contents in roots. In the deepest root apices, the CMS was negatively correlated to RRWC and, as for leaf meristems, was not correlated to carbohydrate contents.

Table 4. Correlations among plant traits measured under full irrigation (DOY 78-181), moderate drought (DOY 182-201) and severe drought (DOY 202-231) in order to determine traits associated to dehydration avoidance and dehydration tolerance strategies, plant survival and plant recovery. Significant correlations are symbolised by bold (P< 0.05) and underlined characters (P< 0.001).

		Dehydration avoidance					Dehydration tolerance				SURV	RECOV
		LRWC	RRWC	WU	SWCel	SWCs	MWC	CMSm	CMSr	CMSa		
Full irrigation	LERmax	0.38	0.26	<u>0.71</u>	0.30	-0.52	<u>0.70</u>	0.31	-0.08	0.15	<u>0.68</u>	0.35
	RM	0.66	0.29	<u>0.87</u>	0.04	-0.43	0.56	0.46	-0.05	-0.04	0.62	0.31
	Dmax	0.58	-0.02	<u>0.84</u>	0.00	<u>-0.85</u>	0.48	0.43	0.35	0.26	0.53	0.41
	D95	-0.14	-0.31	0.26	-0.41	<u>-0.76</u>	0.03	0.19	0.59	0.17	0.00	0.01
	R:S	0.76	0.42	<u>0.74</u>	0.08	-0.12	0.47	0.22	-0.22	-0.07	0.56	0.31
Moderate drought	LRWC		0.28	<u>0.81</u>	0.22	-0.43	0.60	0.52	-0.04	0.20	0.67	0.39
	RRWC	0.28		0.20	0.00	0.23	0.23	0.01	-0.38	-0.44	0.31	0.16
	WU	<u>0.81</u>	0.20		0.11	-0.63	0.63	0.40	0.08	0.12	<u>0.72</u>	0.43
	HDPm	0.30	-0.38	0.11	0.28	-0.31	0.04	0.32	-	-	0.28	0.07
	Sucrose _m	-0.39	-0.01	-0.46	-0.29	0.02	-0.43	-0.24	-	-	-0.50	-0.22
	HDP _r	0.46	0.46	0.43	0.30	-0.11	0.56	-	0.01	-	0.60	0.26
	Sucrose _r	-0.11	0.10	0.03	0.15	-0.19	0.32	-	0.59	-	0.26	0.06
	WSCa	0.18	<u>0.72</u>	0.10	-0.16	0.05	0.23	-	-	-0.24	0.18	0.05
SWCel	0.22	0.00	0.11		0.13	0.35	0.02	-0.17	0.21	0.45	0.46	
Severe drought	LS	-0.41	0.11	-0.33	-0.53	0.39	-0.53	-0.59	-0.25	-0.44	<u>-0.70</u>	-0.24
	SWCs	-0.43	0.23	-0.63	0.13		-0.42	-0.63	-0.56	-0.41	-0.42	-0.22
	MWC	0.60	0.23	0.63	0.35	-0.42		0.57	0.05	0.28	<u>0.76</u>	0.34
	CMSm	0.52	0.01	0.40	0.02	-0.63	0.57		0.33	0.27	0.51	0.09
	CMSr	-0.04	-0.38	0.08	-0.17	-0.56	0.05	0.33		0.14	0.06	-0.09
	CMSa	0.20	-0.44	0.12	0.21	-0.41	0.28	0.27	0.14		0.36	0.17
	SURV	0.67	0.31	<u>0.72</u>	0.45	-0.42	<u>0.76</u>	0.51	0.06	0.36		0.28
	RECOV	0.39	0.16	0.43	0.46	-0.22	0.34	0.09	-0.09	0.17	0.28	

CMS: Cell Membrane stability in leaf meristem (m), roots (r) and root rapices (a) (%); Dmax: maximum Rooting depth (cm); D95: 95% rooting depth (cm); HDP: Fructan DP_{≥5} contents in leaf meristem (m) and roots (r) (mg g⁻¹); LERmax: maximum Leaf Elongation Rate (mm d⁻¹); LRWC: Leaf relative Water Content (%); LS: Leaf Senescence (%); MWC: Water Content of leaf meristem (%); RECOV: one-year recovery of aerial green tissue (%); RM: Total Root Mass (kg m⁻³); RRWC: Root Relative Water Content (%); RS: Root/Shoot ratio; SURV: survival rate (%); SWCel: Soil water content at the end of leaf growth (m³ m⁻³); SWCs: Soil water content at 50% of leaf senescence (m³ m⁻³); WSC: water soluble carbohydrate content in root apices (mg g⁻¹); WU: Water used (g kg⁻¹)

The PCA performed with these traits showed that the first two axes accounted for 56.0% of total variance observed among populations (Fig. 6). The first axis accounted for 41.8% of the variance and shows a ranking of populations according to plant survival and plant recovery associated with traits related to resource acquisition (LER_{max} , RM, and Dmax), dehydration avoidance (LRWC during moderate drought, WU at the end of drought), as well of dehydration tolerance (CMS of leaf meristems at the end of drought and leaf meristem sucrose contents during moderate drought). The second axis explained an additional 14.2% of the variance and was correlated to traits which can be associated to dehydration tolerance such as RRWC and carbohydrate contents of root and root apices). This axis showed a main contrast between the Mediterranean cultivar and the upland populations.

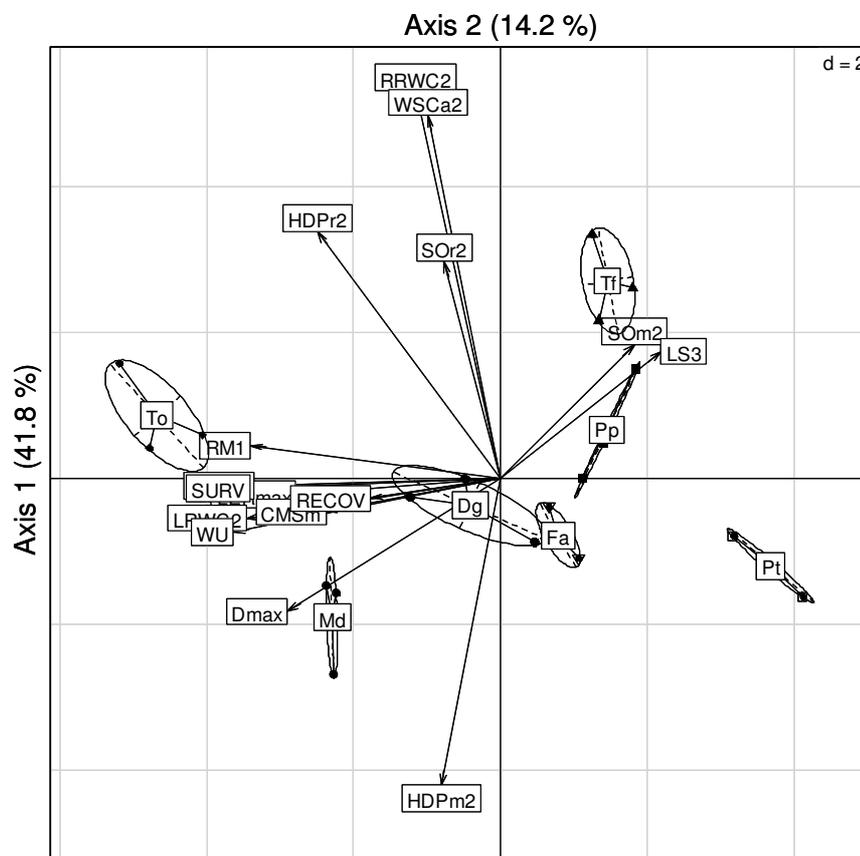


Figure 6. Biplot of the first two principal component analysis between traits measured on seven herbaceous populations under full irrigation in spring (LER_{max} : maximum leaf elongation rate; RM: root mass; Dmax: maximum rooting depth), during moderate drought (LRWC2: leaf relative water content; RRWC2: root relative water content; HDPm2: fructans $DP \geq 5$ contents in leaf meristem; HDPPr2: fructans $DP \geq 5$ contents in root system; SOM2: SO content in leaf meristem; SOr2: SO content in root system; WSCa2 : water soluble carbohydrate content in deepest root apices; WU: water used), under severe drought (MWC3: leaf meristem water content; LS3: leaf senescence; CMSm: cell membrane stability) and after drought (SURV: plant survival rate; RECOV: plant recovery in the following spring). Ellipses show the inertia center for each population variability (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

Discussion

Drought survival is mainly associated with dehydration avoidance

Dehydration avoidance is achieved through a combination of responses enhancing the maximization of water uptake and the minimization of water loss under drought (Ludlow, 1989). As expected, the populations with a higher RM and D_{\max} , such as *To*, *Md*, *Dg* and *Fa* had a greater water use during the moderate drought (Table 2, Table 4, Fig. 6). As previously shown for other species (Jackson *et al.*, 2000; Pinheiro *et al.*, 2005; Volaire, 2008), water uptake is mainly associated to initial root traits (Table 4). The maintenance of water uptake by the roots during a drought period is mainly driven by hydraulic continuity between roots and soil, and hydraulic properties of roots (Passioura, 1988), which all depend on root morphology and anatomy (North and Nobel, 1991; Rieger and Litvin, 1999; Huang and Eissenstat, 2000; Steudle, 2000; Hernández *et al.*, 2009). Root traits such as RRWC during the drought treatment (Table 2) and differences in root diameter and tissues density (Picon-Cochard *et al.*, 2012) suggest differences in water acquisition strategy and therefore in the ability to maintain water uptake. In arid and semi-arid environments, relative small proportions of roots in deeper and moister soil layers could be enough to sustain water absorption of plant (Jackson *et al.*, 1996; Nicotra *et al.*, 2002). The populations *To* and *Md*, which maintained a root production during the drought (Table 2, Table 3) had a higher drought survival rate (Fig. 4). Root growth maintenance under moderate water stress was also identified as an important mechanism to avoid dehydration by maximizing water uptake through an increase in root absorption area (Passioura, 1981, 1988; Vartanian, 1981; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). The changes in relative water content in tissues (RRWC and LRWC) are indicators of the cellular adjustments (accumulation of solutes and/or cell wall hardening) made by the plant to achieve a low water potential while avoiding water loss (Verslues *et al.*, 2006). In this study, plant ability to maintain RRWC during drought was not related to plant survival (Table 4). By contrast, LRWC at moderate drought was correlated to WU and plant survival (Table 4), which confirms that maximising water uptake during drought is an important mechanisms to maintain hydration of lamina (Passioura, 1981; Chaves and Pereira, 1992; Volaire *et al.*, 2009; Lelièvre *et al.*, 2011).

Other mechanisms, such as modifications in water-use efficiency and regulation of stomatal conductance are involved in dehydration avoidance (Jones *et al.*, 1981; Chaves and Pereira, 1992; Golluscio and Oesterheld, 2007). In addition, when the stress intensifies, increased leaf senescence by reducing leaf area and evaporation, contributes to the minimization of water loss (Ludlow, 1989; Gepstein, 2004). In this study, leaf senescence was

not adaptive but an indicator of drought vulnerability (Table 4, Fig. 6). Conversely, progressive foliage senescence was positively correlated with plant survival in a range of Mediterranean grasses (Volaire *et al.*, 1998b; Volaire and Lelievre, 2001; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). This suggests differences in plant strategies for dehydration avoidance between temperate and Mediterranean herbaceous plants which can exhibit summer dormancy with induced foliage senescence, as a specific strategy to survive extreme drought (Volaire and Norton, 2006).

Dehydration avoidance and tolerance are associated with water soluble carbohydrate metabolism

This study showed that plant survival rate was associated with high leaf meristem hydration and CMS under the severe drought (Table 4), which confirm that the ability of plant to protect leaf meristem is a key mechanism of drought tolerance to ensure plant survival (Volaire *et al.*, 1998b; Volaire and Lelievre, 2001). Higher dehydration avoidance and dehydration tolerance were both previously attributed to WSC, through their involvement in osmotic adjustments and cell membrane stabilization (Thomas, 1991; Volaire *et al.*, 1998b; Livingston *et al.*, 2009). In this study, total WSC content in leaf meristem was not discriminating between populations (Fig. 2A). However, each carbohydrate was differently modulated by drought according to the population (Fig. 2A, Fig. 3A), which indicates that carbohydrate composition rather than carbohydrate content is involved in drought tolerance mechanisms as already suggested (Ingram and Bartels, 1996).

In this study, sucrose content in leaf meristems at moderate drought was negatively correlated to plant survival (Table 4, Fig. 6) and could be recognized as an indicator of drought vulnerability for upland herbaceous plants. For the sensitive populations, *Tf*, *Pp*, *Fa* and *Pt* (Fig. 5), sucrose was accumulated in leaf meristems during the moderate drought (Fig. 3A), while fructans decreased significantly for the most sensitive populations, *Fa* and *Pt* (Fig. 2A). When the photosynthetic machinery is altered by prolonged drought (Chaves and Pereira, 1992), carbohydrate contents are directly or indirectly modified and may act as metabolic signals to promote leaf senescence and reserve mobilization (Zeppel *et al.*, 2011; McDowell, 2011; Sala *et al.*, 2012). Although increasing sucrose synthesis could be stimulated by drought (Ingram and Bartels, 1996), more studies on enzyme activities are needed to elucidate the role of fructan hydrolysis in sucrose accumulation under drought and their implication in mortality process. Indeed, it may be that the hydrolysis of the polymers and the concomitant synthesis of sucrose during growth are the mechanisms by which plant

tissues survive to water deficits (Spollen and Nelson, 1994; Xue *et al.*, 2008; Saeedipour and Moradi, 2011). As sucrose was recognized to play an important role in osmotic adjustments during drought (Jones *et al.*, 1981; Thomas, 1991; Volaire *et al.*, 1998*a,b*), these results suggest that this compound may be involved in the dehydration avoidance strategy of the most sensitive populations.

Depending on species and duration of drought, fructans are either accumulated (Voltaire and Lelievre, 1997; Voltaire *et al.*, 1998*b*; De Roover *et al.*, 2000), modified in chain length (Thomas, 1991; Voltaire *et al.*, 1998*b*; Thomas and James, 1999), or reduced (Thomas, 1991; Spollen and Nelson, 1994; Clark *et al.*, 2004). In this study and as observed in Mediterranean populations (Voltaire and Thomas, 1995; Voltaire *et al.*, 1998*b*; Voltaire, 2008), maintenance or accumulation of DP ≥ 5 fructan content in leaf meristems during drought (Fig. 2A) could contribute to higher survival in less sensitive populations, *To*, *Md* and *Dg* (Fig. 5). More generally and considering all populations, plant survival was positively correlated to the DP ≥ 5 fructan contents in roots (Table 4). This could be due to the role of fructans in cell membrane protection.

Finally, accumulation of sucrose observed in roots of *Md*, *Dg*, *Pp* and *Fa* (Fig. 3B) may contribute to dehydration tolerance by membrane protection since sucrose content at moderate drought was positively correlated to root CMS (Table 4). In leaves of resurrection plants, sucrose is the main carbohydrate contributing to drought tolerance by membrane and protein stabilization (Ingram and Bartels, 1996; Scott, 2000). However in this study, root CMS was not related to plant survival (Table 4). Thus, dehydration tolerance of the root system was not enough to ensure plant survival which underlies the role of leaf meristem in re-growth capacity after rehydration in herbaceous populations from upland grasslands.

No Trade-off between strategies for resource acquisition in optimum conditions and strategies for drought survival of temperate herbaceous species

As proposed by Ludlow (1989), our results show that upland herbaceous populations were able to combine strategies for resource acquisition and strategies for drought resistance (Table 4, Fig. 6). The ability to regrow after rehydration was correlated to LER_{max} and Dmax (Table 4), in other words a higher drought survival was observed for the fast growing populations with deeper roots, such as *To*, *Md* and *Dg* (Fig. 5, Fig. 6). A higher LER can give a competitive advantage for maintaining photosynthesis and root growth, although the resulting greater leaf area may be less efficient to avoid dehydration (Pérez-Ramos *et al.*, 2013). As LER_{max} and WU were positively correlated (Table 4, Fig. 6), our results confirm that

differences among populations in dehydration avoidance strategy are closely associated with strategy to acquire water (Chaves, 2002).

However, a dehydration avoidance strategy based mainly on the maximisation of water acquisition was not efficient enough to ensure plant survival. Although *Fa* had a deep root system and a high root mass, it was not able to maintain LRWC and MWC and therefore had a low survival rate (Table 2, Fig.5, Fig. 6). This could be explained by a higher leaf transpiration and a lower water-use efficiency in comparison with *Dg* and *To* (Brock and Galen, 2005; Milbau *et al.*, 2005). In addition, populations that were least efficient to avoid dehydration but which had storage organs, such as *Tf* and *Pp*, had higher drought survival than *Fa* (Fig. 5), probably due to the amount of carbohydrate reserves in storage organs (Fig. 2). Therefore, these results confirmed that storage organs contribute to plant recovery (Klimešová and Klimeš, 2007; Carter *et al.*, 2012). Furthermore, previous study on *Pp* showed higher ion solutes and WSC concentrations in roots, and extensive root development after drought treatment (Jiang and Huang, 2000), which could explain the better one-year recovery than that observed for *Tf* and *Pt* (Fig. 5B).

All populations showed dehydration avoidance and tolerance mechanisms involving sucrose and/or fructan accumulation in plant organs. Moreover, differences between carbohydrate dynamics in response to drought were as high between grasses as between grasses and the forb species (*To*) (Fig. 2, Fig. 3, Fig. S4). The Mediterranean cultivar of cocksfoot (*Md*) survived better than the ecotype of cocksfoot from upland origin, probably because of its higher initial fructan level in leaf meristems which confirms previous results for this species (Volaire, 1995; Volaire and Lelievre, 2001).

Finally, we can propose four functional types according to resource acquisition and drought response strategies : (1) the forb population (*To*) showed efficient LER, with deep and high root mass for water and resource acquisition and was the most efficient upland population for dehydration avoidance and plant survival; (2) the Mediterranean ecotype (*Md*) showed fast LER, deep and high root mass, high fructan contents in leaf meristems and roots, and was efficient both for dehydration avoidance and tolerance and therefore drought survival; (3) upland grasses, such as *Dg*, *Fa*, *Tf* and *Pp* were able to uptake water in deep soil layers and to delay leaf senescence resulting in moderate drought survival; (4) upland conservative grass with shallow roots and high leaf senescence during drought, such as *Pt*, which was the less efficient population for resource acquisition and overall exhibit a low plant drought survival.

This study on herbaceous grassland populations showed a diversity in plant strategies to survive and recover after moderate and severe drought, as observed by Craine *et al.*, (2012) or Perez Ramos *et al.*, (2013). Within the plant material tested originating from areas subjected to infrequent severe drought, no trade-off was found between high resource acquisition under non limiting conditions and efficient drought survival. This performance mainly results of a dehydration avoidance strategy associated to a strong allocation of carbon to the root system ensured by an efficient carbon acquisition at the whole plant level. It is noteworthy that the plant survival of most populations except *Taraxacum officinale* and *Dactylis glomerata* was very low (5 to 50%) while their one-year recovery averaged around 60%. It suggests that populations with greater dehydration tolerance and/or with storage organs ensuring maintenance of key-organs, may survive better and even become dominant in natural upland grasslands under more frequent severe droughts. In the context of climate change, our results also suggest that more diverse plant community could ensure a better resilience of grassland services after extreme events.

REFERENCES

- Amiard V, Morvan-Bertrand A, Billard JP, Huault C, Keller F, Prud'homme M-P.** 2003. Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Plant Physiology* **132**, 2218–2229.
- Annicchiarico P, Pecetti L, Bouzerzour H, Kallida R, Khedim a., Porqueddu C, Simões NM, Volaire F, Lelièvre F.** 2011. Adaptation of contrasting cocksfoot plant types to agricultural environments across the Mediterranean basin. *Environmental and Experimental Botany* **74**, 82–89.
- Antonetti P, Brugel E, Kessler F, Barbe J, Tort M.** 2006. *Atlas de la flore d'Auvergne*.
- BassiriRad H, Caldwell M.** 1992. Root growth, osmotic adjustment and NO₃-uptake during and after a period of drought in *Artemisia tridentata*. *Australian Journal of Plant Physiology* **19**, 493–500.
- Bazzaz FA.** 1996. *Plants in changing environments: linking physiological, population, and community ecology*. Cambridge University Press.
- Blum A, Ebercon A.** 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science* **21**, 43–47.
- Brock MT, Galen C.** 2005. Drought tolerance in the Alpin Dandelion, *Taraxacum ceratophorum* (Asteraceae), its exotic congener *T. officinale*, and interspecific hybrids under natural and experimental conditions. *American Journal of Botany* **92**, 1311–1321.
- Carter DL, VanderWeide BL, Blair JM.** 2012. Drought-mediated stem and below-ground bud dynamics in restored grasslands. *Applied Vegetation Science* **15**, 470–478.
- Charrier G, Améglio T.** 2011. The timing of leaf fall affects cold acclimation by interactions with air temperature through water and carbohydrate contents. *Environmental and Experimental Botany* **72**, 351–357.
- Chatterton N, Harrison P, Bennett JH, Asay KH.** 1989. Carbohydrate partitioning in 185 accessions of Gramineae grown under warm and cool temperatures. *Journal of Plant Physiology* **134**, 169–179.
- Chaves MM.** 2002. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* **89**, 907–916.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS.** 2003. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* **30**, 239–264.
- Chaves MM, Pereira JS.** 1992. Water stress, CO₂ and climate change. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1131–1139.
- Clark GT, Zuther E, Outred H a., McManus MT, Heyer AG.** 2004. Tissue-specific changes in remobilisation of fructan in the xerophytic tussock species *Festuca novae-zelandiae* in response to a water deficit. *Functional Plant Biology* **31**, 377.

- Comas LH, Eissenstat DM.** 2004. Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology* **18**, 388–397.
- Craine JM, Ocheltree TW, Nippert JB, Towne EG, Skibbe AM, Kembel SW, Fargione JE.** 2012. Global diversity of drought tolerance and grassland climate-change resilience. *Nature Climate Change* **3**, 63–67.
- Dray S, Dufour A-B.** 2007. The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of statistical software* **22**, 1–20.
- Fernández RJ, Reynolds JF.** 2000. Potential growth and drought tolerance of eight desert grasses : lack of a trade-off ? *oecologia* **23**, 90–98.
- Garnier E, Laurent G, Bellmann A, Debain S, Berthelie P, Ducout B, Roumet C, Navas ML.** 2001. Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *New Phytologist* **152**, 69–83.
- Gepstein S.** 2004. Leaf senescence - not just a “wear and tear” phenomenon. *Genome biology* **5**, 212.
- Golluscio RA, Oesterheld M.** 2007. Water use efficiency of twenty-five co-existing Patagonian species growing under different soil water availability. *Oecologia* **154**, 207–217.
- Grime JP.** 2001. *Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties* (JP Grime, Ed.). John Wiley & Sons Ltd.
- Harrel JFE, Dupont MC.** 2007. The Hmisc Package.
- Hendry G.** 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans—a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist* **123**, 3–14.
- Hernández EI, Vilagrosa A, Pausas JG, Bellot J.** 2010. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology* **207**, 233–244.
- Hincha DK, Livingston III DP, Premakumar R, Zuther E, Obel N, Cacula C, Heyer AG.** 2007. Fructans from oat and rye: Composition and effects on membrane stability during drying. *Biochimica et biophysica acta* **1768**, 1611–1619.
- Hincha DK, Zuther E, Hellwege EM, Heyer AG.** 2002. Specific effects of fructo- and gluco-oligosaccharides in the preservation of liposomes during drying. *Glycobiology* **12**, 103–110.
- Hothorn AT, Bretz F.** 2009. The multcomp Package.
- Huang BR, Eissenstat DM.** 2000. Linking hydraulic conductivity to anatomy in plants that vary in specific root length. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **125**, 260–264.
- Huang BR, Gao HW.** 2000. Growth and carbohydrate metabolism of creeping bentgrass cultivars in response to increasing temperatures. *Crop Science* **40**, 1115–1120.

- Ingram J, Bartels D.** 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **47**, 377–403.
- IPCC.** 2012. *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation* (CB Field, V Barros, TF Stocker, and Q Dahe, Eds.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Jackson RB, Canadell J, Ehleringer JR, Mooney HA, Sala OE, Schulze ED.** 1996. A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* **108**, 389–411.
- Jackson RB, Sperry JS, Dawson TE.** 2000. Root water uptake and transport: using physiological predictions. *Trends in plant science* **5**, 482–488.
- Jiang Y, Huang B.** 2000. Effects of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop science* **40**, 1358–1362.
- Jones MM, Turner NC, Osmond CB.** 1981. Mechanisms of drought resistance. In: Paleg LG, Aspinall D, eds. *The physiology and biochemistry of drought resistance in Plants*. 15–37.
- Kemp D, Culvenor R.** 1994. Improving the grazing and drought tolerance of temperate perennial grasses. *New Zealand journal of agricultural Research* **37**, 37–41.
- Klimešová J, Klimeš L.** 2007. Bud banks and their role in vegetative regeneration – A literature review and proposal for simple classification and assessment. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **8**, 115–129.
- Knapp AK, Beier C, Briske DD, Classen AT, Luo Y, Reichstein M, Smith MD, Smith SD, Bell JE, Fay PA, et al.** 2008. Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems. *Bioscience* **58**, 811–821.
- Lattanzi FA, Schnyder H, Thornton B.** 2004. Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. *Plant Cell and Environment* **27**, 347–356.
- Lelièvre F, Seddaiu G, Ledda L, Porqueddu C, Volaire F.** 2011. Water use efficiency and drought survival in Mediterranean perennial forage grasses. *Field Crops Research* **121**, 333–342.
- Lelièvre F, Volaire F.** 2009. Current and potential development of perennial grasses in rainfed Mediterranean farming systems. *Crop Science* **49**, 2371–2378.
- Livingston DP, Hinch DK, Heyer AG.** 2009. Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* **66**, 2007–23.
- Ludlow MM.** 1989. Strategies of response to water stress. In: Kreeb K, Richter H, Hinckley T, eds. *Structural and functional responses to environmental stresses*. SPB Academic Publishers, The Hague, The Netherlands, 269–281.

- Maire V, Gross N, Pontes LDS, Picon-Cochard C, Soussana JF.** 2009. Trade-off between root nitrogen acquisition and shoot nitrogen utilization across 13 co-occurring pasture grass species. *Functional Ecology* **23**, 668–679.
- McDowell N.** 2011. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant physiology* **155**, 1051–1059.
- Milbau A, Scheerlinck L, Reheul D, De Cauwer B, Nijs I.** 2005. Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. *Physiologia Plantarum* **125**, 500–512.
- Nicotra A, Babicka N, Westoby M.** 2002. Seedling root anatomy and morphology: an examination of ecological differentiation with rainfall using phylogenetically independent contrasts. *Oecologia* **130**, 136–145.
- North G, Nobel P.** 1991. Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave deserti* (Agavaceae). *American Journal of Botany* **78**, 906–915.
- Passioura JB.** 1981. Water collection by roots. In: Paleg LG, Aspinall D, eds. *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. 39–53.
- Passioura J.** 1988. Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **39**, 245–265.
- Paz H.** 2003. Root/Shoot allocation and root architecture in seedlings: variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica* **35**, 318–332.
- Peeters A.** 2004. *Wild and sown grasses*.
- Pérez-Ramos IM, Volaire F, Fattet M, Blanchard A, Roumet C.** 2013. Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany* **87**, 126–136.
- Picon-Cochard C, Pilon R, Tarroux E, Pages L, Robertson J, Dawson L.** 2012. Effect of species, root branching order and season on the root traits of 13 perennial grass species. *Plant and Soil* **353**, 47–57.
- Pilon-Smits EAEAH, Ebskamp MJM, Paul MJ, Jeuken MJW, Weisbeek PJ, Smeekens SCM.** 1995. Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant physiology* **107**, 125–130.
- Pilon-Smits E a. H, Terry N, Sears T, van Dun K.** 1999. Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry* **37**, 313–317.
- Pinheiro H a, Damatta FM, Chaves ARM, Loureiro ME, Ducatti C.** 2005. Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of *Coffea canephora*. *Annals of botany* **96**, 101–8.

- Pontes L da S, Carrere P, Andueza D, Louault F, Soussana J-F.** 2007. Seasonal productivity and nutritive value of temperate grasses found in semi-natural pastures in Europe: responses to cutting frequency and N supply. *Grass and Forage Science* **62**, 485–496.
- Poorter H, Garnier E.** 1999. Ecological significance of Inherent variation in relative growth rate and its components. In: Pugnaire F, Valladares F, eds. *Handbook of functional plant ecology*. Marcel Dekker, Inc., New York, 81–1220.
- Reich PB, Tjoelker MG, Walters MB, Vanderklein DW, Buschena C.** 1998. Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedlings of nine boreal tree species grown in high and low light. *Functional Ecology* **12**, 327–338.
- De Roover J, Vandenbranden, Van Laere a, Van den Ende W.** 2000. Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose:sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of chicory seedlings (*Cichorium intybus* L.). *Planta* **210**, 808–14.
- Ryser P, Urbas P.** 2000. Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos* **91**, 41–50.
- Saeedipour S, Moradi F.** 2011. Comparison of the drought stress responses of tolerant and sensitive wheat cultivars during grain filling: Impact of invertase activity on carbon metabolism during kernel development. *Journal of Agricultural Science* **3**, 32–44.
- Sala A, Woodruff DR, Meinzer FC.** 2012. Carbon dynamics in trees: feast or famine? *Tree physiology* **32**, 764–75.
- Schenk HJ, Jackson RB.** 2002. Rooting depths, lateral root spreads and below-ground/above-ground allometries of plants in water-limited ecosystems. *Journal of Ecology* **90**, 480–494.
- Scott P.** 2000. Resurrection plants and the secrets of eternal leaf. *Annals of Botany* **85**, 159–166.
- Shipley B, Lechowicz MJ, Wright I, Reich PB.** 2006. Fundamental trade-offs generating the worldwide leaf economics spectrum. *Ecology* **87**, 535–41.
- Skinner RH, Comas LLH.** 2010. Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. *Crop Science* **50**, 2178.
- Soussana J-F, Graux A-I, Tubiello FN.** 2010. Improving the use of modelling for projections of climate change impacts on crops and pastures. *Journal of experimental botany* **61**, 2217–28.
- Soussana J, Lüscher A.** 2007. Temperate grasslands and global atmospheric change: a review. *Grass and Forage Science* **62**, 127–134.
- Spollen WG, Nelson CJ.** 1994. Response of fructan to water-deficit in growing leaves of Tall Fescue. *Plant Physiology* **106**, 329–336.
- Team RC.** 2012. R: A language and environment for statistical computing.

- Thomas H.** 1991. Accumulation and consumption of solutes in swards of *Lolium perenne* during drought and after rewatering. *New Phytologist* **118**, 35–48.
- Thomas H, James A.** 1999. Partitioning of sugars in *Lolium perenne* (perennial ryegrass) during drought and on rewatering. *New phytologist* **142**, 295–305.
- Tubiello FN, Soussana J-F, Howden SM.** 2007. Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 19686–19690.
- Valluru R, Van den Ende W.** 2008. Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects. *Journal of experimental botany* **59**, 2905–16.
- Vartanian N.** 1981. Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems. *Plant and Soil* **63**, 83–92.
- Vereyken IJ, Chupin V, Demel R a, Smeekens SC, De Kruijff B.** 2001. Fructans insert between the headgroups of phospholipids. *Biochimica et biophysica acta* **1510**, 307–20.
- Vereyken IJ, Chupin V, Hoekstra FA, Smeekens SCM, de Kruijff B.** 2003. The effect of fructan on membrane lipid organization and dynamics in the dry state. *Biophysical Journal* **84**, 3759–3766.
- Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu J, Zhu J-K.** 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant journal : for cell and molecular biology* **45**, 523–39.
- Volaire F.** 1995. Growth, carbohydrate reserves and drought survival strategies of contrasting *Dactylis glomerata* populations in a Mediterranean environment. *Journal of Applied Ecology* **32**, 56–66.
- Volaire F.** 2002. Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of *Dactylis glomerata*. *Physiologia Plantarum* **116**, 42–51.
- Volaire F.** 2008. Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy* **29**, 116–124.
- Volaire F, Lelievre F.** 1997. Production, persistence, and water-soluble carbohydrate accumulation in 21 contrasting populations of *Dactylis glomerata* L. subjected to severe drought in the south of France. *Australian Journal of Agricultural Research* **48**, 933–944.
- Volaire F, Lelievre F.** 2001. Drought survival in *Dactylis glomerata* and *Festuca arundinacea* under similar rooting conditions in tubes. *Plant and Soil* **229**, 225–234.
- Volaire F, Norton M.** 2006. Summer dormancy in perennial temperate grasses. *Annals of botany* **98**, 927–33.

Voltaire F, Norton MR, Lelievre F. 2009. Summer drought survival strategies and sustainability of perennial temperate forage grasses in Mediterranean areas. *Crop Science* **49**, 2386–2392.

Voltaire F, Thomas H. 1995. Effects of drought on water relations, mineral uptake, water-soluble carbohydrate accumulation and survival of two contrasting populations of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *Annals of Botany* **75**, 513–524.

Voltaire F, Thomas H, Bertagne N, Bourgeois E, Gautier M-F, Lelièvre F. 1998a. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought II. Water status, solute accumulation, abscisic acid concentration and accumulation of dehydrin transcripts in bases of immature leaves. *New Phytologist* **140**, 451–460.

Voltaire F, Thomas H, Lelievre F. 1998b. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New Phytologist* **140**, 439–449.

Wahl S, Ryser P. 2000. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist* **148**, 459–471.

Wild M. 2010. The nitrogen and carbon supply system of leaf growth in perennial ryegrass – Characterization by dynamic ¹⁵N and ¹³C labeling and compartmental analysis of tracer influx into the leaf growth zone.

Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**, 821–827.

Xue G-P, McIntyre CL, Glassop D, Shorter R. 2008. Use of expression analysis to dissect alterations in carbohydrate metabolism in wheat leaves during drought stress. *Plant molecular biology* **67**, 197–214.

Zeppel MJB, Adams HD, Anderegg WRL. 2011. Mechanistic causes of tree drought mortality: recent results, unresolved questions and future research needs. *New Phytologist* **192**, 800–803.

SUPPORTING INFORMATION

Figure S1. Root profile in the soil of seven herbaceous populations under full irrigation in spring (black circles; dashed line), during moderate drought (grey circles; dashed line), under severe drought (white circles; dashed lines) and on the control irrigated treatment at the end of drought (black squares; full line). Mean values are shown \pm se (n=3). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt; *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

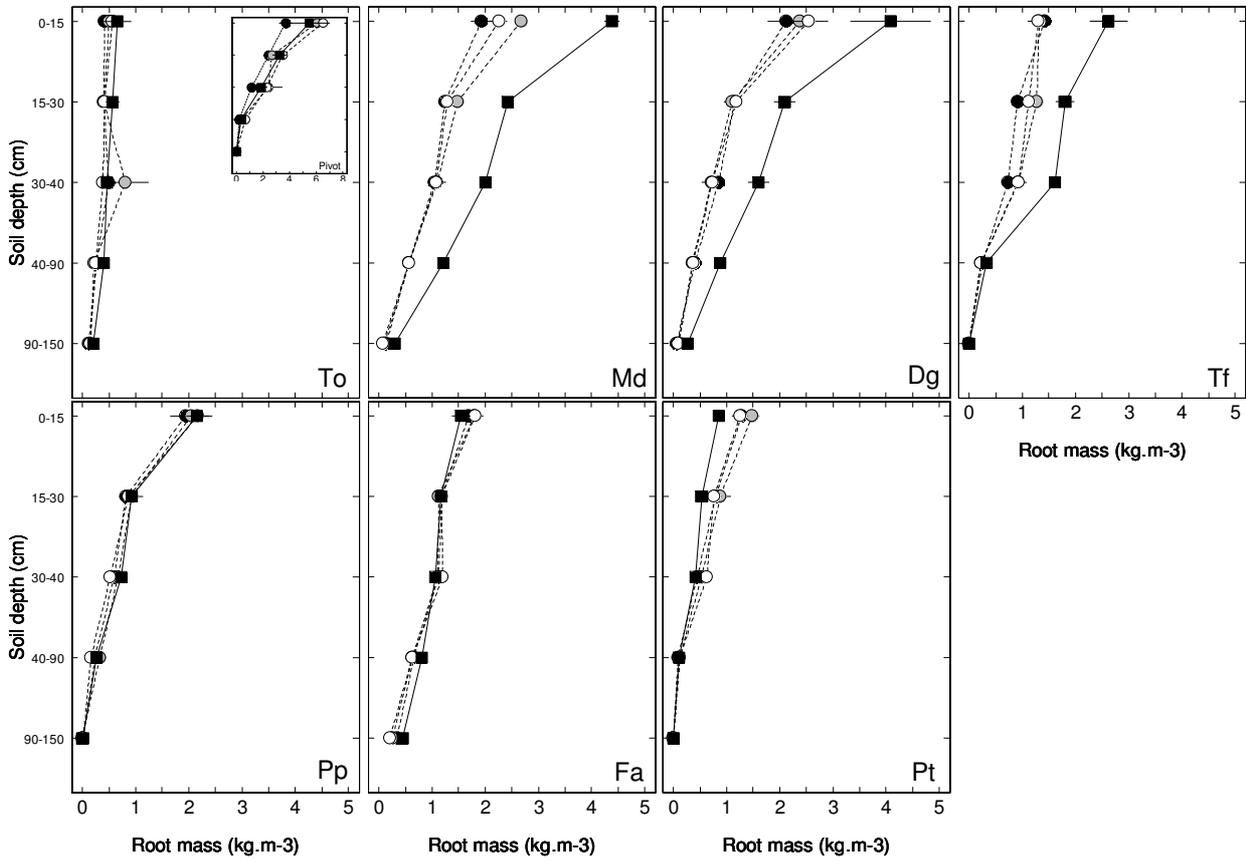


Figure S2. Total WSC content in plant organs of seven herbaceous populations, according to soil depth, measured under full irrigation in spring (black symbols), during moderate drought (grey symbols) and severe drought (white symbols). Means values \pm se are shown (n=3). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata cv. Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt; *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

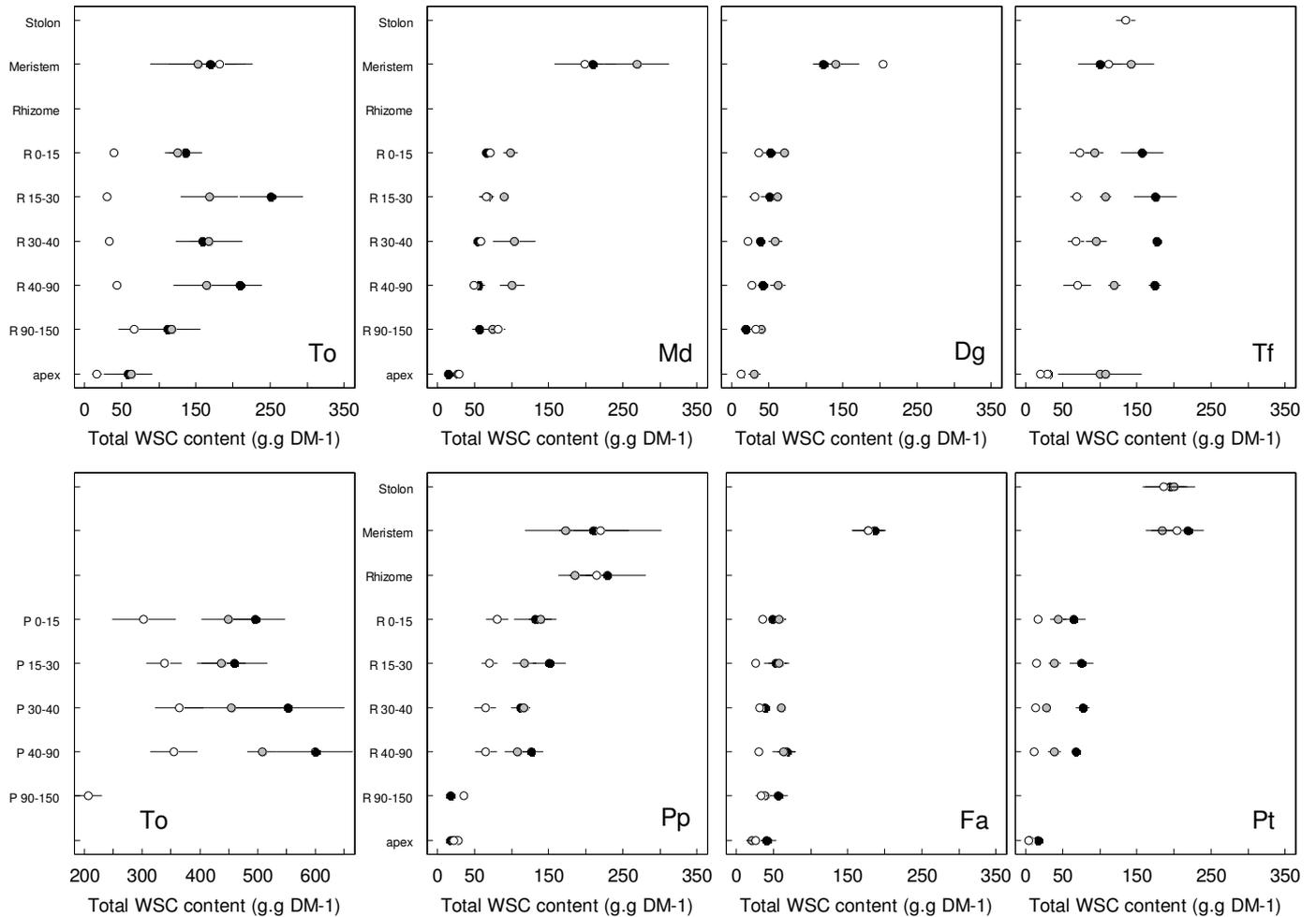


Figure S3. Fructose (white symbols) and glucose contents (black symbols) in leaf meristem (A), root system (B) and root apices (C) of seven populations of herbaceous species during the course of the experimental drought (circles) and on the control irrigated treatment (squares) at the end of drought. Letters indicate significant differences between sample dates according for Tukey tests (fructose: lower case; glucose: upper case). Means values \pm se are shown (n=3). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt; *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*).

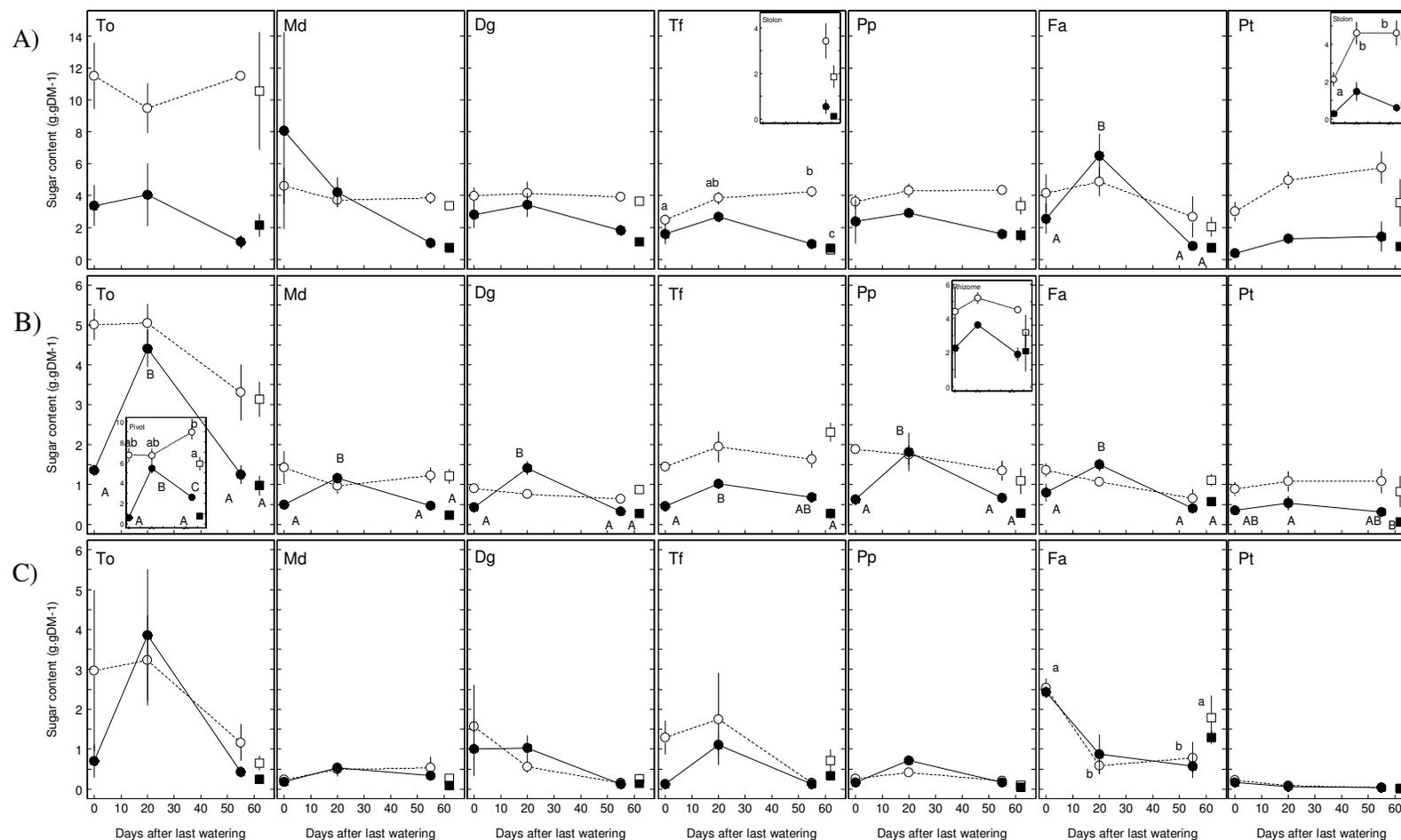
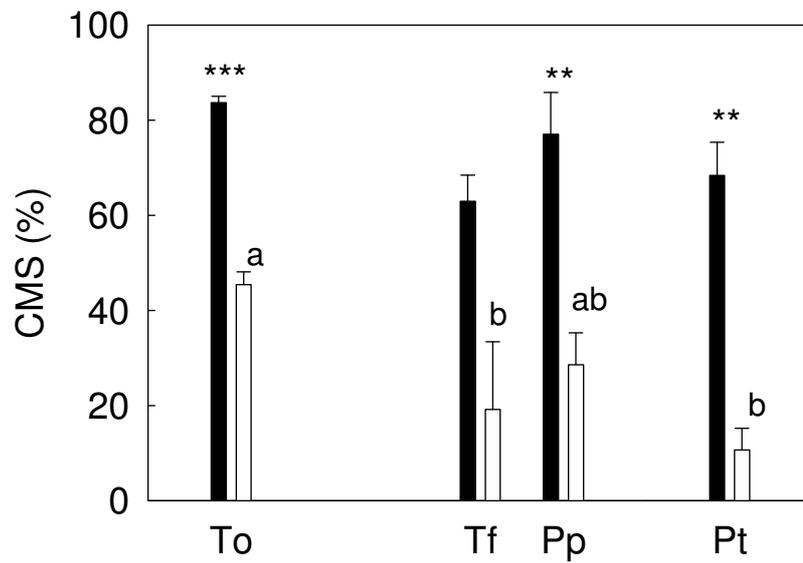


Figure S4. Cell membrane stability (CMS) in storage organs (D) of *Taraxacum officinalis* (taproot), *Trisetum flavescens* (stolon); *Poa pratensis* (rhizome) and *Poa trivialis* (stolon), measured at the end of drought in irrigated control (black) and drought (white) treatments. Mean values \pm SE are shown (n=3). Letters indicate significant differences between populations according to Tukey tests after ANOVA simple factor for Control (upper case) and Drought (lower case) treatments. Stars indicate significant effect of drought treatment on plant organs for each population (***: $P \leq 0.001$; **: $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$). (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinalis*)



Partie 2 – ETUDE COMPLEMENTAIRE**HOW ROOTS CONTRIBUTE TO THE ONE-YEAR RECOVERY OF SPRING
FORAGE PRODUCTION AFTER A SEVERE DROUGHT**

Introduction

Few studies suggested that drought may induce lasting effects on grassland production (Haddad *et al.*, 2002; Sherry *et al.*, 2008; Zwicke *et al.*, 2013). In additions, models simulation showed that drought memory may explain the interannual variability of grassland production (Wiegand *et al.*, 2004). However, understanding of lasting effects is limited and less is known about the plant strategies to recover forage production in temperate area.

The role of roots in recovery was first underlined by Vartanian (1981), which showed rapid recovery of fine root growth, in order to maximise water uptakes, after re-watering. Furthermore, soil drying may increase allocations to roots that consequently increase root-shoot ratio of plants (Skinner, 2008; Skinner & Comas, 2010). In our previous study, cell membrane stability (CMS) in roots was related to accumulation of sucrose at moderate drought for the seven populations studied (*Dg*: *D. glomerata*, *Fa*: *F. arundinacea*, *Md*: *D. glomerata* cv. Medly, *Pp*: *P. pratensis*, *Pt*: *P. trivialis*, *Tf*: *T. flavescens*, *To*: *T. officinale*). These physiological traits underline the role of roots in plant survival. But less is known about the role of roots in the one-year recovery of forage production after severe drought.

The sugar adjustments in response to moderate and severe drought were previously studied. Although water soluble carbohydrates (WSC) were not significantly correlated to plant survival and one-year recovery of aerial green tissues, it was demonstrated that WSC were greatly implicated in drought tolerance mechanisms. WSC contents, and particularly fructans with high degree of polymerisation ($DP \geq 5$) and sucrose (SO), in leaf meristems and roots measured at moderate drought were mostly discriminating between the studied populations, and suggest a diversity of drought resistance strategies. Fructans was recognized as main carbohydrates reserves in herbaceous of temperate area (Pollock & Jones, 1979; Pollock & Cairns, 1991). In addition, it was previously demonstrated that fructans accumulated in leaf meristems can act as available carbon for generating new tissues after defoliation (Morvan *et al.*, 1997; Amiard *et al.*, 2003b; Lattanzi *et al.*, 2004) or after drought conditions (Volaire *et al.*, 1998; Thomas & James, 1999; Amiard *et al.*, 2003a). Thus, we

tried to analyse the role of WSC and fructans with high degree of polymerisation ($DP \geq 5$) in the one-year recovery of grassland production.

To improve our understanding of plant strategies in resilience of grassland services, the one-year recovery of grassland production was estimated by spring forage production, the standing root mass and the root-shoot ratio measured in spring 2012. The forage production, the standing root mass and the root-shoot ratio of each population were measured in spring 2012, one year after the drought treatment, to answer the following questions: (1) what is the ability of herbaceous species to recover forage production one year after a severe drought? (2) How roots can contribute to the recovery of forage production? We hypothesized that (1) recovery of forage production is related to resource acquisition and drought resistance strategies; (2) roots can serve as storage organ during stress to ensure carbon availability for generating new tissues during the recovery period; (3) change in root-shoot ratio after the severe drought could explain lasting effects of drought on forage production.

Material & Methods:

Forage production in spring (SP)

Under full irrigation in spring 2011, populations were regularly cut (DOY 97; 116; 136; 165). To measure the one-year recovery of forage production, populations were cut twice in spring 2012 (DOY 78; DOY 151). For each cut, plant material was oven-drying at 60°C during 48h and weight. SP was calculated by summing dry weight of harvests in spring 2011 (SP1) and 2012 (SP2), and were respectively considered as pre-drought and post-drought production. From these values, resilience index (RI) of forage production was calculated as $RI = SP2 / SP1$ (Van Ruijven & Berendse, 2010).

Standing root mass (RM) and root-shoot ratio(RS) in spring

Three tubes per populations were harvested at the end of experiment in 2012 (DOY 171-174). Above and below ground parts and storage organs were separated from together. Then, each sample was oven-dried at 60°C during 48h and weight. From these values, RM (kg DM m^{-3}) was determined, and RS was calculated as $RS = \text{root mass (g DM)}/\text{shoot mass (g DM)}$. RM and RS measured in spring 2012 were compared to values measured under full irrigation in spring 2011 (DOY 179-181, SD1).

Statistical analysis

First, one-way ANOVA were performed to analyse differences between populations according to SP, RM and RS in spring 2011 and 2012. Then, lasting effects of drought were

determined for each population by testing the year effect on SP, RM and RS with one-way ANOVA. Finally, Pearson's coefficients were calculated from plant traits measured under full irrigation, during moderate and severe drought, the one-year recovery of aerial green tissue, RM and RI measured in spring 2012. LER_{max} , RM, D_{max} and D_{95} measured under full irrigation in spring were used to characterise resource (nutrient and water) acquisition strategies. WU measured during moderate drought was used to characterise drought avoidance strategy. SWCs, MWC and CMS in leaf meristems were used to describe drought tolerance strategies. To analyse the role of carbohydrate reserves in plant recovery, fructans with high degree of polymerization ($DP \geq 5$) and sucrose (SO) contents in leaf meristems and root systems, and WSC contents in the deepest root apices were used. To estimate carbohydrates reserve pools for each population, the amount of carbohydrates in roots (Rsug, mg) and storage organs (Osug, mg) were calculated by multiplying WSC contents ($mg\ g^{-1}$) by the total dry weight (g DM) of roots and storage organs, respectively. In addition, the total amount of carbohydrates (TotSug, mg) was determined from these values, by summing Rsug and Osug.

Results

One-year recovery of SP

Under full irrigation in spring 2011, populations were discriminated by forage production. *Fa* and *Dg* were the most productive populations ($> 980\ g\ DM\ m^{-2}$), whereas *Pp* and *To* were the lowest ($\leq 760\ g\ DM\ m^{-2}$; Table 5-5). In spring 2012, the ranking of populations was modified one year after the drought treatment. *Md*, *Fa* and *Dg* were the most productive populations ($\geq 1000\ g\ DM\ m^{-2}$), whereas *Pt* was the less productive ($< 530\ g\ DM\ m^{-2}$; Table 5-5). SP in 2012 was significantly higher than that measured in spring 2011 for *Md*, and remained unaffected for *Dg*, *Pp* and *Fa* (Table 5-6). On the contrary, SP was significantly decreased for *To*, *Tf* and *Pt* (Table 5-6).

According to the resilience index (RI), *Dg*, *Pp* and *Fa* totally recovered in spring 2012 (> 0.97), and a positive lasting effects of drought was observed for *Md* (> 1.24 ; Table 5-5). However, *Pt*, *Tf* and *To* were negatively affected by the drought treatment in the following spring (< 0.75). Surprisingly, RI was not related to plant survival after rehydration (Table 5-7). Nevertheless it was positively related to D_{max} and D_{95} measured under full irrigation in spring 2011, to the carbohydrate amount accumulated in roots (Rsug) during the moderate drought and to the CMS in roots at the end of the severe drought (Table 5-7). RI was thus

related to strategy of deep-water acquisition and drought tolerance of roots. In addition, RI was negatively correlated to SWCs. Therefore, most efficient populations to delay leaf senescence during the drought were more efficient for the recovery of forage production.

Table 5-5. Spring forage production (SP), root standing mass (RM) and root-shoot ratio (RS) observed in spring before the drought treatment (2011) and one year after (2012), and resilience index of spring forage production (RI). Letters show significant difference between populations after post hoc Tukey test. (Dg: *D. glomerata*, Fa: *F. arundinacea*, Md: *D. glomerata* cv. Medly, Pp: *P. pratensis*, Pt: *P. trivialis*, Tf: *T. flavescens*, To: *T. officinale*)

	To	Md	Dg	Tf	Pp	Fa	Pt
SP 2011	709±52 ^c	919±92 ^{bc}	1292±79 ^a	941±36 ^{bc}	689±38 ^c	1072±89 ^{ab}	967±61 ^{bc}
SP 2012	462±69 ^b	1170±23 ^a	1095±98 ^a	571±110 ^b	762±70 ^{ab}	1215±178 ^a	343±179 ^b
RI	0.65±0.10 ^{bc}	1.27±0.03 ^a	0.85±0.08 ^{abc}	0.61±0.12 ^{bc}	1.11±0.10 ^{ab}	1.13±0.16 ^{ab}	0.36±0.18 ^c
RM 2011	9.2±1.3 ^a	4.9±0.2 ^b	4.6±0.4 ^b	3.3±0.2 ^{bc}	3.6±0.3 ^{bc}	5.0±0.2 ^b	2.6±0.3 ^c
RM 2012	9.1±1.3 ^a	8.0±0.6 ^{ab}	7.9±0.6 ^{ab}	3.1±1.1 ^c	4.9±0.3 ^{bc}	4.8±0.2 ^{bc}	2.1±1.1 ^c
RS 2011	2.21±0.06 ^a	0.49±0.01 ^b	0.34±0.05 ^{bc}	0.34±0.03 ^c	0.46±0.04 ^{bc}	0.43±0.03 ^{bc}	0.41±0.02 ^{bc}
RS 2012	4.5±1.78 ^a	0.54±0.03 ^b	0.38±0.02 ^b	0.60±0.10 ^b	0.70±0.32 ^b	0.86±0.30 ^b	0.37±0.05 ^b

Table 5-6. Lasting effects of drought on spring forage production (SP), root standing mass (RM) and root-shoot ratio (RS) observed one year after the drought treatment. Values shown are F-value of one-way ANOVA and symbols show significant effect (+, P < 0.1; *, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001). (Dg: *D. glomerata*, Fa: *F. arundinacea*, Md: *D. glomerata* cv. Medly, Pp: *P. pratensis*, Pt: *P. trivialis*, Tf: *T. flavescens*, To: *T. officinale*)

	To	Md	Dg	Tf	Pp	Fa	Pt
SP	12.889 *	118.64 ***	4.0621	11.351 *	1.09	0.6534	12.171 *
RM	0.0033	27.061 **	19.693 *	0.0068	9.0127	0.464	0.2181
RS	2.9907	1.588	0.4944	6.419 +	0.4858	2.0581	0.5067

One-year recovery of RS

In spring 2011, populations were discriminated by the root-shoot ratio (RS), with the highest values for *To* (2.21 ± 0.06 ; Table 5-5). Within grasses, RS of *Md* (0.49 ± 0.01) was significantly higher than that observed on *Tf* (0.34 ± 0.03), but this ranking of grasses disappeared in spring 2012 (Table 5-5). One year after the drought treatment, RS were not modified, except for *Tf* which had an increase in RS (Table 5-5).

One-year recovery of RM

In spring 2011, populations were highly discriminated by RM, with the highest values for *To* (9.2 ± 1.3 ; Table 5-5). Within grasses, *Md*, *Dg* and *Fa* were significantly higher ($\geq 4.6 \pm 0.4$ kg DM m⁻³) than *Pt* (2.6 ± 0.3 kg DM m⁻³). In spring 2012, the populations remained discriminated by the standing root mass, but the ranking of populations was modified (Table 5-5). The forbs (*To*) had the highest RM (9.1 ± 1.3 kg DM m⁻³), as previously observed in spring 2011, but were not significantly different than *Md* and *Dg* ($\geq 7.9 \pm 0.6$ kg DM m⁻³). *Tf*

and Pt had the lowest RM ($\leq 3.1 \pm 1.1 \text{ kg DM m}^{-3}$). One year after the drought treatment, RM of Md and Dg was significantly higher than those observed in spring 2011, whereas it was not significantly different for the other populations (Table 5-6).

Table 5-7. Correlation among plant traits measured under full irrigation (DOY 78-181), moderate (DOY 182-201) and severe drought (DOY 202-231) in 2011 and one year after in spring 2012.

		RECOV	RI	RM 2012
<u>Full irrigation</u>	LER _{max}	0.35	0.26	0.65
	RM	0.31	0.05	0.61
	D _{max}	0.41	0.48	0.68
	D ₉₅	0.01	0.47	0.10
	RS 2011	0.31	-0.19	0.53
<u>Moderate drought</u>	HDPm	0.07	0.21	0.11
	SOm	-0.22	0.23	-0.48
	HDPr	0.26	0.10	0.45
	SOr	0.06	0.32	0.14
	WSCa	0.05	-0.11	0.06
	TotSug	0.20	0.21	-0.23
	Rsug	0.25	0.62	0.36
	Osug	0.08	-0.11	-0.44
<u>Severe drought</u>	LS	-0.24	-0.32	-0.40
	SWCs	-0.22	-0.72	-0.55
	MWC	0.34	0.31	0.63
	CMSm	0.09	0.37	0.39
	CMSr	-0.09	0.50	0.07
<u>After drought</u>	CMSa	0.17	0.39	0.32
	SURV	0.28	0.12	0.69
	RECOV	1.00	0.40	0.65
	RI	0.40	1.00	0.45
	RM 2012	0.65	0.45	1.00
	RS 2012	0.16	-0.23	0.23

LER_{max}, maximum leaf elongation rate (mm d⁻¹); RM, standing root mass in spring 2011 (kg DM m⁻³); D_{max}, maximum rooting depth (cm); D₉₅, 95% rooting depth (cm); RS, root-shoot ratio, HDPm, fructans DP>5 contents in leaf meristems (mg g⁻¹); SOm, sucrose content in leaf meristems (mg g⁻¹); HDPr, fructans DP>5 contents in roots (mg g⁻¹); SOr, sucrose content in roots (mg g⁻¹); WSCa, WSC content in the deepest root apices (mg g⁻¹); TotSug, WSC amount in roots and storage organs (mg); Rsug, WSC amount in roots (mg); Osug, WSC amount in storage organs (mg); LS, Leaf senescence (%); SWCs, threshold of SWC for 50% of leaf senescence (m³ m⁻³); MWC, water content of leaf meristems (%); CMSm, cell membrane stability in leaf meristems (%); CMSr, cell membrane stability in roots (%); CMSa, cell membrane stability in the deepest root apices (%); SURV, survival rate two weeks after rehydration (%); RECOV, one-year recovery of aerial green tissue (%); RI, resilience index of spring forage production; RM 2012, standing root mass in spring 2012 (kg DM m⁻³); RS 2012, root-shoot ratio in spring 2012

Finally, RM was positively correlated to LER_{max}, RM and D_{max} measured under full irrigation in spring 2011, to MWC and SURV, and negatively correlated to SWCs (Table 5-7). Therefore, most efficient populations for water and resource acquisition, drought tolerance and plant survival showed higher RM in spring 2012. Regarding to carbohydrates, RM was positively correlated to fructan DP ≥ 5 contents measured in roots at moderate drought, but negatively correlated to SO contents in leaf meristems (Table 5-7). During the recovery

period, root production of grasses could be thus related to drought tolerance mechanisms and of fructan contents or accumulation in roots during the moderate drought.

Conclusion

Finally, recovery of forage production was related to deep root system allowing deep water acquisition. Furthermore, populations able to delay leaf senescence and maintain cell membrane stability in roots were more efficient for the recovery of forage production. *Md* and *Dg* showed the highest ability to recover and both populations showed new root production during the recovery period, which could be related to higher accumulation of fructans $DP \geq 5$ in roots during the moderate drought (Table 5-7). Surprisingly, *To* had the greatest ability to survive after drought but forage production decreased in spring 2012. This could be due to lower solar radiations in 2012 than those observed in spring 2011, and to the mechanical constraint of the tubes for horizontal fine roots development. Therefore, recovery of forage production was not correlated to survival rate, which suggest that additional processes, such as seed recruitment, should be considered to understand mechanisms implied in the recovery of forage production after severe drought (Stampfli & Zeiter, 2008).

Nevertheless, the recovery of forage production was positively related to the cell membrane stability of roots. This underlines the role of root dehydration tolerance in the one-year recovery of forage production. In addition, the pool of carbohydrates accumulated during drought was positively correlated to the recovery of spring forage production one year after drought. These results suggest that roots can serve as storage organs for carbohydrate reserves.

Furthermore, change in root-shoot ratio was observed and could explain negative lasting effects on forage production for populations which were less efficient for drought resistance and plant survival after rehydration. Spring forage production of *Tf* and *Pt* were reduced, which induced a significant change in root-shoot ratio for *Tf*. These populations were consequently not efficient for the recovery of forage production one year after the drought treatment.

Finally, these results suggest the existence of multiple strategies on herbaceous populations for the recovery of spring forage production. However more studies that combine physiological processes and reproductive development are needed to understand mechanisms implied in resilience of grassland services.

DISCUSSION GENERALE

Cette thèse a pour objectif principal de déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance et la récupération de l'écosystème prairial soumis à des perturbations climatiques. Pour cela, nous avons adopté une démarche expérimentale, avec la volonté de coupler les mécanismes aériens et souterrains. Dans la discussion générale qui suit, nous présentons d'abord les limites de notre approche expérimentale. Puis un bilan des connaissances apportées par ce travail de thèse est dressé. Cette seconde partie est découpée en quatre sections qui reprennent les hypothèses de départ (voir § 5.b, Chap.1). Puis, des perspectives de recherche amenées par ces résultats nouveaux sont présentées en troisième partie. Enfin, pour clôturer ce manuscrit, les messages essentiels sont rappelés dans une conclusion générale.

1. Limites et contraintes de la démarche expérimentale

a. Expérimentation *in situ*

Une première expérimentation a été conçue pour manipuler les températures et les précipitations afin de tester *in situ* les effets combinés de ces deux facteurs sur le fonctionnement des communautés végétales. Cette expérience regroupe une technique d'exclusion de pluie et de réchauffement passif par infrarouge (couverture par un rideau réfléchissant) durant la nuit (Beier *et al.*, 2004) ; ainsi qu'une technique de réchauffement infrarouge actif (lampes infrarouges) (Kimball, 2005) pour créer des conditions de canicule, combinée à une sécheresse. L'objectif principal de ce dispositif expérimental était de reproduire *in-situ* des conditions climatiques prévues dans un futur proche (projections du scénario SRES A1B pour les années 2050-2070), ainsi que celles observées pendant la canicule-sécheresse de 2003. Quatre scénarios climatiques, régionalisés selon la méthode de Boé *et al.* (2006), ont été élaborés pour déterminer les conditions de températures et de précipitations de nos quatre traitements (C, control ; CX, control + extrême ; WD, réchauffement passif + réduction des précipitations ; WDX, réchauffement passif + réduction des précipitations + extrême). Du fait d'une durée limitée de l'application des traitements en 2009 et en 2010 (environ 8 mois), contrainte par la neige ou le gel en hiver, chaque traitement a subi les conditions climatiques locales pendant les trois années

d'expérimentation. Ainsi, les résultats obtenus concernant les températures s'écartent des scénarios climatiques (années moyennes et extrêmes pour les années 2050) élaborés pour planifier cette expérience. Un tel dispositif ne peut avoir pour ambition de « contrôler » les températures, mais représente un outil particulièrement intéressant pour « modifier » les conditions de températures du sol et de la végétation dans des conditions climatiques réalistes (rayonnement infrarouge, variabilité journalière et saisonnière) avec un minimum d'artefacts. Dans la volonté de s'approcher d'une réalité climatique, l'absence du facteur CO₂ est la limite essentielle de cette expérimentation. Les méthodes utilisées pour augmenter la concentration en CO₂ *in situ* dans des conditions les plus réalistes, comme les dispositifs FACE (Free Air CO₂ Enrichment) par exemple, sont extrêmement coûteuses. De tels frais supplémentaires n'ont pas été possibles. La dernière critique de cette expérimentation repose sur l'impossibilité de simuler un changement climatique identique à celui observé de nos jours, car de nombreuses incertitudes persistent sur les trajectoires des principaux facteurs climatiques. De plus, la progression lente de ces facteurs n'a pas été prise en compte.

En revanche, malgré quelques contraintes liées aux aléas climatiques, tels que les rafales de vent et les orages violents, les précipitations ont pu être contrôlées aisément. Sachant que la fréquence et l'intensité des précipitations peuvent fortement influencer le fonctionnement des communautés végétales (Knapp *et al.*, 2002; Cherwin & Knapp, 2012), les précipitations ont été apportées avec un pas de temps hebdomadaire correspondant à une variabilité réaliste pour le site. Compte tenu de la modification des conditions de températures et de précipitations, un gradient de déficit hydrique (saisonnier et annuel) a finalement été appliqué sur des communautés végétales similaires (Tableau 3-1) et avec un design expérimental multifactoriel approprié à la réalisation de tests statistiques (n=4), ce qui n'est pas toujours le cas dans les études basées sur des observations long terme ou des comparaisons altitudinales et/ou géographiques (Carpenter, 1990). Par comparaison à une période de référence de 30 ans, le déficit hydrique maximum appliqué (-230 mm) n'a jamais été observé sur le site étudié. Ainsi, de telles conditions climatiques peuvent être considérées comme un extrême climatique (IPCC, 2012), les autres traitements étant plus ou moins fréquemment observés dans la période de référence. Ainsi, dans cette expérimentation *in situ*, nous avons pu tester la combinaison des facteurs température et précipitation, et les effets d'un extrême climatique sur la prairie permanente dans un contexte réaliste pour les communautés étudiées. Malgré quelques limites expérimentales, notre dispositif original et novateur représente un outil intéressant pour améliorer nos connaissances sur le fonctionnement de l'écosystème prairial

dans des conditions de changement moyen et extrême, et tester des hypothèses sur le rôle de la structure des communautés dans la résistance et la récupération de ces processus.

b. Expérimentation en conditions semi-contrôlées

En complément de notre première expérimentation *in situ*, une deuxième expérimentation en conditions semi-contrôlées a été menée sur des monocultures pour déterminer les mécanismes intrinsèques de la résistance de l'écosystème prairial à un extrême climatique. Pour cela, une plateforme expérimentale a été élaborée pour pouvoir contrôler les conditions hydriques des cultures en temps réels. Cette plateforme comprend un système de 80 balances, résistantes aux intempéries et connectées en réseau à un système automatisé d'acquisition des données. Ce premier système nous a permis de déterminer en temps réel la quantité d'eau disponible pour les plantes dans chaque monoculture. Pour piloter par informatique l'irrigation des cultures, chaque balance a été associée à une électrovanne. Puis, les précipitations naturelles ont été interceptées par un abri roulant transparent après remise en état du système de détection des pluies et de pilotage automatique. Les populations étudiées ont été choisies parmi les espèces dominantes observées *in situ* et à partir de leur sensibilité au déficit hydrique appliqué dans notre première expérimentation (Fig. 3-9). Ces populations ont été cultivées dans des tubes PVC de 1,50 m de profondeur, de manière à ne pas contraindre l'enracinement des plantes en profondeur. La principale limite de ce système de culture en tubes est la colonisation latérale de l'espace, contrainte par le petit diamètre du tube. De plus, malgré nos efforts d'isolation thermique des tubes, les aléas climatiques (gel, neige ou fort rayonnement) ont parfois entraîné des contraintes thermiques indésirables dans cette expérimentation.

Malgré quelques contraintes techniques imprévisibles, notre plateforme expérimentale nous a permis de suivre en temps réel le comportement hydrique des populations, via l'évapotranspiration, en conditions optimales de croissance et en situation de stress sévère. Disposées à l'extérieur, les populations ont pu se développer au rythme des saisons et en particulier à des conditions de vernalisation utiles pour l'endurcissement des plantes au stress hydrique (Volaire *et al.*, 2005). De plus, notre système de culture en tubes nous a permis d'extraire l'intégralité du système racinaire avec un minimum de contraintes techniques, mise à part une force musculaire minimum requise. Ainsi, nous avons pu caractériser les profils racinaires de chaque population et disposer d'un matériel végétal frais et non détérioré pour réaliser nos analyses physiologiques dans les meilleures conditions. Malgré quelque biais

concernant la colonisation de l'espace horizontale et les températures du sol, un tel dispositif expérimental est un outil particulièrement intéressant pour contrôler les conditions hydriques des plantes, étudier leur métabolisme et leurs comportements hydriques en réponse à la sécheresse, et réaliser des comparaisons interspécifiques avec un minimum d'artefacts.

Enfin, la complémentarité de nos deux approches expérimentales nous a permis d'améliorer notre compréhension des effets d'un extrême climatique sur l'écosystème prairial à des échelles spatiales différentes (de l'organe à la communauté végétale). De plus, plusieurs mécanismes impliqués dans les réponses de l'écosystème à de telles perturbations ont pu être caractérisés.

2. Bilan de la thèse

a. Vulnérabilité de la structure et des processus de fonctionnement aérien au changement climatique et à un extrême climatique

Les effets combinés du réchauffement et de la température sont effectivement encore mal connus (Wu *et al.*, 2011), et l'impact des événements extrêmes est difficile à prévoir car ils peuvent agir de manière stochastique sur les processus (Kreyling *et al.*, 2011). Dans le chapitre 3, nous avons montré une perte de production aérienne en réponse au changement moyen des températures et des précipitations, ainsi qu'à une canicule-sécheresse (Fig. 3-6 ; Tableaux 3-2 et 3-3). En revanche, l'effet positif du réchauffement sur la production n'a pas été observé (Bloor *et al.*, 2010; Cantarel, 2011), ce qui confirme le rôle prépondérant de la variabilité des précipitations et de la disponibilité en eau du sol dans le fonctionnement des communautés végétales en moyenne montagne (Knapp *et al.*, 2008). Ces résultats soulignent donc la vulnérabilité des prairies permanentes à la variabilité des précipitations, qui peut s'expliquer par des effets directs des facteurs climatiques sur la physiologie du couvert, telle que la photosynthèse (Pinheiro & Chaves, 2011) et la croissance foliaire, la sénescence aérienne (Fig. 3-3, Tableau 5-1), ou encore l'allocation des ressources carbonées (Fig. 5-2, 5-3 et 5-S3). De plus, la perte de production aérienne s'est poursuivie les deux années suivantes (Fig. 3-6), ce qui peut être associé à un changement de la production saisonnière des racines (Fig. 4-2). Ces changements de production aérienne peuvent également s'expliquer par la sensibilité des types fonctionnels aux contraintes de l'environnement (Díaz & Cabido, 2001). Des changements dans la composition fonctionnelle des communautés végétales ont effectivement été mis en évidence (Fig. 3-8 et 3-9), avec une augmentation des Fabacées en réponse au changement moyen. Ces résultats sont comparables à ceux précédemment

observés sur des communautés similaires et peuvent être attribués à un effet positif du réchauffement (Bloor *et al.*, 2010; Cantarel *et al.*, 2013). En revanche, les Fabacées ont montré une forte vulnérabilité à l'extrême climatique, alors que les deux autres groupes ont été plus résistants et ont montré une légère augmentation de leur proportion (Fig. 3-3). Compte tenu de la quasi absence de redondance fonctionnelle des Fabacées et des dicotylédones non-fixatrices, la réponse de ces deux groupes peut être attribuée à la sensibilité de *T. repens* et à la résistance de *T. officinale* (Fig. 3-9 ; Fig. 5-5). Malgré la sensibilité de certaines populations aux perturbations climatiques (Fig. 3-9), le recouvrement et la production annuelle des Poacées sont restés stables pendant les trois années d'observation (Tableau 3-3). Ces résultats soulignent le rôle de la redondance fonctionnelle dans la stabilité des processus de fonctionnement du système (Walker *et al.*, 1999).

Compte tenu de ces résultats sur la production aérienne, l'hypothèse du rôle de la diversité dans la stabilité des processus de fonctionnement des écosystèmes (Hooper *et al.*, 2005) n'a pas été vérifiée dans cette prairie permanente de moyenne montagne. Cependant, ces résultats s'accordent avec d'autres expérimentations menées *in situ* sur des communautés végétales similaires (Gilgen & Buchmann, 2009; De Boeck & Verbeeck, 2011; Dreesen *et al.*, 2012). En revanche la diversité spécifique des communautés n'a pas été modifiée par les perturbations climatiques, ce qui confirme d'autres études *in situ* récentes (Bloor *et al.*, 2010; Cantarel *et al.*, 2013). Néanmoins, une diminution de l'équitabilité des populations a été observée après l'extrême climatique (Tableau 3-5), et peut s'expliquer par la sensibilité de certaines populations dominantes aux fortes températures ou à la contrainte hydrique (Fig. 3-9).

b. Acclimatation des processus racinaire en réponse à un extrême climatique

Les effets des facteurs climatiques, et plus particulièrement ceux de la contrainte hydrique, ont été moins étudiés sur le compartiment racinaire que sur les parties aériennes (Pendall *et al.*, 2008). C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à la démographie racinaire avec une volonté d'améliorer notre compréhension des rétroactions entre ces deux compartiments. Dans notre première expérimentation *in situ*, nous avons pu analyser les effets des perturbations climatiques sur la démographie racinaire grâce à une méthode d'observation des racines par imagerie non destructrice (Johnson *et al.*, 2001). Bien que la croissance et la mortalité racinaire soient sensibles à un réchauffement moyen (Pilon *et al.*, 2013), nous n'avons pas observé de changement significatif sous l'effet de notre climat futur sans extrême

(Fig. 4-2; 4-5 ; 4-6). Nos résultats suggèrent donc que l'effet positif du réchauffement sur la croissance et la production racinaire peut-être annulé par la réduction des précipitations. En revanche, le maintien de la croissance racinaire pendant le déficit hydrique modéré en été (Fig. 4-3) a mis en évidence la capacité des communautés à éviter le stress. Cela sous-entend que le réchauffement moyen peut avoir un effet positif sur la stratégie d'évitement lors d'un stress modéré ($-100 < P\text{-PET} < -50$ mm). De plus en conditions de stress hydrique, certains micro-organismes peuvent avoir un effet stimulant sur la croissance des racines en conditions de déficit hydrique (Marulanda *et al.*, 2009).

Contrairement à une étude récente réalisée sur des mélanges d'espèces en containers (Dreesen *et al.*, 2012), la stratégie d'évitement n'a pas été observée *in situ* en réponse à une sécheresse sévère (Fig. 4-3). Nous avons donc mis en évidence la vulnérabilité de la croissance racinaire à une canicule-sécheresse (Fig. 4-2 ; 4-3), ce qui n'avait encore jamais été observé *in situ*. Nos résultats soulignent ainsi la sensibilité des processus physiologiques dans les racines à la contrainte hydrique (Van Noordwijk *et al.*, 1998). En revanche, un arrêt de la mortalité en réponse à l'extrême a également été mis en évidence (Fig. 4-4). Basés sur l'activité de décomposition des micro-organismes, les effets directs de l'extrême climatique sur la mortalité ont pu être sous-estimés par la méthode utilisée (Johnson *et al.*, 2001; Strand *et al.*, 2008). Néanmoins, la récupération de l'activité microbienne est pratiquement instantanée au retour des précipitations (Bloor & Bardgett, 2012), ce qui limite l'artefact de la méthode utilisée à plus long terme. Un tel arrêt de l'activité racinaire peut ainsi être considéré comme une forme de dormance induite par les stress (éco-dormance) (Lang *et al.*, 1987). Bien que ce terme soit généralement utilisé pour caractériser l'état stationnaire des méristèmes ou des graines, ce phénomène de dormance estivale a déjà été observé dans des racines de Monocotylédones pérennes (Shane *et al.*, 2009). Bien que les mécanismes sous-jacents soient encore mal connus, cette dormance racinaire se caractérise par une diminution de la respiration racinaire, de la teneur en eau et en osmolytes, et une augmentation de la concentration en saccharose et en proline (Shane *et al.*, 2009). Cette stratégie pourrait ainsi expliquer la récupération rapide de la croissance racinaire observée au retour des précipitations (Fig. 4-2 ; 4-3) ainsi que l'augmentation de la durée de vie racinaire (Tableau 4-4). Nos résultats ont effectivement montré que les processus de mortalité racinaire ont été fortement réduits par l'extrême climatique. Comme observé par Pilon *et al.* (2013), les dynamiques de croissance et de mortalité racinaires sont étroitement liées. Par conséquent,

nos résultats suggèrent que le renouvellement racinaire serait plus un indicateur de l'activité des plantes en conditions non stressantes que l'effet négatif d'un stress.

Ainsi ces résultats inattendus et originaux ont mis en évidence la perturbation des processus de fonctionnement souterrain, *via* des effets transitoires sur la croissance racinaire et des effets, à plus long terme, sur la mortalité. Afin de tester notre hypothèse sur le rôle des processus racinaires dans la récupération des processus aériens, nous avons poursuivi les observations racinaires un an après le changement de climat moyen et l'extrême climatique. Les résultats ont montré une augmentation de la croissance et de la production racinaire l'année suivante (Fig. 4-2; 4-6), ce qui suggère une acclimatation des communautés végétales après une canicule-sécheresse, *via* un « effet mémoire » ou une « empreinte » du stress sur le fonctionnement des plantes (Bruce *et al.*, 2007; Walter *et al.*, 2011). Les mécanismes à l'origine de ce phénomène sont encore peu connus, mais des modifications biochimiques et/ou génétiques pourraient être impliquées pour endurcir les plantes à de nouveaux stress (Bruce *et al.*, 2007).

c. Stratégies de survie à la sécheresse

Les stratégies de réponses racinaires sont vitales pour la régénération des parties aériennes, mais les mécanismes impliqués dans ce continuum sont encore mal connus et sont dépendants des espèces considérées (Van Noordwijk *et al.*, 1998). Pour déterminer ceux impliqués dans la résistance de l'écosystème prairial à un extrême climatique, une approche fonctionnelle a été utilisée, basée sur l'analyse des traits morphologiques et physiologiques, aériens et souterrains. Grâce à notre deuxième expérimentation en conditions semi-contrôlées et menées sur des monocultures, nous avons pu étudier les propriétés intrinsèques de sept populations prairiales et leurs compromis physiologiques en situation de stress hydrique sévère. Cela nous a permis également de vérifier notre troisième hypothèse concernant le rôle de la survie des racines et des réserves en carbone dans la résistance et la récupération des populations prairiales (Fig. 6-2).

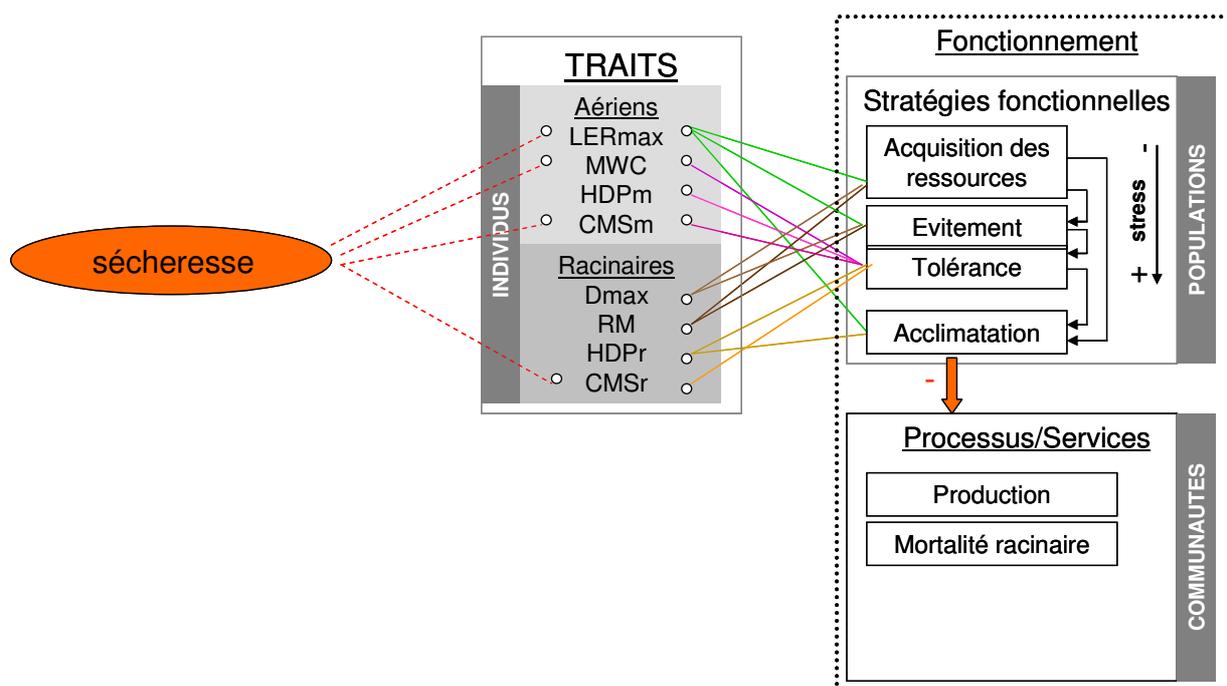


Figure 6-1. Effets directs de la sécheresse (rouge) sur les principaux traits aériens (vert : traits foliaires ; rose : traits des méristèmes foliaires) et souterrains (marron) impliqués dans les stratégies d'acquisition des ressources et de résistance à la sécheresse (évitement et tolérance). La sécheresse a donc pour effet de réduire la croissance foliaire, la teneur en eau et la stabilité membranaire des méristèmes foliaires et des racines, et par conséquent la production aérienne et racinaire à l'échelle de la communauté. Les populations ayant des valeurs de traits élevés pour la croissance foliaire, la profondeur et la masse racinaire sont les plus efficaces pour les stratégies d'acquisition des ressources et la stratégie d'évitement. Les populations riches en fructanes $DP \geq 5$, sont les plus efficaces pour maintenir l'hydratation et l'intégrité cellulaire dans les méristèmes et les racines et sont plus tolérantes à la sécheresse. Après réhydratation, les populations les plus efficaces pour les stratégies d'acquisition des ressources et de tolérance à la sécheresse ont été capables de s'acclimater l'année suivante. (Dmax : profondeur d'enracinement maximum ; LERmax : vitesse maximum d'élongation foliaire; CMSm : stabilité membranaire des méristèmes foliaires ; CMSr : stabilité membranaire du système racinaire ; HDPm et HDPr : teneurs en fructanes $DP \geq 5$ des méristèmes foliaires et des racines respectivement ; MWC: teneur en eau des méristèmes foliaires; RM : masse racinaire totale). Les liens en pointillés représentent les effets négatifs, les liens en traits pleins représentent les effets positifs. Il y a absence de liens quand l'effet observé a été non significatif.

Tout d'abord, nous avons montré qu'un système racinaire profond et dense est plus efficace pour maintenir les prélèvements hydriques en début de stress (Tableau 5-3). Ces résultats confirment le rôle de la morphologie du système racinaire dans la capacité à utiliser l'eau du sol en condition de stress (Aroca *et al.*, 2012). Cette stratégie d'évitement a été la principale stratégie de réponse des populations étudiées, ce qui a confirmé les études précédemment réalisées sur des variétés de *D. glomerata* et *F. arundinacea* de milieux tempérés (Volaire & Lelievre, 2001; Volaire, 2008). Mais cette stratégie n'a pas été suffisante pour assurer une bonne survie en cas de stress sévère. Nos travaux ont mis en évidence le rôle des sucres solubles présents dans les racines dans la tolérance à la sécheresse (Tableau 5-3), ce qui a confirmé notre hypothèse. Le saccharose a été la principale forme de sucres solubles impliqués dans l'intégrité des cellules racinaires pour les populations étudiées, mais celles riches en fructanes $DP \geq 5$ ont montré une meilleure survie (Fig. 5-5 ; 5-6). L'accumulation de

saccharose dans le système racinaire pendant la progression du stress pourrait expliquer la dormance estivale des racines observée dans notre première expérimentation *in situ* (Shane *et al.*, 2009). Mais la tolérance des racines à la sécheresse n'a pas suffi pour assurer une bonne repousse après réhydratation. Les populations capables d'accumuler les fructanes dans les méristèmes foliaires en début de stress ont réussi à maintenir l'hydratation et l'intégrité de leurs cellules (Tableau 5-3), ce qui souligne le rôle des méristèmes foliaires dans la survie des plantes prairiales (Volaire *et al.*, 2009). De plus, les populations à croissance rapide ont montré une meilleure capacité de repousse après réhydratation, ce qui contredit les travaux précédents (Grime *et al.*, 2000; Fort *et al.*, 2012), mais confirme ceux de Pérez-Ramos *et al.* (2013). Ces résultats s'accordent également avec les variations d'abondance relative observées dans notre expérimentation *in situ* (Fig. 3-9). Finalement, nous avons identifié quatre types fonctionnels parmi les populations étudiées à partir des traits aériens et racinaires impliqués dans les stratégies de résistance à la sécheresse et l'acquisition des ressources (Tableau 6-1 ; Fig. 6-2). Ces résultats confirment ainsi l'existence d'une diversité de mécanismes de résistance à la sécheresse dans les communautés prairiales (Craine *et al.*, 2012; Pérez-Ramos *et al.*, 2013).

Tableau 6-1. Types fonctionnels basés sur les stratégies d'acquisition des ressources, d'évitement et de tolérance à la sécheresse, identifiés chez les sept populations prairiales étudiées. (Dg : *D. glomerata* ; Fa : *F. arundinacea*; Md: *D. Glomerata* cv. Medly; Pp: *P. Pratensis*; Pt: *P. trivialis*; Tf: *T. flavescens*; To: *T. officinalis*)

	To	Md	Dg	Tf	Pp	Fa	Pt
Acquisition	++++	+++	+++	++		++	
Conservation	++			++	+++	++	+++
Evitement	+++	+++	+++	+	+	+++	0
Tolérance	++++	++++	+++	++	++	+	+
méristèmes foliaires	FA	FA	FA	SO	SO	SO	SO
racines	FA	FA + SO	FA + SO	SO	SO	SO	
organes de réserves	FA			FA	FA + SO		FA + SO
Survie	++++	++++	+++	++	++	+	+
Récupération	++	++++	++++	+	+++	+	++
Functional Types	1	2	3	3	3	3	4

Potentiel pour chaque stratégie: +++++ (très fort); +++ (fort); ++ (modéré); + (faible); 0 (nul) Principaux sucres impliqués dans la stratégie de tolérance : FA (fructanes) ; SO (saccharose)

d. Rôle de la gestion dans la résistance et la résilience de l'écosystème prairial

Les effets de la gestion sur le fonctionnement et la structure de la prairie permanente sont relativement bien étudiés (Balent *et al.*, 1993; Plantureux *et al.*, 2005; Duru *et al.*, 2008). Néanmoins le rôle des pratiques agricoles dans la réponse de l'écosystème prairial à un extrême climatique est moins bien connu (Oesterheld & McNaughton, 1991; Ferraro &

Oesterheld, 2002; Vogel *et al.*, 2012). Or, il est nécessaire de comprendre comment la gestion peut influencer les réponses des processus aériens et souterrains pour permettre d'adapter les pratiques agricoles au changement moyen et aux évènements extrêmes (Soussana & Duru, 2007; Soussana & Lüscher, 2007; Tubiello *et al.*, 2007). C'est pourquoi nous avons choisi de tester deux fréquences de fauches dans notre première expérimentation *in situ*. Bien que la défoliation stimule la productivité des plantes (over-compensation) (Oesterheld & McNaughton, 1988, 1991), nous avons montré qu'une gestion intensive par des fauches fréquentes peut réduire la production annuelle des communautés végétales (Tableau 3-3). Cet effet gestion est plus marqué sous le climat actuel que sous des conditions climatiques perturbées (Fig. 3-5 ; 3-6). Cela confirme que les perturbations climatiques peuvent réduire l'effet de la gestion sur le fonctionnement des plantes (Benot *et al.*, 2013).

Notre hypothèse sur les effets de la fréquence des fauches pour contribuer à la résistance et à la récupération des processus de l'écosystème prairial a aussi été vérifiée. Dans notre étude, la résistance a été évaluée principalement par le pourcentage de tissus non sénescents sur la couverture végétale. Pendant notre canicule-sécheresse expérimentale, la résistance a été meilleure sur les communautés de fauches fréquentes, ce qui est probablement lié à l'effet positif de la fauche sur la présence de tissus végétatifs (Oesterheld & McNaughton, 1991; Picon-Cochard *et al.*, 2004). En revanche au retour des précipitations, ces communautés ont montré une moins bonne récupération de la production aérienne que celles fauchées peu fréquemment (Fig. 3-5 ; Tableau 5-2). Cela peut s'expliquer en partie par la diminution des sucres solubles sous l'effet des fauches fréquentes, car les plantes puisent dans leurs réserves après la coupe pour reformer de nouveaux tissus (Morvan *et al.*, 1997; Benot *et al.*, 2013). Or nous avons montré que ces réserves, sous forme de sucres solubles, sont nécessaires pour maintenir en vie les méristèmes et les racines, et permettre la récupération des plantes (Tableau 5-5, Fig. 6-1). Ainsi une fréquence de fauche trop intensive ne paraît pas appropriée pour favoriser le stockage des réserves utiles à la récupération de la production aérienne, bien que la résistance de la couverture végétale soit meilleure.

Les effets de la gestion sur les processus racinaires et leurs interactions possibles avec les facteurs climatiques ont été peu étudiés, mais sont nécessaires pour maintenir les cycles biogéochimiques (Norby & Luo, 2004). Les effets de la défoliation sont connus pour stopper l'apparition de nouvelles racines en faveur des tissus aériens (Davidson & Milthorpe, 1966). Dans cette thèse, nous avons montré que cet effet est plus marqué sur les racines superficielles

(0-5 cm) que sur les racines plus profondes (15-20 cm), sauf au début de la saison de végétation (Fig. 4-2). Cela s'accompagne d'un effet positif des fauches non fréquentes sur la mortalité racinaire (Fig. 4-4), avec un effet négatif sur la durée de vie des racines (Tableau 4-4). L'activité racinaire, leur distribution et leur longévité sont très dépendantes de la température et de l'humidité du sol (Arnone *et al.*, 2000). En modifiant la structure de la canopée, la fréquence de fauche peut significativement modifier ces deux paramètres de sol (Fig. 4-1), ce qui peut expliquer en partie les différences observées sur la démographie racinaire. De plus, la défoliation est connue pour diminuer l'allocation du carbone dans le compartiment racinaire et dans le sol, l'activité des décomposeurs, la disponibilité en nutriments et ainsi induire un effet rétroactif sur la croissance des plantes (Mikola *et al.*, 2005; Ilmarinen & Mikola, 2009).

Nous avons montré également qu'en condition de déficit hydrique modéré pendant l'été, la stratégie d'évitement du stress était supérieure sous un régime de fauches non fréquentes que sous une gestion plus intensive (Fig. 4-3). Ces résultats soulignent qu'en réduisant l'allocation aux racines, les fauches fréquentes peuvent réduire la capacité des plantes à absorber l'eau du sol (Snyder & Williams, 2003). En revanche, la fréquence des fauches n'a eu aucun effet sur la résistance des processus racinaires pendant l'extrême climatique (Fig. 4-3 ; 4-4). Par contre, elle a influencé les processus d'acclimatation racinaire l'année suivante (Fig. 4-2 ; 4-4 ; 4-5 ; 4-6). En effet, une augmentation de la croissance et de la mortalité racinaire a été observée en profondeur un an après l'extrême climatique dans les communautés de fauches non fréquentes. Par contre dans les communautés de fauches intensives, une augmentation de la croissance racinaire a été observée uniquement en surface et seulement si les précipitations n'ont pas été réduites pendant la phase de récupération en automne. Dans le chapitre 5, l'augmentation de la masse racinaire un an après la sécheresse a été reliée à la quantité de sucres disponibles dans les racines (Tableau 5-7). Ainsi, l'effet des fauches fréquentes sur le stock de réserves peut expliquer ces différences d'acclimatation. Ces résultats suggèrent donc qu'une fréquence de fauches modérée a un effet positif sur la stratégie d'évitement et sur l'acclimatation des communautés végétales, *via* des réserves en carbone plus importantes que sous l'effet d'une fauche intensive.

De plus, les différences de fonctionnement racinaire observées *in situ* peuvent être attribuées à la structure et à la composition des communautés végétales (Kardol *et al.*, 2010). En modifiant la structure aérienne des communautés, la défoliation est effectivement connue

pour altérer les interactions biotiques entre les populations, et modifier ainsi la composition fonctionnelle et la diversité spécifique (Teyssonneyre *et al.*, 2002). Nos résultats ont confirmé ces observations précédentes (Fig. 3-3 et 3-8), à l'exception de la diversité spécifique qui n'a pas été modifiée (Tableau 3-5). Mais une augmentation des Fabacées, accompagnée d'une légère diminution des Poacées, a bien été observée à l'issue des fauches fréquentes (Tableau 3-3). De plus, à l'échelle des populations, les fauches fréquentes ont favorisé la dominance de *P. trivialis* (*Pt*), *T. repens* (*Tr*) et *L. perenne* (*Lp*) (Figure 3-9), espèces reconnues pour leur stratégie d'acquisition rapide des ressources et leur compétitivité pour la lumière dans les couverts ouverts (Teyssonneyre *et al.*, 2002). Les profils racinaires que nous avons observés pour certaines de ces populations dominantes (Fig. 5-S1), la gamme de variation des traits racinaires (Tableau 5-1) et leur stratégie d'acquisition des ressources (Picon-Cochard *et al.*, 2012; Fort *et al.*, 2012) peuvent expliquer les différences observées *in situ* sur la croissance, la production et la mortalité des racines. De plus, les populations sélectionnées par des fauches fréquentes ont montré une sensibilité plus forte à l'extrême climatique (Figure 3-9). A l'inverse, des fauches peu fréquentes ont permis de maintenir les populations de *Dg*, *To* en particulier, qui sont les populations les plus résistantes de la gamme d'espèces étudiées (Fig. 5-5). Ainsi, les effets indirects de la gestion sur la structure et la composition des communautés expliquent en partie une meilleure stratégie d'évitement à un stress modéré, une meilleure récupération après un stress sévère et une meilleure acclimatation de la croissance racinaire (Fig. 6-2).

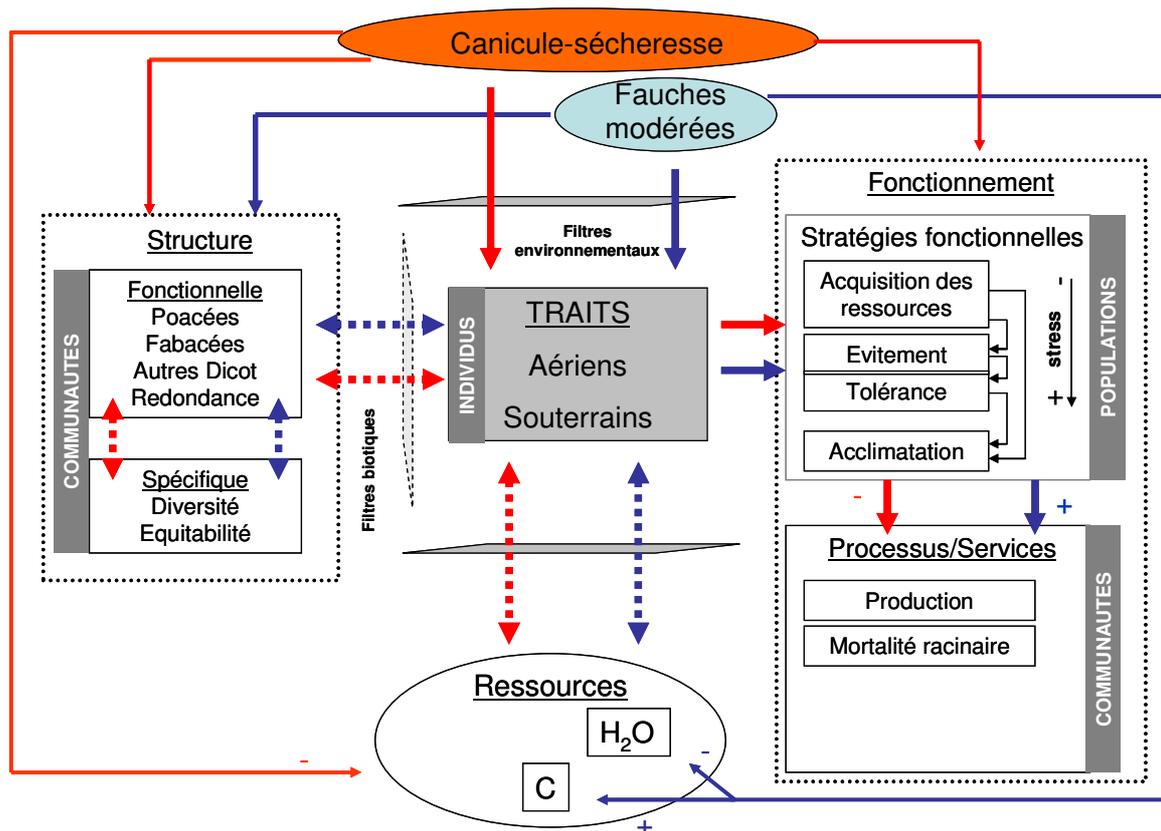


Figure 6-2. Effets combinés d'une canicule-sécheresse (flèches rouges) et d'une fréquence de fauches modérée (flèches bleues) sur la structure et le fonctionnement de la prairie permanente. En agissant directement (flèches pleines) sur la physiologie, la morphologie, la composition des tissus des plantes etc. (traits individus), ainsi que sur les ressources, une fréquence de fauche modérée (2 à 3 fauches/an) agit indirectement (flèches hachurées) sur les interactions biotiques. Elle favorise alors la présence de populations présentant des traits favorables à l'acquisition des ressources et aux stratégies de résistance à la sécheresse. Cela a ensuite pour effet de maintenir la production aérienne et favorise l'acclimatation des processus racinaires.

3. Perspectives de recherche

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés en particulier à la vulnérabilité de l'écosystème prairial à un extrême climatique, avec la volonté de comprendre les effets d'une telle perturbation sur la structure et le fonctionnement du système et de déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance et la récupération des communautés végétales. Pour cela nous avons appliqué, en été, un gradient de déficit hydrique sur la végétation *in situ*, en manipulant les précipitations et les températures de manière combinée. Grâce à ce gradient, nous avons pu déterminer des seuils de vulnérabilité – pour lesquels 80% de la sénescence aérienne et une perte de production annuelle de 25% ont été observées – à -156 mm, pour un déficit hydrique cumulé pendant l'été (Fig. 3-3 ; 3-6). Nous avons montré qu'à la suite de ces perturbations, des modifications dans la structure et la composition des communautés végétales ont été observées, avec une perte de production significative les années suivantes (Fig. 3-6 ; Tableau 3-3). Ces résultats suggèrent soit que le temps de retour ('engineering resilience') vers l'état d'équilibre initial des communautés est supérieur à deux ans, soit

qu'après de tels seuils franchis, une nouvelle trajectoire, un nouvel état d'équilibre (ecological resilience) a été atteint avec un fonctionnement différent (Scheffer *et al.*, 2001; Scheffer & Carpenter, 2003; Briske *et al.*, 2010). Pour pouvoir confirmer l'une ou l'autre des ces deux hypothèses, un suivi des communautés à plus long terme (minimum 5-10 ans) serait nécessaire (Walker & Abel, 2002). Haddad *et al.* (2002) ont effectivement montré que les perturbations induites sur le cycle de l'azote et la qualité des litières végétales à l'issue d'une sécheresse peuvent déstabiliser la production du système pendant au moins 9 ans. De plus, Grime *et al.* (2008) ont observé des fluctuations directes de l'abondance des espèces à la suite d'une sécheresse, mais sur une période de 13 ans, ces fluctuations n'ont pas entraîné un changement significatif de la diversité et de la composition de la prairie. Dans cette thèse, il n'est donc pas possible de conclure sur la résilience des processus de fonctionnement et de la structure des communautés végétales car un suivi à plus long terme est nécessaire.

Néanmoins, notre travail a fait émerger des seuils « critiques » qui peuvent s'avérer très utiles dans le paramétrage des modèles de simulation, tel que le modèle biogéochimique de simulation des prairies (PaSim) développé dans notre unité de recherche (Graux, 2011). En calculant des traits agrégés à l'échelle de la communauté, il est possible de représenter les réponses des processus de l'écosystème aux perturbations environnementales (Lavorel & Garnier, 2002; Garnier *et al.*, 2004; Klumpp & Soussana, 2009) dans des modèles dits biophysiques. Puis à partir des traits identifiés dans cette thèse et ceux disponibles dans les bases de données pour les populations étudiées, des indices de diversité fonctionnelle pourraient être calculés (Botta-Dukát, 2005; Lavorel *et al.*, 2008). L'intégration des traits agrégés et des indices fonctionnels dans des modèles de simulation permettrait ainsi de représenter les communautés végétales de manière mécanistique. Puis, en utilisant la méthode de Coquillard & Hill (1997) par exemple, certaines lois approximatives des modèles préexistantes pourraient être réévaluées pour réduire quelques incertitudes liées notamment à la structure et au fonctionnement du système racinaire (Weltzin *et al.*, 2003a). Ainsi, en perspective de ce travail, les deux hypothèses sur la résilience écologique et potentielle pourraient être testées avec une approche de modélisation (Weltzin *et al.*, 2003b; Soussana *et al.*, 2010).

De plus, il serait intéressant d'approfondir nos connaissances sur les effets structurant de la compétition et de la facilitation pendant la phase de récupération, après réhydratation du système. Pour cela, une expérimentation en conditions semi-contrôlées, menée sur des

monocultures, des associations d'espèces deux à deux et des polycultures serait idéale (Engel & Weltzin, 2008). Avec une approche fonctionnelle, une telle expérimentation permettrait de comparer les niches fondamentales et réalisées des populations prairiales (Gross *et al.*, 2009). Ainsi le rôle des processus de facilitation et de compétition dans la réorganisation du système pourrait être déterminé. Les jeux de données ainsi obtenus seraient alors très utiles pour améliorer les lois de réponses sur la dérive des traits utilisées dans les modèles de simulations mécanistes (Graux, 2011).

Nous avons montré dans le chapitre 5 qu'il n'y a pas de compromis physiologiques entre les stratégies d'acquisition des ressources et les stratégies de résistance à la sécheresse chez les populations étudiées. Or, en conditions de sécheresse sévère, la capacité des plantes à absorber et à utiliser les ressources azotées peut aussi être altérée, ce qui a pour effet d'accentuer le stress physiologique (Chaves & Oliveira, 2004). Les extrêmes climatiques peuvent également modifier la disponibilité en azote du sol, en agissant directement sur l'activité des micro-organismes du sol, ou *via* un lessivage important des nitrates au retour des précipitations (Fierer & Schimel, 2002; Jentsch *et al.*, 2011; Bloor & Bardgett, 2012). A l'échelle de l'individu, il existe différents compromis physiologiques pour l'acquisition des ressources azotées (Maire *et al.*, 2009), qui n'ont pas été pris en compte dans cette étude. Mais la compétitivité des populations prairiales pour l'acquisition de l'azote pourrait avoir un effet structurant sur la composition des communautés pendant un extrême climatique et pendant la phase de récupération qui suit. Il serait donc intéressant d'analyser les effets d'un extrême climatique sur le métabolisme de l'azote pour améliorer notre compréhension des compromis physiologiques en condition de stress hydrique. Le matériel végétal récolté dans le cadre de cette thèse pourrait permettre de répondre à ces questions. Après analyses de l'azote foliaire et racinaire, des relations pourront être établies entre l'efficacité d'utilisation de l'azote et les stratégies de résistance à la sécheresse. De plus, des mesures de traits morphologiques supplémentaires, tels que le SRL et les diamètres racinaires, pourront aussi être réalisées pour élargir la gamme des traits racinaires étudiés, et améliorer l'identification des types fonctionnels en lien avec ces stratégies fonctionnelles. Néanmoins, pour confirmer l'identification des types fonctionnels, et déterminer des consensus solides sur ces stratégies fonctionnelles, il serait nécessaire d'élargir la gamme d'espèces étudiées, ainsi que leur provenance géographique.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés essentiellement à la production et au processus de mortalité racinaire, mais il a été montré que le changement climatique a un impact fort sur les émissions de gaz à effets de serres tels que le N₂O (Cantarel *et al.*, 2010) et le C₂O (Klumpp *et al.*, 2011; Pilon, 2011), et la disponibilité en nutriments dans le sol (Sardans *et al.*, 2008), *via* des effets directs sur l'activité enzymatique du sol et des micro-organismes (Sardans *et al.*, 2006, 2008; Cantarel *et al.*, 2012). En revanche, l'effet des extrêmes climatiques sur ces différents processus a été très peu étudié (Jentsch *et al.*, 2011). Ces questions sont d'un grand intérêt pour comprendre les conséquences des extrêmes climatiques sur les cycles biogéochimiques, en particulier pour le carbone et l'azote. L'activité des micro-organismes est en effet directement liée à celle des plantes, *via* le 'priming effect' (Fontaine *et al.*, 2003, 2007). Ces relations étroites entre les décomposeurs et les plantes ne peuvent être ignorées, car des changements de composition des communautés végétales peuvent altérer les communautés microbiennes (Kardol *et al.*, 2010). C'est pourquoi dans la démarche transdisciplinaire du projet ANR VALIDATE, plusieurs collaborations ont permis de réaliser des prélèvements de sol dans notre expérimentation *in situ*. Après l'analyse génétique des communautés microbiennes, des changements importants dans la structure et la composition des communautés bactériennes ont effectivement été mis en évidence (Marron & Chemidlin, *communication personnelles*). En perspective de ce travail, des analyses multivariées seront donc réalisées pour déterminer l'origine de ces changements à partir des variables du climat et de la composition des communautés végétales. De plus, compte tenu de nos résultats sur l'allongement de la durée de vie racinaire, de nouvelles questions concernant l'apport de matière organique fraîche pour les décomposeurs et la séquestration du carbone peuvent se poser. Pour répondre à ces perspectives, des prélèvements de sol à proximité des racines ont aussi été réalisés dans notre expérimentation en monocultures. Ces travaux en cours permettront d'analyser les effets de la sécheresse sur le 'priming effect'.

Dans des perspectives plus appliquées, ces questions sont d'un grand intérêt pour améliorer le bilan carbone des systèmes d'élevage et limiter l'utilisation d'intrants azotés. Nos résultats suggèrent qu'une fréquence de fauches modérée est plus favorable au maintien de la production après un extrême climatique. Or, nos résultats montrent aussi que ce mode de gestion tend à faire diminuer la proportion des Fabacées. Ce type fonctionnel s'est également montré très sensible à l'extrême climatique. Ainsi, nous pouvons nous demander quels seront les effets à plus long terme d'une perte de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique dans les communautés végétales. Ces questions impliquent des perspectives de recherche sur

la vulnérabilité des Fabacées à la sécheresse dans le but d'identifier des types fonctionnels en lien avec la résistance à la sécheresse au sein de ce groupe d'intérêt agro-écologique. A la suite de ce travail de thèse, les effets de la canicule-sécheresse sur la qualité de fourrages produits seront également déterminés à partir des teneurs en azote et de digestibilités. Nos résultats sur l'azote exporté suggèrent des effets non négligeables du climat sur la qualité des fourrages, avec des teneurs en azote supérieures dans le système de fauches fréquentes. Ainsi, nous pouvons nous demander si les pratiques agricoles recommandées pour maintenir le potentiel de production des prairies sont les mêmes que celles favorables à d'autres services agro-écologiques comme la séquestration du carbone, la fixation de l'azote atmosphérique, ou encore la qualité des fourrages produits. La prairie permanente étant le plus souvent gérée par le pâturage et/ou la fauche, d'autres expérimentations *in situ*, ou observations à long terme, tels que les dispositifs de type ORE (Observatoire de Recherche en Environnement) incluant des modes de gestion, doivent être considérées pour proposer des adaptations plus proches de la réalité agricole.

Enfin, les traitements appliqués ont été définis à partir d'un climat de référence pour le site étudié, basé sur une période de 30 ans, et d'un modèle de circulation générale régionalisé sur une maille de 9 km (Déqué *et al.*, 1994). Malgré les efforts de précisions apportés dans l'élaboration des traitements climatiques, de nombreuses incertitudes persistent sur la fréquence et l'intensité, ainsi que sur la saison à laquelle les extrêmes climatiques pourraient avoir lieu. Or, les impacts d'une canicule sécheresse sur le fonctionnement des prairies varient selon la saison, avec des conséquences d'autant plus importantes que ces impacts surviennent au printemps, au moment du pic de production et de la reproduction sexuée de la majorité des populations végétales (De Boeck *et al.*, 2010). Ainsi, en perspective de notre travail, nous proposons de s'intéresser aux effets d'une canicule sécheresse printanière sur le fonctionnement et la structure des communautés prairiales à long terme et aux mécanismes de résistance et de récupération en lien avec le développement phénologique des populations végétales.

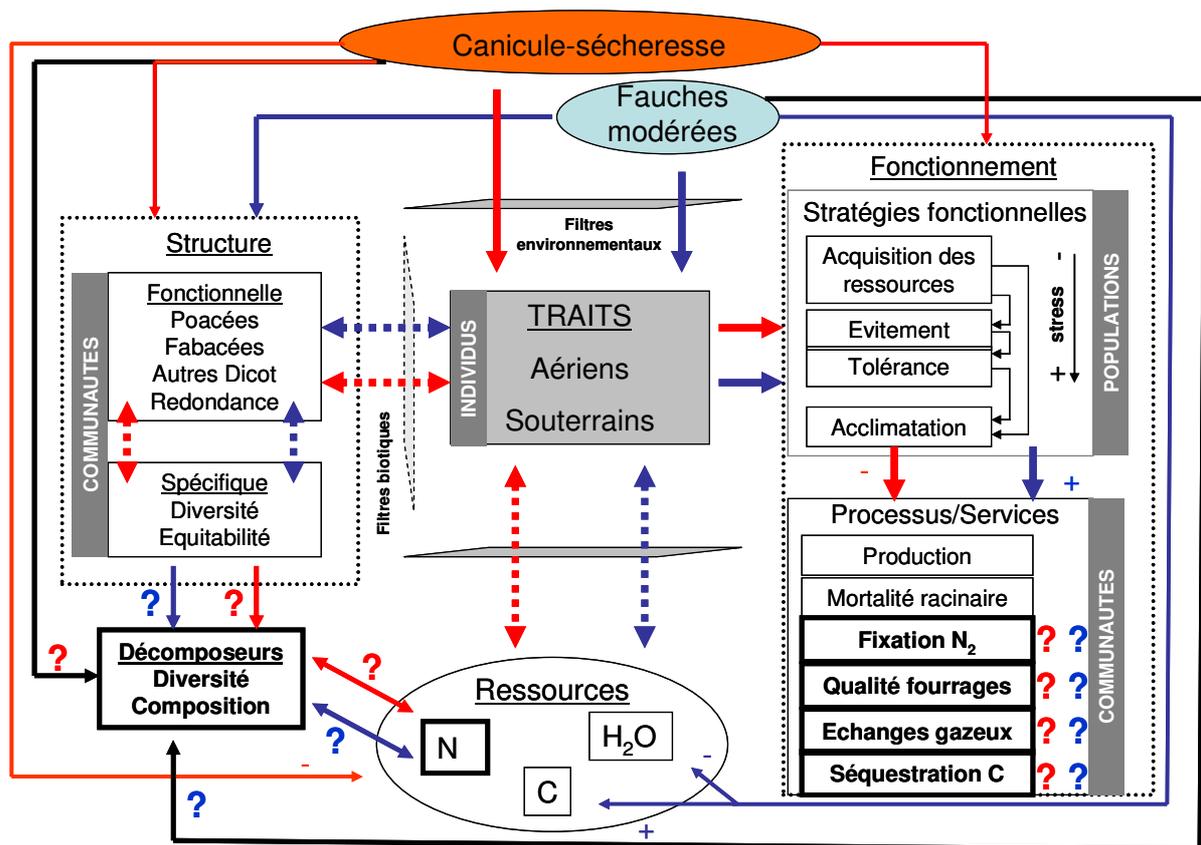


Figure 6-3 : Les pistes de recherche (en gras) portent sur l'analyse de traits supplémentaires impliqués dans les stratégies de fixation de l'azote atmosphérique (symbioses *Rhizobacterium* des fabacées); les stratégies d'acquisition des ressources azotées (NO₃⁻; NH₄⁺). Pour permettre de comprendre l'effet d'une canicule-sécheresse sur le cycle du carbone et de l'azote, d'autres pistes de recherche sur la structure et la composition des communautés microbiennes, ainsi que leur activité de décomposition, les échanges gazeux (CO₂; N₂O) entre les compartiments plantes-sol-atmosphère sont proposées. De plus, dans des perspectives plus appliquées, des pistes de recherche sur la qualité des fourrages produits, ainsi que l'effet du pâturage dans la réponse et la récupération de l'écosystème prairial pourrait permettre d'ajuster les propositions d'adaptation sur les pratiques agricoles permettant de pérenniser le système.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse a permis d'améliorer notre compréhension des effets du climat sur la production de la prairie permanente, *via* des changements d'abondances des populations végétales et de fonctionnement racinaire. De plus, nous avons mis en évidence le rôle des racines et des réserves carbonées, sous forme de saccharose et de fructanes, dans les stratégies d'évitement et de tolérance à la sécheresse. Cette thèse souligne l'existence d'une diversité de stratégies de réponse à la sécheresse en prairie permanente, et la nécessité de conserver la diversité fonctionnelle dans ces milieux pour assurer la stabilité des services de l'écosystème. D'un point de vue appliqué, nos résultats suggèrent que des pratiques de gestion modérée seraient plus adaptées au maintien de la production, en maintenant un pool de réserves plus favorable à la récupération après un extrême climatique. Ainsi, nos résultats confirment qu'il est possible d'adapter les pratiques agricoles pour pérenniser le fonctionnement des communautés prairiales. Néanmoins, des expérimentations incluant d'autres pratiques agricoles, voire une approche de modélisation, sont nécessaires pour orienter plus précisément les éleveurs vers une gestion adaptée au changement de climat moyen et de la variabilité climatique à l'échelle du système d'élevage. De plus, une approche centrée sur d'autres services de la prairie, comme la séquestration du carbone et la fixation d'azote atmosphérique, doivent être pris en compte pour analyser les compromis à faire dans l'adaptation des pratiques de gestion.

Annexe 1 :

Compléments météorologiques du climat de référence pour le site étudié

Cette annexe fournit des éléments concernant le climat de référence utilisé pour l'élaboration des traitements climatiques de notre expérimentation menée *in situ*.

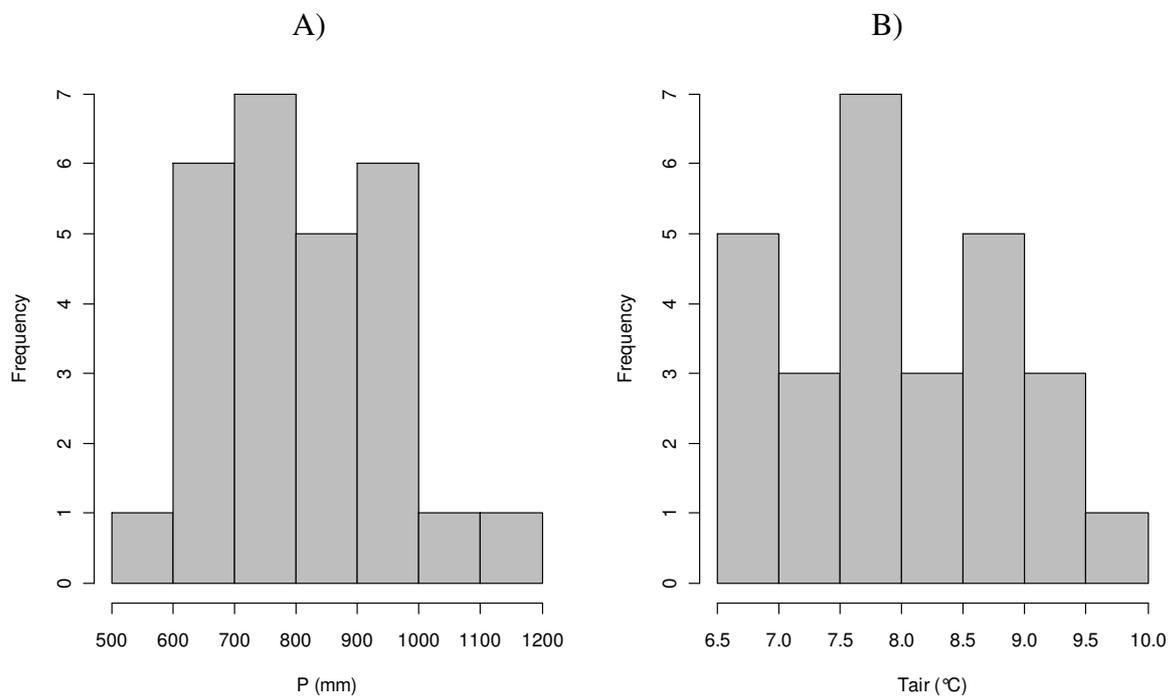


Figure A1-1. Histogrammes du cumul des précipitations (A) et des températures moyennes (B) annuels observés sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence (1969-1999).

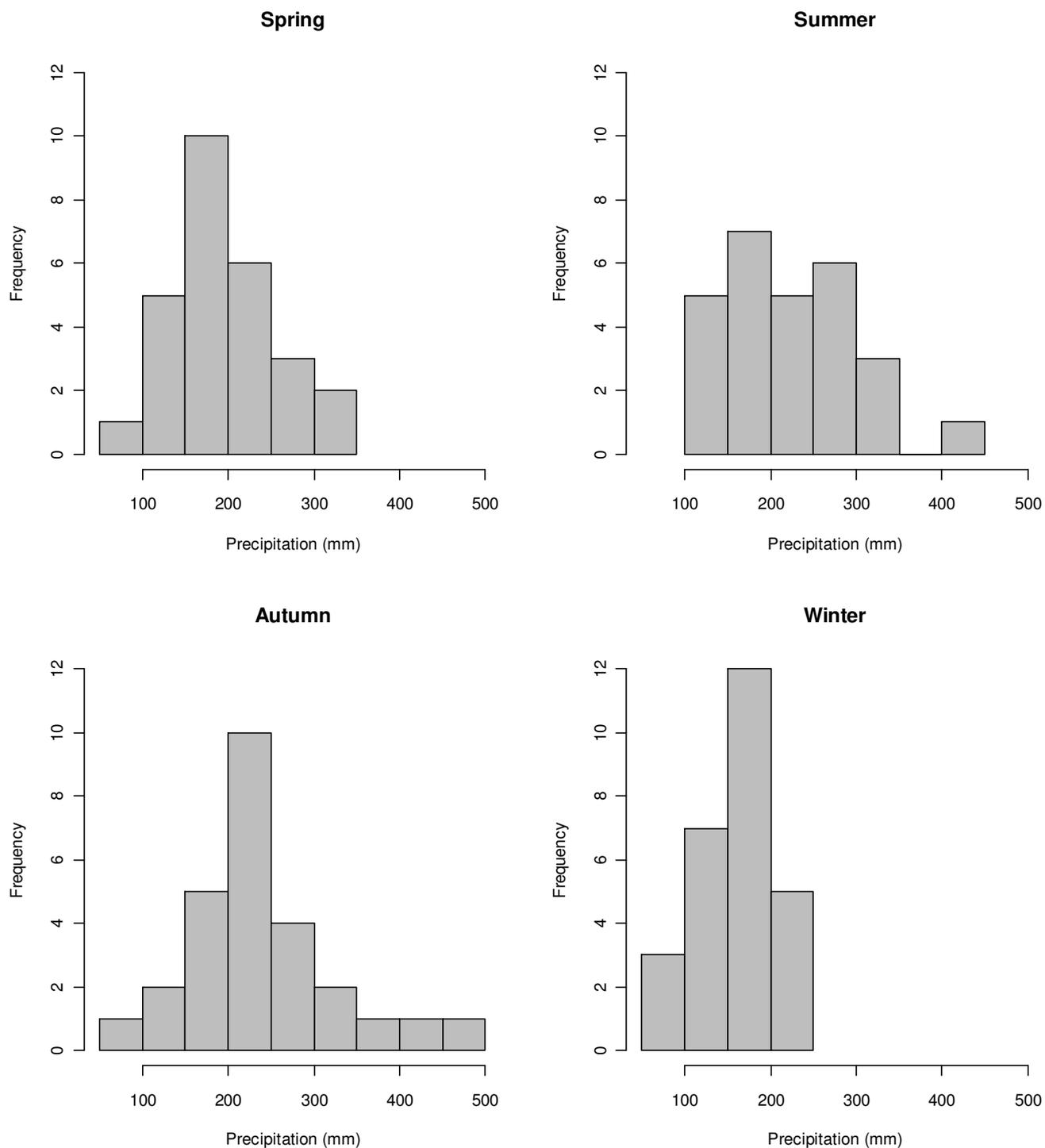


Figure A1-2. Histogrammes des cumuls de précipitations saisonnières observées sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période référence (1969-1999).

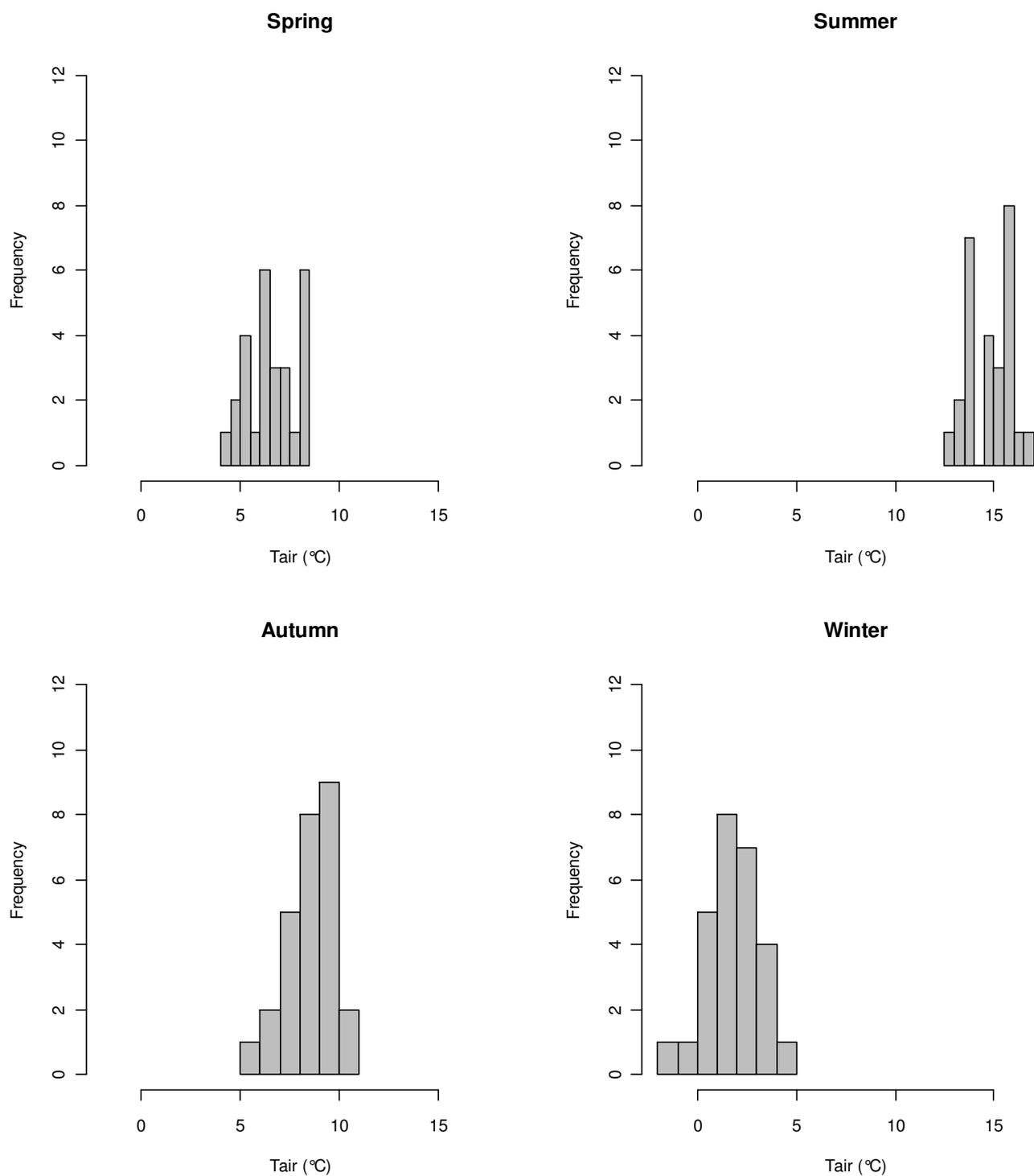


Figure A1-3. Histogrammes des températures moyennes journalières pour les 4 saisons de l'année observées sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence (1969-1999).

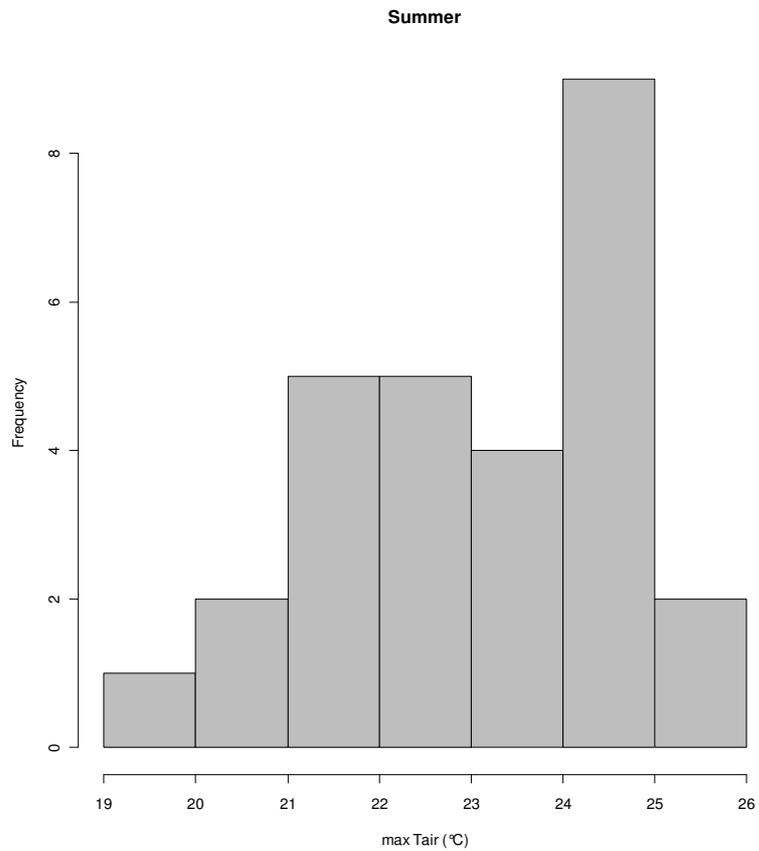


Figure A1-4. Histogrammes des maximums de température de l'air en été observés sur le site de Saint Genès-Champanelle pendant la période de référence (1969-1999).

Annexe 2 :

Compléments méthodologiques des mesures réalisées *in situ* sur le compartiment aérien

Cette annexe fournit des éléments supplémentaires sur la méthodologie des mesures réalisées sur le compartiment aérien à l'échelle des communautés végétales dans l'expérimentation *in situ*, et la vérification de l'homogénéité de la parcelle au stade initial.

1. Composition botanique des communautés végétales

La composition botanique de chaque sous-plot a été déterminée par la méthode des points quadrats (Daget & Poissonnet, 1971), avec 36 observations par sous-plot (6 points espacés de 36 cm x 6 lignes espacées de 36 cm). A chaque point d'observation, les espèces présentes ont été inventoriées et un total de 6 points leur a été attribué pour estimer leur abondance. Ces observations ont été réalisées chaque année au printemps (mi avril à début mai). A partir de ces relevés, l'abondance relative des espèces présentes a pu être calculée. Les populations ont été considérées dominantes lorsque leur présence a été observée sur la majorité des points d'observation (80-100%), et subordonnées dans le cas contraire.

2. Diversité spécifique

Les communautés végétales ont aussi été caractérisées par leur diversité spécifique. La richesse spécifique (S) a été déterminée à partir du nombre d'espèces présentes dans le relevé botanique des points quadrats. De plus, l'indice de diversité de Shannon et Weaver (H) a été calculé: $H = -\sum_i^S [p_i \cdot \log_n(p_i)]$, où S est la richesse spécifique, et p_i l'abondance relative de l'espèce. Enfin, à partir de ces deux indices, l'équitabilité (E) de la communauté a été calculée $E = H / \log_n(S)$ afin de prendre en compte des relations de dominance.

3. Types fonctionnels et redondance fonctionnelle

Une classification basée sur la taxonomie (Poacées, Fabacées, Dicotylédones non fixatrices) a permis une première description des fonctions de la communauté considérée, telles que la fixation d'azote, la phénologie, les cycles de vie, la capacité photosynthétique (Diaz & Cabido 2001). L'abondance relative de ces types fonctionnels a été calculée à partir des abondances relatives des espèces appartenant à ces groupes. La redondance fonctionnelle a été estimée par

le nombre d'espèces observées au sein de chaque type fonctionnel (Walker, 1992; Walker *et al.*, 1999).

4. Vérification de l'homogénéité de la composition et de la structure des communautés végétales au stade initial

L'homogénéité de la composition initiale en avril 2009 de (Tableau 2-1, Chapitre 2) entre les unités expérimentales a été vérifiée par des ANOVA à facteurs simples (effet bloc) réalisées sur la diversité des communautés, sur l'abondance des types fonctionnels (Poacées, Fabacées et dicotylédones non-fixatrices) (Tableau A2-1), ainsi que sur les abondances relatives des espèces dominantes (Tableau A2-2) et subordonnées (Tableau A2-3). De plus, des ANOVA à trois facteurs ont aussi permis de s'assurer qu'aucun effet traitement n'était préexistant sur la composition et la structure des communautés au commencement de l'expérimentation.

Tableau A2-1. Effet bloc et effets des traitements sur la diversité des communautés végétales et l'abondance des types fonctionnels au stade initial (avril 2009).

Variables	Bloc	Climat	Coupe	Climat x Coupe
Diversité	0.056	0.190	0.289	0.783
Shannon	0.007	0.606	0.193	0.162
Equitabilité	0.117	0.268	0.629	0.185
Abondance Poacées	0.719	0.408	0.923	0.970
Abondance Fabacées	0.058	0.252	0.083	0.596
Abondance Dicot. Non fixatrices	0.271	0.956	0.294	0.964

Tableau A2-2. Effet bloc et effets des traitements sur l'abondance des espèces dominantes des communautés végétales *in situ* au stade initial (avril 2009).

Espèces	Bloc	Climat	Coupe	Climat x Coupe
Ap	0.579	0.310	0.622	0.305
Dg	<0.001	0.777	0.389	0.244
Lp	0.118	0.469	0.326	0.386
Pp	0.614	0.874	0.815	0.805
Pt	0.069	0.881	0.642	0.831
To	0.317	0.974	0.278	0.955
Tr	0.064	0.249	0.085	0.598

Tableau A1-3. Effet bloc et effets des traitements sur l'abondance des espèces subordonnées des communautés végétales *in situ* au stade initial (avril 2009)

Espèces	Bloc	Climat	Coupe	Climat x Coupe
Ac	0.001	0.683	0.417	0.048
Ae	0.533	0.452	0.559	0.339
Am	0.243	0.740	0.443	0.355
As	0.083	0.855	0.852	0.828
Bm	0.389	0.756	0.662	0.330
Cf	0.991	0.018	0.825	0.984
Cg	0.407	0.436	0.337	0.426
Er	0.141	0.436	0.462	0.372
Fa	0.781	0.782	0.114	0.782
Hl	0.212	0.270	0.605	0.085
Racr	0.553	0.569	0.719	0.323
Rb	0.407	0.436	0.337	0.426
Sm	0.407	0.436	0.337	0.426
Tf	0.076	0.934	0.076	0.694
Tp	0.407	0.436	0.337	0.426
Va	0.801	0.802	0.571	0.345

Diversité et composition fonctionnelle

Au stade initial, la différence de diversité entre les blocs était faiblement significative ($P < 0.1$). Un léger gradient de diversité a donc été mis en évidence avec 9.25 espèces sur le bloc 1 et 10.75 pour le bloc 4. Mais cette différence inférieure à 2 espèces a été considérée comme négligeable. En avril 2009, il existait également des différences entre bloc pour l'indice de Shannon ($P < 0.05$), mais les écarts observés étaient inférieurs à 0.23, ce qui peut être considéré comme négligeable. Aucun effet bloc n'a été observé sur l'équitabilité et sur l'abondance des types fonctionnels. Ainsi avant l'application des traitements, les résultats des ANOVA multifactorielles ont également montré qu'il n'y avait pas de différence entre les unités expérimentales au stade initial sur la diversité et la composition fonctionnelle des communautés végétales étudiées.

Abondance des espèces

Les résultats des ANOVA à facteur simple ont révélé la présence d'un effet bloc sur seulement deux espèces dominantes (*Ac* et *Dg*), mais les différences d'abondance relative entre les blocs étaient relativement faibles (max 7.6%). Aucun effet traitement n'était préalablement significatif sur l'abondance des espèces dominantes en avril 2009. En revanche, les ANOVA ont montré un effet climat préexistant sur une espèce subordonnée

(Cf). Cette espèce a été effectivement observée sur les parcelles WDX uniquement, avant l'application de l'extrême climatique. De plus, l'interaction climat x coupe sur l'abondance de *Ac* était significative en avril 2009, parce qu'il existait un écart de 4.7% entre les deux fréquences de fauches sur le traitement CX. Ces deux effets ont été considérés comme négligeables, compte tenu de la très faible abondance de ces deux espèces subordonnées (<1% pour *Cf*, et seulement 2.5% pour *Ac*).

Finalement, quelques effets blocs ont été observés sur la composition et la structure des communautés végétales au stade initial, mais avec des différences entre blocs suffisamment faibles pour être considérées négligeables. Néanmoins, l'utilisation d'un modèle mixte, avec les blocs en effet aléatoire, a été choisie pour tenir compte de cette hétérogénéité et assurer un meilleur ajustement des données.

5. Production de biomasse

A chaque date de fauche (Tableau 2-3), la production fourragère a été mesurée à partir d'un échantillon de la végétation. Chaque prélèvement a été réalisé sur un quadrat de 50 x 50cm, situé vers le centre de chaque sous-plot. Les plantes ont été coupées à 5 cm au dessus du sol avec une mini-tondeuse, puis conservées dans un sac plastique, au frais dans une glacière. Une fois au laboratoire, les échantillons ont d'abord été pesés en frais pour déterminer la masse fraîche produite. Un sous-échantillon d'environ 1/3 de la masse fraîche totale a ensuite été réalisé, pour être trié manuellement (vert/sec et types fonctionnels) avant d'être séchés à l'étuve (60°C ; 48 h) et pesés. Le reste de l'échantillon non trié a directement été séché (60°C ; 48 h) et pesé. A partir de ces mesures, la production de matière sèche (g DM m⁻²) a été calculée pour chaque sous-plot. Le cumul de ces productions a permis de déterminer la production fourragère annuelle. Compte tenu des tris vert/sec réalisés, la production de biomasse (vert uniquement) a pu être calculée également. Le cumul annuel de ces biomasses a donc permis de déterminer la production primaire nette annuelle (ANPP : Above Ground Net Production).

De plus, les tris manuels réalisés pour séparer les types fonctionnels (Poacées, Fabacées, Dicotylédones non fixatrices) après chaque fauche (Tableau 2-3) nous ont permis de déterminer la contribution de ces groupes à la production de biomasse (masse verte), pendant la période de végétation (mars-novembre), puis de calculer leur production de biomasse annuelle.

6. Sénescence aérienne

Les tris vert/sec ont consisté à séparer les tissus vivants et morts récoltés après chaque fauche (Tableau 2-3). Ces tris ont permis d'évaluer le turn-over foliaire des communautés végétales et comparer leurs réponses aux traitements climatiques et aux régimes de fauches.

De plus, pendant l'été 2009, des photos de la végétation dans les quadrats utilisés pour les mesures de production ont été prises régulièrement à partir de juillet jusqu'à la fin de la saison de végétation par G. Alessio (15/07 ; 22/07 ; 30/07 13/08 ; 26/08 ; 10/09 ; 21/09 ; 2/10 ; 30/10). A partir de ces images, des notations de vert et de sec ont pu être réalisées à l'échelle du couvert végétal afin d'évaluer la résistance (du 15/07 au 30/07), puis la récupération (du 30/07 au 30/10) de la couverture végétale aux perturbations climatiques et comparer l'effet des régimes de fauches sur ces deux processus.

7. Qualité des fourrages

Afin de déterminer les effets du climat sur la qualité des fourragères produits par les communautés végétales, tous le reste non-trié du matériel végétal récolté après les fauches (Tableau 2-3) a été broyé (Cyclotec, grille diamètre 1 mm). Les poudres ont ensuite été stockées au sec à l'abri de la lumière. Compte tenu du nombre d'échantillons, il n'a pas été envisagé de réaliser des analyses chimiques pour mesurer directement la qualité des fourrages produits. Ainsi, une méthode d'estimation indirecte a été choisie, basée sur la spectrométrie d'absorption dans le proche infrarouge (SPIR ou NIRS). Cette méthode d'analyse repose sur l'absorption de la lumière proche infrarouge par la matière organique (C, O, H, N...) contenue dans les échantillons en poudre. Les liaisons chimiques entre ces constituants présentent des bandes d'absorption correspondant à des longueurs d'ondes caractéristiques. L'acquisition des spectres a été réalisée avec un spectrophotomètre (FOSS-NIRSystem 6500). Pour cela, les poudres végétales ont été placées dans des coupelles circulaires en quartz, après avoir bien homogénéisé l'échantillon. Une fois dans l'appareil, les poudres sont balayées par des radiations de 400-2500 nm. Les réflectances (R) des échantillons sont enregistrées sous la forme $\log(1/R)$ et correspond à la moyenne de 32 mesures. La gestion de l'acquisition des spectres et de la base de calibration a été réalisée avec le logiciel ISISCAN (version 2.21, FOSS-NIRSystems).

Ensuite, grâce à des gammes de calibrations réalisées au sein des équipes UREP et URH, la composition en éléments minéraux essentiels (Bore, Carbone, Calcium, Cuivre, Digestibilité, Fer, Potassium, Magnésium, Manganèse, Azote, Sodium, Phosphore, Zinc) et la

valeur nutritive (teneur en azote et digestibilité cellulase) des fourrages récoltés ont pu être estimés. Avant l'analyse, les échantillons ont d'abord été remis à l'étuve pour éviter la présence d'humidité résiduelle.

Annexe 3 :

Compléments méthodologiques des mesures réalisées *in situ* sur le compartiment racinaire

Cette annexe fournit des éléments supplémentaires sur la méthodologie des mesures réalisées sur le compartiment souterrain à l'échelle des communautés végétales dans l'expérimentation *in situ*.

1. Présentation de la technique du minirhizotron

Afin d'obtenir des informations sur la démographie du système racinaire, la technique du Minirhizotron a été utilisée car il s'agit d'une méthode non destructive (Johnson *et al.*, 2001). Elle consiste à insérer dans le sol un tube en acryl transparent (70 cm de long, 6 cm de diamètre et 4 mm d'épaisseur) selon un angle de 45° (Fig. A3-1) puis d'y insérer une caméra (BTC-2, Bartz Technology, Santa-Barbara, USA). Au cours de sa descente le long d'une crémaillère, les racines en contact avec le tube sont prises en photo tous les 2.5 cm.

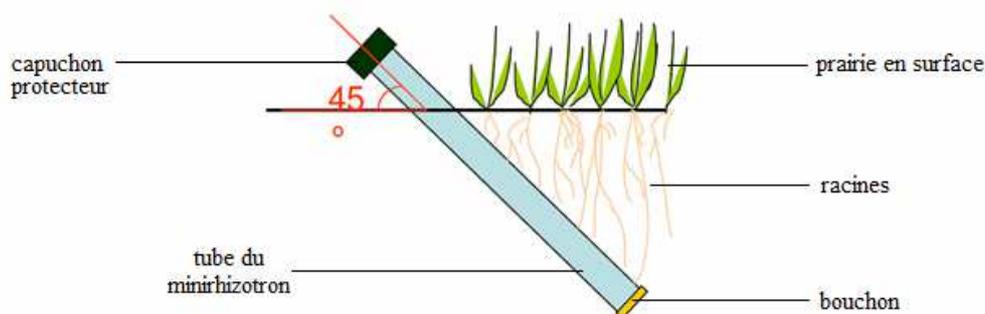


Figure A3-1. Technique du Minirhizotron (d'après Bates, 1937; source : Pilon, 2011)

Les images ainsi obtenues ont ensuite été analysées dans le logiciel WinRhizoTron© (Regent Instrument, Canada). Sur chaque image, un cadre de dimension connue (1.35 x 1.8 cm) a été utilisé pour délimiter la zone à analyser. Toutes les racines présentes dans le cadre ont été entièrement redessinées (longueur et diamètre) (Fig. A3-2). Le calque ainsi obtenu est ensuite réutilisé pour l'analyse des dates suivantes. Au fur et à mesure, les racines nouvellement apparues ont été retracées ; toutes les racines ayant disparu ont été éliminées et considérées mortes ou masquées. Pendant l'analyse, les racines ont donc été classées selon 3 catégories : Alive (**A**), Dead (**D**) et Gone (**G**). Le classement 'Dead' signifie que la racine a

disparu de son emplacement initial après avoir été entièrement décomposée par les microorganismes du sol. Le classement 'Gone' signifie que la racine a disparu de la zone d'observation pour d'autres raisons (décalage de l'image, activité des invertébrés et/ou vertébrés du sol, amas de terre...). Dans ce dernier cas, les racines concernées n'ont pas été prises en compte dans l'analyse des données. Toutes les racines portant un identifiant, la longueur, le diamètre, les dates d'apparition et de disparition ont ainsi été déterminées pour chaque racine analysée.

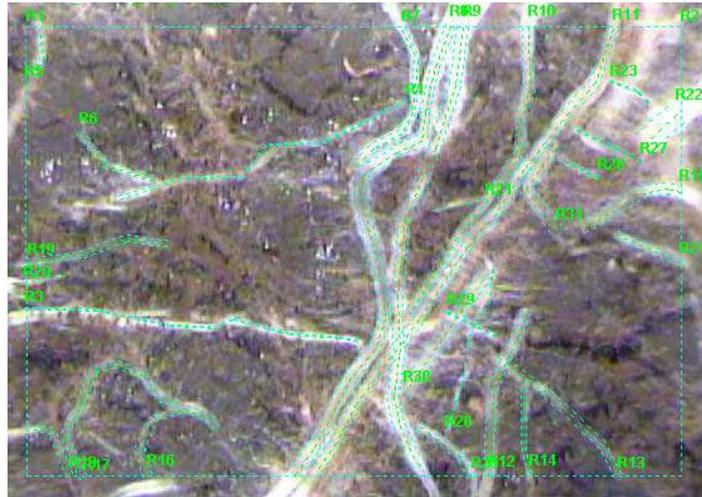


Figure A3-2. Analyse d'une image racinaire visualisée dans le logiciel WinRhizoTron©. Chaque racine observée à l'intérieur du cadre et redessinée (longueur et diamètre) sur un calque et porte un identifiant.

2. Mesures de vitesse de croissance, mortalité et production racinaire

Pour limiter les artéfacts liés à la perturbation lors de la mise en place, les tubes transparents ont été installés 5 mois avant le début de l'expérimentation (novembre 2008). Les observations ont ensuite été réalisées approximativement tous les mois, à partir d'avril 2009, jusqu'en novembre 2010 (14/04 ; 19/05 ; 24/06 ; 8/07 ; 21/07 ; 8/09 ; 13/10 ; 19/11 en 2009 ; 8/02 ; 15/02 ; 13/04 ; 21/05 ; 24/06 ; 20/07 ; 31/08 ; 1/10 ; 17/11 en 2010). Pour réduire le temps d'analyse des images capturées pendant deux ans, 6 images par tube ont été sélectionnées à chaque extrémité du tube, correspondant à des profondeurs de sol de (0-5) cm et (15-20) cm.

La vitesse de croissance racinaire ($\text{mm d}^{-1} \text{cm}^{-2}$) a été déterminée à partir des longueurs racinaires obtenues. La différence de longueur racinaire entre les dates n et $n+1$ a été calculée pour chaque racine observée. Puis le cumul de ces longueurs, dites de 'croissance', ont ensuite été divisé par le nombre de jours entre les dates n et $n+1$ afin de calculer une vitesse de croissance racinaire sur chaque image. Pour minimiser la variabilité entre les traitements,

un taux de croissance moyen été calculé pour les deux profondeurs sur chaque sous-plot. Puis, la vitesse de mortalité ($\text{mm d}^{-1} \text{cm}^{-2}$) a été déterminée de la même manière, à partir du cumul des longueurs de racines mortes observées entre deux dates.

Les cumuls de longueurs de croissance et de mortalité par image ont également permis de déterminer la production racinaire (RLP, mm. cm^{-2}) et la mortalité racinaire (RLM, mm. cm^{-2}) pendant 3 périodes clés permettant d'évaluer la résistance (du 24/06 au 27/07/2009), la récupération à court terme (du 21/07 au 19/11/2009) et la capacité de résilience (du 8/02 au 17/11/2010) du système racinaire à des perturbations climatiques.

Le diamètre moyen des racines à l'échelle de la communauté a été calculé dans les deux profondeurs de sol observées. De plus, trois classes de diamètre ont été définies : (1) racines fines pour $D \leq 0.1 \text{ mm}$; (2) racines moyennes pour $0.1 < D \leq 0.2 \text{ mm}$; (3) grosses racines pour $D > 0.2 \text{ mm}$. La proportion (%) de chacune de ces classes a ensuite été calculée à partir des cumuls de longueurs des racines vivantes. Selon le même mode opératoire que précédemment décrit, les vitesses de croissance ($\text{mm d}^{-1} \text{cm}^{-2}$) et de mortalité ($\text{mm d}^{-1} \text{cm}^{-2}$), ainsi que la production racinaire ont été calculées pour les 3 classes de racines.

3. Longévité et turnover racinaire

A partir de la date d'apparition et de disparition de chaque racine observée pendant les deux années de suivi, la durée de vie moyenne des racines a pu être déterminée à partir de la méthode de Kaplan-Meier (Allison, 1995). La méthode de Kaplan-Meier correspond au calcul d'une estimation de taux de survie, calculé à partir de la formule :

$\hat{S}(t) = \prod_{t_i < t} \frac{n_i - d_i}{n_i}$, où $S(t)$ est la probabilité qu'une racine dans un stock donné ait une durée de vie plus grande que t , d_i le nombre de racines mortes au temps t_i et n_i le nombre de racines survivantes avant t_i . Cette formule permet d'obtenir une courbe de survie pour une cohorte hypothétique et de déterminer des temps médians de survie, c'est-à-dire le temps au bout duquel 50 % des racines initialement présentes ont totalement disparues.

Pour réaliser ce calcul, la date d'apparition et de mort des racines ont été estimées comme étant la date au milieu des périodes observées. Les racines encore vivantes à la dernière date d'observation ont été considérées comme censurées, tandis que les racines dont la date de mort était connue ont été considérées comme non censurées. Cette analyse a été réalisée avec le package 'Survival' du logiciel de programmation R (Therneau, 2012).

4. Vérification de l'homogénéité des stocks de racines des communautés végétales au stade initial

Tableau A3 : Effet bloc et effets des traitements sur les cumuls de longueur racinaire totale et par classe de diamètre (D1 : < 0.1 mm ; 0.1 < D2 < 0.2 mm ; D3 > 0.2mm) au stade initial (14 avril 2009)

	Bloc	Climat	Cut	Climat x Cut
<u>Shallow soil</u>				
Total Root length	0.860	0.245	0.782	0.560
D1 Root length	0.648	0.346	0.014	0.521
D2 Root length	0.799	0.377	0.441	0.615
D3 Root length	0.248	0.625	0.054	0.293
<u>Deep soil</u>				
Deep Root length	0.158	0.768	0.920	0.206
D1 Root length	0.321	0.576	-	0.643
D2 Root length	0.437	0.958	0.724	0.426
D3 Root length	0.096	0.496	0.562	0.326

Annexe 4 :

Compléments méthodologiques des mesures réalisées *in situ* sur les populations dominantes des communautés

Cette annexe fournit des éléments supplémentaires sur la méthodologie des mesures réalisées à l'échelle des populations dans l'expérimentation *in situ*.

1. Traits foliaires

Nous avons vu au cours de l'état de l'art (Chapitre 1) que l'étude des traits fonctionnels permet de caractériser à la fois la réponse d'une population lors d'un changement des conditions environnementales, et son effet sur le fonctionnement de l'écosystème (Lavorel & Garnier, 2002; Suding *et al.*, 2008; Klumpp & Soussana, 2009). Ainsi des mesures de traits foliaires ont été réalisées au printemps avant la première fauche de l'année (du 29/07 au 12/05/2009 et du 26/04 au 05/05/2010), sur les populations dominantes des communautés végétales, représentant 80% du couvert végétal (*L. perenne*, *T. officinalis*, *T. repens*, *P. trivialis*, *P. pratensis*, *D. glomerata*).

Ces mesures de traits foliaires ont été réalisées selon un protocole standardisé (Garnier *et al.*, 2001). Cette méthodologie est basée sur le prélèvement au hasard d'une quinzaine d'individus par population, au stade végétatif. Les talles ont été ensuite conservées au frais à l'intérieur d'une glacière, dans du papier absorbant humidifié, afin de limiter leur dessèchement, avant d'être ramenées au laboratoire. Le premier trait est mesuré sur la talle entière avant réhydratation pour déterminer la longueur de la talle étirée (VE, mm). Puis les talles sont réhydratées pendant 24h en chambre froide (4°C) (Garnier *et al.*, 2001). Ensuite, le dernier limbe mature est coupé à la base pour déterminer les 7 traits foliaires suivant :

- longueur du limbe (LL, mm)
- surface du limbe (LA, cm²)
- masse fraîche du limbe (LFM, mg MF)
- masse sèche du limbe (LDM, mg MS)
- surface spécifique du limbe (SLA, mm² mg⁻¹)
- teneur en matière sèche du limbe (LDMC, mg g⁻¹)
- teneur en azote (LNC, mg N g⁻¹ MS)

Tout d'abord, le LFM est mesuré avec une balance de précision, le LA avec un planimètre optique (LiCOR3100), puis le LL avec une règle graduée. Ensuite, chaque limbe est séché à l'étuve à 60°C pendant 48h. A la sortie de l'étuve, le LDM est déterminé sur la balance de précision. Enfin, tous les limbes d'une même population sont regroupés et broyés très finement (broyeur à billes, Mixer Mill, Model MM200; Retsch GmbH, Haan, Germany), avant d'être analysés par la méthode de Dumas (Carlo Erba Instruments, CNS NA 1500 ThermoFinnigan, Milan, Italy) permettant de déterminer le LNC.

Les traits fonctionnels agrégés à l'échelle de la communauté ont ensuite été calculés en pondérant ces valeurs de traits par l'abondance relative des populations concernées (Garnier *et al.*, 2004).

L'analyse de ces différents traits mesurés au stade initial (2009) , puis en 2010 permettront de caractériser les traits d'effet et de réponse à des perturbations climatiques.

2. Potentiel de production au printemps

Afin de déterminer le potentiel de production des populations dominantes au printemps (pic de croissance), un sous-échantillon (1/3 g MF du matériel végétal récolté dans le quadrat de 50 x 50 cm) a été réalisé à l'issue des fauches printanières en 2009 (15/05 et 16/06) et en 2010 (11/05 et 7/06). Toutes les espèces ont été manuellement triées et identifiées avant d'être séchées à l'étuve (60°C ; 48h) et pesées. Ces mesures permettront également de calculer la contribution de chaque population à la production fourragère de la prairie au printemps.

3. Traits physiologiques

a. Conductance stomatique

Tout d'abord, des mesures de conductance stomatique (G_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et de transpiration (Tr , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ont été réalisées avec un poromètre (LI ; Licor USA) avant l'application de l'événement extrême (7/05 ; 11/05 ; 12/02/2009), toujours entre 10h et 17h. Ces mesures ont été effectuées sur la dernière feuille mature des quatre espèces dominantes (*T. officinalis*, *T. repens*, *L. perenne*, *D. glomerata*) dans un ordre aléatoire, avec un minimum de trois répétitions par sous-plot (selon la variabilité des conditions extérieures et des mesures obtenues). Cette première série de mesures écophysiological a permis de tester l'acclimatation des populations dominantes après 2 mois de réchauffement passif avant que la réduction des précipitations et l'extrême climatique soient appliqués.

Les résultats de cette analyse préliminaire n'ont montré aucun effet significatif du réchauffement nocturne sur les populations dominantes après 2 mois d'acclimatation (Fig. A4-1).

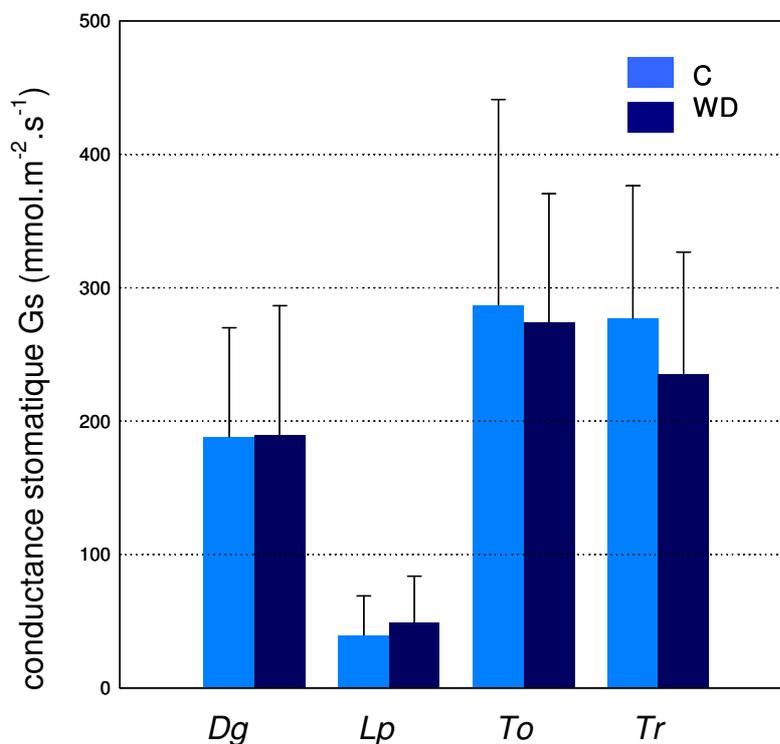


Figure A4-1. Conductance stomatique des quatre populations dominantes des communautés végétales mesurée *in situ* après 2 mois d'acclimatation au réchauffement nocturne (mai 2009). Ces mesures ayant été réalisées avant l'extrême, les traitements C et CX, ainsi que WD et WDX ont été regroupés dans le calcul des moyennes présentées (\pm sd, n=8). (*Dg* ; *D. glomerata* ; *Lp* : *L. perenne* ; *To*: *T. officinalis*, *Tr*: *T. Repens*)

Puis pendant l'extrême climatique, des mesures de conductance stomatique ont également été réalisées afin d'observer l'ajustement stomatique de *T. officinalis* en réponse au stress (10/07 ; 16/07 ; 24/07/2009). En 2010, une dernière campagne de mesures a été faite à la fin du printemps (4/06/2010) pour analyser les arrières effets de l'extrême sur la conductance stomatique de *T. officinalis*.

b. Potentiel hydrique foliaire

Parallèlement aux mesures de conductance stomatique, le statut hydrique des populations de *T. officinalis* et *D. glomerata* a été caractérisé par un potentiel hydrique foliaire (kPa) pendant la canicule expérimentale (10/07 ; 16/07/2009; 24/07/2009) et un an après (4/06/2010). Pour cela, le dernier limbe mature a été coupé à la base et immédiatement observé dans une chambre à pression (type 'Scolander').

c. Concentrations en sucres solubles

Afin de déterminer les mécanismes de résistance à la sécheresse des populations de *D. glomerata* pendant la canicule expérimentale *in situ*, 3 talles par sous-plot ont été prélevées au hasard, puis immédiatement disséquées pour séparer le dernier limbe mature des autres limbes, et de la gaine (Fig. A4-2). Avant d'être plongés dans l'azote liquide, chacun de ces organes ont été fraîchement pesés. Tous les échantillons ont ensuite été conservés dans un congélateur à -80°C avant d'être lyophilisés à -100°C pendant 48h. Ils ont ensuite été repesés pour calculer *in fine* leur teneur en eau au moment du prélèvement. Puis tous les échantillons ont été broyés très finement (broyeur à billes, Mixer Mill, Model MM200; Retsch GmbH, Haan, Germany) avant d'être analysés par une technique de chromatographie gazeuse à haute performance (HPLC) (voir détails Annexe 5).

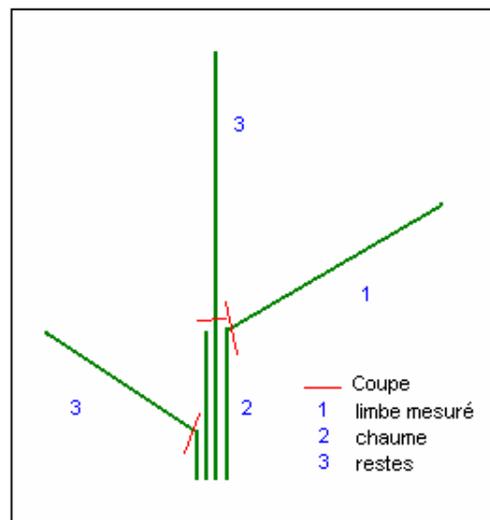


Figure A4-2. Schéma de dissection des talles de *D. glomerata* pour les mesures de teneurs en sucres dans les limbes et les gaines.

Ces prélèvements ont été réalisés entre 8h et 13h pendant la canicule expérimentale (15/07 et 21/07) afin d'observer la réponse directe des populations soumises au stress ; pendant la période de récupération à l'automne (1/10/2009) pour déterminer le rôle des réserves en sucres dans la repousse après le stress ; et à la fin du printemps (3/06/2010) suivant pour analyser l'acclimatation des plantes un an après l'extrême climatique.

d. Stabilité membranaire des méristèmes foliaires

Afin d'évaluer la tolérance des populations de *D. glomerata* au stress sévère, des mesures de stabilité membranaire ont été réalisées sur les méristèmes foliaires à la fin de la canicule expérimentale (21/07/2007). Pour cela, deux talles par sous-plot ont été prélevées. Le protocole de dissection et de mesure est identique à celui présenté dans l'annexe 5.

Compléments méthodologiques des mesures réalisées en conditions semi-contrôlées

Cette annexe fournit des éléments supplémentaires sur la méthodologie des mesures réalisées à l'échelle des populations dans l'expérimentation en conditions semi-contrôlées.

1. Potentiel de production au printemps

Afin de maintenir les plantes au stade végétatif pendant l'expérimentation, des coupes à 5-7 cm ont été réalisées sur toutes les populations environ tous les mois à partir d'avril 2011 (Tableau 2-6). Le matériel végétal récolté au printemps (du 4/04 au 15/06, pic de biomasse) a ainsi été utilisé pour déterminer le potentiel de production de chaque population. Puis les coupes de printemps l'année suivante (19/09 ; 31-05) ont permis d'évaluer leur capacité de résilience un an après avoir été soumises à une sécheresse sévère.

Pour chaque coupe dans les cultures en bacs, un quadrat de 30 x 30 cm, placé au centre, a été utilisé de manière à exclure les bordures. Dans les tubes, tout le matériel végétal a été récupéré. La méthodologie utilisée pour ces mesures est la même que celle utilisée dans notre expérimentation *in situ* (voir Annexe 2).

2. Elongation foliaire

Des mesures d'élongation foliaire ont été réalisées pour caractériser le potentiel d'élongation des feuilles en conditions non limitantes de croissance, et pour déterminer la stratégie de capture des ressources des populations étudiées. Ces observations ont été réalisées deux à trois fois par semaine dans les deux types de cultures (12 talles par population) maintenues à capacité au champ (30/05 ; 1/06 ; 9/06 ; 20/06 ; 23/06 ; 27/06), puis en début de sécheresse jusqu'à l'arrêt complet de l'élongation foliaire (1/07 ; 6/07 ; 8/07 ; 12/07). La méthodologie utilisée repose sur un système de bagage (Carrère *et al.*, 1997) pour pouvoir suivre dans le temps la croissance des mêmes talles. Brièvement, sur chaque talle observée, la longueur de la dernière feuille en croissance a été mesurée depuis sa ligule jusqu'à la pointe avec une règle graduée. Sa longueur a ensuite été remesurée à chaque date d'observation et les feuilles nouvellement apparues ont également été dénombrées et mesurées. Ces observations nous ont

permis ensuite de déterminer le taux d'élongation foliaire maximal, ainsi que le nombre de feuilles en croissance par talle.

3. Traits morphologiques

Pour pouvoir récolter du matériel végétal et réaliser les mesures de traits (mesures destructives), trois tubes par population ont été entièrement prélevés à 5 dates clefs (voir § 2.f, Chapitre 2). Ces collectes ont été réalisées sur 3 jours, soit une répétition par population chaque journée, dans un ordre différent (Tableau A5).

Tableau A5. Ordre de prélèvement des populations végétales à chaque campagne de mesures

Jour 1	Jour 2	Jour 3
Dg	To	Md
Tf	Pp	Pt
Fa	Pt	Fa
Pp	Dg	Tf
To	Md	To
Md	Tf	Pp
Pt	Fa	Dg

Pour chaque tube, la colonne de sol a été entièrement démoulée à partir de la pochette plastique, préalablement insérée pendant la préparation des cultures (voir détails § 2.a, Chapitre 2) (Fig. A5-a).

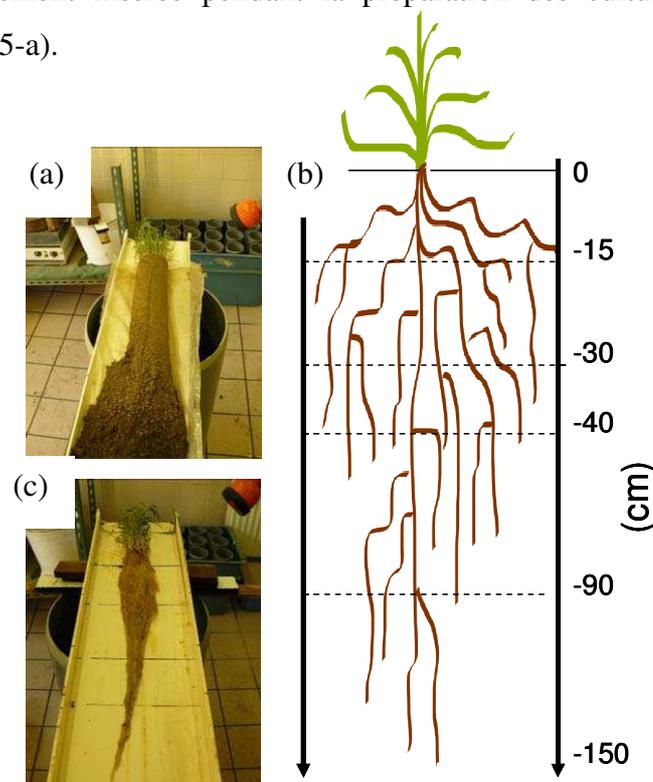


Figure A5-1. Prélèvements des cultures en tubes (a), et schéma de découpage de la colonne de sol et des racines(b) ; racines après lavage (c).

Un sous-échantillon des parties aériennes a d'abord été prélevé et gardé au frais dans un sac plastique afin de limiter la déshydratation des tissus pendant les étapes suivantes. Des sous-échantillons de sol à proximité des racines ont ensuite été récoltés, à 5 strates différentes (Fig. A5-1b, c). Puis toutes les racines ont été délicatement lavées afin de retirer toutes les particules de sol. Tout le matériel végétal ainsi disponible a ensuite été utilisé pour les mesures de traits foliaires et racinaires, morphologiques et physiologies.

a. Traits foliaires

Pour chaque tube, 3 talles (soit 9 talles par population) ont été aléatoirement isolées afin de récolter le dernier limbe mature et la gaine. Les mesures de traits foliaires ont ensuite été réalisées selon le protocole présenté dans l'annexe 4. Les gaines ont également été pesées avant d'être séchées à l'étuve (60°C ; 48h) et repesées, pour pouvoir calculer leur teneur en eau en conditions optimales et en réponse à la sécheresse.

b. Traits racinaires

Les mesures de traits racinaires ont été réalisées dans le but de caractériser les profils racinaires de chaque population en conditions optimales et caractériser leur stratégie d'évitement à la sécheresse. Après le lavage des racines, la profondeur d'enracinement maximum (D_{max}, cm) a été mesurée avec un mètre gradué. Puis, l'apex racinaire le plus profond a été prélevé (¶~10 cm) avant que le système racinaire soit sectionné selon les 5 strates définies (Fig. A5-1). Toutes les racines ont ensuite été stockées dans du papier absorbant humidifié, puis placées en chambre froide en attendant d'être analysées.

Dans chaque strate, des sous-échantillons de racines ont été réalisés pour les mesures de teneur en sucres (voir § 4, Annexe 5). Puis la méthodologie utilisée pour les mesures de traits racinaires (RDMC) est basée sur la méthode de Cornelissen *et al.* (2003). Après avoir été rapidement séchées dans du papier absorbant, les racines ont été pesées, séchées à l'étuve (60°C ; 48 h) et repesées. A partir de ces mesures, la masse total du système racinaire (RM, kg m⁻³), la teneur en matières sèches (RDMC, mg g⁻¹) et la teneur en eau relative (%) des racines ont pu être calculées.

Ensuite, la profondeur incluant 95% de la masse racinaire totale (D₉₅, cm) a été calculée pour chaque population à partir de la méthodologie de Schenk and Jackson (2002). Cette méthode utilise une courbe de réponse logistique LDR (logistic Dose Response) ;

$r(D) = R_{max} / [1 + (D/D_{50})^c]$, où $R(D)$ est le cumul de la masse racinaire observée à la profondeur D ; R_{max} , la masse total du système racinaire ; D_{50} , la profondeur à laquelle $r(D) = 0.5 R_{max}$; et c , un paramètre caractérisant la pente de la courbe. Pour déterminer, c une première régression linéaire a été réalisée sur la partie linéaire de la courbe (Fig. A5-2). Pour chaque population, la limite supérieure de cette portion linéaire a été estimée par $0.95 R_{max}$. Puis à partir de l'estimation de c , et des mesures réalisées sur chaque population, le D_{95} a pu être prédit par l'ajustement des données. Les R^2 obtenus sur l'ensemble de ces ajustements ont été compris entre 0.96 et 0.99. La distribution du système racinaire a ainsi été comparée entre les populations étudiées.

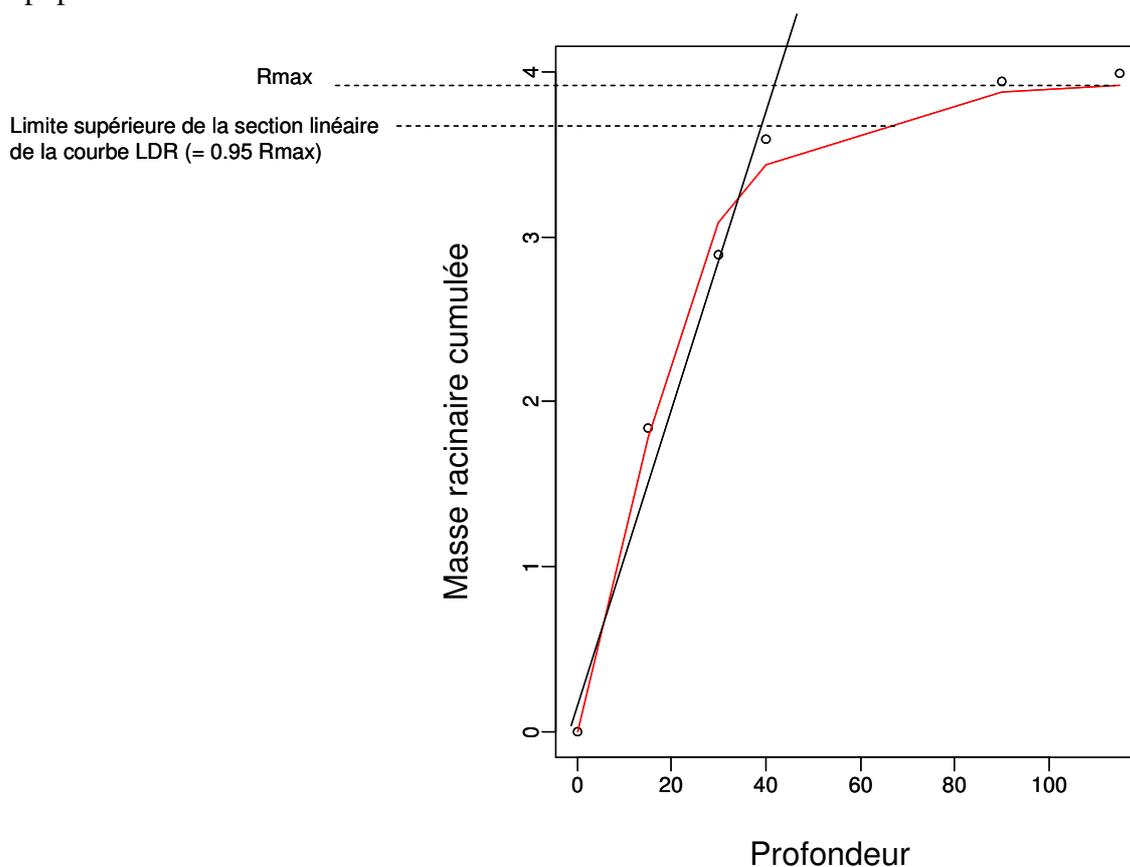


Figure A5-2. Ajustement non-linéaire d'un profil racinaire basé sur une courbe logistique LDR. Le paramètre c de l'équation de la courbe a été estimé par la pente de la section linéaire de la courbe.

4. Concentrations en sucres solubles

Afin de déterminer les mécanismes impliqués dans la résistance à la sécheresse des populations prairiales et confirmer notre hypothèse sur le rôle des réserves glucidiques, des méristèmes foliaires, des apex racinaires, des racines et des organes de réserves (stolons, rhizomes et pivots) ont été sous-échantillonnés directement après le lavage des racines afin de mesurer leurs concentrations en sucres solubles (totaux, saccharose, fructanes et monoscacchrides).

Pour cela, 20 à 50 méristèmes foliaires (soit un minimum de 350 g MF) par tube ont été préalablement décortiqués selon la méthodologie de Lattanzi *et al.* (2004) et Wild (2010). Après avoir retiré toutes les gaines, la zone d'élongation foliaire à la base des gaines a été considérée comme la zone méristématique, et déterminée au 2/3 de la gaine du limbe le plus jeune. Cette dissection minutieuse a été réalisée sur un bac de glaçon afin de limiter la dégradation des sucres pendant l'opération.

Tous les sous-échantillons ont été fraîchement pesés avant d'être plongés dans l'azote liquide. Puis, ils ont été stockés dans un congélateur à -80°C en attendant d'être lyophilisés (-100°C ; 48 h). Après avoir repesé les échantillons, leur teneur en eau au moment du prélèvement a pu être calculée. Ensuite, ils ont été broyés très finement avec un broyeur à billes (Mixer Mill, Model MM200; Retsch GmbH, Haan, Germany). A partir de la poudre (20-50 mg), les sucres solubles ont été extraits dans 80% d'éthanol à 85°C au bain marie, puis purifiés dans des mini-colonnes (Mobicols from MoBITec, Göttingen, Germany) à partir de résines échangeuses d'ions (250 µL résine H⁺ ; 80 µL de PVPP ; 150 µL de résine COO⁻). Ensuite, les sucres solubles ont été analysés par HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance). Après élution des sucres solubles dans une solution Ca-EDTA (50 mg L⁻¹ dans l'eau ultra-pure dégazée) à 0.5 mL min⁻¹, la séparation des glucides est assurée par passage sur une colonne échangeuse de cations saturée d'ions Ca⁺ (Sugar-PAK, 300 x 6.5 mm, Millipore Waters, MA, USA) maintenue dans une enceinte thermostatée à 85°C. Les glucides ainsi séparés sont détectés par un réfractomètre différentiel (2410, Differential Refractometer, Millipore Waters, Milford, MA, USA). La nature des sucres est définie par leur temps de rétention en comparaison avec des standards (glucose, fructose, sucrose et inuline de *Cichorium intybus* (Sigma-Aldrich, MO, USA) dosés à 1 g L⁻¹. Les aires des pics des différentes fractions sont déterminées à l'aide du logiciel Breeze (Millipore Waters, Milford, MA, USA) et la concentration des différents sucres est ensuite déterminée par comparaison avec les aires des pics standards.

5. Stabilité membranaire

La tolérance à la sécheresse des populations a été déterminée par des mesures de stabilité membranaire à la fin de la sécheresse sévère (date 3), selon le principe de 'fuite d'électrolytes' (Blum & Ebercon, 1981), selon la méthodologie de Charrier and Améglio (2011). Pour cela, des échantillons frais de méristèmes foliaires, d'apex racinaires, des racines de toutes les strates et des organes de réserves ont été plongés dans des tubes à essai contenant

10 mL d'eau ultra-pure, et incubés pendant 24h dans le noir à température ambiante (20°C) sur une plage d'agitation. Ensuite, une première mesure de conductivité a été réalisée (C1) avec un conductimètre (Held Meter LF340, TetraCon® 325, Germany). Puis tous les échantillons dans leur tube à essai ont été autoclavés (120°C ; 30 min) afin d'éclater les cellules et libérer tous leurs électrolytes (100% mortalité cellulaire). Après refroidissement des solutions dans des bacs de glace, une nouvelle mesure de conductivité à été réalisée à température ambiante (20°C). Puis la stabilité membranaire a été calculée avec la formule $CMS = (1 - C1 / C2) * 100$ (Volaire, 2002).

6. Coloration vitale

Pour pouvoir localiser la mortalité cellulaire dans les organes prélevés des tests de coloration vitale ont été réalisés en parallèle des mesures de stabilité membranaire. Ces mesures complémentaires avaient également pour objectif de développer une calibration entre les deux méthodes pour pouvoir estimer la mortalité racinaire à partir d'une méthode d'observation qualitative. Le principe de la coloration vitale repose sur l'utilisation d'un colorant TTC (2,3,5 triphenyltetrazolium chloride, 0.6%) qui est réduit en formazan rouge insoluble dans les cellules vivantes. Cela permet donc de différencier les tissus vivants des tissus morts (Comas *et al.*, 2000; Ruf & Brunner, 2003). L'ajout de glucose dans la solution fournit un substrat pour le métabolisme cellulaire qui permet d'augmenter la coloration des tissus vivants limités en substrat (Ryser & Kamminga, 2009). Des sous-échantillons de méristèmes foliaires, d'apex racinaires, des racines de chaque strate, et des organes de réserves ont donc été plongés dans 3 mL d'une solution de TTC (0.6%) et de glucose (10mM). Puis tous les flacons ont été incubés à l'étuve (30°C ; 38-48h) dans l'obscurité.

Afin de pouvoir localiser la mortalité cellulaire dans les racines, des coupes transversales ont été réalisées et ont été directement observées au microscope électronique (voir Annexe 6).

7. Photosynthèse du couvert végétal

Des mesures de photosynthèse ont été réalisées sur les cultures en bacs en conditions optimales et en début de sécheresse afin d'analyser la réponse directe des populations à la sécheresse appliquée. Pour cela, une chambre hermétique (système fermé) a été utilisée afin de pouvoir réaliser des mesures ponctuelles et rapides sur tous les bacs. Cette chambre a été élaborée d'après la méthodologie de Wohlfahrt *et al.* (2005) et Chojnicki *et al.* (2010) (Fig A4-3). Pour s'adapter aux dimensions des bacs, la chambre a été fabriquée sur mesure à partir d'une armature en aluminium sur laquelle ont été fixées des plaques en LEXAN®

transparentes (Fig. A4-3). Lors du positionnement de la chambre sur le bac, une ouverture sur la face supérieure a permis d'éviter les phénomènes de surpression susceptibles de perturber l'activité des plantes. De plus, un conduit a été installé, à la base de la chambre, pour empêcher les différences de pression entre la pression atmosphérique et la pression à l'intérieur de la chambre pendant la mesure. Pour pouvoir assurer une bonne étanchéité de l'air au niveau de la jonction entre le bac et la chambre, des joints en caoutchouc ont préalablement été fixés sur les arêtes inférieures de la chambre. Puis pour améliorer l'étanchéité pendant la mesure, la chambre était ensuite attachée avec des tendeurs pour écraser les joints sur les arêtes du bac. Après avoir installé la chambre de mesure, un bouchon en caoutchouc a été utilisé pour assurer l'étanchéité au niveau du trou de surpression avant de commencer les enregistrements.

La concentration en CO₂ et l'humidité de l'air ont été mesurée en continue pendant 2 min par un analyseur de gaz infrarouge (IRGA, LCA-2, ADC, Hoddson, UK) couplé à un capteur de CO₂ (GMP343, Vaisala, Helsinki, Finland). Pour faciliter le brassage de l'air à l'intérieur de la chambre, deux ventilateurs ont été installés à l'intérieur. De plus, pendant la mesure, les conditions de température, de rayonnement et de pression atmosphérique ont été enregistrées pour contrôler la qualité des mesures. L'ensemble de ces capteurs a été connecté à une centrale d'acquisition des données (Campbell Scientific CR10X, Utah, USA), avec une fréquence d'acquisition des données de 1 seconde. Ces données sont ensuite stockées sur une moyenne de 5 secondes pendant 2 minutes. Ceci a permis d'avoir une fréquence de mesure suffisamment importante pour observer les variations de la concentration en CO₂ dans la chambre et tracer une droite de régression linéaire pour caractériser l'absorption du CO₂ par la couverture végétale. Afin de vérifier la qualité des mesures, les concentrations en CO₂ dans la chambre, ont pu être visualisées en temps réel avec le logiciel LoggerNet.

Ensuite, les échanges nets de chaque population ont été calculés selon (Schmitt *et al.*, 2010) :

$$NEE = \frac{(dCO_2/dt) \cdot T \cdot P \times 10^3}{[V_m \cdot (273.15 + T) \cdot P_0]} \cdot (V/A) \times 10^6$$

, où dCO_2/dt ($\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) est le changement

de concentration en CO₂ dans la chambre au cours du temps, P est la pression atmosphérique dans la chambre (kPa), V_m est le volume molaire du CO₂ ($\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$), T est la température dans la chambre (°C), P₀ est la pression atmosphérique standard, (kPa), V est le volume de la chambre (m^3) et A est la surface de la couverture végétale dans la chambre (m^2). Les flux

négatifs représentent une assimilation de CO_2 par la végétation, alors que les flux positifs représentent un dégagement de CO_2 .

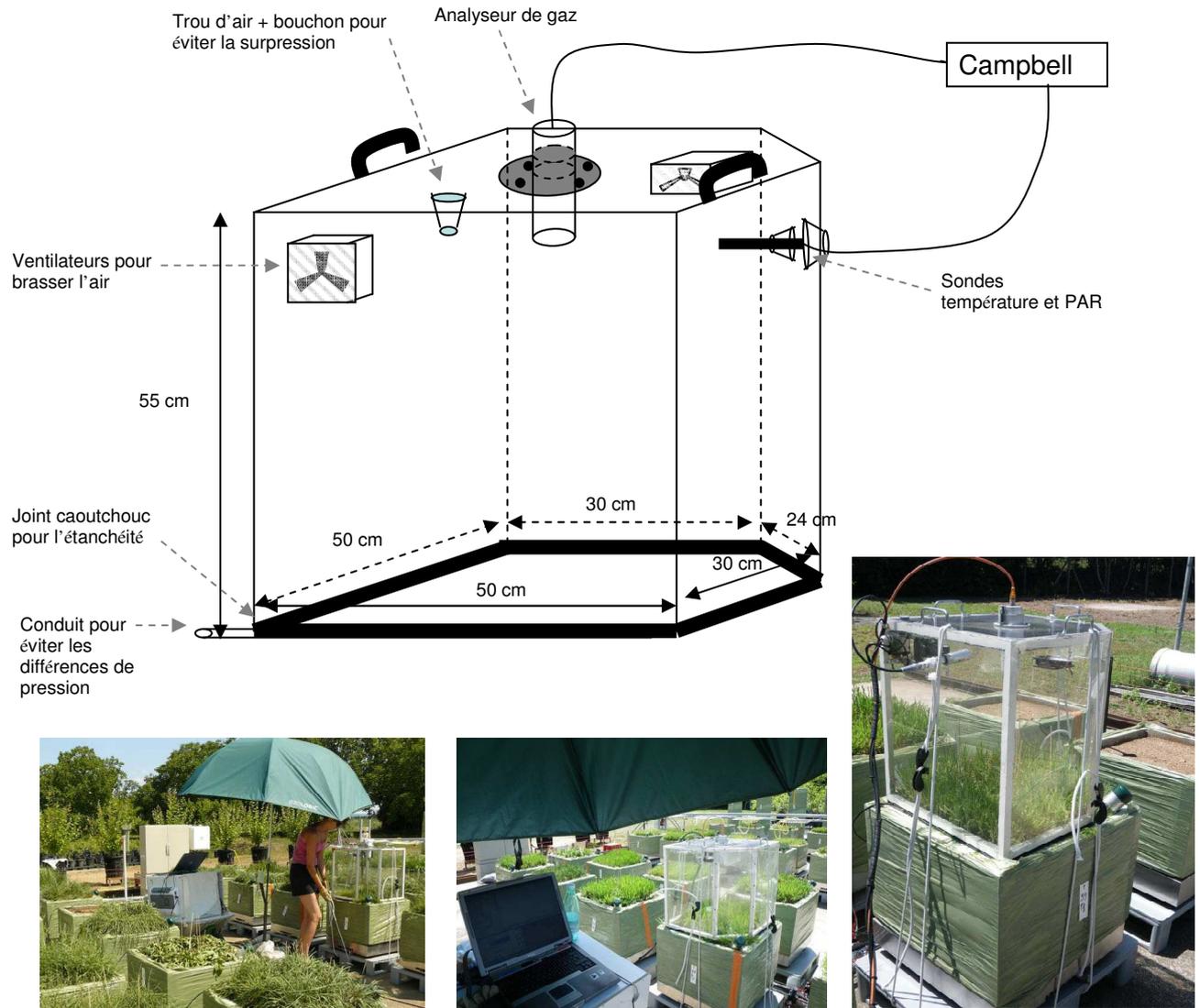


Figure A5-3. Mesures de photosynthèse du couvert en système fermé sur les cultures en bacs.

Ces mesures d'échange gazeux ont été réalisées dans le but de caractériser l'assimilation du CO_2 par les populations en conditions optimales de croissance, puis d'analyser leur réponse directe à la sécheresse appliquée. Ces mesures ont donc été effectuées sur les cultures en bacs, deux fois par semaines entre 10h et 15h, à partir de juin 2011 jusqu'à l'arrêt de l'élongation foliaire (9/06 ; 14/06 ; 20/06 ; 27/06 ; 1/07 ; 4/07/2011).

a. Potentiel hydrique foliaire

Afin de caractériser le statut hydrique des différentes populations en condition optimales de croissance, puis en condition de stress, le potentiel hydrique foliaire a été mesuré en parallèle des mesures d'échanges gazeux (27/06 et 4/07/2011). Ces mesures ont été réalisées dans les

bacs sur le dernier limbe mature d'une talle par bac choisie au hasard (soit $n=3$ et $n=4$ pour les traitements Control et Drought, respectivement). A chaque date, deux séries de mesures ont été réalisées pour déterminer le potentiel hydrique de base (ψ_{base}) avant le lever du soleil (3h-5h30) et minimum (ψ_{min}) (12h-14h), avec une chambre à pression (Scholander) munie d'une source d'azote comprimée, d'un régulateur de débit et, d'un manomètre de précision.

Annexe 6 :

Résultats complémentaires de l'expérimentation *in situ*

Cette annexe fournit des éléments sur la dynamique de la production aérienne et la qualité des fourragères produits des communautés végétales et des types fonctionnels (Poacées, Fabacées, Dicotylédone non fixatrices) étudiées *in situ*.

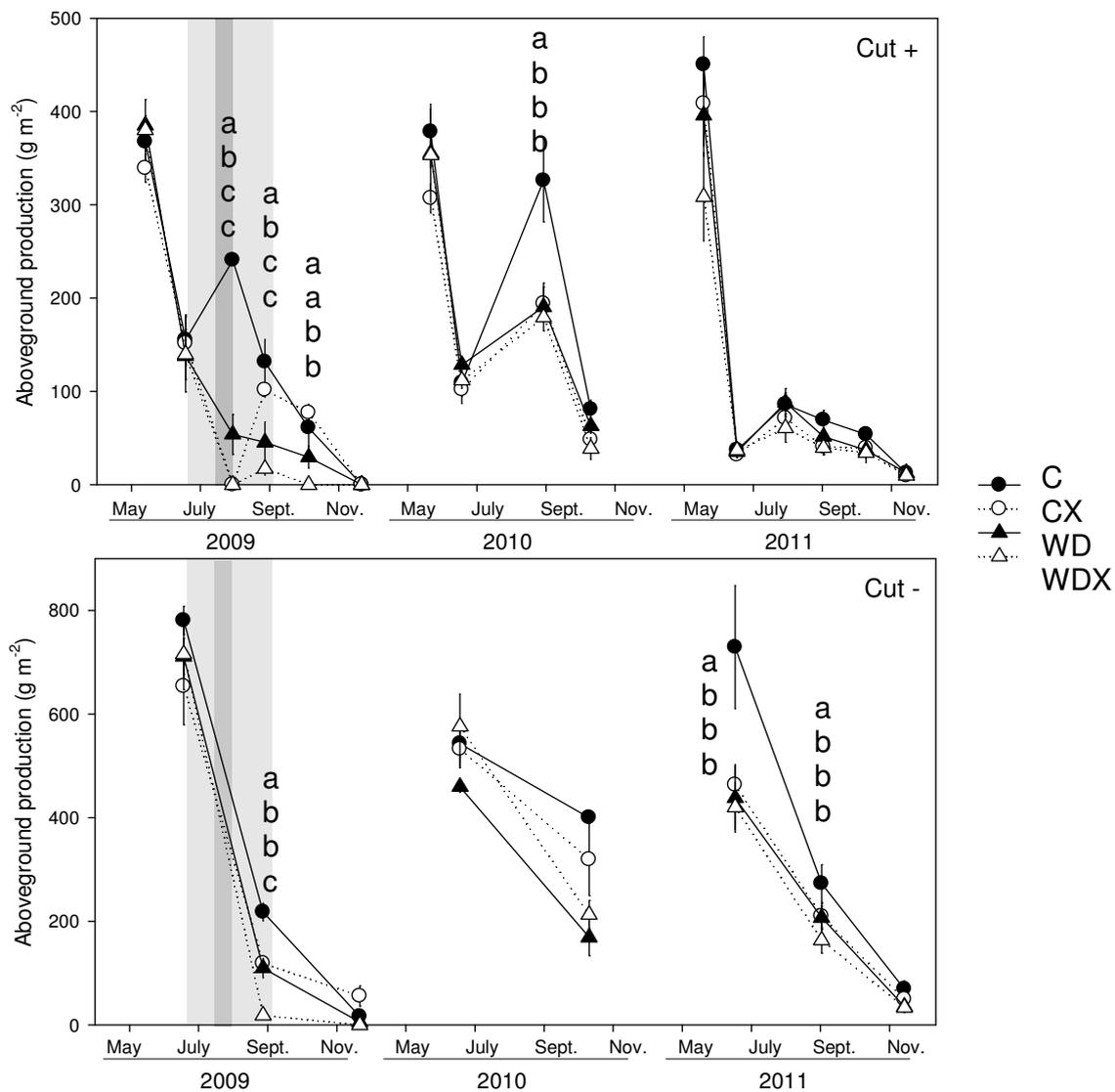


Figure A6-1. Dynamique de la production aérienne (vert + sec) des communautés végétales selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches (Cut+: coupe fréquente ; Cut-: coupe non-fréquente). Les lettres représentent les différences significatives entre traitements après les tests de Tukey (P< 0.05). Le gris clair symbolise la sécheresse appliquée en 2009 sur les traitements CX et WDX, le gris foncé représente les deux semaines de canicules.

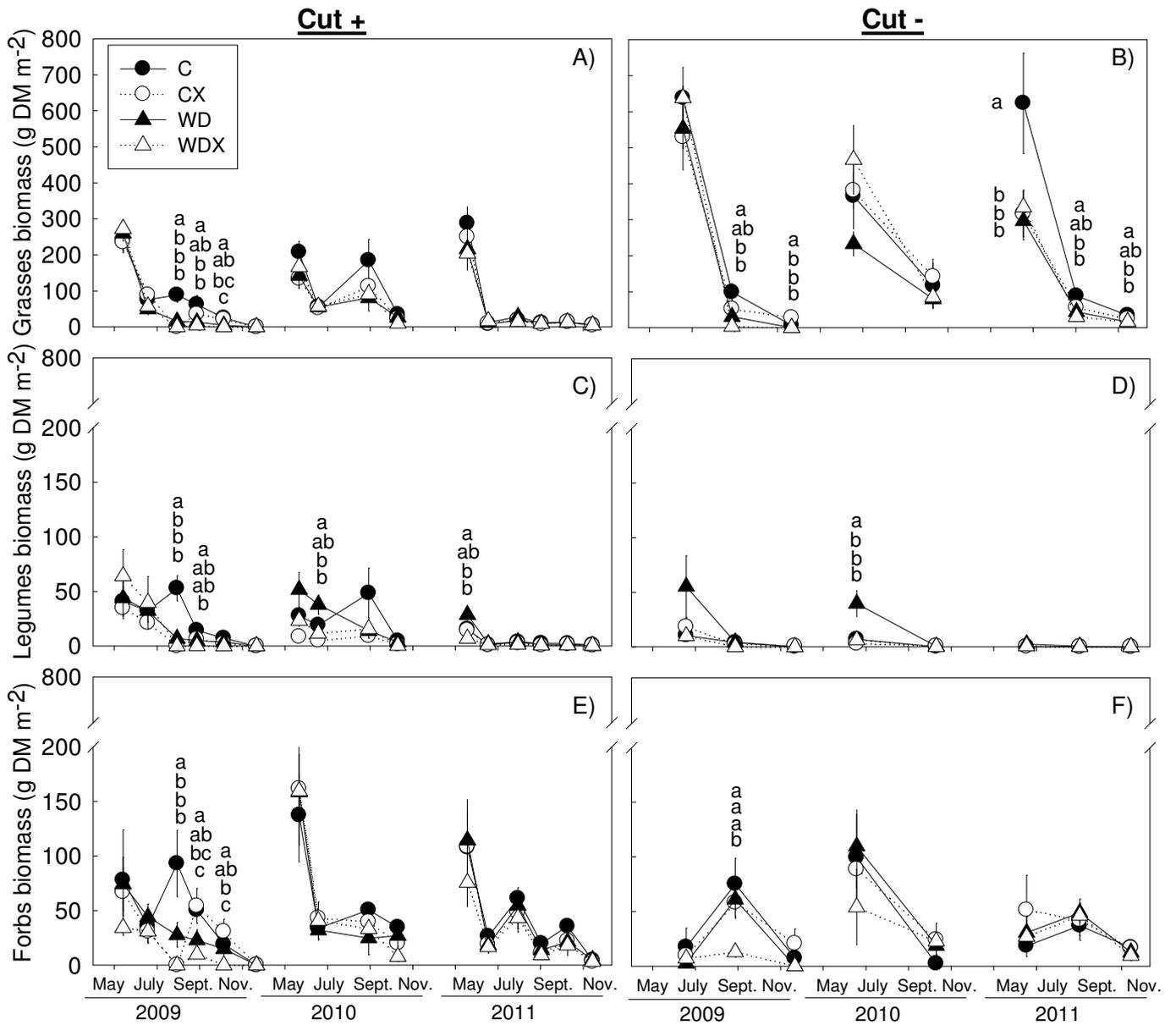


Figure A6-2. Dynamique de la production aérienne des types fonctionnels selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches (Cut+: coupe fréquente; Cut-: coupe non-fréquente). Les lettres représentent les différences significatives entre traitements après les tests de Tukey ($P < 0.05$).

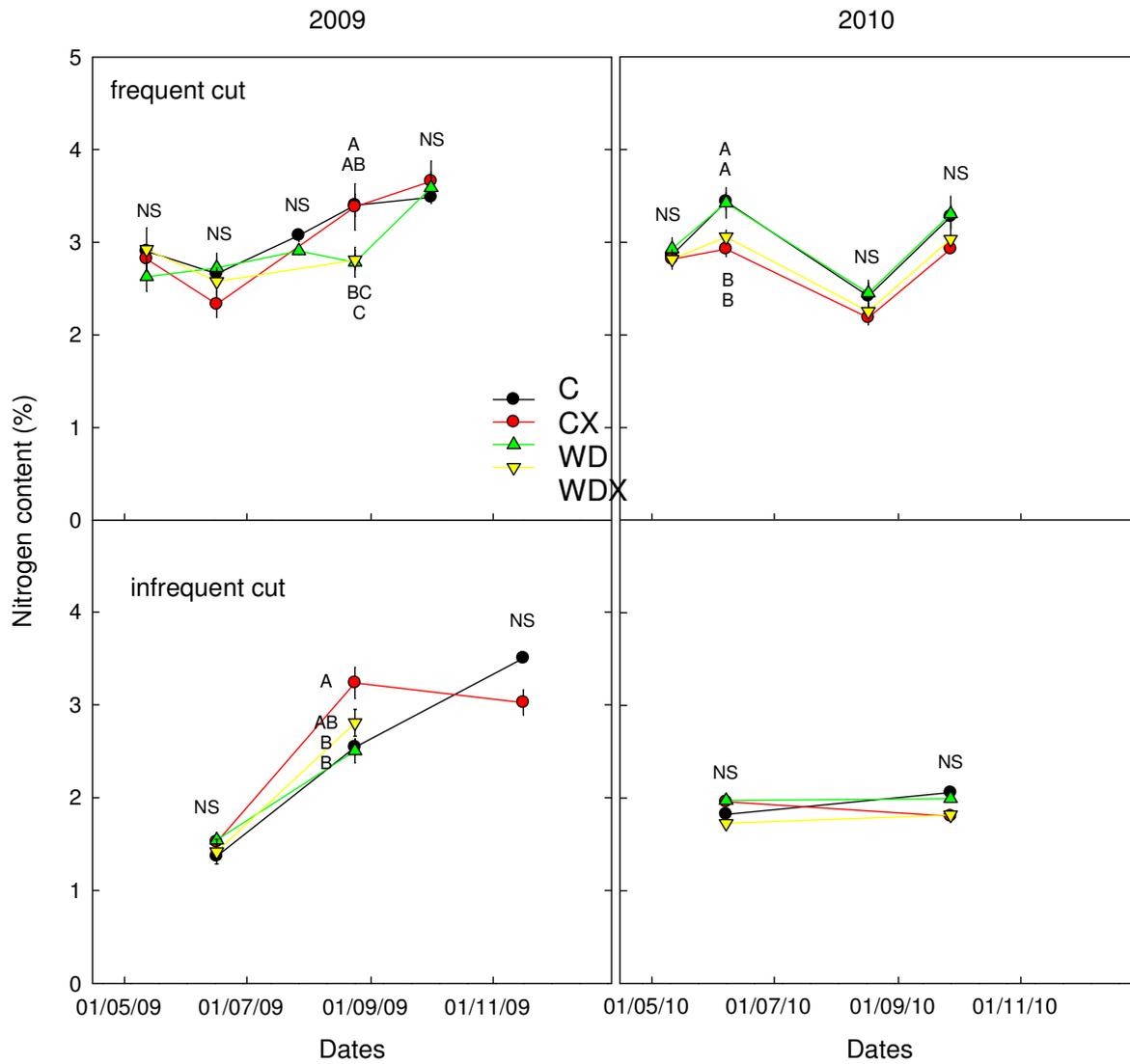


Figure A6-3. Teneurs en azote des fourrages exportés en 2010 et 2011 selon les traitements climatiques et la fréquence des fauches. Les lettres représentent les différences significatives entre traitements après les tests de Tukey ($P < 0.05$).

Annexe 7 :

Résultats complémentaires de l'expérimentation en conditions semi-contrôlées

Cette annexe fournit des éléments sur la réponse des populations prairiales étudiées monocultures et en conditions semi-contrôlées.

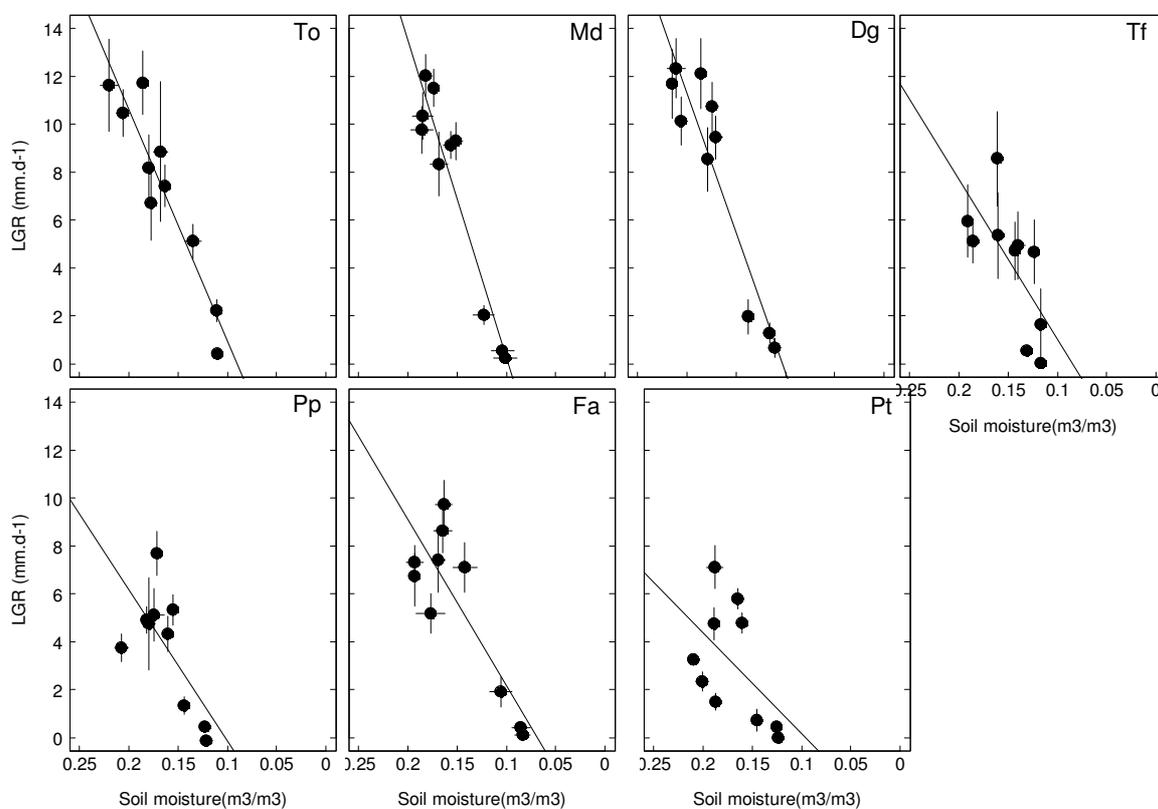


Figure A7-1. Relations entre l'élongation foliaire maximale et la teneur en eau du sol. Les mesures d'élongation ont été réalisées en conditions optimales (DOY 171; 174 and 178) puis pendant la progression du traitement sécheresse (DOY 182; 187; 189 and 193). Les valeurs présentées sont les moyennes par espèces (n=3, \pm erreur standard) pour chaque date d'observation. (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. Medly; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinale*).

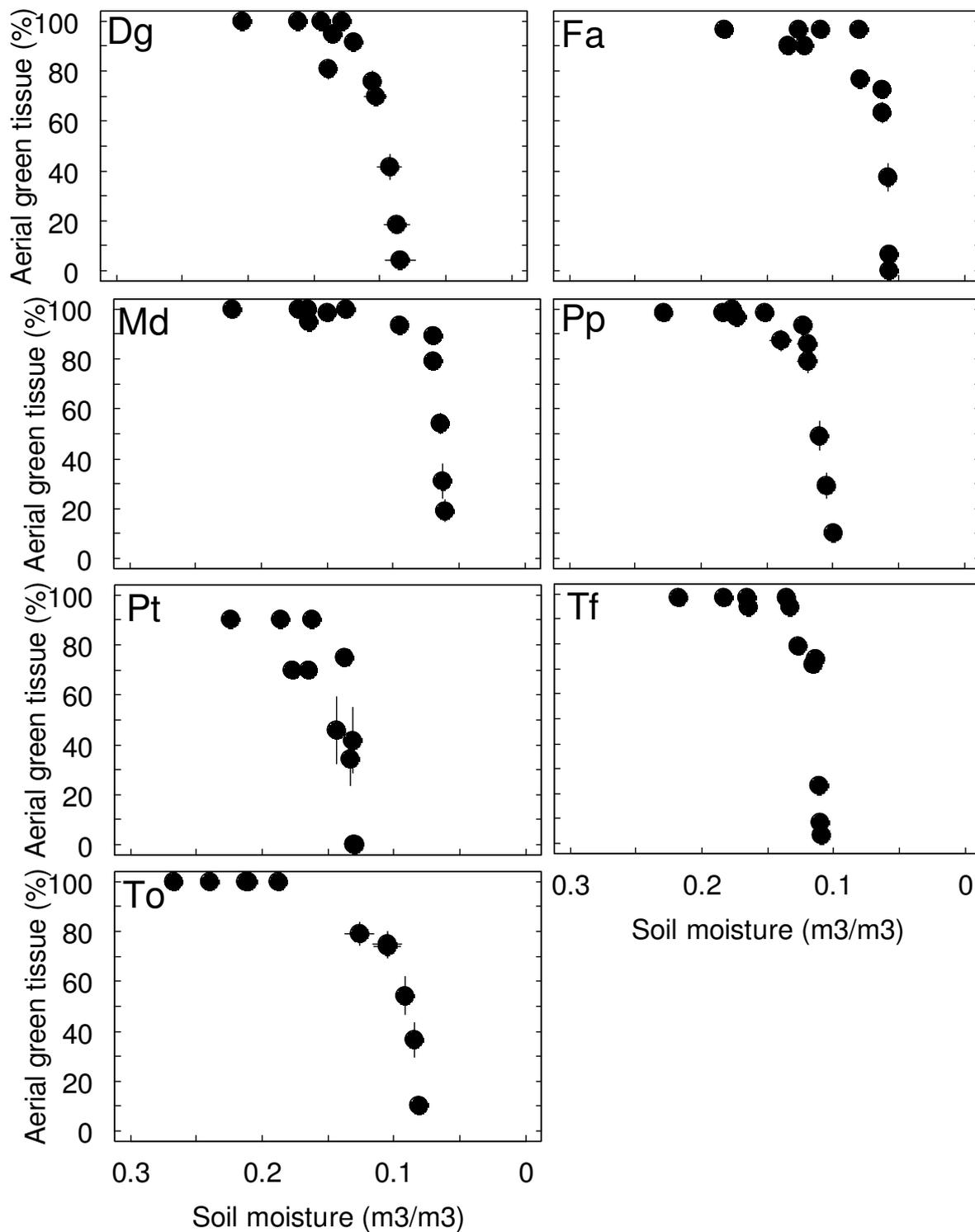


Figure A7-2. Effets directs de la teneur en eau du sol sur la sénescence foliaire. Les valeurs représentent la moyenne des populations ($n=3$, \pm erreur standard) pour chaque date d'observation. (Dg: *Dactylis glomerata*; Fa: *Festuca arundinacea*; Md: *Dactylis glomerata* cv. *Medly*; Pp: *Poa Pratensis*; Pt: *Poa trivialis*; Tf: *Trisetum flavescens*; To: *Taraxacum officinale*).

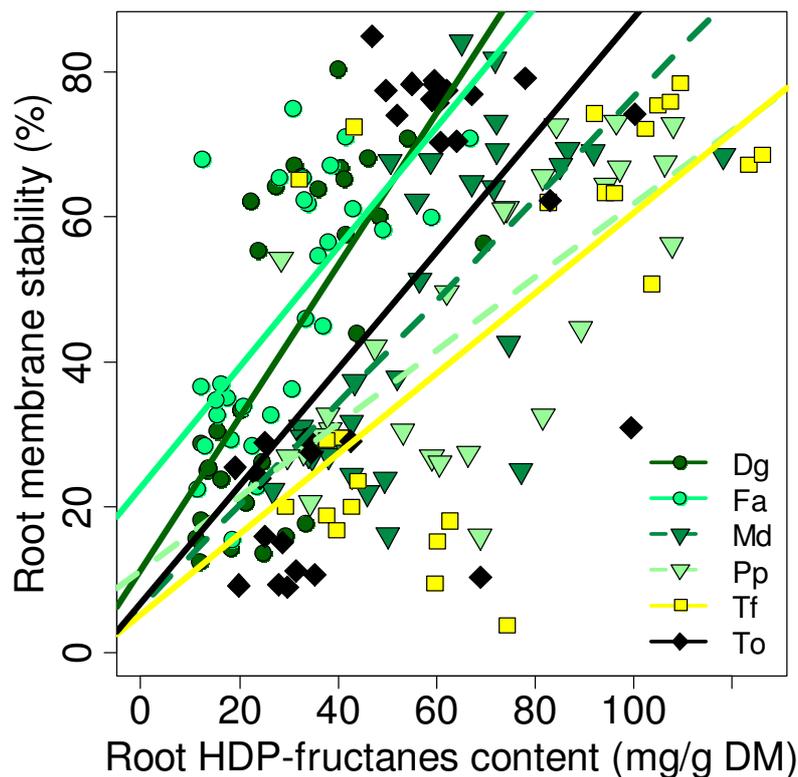


Figure A7-3. Relations observées entre la teneur en fructanes à degré de polymérisation ≥ 5 et la stabilité membranaire des cellules racinaires.

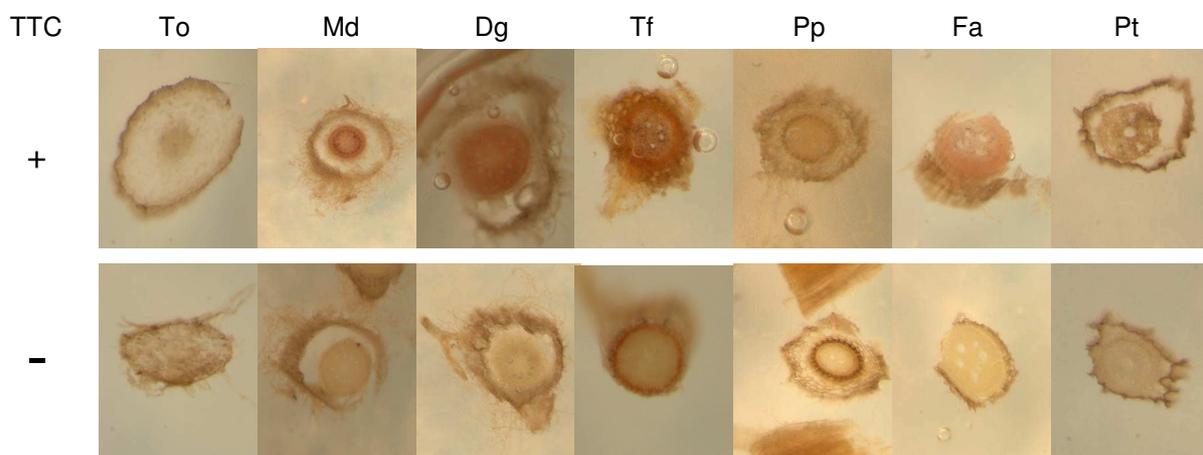


Figure A7-4. Coupes transversales de racines prélevées à 0-15cm après coloration (+) ou non (-) au TTC et observées au microscope électronique à la fin de la sécheresse sévère (50 jours). (Dg : *D. glomerata* ; Fa : *F. arundinacea*; Md ; *D. glomerata* cv. Medly ; Pp ; *P. pratensis* ; Pt : *P. trivialis* ; Tf : *T. flavescens*; To : *T. officinale*)

Ces deux figures fournissent des éléments supplémentaires sur la mortalité racinaire des populations étudiées en conditions semi-contrôlées. L'analyse qualitative des coupes transversales de racines met en évidence la survie des cellules racinaires au niveau de la stèle. En revanche le cortex a été plus ou moins dégradé par la sécheresse selon les populations considérées.

Références Bibliographiques

- Ackerly D (2004) Functional strategies of Chaparral shrubs in relation to seasonal water deficit and disturbance. *Ecological Monographs*, **74**, 25–44.
- Adler PB, Levine JM (2007) Contrasting relationships between precipitation and species richness in space and time. *Oikos*, **116**, 221–232.
- AGRESTE (2009) *Grandes cultures et fourrages*.
- AGRESTE (2010) Enquête sur les prairies. *AGRESTE Les Dossiers*, **8**, 53–54.
- Ainsworth EA, Long SP (2005) What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *The New phytologist*, **165**, 351–71.
- Akinola MO, Thompson K, Buckland SM (1998) Soil seed bank of an upland calcareous grassland after 6 years of climate and management manipulations. *Journal of Applied Ecology*, **35**, 544–552.
- Allen CR, Holling CS (2002) Cross-scale Structure and Scale Breaks in Ecosystems and Other Complex Systems. *Ecosystems*, **5**, 315–318.
- Amiard V, Morvan-Bertrand A, Billard JP, *et al.* (2003) Fructans, but not the sucrosyl-galactosides, raffinose and loliose, are affected by drought stress in perennial ryegrass. *Plant Physiology*, **132**, 2218–2229.
- Amiaud B, Carrère P (2012) La multifonctionnalité de la prairie pour la fourniture de services écosystémiques. *Fourrages, The French Journal on Grasslands and Forages*, **211**, 229–238.
- Amiaud B, Plantureux S (2011) La biodiversité des prairies permanentes: nouveaux contexte, nouvelles approches. *Fourrages, The French Journal on Grasslands and Forages*, **208**, 241–243.
- An Y, Wan S, Zhou X, *et al.* (2005) Plant nitrogen concentration, use efficiency, and contents in a tallgrass prairie ecosystem under experimental warming. *Global Change Biology*, **11**, 1733–1744.
- Antonetti P, Brugel E, Kessler F, *et al.* (2006) *Atlas de la flore d'Auvergne*. Lavoisier SAS.
- Arnone J, Zaller J, Spehn EM (2000) Dynamics of root systems in native grasslands: effects of elevated atmospheric CO₂. *New Phytologist*, **147**, 73–85.

- Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2012) Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of experimental botany*, **63**, 43–57.
- Arroyo MTK, Cavieres L, Marticorena C, *et al.* (1991) Convergence in the Mediterranean Floras in Central Chile and California: Insights from Comparative Biogeography. In: *Ecology and biogeography of Mediterranean ecosystems in Chile, California, and Australia* (Arroyo MTK, Zedler PH, Fox MD, Eds.), pp43–88. Springer, New York.
- Bai WM, Wan SQ, Niu SL, *et al.* (2010) Increased temperature and precipitation interact to affect root production, mortality, and turnover in a temperate steppe: implications for ecosystem C cycling. *Global Change Biology*, **16**, 1306–1316.
- Balent G, Duru M, Magda D (1993) Pratiques de gestion et dynamique de la végétation des prairies permanentes. *Etudes et Recherches sur les Systèmes agraires et le Développement*, **27**, 283–301.
- Balesdent J, Chenu C, Feller C (2005) Stockage et recyclage du carbone. In: *Sols et Environnement. Cours, exercices et études de cas.* (Girard MC., Walter C, Rémy JC., *et al.*, Eds.). Dunod, Paris.
- Bardgett RD, Chan KF (1999) Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 1007–1014.
- BassiriRad H, Caldwell MM (1992) Root growth, osmotic adjustment and NO₃⁻ uptake during and after a period of drought in *Artemisia tridentata*. *Australian Journal of Plant Physiology*, **19**, 493–500.
- BassiriRad H, Caldwell M (2006) Temporal changes in root growth and ¹⁵N uptake and water relations of two tussock grass species recovering from water stress. *Physiologia Plantarum*, **86**, 525–531.
- Baumont R, Plantureux S, Farrié J-P, *et al.* (2011) *Prairies permanentes. Des références pour valoriser leur diversité* (Institut de l'élevage, Ed.).
- Beerling DJ, Woodward FI (1996) Palaeo-ecophysiological perspectives on plant responses to global change. *Trends in Ecology & Evolution*, **11**, 20–23.
- Beier C, Beierkuhnlein C, Wohlgemuth T, *et al.* (2012) Precipitation manipulation experiments - challenges and recommendations for the future. *Ecology Letters*, **15**, 899–911.
- Beier C, Emmett B, Gundersen P, *et al.* (2004) Novel Approaches to Study Climate Change Effects on Terrestrial Ecosystems in the Field: Drought and Passive Nighttime Warming. *Ecosystems*, **7**, 583–597.
- Beierkuhnlein C, Thiel D, Jentsch A, *et al.* (2011) Ecotypes of European grass species respond differently to warming and extreme drought. *Journal of Ecology*, **99**, 703–713.

- Beltrán E, Valiente-Banuet A, Verdú M (2012) Trait divergence and indirect interactions allow facilitation of congeneric species. *Annals of botany*, **110**, 1369–76.
- Benot M-L, Saccone P, Vicente R, *et al.* (2013) How extreme summer weather may limit control of *Festuca paniculata* by mowing in subalpine grasslands. *Plant Ecology & Diversity*, **6**, 393–404.
- Bigler C, Bräker OU, Bugmann H, *et al.* (2006) Drought as an inciting mortality factor in scots pine stands of the Valais, Switzerland. *Ecosystems*, **9**, 330–343.
- Bigler C, Gavin DG, Gunning C, *et al.* (2007) Drought induces lagged tree mortality in a subalpine forest in the Rocky Mountains. *Oikos*, **116**, 1983–1994.
- Bloor JMG, Bardgett RD (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **14**, 193–204.
- Bloor JMG, Pichon P, Falcimagne R, *et al.* (2010) Effects of Warming, Summer Drought, and CO₂ Enrichment on Aboveground Biomass Production, Flowering Phenology, and Community Structure in an Upland Grassland Ecosystem. *Ecosystems*, **13**, 888–900.
- Boé J, Terray L, Habets F, *et al.* (2006) A simple statistical-dynamical downscaling scheme based on weather types and conditional resampling. *Journal of Geophysical Research*, **111**, 1–16.
- De Boeck HJ, Dreesen FE, Janssens IA, *et al.* (2010) Whole-system responses of experimental plant communities to climate extremes imposed in different seasons. *The New phytologist*, **189**, 806–817.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Bossuyt H, *et al.* (2006) How do climate warming and plant species richness affect water use in experimental grasslands? *Plant and Soil*, **288**, 249–261.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Gielen B, *et al.* (2007a) Combined effects of climate warming and plant diversity loss on above- and below-ground grassland productivity. *Environmental and Experimental Botany*, **60**, 95–104.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Vicca S, *et al.* (2007b) How do climate warming and species richness affect CO₂ fluxes in experimental grasslands? *The New phytologist*, **175**, 512–522.
- De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Zavalloni C, *et al.* (2008) Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, **5**, 585–594.
- De Boeck HJ, Verbeeck H (2011) Drought-associated changes in climate and their relevance for ecosystem experiments and models. *Biogeosciences*, **8**, 1121–1130.

- Bohnert HJ, Sheveleva E (1998) Plant stress adaptations--making metabolism move. *Current opinion in plant biology*, **1**, 267–274.
- Botta-Dukát Z (2005) Rao's quadratic entropy as a measure of functional diversity based on multiple traits. *Journal of Vegetation Science*, **16**, 533–540.
- Boyer JS (1982) Plant Productivity and Environment. *Science*, **218**, 443–448.
- Breshears DD, Cobb NS, Rich PM, *et al.* (2005) Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 15144–15148.
- Briske DD, Fuhlendorf SD, Smeins FE (2006) Invited Synthesis Paper A Unified Framework for Assessment and Application of Ecological Thresholds. **59**, 225–236.
- Briske DD, Washington-Allen RA, Johnson CR, *et al.* (2010) Catastrophic thresholds: A synthesis of concepts, perspectives, and applications. *Ecology and Society*, **15**.
- Brodribb TJ, Cochard H (2009) Hydraulic failure defines the recovery and point of death in water-stressed conifers. *Plant physiology*, **149**, 575–84.
- Brooker RW, Maestre FT, Callaway RM, *et al.* (2007) Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology*, **96**, 18–34.
- Bruce TJA, Matthes MC, Napier JA, *et al.* (2007) Stressful “memories” of plants : evidence and possible mechanisms. *Plant Science*, **173**, 603–608.
- Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 119–125.
- Bryant JR, Snow VO (2008) Modelling pastoral farm agro - ecosystems: A review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **51**, 349–363.
- Byrne KA, Kiely G (2006) Partitioning of respiration in an intensively managed grassland. *Plant and Soil*, **282**, 281–289.
- Canadell J, Jackson RBR, Ehleringer JBJ, *et al.* (1996) Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. *Oecologia*, **108**, 583–595.
- Cantarel AAM (2011) Impacts du changement climatique sur les bilans de carbone et de gaz à effet de serre de la prairie permanente en lien avec la diversité fonctionnelle. Université de Clermont-Ferrand.
- Cantarel AAM, Bloor JMG, Deltroy N, *et al.* (2010) Effects of Climate Change Drivers on Nitrous Oxide Fluxes in an Upland Temperate Grassland. *Ecosystems*, **14**, 223–233.
- Cantarel AAM, Bloor JMG, Pommier T, *et al.* (2012) Four years of experimental climate change modifies the microbial drivers of N₂O fluxes in an upland grassland ecosystem. *Global Change Biology*, **18**, 2520–2531.

- Cantarel AAM, Bloor JMG, Soussana JF (2013) Four years of simulated climate change reduces above-ground productivity and alters functional diversity in a grassland ecosystem. *Journal of Vegetation Science*, **24**, 113–126.
- Carpenter S (1990) Large-scale perturbations: opportunities for innovation. *Ecology*, **71**, 2038–2043.
- Carpenter S, Frost T, Heisey D, *et al.* (1989) Randomized intervention analysis and the interpretation of whole-ecosystem experiments. *Ecology*, **70**, 1142–1152.
- Carrère P, Dumont B, Cordonnier S, *et al.* (2002) L'exploitation des prairies de montagne peut - elle concilier biodiversité et production fourragère? In: *Actes du colloque Moyenne montagne en devenir: développement agricole et agro-alimentaire* pp39–44. INRA-ENITA, Lempdes, 14 et 15 novembre 2002.
- Carrère P, Orth D, Chabalier C, *et al.* (2012a) Une typologie multifonctionnelle des prairies des systèmes laitiers AOP du Massif Central combinant des approches agronomiques et écologiques. *Fourrages*, **209**, 9–22.
- Carrère P, Plantureux S, Pottier E (2012b) Concilier les services rendus par les prairies pour assurer la durabilité des systèmes d'élevage hébergés. *Fourrages, The French Journal on Grasslands and Forages*, **211**, 213–218.
- Carter T, DeSouza P, Purcell L (1999) Recent advances in breeding for drought and aluminum resistance in soybean. In: *Proceedings of the World Soybean Research Conference VI* pp106–125. Champaign, IL.
- Casella E, Soussana JF (1997) Long-term effects of CO₂ enrichment and temperature increase on the carbon balance of a temperate grass sward. *Journal of Experimental Botany*, **48**, 1309–1321.
- Di Castri F, Mooney A (1973) *Mediterranean type ecosystems, origin and structure*. Springer Verlag.
- Castro HF, Classen AT, Austin EE, *et al.* (2010) Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Applied and environmental microbiology*, **76**, 999–1007.
- Chapin FS, Zavaleta ES, Eviner VT, *et al.* (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature*, **405**, 234–42.
- Chatterton N, Harrison P, Bennett JH, *et al.* (1989) Carbohydrate partitioning in 185 accessions of Gramineae grown under warm and cool temperatures. *Journal of Plant Physiology*, **134**, 169–179.
- Chaves MM (2002) How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, **89**, 907–916.
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira JS (2003) Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, **30**, 239–264.

- Chaves MM, Oliveira MM (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of experimental botany*, **55**, 2365–84.
- Chaves MM, Pereira JS (1992) Water stress, CO₂ and climate change. *Journal of Experimental Botany*, **43**, 1131–1139.
- Cherwin K, Knapp A (2012) Unexpected patterns of sensitivity to drought in three semi-arid grasslands. *Oecologia*, **169**, 845–852.
- Choler P, Michalet R, Callaway RM (2001) Facilitation and competition on gradients in alpine plant communities. *Ecology*, **82**, 3295–3308.
- Ciais P, Reichstein M, Viovy N, *et al.* (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529–33.
- Clark GT, Zuther E, Outred H, *et al.* (2004) Tissue-specific changes in remobilisation of fructan in the xerophytic tussock species *Festuca novae-zelandiae* in response to a water deficit. *Functional Plant Biology*, **31**, 377.
- Cleland EE, Chiariello NR, Loarie SR, Mooney H a, Field CB (2006) Diverse responses of phenology to global changes in a grassland ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 13740–4.
- Clergué B, Amiaud B, Plantureux S (2005) Assessment of biodiversity functions with agro-ecological indicators in agricultural areas. In: *Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity* (eds: Lillak R, Viiralt R, Linke A, Geherman V), pp65–68. th international Occasional Symposium of the Eurpe.
- Comas LHLH, Bauerle T, Eissenstat DM (2010) Biological and environmental factors controlling root dynamics and function: effects of root ageing and soil moisture. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **16**, 131–137.
- Comas LH, Eissenstat DM (2004) Linking fine root traits to maximum potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology*, **18**, 388–397.
- Conant RT, Ryan MG, Ågren GI, *et al.* (2011) Temperature and soil organic matter decomposition rates - synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology*, **17**, 3392–3404.
- COPA COPEGA (2003) Assessment of the impact of the heat wave and drought of the summer 2003 on agriculture and forestry. *Committee of Agricultural Organisations in the European Union and General Committee for Agricultural Cooperation in the European Union, Brussels, Belgium*,.
- Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, *et al.* (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, **51**, 335–380.
- Coquillard P, Hill D (1997) *Modélisation et simulation d'écosystèmes. Des modèles déterministes aux simulations à événements discrets*. Masson, Paris

- Cottingham KL, Brown BL, Lennon JT (2001) Biodiversity may regulate the temporal variability of ecological systems. *Ecology Letters*, **4**, 72–85.
- Craine JM, Ocheltree TW, Nippert JB, *et al.* (2012) Global diversity of drought tolerance and grassland climate-change resilience. *Nature Climate Change*, **3**, 63–67.
- Crawley MJ (2007) *The R book*. John Wiley & Sons Ltd.
- Cui M, Caldwell MM (1997) A large ephemeral release of nitrogen upon wetting of dry soil and corresponding root responses in the field. *Plant and Soil*, **191**, 291–299.
- Daget P, Poissonet J (1971) Méthode d'analyse de la végétation des pâturages. Critères d'application. *Annales Agronomiques*, **22**, 5–41.
- Dagnelie P (2003) *Principes d'expérimentation: planification des expériences et analyse de leurs résultats*. Les Presses Agronomiques de Gembloux.
- Davet P (1996) *La vie micorbiennne du sol et production végétale*.
- Davidson J, Milthorpe FL (1966) The effect of defoliation on the carbon balance in *Dactylis glomerata*. *Annals of Botany*, **30**, 185–198.
- Davis AJ, Jenkinson LS, Lawton JH, *et al.* (1998) Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature*, **391**, 783–786.
- Déqué M, Drevet C, Braun A, *et al.* (1994) The ARPEGE-IFS atmosphere model: a contribution to the French community climate modelling. *Climate Dynamics*, **10**, 249–266.
- Diaz S, Cabido M (1997) Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *Journal of Vegetation Science*, **8**, 463–474.
- Díaz S, Cabido M (2001) Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646–655.
- Díaz S, Symstad AJ, Stuart Chapin F, *et al.* (2003) Functional diversity revealed by removal experiments. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 140–146.
- Dray S, Dufour A-B (2007) The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of statistical software*, **22**, 1–20.
- Dreesen FE, De Boeck HJ, Janssens IA, *et al.* (2012) Summer heat and drought extremes trigger unexpected changes in productivity of a temperate annual/biannual plant community. *Environmental and Experimental Botany*, **79**, 21–30.
- Dukes JS (2001) Productivity and complementarity in grassland microcosms of varying diversity. *Oikos*, **94**, 468–480.
- Dukes JS, Chiariello NR, Cleland EE, *et al.* (2005) Responses of grassland production to single and multiple global environmental changes. *PLoS biology*, **3**, e319.

- Durand JL, Bariac T, Ghesquière M, *et al.* (2007) Ranking of the depth of water extraction by individual grass plants, using natural ^{18}O isotope abundance. *Environmental and Experimental Botany*, **60**, 137–144.
- Duru M, Cruz P, Magda D (2008) La conduite des couverts prairiaux, source de Exploitations, flexibilité. In: *L'élevage en mouvement: Flexibilité et adaptation des d'herbivores* (Dedieu B, Chia E, Leclerc B, *et al.*, Eds.), pp57–71. Quae, Versailles.
- Duru M, Tallwin J, Cruz P (2005) Functional diversity in low-input grassland farming systems: characterization, effect and management. *Agronomy Research*, **3**, 125–138.
- Easterling DR (2000) Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science*, **289**, 2068–2074.
- Eissenstat DM, Wells CE, Yanai RD, *et al.* (2000) Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, **33**–42.
- Eliasson PE, McMurtrie RE, Pepper D, *et al.* (2005) The response of heterotrophic CO_2 flux to soil warming. *Global Change Biology*, **11**, 167–181.
- Emerson BC, Gillespie RG (2008) Phylogenetic analysis of community assembly and structure over space and time. *Trends in ecology & evolution*, **23**, 619–30.
- Emmett BA, Beier C, Estiarte M, *et al.* (2004) The response of soil processes to climate change: Results from manipulation studies of shrublands across an environmental gradient. *Ecosystems*, **7**, 625–637.
- Engel E, Weltzin J (2008) Can community composition be predicted from pairwise species interactions? *Plant Ecology*, **195**, 77–85.
- Eriksson O (2000) Functional roles of remnant plant populations in communities and ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, **9**, 443–449.
- Fay PA, Blair JM, Smith MD, *et al.* (2011) Relative effects of precipitation variability and warming on tallgrass prairie ecosystem function. *Biogeosciences*, **8**, 3053–3068.
- Fay PA, Carlisle JD, Knapp AK, *et al.* (2003) Productivity responses to altered rainfall patterns in a C_4 -dominated grassland. *Oecologia*, **137**, 245–51.
- Fay PA., Kaufman DM, Nippert JB, *et al.* (2008) Changes in grassland ecosystem function due to extreme rainfall events: implications for responses to climate change. *Global Change Biology*, **14**, 1600–1608.
- Felten S von, Schmid B (2008) Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. *Journal of Plant Ecology*, **1**, 33–41.
- Ferraro DO, Oesterheld M (2002) Effect of defoliation on grass growth. A quantitative review. *Oikos*, **98**, 125–133.

- Fierer N, Schimel JP (2002) Effects of drying–rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**, 777–787.
- Fink AH, Brücher T, Krüger A, *et al.* (2004) The 2003 European summer heatwaves and drought ? synoptic diagnosis and impacts. *Weather*, **59**, 209–216.
- Fitter AH, Self GK, Brown TK, *et al.* (1999) Root production and turnover in an upland grassland subjected to artificial soil warming respond to radiation flux and nutrients, not temperature. *Oecologia*, **120**, 575–581.
- Folke C, Carpenter S, Elmqvist T, *et al.* (2002) *Resilience and sustainable development: building adaptive capacity in a world of transformations*. Stockholm, Sweden.
- Folke C, Carpenter S, Walker B, *et al.* (2004) Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 557–581.
- Fontaine S, Barot S, Barré P, Bdioui N, Mary B, Rumpel C (2007) Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, **450**, 277–80.
- Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*, **35**, 837–843.
- Fort F, Jouany C, Cruz P (2012) Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of Plant Ecology*, **6**, 211–219.
- Frank D (2007) Drought effects on above- and belowground production of a grazed temperate grassland ecosystem. *Oecologia*, **152**, 131–9.
- Garbulsky M, Peñuelas J (2010) Patterns and controls of the variability of radiation use efficiency and primary productivity across terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, **19**, 253–267.
- Garcia PMA, Asega AF, Silva EA, *et al.* (2011) Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. *Plant physiology and biochemistry*, **49**, 664–70.
- Garnier E, Cortez J, Billès G, *et al.* (2004) Plant functional markers capture ecosystems properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Gifford RM (2003) Plant respiration in productivity models: conceptualisation, representation and issues for global terrestrial carbon-cycle research. *Functional Plant Biology*, **30**, 171.
- Gilgen AK, Buchmann N (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525–2539.
- Gill RA., Jackson RB (2000) Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, **147**, 13–31.

- Gitay H, Noble IR (1997) What are functional types and how should we seek them? In: *Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change* (eds: Smith TM, Shugart HH, Woodward F), pp3–19. Cambridge University Press.
- Graux A (2011) Modélisation des impacts du changement climatique sur les écosystèmes prairiaux. Voies d'adaptation des systèmes fourragers.
- Grime JP (1998) Benefits of plant diversity to ecosystems : immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, **86**, 902–910.
- Grime JP (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties* (JP Grime, Ed.). John Wiley & Sons Ltd.
- Grime JP, Brown VK, Thompson K, *et al.* (2000) The response of two contrasting limestone grasslands to simulated climate change. *Science*, **289**, 762–765.
- Grime JP, Fridley JD, Askew AP, *et al.* (2008) Long-term resistance to simulated climate change in an infertile grassland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 10028–10032.
- Grime JP, Thompson K, Hunt R, *et al.* (1997) Integrated screening validates primary axes of specialisation in plants. *Oikos*, **79**, 259–281.
- Grimm V, Schmidt E, Wissel C (1992) On the application of stability concepts in ecology. *Ecological Modelling*, **63**, 143–161.
- Gross N, Kunstler G, Liancourt P, *et al.* (2009) Linking individual response to biotic interactions with community structure: a trait-based framework. *Functional Ecology*, **23**, 1167–1178.
- Gu L, Post WM, King AW (2004) Fast labile carbon turnover obscures sensitivity of heterotrophic respiration from soil to temperature: A model analysis. *Global Biogeochemical Cycles*, **18**, n/a–n/a.
- Guerrand D, Prud'homme M-P, Boucaud J (1996) Fructan metabolism in expanding leaves, mature leaf sheaths and mature leaf blades of *Lolium perenne*. Fructan synthesis, fructosyltransferase and invertase activities. *New Phytologist*, **134**, 205–214.
- Gunderson LH, Holling CS, Pritchard LJ, *et al.* (2002) Resilience of large-scale resource systems. In: *Resilience and the Behavior of Large-Scale Systems* (eds: Gunderson LH, Pritchard LJ), pp3–20. Island Press, U K.
- Gutschick VP, BassiriRad H (2003) Extreme events as shaping physiology, ecology, and evolution of plants: toward a unified definition and evaluation of their consequences. *New Phytologist*, **160**, 21–42.
- Haddad N, Tilman D, Knops J (2002) Long-term oscillations in grassland productivity induced by drought. *Ecology Letters*, **5**, 110–120.

- Harper CW, Blair JM, Fay P a., Knapp AK, Carlisle JD (2005) Increased rainfall variability and reduced rainfall amount decreases soil CO₂ flux in a grassland ecosystem. *Global Change Biology*, **11**, 322–334.
- Harrel JFE, Dupont MC (2007) The Hmisc Package.
- Harte J, Shaw R (1995) Shifting dominance within a montane vegetation community - Results of a climate-warming experiment. *Science*, **267**, 876–880.
- Harte J, Torn MS, Chang FR, *et al.* (1995) Global warming and soil microclimate: Results from a meadow-warming experiment. *Ecological Applications*, **5**, 132–150.
- Hector A, Bagchi R (2007) Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, **448**, 188–90.
- Hector A, Joshi J, Lawler S, *et al.* (2001) Conservation implications of the link between biodiversity and ecosystem functioning. *Oecologia*, **129**, 624–628.
- Heijden M van der, Klironomos J, Ursic M, *et al.* (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, **74**, 69–72.
- Heisler-White JL, Blair JM, Kelly EF, *et al.* (2009) Contingent productivity responses to more extreme rainfall regimes across a grassland biome. *Global Change Biology*, **15**, 2894–2904.
- Hendry G (1987) The ecological significance of fructan in a contemporary flora. *New Phytologist*, **106**, 201–216.
- Hendry G (1993) Evolutionary origins and natural functions of fructans—a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist*, **123**, 3–14.
- Hernández EI, Vilagrosa A, Pausas JG, *et al.* (2010) Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, **207**, 233–244.
- Hincha DK, Hagemann M (2004) Stabilization of model membranes during drying by compatible solutes involved in the stress tolerance of plants and microorganisms. *The Biochemical journal*, **383**, 277–83.
- Hincha DK, Livingston III DP, Premakumar R, *et al.* (2007) Fructans from oat and rye: Composition and effects on membrane stability during drying. *Biochimica et biophysica acta*, **1768**, 1611–1619.
- Hincha DK, Zuther E, Hellwege EM, *et al.* (2002) Specific effects of fructo- and gluco-oligosaccharides in the preservation of liposomes during drying. *Glycobiology*, **12**, 103–10.
- Holland EA, Coleman DC (1987) Litter placement effects on microbial and organic matter dynamics in an agroecosystem. *Ecology*, **68**, 425–433.

- Holling C (1973) Resilience and stability of ecological systems. *Annual review of ecology and systematics*, **4**, 1–23.
- Holling CS (1996) Engineering resilience versus ecological resilience. In: *Engineering versus Ecological Constraints* (eds: Schulze PC, National Academy of Engineering), National Academy Press, Washington, DC.
- Holloway-Phillips M-M, Brodribb TJ (2011) Minimum hydraulic safety leads to maximum water-use efficiency in a forage grass. *Plant, cell & environment*, **34**, 302–13.
- Hooper DU, Chapin III F, Ewel JJ, *et al.* (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, **75**, 3–35.
- Hooper DU, Dukes JS (2003) Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment. *Ecology Letters*, **7**, 95–105.
- Hooper DU, Vitousek PM (1997) The Effects of Plant Composition and Diversity on Ecosystem Processes. *Science*, **277**, 1302–1305.
- Hooper DU, Vitousek PM (1998) Effects of plant composition and diversity on nutrient cycling. *Ecological Monographs*, **68**, 121–149.
- Hopkins A, Holz B (2006) Grassland for agriculture and nature conservation: production, quality and multifunctionality (R Lillak, R Viiralt, A Linke, and V Geherman, Eds.). *Agronomy Research*, **4**, 3–20.
- Hothorn AT, Bretz F (2009) The multcomp Package.
- Hsiao TC (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, **24**, 519–570.
- Huang BR, Eissenstat DM (2000) Linking hydraulic conductivity to anatomy in plants that vary in specific root length. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **125**, 260–264.
- Huang BR, Gao HW (2000) Growth and carbohydrate metabolism of creeping bentgrass cultivars in response to increasing temperatures. *Crop Science*, **40**, 1115–1120.
- Hurlbert SH (1984) Pseudoreplication and the design of ecological field experiment. *Ecological Monographs*, **54**, 187–211.
- Huntington TG (2006) Evidence for intensification of the global water cycle: Review and synthesis. *Journal of Hydrology*, **319**, 83–95.
- Huston MA (1997) Hidden treatments in ecological experiments: Re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia*, **110**, 449–460.
- Huyghe C (2009) Changes in the pasture and forage crops in France, and their conditions of cultivation and utilization during the past fifty years. *Fourrages, The French Journal on Grasslands and Forages*, **200**, 407–428.

- Ilmarinen K, Mikola J (2009) Soil feedback does not explain mowing effects on vegetation structure in a semi-natural grassland. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **35**, 838–848.
- INA P-G (2003) *Les prairies*.
- Ineson P, Taylor K, Harrison A (1998) Effects of climate change on nitrogen dynamics in upland soils. 1. A transplant approach. *Global Change Biology*, **4**, 143–152.
- Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **47**, 377–403.
- IPCC (2000) *Emissions Scenarios. Special Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. (Nakicenovic N, Alcamo J, Davis G, *et al.*, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (2001a) *Climate change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. (JT Houghton, Y Ding, GJ Griggs, *et al.*, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (2001b) *Climate change 2001: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of the Working Group II to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. (McCathry J, Canziani OF, Leary NA *et al.*, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (2007a) *Climate change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (S Solomon, D Qin, M Manning *et al.*, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (2007b) *Climate change 2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. (The Core Writing Team, Pachauri R., Reisinger A, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (2012) *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation* (CB Field, V Barros, TF Stocker, *et al.*, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Jackson RB, Canadell J, Ehleringer JR, *et al.* (1996) A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia*, **108**, 389–411.
- Jensen M (2003) Consensus on ecological impacts remains elusive. *Science*, **299**, 38.
- Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C (2007) A new generation of climate-change experiments : events , not trends. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **5**, 365–374.
- Jentsch A, Kreyling J, Elmer M, *et al.* (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689–702.

- Jentsch A, Steinbauer MJ, Alt M, Retzer V, Buhk C, Beierkuhnlein C (2012) A systematic approach to relate plant-species diversity to land use diversity across landscapes. *Landscape and Urban Planning*, **107**, 236–244.
- Jobbagy EG, Jackson RB (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*, **10**, 423–436.
- Johnson MG, Tingey DT, Phillips DL, *et al.* (2001) Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental and Experimental Botany*, **45**, 263–289.
- Jones MM, Turner NC, Osmond CB (1981) Mechanisms of drought resistance. In: *The physiology and biochemistry of drought resistance in Plants* (eds: Paleg LG, Aspinall D), pp15–37.
- Kahmen A, Perner J, Buchmann N (2005) Diversity-dependent productivity in semi-natural grasslands following climate perturbations. *Functional Ecology*, **19**, 594–601.
- Kandeler E, Tschirko D, Bardgett R, *et al.* (1998) The response of soil microorganisms and roots to elevated CO₂ and temperature in a terrestrial model ecosystem. *Plant and Soil*, **202**, 251–262.
- Kardol P, Cregger M, Company CE, *et al.* (2010) Soil ecosystem functioning under climate change: plant species and community effects. *Ecology*, **91**, 767–81.
- Kattge J, Knorr W (2007) Temperature acclimation in a biochemical model of photosynthesis: a reanalysis of data from 36 species. *Plant, cell & environment*, **30**, 1176–90.
- Keddy P (1992) Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of Vegetation Science*, **3**, 157–164.
- Kimball BA (2005) Theory and performance of an infrared heater for ecosystem warming. *Global Change Biology*, **11**, 2041–2056.
- Kimball BA., Conley MM, Wang S, *et al.* (2007) Infrared heater arrays for warming ecosystem field plots. *Global Change Biology*, **14**, 309–320.
- King J, Thomas R, Strain B (1997) Morphology and tissue quality of seedling root systems of *Pinus taeda* and *Pinus ponderosa* as affected by varying CO₂, temperature, and nitrogen. *Plant and Soil*, **195**, 107–119.
- Kirschbaum MUF (1995) The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic C storage. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**, 753–760.
- Klanderud K, Totland Ø (2005) Simulated climate change altered dominance hierarchies and diversity of an alpine biodiversity hotspot. *Ecology*, **86**, 2047–2054.
- Klimeš L, Klimešová J, Hendriks R, *et al.* (1997) Clonal plant Architecture: a comparative analysis form and function. In: *The ecology and evolution of clonal plants* (eds: de Kroon H, van Groenendael J), pp1–29. Backhuys publishers, Leiden, The Netherlands.

- Klimešová J, Klimeš L (2007) Bud banks and their role in vegetative regeneration – A literature review and proposal for simple classification and assessment. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **8**, 115–129.
- Klumpp K, Soussana JF (2009) Using functional traits to predict grassland ecosystem change: a mathematical test of the response-and-effect trait approach. *Global Change Biology*, **15**, 2921–2934.
- Klumpp K, Tallec T, Guix N, *et al.* (2011) Long-term impacts of agricultural practices and climatic variability on carbon storage in a permanent pasture. *Global Change Biology*, **17**, 3534–3545.
- Knapp AK, Beier C, Briske DD, *et al.* (2008) Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems. *Bioscience*, **58**, 811–821.
- Knapp AK, Fay P a, Blair JM, *et al.* (2002) Rainfall variability, carbon cycling, and plant species diversity in a mesic grassland. *Science*, **298**, 2202–2205.
- Knapp AK, Smith MD (2001) Variation among biomes in temporal dynamics of aboveground primary production. *Science*, **291**, 481–484.
- Kreyling J, Jentsch A, Beierkuhnlein C (2011) Stochastic trajectories of succession initiated by extreme climatic events. *Ecology letters*, **14**, 758–64.
- Kreyling J, Thiel D, Simmnacher K, *et al.* (2012) Geographic origin and past climatic experience influence the response to late spring frost in four common grass species in central Europe. *Ecography*, **35**, 268–275.
- Kreyling J, Wenigmann M, Beierkuhnlein C, *et al.* (2008) Effects of extreme weather events on plant productivity and tissue die-back are modified by community composition. *Ecosystems*, **11**, 752–763.
- Lang GA, Early JD, Martin GC, *et al.* (1987) ndo-, para-, and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. *Hortscience*, **22**, 371–377.
- Larcher W (1995) *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups* (Springer, Ed.).
- Lavorel S, Garnier E (2002) Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits : revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology*, **16**, 545–556.
- Lavorel S, McIntyre S, Landsberg J, *et al.* (1997) Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**, 474–478.
- Lavorel S, Grigulis K, McIntyre S, *et al.* (2008) Assessing functional diversity in the field - methodology matters! *Functional Ecology*, **22**, 134–147.

- Lehman CL, Tilman D (2000) Biodiversity, stability, and productivity in competitive communities. *American Naturalist*, **156**, 534–552.
- Lehner B, Doll P, Alcamo J, *et al.* (2006) Estimating the impact of global change on flood and drought risks in Europe: A continental, integrated analysis. *Climatic Change*, **75**, 273–299.
- Leishman MR, Westoby M (1994) The role of seed size in seedling establishment in dry soil conditions - experimental evidence from semi-arid species. *Journal of Ecology*, **82**, 249–258.
- Lelièvre F, Seddaiu G, Ledda L, *et al.* (2011) Water use efficiency and drought survival in Mediterranean perennial forage grasses. *Field Crops Research*, **121**, 333–342.
- Lemmens CMHM, De Boeck HJ, Zavalloni C, *et al.* (2008) How is phenology of grassland species influenced by climate warming across a range of species richness? *Community Ecology*, **9**, 33–42.
- Levitt J (1972) *Response of plant to environmental stresses*. Academic Press, New York.
- Lieth H (1973) Primary production: Terrestrial ecosystems. *Human Ecology*, **1**, 303–332.
- Liu W, Zhang Z, Wan S (2009) Predominant role of water in regulating soil and microbial respiration and their responses to climate change in a semiarid grassland. *Global Change Biology*, **15**, 184–195.
- Livingston DP, Chatterton NJ, Harrison PA (1993) Structure and quantity of fructan oligomers in oat (*Avena* spp.). *New Phytologist*, **123**, 725–734.
- Livingston DP, Hinch DK, Heyer AG (2009) Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, **66**, 2007–23.
- Llorens L, Penuelas J, Beier C, *et al.* (2004) Effects of an experimental increase of temperature and drought on the photosynthetic performance of two ericaceous shrub species along a north-south European gradient. *Ecosystems*, **7**, 613–624.
- Long SP, Ainsworth EA, Rogers A, *et al.* (2004) Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual review of plant biology*, **55**, 591–628.
- Loreau M (2000) Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, **91**, 3–17.
- Loreau M, Downing A, Emmerson M, *et al.* (2002) A new look at the relationship between diversity and stability. In: *Biodiversity and Ecosystem Functioning Synthesis and Perspectives* (Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Eds.), pp79–91. Oxford University Press.
- Loreau M, Hector A (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, **412**, 72–76.

- Lortie C, Brooker R, Choler P, *et al.* (2004) Rethinking plant community theory. *Oikos*, **107**, 433–438.
- Ludlow MM (1989) Strategies of response to water stress. In: *Structural and functional responses to environmental stresses* (eds: Kreeb K, Richter H, Hinckley T), pp269–281. SPB Academic Publishers, The Hague, The Netherlands.
- Luo Y (2007) Terrestrial carbon–Cycle feedback to climate warming. *Annual Review of Ecology and Evolution. Systemic*, **38**, 683–712.
- Luo YQ, Gerten D, Le Maire G, *et al.* (2008) Modeled interactive effects of precipitation, temperature, and [CO₂] on ecosystem carbon and water dynamics in different climatic zones. *Global Change Biology*, **14**, 1986–1999.
- Luo YQ, Wan SQ, Hui DF, *et al.* (2001) Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature*, **413**, 622–625.
- Luterbacher J, Liniger MA., Menzel A, *et al.* (2007) Exceptional European warmth of autumn 2006 and winter 2007: Historical context, the underlying dynamics, and its phenological impacts. *Geophysical Research Letters*, **34**, L12704.
- MacGillivray CW, Grime JP, The Integrated Screening Programme (ISP) Team (1995) Testing predictions of the resistance and resilience of vegetation subjected to extreme events. *Functional Ecology*, **9**, 640–649.
- Maire V (2009) Des traits des graminées au fonctionnement de l'écosystème prairial: Une approche de modélisation. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- Maire V, Alvarez G, Colombet J, *et al.* (2012) An unknown respiration pathway substantially contributes to soil CO₂ emissions. *Biogeosciences Discussions*, **9**, 8663–8691.
- Maire V, Gross N, Pontes LDS, *et al.* (2009) Trade-off between root nitrogen acquisition and shoot nitrogen utilization across 13 co-occurring pasture grass species. *Functional Ecology*, **23**, 668–679.
- Marulanda A, Barea J, Azcón R (2009) Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulation*, **28**, 115–124.
- Majdi H, Öhrvik J (2004) Interactive effects of soil warming and fertilization on root production, mortality, and longevity in a Norway spruce stand in Northern Sweden. *Global Change Biology*, **10**, 182–188.
- Mayfield MM, Levine JM (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology letters*, **13**, 1085–93.
- McDowell N (2011) Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant physiology*, **155**, 1051–1059.

- McDowell N, Pockman W, Allen CD, *et al.* (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*, **178**, 719–739.
- McDowell NG, Sevanto S (2010) The mechanisms of carbon starvation : how , when , or does it even occur at all? *New Phytologist*, **186**, 264–266.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, *et al.* (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 178–185.
- MEA (2005) *Ecosystems and human well-being: Synthesis*. Millenium Ecosystem Assessment, Island Press, Washington, DC.
- Meehl GA, Karl T, Easterling DR, *et al.* (2000a) An introduction to trends in extreme weather and climate events: Observations, socioeconomic impacts, terrestrial ecological impacts, and model projections. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **81**, 413–416.
- Meehl G, Zwiers F, Evans J (2000b) Trends in Extreme Weather and Climate Events: Issues Related to Modeling Extremes in Projections of Future Climate Change*. *Bulletin of the American Meteorological Society*, **81**, 427–436.
- Memmott J, Craze PG, Waser NM, *et al.* (2007) Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology letters*, **10**, 710–7.
- Meteo France (2011) Sécheresse. Bilan de la situation au 19 juillet 2011. *Bilan Climatiques*. 1–10.
- Michalet R, Brooker RW, Cavieres LA, *et al.* (2006) Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant communities? *Ecology letters*, **9**, 767–73.
- Mikkelsen TN, Beier C, Jonasson S, *et al.* (2007) Experimental design of multifactor climate change experiments with elevated CO₂ , warming and drought: the CLIMAITE project. *Functional Ecology*, **22**, 185–195.
- Mikola J, Ilmarinen K, Nieminen M, *et al.* (2005) Long-term soil feedback on plant N allocation in defoliated grassland miniecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, **37**, 899–904.
- Milbau A, Scheerlinck L, Reheul D, *et al.* (2005) Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. *Physiologia Plantarum*, **125**, 500–512.
- Milchunas D (2009) Estimating root production: comparison of 11 methods in shortgrass steppe and review of biases. *Ecosystems*, **12**, 1381–1402.
- Miriti M, Rodríguez-Buriticá S, *et al.* (2007) Episodic death across species of desert shrubs. *Ecology*, **88**, 32–6.

- Moghaddam MRB, Van den Ende W (2012) Sugars and plant innate immunity. *Journal of experimental botany*, **63**, 3989–3998.
- Mohammadkhani N, Heidari R (2008) Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal*, **3**, 448–453.
- Mokany K, Raison RJ, Prokushkin AS (2006) Critical analysis of root : shoot ratios in terrestrial biomes. *Global Change Biology*, **12**, 84–96.
- Morvan A, Challe G, Prud'homme MP, *et al.* (1997) Rise of fructan exohydrolase activity in stubble of *Lolium perenne* after defoliation is decreased by uniconazole, an inhibitor of the biosynthesis of gibberellins. *New Phytologist*, **136**, 81–88.
- Myers N, Knoll AH (2001) The biotic crisis and the future of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 5389–92.
- Naeem S (1998) Species redundancy and ecosystem reliability. *Conservation Biology*, **12**, 39–45.
- Naeem S (2002) Ecosystem consequences of biodiversity loss: the evolution of a paradigm. *Ecology*, **83**, 1537–1552.
- Naeem S, Thompson LJ, Lawler SP, *et al.* (1994) Declining biodiversity alter the performance of ecosystems. *Nature*, **368**, 734–737.
- Nijs I, Kockelbergh F, Teughels H, *et al.* (1996) Free air temperature increase (FATI) : a new tool to study global warming effects on plants in the field. *Plant, Cell and Environment*, **19**, 495–502.
- Niklaus P, Körner C (2004) Synthesis of a six-year study of calcareous grassland responses to in situ CO₂ enrichment. *Ecological Monographs*, **74**, 491–511.
- Van Noordwijk M, Martikainen P, Bottner P, *et al.* (1998) Global change and root function. *Global Change Biology*, **4**, 759–772.
- Norby R, Jackson R, Division S, *et al.* (2000) Root dynamics and global change: seeking an ecosystem perspective. *New Phytologist*, **147**, 3–12.
- Norby RJ, Luo YQ (2004) Evaluating ecosystem responses to rising atmospheric CO₂ and global warming in a multi-factor world. *New Phytologist*, **162**, 281–293.
- North G, Nobel P (1991) Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave deserti* (Agavaceae). *American Journal of Botany*, **78**, 906–915.
- Odum E (1969) The strategy of ecosystem development. *Science*, **167**, 262–270.
- Odum E, Barrett G (1971) *Fundamentals of ecology*. Thomson Brooks Cole.

- Oosterheld M, McNaughton SJ (1988) Intraspecific variation in the response of *Themeda triandra* to defoliation: the effect of time of recovery and growth rates on compensatory growth. *Oecologia*, **77**, 181–186.
- Oosterheld M, McNaughton SJ (1991) Effect of stress and time for recovery on the amount of compensatory growth after grazing. *Oecologia*, **85**, 305–313.
- Owensby CE, Coyne PI, Ham JM, *et al.* (1993) Biomass production in a tallgrass prairie ecosystem exposed to ambient and elevated CO₂. *Ecological Applications*, **3**, 644–653.
- Pantalone VR, Rebetzke GJ, Burton JW, *et al.* (1999) Soybean PI 416937 root system contributes to biomass accumulation in reciprocal grafts. *Agronomy Journal*, **84**, 840–844.
- De Parcevaux S, Hubert L (2007) *Bioclimatologie. Concepts et applications*. Versailles, Editions Quae.
- Parmesan C, Yohe G (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, **421**, 37–42.
- Parsons AJ, Penning PD (1988) The effect of the duration of regrowth on photosynthesis, leaf death and the average rate of growth in a rotationally grazed sward. *Grass and Forage Science*, **43**, 15–27.
- Pärtel M, Sammul M, Bruun HH (2005) Biodiversity in temperate European grasslands: origin and conservation. In: *Integrating Efficient Grassland Farming and Biodiversity* (eds: Lillak R, Viiralt R, Linke A, Geherman V), pp1–14. 3th international Occasional Symposium of the Eurpe.
- Passioura JB (1981) Water collection by roots. In: *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (eds: Paleg LG, Aspinall D), pp39–53.
- Pavis N, Boucaud J, Prud'homme MP (2001a) Fructans and fructan-metabolizing enzymes in leaves of *Lolium perenne*. *New Phytologist*, **150**, 97–109.
- Pavis N, Chatterton NJ, Harrison PA., *et al.* (2001b) Structure of fructans in roots and leaf tissues of *Lolium perenne*. *New Phytologist*, **150**, 83–95.
- Paz H (2003) Root/Shoot allocation and root architecture in seedlings: variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica*, **35**, 318–332.
- Peer L Van, Nijs I, Bogaert J, *et al.* (2001) Survival, Gap Formation, and Recovery Dynamics in Grassland Ecosystems Exposed to Heat Extremes: The Role of Species Richness. *Ecosystems*, **4**, 797–806.
- Peeters A (2004) *Wild and sown grasses: Profiles of a temperate species selection: ecology, biodiversity and use*. Food and Agriculture Organisation. Blackwell Publishing

- Pendall E, Bridgham S, Hanson PJ, *et al.* (2004) Below-ground process responses to elevated CO₂ and temperature: a discussion of observations, measurement methods, and models. *New Phytologist*, **162**, 311–322.
- Pendall E, Rustad L, Schimel J (2008) Towards a predictive understanding of belowground process responses to climate change: have we moved any closer? *Functional Ecology*, **22**, 937–940.
- Peñuelas J, Boada M (2003) A global change - induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology*, **9**, 131–140.
- Peñuelas J, Gordon C, Llorens L, *et al.* (2004) Nonintrusive Field Experiments Show Different Plant Responses to Warming and Drought Among Sites, Seasons, and Species in a North–South European Gradient. *Ecosystems*, **7**, 598–612.
- Pérez-Ramos IM, Volaire F, Fattet M, *et al.* (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, **87**, 126–136.
- Peterson G, Allen CR, Holling CS (1998) Ecological resilience, biodiversity, and scale. *Ecosystems*, **1**, 6–18.
- Pfisterer AB, Schmid B (2002) Diversity-dependent production can decrease the stability of ecosystem functioning. *Nature*, **416**, 84–6.
- Philippeau G (1989) *Théorie des plans d'expérience: Application à l'agronomie*. Service des Etudes Statistiques de l'Institut Technique des Céréales et des Fourrages.
- Picon-Cochard C, Pilon R, Tarroux E, *et al.* (2012) Effect of species, root branching order and season on the root traits of 13 perennial grass species. *Plant and Soil*, **353**, 47–57.
- Picon-Cochard C, Teyssonneyre F, Besle JM, Soussana JF (2004) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on the productivity and herbage quality of a semi-natural grassland. *European Journal of Agronomy*, **20**, 363–377.
- Pilon R (2011) Dynamique du système racinaire de l'écosystème prairial et contribution au bilan de carbone du sol sous changement climatique. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand.
- Pilon R, Picon-Cochard C, Bloor JMG, *et al.* (2013) Grassland root demography responses to multiple climate change drivers depend on root morphology. *Plant and Soil*, **364**, 395–408.
- Pilon-Smits EAH, Ebskamp MJM, Paul MJ, J *et al.* (1995) Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant physiology*, **107**, 125–130.
- Pilon-Smits EAH, Terry N, Sears T, *et al.* (1999) Enhanced drought resistance in fructan-producing sugar beet. *Plant Physiology and Biochemistry*, **37**, 313–317.

- Pimm SL (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.
- Pimm SL, Raven P (2000) Extinction by numbers. *Nature*, **403**, 843–845.
- Pimm SL, Russell GJ, Gittleman JL, *et al.* (1995) The future of Biodiversity. *Science*, **269**, 347–350.
- Pinheiro C, Chaves MM (2011) Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of experimental botany*, **62**, 869–82.
- Pinheiro C, Passarinho JA, Ricardo CP (2004) Effect of drought and rewatering on the metabolism of *Lupinus albus* organs. *Journal of plant physiology*, **161**, 1203–10.
- Plantureux S (1996) Biodiversité, type de sol et intensité de l'exploitation de prairies permanentes du Plateau lorrain. *Acta botanica gallica*, **143**, 339–348.
- Plantureux S, Peeters A, McCracken D (2005) Biodiversity in intensive grasslands: effect of management, improvement and challenges (R Lillak, R Viiralt, A Linke, and V Geherman, Eds.). *Agronomy Research*, **3**, 153–164.
- Plantureux S, Pottier E, Carrère P (2012) La prairie permanente: nouveaux enjeux, nouvelles définitions ? *Fourrages, The French Journal on Grasslands and Forages*, **211**, 181–193.
- Pollock C (1982) Patterns of turnover of fructans in leaves of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist*, **90**, 645–650.
- Pollock CJ, Cairns AJ (1991) Fructan Metabolism in grasses and Cereals. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **42**, 77–101.
- Pollock C, Jones T (1979) Seasonal patterns of fructan metabolism in forage grasses. *New Phytologist*, **83**, 9–15.
- Pontes LS (2006) Diversité fonctionnelle des graminées prairiales : conséquences pour la productivité et pour la valeur nutritive.
- Pontes LS, Carrere P, Andueza D, *et al.* (2007) Seasonal productivity and nutritive value of temperate grasses found in semi-natural pastures in Europe: responses to cutting frequency and N supply. *Grass and Forage Science*, **62**, 485–496.
- Poorter H, Garnier E (1999) Ecological significance of inherent variation in relative growth rate and its components. In: *Handbook of functional plant ecology* (eds: Pugnaire F, Valladares F), pp81–1220. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Porporato A, Daly E, Rodriguez-Iturbe I (2004) Soil water balance and ecosystem response to climate change. *The American Naturalist*, **164**, 625–632.
- Porter JR, Semenov MA (2005) Crop responses to climatic variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **360**, 2021–2035.

- Pregitzer K, DeForest J, Burton AJ, *et al.* (2002) Fine root architecture of nine North American trees. *Ecological Monographs*, **72**, 293–309.
- Price AH, Townend J, Jones MP, *et al.* (2002) Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant molecular biology*, **48**, 683–95.
- Price M, Waser N (2000) Responses of subalpine meadow vegetation to four years of experimental warming. *Ecological Applications*, **10**, 811–823.
- Prud'homme M-P, Gastal F, Belanger G, *et al.* (1993) Temperature effects on partitioning of ¹⁴C assimilates in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.). *New Phytologist*, **123**, 255–261.
- Van der Putten WH, Macel M, Visser ME (2010) Predicting species distribution and abundance responses to climate change: why it is essential to include biotic interactions across trophic levels. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **365**, 2025–34.
- Reich PB, Wright IJ, Cavender-Bares J, *et al.* (2003) The evolution of plant functional variation: Traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences*, **164**, 143–164.
- Reiss J, Bridle JR, Montoya JM, *et al.* (2009) Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in ecology & evolution*, **24**, 505–14.
- Reyer CPO, Leuzinger S, Rammig A, *et al.* (2013) A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. *Global change biology*, **19**, 75–89.
- Richards LA, Weaver LR (1943) Fifteen-atmosphere percentage as related to the permanent wilting percentage. *Soil Science*, **56**, 331–365.
- Rieger M, Litvin P (1999) Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 201–209.
- De Roover J, Vandenbranden, Van Laere A, *et al.* (2000) Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose:sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of chicory seedlings (*Cichorium intybus* L.). *Planta*, **210**, 808–14.
- Roumet C, Urcelay C, Díaz S (2006) Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *The New phytologist*, **170**, 357–68.
- Van Ruijven J, Berendse F (2010) Diversity enhances community recovery, but not resistance, after drought. *Journal of Ecology*, **98**, 81–86.
- Rustad LE, Campbell JL, Marion GM, *et al.* (2001) A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia*, **126**, 543–562.

- Sage R, Monson R (1999) *C4 plant biology*. Academic Press.
- Sala A, Woodruff DR, Meinzer FC (2012) Carbon dynamics in trees: feast or famine? *Tree Physiology*, **32**, 764–775.
- Sardans J, Peñuelas J, Estiarte M (2006) Warming and drought alter soil phosphatase activity and soil P availability in a Mediterranean shrubland. *Plant and Soil*, **289**, 227–238.
- Sardans J, Penuelas J, Estiarte M (2008) Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Applied Soil Ecology*, **39**, 223–235.
- Scheffer M, Carpenter S, Foley J, *et al.* (2001) Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*, **413**, 591–596.
- Scheffer M, Carpenter SR (2003) Catastrophic regime shifts in ecosystems: linking theory to observation. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 648–656.
- Schenk HJ, Jackson RB (2002) Rooting depths, lateral root spreads and below-ground/above-ground allometries of plants in water-limited ecosystems. *Journal of Ecology*, **90**, 480–494.
- Schläpfer F, Schmid B (1999) Ecosystem effects of biodiversity: a classification of hypotheses and exploration of empirical results. *Ecological Applications*, **9**, 893–912.
- Schulze ED, Mooney HA, Sala OE, *et al.* (1996) Rooting depth, water availability, and vegetation cover along an aridity gradient in Patagonia. *Oecologia*, **108**, 503–511.
- Scott P (2000) Resurrection plants and the secrets of eternal leaf. *Annals of Botany*, **85**, 159–166.
- Scurlock J, Johnson K, Olson R (2002) Estimating net primary productivity from grassland biomass dynamics measurements. *Global Change Biology*, **7**, 736–753.
- Seguin B, Soussana JF (2008) Emissions de gaz à effet de serre et changement climatique : causes et conséquences observées pour l’agriculture et l’élevage. *Courrier de l’environnement de l’INRA*, **55**, 79–91.
- Shane MW, McCully ME, Canny MJ, *et al.* (2009) Summer dormancy and winter growth: root survival strategy in a perennial monocotyledon. *New Phytologist*, **183**, 1085–1096.
- Shaver GR, Canadell J, Chapin FS, *et al.* (2000) Global warming and terrestrial ecosystems: A conceptual framework for analysis. *Bioscience*, **50**, 871–882.
- Shaw M, Harte J (2001) Response of nitrogen cycling to simulated climate change: differential responses along a subalpine ecotone. *Global Change Biology*, **7**, 193–210.
- Sherry RA., Weng E, Arnone JA., *et al.* (2008) Lagged effects of experimental warming and doubled precipitation on annual and seasonal aboveground biomass production in a tallgrass prairie. *Global Change Biology*, **14**, 2923–2936.

- Sherry RA, Zhou XH, Gu SL, *et al.* (2007) Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 198–202.
- Shinoda M, Nachinshonhor GU, Nemoto M (2010) Impact of drought on vegetation dynamics of the Mongolian steppe: A field experiment. *Journal of Arid Environments*, **74**, 63–69.
- Skinner RH (2008) Yield, Root Growth, and Soil Water Content in Drought-Stressed Pasture Mixtures Containing Chicory. *Crop Science*, **48**, 380.
- Skinner RH, Comas LLH (2010) Root distribution of temperate forage species subjected to water and nitrogen stress. *Crop Science*, **50**, 2178.
- Skinner R, Hanson J, Benjamin J (1998) Root distribution following spatial separation of water and nitrogen supply in furrow irrigated corn. *Plant and soil*, **199**, 187–194.
- Smirnoff N (1998) Plant resistance to environmental stress. *Current opinion in Biotechnology*, **9**, 214–219.
- Smirnoff N, Cumbes QJ (1989) Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, **28**, 1057–1060.
- Smit HJ, Metzger MJ, Ewert F (2008) Spatial distribution of grassland productivity and land use in Europe. *Agricultural Systems*, **98**, 208–219.
- Smith MD (2011a) The ecological role of climate extremes: current understanding and future prospects. *Journal of Ecology*, **99**, 651–655.
- Smith MD (2011b) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *Journal of Ecology*, **99**, 656–663.
- Smith M, Knapp A, Collins S (2009) A framework for assessing ecosystem dynamics in response to chronic resource alterations induced by global change. *Ecology*, **90**, 3279–3289.
- Snyder K, Williams D (2003) Defoliation alters water uptake by deep and shallow roots of *Prosopis velutina* (Velvet Mesquite). *Functional Ecology*, **17**, 363–374.
- Soussana JF, Duru M (2007) Grassland science in Europe facing new challenges: biodiversity and global environmental change. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, **272**, 1–11.
- Soussana JF, Graux A-I, Tubiello FN (2010) Improving the use of modelling for projections of climate change impacts on crops and pastures. *Journal of experimental botany*, **61**, 2217–28.
- Soussana JF, Hartwig UA (1996) The effects of elevated CO₂ on symbiotic N₂ fixation: a link between the carbon and nitrogen cycles in grassland ecosystems. *Plant and Soil*, **187**, 321–332.

- Soussana JF, Lemaire G (2007) Impacts du changement climatique sur la prairie et adaptations possibles. *RDV techniques hors-série*, **3**, 27–33.
- Soussana JF, Lüscher A (2007) Temperate grasslands and global atmospheric change: a review. *Grass and Forage Science*, **62**, 127–134.
- Spollen WG, Nelson CJ (1994) Response of fructan to water-deficit in growing leaves of Tall Fescue. *Plant Physiology*, **106**, 329–336.
- Stampfli A, Zeiter M (2004) Plant regeneration directs changes in grassland composition after extreme drought: a 13-year study in southern Switzerland. *Journal of Ecology*, **92**, 568–576.
- Stampfli A, Zeiter M (2008) Mechanisms of structural change derived from patterns of seedling emergence and mortality in a semi-natural meadow. *Journal of Vegetation Science*, **19**, 475–563.
- Stark JM, Firestone MK (1995) Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *Applied and environmental microbiology*, **61**, 218–221.
- Steinaker DF, Wilson SD (2005) Belowground litter contributions to nitrogen cycling at a Northern grassland–forest boundary. *Ecology*, **86**, 2825–2833.
- Steinaker DF, Wilson SD (2008) Phenology of fine roots and leaves in forest and grassland. *Journal of Ecology*, **96**, 1222–1229.
- Sternberg M, Brown V, Masters G, Clarke I (1999) Plant community dynamics in a calcareous grassland under climate change manipulations. *Plant Ecology*, **143**, 29–37.
- Steudle E (2000) Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of experimental botany*, **51**, 1531–42.
- Strand A, Pritchard S, McCormack M (2008) Irreconcilable differences: fine-root life spans and soil carbon persistence. *Science*, **319**, 456–458.
- Suding KN, Goldberg DE, Hartman KM (2003) Relationships among species traits: separating levels of response and identifying linkages to abundance. *Ecology*, **84**, 1–16.
- Suding KN, Lavorel S, Chapin FS, *et al.* (2008) Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology*, **14**, 1125–1140.
- Suttle KB, Thomsen MA, Power ME (2007) Species interactions reverse grassland responses to changing climate. *Science*, **315**, 640–2.
- Swemmer AM, Knapp AK, Snyman HA (2007) Intra-seasonal precipitation patterns and above-ground productivity in three perennial grasslands. *Journal of Ecology*, **95**, 780–788.

- Swindale LD, Bidinger FR (1981) Introduction: The Human consequences of Drought and Crop Research Priorities for their Alleviation. In: *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* (Paleg LG, Aspinall D, Eds.), pp1–13.
- Tansley A (1935) The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecology*, **16**, 284–307.
- Team RC (2012) R: A language and environment for statistical computing.
- Tebaldi C, Hayhoe K, Arblaster JM, *et al.* (2006) Going to the Extremes. *Climatic Change*, **79**, 185–211.
- Teyssonneyre F, Picon-Cochard C, Falcimagne R, *et al.* (2002) Effects of elevated CO₂ and cutting frequency on plant community structure in a temperate grassland. *Global Change Biology*, **8**, 1034–1046.
- Thibault KM, Brown JH (2008) Impact of an extreme climatic event on community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 3410–5.
- Thomas H (1991) Accumulation and consumption of solutes in swards of *Lolium perenne* during drought and after rewatering. *New Phytologist*, **118**, 35–48.
- Thomas H, James A (1999) Partitioning of sugars in *Lolium perenne* (perennial ryegrass) during drought and on rewatering. *New phytologist*, **142**, 295–305.
- Thompson K, Bakker JP, Bekker RM (1997) *The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. Cambridge university press.
- Thompson I, Mackey B (2009) Forest resilience, biodiversity, and climate change. *Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal. Technical Series no. 43, 67 pages*,.
- Thompson R, Starzomski BM (2006) What does biodiversity actually do? A review for managers and policy makers. *Biodiversity and Conservation*, **16**, 1359–1378.
- Thuiller W, Lavorel S, Araújo MB, *et al.* (2005) Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 8245–50.
- Tilman D (1996) Biodiversity : Population versus ecosystem stability. *Ecology*, **77**, 350–363.
- Tilman D (1997) Community invasibility, recruitment limitation, and grassland biodiversity. *Ecology*, **78**, 81–92.
- Tilman D (1999) The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. *Ecology*, **80**, 1455–1474.
- Tilman D (2006) Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, **441**, 629–632.

- Tilman D, Downing JA (1994) Biodiversity and stability in grasslands. *Nature*, **367**, 363–365.
- Tilman D, El Haddi A (1992) Drought and biodiversity in grasslands. *Oecologia*, **89**, 257–264.
- Tilman D, Lehman CL, Bristow CE (1998) Diversity-stability relationships : Statistical inevitability or ecological consequence ? *The American Naturalist*, **151**, 277–282.
- Tilman D, Reich PB, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, **294**, 843–5.
- Tilman D, Wedin D, Knops J (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, **379**, 718–720.
- Tjoelker MG, Craine JM, Wedin D, *et al.* (2005) Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *The New phytologist*, **167**, 493–508.
- Tubiello FN, Soussana JF, Howden SM (2007) Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 19686–19690.
- Tylianakis JM, Didham RK, Bascompte J, *et al.* (2008) Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 1351–1363.
- Valluru R, Van den Ende W (2008) Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects. *Journal of experimental botany*, **59**, 2905–16.
- Valpine P de, Harte J (2001) Plant responses to experimental warming in a montane meadow. *Ecology*, **82**, 637–648.
- Vartanian N (1981) Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems. *Plant and Soil*, **63**, 83–92.
- Vereyken IJ, Chupin V, Demel RA, *et al.* (2001) Fructans insert between the headgroups of phospholipids. *Biochimica et biophysica acta*, **1510**, 307–20.
- Vereyken IJ, Chupin V, Hoekstra FA, *et al.* (2003) The effect of fructan on membrane lipid organization and dynamics in the dry state. *Biophysical Journal*, **84**, 3759–3766.
- Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, *et al.* (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, **45**, 523–39.
- Vijn I, Smeekens S (1999) Update on biochemistry fructan : More than a reserve carbohydrate ? *Plant Physiology*, **120**, 351-359
- Vile D (2005) Significations fonctionnelle et écologique des traits des espèces végétales : exemple dans une succession post-culturale méditerranéenne et généralisations. Université de Montpellier II & Université de Sherbrooke.

- Vogel A, Scherer-Lorenzen M, Weigelt A (2012) Grassland Resistance and Resilience after Drought Depends on Management Intensity and Species Richness. *Plos One*, **7**, 1–10.
- Volaire F (1995) Growth, carbohydrate reserves and drought survival strategies of contrasting *Dactylis glomerata* populations in a Mediterranean environment. *Journal of Applied Ecology*, **32**, 56–66.
- Volaire F (2002) Drought survival, summer dormancy and dehydrin accumulation in contrasting cultivars of *Dactylis glomerata*. *Physiologia Plantarum*, **116**, 42–51.
- Volaire F (2008) Plant traits and functional types to characterise drought survival of pluri-specific perennial herbaceous swards in Mediterranean areas. *European Journal of Agronomy*, **29**, 116–124.
- Volaire F, Lelievre F (1997) Production, persistence, and water-soluble carbohydrate accumulation in 21 contrasting populations of *Dactylis glomerata* L. subjected to severe drought in the south of France. *Australian Journal of Agricultural Research*, **48**, 933–944.
- Volaire F, Lelievre F (2001) Drought survival in *Dactylis glomerata* and *Festuca arundinacea* under similar rooting conditions in tubes. *Plant and Soil*, **229**, 225–234.
- Volaire F, Norton MR, Lelievre F (2009) Summer drought survival strategies and sustainability of perennial temperate forage grasses in Mediterranean areas. *Crop Science*, **49**, 2386–2392.
- Volaire F, Norton MR, Norton GM, *et al.* (2005) Seasonal patterns of growth, dehydrins and water-soluble carbohydrates in genotypes of *Dactylis glomerata* varying in summer dormancy. *Annals of botany*, **95**, 981–90.
- Volaire F, Thomas H (1995) Effects of drought on water relations, mineral uptake, water-soluble carbohydrate accumulation and survival of two contrasting populations of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.). *Annals of Botany*, **75**, 513–524.
- Volaire F, Thomas H, Bertagne N, *et al.* (1998a) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought II. Water status, solute accumulation, abscisic acid concentration and accumulation of dehydrin transcripts in bases of immature leaves. *New Phytologist*, **140**, 451–460.
- Volaire F, Thomas H, Lelievre F (1998b) Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. *New Phytologist*, **140**, 439–449.
- Wahl S, Ryser P (2000) Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist*, **148**, 459–471.
- Walker BH (1992) Biodiversity and ecological redundancy. *Conservation Biology*, **6**, 18–23

- Walker B, Abel N (2002) Resilient rangelands - Adaptation in complex systems. In: *Panarchy, Understanding transformations in human and natural systems* (eds: Gunderson L, Holling CS), pp293–313. Island Press, Washington, D.C.
- Walker B, Kinzig A, Langridge J (1999) Plant attribute diversity, resilience, and ecosystem function: The nature and significance of dominant and minor species. *Ecosystems*, **2**, 95–113.
- Walker B, Meyers JA (2004) Thresholds in ecological and social-ecological systems: a developing database. *Ecology and Society*, **9**.
- Wall DH, Nielsen UN (2012) Biodiversity and Ecosystem Services: Is It the Same Below Ground? *Nature Education Knowledge*, **3**, 1–8.
- Walther G-R (2010) Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **365**, 2019–24.
- Walter J, Nagy L, Hein R, *et al.* (2011) Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environmental and Experimental Botany*, **71**, 34–40.
- Wan S, Hui D, Wallace L, Luo Y (2005) Direct and indirect effects of experimental warming on ecosystem carbon processes in a tallgrass prairie. *Global Biogeochemical Cycles*, **19**, n/a–n/a.
- Wan S, Luo Y, Wallace LL (2002) Changes in microclimate induced by experimental warming and clipping in tallgrass prairie. *Global Change Biology*, **8**, 754–768.
- Wan S, Norby RJ, Ledford J, Weltzin JF (2007) Responses of soil respiration to elevated CO₂, air warming, and changing soil water availability in a model old-field grassland. *Global Change Biology*, **13**, 2411–2424.
- Wan SQ, Norby RJ, Pregitzer KS, Ledford J, O'Neill EG (2004) CO₂ enrichment and warming of the atmosphere enhance both productivity and mortality of maple tree fine roots. *New Phytologist*, **162**, 437–446.
- Wang GL (2005) Agricultural drought in a future climate: results from 15 global climate models participating in the IPCC 4th assessment. *Climate Dynamics*, **25**, 739–753.
- Wang YF, Yu SX, Wang J (2007) Biomass-dependent susceptibility to drought in experimental grassland communities. *Ecology Letters*, **10**, 401–410.
- Wasson P, Richards R, Chatrath R, *et al.* (2012) Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of experimental botany*, **63**, 3485–98.
- Webb W, Szarek S, Lauenroth W, Kinerson R, Smith M (1978) Primary productivity and water use in native forest, grassland, and desert ecosystems. *Ecology*, **59**, 1239–1247.

- Weltzin JF, Bridgham SD, Pastor J, *et al.* (2003a) Potential effects of warming and drying on peatland plant community composition. *Global Change Biology*, **9**, 141–151.
- Went F (1953) The effect of temperature on plant growth. *Annual Review of Plant Physiology*, 347–362.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk P a., Wright IJ (2002) Plant ecological strategies: Some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 125–159.
- White T, Campbell B (2000) Sensitivity of three grassland communities to simulated extreme temperature and rainfall events. *Global Change Biology*, **6**, 671–684.
- Willis KJ, Bailey RM, Bhagwat SA, Birks HJB (2010) Biodiversity baselines, thresholds and resilience: testing predictions and assumptions using palaeoecological data. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 583–591.
- Willis KJ, MacDonald GM (2011) Long-Term Ecological Records and Their Relevance to Climate Change Predictions for a Warmer World. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **42**, 267–287.
- Wingler A, Roitsch T (2008) Metabolic regulation of leaf senescence: interactions of sugar signalling with biotic and abiotic stress responses. *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, **10 Suppl 1**, 50–62.
- Worm B, Duffy JE (2003) Biodiversity, productivity and stability in real food webs. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 628–632.
- Wright JP, Naeem S, Hector A, Lehman C, Reich PB, Schmid B, Tilman D (2006) Conventional functional classification schemes underestimate the relationship with ecosystem functioning. *Ecology Letters*, **9**, 111–120.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, *et al.* (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, **428**, 821–827.
- Wu Z, Dijkstra P, Koch GW, Peñuelas J, Hungate B a. (2011) Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. *Global Change Biology*, **17**, 927–942.
- Yang H, Wu M, Liu W, Zhang Z, Zhang N, Wan S (2011) Community structure and composition in response to climate change in a temperate steppe. *Global Change Biology*, **17**, 452–465.
- Yashi S, Loreau M (1999) Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 1463–1468.
- Zak D, Pregitzer K, Curtis PS, Holmes W (2000) Atmospheric CO₂ and the composition and function of soil microbial communities. *Ecological Applications*, **10**, 47–59.

- Zavaleta ES, Shaw MR, Chiariello NR, Mooney HA, Field CB (2003) Additive effects of simulated climate changes, elevated CO₂, and nitrogen deposition on grassland diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 7650–7654.
- Zavalloni C, Gielen B, De Boeck HJ, Lemmens C, Ceulemans R, Nijs I (2009) Greater impact of extreme drought on photosynthesis of grasslands exposed to a warmer climate in spite of acclimation. *Physiologia Plantarum*, **136**, 57–72.
- Zavalloni C, Gielen B, Lemmens CMHM, *et al.* (2008) Does a warmer climate with frequent mild water shortages protect grassland communities against a prolonged drought? *Plant and Soil*, **308**, 119–130.
- Zeppel MJB, Adams HD, Anderegg WRL (2011) Mechanistic causes of tree drought mortality: recent results, unresolved questions and future research needs. *New Phytologist*, **192**, 800–803.
- Zeppel MJB, Anderegg WRL, Adams HD (2013) Forest mortality due to drought: latest insights, evidence and unresolved questions on physiological pathways and consequences of tree death. *New Phytologist*, **197**, 372–374.
- Zhang J, Nguyen HT, Blum a. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 291–302.
- Zhang W, Parker KM, Luo Y, Wan S, Wallace LL, Hu S (2005) Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology*, **11**, 266–277.
- Zhou X, Talley M, Luo Y (2009) Biomass, Litter, and Soil Respiration Along a Precipitation Gradient in Southern Great Plains, USA. *Ecosystems*, **12**, 1369–1380.