



Mécanismes fonctionnels de résilience des prairies subalpines au changement global

Lionel Bernard

► To cite this version:

Lionel Bernard. Mécanismes fonctionnels de résilience des prairies subalpines au changement global. Ecologie, Environnement. Université Grenoble Alpes, 2017. Français. NNT : 2017GREAV010 . tel-01684753

HAL Id: tel-01684753

<https://theses.hal.science/tel-01684753>

Submitted on 15 Jan 2018

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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Biodiversité – Ecologie - Environnement**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Lionel BERNARD

Thèse dirigée par **Jean-Christophe CLEMENT** et
co-dirigée par **Sandra LAVOREL**

préparée au sein du **Laboratoire D'Écologie Alpine**
dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

Mécanismes fonctionnels de résilience des prairies subalpines aux changements environnementaux locaux

Thèse soutenue publiquement le **22 mai 2017**,
devant le jury composé de :

M. Pascal CARRERE

Ingénieur de Recherche à l'INRA, CLERMONT-FERRAND (Rapporteur)

M. Richard MICHALET

Professeur à l'Université Bordeaux 1, BORDEAUX (Rapporteur)

M. Nicolas GROSS

Chargé de Recherche à l'INRA, CHIZE (Examinateur)

M. Thomas SPIEGELBERGER

Directeur de Recherche à l'IRSTEA, GRENOBLE (Examinateur,
Président du jury)

M. Jean-Christophe CLEMENT

Professeur à l'Université Savoie Mt-Blanc, Le BOURGET du LAC
(Directeur de Thèse)



MECANISMES FONCTIONNELS DE
RESILIENCE DES PRAIRIES
SUBALPINES AUX CHANGEMENTS
ENVIRONNEMENTAUX LOCAUX

RESUME

Les écosystèmes prairiaux alpestres sont supposés être très sensibles au changement climatique. Cependant leur long historique fait de variation du climat et de multiples siècles d'utilisation des terres peut avoir sélectionné des mécanismes de résilience écologique à la variabilité climatique et aux stress climatiques extrêmes. Nous avons utilisé un dispositif expérimental de grande envergure pour explorer les mécanismes de réponses des prairies subalpines à une combinaison d'extrêmes météorologiques hivernaux (fonte des neiges précoce) et estivaux (sécheresse) en fonction de la composition fonctionnelle des communautés végétales et des pratiques de gestion des terres. La composition fonctionnelle des prairies a été manipulée à l'aide d'assemblages de trois espèces de *poacées* en différentes abondances relatives, représentant *in fine* un gradient d'utilisation des ressources allant de la conservation à l'exploitation. De manière générale, la composition fonctionnelle a été le principal déterminant de tous les paramètres observés pour la performance individuelle des plantes, les réponses intraspécifiques des plantes, la décomposition de la litière et les processus de recyclage de l'azote. Le fonctionnement des écosystèmes prairiaux dominés par des plantes conservatrices a été remarquablement résistant aux traitements climatiques extrêmes, tandis que les écosystèmes prairiaux dominés par des plantes plus exploitatrices ont été plus résilients. Les pratiques de gestion ont modulé ces réponses et plus particulièrement dans le cas des communautés exploitatrices. Les allocations souterraines aux réserves glucidiques et aux pools d'azote microbiens ont été identifiées comme deux mécanismes clés sous-tendant les réponses des communautés résilientes. Néanmoins, des répercussions à plus long terme du changement climatique pourraient être observées, causées par un épuisement successif des réserves végétales et une diminution des retours azotés vers le sol *via* les processus de décomposition.

Mots-Clés: *changements environnementaux, gestion des terres arables, changement climatique, écologie des communautés végétales, stratégie fonctionnelle des plantes, fonctionnement des écosystèmes, cycle de l'azote, dynamique de décomposition, stockage des sucres hydrosolubles, prairies subalpines.*

ABSTRACT

Alpine grassland ecosystems are presumed to be highly sensitive to climate change, yet their long history of climate variability, and multiple centuries of land use may have selected for mechanisms of ecological resilience to climate variability and climate extremes. We used a large experimental design to explore patterns and mechanisms for responses of subalpine grasslands to combined winter (snow removal) and summer (drought) weather extremes depending on plant functional composition and management. Plant functional composition was manipulated by establishing grass mixtures with three species representing a conservation to exploitation gradient planted at varying relative abundances. Overall, functional composition was the primary determinant of all observed parameters for plant individual performance, intraspecific plant trait responses, litter decomposition and nitrogen recycling processes. The functioning of grassland ecosystems dominated by conservative plants was remarkably resistant to extreme weather treatments, while grassland ecosystems dominated by more exploitative plants were more resilient. Management altered these responses mostly in the case of exploitative communities. Belowground allocation to carbohydrate reserves and to microbial nitrogen pools were identified as two key mechanisms underpinning these resilient responses. Longer-term impacts of climate change may however unfold through the exhaustion of plant reserves and decreasing nitrogen returns to soils *via* decomposition process.

Keywords: *environmental changes, land management, climate change, plant community ecology, functional plant strategies, ecosystem functioning, nitrogen cycle, decomposition dynamics, water soluble carbohydrates storage, subalpine grasslands.*

REMERCIEMENTS

Cette thèse est la conclusion d'un cheminement personnel qui n'aurait pu être accompli sans le concours de multiples personnes.

Tout d'abord, je tiens à remercier sincèrement les rapporteurs Pascal CARRERE et Richard MICHALET, mais également les examinateurs Nicolas GROSS et Thomas SPIEGELBERGER d'avoir accepté d'évaluer ce manuscrit, et de venir concrétiser quatre années de travail.

Cette « aventure » qu'a été pour moi cette thèse a commencé avec Christiane GALLET. Non contente d'avoir monté un projet de stage de master II pour moi, de m'avoir donné le goût des expérimentations multifactorielles, rallongeant ainsi le nombre d'échantillons et de jours de labo par la même occasion, Christiane m'a dirigé et appuyé auprès de Sandra et Jean-Christophe pour postuler à cette thèse ; je lui en suis reconnaissant !

C'est donc naturellement que je remercie Sandra et Jean-Christophe de m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse, d'avoir cru en moi et d'avoir été disponible quand il le fallait. Merci Sandra d'avoir été toujours enthousiaste sur les avancements, de m'avoir laissé une certaine liberté sur les expérimentations complémentaires et de m'avoir contenu quand il le fallait. JC, merci d'avoir été là au jour le jour, sur le terrain, au labo, pour discuter, pour me rassurer. Merci d'avoir été patient lorsque c'était plus difficile et devant mon incapacité à tenir une deadline !

C'est avec le travail sur le terrain que le terme « aventure » prend tout son sens. Pendant ces trois saisons au Lautaret, j'ai pu compter sur l'aide précieuse de nombreuses personnes. De l'aide, il en a fallu et ce dès le départ en 2012. A ce titre, mention spéciale pour les membres passés et présents du bureau 111 qui ont répondu présents avant même que je ne commence ma thèse et que l'on ne se rencontre. Loin d'être un épiphénomène, j'ai pu compter sur leur soif de terrain et leur solidarité tout au long de cette thèse. Ni la pluie, ni les orages, ni même la neige (et parfois le beau temps) n'ont freiné leur enthousiasme. Pour toute votre aide et votre bonne humeur, un grand merci à Adeline, Caroline, Coline, Emilie, Laure, Marine, Nicolas, Maud, Pénélope, Pierre et Remy.

Sur le terrain, j'ai également pu compter sur la motivation sans faille de stagiaires, et ce malgré tout ce que je leur ai fait subir. Les filles, vous avez assuré : merci à Fanny pour avoir, entre autres, toujours été volontaire malgré les journées entières dans la neige et le froid à fabriquer les abris ; merci à Rachel pour n'avoir, entre autres, émis aucune réserve sur le fait de passer deux

jours accroupis sur la parcelle, à couper de l'herbe au ciseau sous la neige, puis sous la pluie, par 5°C en plein mois de juillet.

Au-delà de la sphère estudiantine, merci aux personnels du labo qui ont volontiers donné la main sur le terrain : Jean-Marc, Roberto, Ludo, Arnaud, Karl, Cindy et Marie-Pascale. Merci également aux partenaires de projet du LEM – Amélie, Nadine, Farhan, Franck et Thomas – pour la bonne ambiance lors des sessions d'échantillonnages, et ce malgré le mauvais temps à quasiment chacune de vos venues. Merci également à Remy pour les heures passées au soleil à rempoter des talles et à creuser des tranchées. Merci à Karl pour l'aide ô combien nécessaire pour le câblage de la Campbell.

Le terrain au Lautaret est évidemment indissociable du jardin alpin. Merci à Serge, Christophe, Rolland, Pascal et Franck pour m'avoir nourri et accueilli au chalet Mirande lorsqu'il ne restait plus que moi au chalet Labo. Pascal et Rolland, merci pour la super ambiance que vous entretenez là-haut et pour les nombreuses invitations à festoyer. Franck, merci pour ta générosité et ton assistance sur le terrain. J'ai par exemple le souvenir d'un dimanche matin à 6h, sous la pluie et le vent, pour réparer des toits fracassés et pour lester les « survivants ».

Qui dit important terrain dit travail de labo conséquent, là encore une sacrée aventure, qui plus est en période de travaux. Un immense merci à Cindy, compagne d'infortune lors des sessions labos et qui a assuré quand je ne pouvais pas être là. Merci à Amélie grâce à qui les journées passées à écouter France Inter ont paru moins longues. Merci à mon troisième stagiaire, Jonathan de n'avoir pas eu ne serait-ce qu'un doute face à des tâches ô combien rébarbatives. Encore une fois, merci aux membres du bureau 111 et aux personnels qui sont venus aider pour quelques heures lors des grosses sessions de labo : Adeline, Arnaud, Caroline, Coline, Emilie, Iris, Marine et Remy.

Et après le temps du labo, vint le temps du bureau... Un immense merci à Adeline, Caroline, Coline, Clémence, Elise, Emilie, Gabin, Iris, Laure, Marine, Maud, Océane, Pierre et Remy pour tous les moments passés de plus de 35°C à moins de 15°C. Merci à Caroline pour les discussions résilience. Merci à Marine pour sa grande maturité. Merci à Coline pour les pauses vidéo toutes plus surprenantes les unes que les autres. Merci à Emilie pour avoir subi (mais parfois apprécié) mes goûts musicaux et pour avoir toujours été de bons conseils. Merci à Remy pour les vidéos outdoor partagées et les interrogations R. Merci à Emilie et Remy pour les sorties course à pied d'après bureau et week-end. Merci à Arnaud et Nico pour les discussions stats, sols, traits et autres.

A tout cela vient s'ajouter le soutien des copains. Fred, un « top » merci pour tous nos projets bricolage et apiculture depuis le master (et puis pour tous les prochains tant qu'à faire). Guillaume, un « flex big-up » merci pour les entraînements et sorties trail de début de thèse et pour le rituel ciné/restau/bar de fin de thèse (désolé de t'avoir lâché sur la fin !).

Enfin, une pensée particulière pour ceux sans qui toute cette « aventure » n'aurait jamais été possible. A mes parents et mes grands-parents pour m'avoir donné le goût de la Nature et stimulé ma curiosité. A mes parents pour m'avoir toujours supporté dans mes choix, pour m'avoir donné les moyens de faire ce que je voulais, et pour votre aide précieuse à vous aussi sur le terrain ! Merci également de ne pas m'avoir questionné sur l'avancement de cette thèse quand je n'en n'avais pas envie (c'est-à-dire 98% du temps). A ma grande sœur pour être toujours là quand il le faut, pour me secouer quand c'est nécessaire, mais toujours avec bienveillance (et aussi pour les ravitos de fin de thèse !). Et comme une évidence, à toi Laurence qui partage ma vie, pour m'avoir donné confiance en moi, pour m'avoir toujours soutenu, pour avoir assuré le quotidien, pour avoir été compréhensive et pour bien plus encore, merci pour tout.

PUBLICATIONS & COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

PUBLICATIONS

- Ibanez, S., **Bernard, L.**, Coq, S., Moretti, M., Lavorel, S. & Gallet, C. (2013) Herbivory differentially alters litter dynamics of two functionally contrasted grasses. *Functional Ecology*, **27**, 1064–1074.
- Jusselme, M.-D., Saccone, P., Zinger, L., Faure, M., Le Roux, X., Guillaumaud, N., **Bernard, L.**, Clement, J.-C. & Poly, F. (2016) Variations in snow depth modify N-related soil microbial abundances and functioning during winter in subalpine grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **92**, 27–37.
- Legay, N., Piton, G., Arnoldi, C., **Bernard, L.**, Binet, M.-N., Brussaard, L., Pommier, T., Lavorel, S., Foulquier, A., Clement, J.-C. Growth, resistance and resilience of *Lolium perenne* to a drought event: is there a soil legacy effect of previous climatic stress, management practices and plant communities? *Soumis à Plant and Soil*.

COMMUNICATIONS

- Bernard, L.**, Lavorel, S. & Clement, J.-C. Functional mechanisms driving subalpine grasslands' resilience to global change, first hints. *Joint 2014 Annual Meeting British Ecological Society and Société Française d'Ecologie, Lille, France, 9-12 mars 2014. Présentation orale.*
- Bernard, L.**, Lavorel, S. & Clement, J.-C. Functional mechanisms driving subalpine grasslands' resilience to global change. *Journée Annuelle des Doctorants de l'EDCSV, Grenoble, France, 24 avril 2014. Poster.*
- Bernard, L.**, Lavorel, S. & Clement, J.-C. Subalpine plant functional traits resistance and resilience to snow cover reduction and spring drought. *Congrès National ECOVEG 11, Grenoble, France, 25-27 mars 2015. Présentation orale.*

AVANT-PROPOS

Ces travaux de thèse sont partie intégrante du projet européen REGARDS, REsilience of marginal GrAsslands and biodiveRsity management Decision Support, financé dans le cadre de l'EraNet-BiodivERsA II et dirigé par Sandra Lavorel. Ce projet visait à élucider les mécanismes qui sous-tendent la résilience des systèmes de prairies marginales aux changements environnementaux et sociaux afin d'en améliorer la résilience socio-écologique et ce de l'échelle d'une exploitation agricole à une échelle régionale.

Ces mécanismes ont été abordés simultanément par des volets écologiques, sociologiques et à l'interface de ces deux domaines au travers de trois cas d'étude distincts: la zone du Col du Lautaret dans les Alpes françaises, la Stubai Valley dans les Alpes autrichiennes et la région montagneuse d'Oppdal en Norvège. Par le biais de cette approche socio-écologique, REGARDS a cherché à (1) identifier des seuils critiques dans les effets combinés du changement climatique et de la gestion des écosystèmes des prairies ; (2) déterminer comment la biodiversité couplée plante-sol module ces réponses ; (3) déterminer comment les structures du paysage affectent la résilience des services écosystémiques ; (4) identifier si une gouvernance multi-échelle peut faciliter une adaptation rapide aux changements socio-économiques ; (5) déterminer si l'intégration régionale ou la mondialisation modifient la résilience d'un socio-écosystème ; (6) déterminer comment les processus écologiques et humains interagissent pour définir la résilience des services écosystémiques.

Ces thématiques ont été abordées par plusieurs équipes de recherche travaillant en Allemagne (Max-Planck-Institute for Biogeochemistry, Jena), en Autriche (UIBK – Ecology et UIBK - Sociology), en Belgique (UCL), en France (LECA, LEM) et en Norvège (NTNU).

Mes travaux de thèse ont porté sur les approches écologiques (points 1 et 2) et ont été menées uniquement sur le site français du Col du Lautaret.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION	1
1.1 - CONTEXTE DE CHANGEMENT GLOBAL	3
1.1.1 - LES ALPES ET LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES	5
1.1.2 - MILIEUX DE MONTAGNE ET CHANGEMENTS D'UTILISATION DES TERRES.....	10
1.1.3 - CHANGEMENT GLOBAL, ALPES ET SOCIETES HUMAINES	11
1.2 - LA RESILIENCE: CADRE THEORIQUE.....	13
1.2.1 - ENGINEERING RESILIENCE	13
1.2.2 - RESILIENCE ECOLOGIQUE	14
1.2.3 - RAPPROCHEMENT ENTRE CES CONCEPTS	14
1.2.4 - NOTRE APPROCHE DE LA RESILIENCE	16
1.3 - UNE APPROCHE FONCTIONNELLE DE LA BIODIVERSITE: CADRE THEORIQUE	18
1.3.1 - TRAITS FONCTIONNELS DES PLANTES	18
1.3.2 - TRAITS ET FONCTIONNEMENT DES ECOSYSTEMES	19
1.3.3 - COVARIATION DE TRAITS ET STRATEGIES FONCTIONNELLES	20
1.3.4 - TRAITS, FONCTIONNEMENT DES ECOSYSTEMES ET CHANGEMENT GLOBAL.....	21
1.4 - POURQUOI LES PRAIRIES SUBALPINES ?	23
1.4.1 - EFFETS POTENTIELS DES CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX SUR LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DES PRAIRIES SUBALPINES	25
1.4.1.1 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET STRUCTURE DES COMMUNAUTES	25
1.4.1.1.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE	25
1.4.1.1.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES	28
1.4.1.2 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET SUCRES HYDROSOLUBLES.....	30
1.4.1.2.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE	30
1.4.1.2.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES	31
1.4.1.3 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET DECOMPOSITION	32
1.4.1.3.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE	33
1.4.1.3.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES	34
1.4.1.4 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET CYCLE DE L'AZOTE	35
1.4.1.4.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE	36
1.4.1.4.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES	38
1.5 - PROBLEMATIQUE DE LA THESE	39
1.5.1 - OBJECTIF DE LA THESE	39
1.5.2 - CADRE CONCEPTUEL ET APPROCHE EXPERIMENTALE	40
1.5.3 - HYPOTHESES DE RECHERCHE	41
1.5.4 - STRUCTURE DE LA THESE	43
1.6 - BIBLIOGRAPHIE	45

CHAPITRE 2 : EXPERIMENTATIONS ET METHODES.....	67
2.1 - LES PRAIRIES SUBALPINES DE LA HAUTE-ROMANCHE	69
2.1.1 - LES CONDITIONS CLIMATIQUES SUBALPINES	70
2.1.2 - CARACTERISTIQUES DES GROUPEMENTS VEGETAUX LIES AUX ACTIVITES HUMAINES	71
2.2 - EXPERIMENTATION EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES	73
2.2.1 - SITE EXPERIMENTAL	73
2.2.2 - DISPOSITIF EXPERIMENTAL	74
2.2.2.1 - MATERIEL VEGETAL.....	74
2.2.2.2 - DISPOSITIF EXPERIMENTAL EN SPLIT-PLOT	79
2.2.2.3 - CHRONOLOGIE DE L'EXPERIMENTATION	83
2.2.2.4 - SUIVIS DES PARAMETRES ABIOTIQUES ET METEOROLOGIQUES	85
2.2.2.5 - MISE EN ŒUVRE DES TRAITEMENTS.....	89
2.2.2.5.1 - LE DENEIGEMENT.....	89
2.2.2.5.2 - LA SECHERESSE.....	92
2.2.2.5.3 - LA FERTILISATION ET LA COUPE DE LA BIOMASSE EPIGEE	95
2.3 - METHODES POUR LE SUIVI ECOLOGIQUE DES COMMUNAUTES	96
2.3.1 - MESURES DES TRAITS FONCTIONNELS VEGETAUX	96
2.3.2 - MESURES DES PARAMETRES DU SOL.....	98
2.3.3 - ANALYSES DES LIXIVIATS	101
2.3.4 - MESURES SUR LA DECOMPOSITION DES LITIERES	102
2.3.5 - MESURES SUR LES GLUCIDES HYDROSOLUBLES	103
2.4 - BIBLIOGRAPHIE	106
CHAPITRE 3 : ARTICLE 1.....	109
3.1 - ABSTRACT.....	112
3.2 - INTRODUCTION.....	113
3.3 - MATERIALS AND METHODS	117
3.4 - RESULTS	124
3.5 - DISCUSSION	141
3.6 - CONCLUSION.....	151
3.7 - ACKNOWLEDGMENTS.....	151
3.8 - REFERENCES	152
3.9 - APPENDICES	165
CHAPITRE 4 : ARTICLE 2.....	175
4.1 - ABSTRACT.....	178
4.2 - INTRODUCTION.....	179
4.3 - MATERIAL AND METHODS	182

4.4 - RESULTS	187
4.5 - DISCUSSION	206
4.6 - ACKNOWLEDGMENTS.....	211
4.7 - REFERENCES	211
4.8 - APPENDICES	216
CHAPITRE 5 : ARTICLE 3.....	219
5.1 - ABSTRACT.....	222
5.2 - INTRODUCTION.....	223
5.3 - MATERIALS AND METHODS	227
5.4 - RESULTS	233
5.5 - DISCUSSION	245
5.6 - CONCLUSION.....	251
5.7 - ACKNOWLEDGMENTS.....	252
5.8 - REFERENCES	252
5.9 - APPENDICES	258
CHAPITRE 6 : ARTICLE 4.....	261
6.1 - ABSTRACT.....	264
6.2 - INTRODUCTION.....	265
6.3 - MATERIAL AND METHODS	268
6.4 - RESULTS	273
6.5 - DISCUSSION	279
6.6 - CONCLUSION.....	285
6.7 - ACKNOWLEDGMENTS.....	286
6.8 - REFERENCES	286
6.9 - APPENDICES	295
CHAPITRE 7 : SYNTHESE & DISCUSSION GENERALE	299
7.1 - SYNTHESE TRANSVERSALE DES PRINCIPAUX RESULTATS SELON LES SCENARII CLIMATIQUES ET AGRO-PASTORAUX	301
7.1.1 - REPONSES SIMILAIRES DU GRADIENT FONCTIONNEL EN ABSENCE DE COUPE ET FERTILISATION	302
7.1.2 - REPONSES CONTRASTEES DU GRADIENT FONCTIONNEL AU TRAITEMENT DE COUPE ET FERTILISATION	306
7.1.3 - REPONSES AUX QUESTIONS DE RECHERCHE.....	308
7.1.3.1 - EFFETS DES CHANGEMENTS DES PARAMETRES CLIMATIQUES.....	308
7.1.3.2 - EFFETS DES PRATIQUES AGRICOLES.....	308
7.1.3.3 - EFFETS DE LA MANIPULATION DE LA COMPOSITION FONCTIONNELLE VEGETALE	309

7.2 - LA STABILITE ECOLOGIQUE DES PRAIRIES SUBALPINES EN QUESTION ?	310
7.2.1 - QUELLE STABILITE ECOLOGIQUE EN ABSENCE DE COUPE ET FERTILISATION ?	311
7.2.2 - QUELLE STABILITE ECOLOGIQUE DES COMMUNAUTES COUPEES ET FERTILISEES ?	313
7.2.3 - PERSPECTIVES DE RECHERCHES	316
7.3 - LIMITES DE NOTRE ETUDE	318
7.4 - CONCLUSION GENERALE	321
7.5 - BIBLIOGRAPHIE	322

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

1.1 - CONTEXTE DE CHANGEMENT GLOBAL

Partout dans le monde, les écosystèmes terrestres connaissent des changements d'une rapidité sans précédent. Ces modifications simultanées sont regroupées sous le terme de changement global et englobe les changements du climat, de la composition atmosphérique, des dépôts de polluants et des changements à grande échelle dans l'utilisation des terres, les invasions biologiques et les régimes de perturbation comme les feux de forêt ou les inondations, mais aussi l'altération du cycle de l'eau, des cycles biogéochimiques et la perte de biodiversité. Le changement global réfère à des modifications d'origine anthropique d'échelle planétaire qui ont le potentiel d'influer directement et/ou indirectement sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes terrestres.

Par exemple la combustion des énergies fossiles et les changements d'utilisation des terres ont augmenté la concentration de dioxyde de carbone (CO_2) dans l'atmosphère de quelques 35% par rapport à l'époque préindustrielle (Figure 1.1.b, GIEC 2013). Plus généralement, les concentrations atmosphériques de gaz à effet de serre ont atteint des niveaux sans précédent : les teneurs en CO_2 , en méthane (CH_4) et en oxyde nitreux (N_2O) ont toutes augmenté fortement depuis 1750 (respectivement +40 %, +150 % et +20 %) (Figure 1.1.a, GIEC 2013). L'effet de serre résultant de leur capacité à absorber le rayonnement infrarouge à ondes longues, et donc d'absorber la chaleur dans la basse atmosphère (l'empêchant ainsi de s'échapper dans l'espace) a réchauffé l'atmosphère et a fait augmenter la température moyenne mondiale de 0.85 [0.65 à 1.06]°C entre 1880 et 2012 (Figure 1.1.c, GIEC 2013). De plus, la décennie 2001-2010 a été la plus chaude de toutes les décennies depuis 1850 et la période 1983-2012 a probablement été la plus chaude depuis 1400 ans. Le lien entre les activités humaines et l'accroissement des températures constaté depuis 1950 est extrêmement probable (+95% de chances), selon le cinquième rapport d'évaluation du GIEC (2013). Par ailleurs, entre 2016 et 2035, il est probable que la température moyenne à la surface du globe augmente de 1.2 [1.0 à 1.4]°C par rapport à 1850. A plus longue échéance, les différents profils représentatifs d'évolution de concentration (RCP) du GIEC prévoient que le réchauffement climatique augmentera la température moyenne mondiale de 1.7 [1 à 2.4] à 4.4 [3.3 à 5.5]°C d'ici la fin du 21^{ème} siècle (fourchette entre le RCP le plus optimiste et le plus pessimiste), toujours par rapport à la référence de l'année 1850.

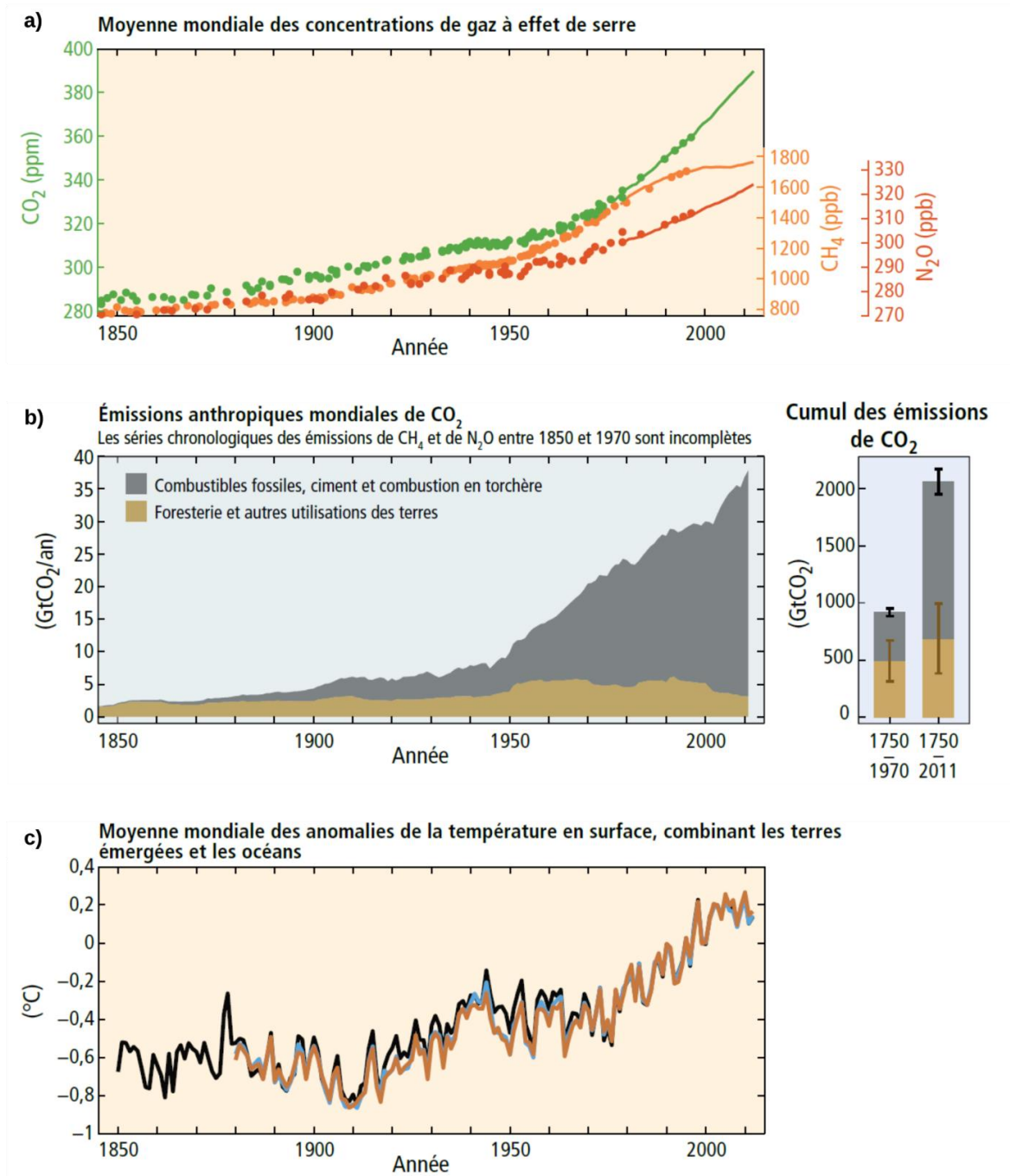


Figure 1.1. Observations (panneaux a et c) et autre indicateur (panneau b) d'un système climatique planétaire en évolution. **a)** Concentrations atmosphériques des gaz à effet de serre que sont le dioxyde de carbone (CO_2 , vert), le méthane (CH_4 , orange) et l'oxyde nitreux (N_2O , rouge) déterminées à partir de l'analyse de carottes de glace (points) et obtenues par mesure directe dans l'atmosphère (courbes). **b)** Émissions anthropiques mondiales de CO_2 provenant de la foresterie et d'autres utilisations des terres ainsi que de l'utilisation des combustibles fossiles, de la production de ciment et de la combustion en torchère. Les cumuls des émissions de CO_2 provenant des deux types de sources en question et les incertitudes qui y correspondent sont représentés par les boîtes à moustaches verticales sur la droite. Les effets globaux des cumuls des émissions de CH_4 et de N_2O ne sont pas représentés. **c)** Moyenne annuelle et mondiale des anomalies de la température de surface combinant les terres émergées et les océans par rapport à la moyenne établie pour la période 1986–2005. Les différents ensembles de données sont représentés par des courbes de couleurs différentes. (Source : GIEC 2014).

Ces changements de température pourraient être accompagnés d'une modification des régimes de précipitations, bien que les modèles climatiques aient de fortes incertitudes sur ces projections, ainsi que de l'occurrence de phénomènes météorologiques et climatiques extrêmes. Ces changements ont été déjà constatés depuis les années 1950 et ont été reliés aux activités humaines, notamment la multiplication des épisodes de vagues de chaleur, de sécheresses, de fortes précipitations et d'inondations. Les risques de ces phénomènes extrêmes liés au changement climatique atteignent déjà un niveau modéré et ils atteindraient un niveau élevé avec un réchauffement supplémentaire de 1°C (GIEC 2014). Ces changements climatiques drastiques devraient avoir des effets significatifs sur les différents écosystèmes terrestres et notamment au sein des écosystèmes de haute latitude et haute altitude (régions arctiques et alpines) où le changement climatique progresse plus rapidement que pour toute autre région du globe (ACIA 2005; GIEC 2014). En effet, le réchauffement, en réduisant le couvert neigeux dans ces écosystèmes froids, diminue l'albédo de surface, ce qui entraîne un réchauffement supplémentaire.

1.1.1 - LES ALPES ET LES CHANGEMENTS CLIMATIQUES

Les écosystèmes de montagne représentent environ 21% de la surface terrestre du globe et se retrouvent sur tous les continents ; en France l'espace montagnard représente 22.8% du territoire. Ces écosystèmes ont des caractéristiques climatiques et biogéographiques particulières et possèdent une riche variété de systèmes écologiques. Cette variété de systèmes résulte en premier lieu des gradients climatiques présents le long des versants des montagnes (Tableau 1.1). Premièrement, la pression atmosphérique diminue presque linéairement avec l'altitude : par exemple elle est en comparaison 26% plus faible à 2600 m d'altitude par rapport au niveau de la mer (750 vs 1013 hPa). Cette diminution a des conséquences directes sur le rayonnement solaire et la température atmosphérique. Cette dernière baisse en moyenne de 0.55°C tous les 100 m dans les milieux continentaux mais peut varier de 0 à 1°C et même être positive dans certaines conditions d'inversion de températures dans les vallées en période hivernale. La diminution de la température atmosphérique réduit automatiquement l'humidité relative de l'air. Inversement, le rayonnement solaire augmente avec l'altitude sous un ciel clair. Cependant, la fréquence relative de couverture nuageuse locale augmente également avec l'altitude, en conséquence l'augmentation est plus ou moins importante (voir nulle) selon la nébulosité et finalement les flux de rayonnement sont similaires le long du gradient altitudinal. Néanmoins, le rayonnement solaire maximal et la proportion d'UV dans le spectre lumineux (proportion des longueurs d'ondes courtes) augmentent avec l'altitude. D'autres gradients, en particulier hydriques, se combinent au gradient

thermique. Dans la plupart des régions tempérées, l'observation la plus courante est une élévation des cumuls de précipitations avec l'altitude mais ils sont beaucoup plus variables dans le temps et dans l'espace, en fonction notamment de la place relative du versant considéré par rapport aux flux d'airs dominants porteurs de précipitations.

Les écosystèmes d'altitude sont donc fortement contraints par les gradients climatiques, conséquence du gradient altitudinal. Il en résulte un étagement vertical de la végétation : la végétation change le long des versants par élimination successive des espèces de plaines, et par maintien ou apparition des espèces susceptibles de résister aux conditions à chaque fois plus extrêmes des plus hautes altitudes. L'étagement de la végétation est une notion initiée par Alexander Von Humboldt (von Humboldt & Bonpland 1807) puis conceptualisée par Carl Joseph Schröter (qui définit la nomenclature classique des étages collinéen, montagnard, subalpin, alpin et nival, 1908) et enfin redéfinie par Paul Ozenda dans son « modèle alpin généralisé » (1990). Ainsi, chaque étage regroupe un ensemble précis, structuré d'écosystèmes naturels ou anthropisés qui se superposent en raison du refroidissement du climat et du raccourcissement de la période végétative et qui présentent les mêmes exigences écologiques (Figure 1.2).

	Variation avec l'altitude	Évaluation ou Estimations
Gradient altitudinal	+	0 - 4807 m
Gradient barométrique	-	5.6 mmHg/100 m
Gradient thermique	-	0.5°C/100 m
Gradient pluviométrique	+ puis ≈0	De 20 à 100 mm/100 m jusqu'à 2500-3000 m. 0 à 10 mm/100 m au-delà.
Gradient nivométrique: <i>Accroissement de la hauteur annuelle totale de neige</i>	+	30 cm /100 m
Gradient nivométrique: <i>Durée du manteau neigeux</i>	+	9 à 13 jours/100 m
Durée de la période végétative (t° moyenne > 5°C)	-	7 à 9 jours/100 m

Tableau 1.1. Quelques gradients du milieu naturel en montagne tempérée (Alpes Occidentales ~45°/46° lat. Nord) (d'après Chardon 1989).

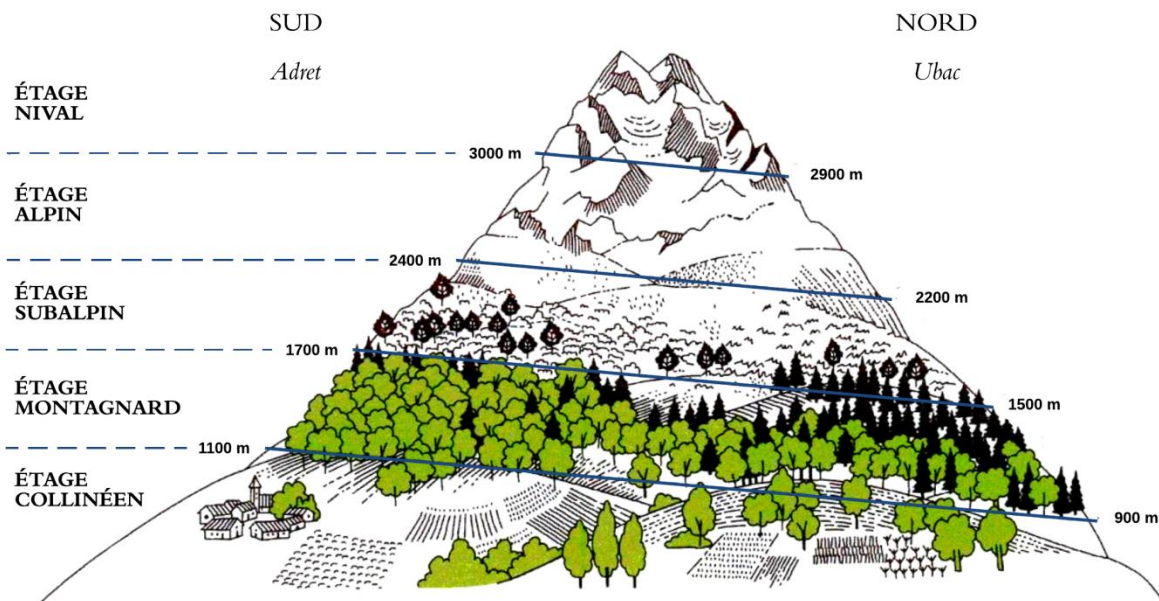


Figure 1.2. Exemple d'étagement de la végétation dans les Alpes (croquis modifié d'après Mayoux 2004).

Les caractéristiques de la flore de montagne ont tendance à dépendre des gradients climatiques. Par conséquent, les tendances actuelles et les prédictions futures de modifications du climat (explicitées ci-dessus) indiquent que la végétation des systèmes d'altitude est l'une des plus menacées (avec celle des systèmes de hautes latitudes, ACIA 2005; GIEC 2014). Le climat alpin est très complexe du fait des interactions entre les différents massifs et la circulation générale de l'atmosphère. De plus, cette complexité climatique des Alpes est renforcée par les influences d'un certain nombre de régimes climatiques contrastés: régimes Méditerranéen, Continental, Atlantique et Polaire. Par exemple, le climat alpin est étroitement lié à l'intensité et à la persistance de phénomènes météorologiques tels que les zones de hautes pressions hivernales scandinave et russe ou encore tels que l'influence de l'oscillation du courant Atlantique Nord (NAO).

Les climats alpins ont déjà subi des changements significatifs au cours du siècle dernier (Gobiet *et al.* 2014), les températures alpines ont augmenté à un rythme deux fois plus élevé que la moyenne de l'hémisphère Nord, ce qui représente une augmentation moyenne de la température annuelle d'environ 2°C (Auer *et al.* 2007). Ce phénomène a été homogène dans la région alpine et a été particulièrement prononcé à partir de 1980, avec des taux de réchauffement moyens annuels d'environ 0.5°C par décennie (EEA 2009), principalement causés par l'effet de serre renforcé par le degré de vapeur d'eau dans l'atmosphère (Philipona 2013). Dans les Alpes françaises, en terme de tendance temporelle globale pour une période d'observation 1958-2002, la température annuelle de l'air a augmenté d'environ 1°C, et ce principalement pendant les décennies 80 et 90 (Durand *et al.* 2009b). Ces observations sont principalement dues à l'augmentation des températures minimales

journalières (Moisselin 2002; Beniston 2005). Cependant, cette tendance varie fortement selon l'altitude, les saisons et les régions (Scherrer *et al.* 2005; Scherrer, Appenzeller & Liniger 2006). Les tendances sont les plus prononcées pour les altitudes comprises entre 1500 et 2000 m (Durand *et al.* 2009b). Les massifs plus au nord sont sujets à une augmentation de température variant de +1.5 à 2°C quelle que soit la saison, alors que les massifs plus au sud sont sujets à une forte baisse des températures en début d'hiver (-2°C), suivie d'une légère augmentation en milieu d'hiver et d'une forte tendance à la hausse des températures en fin d'hiver (jusqu'à +3°C), ce qui se traduit par une légère augmentation (+0.5°C) sur l'ensemble de la saison hivernale (Durand *et al.* 2009b). A des altitudes supérieures, les températures sont restées relativement homogènes. De façon similaire, la température moyenne annuelle en Suisse a augmenté de 0.57 °C par décennie sur la période 1975-2004, avec une tendance plus forte au printemps/été et moins prononcée en automne/hiver (12 stations de relevés de 300 à 2500 m d'altitude, Rebetez & Reinhard 2008).

L'impact exact de ces changements de température dans les Alpes européennes sur l'évolution des régimes de précipitations au cours de la fin du 20^{ième} siècle est difficile à mesurer, en raison de la forte variabilité interannuelle naturelle et de l'impact de l'indice d'oscillation nord-atlantique (NAO) (Scherrer, Appenzeller & Laternser 2004; Scherrer & Appenzeller 2006; Marty 2008; Schöner, Auer & Böhm 2009; Durand *et al.* 2009b). Néanmoins, une tendance générale à la diminution de la couverture neigeuse a été clairement démontrée dans l'hémisphère Nord (GIEC 2014) et en particulier pour les Alpes européennes (Wielke, Haimberger & Hantel 2004; Hantel & Hirtl-Wielke 2007; Schöner *et al.* 2009). A partir des années 1980, on remarque une tendance de diminution de hauteur de neige principalement à des altitudes basses et des hivers de neige «plus constants» à haute altitude à l'échelle globale des Alpes européennes (Hantel & Hirtl-Wielke 2007), mais aussi dans les Alpes françaises (Durand *et al.* 2009a) et Suisses (Laternser & Schneebeli 2003; Serquet, Marty & Rebetez 2013). De même, le nombre de jours de couvert neigeux au sol montre peu de changement à moyenne et haute altitude mais a généralement diminué à basse altitude (Durand *et al.* 2009a). Cette récente diminution de la couverture de neige en basse altitude peut être principalement attribuée à une augmentation de la température (alors que les changements de régimes de précipitations sont négligeables) (Martin, Brun & Durand 1994; Scherrer *et al.* 2004; Durand *et al.* 2009a). Au-dessus d'une limite d'environ 1700-2000 m, les températures hivernales sont généralement bien inférieures au point de fusion et, même dans des conditions plus chaudes, il y a peu de potentiel pour une diminution des jours de neige au profit de pluies (Durand *et al.* 2009a; Serquet *et al.* 2011). Néanmoins, dans les Alpes Suisses et dans les massifs français situés plus au sud, les chutes de neige ont également diminué au-dessus de 1700 – 1800 m, mais seulement en fin de saison hivernale (Durand *et al.* 2009a; Serquet *et al.* 2013; Steger *et al.* 2013). Cette combinaison de températures plus élevées et de chutes de neige plus faibles en fin d'hiver et au printemps

entraîne un amincissement du couvert de neige (GIEC 2014), une fonte plus précoce et des saisons de croissance plus longues pour les plantes (Dye 2002). A ces mêmes altitudes, les massifs français situés plus au nord sont encore assez froids pour produire et maintenir une couverture de neige régulière tout au long de l'hiver, mais sous des températures en constante augmentation ils pourraient présenter la même évolution du couvert neigeux (Durand *et al.* 2009a). A l'échelle globale des Alpes françaises, le fait que les augmentations de température soient les plus prononcées à environ 2000 m (explicité ci-dessus) entraîne la plus importante diminution du manteau neigeux (Durand *et al.* 2009a; Gobiet *et al.* 2014), et plus particulièrement en fin d'hiver et début d'été où les augmentations sont les plus prononcées (Durand *et al.* 2009a).

En période estivale, les tendances d'évolution des régimes de précipitations à la fin du siècle dernier sont beaucoup moins marquées, en raison d'une forte variabilité spatiale et interannuelle. Néanmoins, une observation importante est que le changement climatique peut également modifier la fréquence, la sévérité et même la nature des événements extrêmes climatiques (*i.e* un événement météorologique rare à un endroit et à une période de l'année, GIEC 2013). Un changement relativement faible de la moyenne ou de la variance d'une variable climatique entraîne intrinsèquement des changements disproportionnés dans la fréquence des extrêmes, c'est-à-dire les événements peu fréquents à la limite haute et basse de la plage de valeurs d'une variable particulière (Nicholls & Alexander 2007). Ainsi, le changement climatique peut modifier fondamentalement la variabilité inhérente de la température, des précipitations et d'autres phénomènes météorologiques (Seneviratne *et al.* 2012; Seneviratne 2012). Les modèles climatiques prévoient notamment une augmentation en fréquence et magnitude de périodes de fortes pluies, de vagues de chaleur et de sécheresses estivales (Schär *et al.* 2004; Schmidli & Frei 2005; Beniston *et al.* 2007; Christensen & Christensen 2007; Knapp *et al.* 2008; Dai 2011; GIEC 2013). Les Alpes connaissent souvent des phénomènes météorologiques extrêmes tels que des fortes précipitations, des épisodes de grêle, des tempêtes hivernales et des sécheresses. La vulnérabilité de la région alpine à la sécheresse a été clairement révélée en 2003, lors de la vague de chaleur qui a fortement touché une grande partie de l'Europe au cours des deux premières semaines d'août (Beniston 2004; Beniston & Diaz 2004; Schär & Jendritzky 2004). Différentes études s'accordent sur un accroissement de la fréquence et de la sévérité des sécheresses à la fois à court et long terme dans la région alpine (Rebetez 1999; Calanca 2007; Gobiet *et al.* 2014) même si la magnitude exacte des changements est sujette à des incertitudes (Gobiet *et al.* 2014). Par exemple, Calanca (2007) projette une diminution d'environ 20% des jours de pluies durant la saison de végétation (avril à septembre) avec une augmentation de 15% à plus de 50% des occurrences de sécheresse d'ici la fin du 21^{ème} siècle (en utilisant l'ancienne projection SRES A2 correspondant actuellement à une projection intermédiaire entre les deux RCP les plus pessimistes). De plus, les résultats indiquent une tendance globale vers une sévérité plus

élevée des sécheresses : des événements comparables à 2003 ne représenteraient plus l'exception mais la norme (Calanca 2007).

En résumé, au cours de ce 21^{ème} siècle, le réchauffement devrait s'accélérer dans les Alpes européennes. Associées à ce réchauffement, des modifications saisonnières de patrons de précipitations sont attendues avec notamment une augmentation du risque associé à la sécheresse en été et une diminution drastique de la couverture neigeuse en dessous de 1500-2000 m d'altitude en hiver (Gobiet *et al.* 2014). Les impacts de ces changements climatiques potentiels dans la région alpine sur les écosystèmes seront multiples. Étant donné la diversité des réponses des écosystèmes de montagne face aux changements climatiques (Engler *et al.* 2011; Gottfried *et al.* 2012) il est important de comprendre leurs effets sur ces écosystèmes en évolution rapide.

1.1.2 - MILIEUX DE MONTAGNE ET CHANGEMENTS

D'UTILISATION DES TERRES

Au-delà de leurs effets sur l'augmentation de la teneur en CO₂ de l'atmosphère (Figure 1.1), les changements d'utilisation des terres sont reconnus comme étant le principal phénomène affectant les écosystèmes (Vitousek *et al.* 1997). En effet, les activités humaines liées à l'utilisation des terres, qu'il s'agisse de la conversion des habitats naturels en terres agricoles et urbaines ou la modification des pratiques de gestion des terres aménagées, ont transformé une grande partie de la surface terrestre de la planète (Foley *et al.* 2005). Ces changements dans l'utilisation des terres sont notamment connus pour influencer fortement la structure et la composition des communautés végétales en raison de la perte, de la modification et de la fragmentation des habitats, et de la dégradation à la fois du sol et de l'eau (Tasser & Tappeiner 2002; Foley *et al.* 2005). Par exemple, ces modifications ont des effets négatifs sur la biodiversité (Sala *et al.* 2000; Zebisch, Wechsung & Kenneweg 2004; Reidsma *et al.* 2006; Fahrig *et al.* 2011), sur les processus géomorphologiques et l'érosion des sols (García-Ruiz *et al.* 2008), sur les cycles biogéochimiques (Cernusca *et al.* 2008) et sur la contamination de la surface du sol et des eaux souterraines (Honisch, Hellmeier & Weiss 2002).

Les écosystèmes de montagne ont été façonnés progressivement au fil des siècles par les activités humaines *via* l'utilisation des terres, aboutissant à une importante variété de paysages (Quétier, Thébaud & Lavorel 2007b) avec notamment l'abaissement de la limite supérieure des forêts au profit de prairies semi-naturelles d'une grande richesse spécifique. Depuis la fin de la Seconde Guerre mondiale, l'évolution des conditions socio-économiques a entraîné des changements majeurs

dans l'utilisation des terres (Fischer *et al.* 2008). Dans les Alpes européennes, deux tendances principales ont été observées au cours des dernières décennies. D'une part, les prairies à faible altitude, plus productives et plus facilement accessibles (avec les machines agricoles modernes) ont été soumises à une intensification croissante de leur gestion (Tasser & Tappeiner 2002; Chemini & Rizzoli 2003; Spiegelberger *et al.* 2006; Bolliger *et al.* 2007). La fréquence de fauche et la quantité d'engrais utilisés ont augmenté, l'utilisation de fumier liquide a de plus en plus remplacé l'usage traditionnel du fumier, et de plus en plus de zones sont désormais irriguées. D'autre part, les sites peu accessibles ou plus pentus situés plus en altitude, qui ne se prêtent pas facilement à la culture mécanique, sont progressivement abandonnés (Tasser & Tappeiner 2002; Rutherford *et al.* 2008) ou transformés en pâturages pour économiser du temps de travail (Fischer & Wipf 2002). Ces deux tendances, d'abandon et d'intensification, réduisent la diversité des espèces végétales au sein de ces écosystèmes prairiaux alpins (Tasser & Tappeiner 2002; Spiegelberger *et al.* 2006; Marini *et al.* 2007; Kampmann *et al.* 2008). Par exemple, l'application d'engrais associée à l'intensification de gestion entraîne une diminution de la richesse spécifique des prairies de montagne (Nagy *et al.* 2003). D'autre part, après l'abandon, la composition floristique des prairies change et leur qualité agricole diminue, conduisant à long terme au reboisement (hormis dans l'étage alpin) et à une réduction significative de la biodiversité (Fischer & Wipf 2002; Bolliger *et al.* 2007; Zimmermann *et al.* 2010); ceci aboutit ainsi à une trame paysagère plus homogène (Tasser *et al.* 2007). De nombreuses études locales ont analysé l'évolution historique de l'utilisation des terres dans les Alpes (Zimmermann *et al.* 2010 et références associées) et la variabilité des résultats suggère que les tendances d'abandon et d'intensification peuvent largement différer à travers l'arc alpin (Tasser *et al.* 2007).

1.1.3 - CHANGEMENT GLOBAL, ALPES ET SOCIÉTÉS HUMAINES

Les changements anthropiques mondiaux concernent la transformation de l'utilisation des terres, les cycles hydrologiques et biogéochimiques, le climat et l'intégrité de la biosphère (Steffen *et al.* 2015). Au niveau local et régional, le changement global modifie la composition et les abondances relatives des espèces au sein des communautés, ce qui peut déclencher des changements en cascade dans le fonctionnement et la structure des écosystèmes terrestres (Chapin *et al.* 1997). Les changements dans le fonctionnement des écosystèmes (propriétés et processus écosystémiques) modifient à leur tour le potentiel des écosystèmes à fournir les services écosystémiques dont dépendent les sociétés humaines (Mooney *et al.* 2009; Mace, Norris & Fitter 2012).

Les services écosystémiques sont les avantages que les humains tirent directement ou indirectement des fonctions de l'écosystème (propriétés et processus) (MA 2005). En effet, dans la recherche d'un avenir plus durable, l'importance de reconnaître l'interconnexion de la nature et des personnes dans un seul système socio-écologique global est devenue de plus en plus évidente (Berkes & Folke 1998). Les êtres humains font partie intégrante de la biosphère et la dynamique sociétale est à la fois tributaire et directement actrice sur les écosystèmes, *via* des pratiques de conservation et de gestion des ressources naturelles, et indirectement par des modèles de comportements économiques et de pratiques culturelles. Le concept de services écosystémiques est une façon de mettre en évidence la pertinence du fonctionnement écologique pour le bien-être humain. Il comprend à la fois des biens (bois, nourriture, carburant) et des services, que ce soit de régulation ou culturels (qualité de l'air, pollinisation, bien-être). Depuis le *Millennium Ecosystem Assessment* (MA 2005) ce concept de services écosystémiques a pris de l'ampleur et s'est largement répandu dans les sphères scientifiques et politiques. Les écosystèmes de montagne fournissent une vaste gamme de biens et de services, tant pour les personnes vivant en montagnes et en dehors (Grêt-Regamey, Brunner & Kienast 2012). Par exemple, plus de la moitié de l'humanité dépend de l'eau douce provenant des régions montagneuses; d'un point de vue écologique, les régions de montagne représentent des *hospots* de biodiversité alors que d'un point de vue sociétal, les montagnes sont des destinations clés pour les activités touristiques et récréatives (Grêt-Regamey *et al.* 2012).

Il est difficile de prévoir les réponses des écosystèmes de montagne à ces changements globaux en raison du nombre de facteurs et de la possibilité d'effets interactifs sur les aspects physiologiques, écologiques et biogéochimiques de leurs fonctions écosystémiques (Gobiet *et al.* 2014). Il devient donc urgent d'essayer de comprendre les effets de différentes composantes du changement global sur ces écosystèmes en évolution rapide, afin de préserver leur biodiversité et les services écosystémiques qu'ils fournissent aux sociétés humaines.

1.2 - LA RESILIENCE: CADRE THEORIQUE

L'ampleur des changements globaux en cours et attendus ainsi que les incertitudes sur leurs impacts sur les écosystèmes de montagne soulèvent la question de leur résilience. De manière générale, la notion de résilience est utilisée pour désigner la caractéristique dynamique d'un système; en écologie, la résilience définit la capacité d'un système à réagir à une certaine perturbation (Botton *et al.* 2006). Au cours des cinquante dernières années, le concept de résilience en écologie a été appliqué dans de nombreuses études. Une variété de définitions a ainsi été formulée pour s'adapter à l'échelle ou au système d'étude, et un grand nombre d'approches expérimentales pour tester ces définitions ont été proposées (Botton *et al.* 2006; Griffiths & Philippot 2013). La plupart des définitions existantes peuvent être regroupées sous deux principaux concepts initiaux : l'« *engineering resilience* » et l'« *ecological resilience* » (ou résilience écologique).

1.2.1 - ENGINEERING RESILIENCE

Le concept d'*engineering resilience*, définie comme la capacité d'un système à revenir à son état initial après une perturbation (Holling 1973), suppose l'existence d'une stabilité globale de ce système: il n'existe qu'un seul état d'équilibre et par conséquent, la résilience n'a de sens que pour les systèmes localement stables (Holling 1996). La stabilité d'un système détermine sa capacité à continuer à fonctionner dans des conditions fluctuantes, induites soit par des processus naturels, soit par des perturbations humaines. Cette stabilité écologique comprend deux composantes: la résistance, définie comme le degré de changement d'une variable ou d'un système causé par une perturbation, et la résilience, définie comme la vitesse avec laquelle une variable ou un système revient à son niveau de pré-perturbation ou d'équilibre à la suite d'une perturbation (Pimm 1984, Figure 1.3a). Une troisième composante de la stabilité peut également être prise en compte : la persistance, soit le temps avant qu'une variable ou qu'un système ne soit modifié après le début d'une perturbation (Pimm 1984). Ce concept d'*engineering resilience* se réfère donc au maintien de l'efficacité d'une fonction (Holling 1996).

1.2.2 - RESILIENCE ECOLOGIQUE

Le concept de résilience écologique (ou *ecological resilience*) suppose quant à lui l'existence de plusieurs états d'équilibre stables : une perturbation peut faire basculer un système dans un autre régime de fonctionnement, c'est-à-dire dans un autre domaine de stabilité (Holling 1973). Dans ce cas, la résilience est l'amplitude de la perturbation pouvant être absorbée par un système avant qu'il ne bascule vers un autre état stable alternatif. Ce changement d'état se traduit par un changement de structure du système, *via* une modification des variables et des processus qui déterminent son fonctionnement (Holling 1973; Gunderson 2000). Ce concept peut être représenté visuellement en utilisant le modèle «*ball and cup*» (Figure 1.3b). Ce concept de résilience écologique se réfère donc au maintien de l'existence d'une fonction (Holling 1996).

1.2.3 - RAPPROCHEMENT ENTRE CES CONCEPTS

Ces deux concepts de résilience ne sont pas forcément exclusifs et ont souvent été regroupés au sein d'une même définition comme deux propriétés distinctes de la résilience (Côté & Darling 2010; Fujita *et al.* 2013; Sterk *et al.* 2013). On parle alors de capacité de récupération (ou *recovery*; apparentée à l'*engineering resilience*) et de résistance (apparentée à la résilience écologique, différente de la résistance telle que définie par Pimm 1984). En reprenant le modèle de «*ball and cup*» : le taux de récupération suite à une perturbation va ralentir à mesure que le système approche des limites du bassin et la résistance du système sera dépassée lorsqu'il bascule vers un autre état stable (Figure 1.3c). On parle alors de point de basculement (*tipping point*) ou de seuil (*threshold*) pour exprimer ce dépassement de la résistance d'un système.

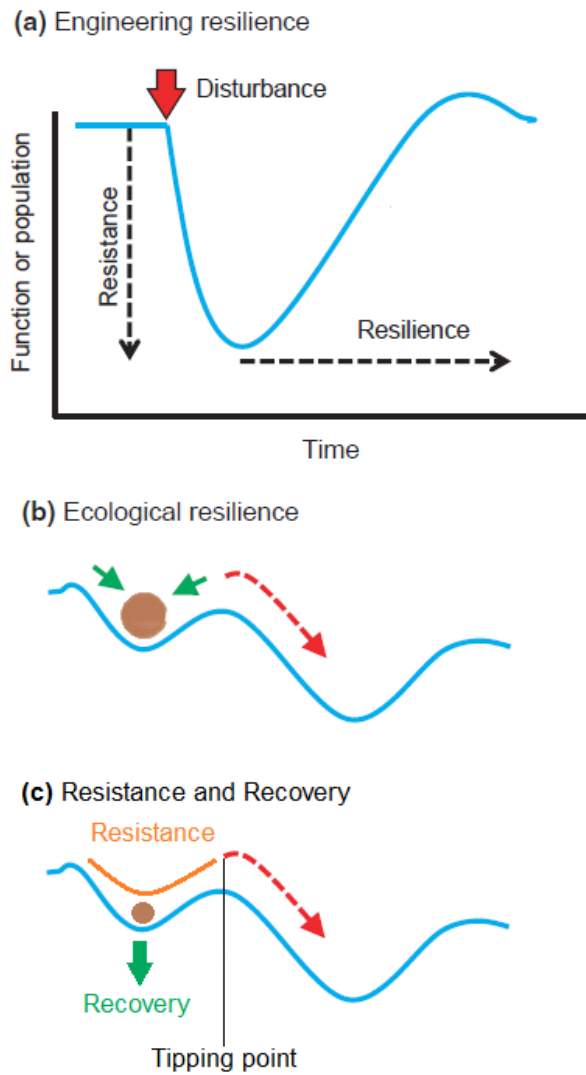


Figure 1.3. Représentation schématique de l'*engineering resilience* (a), de l'*ecological resilience* (b) et de la *Resistance/Recovery* (c). Dans la définition de l'*engineering resilience*, la stabilité est définie par la réponse immédiate à la perturbation (résistance) puis la récupération dans le temps (résilience). Dans la définition de l'*ecological resilience*, la balle dans le bassin représente l'état du système. La résilience est une mesure de la quantité de perturbation que peut absorber le système (balle) afin qu'il reste dans le même bassin, avant qu'il ne bascule dans un autre état stable (bassin alternatif). En (c), la *resistance* est apparentée à l'*engineering resilience* et la *recovery* à l'*ecological resilience*. (a et b tiré de Griffiths & Philippot 2013).

1.2.4 - NOTRE APPROCHE DE LA RESILIENCE

Tout au long de cette thèse, je me référerai au concept de stabilité écologique (résistance et résilience aux perturbations) tel que défini par Pimm (1984) puis repris par Orwin & Wardle (2004) ; en grande partie parce qu'expérimentalement, il est plus commode de considérer la réponse (résistance) et la récupération (résilience) d'une variable ou d'une fonction à une perturbation. De plus, à l'échelle temporelle de cette étude (3 années) nous n'attendons pas de basculement vers des états stables alternatifs radicalement différents tels qu'une lande arbustive.

Même si notre approche de la stabilité écologique est similaire à celle définie par Pimm (1984) quelques différences sont à relever. Une telle approche ne prend pas en compte la dynamique temporelle naturelle du système d'étude. Ainsi nous n'appréhendons pas la résistance et/ou résilience d'une variable par rapport à un état de pré-perturbation (évaluation diachronique) mais par rapport à une valeur de cette variable mesurée au sein d'un traitement témoin (non perturbé, évaluation synchronique). Cette utilisation simultanée de traitements - témoin et perturbé - permet de prendre les éventuelles variations temporelles de l'état de référence non perturbé, par exemple sous l'effet de la variabilité climatique, et l'expression de la résistance et de la résilience est alors considérée en termes de variations/distances par rapport au témoin. Dans cette configuration, nous définissons la résistance comme le degré de variation d'une variable par rapport à un témoin, à l'immédiate fin d'une perturbation. Compte tenu des contraintes expérimentales, la résilience est considérée non pas comme la vitesse de récupération d'une variable mais comme le degré de variations d'une variable par rapport à un témoin à différents temps d'échantillonnage suivant la fin d'une perturbation (Figure 1.4). Néanmoins, la comparaison des différents temps d'échantillonnage permet d'appréhender de façon grossière la dynamique temporelle de la résilience.

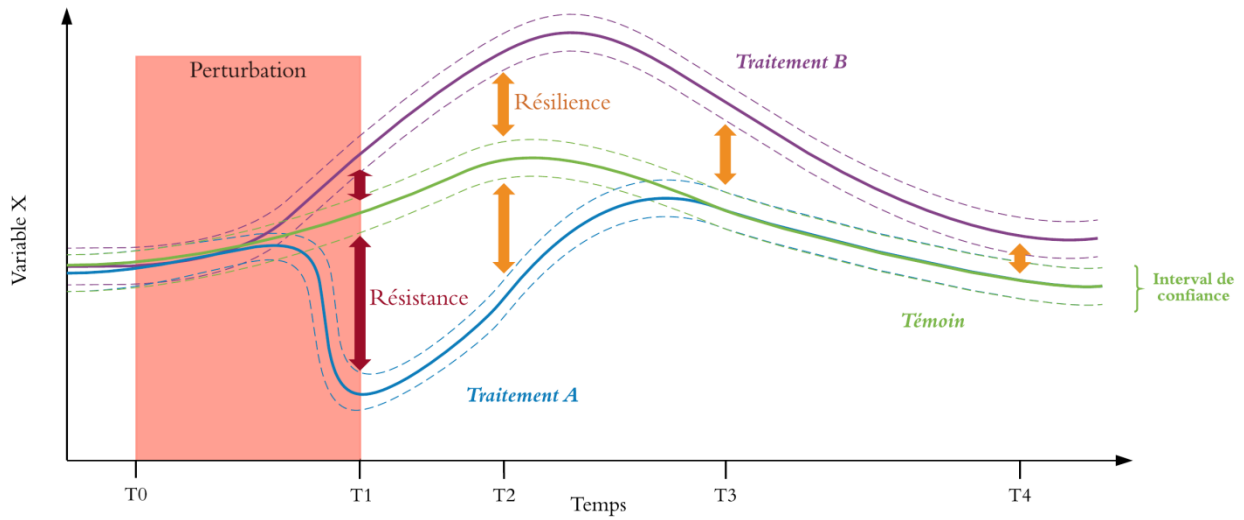


Figure 1.4. Représentation schématisée de notre approche de la stabilité écologique. La courbe verte représente le témoin ; les courbes violette et bleue représentent des possibilités de réponse de la variable X à la perturbation (surface rouge ; par exemple une sécheresse) selon différents traitements (A et B ; par exemple respectivement non fauché/fauché). Les flèches rouges représentent la caractérisation de la résistance, les flèches orange représentent la caractérisation de la résilience à divers temps T_n suivant la fin de la perturbation.

1.3 - UNE APPROCHE FONCTIONNELLE DE LA BIODIVERSITE: CADRE THEORIQUE

L'utilisation croissante d'une approche fonctionnelle de la diversité (une écologie basée sur les traits fonctionnels) au cours des deux dernières décennies, est l'une des manifestations de l'effort pour s'éloigner des modèles phénoménologiques (par exemple apparition/disparition d'espèces) vers une écologie plus mécanistique, quantitative et prédictive. L'objectif est de remplacer la multitude d'espèces par un ensemble plus petit de descripteurs (traits), qui devrait idéalement aider à la découverte de modèles et de règles communes (McGill *et al.* 2006) et qui appréhendent les liens réels entre l'environnement et les espèces (Suding *et al.* 2008).

1.3.1 - TRAITS FONCTIONNELS DES PLANTES

Le concept de traits, qui sous-tend l'écologie fonctionnelle, a été largement utilisé : au cours des vingt dernières années, le nombre de publications faisant état de «traits fonctionnels» a augmenté de façon exponentielle (Cadotte, Carscadden & Mirotchnick 2011). En conséquence, la littérature est remplie de définitions de plus en plus spécialisées de ce qu'est un « trait fonctionnel » (Violle *et al.* 2007). Une distinction est donc faite entre les «traits de performance» définis comme tout trait qui influe directement sur la *fitness* et les «traits fonctionnels» comme tout trait ayant un impact indirect sur la *fitness*. Il s'agit d'un cadre hiérarchique où les «traits fonctionnels» affectent les «traits de performance» de niveau supérieur qui représentent les trois composantes de la *fitness*: croissance, reproduction et survie (Violle *et al.* 2007). On peut également relever une distinction purement technique entre les traits « *soft* » et les traits « *hard* ». Les traits *soft* sont des traits facilement mesurables souvent utilisés comme proxy pour appréhender les traits *hard* habituellement plus informatifs mais plus difficilement mesurables (Hodgson *et al.* 1999; Weiher *et al.* 1999).

Tout au long de cette thèse, l'utilisation de «trait» se réfère à la définition légèrement adaptée de Violle *et al.* (2007) comme «toute caractéristique [biochimique], morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau individuel, de la cellule à l'organisme entier sans référence à l'environnement ou à tout autre niveau d'organisation». Les traits peuvent être quantitatifs (par exemple, la surface foliaire) ou qualitatifs (par exemple, plante à photosynthèse en C3 ou C4) et les valeurs de traits peuvent varier pour les mêmes espèces entre différentes localités en raison de conditions environnementales différentes (en raison de la plasticité phénotypique).

L'utilisation du concept de traits fonctionnels permet de décrire, de quantifier et donc de comparer la manière dont les espèces interagissent avec leur environnement (Lavorel & Garnier 2002). En ce sens on distingue alors les « traits de réponse » et les « traits d'effet ». Les traits de réponse sont les traits fonctionnels qui interviennent dans la réponse des organismes à l'environnement abiotique et biotique, c'est à dire tout trait dont la valeur varie en fonction des changements dans les conditions environnementales (Lavorel *et al.* 1997). Les traits d'effet sont des traits fonctionnels ayant des effets décelables sur leur environnement, c'est-à-dire tout trait qui reflète les effets d'une plante sur les conditions physiques ou chimiques (Lavorel & Garnier 2002).

1.3.2 - TRAITS ET FONCTIONNEMENT DES ECOSYSTÈMES

Le fonctionnement d'un écosystème résulte de facteurs abiotiques et biotiques. Le fonctionnement de l'écosystème concerne à la fois ses propriétés (par exemple: biomasse épigée) et les processus caractéristiques de son état (par exemple: productivité primaire). Afin d'étudier le fonctionnement d'un écosystème dans son ensemble, il faut effectuer un changement d'échelle des traits individuels des espèces vers les propriétés fonctionnelles de la communauté. Deux descripteurs complémentaires sont fréquemment utilisés pour appréhender la structuration fonctionnelle de la communauté: les valeurs moyennes de traits, pondérées par la communauté (CWM pour *Community Weighted Mean trait value*, Lavorel & Garnier 2002; Garnier *et al.* 2004) et la diversité fonctionnelle (FD pour *Functional Diversity*, (Mason *et al.* 2003; Mason & de Bello 2013). Les valeurs de traits CWM sont basées sur la *mass-ratio hypothesis* (Grime 1998), qui propose que chaque espèce contribue au fonctionnement d'un écosystème en proportion de sa biomasse. Chaque espèce a un poids égal à sa biomasse (ou abondance) relative dans la communauté et par conséquent, les valeurs de CWM sont directement liées aux traits des espèces dominantes (Garnier *et al.* 2004). La diversité fonctionnelle (FD) se réfère quant à elle à la distribution globale des valeurs de traits dans une communauté (Lavorel *et al.* 1997; Mason *et al.* 2003) et plus précisément au degré de dissimilarité fonctionnelle des valeurs de traits dans une communauté (Harrington *et al.* 2010). La diversité fonctionnelle, en soulignant la présence d'une variété de valeurs de traits fonctionnels, peut être considérée comme liée à l'effet de complémentarité de niche (*diversity hypothesis* ou *complementarity hypothesis*), c'est-à-dire où les différences écologiques entre les espèces conduisent à une utilisation plus complète des ressources (Tilman 1997; Tilman *et al.* 1997). Selon cette hypothèse, plus la diversité des stratégies fonctionnelles concernant l'utilisation des ressources est grande, plus la distribution de niches le long de cet axe d'utilisation des ressources est grande, et par conséquent, plus les effets sur l'utilisation des ressources et sur les

cycles biogéochimiques sont importants (en comparaison d'une communauté fonctionnellement moins diversifiée, (Díaz & Cabido 2001). Une telle approche fonctionnelle permet ainsi d'appréhender la complexité des systèmes naturels.

1.3.3 - COVARIATION DE TRAITS ET STRATEGIES FONCTIONNELLES

La variabilité des traits le long des multiples dimensions de la spécialisation fonctionnelle peut être utilisée pour quantifier les stratégies primaires des plantes face au stress, aux perturbations et à la disponibilité des ressources (Grime 1977; Westoby *et al.* 2002). Ces stratégies consistent en des ensembles de traits co-variants qui représentent simultanément les adaptations (capacité à s'adapter aux facteurs environnementaux) et les contraintes (compromis physiologiques liés aux contraintes du milieu). Cet investissement sélectif est appelé « compromis » écologique.

Dans les milieux herbacés, l'eau, la lumière et les nutriments sont les principaux facteurs limitants de l'environnement (Grime 2001). Deux grandes stratégies opposées ont été définies concernant l'acquisition de ces ressources (Grime 2001; Westoby *et al.* 2002; Wright *et al.* 2004).

Une première, associée à des milieux riches en nutriments, se caractérise par une croissance rapide, une forte capacité à acquérir les ressources et une faible capacité à conserver les nutriments (Grime 2001). Ces espèces sont dites « exploitatrices » et sont le plus souvent caractérisées par des valeurs élevées de surface spécifique foliaire (SLA pour *Specific Leaf Area*) et de taux photosynthétiques ; une concentration élevée en azote foliaire et racinaire (respectivement LNC pour *Leaf Nitrogen Content* et RNC pour *Root Nitrogen Content*) et une faible teneur en matière sèche foliaire et racinaire (respectivement LDMC pour *Leaf Dry Matter Content* et RDMC pour *Root Dry Matter Content*) (Reich, Walters & Ellsworth 1997; Reich *et al.* 1999; Grime 2001; Lavorel & Garnier 2002; Wright *et al.* 2004; Roumet, Urcelay & Díaz 2006).

Une seconde, associée à des milieux pauvres en nutriments, se caractérise à l'opposé par une croissance lente, une capacité à acquérir les ressources plus faibles et des mécanismes de conservation et recyclage internes des nutriments (Aerts 1996; Grime 2001; Craine *et al.* 2002; Wright *et al.* 2004). Ces espèces sont dites « conservatrices » et sont caractérisées par des valeurs de traits opposées aux espèces exploitatrices. Ces différentes combinaisons de traits représentent des stratégies écologiques alternatives : l'acquisition et le recyclage rapide des ressources par rapport à une plus grande conservation des ressources. Néanmoins, chacune de ces stratégies écologiques n'implique pas une seule et unique adaptation généralisée parmi les plantes mais plutôt

une multitude d'adaptations d'intensités variables formant un continuum entre stratégies conservatrices et exploitatrices (*Leaf and Plant Economics Spectrum*, Wright *et al.* 2004; Freschet *et al.* 2010; Reich 2014).

1.3.4 - TRAITS, FONCTIONNEMENT DES ECOSYSTEMES ET CHANGEMENT GLOBAL

Les changements rapides de l'environnement abiotique, provoqués par le changement global, sont à l'origine de modifications du pool d'espèces local ou régional par le biais de changements de distribution des espèces, de leurs interactions qui déterminent la structure et la composition des communautés (*sensu* abondances relatives). Ainsi les ensembles de traits d'effet et/ou de réponse sont modifiés, altérant *in fine* le fonctionnement des écosystèmes.

En effet, les espèces varient dans leur capacité à persister/résister en réponse aux perturbations environnementales par le biais des traits de réponse (variations inter-spécifiques des traits fonctionnels) (Hofmann & Todgham 2010). Ainsi, les individus ou espèces présentant des traits de réponse leur conférant une sensibilité moindre aux changements environnementaux apporteront une plus grande résistance aux fonctions écosystémiques (Suding *et al.* 2008). Si les traits de réponse et d'effet sont totalement dé-corrélés, les réponses des espèces aux changements environnementaux sont découplées de leurs effets sur la fonction écosystémique, amenant ainsi une plus grande résistance de cette dernière (Larsen, Williams & Kremen 2005; Suding *et al.* 2008). A l'inverse, si des mêmes traits sont à la fois des traits de réponse et d'effet ou si ces différents traits sont indirectement associés, l'ampleur de la sensibilité d'une espèce suite à une perturbation environnementale (*via* les traits de réponse) sera positivement corrélée à l'ampleur des effets de l'espèce sur la fonction écosystémique (*via* les traits d'effet). Par conséquent, dans ce cas de figure, les fonctions écosystémiques seront moins résistantes (Suding *et al.* 2008; Díaz *et al.* 2013). Ceci pourrait être typiquement le cas concernant l'association étroite entre les traits liés à la fois aux réponses aux facteurs abiotiques (tels que la disponibilité en eau et en nutriments), et au fonctionnement biogéochimique de l'écosystème au sein du *Plant Economics Spectrum* (Reich 2014). A contrario, lorsque plusieurs espèces exercent des fonctions écosystémiques similaires (c'est-à-dire que les espèces présentent une certaine redondance dans leur contribution aux processus écosystémiques *via* des traits d'effet partagés), la résistance d'une fonction écosystémique sera plus élevée si ces espèces ont des réponses différentes aux perturbations environnementales (*via* les traits de réponse) (Mouillot *et al.* 2013, 2014)

Ces différents processus régissent la réponse fonctionnelle des espèces aux changements environnementaux et la rapidité/dynamique de cette réponse définira la résilience des fonctions écosystémiques (Oliver *et al.* 2015). Ainsi, l'ampleur de l'impact du changement global sur le fonctionnement des écosystèmes dépendra de la présence au sein des communautés de caractéristiques/traits associés à la résilience écosystémique (Oliver *et al.* 2015).

1.4 - POURQUOI LES PRAIRIES SUBALPINES ?

Dans cette thèse nous avons choisi d'étudier la végétation des prairies subalpines. Ces écosystèmes, fruits de la réunion de facteurs climatiques et humains, se démarquent par une flore particulière et diversifiée qui participe à la beauté des paysages de montagne, notamment en période de floraisons. Pourtant, cette interaction qui fait la richesse et la singularité de ces paysages, les place également en première ligne face aux changements environnementaux actuels.

L'étage subalpin peut être défini comme l'étage de transition entre les forêts denses et les prairies permanentes alpines (Körner 2003); les limites hautes de l'étage subalpin correspondent à la limite supérieure théorique de répartition des arbres et arbustes. L'absence de forêt à cette altitude correspond donc à une modification anthropique du milieu. L'étage subalpin anthropisé est donc caractérisé par une mosaïque de prairies (prairies semi-naturelles), landes arbustives (landes à rhododendrons, à genévriers et à myrtilles) et d'îlots de conifères (Pin cembro, à crochets et Mélèze dans les Alpes internes françaises). Les limites des étages de végétation varient selon les massifs, l'exposition et les chaînes montagneuses. Dans les Alpes françaises du nord, cette limite varie en moyenne entre 1500- 1700 m et 2200-2400 m selon l'exposition des versants (Adret vs Ubac, Fig 1.2). Les milieux subalpins, dans une moindre mesure que les habitats des étages supérieurs (alpin et nival), sont associés à des caractéristiques climatiques particulières du fait de leur altitude (*cf* paragraphe 1.1.1) : réduction de la saison de végétation, durée d'enneigement, augmentation de la luminosité et de la fraction d'UV, forte amplitude saisonnière et journalière des températures.

Les prairies de l'étage subalpin se développent en conditions mésophiles ou mésohygrophiles sur des sols plus ou moins profonds, calcicoles ou acidoclines. Ce sont des formations végétales herbacées dominées par des espèces hémicryptophytes et géophytes, notamment par les *poacées*, et la présence de dicotylédones donne un aspect fleuri au fond floristique. Les espèces subalpines sont souvent des espèces plutôt tolérantes au stress, adaptées aux contraintes du climat en altitude. Les milieux subalpins sont des écosystèmes oligotrophes ; les sols peuvent être riches en matières organiques mais sont pauvres en nutriments en raison des températures froides qui limitent les processus biologiques (par exemple, Robson *et al.* (2007) ont relevé un taux de carbone organique de ~11.5% et une teneur en azote total de ~8.5mg.g⁻¹ de sol, pour un ratio C:N de ~11.6 dans les prairies jamais labourées de la région du Col du Lautaret). En effet, la disponibilité en azote dépend des processus biologiques (fixation et minéralisation) ou abiotiques (dépôts atmosphériques). Par conséquent, l'azote est souvent le nutriment limitant la production de biomasse végétale dans ces milieux (Körner 2003). Parallèlement, l'accumulation de matières organiques d'origine végétale dans des sols relativement froids peut être à l'origine d'un processus d'acidification prononcé

(Körner 2003), et il est courant d'observer des sols au pH assez faible (par exemple, Robson *et al.* (2007) ont mesuré un pH de 5.6 à 6.3 dans les prairies jamais labourées de la région du Col du Lautaret).

Les prairies semi-naturelles subalpines sont des *hotspots* de biodiversité et fournissent de nombreux services écosystémiques (par exemple : contrôle de l'érosion, pâturages pour le bétail, production de fourrages de haute qualité, activités de récréation et de tourisme, valeur esthétique...) qui soutiennent les économies locales (Lamarque *et al.* 2011). Cependant, le maintien de la diversité floristique et de la fourniture de ces services est dépendant du maintien des pratiques culturelles et notamment de fauches régulières accompagnées ou non d'un pâturage, d'une exploitation du regain et d'une fertilisation limitée. Par conséquent, les changements de gestion des terres observés dans les régions de montagne, et notamment un abandon progressif des pratiques agricoles traditionnelles (*cf* paragraphe 1.1.2), associés aux changements climatiques en cours particulièrement prononcés à ces altitudes (*cf* paragraphe 1.1.1), font des prairies semi-naturelles subalpines des écosystèmes particulièrement sensibles aux changements environnementaux actuels.

Malgré cette sensibilité potentielle, relativement peu d'études ont porté sur ces écosystèmes particuliers en contexte de changement climatique et de changement de gestion agricole ; et un nombre encore plus réduit a étudié ces deux facteurs simultanément.

1.4.1 - EFFETS POTENTIELS DES CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX SUR LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DES PRAIRIES SUBALPINES

1.4.1.1 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET STRUCTURE DES COMMUNAUTES

1.4.1.1.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Le changement climatique, en cours et à venir, affecte négativement les communautés végétales de montagne (par exemple Grabherr, Gottfried & Pauli 1994; Erschbamer *et al.* 2009; Gottfried *et al.* 2012) et ces effets sur la végétation alpine seront particulièrement prononcés à des altitudes élevées, altitudes où les facteurs abiotiques tels que le climat prédominent sur les facteurs biotiques (Theurillat & Guisan 2001). Plusieurs études ont montré que les facteurs les plus importants pour le développement des plantes dans les régions alpines sont la température, la date de fonte des neiges et la photopériode (par exemple, Price & Waser 1998; Keller & Körner 2003; Wipf & Rixen 2010).

La profondeur et la durée de la couverture neigeuse déterminent le début de la saison de végétation dans les régions alpines. Ainsi, le développement de nombreuses espèces dans les régions alpines dépend fortement de la date de fonte des neiges (Galen & Stanton 1995; Inouye, Morales & Dodge 2002; Inouye 2008; Wipf 2010). Un raccourcissement de la durée de la couverture neigeuse favorise le développement des plantes (Price & Waser 1998; Theurillat & Guisan 2001; Dunne, Harte & Taylor 2003; Wipf, Stoeckli & Bebi 2009; Wipf 2010). Une fonte de neige avancée pourrait potentiellement accroître la fitness des plantes en prolongeant la période de croissance et donc l'allocation des ressources (Galen & Stanton 1993; Theurillat & Guisan 2001; Stinson 2004). Cependant, une initiation plus précoce de la floraison augmente également le risque de dommages causés par des phénomènes de gelées tardives au printemps, et ne conduit pas nécessairement à une floraison avancée (Inouye 2008), le froid réduisant drastiquement la croissance et la *fitness* des plantes à courte période (Wipf & Rixen 2010). En effet, des températures nocturnes négatives peuvent induire des dommages aux tissus et cellules foliaires, coûteux pour les plantes (Wipf, Rixen & Mulder 2006; Wipf *et al.* 2009; Inouye 2008; Baptist *et al.* 2009) ; par exemple une baisse de la surface fonctionnelle foliaire due à des nécroses menant à une baisse de l'assimilation du carbone (Loik *et al.* 2004). A l'opposé, une plante physiologiquement et photo-synthétiquement active, *via* une augmentation du taux de photosynthétats disponibles pour la cryo-protection, pourrait être favorisée par une augmentation de la saison de végétation, en limitant les dommages induits par le

gel (Loik *et al.* 2004). Une exposition à des périodes de gel peut également stimuler le turnover des racines : le gel, en endommageant les racines fines, va stimuler leurs remplacements et stimuler la reprise de la croissance au printemps (Tierney *et al.* 2001).

Cet avancement de la date de fonte du manteau neigeux au printemps (Beniston *et al.* 2003; Keller, Goyette & Beniston 2005; Steger *et al.* 2013) pourrait également augmenter le risque de stress hydrique pendant les périodes estivales (Inouye 2000; Wipf *et al.* 2006; Edwards, Scalenghe & Freppaz 2007; Wipf & Rixen 2010). En effet, l'eau de fonte du manteau neigeux influence la teneur en eau du sol et donc les ressources hydriques disponibles pour la végétation jusque tard dans l'été (Chimner & Welker 2005; Welker *et al.* 2005; Choler 2005; Jonas *et al.* 2008; Chimner *et al.* 2010; Wipf & Rixen 2010). De plus, dans un futur proche, la sécheresse pourrait jouer un rôle important dans le développement des plantes de montagne en raison d'une probabilité croissante d'occurrence d'événements météorologiques extrêmes (Schär *et al.* 2004; Calanca 2007; Gobiet *et al.* 2014)

Les précipitations sont un facteur clé de la productivité des prairies ; par conséquent, les prairies montrent souvent des réponses fonctionnelles rapides et marquées à des changements de régimes de précipitations (Dukes *et al.* 2005; Grime *et al.* 2008). Afin de survivre aux sécheresses sévères, la plupart des espèces herbacées vivaces expriment une combinaison de différentes réponses (Volaire, Norton & Lelièvre 2009). Par exemple, la sénescence foliaire a été décrite comme un mécanisme qui diminue la surface foliaire transpirante pour minimiser la perte d'eau dans les méristèmes pendant la pénurie d'eau (Ludlow 1989; Gepstein 2004). Cette sénescence est précédée et/ou associée à une diminution de la conductance stomatique (afin de contrôler la transpiration) qui contribue à une réduction des taux photosynthétiques (Llorens *et al.* 2004; De Boeck *et al.* 2008). De plus, le maintien de l'absorption de l'eau du sol est un autre mécanisme important pour retarder la déshydratation foliaire ; il est principalement associé à la capacité des plantes à étendre leur système racinaire (à la fois en biomasse et en profondeur, Volaire & Lelièvre 2001). La plupart des études concernant les effets de la sécheresse sur les prairies indiquent une augmentation de la productivité hypogée associée à une diminution de la productivité épigée ; ceci entraîne une augmentation du ratio hypogé/épigé, traduisant une augmentation de la répartition des ressources pour la croissance racinaire. Cependant, un grand nombre d'études sur les effets de la sécheresse dans les prairies se focalise sur une diminution de l'approvisionnement en eau sur de longues périodes, et non sur un retrait complet de l'apport en eau sur des périodes définies (Kreyling *et al.* 2008a). Dans ce cas de figure, Gilgen & Buchmann (2009) observent que les courtes périodes de sécheresse ont tendance à ne pas avoir d'effet sur la biomasse racinaire, alors que les événements plus longs diminuent généralement la biomasse hypogée (Kreyling *et al.* 2008c).

Les précipitations, la teneur en eau du sol associée, et la dynamique de fonte du manteau neigeux sont donc des facteurs clés pour la phénologie des espèces végétales et l'ampleur de la productivité primaire des écosystèmes. Ainsi, la sensibilité au changement climatique des espèces végétales peut modifier la compétition interspécifique au sein des communautés, entraînant une réaction en chaîne jusqu'au niveau des écosystèmes (Jentsch *et al.* 2011). En effet, les réponses sont très spécifiques et différentes selon les groupes fonctionnels (Wipf *et al.* 2006; Wipf & Rixen 2010). Par exemple, la tolérance à la sécheresse a été associée à une faible surface foliaire spécifique (SLA, *Specific Leaf Area*) et une plus forte teneur en matière sèche foliaire (LDMC, *Leaf Dry Matter Content*) (Volaire 2008; Poorter *et al.* 2009), réduisant les pertes d'eau par évapotranspiration ; ce sont des caractéristiques communes des espèces conservatrices. De même, l'un des principaux mécanismes d'atténuation des effets d'un épisode de sécheresse chez les espèces exploitatrices est le renforcement de l'allocation des ressources vers le système racinaire, entraînant une extension de la longueur et de la profondeur des racines, pour maximiser l'absorption d'eau (Pérez-Ramos *et al.* 2013).

Le changement climatique pourrait donc altérer la croissance des plantes à court terme, et à plus ou moins long terme, impacter en ce sens les interactions interspécifiques et *in fine* la composition des communautés végétales. En effet, des événements tels que les sécheresses sont initialement susceptibles d'induire des réponses fonctionnelles à l'échelle des communautés à court terme *via* une variabilité intraspécifique, grâce à l'ajustement plastique individuel des plantes natives (Helmuth, Kingsolver & Carrington 2004; Jung *et al.* 2014); alors que les changements progressifs sont susceptibles d'avoir des répercussions sur les communautés végétales à long terme, principalement *via* un remplacement d'espèces (Theurillat & Guisan 2001; Helmuth *et al.* 2004; Jump & Peñuelas 2005).

Les quelques études visant à analyser la réponse des prairies de l'étage subalpin aux changements environnementaux locaux ont conduit à des conclusions contrastées en fonction des méthodes et des modèles étudiés. Dans les Alpes, Vittoz *et al.* (2009) et Benot *et al.* (2014) ont observé des effets limités sur la structure et le fonctionnement des communautés végétales (stabilité de la composition et de l'abondance des espèces), avec des changements principalement liés aux pratiques de gestion plutôt qu'aux changements de précipitations (respectivement une étude de la végétation entre 37 et 53 ans, liée à l'évolution des tendances du climat et d'utilisation des terres, et une expérience factorielle combinant des traitements de réchauffement, de sécheresse et de l'utilisation des terres pendant deux ans). De façon similaire, Price & Waser (2000) n'ont pas observé d'effet sur les communautés des pelouses subalpines des Rocheuses, au sein d'une expérimentation de réchauffement de quatre ans impactant à la fois la période de couvert neigeux et la croissance

estivale, mais ils ont toutefois souligné l'effet critique possible d'un changement de régime de précipitations. Néanmoins, sur le même système d'étude, Price & Waser (1998) et Dunne *et al.* (2003) ont observé un avancement de la date de floraison ainsi qu'un allongement de sa durée chez des poacées et des espèces herbacées non graminoides (herbacées dicotylédones/*forbs*), en réponse à un avancement de la date de fonte du manteau neigeux, allant de moins 7 à moins 16 jours. A l'inverse, dans les Pyrénées, Sebastià (2004, 2007) et Sebastià, Kirwan & Connolly (2008) ont observé des modifications profondes de la structure et du fonctionnement des communautés végétales, consécutives à une expérimentation de transplantation de communautés subalpines à des altitudes de plaine (conduisant à des changements importants des conditions microclimatique: température et d'humidité) avec ou sans addition d'azote et de phosphore.

1.4.1.1.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES

Le sujet de cette thèse étant les effets des modifications du climat au sein des prairies subalpines et comment ces effets interagissent avec les pratiques de gestion agropastoral, l'appréhension des effets des changements d'utilisation des terres *per se* s'appuie sur un précédent travail de thèse dédié à cette question (Quétier 2006 : *Vulnérabilité des écosystèmes semi-naturels européens aux changements d'utilisation des terres - Application aux prairies subalpines de Villar d'Arène, France*, et publications associées : Quétier *et al.* 2007a; b) dont les principaux éléments seront repris ci-dessous.

En Europe, de nombreuses espèces dépendent de paysages agricoles semi-naturels créés et entretenus par une utilisation des terres sur le long terme et d'intensité modérée. Parmi ces écosystèmes semi-naturels, on retrouve les prairies pauvres en éléments nutritifs des zones montagnardes et subalpines entretenues par une fauche ou un pâturage de faible intensité. Dans les prairies subalpines semi-naturelles, la disponibilité des éléments nutritifs et les régimes de perturbations sont les deux facteurs qui influent majoritairement sur la dynamique de la végétation, et qui sont tous deux principalement déterminés par les pratiques de gestion agricole. En effet, différentes pratiques de gestion (fertilisation, fauche, pâturage, irrigation...) permettent de multiples combinaisons de ressources disponibles (nutriments, eau) et de multiples combinaisons de régimes de perturbations (intensité, fréquence et date de prélèvement de la biomasse), ce qui affecte la persistance des espèces en tant qu'individus et/ou populations (Pausas, Lavorel & Lepš 2003). En conséquence, des changements dans l'intensité de la gestion des prairies modifient la composition des communautés herbacées, avec des impacts *in fine* les fonctions écosystémiques.

Dans les Alpes européennes, deux tendances principales de changements d'usages des prairies ont été observées au cours des dernières décennies : une tendance d'intensification à faible altitude, plus

productives et plus facilement accessibles, et une tendance d'abandon ou de reconversion en pâturages pour les sites peu accessibles ou plus pentus situés plus en altitude (*cf* paragraphe 1.1.2 et références associées).

Une fertilisation régulière augmente la production de biomasse de l'écosystème (productivité primaire nette supérieure) et accélère le recyclage des éléments nutritifs, *via* une compétition accrue pour la lumière et la sélection d'espèces de plus haute stature, avec une plus grande concentration en azote foliaire (Quétier *et al.* 2007b). Les espèces inféodées à des milieux pauvres sont exclues, soit parce qu'elles ne peuvent pas faire face à l'excédent de nutriments, soit surtout par l'expansion d'espèces plus compétitrices (Quétier *et al.* 2007b).

L'arrêt de la fertilisation par fumure entraîne un changement de dominance des espèces exploitatrices vers des espèces conservatrices (Quétier *et al.* 2007b). La conversion de la fauche en pâturage extensif conduit également à une dominance d'espèces conservatrices (Quétier *et al.* 2007b). Des plantes non appétentes pour le bétail, avec des feuilles dures ou une forte teneur en matière sèche (LDMC), sont favorisées, conduisant à une accumulation élevée de biomasse sénescence et de litière, menant ainsi à des cycles biogéochimiques plus lents (par exemple, Robson *et al.* (2007) concernant l'azote). Simultanément, l'abandon de la fauche dans les prairies diminue fortement l'avantage concurrentiel des espèces exploitatrices (Louault *et al.* 2005). En conséquence, on observe habituellement des changements dans la composition des prairies subalpines lorsque la fertilisation et la fauche cessent : transition de communautés co-dominées par des graminées exploitatrices et des herbacées dicotylédones vers des communautés dominées par des *poacées* en touradons voire des arbustes (Quétier *et al.* 2007b).

Ces observations suggèrent que les traits reflétant l'utilisation des ressources et les traits liés à la stature des plantes prédisent les réponses des espèces et des communautés au changement de gestion des prairies (Garnier & Navas 2013). Les traits fonctionnels des plantes servent à lier la réponse des prairies aux changements de gestion et leur répercussion sur les propriétés des écosystèmes, à la fois sur le court terme avec des alternatives de gestion actuelle (fertilisation, fauche, pâturage) mais aussi sur le long terme avec des dynamiques de végétation déterminées par l'utilisation passée des terres (Quétier *et al.* 2007b). En effet, leur long historique de gestion indique que l'utilisation passée des terres est une composante essentielle pour la compréhension de leur dynamique actuelle (Tasser & Tappeiner 2002). Les réponses des communautés et fonctionnement des écosystèmes aux pratiques actuelles de gestion doivent donc être placées dans leur contexte historique (Foster *et al.* 2003; Quétier *et al.* 2007b).

1.4.1.2 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET SUCRES

HYDROSOLUBLES

Le stockage de sucres hydrosolubles (WSC pour *Water Soluble Carbohydrates*) par les plantes est un mécanisme potentiellement important dans le contexte de cette étude. En effet ce trait fonctionnel physiologique (traits *hard*) est à la fois associé aux mécanismes de tolérances au stress des espèces végétales (Valluru & den Ende 2008; Livingston *et al.* 2009), et aux mécanismes de réponses des plantes à la fauche (Klimeš & Klimešová 2002; Baptist *et al.* 2013).

Les fructanes sont la réserve principale de sucres hydrosolubles des graminées au sein des écosystèmes tempérés (Hendry 1987; Hendry & Wallace 1993) ; ils se trouvent principalement dans les organes de stockage hypogés, comme les bases des talles et les racines (White 1973). Les fructanes des plantes présentent une diversité de structures et de poids moléculaires: ce sont des oligo- et polysaccharides ayant pour base le fructose. Les fructanes sont dérivés du saccharose sous l'action des fructosyltransférases et peuvent être linéaires ou ramifiés avec divers degrés de polymérisation (DP) selon l'espèce, le stade de développement et les conditions environnementales (Annexe II, Chapitre V). Les fructanes agissent principalement comme des réserves de glucides à court terme, réserves qui peuvent être mobilisées pendant des périodes d'approvisionnement énergétique limité ou de demandes énergétiques accrues (Garcia *et al.* 2011). Cependant, l'accumulation saisonnière de fructanes avant le début de la période hivernale par les graminées pérennes peut également être considérée comme des réserves de glucides à plus long terme. En effet, ce stockage de carbone est nécessaire pour la survie des plantes pendant l'hiver, en permettant de maintenir la respiration ainsi que l'initiation de la croissance au printemps (Yoshida *et al.* 1998; Janeček *et al.* 2011).

1.4.1.2.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Les phénomènes climatiques extrêmes (comme la sécheresse et les évènements de gel-dégel causés par une fonte précoce du manteau neigeux) tendent à induire des réactions rapides des plantes, notamment *via* des ajustements physiologiques (Chaves, Maroco & Pereira 2003; Orsenigo *et al.* 2014). Un important re-ajustement métabolique en réponse aux stress abiotiques chez les *poacées* est une modification de la composition et des concentrations en sucres hydrosolubles (Krasensky & Jonak 2012). L'implication des fructanes dans la tolérance à la sécheresse et au gel a été fortement suggérée (voir les *reviews* de Wiemken, Sprenger & Boller 1995; Valluru & den Ende 2008; Livingston, Hinch & Heyer 2009). En effet, sous une contrainte abiotique, les fructanes sont soit accumulés, soit réduits, soit modifiés *via* une modification du degré de polymérisation. Les

fructanes améliorent la tolérance au stress *via* une combinaison de plusieurs mécanismes : lors d'un stress abiotique, ils agissent comme des composés protecteurs en stabilisant les membranes cellulaires (Hinch *et al.* 2000, 2002, Vereyken *et al.* 2001, 2003), et en ajustant l'osmose cellulaire pendant le gel et la déshydratation (Spollen & Nelson 1994; Pilon-Smits *et al.* 1995; Hoekstra, Golovina & Buitink 2001). Les fructanes jouent également un rôle antioxydant pour la prévention des dommages cellulaires lors de stress (den Ende 2013; Peshev *et al.* 2013). Par ailleurs, la signification fonctionnelle du compromis entre les fructanes fortement et faiblement polymérisés sur la tolérance au stress demeure incertaine. Selon les études et les espèces, les fructanes à haut ou à faible degré de polymérisation sont alternativement corrélés à la tolérance au stress, et ce indépendamment de la nature du stress abiotique: tolérance à la sécheresse ou au gel (voir les *reviews* de Valluru & den Ende 2008; Livingston *et al.* 2009).

1.4.1.2.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES

Après une ablation des tissus aériens, par exemple consécutifs à une fauche, une diminution des réserves de WSC dans les organes de stockage a été démontrée en raison de leur remobilisation pour soutenir une croissance compensatoire (c'est-à-dire la restauration de feuilles photosynthétiquement actives; Morvan-Bertrand, Boucaud & Prud'homme 1999; Bartoš, Janeček & Klimešová 2011; Janeček *et al.* 2011; Janeček & Klimešová 2014). Outre cette réponse immédiate à la défoliation, Bartoš *et al.* (2011) ont démontré qu'au cours d'une même saison de végétation, les *poacées* dominantes au sein des prairies stockaient moins de réserves lorsqu'elles avaient subi un évènement de fauche que lorsqu'elles étaient demeurées intactes. Cela indique que la réponse à long terme des réserves de WSC (face à une fauche) comprend non seulement un épuisement, mais aussi une certaine variabilité dans la reconstitution de leur stock au sein des organes de stockage. Les pratiques de fertilisation peuvent également moduler l'effet de la fauche sur la dynamique saisonnière des sucres hydrosolubles. En effet, la disponibilité en azote du sol détermine l'accumulation de WSC ainsi que l'ampleur de la reconstitution de leur stock. Par exemple, Gonzalez *et al.* (1989) ont constaté que, suite à un évènement de fauche, une teneur élevée en azote dans le sol permet le remplissage rapide des stocks de tous les WSC dans la base des talles (glucose, fructose, saccharose et fructanes) après une mobilisation antérieure de ces WSC pour une croissance compensatoire. Au sein d'un milieu limité en azote, le taux de remplissage des stocks de WSC est trois fois plus faible, traduisant ainsi un épuisement des réserves des sucres hydrosolubles consécutive à un épisode de fauche, seulement dans les environnements où la disponibilité en azote est limitée (Gonzalez *et al.* 1989).

Sur le plus long terme, les régimes de gestion des prairies en zones de montagne (fauche accompagnée ou non de fertilisation vs pâturage extensif ou abandon) aboutissent à des communautés végétales contrastées, réparties le long d'un axe de stratégie d'utilisation des ressources. A chaque extrémité de cet axe, on retrouve des communautés dominées par des espèces exploitatrices (associées à un cycle rapide des nutriments et donc une forte disponibilité en azote) et des communautés dominées par des espèces conservatrices (associées à un cycle lent des nutriments et donc une faible disponibilité en azote) (Quétier *et al.* 2007b; Lavorel *et al.* 2011). En conséquence, la composition fonctionnelle (résultant des options de gestion) de ces prairies subalpines pourrait contrôler la disponibilité en azote du sol et donc interagir avec la dynamique de stockage des WSC des espèces herbacées.

1.4.1.3 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET DÉCOMPOSITION

La décomposition de la matière organique est un processus clé contribuant aux cycles biogéochimiques des écosystèmes terrestres (Aerts 1997; Chapin, Matson & Vitousek 2011). En effet, environ 90% de la production mondiale de biomasse végétale terrestre se retrouve dans le pool de litière organique (Cebrian 1999) ; la décomposition régule alors la libération de carbone et de nutriments dans les sols (Berg & Laskowski 2006), ainsi que la libération vers l'atmosphère du carbone photosynthétiquement fixé *via* la respiration (Gholz *et al.* 2000; Scherer-Lorenzen 2008). Les résidus végétaux sont fragmentés, partiellement incorporés dans la matière organique du sol, puis décomposés ou stabilisés principalement du fait des activités microbiennes (Van Der Heijden, Bardgett & Van Straalen 2008; Garcia-Pausas *et al.* 2012). La décomposition de la litière végétale est principalement contrôlée par trois facteurs: (1) les conditions microclimatiques (température, humidité et rayonnement UV); (2) la qualité de la litière (ses caractéristiques chimiques et physiques) et (3) l'abondance et la diversité fonctionnelle des communautés de décomposeurs (Swift, Heal & Anderson 1979; Coûteaux, Bottner & Berg 1995; Aerts 1997; Gholz *et al.* 2000; Hättenschwiler, Tiunov & Scheu 2005; Austin & Vivanco 2006; Gessner *et al.* 2010).

Par conséquent, la décomposition de la litière issue des prairies subalpines et habituellement pauvre en éléments nutritifs représente un processus écologique majeur qui contrôle la disponibilité des nutriments et affecte la structure microbienne du sol, la composition des communautés végétales ainsi que leur capacité à stocker le carbone sur le long terme (Cornelissen *et al.* 2007; Quétier *et al.* 2007b; Robson *et al.* 2010).

1.4.1.3.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Le changement climatique est susceptible d'altérer les processus de décomposition selon deux mécanismes distincts : (1) *via* des changements d'humidité ou de température du sol affectant directement l'activité et la composition des communautés des sols ; (2) *via* des changements biochimiques de la litière à l'échelle des individus, et/ou *via* des changements dans la composition spécifique du pool végétal (Hobbie 1996; Aerts 1997, 2006; Cornelissen *et al.* 2007; Parton *et al.* 2007; Baptist, Yoccoz & Choler 2010).

Dans les écosystèmes de montagne, la majeure partie des pertes de masse de la litière, associée au cycle du carbone et de l'azote, se produit durant la période hivernale (Gessner *et al.* 2010; Baptist *et al.* 2010; Saccone *et al.* 2013). Cette décomposition hivernale est permise par les propriétés isolantes du manteau neigeux qui maintiennent les températures proches de zéro à l'interface sol/neige (Zhang 2005; Clement *et al.* 2011; Saccone *et al.* 2013), et par le rôle actif des micro-organismes dans la dégradation des litières sous le manteau neigeux (Baptist *et al.* 2010; Saccone *et al.* 2013). Une réduction de l'épaisseur de neige résultant du changement climatique pourrait conduire à une perte des propriétés isolantes du manteau neigeux et ainsi conduire à des températures plus froides du sol avec notamment une augmentation de l'occurrence des événements de gel-dégel (Bokhorst *et al.* 2010; Kreyling, Beierkuhnlein & Jentsch 2010), et ce en particulier en début de printemps, en raison d'un avancement de la date de fonte du manteau neigeux, conséquence d'une élévation des températures. Ces changements rapides de température sont susceptibles d'avoir des répercussions sur les organismes du sol et, par conséquent, sur les processus associés (Schimel, Balser & Wallenstein 2007; Bokhorst *et al.* 2012; Jusselme *et al.* 2016), y compris la décomposition des litières végétales (Baptist *et al.* 2010; Saccone *et al.* 2013). Par exemple, Jefferies *et al.* (2010) ont montré qu'un seul cycle de gel-dégel pouvait fortement diminuer la biomasse microbienne du sol et par conséquent réduire la décomposition de la litière, facilitée auparavant par une immobilisation microbienne de l'azote inorganique (Hefting *et al.* 2005) ; de plus, le phénomène de la fonte des neiges a des effets durables sur l'humidité du sol jusqu'en été (Edwards *et al.* 2007). Une épaisseur de neige moindre, résultant du changement climatique, pourrait également influencer la décomposition des litières *via* une réduction du taux d'humidité des sols.

En effet, la sécheresse impacte négativement la décomposition *via* la réduction de la respiration hétérotrophe du sol, elle-même induite par une diminution de la disponibilité en eau, et donc impliquant une activité microbiologique moindre (Gessner *et al.* 2010; Bloor & Bardgett 2012; Sanaullah *et al.* 2012; Walter *et al.* 2013). Outre les paramètres environnementaux, la sécheresse peut également influencer la qualité de la litière végétale, en particulier la concentration en azote, le

ratio C:N et les concentrations de polyphénols contrôlant sa décomposition (Aerts 1997; Gartner & Cardon 2004; Zhang *et al.* 2008; Cornwell *et al.* 2008). De manière générale, la sécheresse induit une qualité de litière plus faible avec un ratio C:N plus élevé, conséquence d'une diminution de la fertilité des sols et de la productivité foliaire ; cette litière se décompose plus lentement que les litières à faible ratio C:N (Aerts 1997; Parton *et al.* 2007). De ce fait, une différence de composition biochimique azotée et carbonée des litières impacte les abondances et les activités des décomposeurs, entraînant ainsi des taux de décomposition différents (Melillo, Aber & Muratore 1982; Taylor, Parkinson & Parsons 1989).

1.4.1.3.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES

Les pratiques agricoles telles que la fauche et la fertilisation peuvent altérer de façon significative la décomposition en induisant des changements à la fois dans la qualité des litières et des sols. En règle générale, l'augmentation de la disponibilité en azote du sol augmente la concentration en azote des tissus végétaux, ce qui améliore la qualité de la litière et accélère par la suite sa décomposition (Manning *et al.* 2008). Cependant, une augmentation de la fertilité du sol ne conduit pas nécessairement à un changement de qualité des litières, et n'est donc pas toujours associée à une accélération du processus de décomposition (Hobbie 2008). Par exemple, dans certaines études, l'ajout d'azote inhibe la décomposition ou agit sur des intervalles de temps différents (Hobbie 2008; Tu *et al.* 2014). La fauche induit également des changements dans la qualité des litières, résultant d'une diminution du ratio de biomasse épigée:hypogée et/ou d'une concentration en azote plus élevée dans les feuilles de regain (Walter *et al.* 2012), ce qui modifie par conséquent la dynamique de décomposition.

Sur le plus long terme, les régimes de gestion des prairies en zones de montagne (fauche accompagnée ou non de fertilisation vs pâturage extensif ou abandon) aboutissent à des communautés végétales contrastées, réparties le long d'un axe de stratégie d'utilisation des ressources. A chaque extrémité de cet axe, on retrouve des communautés dominées par des espèces conservatrices (feuille à fort ratio C:N et durée de vie longue) et des communautés dominées par des espèces exploitatrices (feuille à C:N et croissance rapide) (Quétier *et al.* 2007b; Lavorel *et al.* 2011). Les espèces caractérisées par une stratégie d'acquisition des ressources (exploitatrices) produisent des litières de meilleure qualité, favorisant ainsi les activités des organismes du sol et par conséquent une décomposition plus rapide ; alors que les espèces caractérisées par une stratégie de conservation des ressources (conservatrices) produisent des litières plus pauvres en azote et plus

récalcitrantes, se décomposant plus lentement (Cornelissen 1996; Wardle *et al.* 1998, 2004; Cornwell *et al.* 2008).

Les effets du changement climatique sur la production et la décomposition des litières peuvent également interagir avec les pratiques de gestion. Par exemple, les effets d'une fertilisation azotée sont dépendants de l'humidité du sol. Sous un régime de sécheresse, la mobilité et l'accessibilité à l'azote sont limitées par la faible teneur en eau du sol (Gessner *et al.* 2010; Bloor & Bardgett 2012; Sanaullah *et al.* 2012; Walter *et al.* 2012), et l'ajout d'azote peut ainsi avoir peu d'effets sur la biochimie des litières ainsi que sur les taux de décomposition. De plus, la fauche et l'exportation de la biomasse coupée induisent également des modifications transitoires des conditions abiotiques telles que l'humidité du sol (Gross *et al.* 2008), ce qui pourrait interférer avec les effets du changement climatique. Cependant, en dépit de leur rôle potentiellement important dans la régulation du cycle des éléments nutritifs et des fonctions écosystémiques associées, l'influence combinée des changements climatiques et d'utilisation des terres sur la décomposition de la litière reste largement sous-étudiée (e.g. Walter *et al.* 2013; Schuster 2016).

1.4.1.4 - CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX ET CYCLE DE L'AZOTE

Les changements climatiques en cours sont susceptibles d'affecter les processus souterrains, soit directement *via* une altération à la fois des activités et des communautés microbiennes, soit indirectement *via* une modification de la teneur en nutriments et en matières organiques des sols ; ces modifications sont elles-mêmes consécutives à un changement du couvert végétal (à la fois la productivité et la diversité, Bardgett, Freeman & Ostle 2008). Ces modifications des processus souterrains peuvent entraîner des réactions en chaîne impactant le fonctionnement des écosystèmes et les services écosystémiques qu'ils fournissent, tels que la production de fourrage et le cycle des nutriments dans les sols (de Vries *et al.* 2012; Alster *et al.* 2013). Il est probable que les augmentations dans la fréquence des phénomènes météorologiques extrêmes liés au changement climatique, comme la sécheresse et le gel, auront des effets plus importants sur les micro-organismes et leurs activités que les changements globaux de patrons de température et de précipitations (Bardgett *et al.* 2008).

1.4.1.4.1 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

Une diminution de l'épaisseur de neige résultant du changement climatique pourrait conduire à une perte des propriétés isolantes du manteau neigeux et ainsi conduire à des températures plus froides du sol, avec notamment une augmentation de l'occurrence des évènements de gel-dégel (Bokhorst *et al.* 2010; Kreyling *et al.* 2010); et ce en particulier en début de printemps, en raison d'un avancement de la date de fonte du manteau neigeux, conséquence d'une élévation des températures. Ces changements rapides de température sont susceptibles d'avoir des répercussions sur les composantes abiotiques et les micro-organismes du sol et, par conséquent, sur les processus associés (Schimel *et al.* 2007; Bokhorst *et al.* 2012; Jusselme *et al.* 2016).

Une libération accrue de carbone et d'azote est généralement associée aux cycles de gel-dégel, du fait de l'altération physique des agrégats du sol et du matériel humique (Christensen & Christensen 1991; Grogan *et al.* 2004). Une partie de ces *flushes* de C et N proviennent de la lyse cellulaire des microorganismes ne survivant pas au gel (Schimel & Clein 1996; Schimel *et al.* 2007). Par exemple, Jefferies *et al.* (2010) ont montré qu'un seul cycle de gel-dégel pouvait fortement diminuer la biomasse microbienne du sol. Cependant, ce phénomène apparaît comme contexte dépendant. En effet, Lipson, Schadt & Schmidt (2002) et Grogan *et al.* (2004) n'observent aucun effet d'épisode de gel sur la biomasse microbienne au sein de sols alpins et arctiques. Cette libération importante d'azote labile, associée à une forte mortalité microbienne, augmente la susceptibilité d'évènements de lixiviation des éléments nutritifs (Matzner & Borken 2008). Néanmoins, ces effets des cycles de gel-dégel sur les processus microbiens apparaissent comme transitoires. En effet, la libération de carbone organique labile et de nutriments lors de la lyse cellulaire est utilisée comme substrat par les microorganismes survivants lors du dégel. De ce fait, une récupération rapide des processus microbiens est généralement observée, on parle de *microbial loop*, avec parfois un phénomène de surcompensation (Sharma *et al.* 2006; Schimel *et al.* 2007; Kreyling *et al.* 2008b; Matzner & Borken 2008). De plus, cette libération de formes d'azote facilement disponibles est susceptible d'être rapidement assimilée par les plantes pour soutenir la croissance et pour limiter les risques de pertes de ces nutriments par lixiviation (Kreyling *et al.* 2008b; Legay *et al.* 2013). Cependant, la réduction du manteau neigeux devrait également réduire la disponibilité en eau au début de la saison de croissance, ce qui pourrait limiter l'assimilation d'azote par les plantes au début du printemps, et par conséquent favoriser le *turnover* microbien mais aussi les pertes d'N par lixiviation.

Les communautés microbiennes sont également impactées directement par la sécheresse *via* des modifications dans la disponibilité des substrats et en eau, entraînant par conséquent des changements dans l'assimilation des éléments nutritifs par les microorganismes et des changements

d'activités microbiennes (Fierer, Schimel & Holden 2003; Henry 2013). Plus précisément, un épisode de sécheresse peut altérer l'efficacité des activités enzymatiques extracellulaires qui dégradent les composés communs constituant la matière organique du sol, par le biais d'une diminution des interactions entre les enzymes et leurs substrats lors de stress hydrique (Alster *et al.* 2013). Ceci a pour effet de réduire les apports en nutriments des microorganismes (Henry 2013) , et finalement de causer la mort des populations microbiennes les moins résistantes (lyse cellulaire, Schimel *et al.* 1999) et donc des changements de composition (Fierer *et al.* 2003). Après un épisode de sécheresse, la ré-humidification du sol entraîne généralement une augmentation de la minéralisation (Austin *et al.* 2004) liée à la libération d'éléments nutritifs lors de la lyse cellulaire et qui se sont accumulées pendant la sécheresse (Borken & Matzner 2009).

La sécheresse impacte également de manière indirecte le cycle des nutriments en affectant les organismes et les processus qui le régulent. Par exemple, en réduisant la capacité d'assimilation de l'azote des plantes, une sécheresse estivale pourrait entraîner une augmentation de la disponibilité en N inorganique du sol, et ralentir ainsi le cycle de N en réduisant l'activité des microorganismes nitrifiants du sol (Hartmann *et al.* 2013).

L'effet net d'un épisode de sécheresse sur la disponibilité en nutriments dépend de sa durée et de son intensité. En général, les effets négatifs sur l'activité microbienne du sol et sur l'assimilation des nutriments par les plantes augmentent avec l'intensité du stress hydrique. Cependant, des événements fréquents d'apport en eau après une période de sécheresse peuvent compenser, au moins pour partie, les effets négatifs cette sécheresse sur la disponibilité en nutriments et sur leur assimilation par les plantes (Austin *et al.* 2004; Borken & Matzner 2009).

Sur le long terme, l'augmentation de la fréquence d'événements climatiques extrêmes est à même de modifier à la fois la sensibilité des communautés microbiennes aux perturbations (Bérard *et al.* 2011; Hawkes & Keitt 2015; Fuchslueger *et al.* 2016) et les réponses des végétaux, ainsi que leurs interactions (Bardgett *et al.* 2013; Bardgett, Mommer & De Vries 2014). En effet, les modifications de composition et de fonctionnement des communautés microbiennes et donc du cycle des nutriments, induites par un stress climatique, pourraient potentiellement affecter en retour (*feedback*) la performance des communautés végétales et microbiennes (de Vries *et al.* 2012; Nie *et al.* 2013).

1.4.1.4.2 - EFFETS CONNUS DU CHANGEMENT DE GESTION DES PRAIRIES

Le sujet de cette thèse étant les effets des modifications du climat sur les prairies subalpines et la manière dont ces effets interagissent avec les pratiques de gestion agropastorale, l'appréhension des effets des changements d'utilisations des terres sur les composantes du cycle de l'azote *per se* s'appuie sur un précédent travail postdoctoral (Robson *et al.* 2007, 2010) dédié à cette question et dont les principaux éléments sont repris ci-dessous.

Comme explicité dans le paragraphe 1.4.1.1.2, l'historique de gestion des prairies subalpines a mené (schématiquement) à une distribution de celles-ci sur un gradient d'utilisation des ressources, allant de la conservation à l'exploitation. Le recyclage de l'azote présente généralement des pools et des flux plus importants dans les communautés végétales fauchées et dominées par les espèces exploitatrices, tandis que les pools et les flux de N plus réduits caractérisent les communautés végétales dominées par les espèces conservatrices (Robson *et al.* 2007). La cessation de la fauche modifie la composition fonctionnelle de ces prairies subalpines vers des stratégies plus conservatrices d'utilisation des éléments nutritifs, ce qui a pour effet d'altérer les activités microbiennes telles que la décomposition de la matière organique du sol et la dénitrification (Robson *et al.* 2007, 2010; Niedrist *et al.* 2008). A l'inverse, la fauche et la fertilisation augmentent la disponibilité en nutriment de ces sols oligotrophes, ce qui conduit à une stimulation du cycle des nutriments (Robson *et al.* 2007), une plus grande production et qualité du fourrage (Lavorel *et al.* 2011) et une plus grande séquestration du carbone dans le sol (Fornara *et al.* 2016). Cependant, la fertilisation impacte aussi négativement les microorganismes liés au cycle de l'azote (Hartmann *et al.* 2013).

L'ampleur et la direction de ces variations des écosystèmes terrestres, en réponse aux changements de pratiques de gestion et aux changements climatiques (mentionnés ci-dessus) restent difficiles à appréhender à la fois individuellement et en combinaison (Davidson & Janssens 2006; Borken & Matzner 2009).

1.5 - PROBLEMATIQUE DE LA THESE

1.5.1 - OBJECTIF DE LA THESE

Cette thèse s'inscrit dans la préoccupation actuelle des effets des changements anthropogéniques sur les communautés végétales et de leurs répercussions sur le fonctionnement des écosystèmes. L'objectif global est d'étudier les effets de changements climatiques locaux sur le fonctionnement et la structure d'un écosystème prairial, complété par l'étude de l'interaction des pratiques agricoles avec ces effets. Plus précisément, l'objectif est d'analyser les mécanismes impliqués dans la résistance et la résilience (ici, récupération à court terme) des prairies subalpines face à une diminution de l'enneigement et à des épisodes de sécheresse estivale, tout en analysant l'implication de la biodiversité et des pratiques agricoles de gestion dans cette réponse aux modifications du climat. Les mécanismes spécifiques qui seront examinés concerneront la manière dont la diversité fonctionnelle végétale, *via* la diversité des stratégies fonctionnelles pour l'acquisition des ressources et *via* les processus souterrains qui lui sont associés, pilote la résistance et la résilience des prairies face au changement climatique, et ce en fonction des pratiques agro-pastorales.

Cet objectif de thèse se décline en deux questions principales de recherche (Figure 1.5) :

- (1) Quels sont les effets directs du changement climatique local au sein des prairies subalpines, en prenant en compte les interactions possibles entre un déneigement précoce, une sécheresse estivale et la gestion par la fertilisation et la coupe de la biomasse épigée ?
- (2) Quels sont les mécanismes impliqués dans la stabilité (résistance et résilience) du fonctionnement et de la structure de ces écosystèmes face à ces perturbations.

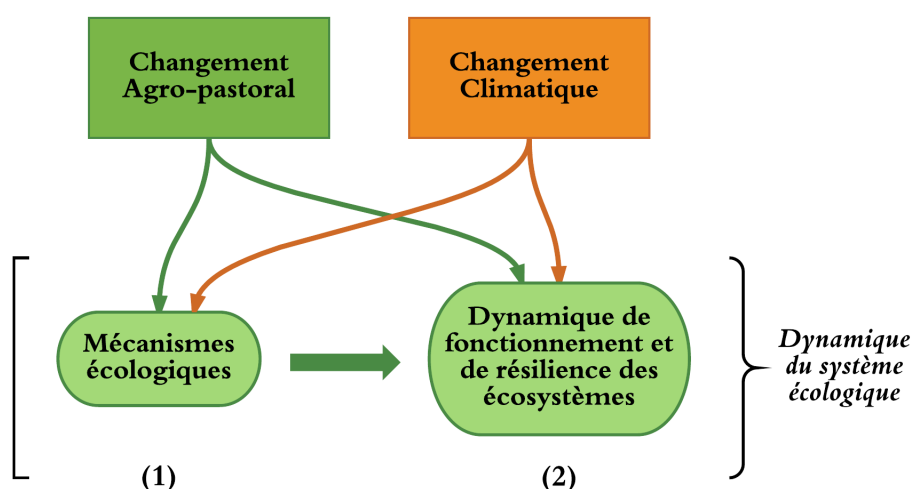


Figure 1.5. Représentation schématique des questions principales de recherche développées dans cette thèse. Questions (1) et (2).

1.5.2 - CADRE CONCEPTUEL ET APPROCHE EXPERIMENTALE

Ce travail de thèse repose sur une approche fonctionnelle de l'analyse d'un écosystème subalpin prairial en intégrant à la fois les processus aériens et souterrains. Notre démarche est focalisée sur l'étude de communautés végétales suivies pendant trois ans afin d'évaluer la capacité de résistance et de résilience de ces écosystème prairiaux face la récurrence d'événements climatiques considérés comme extrêmes et d'en déterminer les mécanismes sous-jacents.

Cette démarche expérimentale consiste en une expérimentation multifactorielle en conditions semi-contrôlées *in situ*. Les expérimentations *in situ* permettent d'étudier le fonctionnement des écosystèmes en réduisant les biais (Beier *et al.* 2004, 2012) alors que les manipulations multifactorielles du climat sont des outils importants pour comprendre l'action des facteurs climatiques sur le fonctionnement des écosystèmes (Jentsch, Kreyling & Beierkuhnlein 2007; Beier *et al.* 2012). Les expérimentations en conditions semi-contrôlées permettent quant à elles d'analyser finement les mécanismes qui sous-tendent le fonctionnement des écosystèmes.

Des espèces prairiales ont été sélectionnées (sur la base de leurs valeurs de traits) pour réduire la complexité de la communauté végétale à quelques espèces modèles, afin d'étudier les mécanismes fins de réponse au stress climatique à l'échelle de la communauté. Un système de culture en bacs a été choisi (appelé mésocosmes) pour contrôler à la fois les entrées et les sorties biogéochimiques de nos systèmes prairiaux. Le suivi de ces communautés végétales a été réalisé *via* une approche d'écologie fonctionnelle en sélectionnant des traits aériens et souterrains renseignant sur le fonctionnement écosystémique. Les traits mesurés ont été choisis selon les fonctions écologiques liées à l'acquisition des ressources, le cycle de l'azote, la décomposition et le métabolisme des sucres hydrosolubles.

Les traitements agro-pastoraux ont été réalisés en accord avec les pratiques observées sur site : coupe de la biomasse épigée au pic de végétation (mi-juillet) et utilisation d'un engrais à libération lente (plus proche d'une fertilisation réalisée par épandage de fumier).

Afin de manipuler les conditions climatiques, un important dispositif été choisi avec une attention particulière à la réduction des biais expérimentaux. Le cadre conceptuel qui sous-tend ce travail de thèse est représenté dans la figure 1.6.

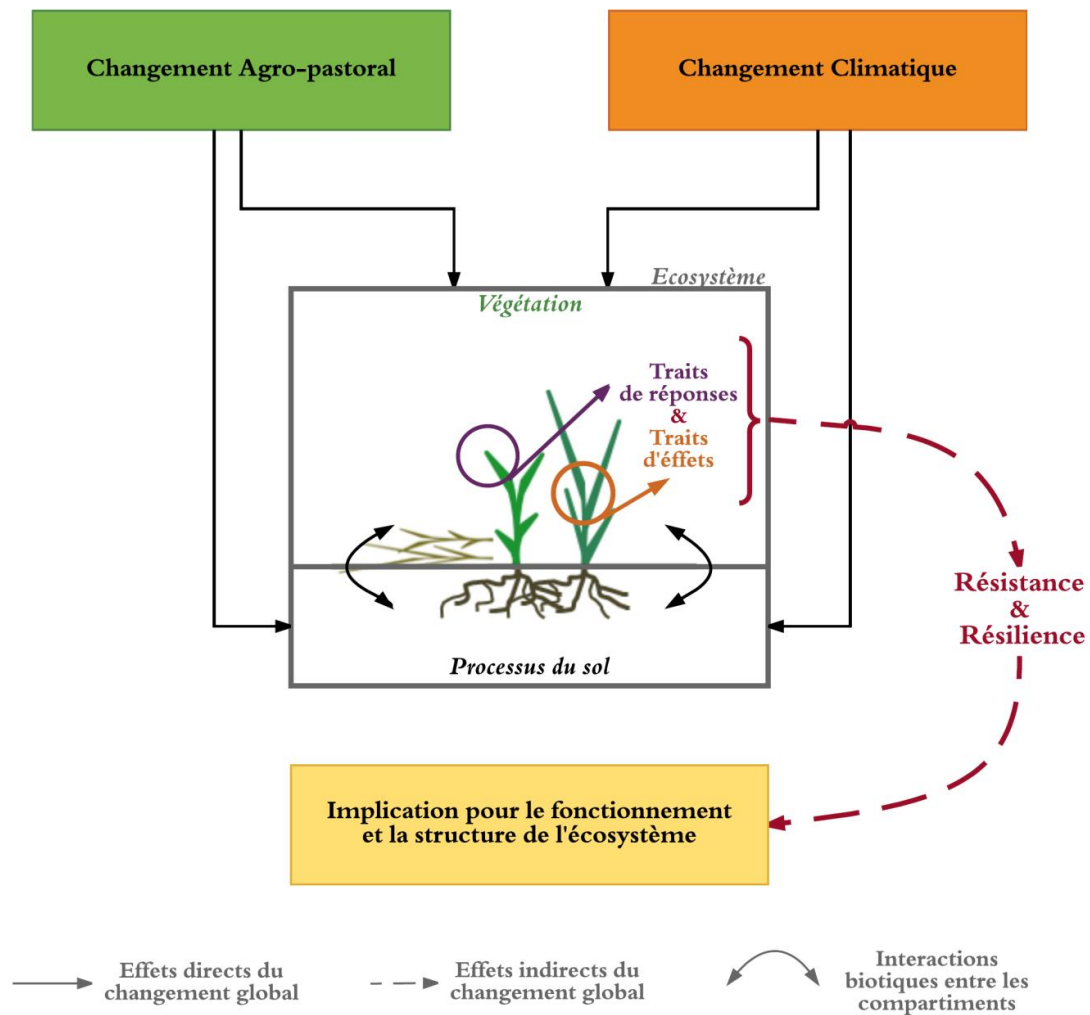


Figure 1.6. Cadre conceptuel de la démarche de thèse.

1.5.3 - HYPOTHESES DE RECHERCHE

Les prairies subalpines sont potentiellement vulnérables aux changements globaux (Engler *et al.* 2011). Leur résilience est éprouvée, entre autres, par les effets du climat sur la biodiversité (Rosenzweig *et al.* 2008) et par les changements d'utilisation des terres (Tappeiner *et al.* 2008). Pour autant, on peut arguer que ces écosystèmes sont très résistants aux changements climatiques, pour des raisons évolutives suite à la sélection par les glaciations, et *via* des mécanismes fonctionnels de résistance à la variabilité climatique (Körner 2003). En plus des basses températures, l'exposition à une forte variabilité à l'échelle interannuelle (Durand *et al.* 2009a), inter-saisonnière (Bardgett *et al.* 2005), intra-saisonnière et diurne (Scherrer & Körner 2010), a vraisemblablement rendu ces écosystèmes très résistants au changement climatique. Toutefois, un dépassement de cette résistance serait très risqué étant donnée la relative lenteur des processus de résilience, lenteur principalement due au froid et aux étés relativement secs.

Nous émettons l'hypothèse générale que la combinaison d'une diminution de l'enneigement, suite à un déneigement précoce, et d'une sécheresse pendant la saison de croissance, pourrait entraîner un dépassement de la résistance et altérer de façon importante le fonctionnement écosystémique des prairies subalpines. Nous proposons que cette résistance soit principalement due aux liens entre les plantes et les composantes du sol. En effet, d'une part l'allocation aux structures souterraines est essentielle pour maintenir le fonctionnement au cours de l'hiver et la repousse au printemps (rôle tampon des réserves souterraines, Chapin, Schulze & Mooney 1990), d'autre part les micro-organismes du sol ont la capacité de réagir rapidement et de façon non linéaire aux fluctuations physiques et chimiques du milieu (variabilité temporelle, Bardgett *et al.* 2005).

Nous analyserons les effets couplés de la diversité végétale et des processus du sol associés, sur la résistance et la résilience (donc le fonctionnement) des prairies subalpines à travers les hypothèses suivantes :

Effets des changements des paramètres climatiques :

- Un déneigement précoce, causé par une hausse des températures au printemps, va augmenter l'intensité et la fréquence des cycles de gel-dégel et réduire l'humidité du sol au printemps, lors de la fonte des neiges. Ceci affectera la structure et le fonctionnement des prairies, et ce, de façon plus conséquente qu'un seul épisode de sécheresse estivale.

- La combinaison d'un enneigement réduit et d'une sécheresse estivale aura des effets plus importants que la simple somme des effets individuels de ces stress climatiques ; et cette combinaison amènera ces écosystèmes prairiaux vers leurs points de rupture.

Effets de la manipulation de la composition végétale :

- Les traits fonctionnels végétaux (aériens et souterrains), associés à un fort taux de croissance et à une forte productivité vont diminuer la résistance mais augmenter la résilience des prairies face à la diminution de l'épaisseur de la couverture neigeuse, et face à la sécheresse estivale.

- A l'opposé, les traits fonctionnels associés à un faible taux de croissance et à une faible productivité vont augmenter la résistance mais diminuer la résilience des prairies face à la diminution de l'épaisseur de la couverture neigeuse, et face à la sécheresse estivale.

Effets des pratiques agricoles :

- Une pratique agropastorale de « fauche » et de fertilisation va induire un changement de traits et d'abondance des végétaux et des micro-organismes, ce qui va avoir pour effet d'abaisser la résistance des prairies face aux stress climatiques, mais potentiellement augmenter la résilience en favorisant des espèces à repousse rapide.

1.5.4 - STRUCTURE DE LA THESE

Le second chapitre présente en détails le site d'étude, la mise en place de l'expérimentation, les protocoles utilisés pour l'acquisition des données et les variables climatiques. Les résultats de ce travail de thèse sont organisés en quatre chapitres (Chap. III à VI, Figure 1.7). Chaque chapitre est en anglais sous forme d'article en préparation. Du fait qu'ils peuvent être lus séparément, certaines redondances apparaissent entre les chapitres (notamment dans la section « matériels et méthodes »).

Plus précisément le chapitre III vise à quantifier les effets des changements climatiques et de l'utilisation des terres sur les traits fonctionnels végétaux à l'échelle de la communauté.

Le chapitre IV vise à étudier les effets des variations des traits fonctionnels végétaux dus au stress climatiques sur les processus souterrains *via* notamment le cycle de l'azote.

Les chapitres V et VI visent à appréhender les effets des variations des traits fonctionnels végétaux et des processus souterrains (chapitres précédents) sur les processus hivernaux impactant le fonctionnement de l'écosystème la saison de végétation suivante.

Le chapitre V présente la stratégie d'utilisation et de stockage des nutriments pour l'espèce *Patzkea paniculata* *via* l'analyse des sucres hydrosolubles (WSC ; trait *hard*).

Le chapitre VI s'attache à l'étude de la dynamique de décomposition des litières des communautés sous le manteau neigeux.

Enfin, dans le dernier chapitre (Chap. VII), les principaux résultats sont synthétisés, discutés puis mis en perspectives.

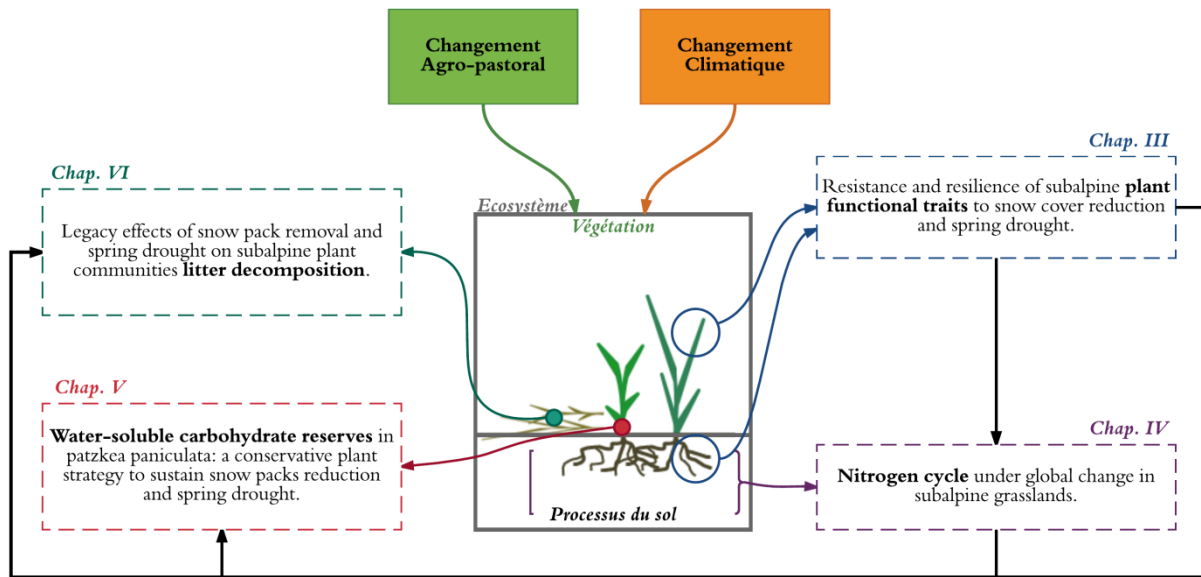


Figure 1.7. Schéma représentant l'agencement des chapitres de thèse.

1.6 - BIBLIOGRAPHIE

- ACIA. (2005) *Arctic Climate Impact Assessment: Scientific Report*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Aerts, R. (1996) Nutrient Resorption from Senescing Leaves of Perennials: Are there General Patterns? *Journal of Ecology*, **84**, 597–608.
- Aerts, R. (1997) Climate, Leaf Litter Chemistry and Leaf Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems: A Triangular Relationship. *Oikos*, **79**, 439–449.
- Aerts, R. (2006) The freezer defrosting: global warming and litter decomposition rates in cold biomes. *Journal of Ecology*, **94**, 713–724.
- Alster, C.J., German, D.P., Lu, Y. & Allison, S.D. (2013) Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **64**, 68–79.
- Auer, I., Böhm, R., Jurkovic, A., Lipa, W., Orlik, A., Potzmann, R., Schöner, W., Ungersböck, M., Matulla, C., Briffa, K., Jones, P., Efthymiadis, D., Brunetti, M., Nanni, T., Maugeri, M., Mercalli, L., Mestre, O., Moisselin, J.-M., Begert, M., Müller-Westermeier, G., Kveton, V., Bochnicek, O., Stastny, P., Lapin, M., Szalai, S., Szentimrey, T., Cegnar, T., Dolinar, M., Gajic-Capka, M., Zaninovic, K., Majstorovic, Z. & Nieplova, E. (2007) HISTALP—historical instrumental climatological surface time series of the Greater Alpine Region. *International Journal of Climatology*, **27**, 17–46.
- Austin, A.T. & Vivanco, L. (2006) Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature*, **442**, 555–558.
- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark, J.M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D.A. & Schaeffer, S.M. (2004) Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia*, **141**, 221–235.
- Baptist, F., Secher-Fromell, H., Viard-Cretat, F., Aranjuelo, I., Clement, J.-C., Creme, A., Desclos, M., Laine, P., Nogues, S. & Lavorel, S. (2013) Carbohydrate and nitrogen stores in *Festuca paniculata* under mowing explain dominance in subalpine grasslands. *Plant biology*, **15**, 395–404.
- Baptist, F., Tcherkez, G., Aubert, S., Pontailleur, J.-Y., Choler, P. & Nogués, S. (2009) ^{13}C and ^{15}N allocations of two alpine species from early and late snowmelt locations reflect their different growth strategies. *Journal of experimental botany*, **60**, 2725–2735.
- Baptist, F., Yoccoz, N.G. & Choler, P. (2010) Direct and indirect control by snow cover over decomposition in alpine tundra along a snowmelt gradient. *Plant and Soil*, **328**, 397–410.
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R. & Schmidt, S.K. (2005) A temporal approach to

- linking aboveground and belowground ecology. *Trends in ecology & evolution*, **20**, 634–41.
- Bardgett, R.D., Freeman, C. & Ostle, N.J. (2008) Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *The ISME journal*, **2**, 805–814.
- Bardgett, R.D., Manning, P., Morriën, E. & De Vries, F.T. (2013) Hierarchical responses of plant–soil interactions to climate change: consequences for the global carbon cycle. *Journal of Ecology*, **101**, 334–343.
- Bardgett, R.D., Mommer, L. & De Vries, F.T. (2014) Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **29**, 692–699.
- Bartoš, M., Janeček, Š. & Klimešová, J. (2011) Effect of mowing and fertilization on biomass and carbohydrate reserves of *Molinia caerulea* at two organizational levels. *Acta Oecologica*, **37**, 299–306.
- Beier, C., Beierkuhnlein, C., Wohlgemuth, T., Penuelas, J., Emmett, B., Körner, C., de Boeck, H., Christensen, J.H., Leuzinger, S., Janssens, I.A. & Hansen, K. (2012) Precipitation manipulation experiments – challenges and recommendations for the future. *Ecology Letters*, **15**, 899–911.
- Beier, C., Emmett, B., Gundersen, P., Tietema, A., Peñuelas, J., Estiarte, M., Gordon, C., Gorissen, A., Llorens, L., Roda, F. & Williams, D. (2004) Novel Approaches to Study Climate Change Effects on Terrestrial Ecosystems in the Field: Drought and Passive Nighttime Warming. *Ecosystems*, **7**, 583–597.
- Beniston, M. (2004) The 2003 heat wave in Europe: A shape of things to come? An analysis based on Swiss climatological data and model simulations. *Geophysical Research Letters*, **31**, n/a--n/a.
- Beniston, M. (2005) Mountain Climates and Climatic Change: An Overview of Processes Focusing on the European Alps. *pure and applied geophysics*, **162**, 1587–1606.
- Beniston, M. & Diaz, H.F. (2004) The 2003 heat wave as an example of summers in a greenhouse climate? Observations and climate model simulations for Basel, Switzerland. *Global and Planetary Change*, **44**, 73–81.
- Beniston, M., Keller, F., Koffi, B. & Goyette, S. (2003) Estimates of snow accumulation and volume in the Swiss Alps under changing climatic conditions. *Theoretical and Applied Climatology*, **76**, 125–140.
- Beniston, M., Stephenson, D.B., Christensen, O.B., Ferro, C.A.T., Frei, C., Goyette, S., Halsnaes, K., Holt, T., Jylhä, K., Koffi, B., Palutikof, J., Schöll, R., Semmler, T. & Woth, K. (2007) Future extreme events in European climate: an exploration of regional climate model projections. *Climatic Change*, **81**, 71–95.
- Benot, M.L., Saccone, P., Pautrat, E., Vicente, R., Colace, M.P., Grigulis, K., Clément, J.C. &

- Lavorel, S. (2014) Stronger Short-Term Effects of Mowing Than Extreme Summer Weather on a Subalpine Grassland. *Ecosystems*, **17**, 458–472.
- Bérard, A., Bouchet, T., Sévenier, G., Pablo, A.L. & Gros, R. (2011) Resilience of soil microbial communities impacted by severe drought and high temperature in the context of Mediterranean heat waves. *European Journal of Soil Biology*, **47**, 333–342.
- Berg, B. & Laskowski, R. (2006) *Litter Decomposition: A Guide to Carbon and Nutrient Turnover*. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Berkes, F. & Folke, C. (1998) *Linking Social and Ecological Systems: Management Practices and Social Mechanisms for Building Resilience*. Cambridge University Press, New York, NY, USA.
- Bloor, J.M.G. & Bardgett, R.D. (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **14**, 193–204.
- De Boeck, H.J., Lemmens, C.M.H.M., Zavalloni, C., Gielen, B., Malchair, S., Carnol, M., Merckx, R., Van den Berge, J., Ceulemans, R. & Nijs, I. (2008) Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, **5**, 585–594.
- Bokhorst, S., Bjerke, J.W., Melillo, J., Callaghan, T. V & Phoenix, G.K. (2010) Impacts of extreme winter warming events on litter decomposition in a sub-Arctic heathland. *Soil Biology and Biochemistry*, **42**, 611–617.
- Bokhorst, S., Phoenix, G.K., Bjerke, J.W., Callaghan, T. V, Huyer-Brugman, F. & Berg, M.P. (2012) Extreme winter warming events more negatively impact small rather than large soil fauna: shift in community composition explained by traits not taxa. *Global Change Biology*, **18**, 1152–1162.
- Bolliger, J., Kienast, F., Soliva, R. & Rutherford, G. (2007) Spatial sensitivity of species habitat patterns to scenarios of land use change (Switzerland). *Landscape Ecology*, **22**, 773–789.
- Borken, W. & Matzner, E. (2009) Introduction: Impact of extreme meteorological events on soils and plants. *Global Change Biology*, **15**, 781.
- Botton, S., van Heusden, M., Parsons, J.R., Smidt, H. & van Straalen, N. (2006) Resilience of Microbial Systems Towards Disturbances. *Critical Reviews in Microbiology*, **32**, 101–112.
- Cadotte, M.W., Carscadden, K. & Mirotchnick, N. (2011) Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 1079–1087.
- Calanca, P. (2007) Climate change and drought occurrence in the Alpine region: How severe are

- becoming the extremes? *Global and Planetary Change*, **57**, 151–160.
- Cebrian, J. (1999) Patterns in the Fate of Production in Plant Communities. *American Naturalist*, **154**, 449–468.
- Cernusca, A., Bahn, M., Berninger, F., Tappeiner, U. & Wohlfahrt, G. (2008) Effects of Land-Use Changes on Sources, Sinks and Fluxes of Carbon in European Mountain Grasslands. *Ecosystems*, **11**, 1335–1337.
- Chapin, F.S., Matson, P.A. & Vitousek, P.M. (2011) *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer, New York, NY, USA.
- Chapin, F., Schulze, E. & Mooney, H. (1990) The ecology and economics of storage in plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **21**, 423–447.
- Chapin, F.S., Walker, B.H., Hobbs, R.J., Hooper, D.U., Lawton, J.H., Sala, O.E. & Tilman, D. (1997) Biotic Control over the Functioning of Ecosystems. *Science*, **277**, 500 LP-504.
- Chardon, M. (1989) Essai d'approche de la spécificité des milieux de la montagne alpine. *Revue de géographie alpine*, **77**, 15–28.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. & Pereira, J.S. (2003) Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, **30**, 239–264.
- Chemini, C. & Rizzoli, A. (2003) Land use change and biodiversity conservation in the Alps. *Journal of Mountain Ecology*, **7**, 1–7.
- Chimner, R.A. & Welker, J.M. (2005) Ecosystem respiration responses to experimental manipulations of winter and summer precipitation in a Mixedgrass Prairie, WY, USA. *Biogeochemistry*, **73**, 257–270.
- Chimner, R., Welker, J., Morgan, J., LeCain, D. & Reeder, J. (2010) Experimental manipulations of winter snow and summer rain influence ecosystem carbon cycling in a mixed-grass prairie, Wyoming, USA. *Ecohydrology*.
- Choler, P. (2005) Consistent Shifts in Alpine Plant Traits along a Mesotopographical Gradient. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **37**, 444–453.
- Christensen, S. & Christensen, B.T. (1991) Organic matter available for denitrification in different soil fractions: effect of freeze/thaw cycles and straw disposal. *Journal of Soil Science*, **42**, 637–647.
- Christensen, J.H. & Christensen, O.B. (2007) A summary of the PRUDENCE model projections of changes in European climate by the end of this century. *Climatic Change*, **81**, 7–30.
- Clement, J.C., Robson, T.M., Guillemin, R., Saccone, P., Lochet, J., Aubert, S. & Lavorel, S. (2011) The effects of snow-N deposition and snowmelt dynamics on soil-N cycling in marginal terraced grasslands in the French Alps. *Biogeochemistry*, **108**, 297–315.
- Cornelissen, J.H.C. (1996) An Experimental Comparison of Leaf Decomposition Rates in a Wide

- Range of Temperate Plant Species and Types. *Journal of Ecology*, **84**, 573–582.
- Cornelissen, J.H.C., Van Bodegom, P.M., Aerts, R., Callaghan, T. V., Van Logtestijn, R.S.P., Alatalo, J., Stuart Chapin, F., Gerdol, R., Gudmundsson, J., Gwynn-Jones, D., Hartley, A.E., Hik, D.S., Hofgaard, A., Jónsdóttir, I.S., Karlsson, S., Klein, J.A., Laundre, J., Magnusson, B., Michelsen, A., Molau, U., Onipchenko, V.G., Quested, H.M., Sandvik, S.M., Schmidt, I.K., Shaver, G.R., Solheim, B., Soudzilovskaia, N.A., Stenström, A., Tolvanen, A., Totland, Ø., Wada, N., Welker, J.M., Zhao, X. & Team, M.O.L. (2007) Global negative vegetation feedback to climate warming responses of leaf litter decomposition rates in cold biomes. *Ecology Letters*, **10**, 619–627.
- Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., Quested, H.M., Santiago, L.S., Wardle, D. a, Wright, I.J., Aerts, R., Allison, S.D., van Bodegom, P., Brovkin, V., Chatain, A., Callaghan, T. V, Díaz, S., Garnier, E., Gurvich, D.E., Kazakou, E., Klein, J. a, Read, J., Reich, P.B., Soudzilovskaia, N. a, Vaieretti, M.V. & Westoby, M. (2008) Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology letters*, **11**, 1065–1071.
- Côté, I.M. & Darling, E.S. (2010) Rethinking Ecosystem Resilience in the Face of Climate Change. *PLOS Biology*, **8**, 1–5.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P. & Berg, B. (1995) Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 63–66.
- Craine, J.M., Tilman, D., Wedin, D., Reich, P., Tjoelker, M. & Knops, J. (2002) Functional traits, productivity and effects on nitrogen cycling of 33 grassland species. *Functional Ecology*, **16**, 563–574.
- Dai, A. (2011) Drought under global warming: a review. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, **2**, 45–65.
- Davidson, E.A. & Janssens, I.A. (2006) Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, **440**, 165–173.
- Díaz, S., Purvis, A., Cornelissen, J.H.C., Mace, G.M., Donoghue, M.J., Ewers, R.M., Jordano, P. & Pearse, W.D. (2013) Functional traits, the phylogeny of function, and ecosystem service vulnerability. *Ecology and Evolution*, **3**, 2958–2975.
- Díaz, S. & Cabido, M. (2001) Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646–655.
- Dukes, J.S., Chiariello, N.R., Cleland, E.E., Moore, L.A., Shaw, M.R., Thayer, S., Tobeck, T., Mooney, H.A. & Field, C.B. (2005) Responses of Grassland Production to Single and Multiple Global Environmental Changes. *PLOS Biology*, **3**, e319.

- Dunne, J.A., Harte, J. & Taylor, K.J. (2003) Subalpine Meadow Flowering Phenology Responses To Climate Change: Integrating Experimental And Gradient Methods. *Ecological Monographs*, **73**, 69–86.
- Durand, Y., Giraud, G., Laternser, M., Etchevers, P., Mérindol, L. & Lesaffre, B. (2009a) Reanalysis of 47 Years of Climate in the French Alps (1958–2005): Climatology and Trends for Snow Cover. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 2487–2512.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009b) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- Dye, D.G. (2002) Variability and trends in the annual snow-cover cycle in Northern Hemisphere land areas, 1972–2000. *Hydrological Processes*, **16**, 3065–3077.
- Edwards, A.C., Scalenghe, R. & Freppaz, M. (2007) Changes in the seasonal snow cover of alpine regions and its effect on soil processes: A review. *Quaternary International*, **162–163**, 172–181.
- EEA. (2009) *Signaux de l’AEE 2009, Thèmes Environnementaux Clés Pour l’Europe*. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark.
- den Ende, W. (2013) Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, **4**, 247.
- Engler, R., Randin, C.F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N.E., Araújo, M.B., Pearman, P.B., Le Lay, G., Piedallu, C., Albert, C.H., Choler, P., Coldea, G., De Lamo, X., Dirnböck, T., Gégout, J.-C., Gómez-García, D., Grytnes, J.-A., Heegaard, E., Høistad, F., Nogués-Bravo, D., Normand, S., Puşcaş, M., Sebastià, M.-T., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Trivedi, M.R., Vittoz, P. & Guisan, A. (2011) 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology*, **17**, 2330–2341.
- Erschbamer, B., Kiebachner, T., Mallaun, M. & Unterluggauer, P. (2009) Short-term signals of climate change along an altitudinal gradient in the South Alps. *Plant Ecology*, **202**, 79–89.
- Fahrig, L., Baudry, J., Brotons, L., Burel, F.G., Crist, T.O., Fuller, R.J., Sirami, C., Siriwardena, G.M. & Martin, J.-L. (2011) Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. *Ecology Letters*, **14**, 101–112.
- Fierer, N., Schimel, J.P. & Holden, P.A. (2003) Influence of Drying–Rewetting Frequency on Soil Bacterial Community Structure . *Microbial Ecology*, **45**, 63–71.
- Fischer, M., Rudmann-Maurer, K., Weyand, A. & Stöcklin, J. (2008) Agricultural Land Use and Biodiversity in the Alps. *Mountain Research and Development*, **28**, 148–155.
- Fischer, M. & Wipf, S. (2002) Effect of low-intensity grazing on the species-rich vegetation of

- traditionally mown subalpine meadows. *Biological Conservation*, **104**, 1–11.
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Chapin, F.S., Coe, M.T., Daily, G.C., Gibbs, H.K., Helkowski, J.H., Holloway, T., Howard, E.A., Kucharik, C.J., Monfreda, C., Patz, J.A., Prentice, I.C., Ramankutty, N. & Snyder, P.K. (2005) Global Consequences of Land Use. *Science*, **309**, 570 LP-574.
- Fornara, D.A., Wasson, E.-A., Christie, P. & Watson, C.J. (2016) Long-term nutrient fertilization and the carbon balance of permanent grassland: any evidence for sustainable intensification? *Biogeosciences*, **13**, 4975–4984.
- Foster, D., Swanson, F., Aber, J., Burke, I., Brokaw, N., Tilman, D. & Knapp, A. (2003) The Importance of Land-Use Legacies to Ecology and Conservation. *BioScience*, **53**, 77–88.
- Freschet, G.T., Cornelissen, J.H.C., Van Logtestijn, R.S.P. & Aerts, R. (2010) Evidence of the “plant economics spectrum” in a subarctic flora. *Journal of Ecology*, **98**, 362–373.
- Fuchslueger, L., Bahn, M., Hasibeder, R., Kienzl, S., Fritz, K., Schmitt, M., Watzka, M. & Richter, A. (2016) Drought history affects grassland plant and microbial carbon turnover during and after a subsequent drought event. *Journal of Ecology*, **104**, 1453–1465.
- Fujita, R., Moxley, J.H., DeBey, H., Van Leuvan, T., Leumer, A., Honey, K., Aguilera, S. & Foley, M. (2013) Managing for a resilient ocean. *Marine Policy*, **38**, 538–544.
- Galen, C. & Stanton, M. (1993) Short-term responses of alpine buttercups to experimental manipulations of growing season length. *Ecology*, **74**, 1052–1058.
- Galen, C. & Stanton, M.L. (1995) Responses of Snowbed Plant Species to Changes in Growing-Season Length. *Ecology*, **76**, 1546–1557.
- Garcia-Pausas, J., Casals, P., Rovira, P., Vallecillo, S., Sebastià, M.-T.T. & Romanyà, J. (2012) Decomposition of labelled roots and root-C and -N allocation between soil fractions in mountain grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **49**, 61–69.
- García-Ruiz, J.M., Regüés, D., Alvera, B., Lana-Renault, N., Serrano-Muela, P., Nadal-Romero, E., Navas, A., Latron, J., Martí-Bono, C. & Arnáez, J. (2008) Flood generation and sediment transport in experimental catchments affected by land use changes in the central Pyrenees. *Journal of Hydrology*, **356**, 245–260.
- Garcia, P.M.A., Asega, A.F., Silva, E.A. & Carvalho, M.A.M. (2011) Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. *Plant Physiology and Biochemistry*, **49**, 664–670.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Garnier, E. & Navas, M.-L. (2013) *Diversité Fonctionnelle Des Plantes. Traits Des Organismes*,

Structure Des Communautés, Propriétés Des Écosystèmes. De Boeck, Bruxelles, Royaume de Belgique.

- Gartner, T.B. & Cardon, Z.G. (2004) Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, **104**, 230–246.
- Gepstein, S. (2004) Leaf senescence - not just a “wear and tear” phenomenon. *Genome Biology*, **5**, 212.
- Gessner, M.O., Swan, C.M., Dang, C.K., McKie, B.G., Bardgett, R.D., Wall, D.H. & Hättenschwiler, S. (2010) Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 372–380.
- Gholz, H.L., Wedin, D.A., Smitherman, S.M., Harmon, M.E. & Parton, W.J. (2000) Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: Toward a global model of decomposition. *Global Change Biology*, **6**, 751–765.
- Gilgen, A.K. & Buchmann, N. (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525–2539.
- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J. & Stoffel, M. (2014) 21st century climate change in the European Alps—A review. *Science of The Total Environment*, **493**, 1138–1151.
- Gonzalez, B., Boucaud, J., Salette, J., Langlois, J. & Duyme, M. (1989) Changes in stubble carbohydrate content during regrowth of defoliated perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) on two nitrogen levels. *Grass and Forage Science*, **44**, 411–415.
- Gottfried, M., Pauli, H., Futschik, A., Akhalkatsi, M., Barancok, P., Benito Alonso, J.L., Coldea, G., Dick, J., Erschbamer, B., Fernandez Calzado, M.R., Kazakis, G., Krajci, J., Larsson, P., Mallaun, M., Michelsen, O., Moiseev, D., Moiseev, P., Molau, U., Merzouki, A., Nagy, L., Nakhutsrishvili, G., Pedersen, B., Pelino, G., Puscas, M., Rossi, G., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Tomaselli, M., Villar, L., Vittoz, P., Vogiatzakis, I. & Grabherr, G. (2012) Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Clim. Change*, **2**, 111–115.
- Grabherr, G., Gottfried, M. & Pauli, H. (1994) Climate effects on mountain plants. *Nature*, **369**, 448.
- Grêt-Regamey, A., Brunner, S.H. & Kienast, F. (2012) Mountain Ecosystem Services: Who Cares? *Mountain Research and Development*, **32**, S23–S34.
- Griffiths, B.S. & Philippot, L. (2013) Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiology Reviews*, **37**, 112–129.
- Grime, J.P. (1977) Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. *The American Naturalist*, **111**, 1169–1194.

- Grime, J.P. (1998) Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, **86**, 902–910.
- Grime, J.P. (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes and Ecosystem Properties (2nd Edn.)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- Grime, J.P., Fridley, J.D., Askew, A.P., Thompson, K., Hodgson, J.G. & Bennett, C.R. (2008) Long-term resistance to simulated climate change in an infertile grassland. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 10028–10032.
- Grogan, P., Michelsen, A., Ambus, P. & Jonasson, S. (2004) Freeze–thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms. *Soil Biology and Biochemistry*, **36**, 641–654.
- Gross, N., Robson, T.M., Lavorel, S., Albert, C., Le Bagousse-Pinguet, Y. & Guillemin, R. (2008) Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *The New phytologist*, **180**, 652–62.
- Gunderson, L.H. (2000) Ecological Resilience—In Theory and Application. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **31**, 425–439.
- Hantel, M. & Hirtl-Wielke, L.-M. (2007) Sensitivity of Alpine snow cover to European temperature. *International Journal of Climatology*, **27**, 1265–1275.
- Harrington, R., Anton, C., Dawson, T.P., de Bello, F., Feld, C.K., Haslett, J.R., Kluvánková-Oravská, T., Kontogianni, A., Lavorel, S., Luck, G.W., Rounsevell, M.D.A., Samways, M.J., Settele, J., Skourtos, M., Spangenberg, J.H., Vandewalle, M., Zobel, M. & Harrison, P.A. (2010) Ecosystem services and biodiversity conservation: concepts and a glossary. *Biodiversity and Conservation*, **19**, 2773–2790.
- Hartmann, A. a., Barnard, R.L., Marhan, S. & Niklaus, P. a. (2013) Effects of drought and N-fertilization on N cycling in two grassland soils. *Oecologia*, **171**, 705–717.
- Hättenschwiler, S., Tiunov, A. V. & Scheu, S. (2005) Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 191–218.
- Hawkes, C. V & Keitt, T.H. (2015) Resilience vs. historical contingency in microbial responses to environmental change. *Ecology Letters*, **18**, 612–625.
- Hefting, M.M., Clement, J.-C., Bienkowski, P., Dowrick, D., Guenat, C., Butturini, A., Topa, S., Pinay, G. & Verhoeven, J.T.A. (2005) The role of vegetation and litter in the nitrogen dynamics of riparian buffer zones in Europe. *Ecological Engineering*, **24**, 465–482.
- Van Der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. & Van Straalen, N.M. (2008) The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 296–310.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G. & Carrington, E. (2004) Biophysics, Physiological Ecology, And

- Climate Change: Does Mechanism Matter? *Annual Review of Physiology*, **67**, 177–201.
- Hendry, G. (1987) The ecological significance of fructan in a contemporary flora. *New Phytologist*, **106**, 201–216.
- Hendry, G. & Wallace, R. (1993) The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. *Science and technology of fructans* (eds M. Suzuki & N. Chatterton), pp. 119–139. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Henry, H.A.L. (2013) Reprint of “Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate.” *Soil Biology and Biochemistry*, **56**, 53–59.
- Hincha, D.K., Hellwege, E.M., Heyer, A.G. & Crowe, J.H. (2000) Plant fructans stabilize phosphatidylcholine liposomes during freeze-drying. *European Journal of Biochemistry*, **267**, 535–540.
- Hincha, D.K., Zuther, E., Hellwege, E.M. & Heyer, A.G. (2002) Specific effects of fructo- and gluco-oligosaccharides in the preservation of liposomes during drying. *Glycobiology*, **12**, 103.
- Hobbie, S.E. (1996) Temperature and Plant Species Control Over Litter Decomposition in Alaskan Tundra. *Ecological Monographs*, **66**, 503–522.
- Hobbie, S.E. (2008) Nitrogen effects on decomposition: a five-year experiment in eight temperate sites. *Ecology*, **89**, 2633–2644.
- Hodgson, J.G., Wilson, P.J., Hunt, R., Grime, J.P. & Thompson, K. (1999) Allocating C-S-R Plant Functional Types: A Soft Approach to a Hard Problem. *Oikos*, **85**, 282–294.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A. & Buitink, J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, **6**, 431–438.
- Hofmann, G.E. & Todgham, A.E. (2010) Living in the Now: Physiological Mechanisms to Tolerate a Rapidly Changing Environment. *Annual Review of Physiology*, **72**, 127–145.
- Holling, C.S. (1973) Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **4**, 1–23.
- Holling, C.S. (1996) *Engineering Resilience versus Ecological Resilience*. National Academic Press, Washington, DC, USA.
- Honisch, M., Hellmeier, C. & Weiss, K. (2002) Response of surface and subsurface water quality to land use changes. *Geoderma*, **105**, 277–298.
- von Humboldt, A. & Bonpland, A. (1807) *Essai Sur La Géographie Des Plantes*. Levarault Schoell, Paris, France.
- Inouye, D.W. (2000) The ecological and evolutionary significance of frost in the context of climate change. *Ecology Letters*, **3**, 457–463.
- Inouye, D.W. (2008) Effects Of Climate Change On Phenology, Frost Damage, And Floral Abundance Of Montane Wildflowers. *Ecology*, **89**, 353–362.

- Inouye, D.W., Morales, M.A. & Dodge, G.J. (2002) Variation in timing and abundance of flowering by *Delphinium barbeyi* Huth (Ranunculaceae): the roles of snowpack, frost, and La Niña, in the context of climate change. *Oecologia*, **130**, 543–550.
- IPCC. (2013) *IPCC Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- IPCC. (2014) *IPCC Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II, and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- Janeček, Š. & Klimešová, J. (2014) Carbohydrate storage in meadow plants and its depletion after disturbance: do roots and stem-derived organs differ in their roles? *Oecologia*, **175**, 51–61.
- Janeček, Š., Lanta, V., Klimešová, J. & Doležal, J. (2011) Effect of abandonment and plant classification on carbohydrate reserves of meadow plants. *Plant Biology*, **13**, 243–251.
- Jefferies, R.L., Walker, N.A., Edwards, K. a. & Dainty, J. (2010) Is the decline of soil microbial biomass in late winter coupled to changes in the physical state of cold soils? *Soil Biology and Biochemistry*, **42**, 129–135.
- 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., Gellesch, E., Glaser, B., Grant, K., Hein, R., Lara, M., Mirzae, H., Nadler, S.E., Nagy, L., Otieno, D., Pritsch, K., Rascher, U., Schädler, M., Schlöter, M., Singh, B.K., Stadler, J., Walter, J., Wellstein, C., Wöllecke, J. & Beierkuhnlein, C. (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689–702.
- Jonas, T., Rixen, C., Sturm, M. & Stoeckli, V. (2008) How alpine plant growth is linked to snow cover and climate variability. *Journal of Geophysical Research*, **113**, G03013.
- Jump, A.S. & Peñuelas, J. (2005) Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, **8**, 1010–1020.
- Jung, V., Albert, C.H., Violle, C., Kunstler, G., Loucougaray, G. & Spiegelberger, T. (2014) Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events (ed W Cornwell). *Journal of Ecology*, **102**, 45–53.
- Jusselme, M.-D., Saccone, P., Zinger, L., Faure, M., Le Roux, X., Guillaumaud, N., Bernard, L., Clement, J.-C. & Poly, F. (2016) Variations in snow depth modify N-related soil microbial abundances and functioning during winter in subalpine grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **92**, 27–37.
- Kampmann, D., Herzog, F., Jeanneret, P., Konold, W., Peter, M., Walter, T., Wildi, O. & Lüscher,

- A. (2008) Mountain grassland biodiversity: Impact of site conditions versus management type. *Journal for Nature Conservation*, **16**, 12–25.
- Keller, F., Goyette, S. & Beniston, M. (2005) Sensitivity Analysis of Snow Cover to Climate Change Scenarios and Their Impact on Plant Habitats in Alpine Terrain. *Climatic Change*, **72**, 299–319.
- Keller, F. & Körner, C. (2003) The Role of Photoperiodism in Alpine Plant Development. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **35**, 361–368.
- Klimeš, L. & Klimešová, J. (2002) The effects of mowing and fertilization on carbohydrate reserves and regrowth of grasses: do they promote plant coexistence in species-rich meadows? *Ecology and Evolutionary Biology of Clonal Plants: Proceedings of Clone-2000. An International Workshop held in Obergurgl, Austria, 20--25 August 2000* (eds J.F. Stuefer, B. Erschbamer, H. Huber & J.-I. Suzuki), pp. 141–160. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Knapp, A.K., Beier, C., Briske, D.D., Classen, A.T., Luo, Y., Reichstein, M., Smith, M.D., Smith, S.D., Bell, J.E., Fay, P.A., Heisler, J.L., Leavitt, S.W., Sherry, R., Smith, B. & Weng, E. (2008) Consequences of More Extreme Precipitation Regimes for Terrestrial Ecosystems. *BioScience*, **58**, 811–821.
- Körner, C. (2003) *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems (2nd Edn.)*. Springer, Berlin, Deutschland.
- Krasensky, J. & Jonak, C. (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, **63**, 1593.
- Kreyling, J., Beierkuhnlein, C., Elmer, M., Pritsch, K., Radovski, M., Schlöter, M., Wöllecke, J. & Jentsch, A. (2008a) Soil biotic processes remain remarkably stable after 100-year extreme weather events in experimental grassland and heath. *Plant and Soil*, **308**, 175.
- Kreyling, J., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2010) Effects of soil freeze–thaw cycles differ between experimental plant communities. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 65–75.
- Kreyling, J., Beierkuhnlein, C., Pritsch, K., Schlöter, M. & Jentsch, A. (2008b) Recurrent soil freeze–thaw cycles enhance grassland productivity. *New Phytologist*, **177**, 938–945.
- 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.
- Lamarque, P., Tappeiner, U., Turner, C., Steinbacher, M., Bardgett, R.D., Szukics, U., Schermer, M. & Lavorel, S. (2011) Stakeholder perceptions of grassland ecosystem services in relation to knowledge on soil fertility and biodiversity. *Regional Environmental Change*, **11**, 791–804.
- Larsen, T.H., Williams, N.M. & Kremen, C. (2005) Extinction order and altered community structure rapidly disrupt ecosystem functioning. *Ecology Letters*, **8**, 538–547.

- Laternser, M. & Schneebeli, M. (2003) Long-term snow climate trends of the Swiss Alps (1931–99). *International Journal of Climatology*, **23**, 733–750.
- 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., Grigulis, K., Lamarque, P., Colace, M.-P., Garden, D., Girel, J., Pellet, G. & Douzet, R. (2011) Using plant functional traits to understand the landscape distribution of multiple ecosystem services. *Journal of Ecology*, **99**, 135–147.
- Lavorel, S., McIntyre, S., Landsberg, J. & Forbes, T.D.A. (1997) Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**, 474–478.
- Legay, N., Grassein, F., Robson, T.M., Personeni, E., Bataillé, M.P., Lavorel, S. & Clément, J.C. (2013) Comparison of inorganic nitrogen uptake dynamics following snowmelt and at peak biomass in subalpine grasslands. *Biogeosciences*, **10**, 7631–7645.
- Lipson, D.A., Schadt, C.W. & Schmidt, S.K. (2002) Changes in Soil Microbial Community Structure and Function in an Alpine Dry Meadow Following Spring Snow Melt . *Microbial Ecology*, **43**, 307–314.
- Livingston, D.P., Hinch, D.K. & Heyer, A.G. (2009) Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **66**, 2007–2023.
- Llorens, L., Peñuelas, J., Estiarte, M. & Bruna, P. (2004) Contrasting Growth Changes in Two Dominant Species of a Mediterranean Shrubland Submitted to Experimental Drought and Warming. *Annals of Botany*, **94**, 843–853.
- Loik, M.E., Still, C.J., Huxman, T.E. & Harte, J. (2004) In situ photosynthetic freezing tolerance for plants exposed to a global warming manipulation in the Rocky Mountains, Colorado, USA. *New Phytologist*, **162**, 331–341.
- Louault, F., Pillar, V.D., Aufrère, J., Garnier, E., Soussana, J.-F. & Austin, M.P. (2005) Plant traits and functional types in response to reduced disturbance in a semi-natural grassland. *Journal of Vegetation Science*, **16**, 151–160.
- Ludlow, M.M. (1989) Strategies in response to water stress. *Structural and functional response to environmental stresses: water shortage*. (eds H. Kreeb, H. Richter & T. Hinkley), pp. 269–281. SPB Academic Press, Den Haag, Koninkrijk der Nederlanden.
- MA. (2005) *Millennium Ecosystem Assessment. Ecosystems and Human Well-Being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC, USA.
- Mace, G.M., Norris, K. & Fitter, A.H. (2012) Biodiversity and ecosystem services: a multilayered relationship. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 19–26.
- Manning, P., Saunders, M., Bardgett, R.D., Bonkowski, M., Bradford, M.A., Ellis, R.J., Kandeler,

- E., Marhan, S. & Tscherko, D. (2008) Direct and indirect effects of nitrogen deposition on litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**, 688–698.
- Marini, L., Scotton, M., Klimek, S., Isselstein, J. & Pecile, A. (2007) Effects of local factors on plant species richness and composition of Alpine meadows. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **119**, 281–288.
- Martin, E., Brun, E. & Durand, Y. (1994) Sensitivity of the French Alps snow cover to the variation of climatic variables. *Annales Geophysicae*, **12**, 469–477.
- Marty, C. (2008) Regime shift of snow days in Switzerland. *Geophysical Research Letters*, **35**, L12501.
- Mason, N.W.H. & de Bello, F. (2013) Functional diversity: a tool for answering challenging ecological questions. *Journal of Vegetation Science*, **24**, 777–780.
- Mason, N.W.H., MacGillivray, K., Steel, J.B. & Wilson, J.B. (2003) An index of functional diversity. *Journal of Vegetation Science*, **14**, 571–578.
- Matzner, E. & Borken, W. (2008) Do freeze-thaw events enhance C and N losses from soils of different ecosystems? A review. *European Journal of Soil Science*, **59**, 274–284.
- Mayoux, P. (2004) *Fleurs Des Pyrénées Faciles À Reconnaître*. Rando Editions, Toulouse, France.
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E. & Westoby, M. (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 178–185.
- Melillo, J.M., Aber, J.D. & Muratore, J.F. (1982) Nitrogen and Lignin Control of Hardwood Leaf Litter Decomposition Dynamics. *Ecology*, **63**, 621–626.
- Moisselin, J.M. (2002) Les précipitations en France au XXème siècle. *Fr. Chang. Glob*, **13**, 57–62.
- Mooney, H., Larigauderie, A., Cesario, M., Elmquist, T., Hoegh-Guldberg, O., Lavorel, S., Mace, G.M., Palmer, M., Scholes, R. & Yahara, T. (2009) Biodiversity, climate change, and ecosystem services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, **1**, 46–54.
- Morvan-Bertrand, A., Boucaud, J. & Prud'homme, M.-P. (1999) Influence of initial levels of carbohydrates, fructans, nitrogen, and soluble proteins on regrowth of *Lolium perenne* L. cv. Bravo following defoliation. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 1817.
- Mouillot, D., Graham, N.A.J., Villéger, S., Mason, N.W.H. & Bellwood, D.R. (2013) A functional approach reveals community responses to disturbances. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**, 167–177.
- Mouillot, D., Villéger, S., Parravicini, V., Kulbicki, M., Arias-González, J.E., Bender, M., Chabanet, P., Floeter, S.R., Friedlander, A., Vigliola, L. & Bellwood, D.R. (2014) Functional over-redundancy and high functional vulnerability in global fish faunas on tropical reefs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **111**, 13757–13762.
- Nagy, L., Grabherr, G., Körner, C. & Thompson, D.B.A. (2003) *Alpine Biodiversity in Europe*.

Springer, Berlin, Deutschland.

- Nicholls, N. & Alexander, L. (2007) Has the climate become more variable or extreme? Progress 1992-2006. *Progress in Physical Geography*, **31**, 77–87.
- Nie, M., Pendall, E., Bell, C., Gasch, C.K., Raut, S., Tamang, S. & Wallenstein, M.D. (2013) Positive climate feedbacks of soil microbial communities in a semi-arid grassland. *Ecology Letters*, **16**, 234–241.
- Niedrist, G., Tasser, E., Lüth, C., Dalla Via, J. & Tappeiner, U. (2008) Plant diversity declines with recent land use changes in European Alps. *Plant Ecology*, **202**, 195.
- Oliver, T.H., Heard, M.S., Isaac, N.J.B., Roy, D.B., Procter, D., Eigenbrod, F., Freckleton, R., Hector, A., Orme, C.D.L., Petchey, O.L., Proença, V., Raffaelli, D., Suttle, K.B., Mace, G.M., Martín-López, B., Woodcock, B.A. & Bullock, J.M. (2015) Biodiversity and Resilience of Ecosystem Functions. *Trends in Ecology & Evolution*, **30**, 673–684.
- Orsenigo, S., Mondoni, A., Rossi, G. & Abeli, T. (2014) Some like it hot and some like it cold, but not too much: plant responses to climate extremes. *Plant Ecology*, **215**, 677–688.
- Orwin, K.H. & Wardle, D. a. (2004) New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances. *Soil Biology and Biochemistry*, **36**, 1907–1912.
- Parton, W., Silver, W.L., Burke, I.C., Grassens, L., Harmon, M.E., Currie, W.S., King, J.Y., Adair, E.C., Brandt, L.A., Hart, S.C. & Fasth, B. (2007) Global-Scale Similarities in Nitrogen Release Patterns During Long-Term Decomposition. *Science*, **315**, 361–364.
- Pausas, J.G., Lavorel, S. & Lepš, J. (2003) A hierarchical deductive approach for functional types in disturbed ecosystems. *Journal of Vegetation Science*, **14**, 409–416.
- Pérez-Ramos, I.M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A. & Roumet, C. (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, **87**, 126–136.
- Peshev, D., Vergauwen, R., Moglia, A., Hideg, É. & den Ende, W. (2013) Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? *Journal of Experimental Botany*, **64**, 1025.
- Philipona, R. (2013) Greenhouse warming and solar brightening in and around the Alps. *International Journal of Climatology*, **33**, 1530–1537.
- Pilon-Smits, E.A.H., Ebskamp, M.J.M., Paul, M.J., Jeuken, M.J.W., Weisbeek, P.J. & Smeekens, S.C.M. (1995) Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant Physiology*, **107**, 125–130.
- Pimm, S.L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I.J. & Villar, R. (2009) Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, **182**, 565–588.

- Price, M. V & Waser, N.M. (1998) Effects Of Experimental Warming On Plant Reproductive Phenology In A Subalpine Meadow. *Ecology*, **79**, 1261–1271.
- Price, M. V & Waser, N.M. (2000) Responses of subalpine meadow vegetation to four years of experimental warming. *Ecological Applications*, **10**, 811–823.
- Quétier, F. (2006) *Vulnérabilité Des Écosystèmes Semi-Naturels Européens Aux Changements D'utilisation Des Terres - Application Aux Prairies Subalpines de Villar d'Arène, France*. PhD thesis, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Quétier, F., Lavorel, S., Thuiller, W. & Davies, I. (2007a) Plant-trait-based modeling assessment of ecosystem-service sensitivity to land-use change. *Ecological Applications*, **17**, 2377–2386.
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007b) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- Rebetez, M. (1999) Twentieth century trends in droughts in southern Switzerland. *Geophysical Research Letters*, **26**, 755–758.
- Rebetez, M. & Reinhard, M. (2008) Monthly air temperature trends in Switzerland 1901–2000 and 1975–2004. *Theoretical and Applied Climatology*, **91**, 27–34.
- Reich, P.B. (2014) The world-wide “fast–slow” plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, **102**, 275–301.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Walters, M.B., Vose, J.M., Gresham, C., Volin, J.C. & Bowman, W.D. (1999) Generality Of Leaf Trait Relationships: A Test Across Six Biomes. *Ecology*, **80**, 1955–1969.
- Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S. (1997) From tropics to tundra: Global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94**, 13730–13734.
- Reidsma, P., Tekelenburg, T., van den Berg, M. & Alkemade, R. (2006) Impacts of land-use change on biodiversity: An assessment of agricultural biodiversity in the European Union. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **114**, 86–102.
- Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *Journal of Ecology*, **98**, 62–73.
- Robson, T., Lavorel, S., Clement, J. & Roux, X. (2007) Neglect of mowing and manuring leads to slower nitrogen cycling in subalpine grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 930–941.
- Rosenzweig, C., Karoly, D., Vicarelli, M., Neofotis, P., Wu, Q., Casassa, G., Menzel, A., Root, T.L., Estrella, N., Seguin, B., Tryjanowski, P., Liu, C., Rawlins, S. & Imeson, A. (2008) Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change. *Nature*, **453**, 353–357.
- Roumet, C., Urcelay, C. & Díaz, S. (2006) Suites of root traits differ between annual and perennial

- species growing in the field. *New Phytologist*, **170**, 357–368.
- Rutherford, G.N., Bebi, P., Edwards, P.J. & Zimmermann, N.E. (2008) Assessing land-use statistics to model land cover change in a mountainous landscape in the European Alps. *Ecological Modelling*, **212**, 460–471.
- Saccone, P., Morin, S., Baptist, F., Bonneville, J.-M., Colace, M.-P., Domine, F., Faure, M., Geremia, R., Lochet, J., Poly, F., Lavorel, S. & Clément, J.-C. (2013) The effects of snowpack properties and plant strategies on litter decomposition during winter in subalpine meadows. *Plant and Soil*, **363**, 215–229.
- Sala, O.E., Stuart Chapin, F., III, Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H. (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science*, **287**, 1770 LP-1774.
- Sanaullah, M., Rumpel, C., Charrier, X. & Chabbi, A. (2012) How does drought stress influence the decomposition of plant litter with contrasting quality in a grassland ecosystem? *Plant and Soil*, **352**, 277–288.
- Schär, C. & Jendritzky, G. (2004) Climate change: Hot news from summer 2003. *Nature*, **432**, 559–560.
- Schär, C., Vidale, P., Lüthi, D. & Frei, C. (2004) The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature*, **427**, 3926–3928.
- Scherer-Lorenzen, M. (2008) Functional diversity affects decomposition processes in experimental grasslands. *Functional Ecology*, **22**, 547–555.
- Scherrer, S. & Appenzeller, C. (2006) Swiss Alpine snow pack variability: major patterns and links to local climate and large-scale flow. *Climate Research*, **32**, 187–199.
- Scherrer, S.C., Appenzeller, C. & Laternser, M. (2004) Trends in Swiss Alpine snow days: The role of local- and large-scale climate variability. *Geophysical Research Letters*, **31**, n/a--n/a.
- Scherrer, S.C., Appenzeller, C. & Liniger, M.A. (2006) Temperature trends in Switzerland and Europe: implications for climate normals. *International Journal of Climatology*, **26**, 565–580.
- Scherrer, S.C., Appenzeller, C., Liniger, M.A. & Schär, C. (2005) European temperature distribution changes in observations and climate change scenarios. *Geophysical Research Letters*, **32**, n/a--n/a.
- Scherrer, D. & Körner, C. (2010) Infra-red thermometry of alpine landscapes challenges climatic warming projections. *Global Change Biology*, **16**, 2602–2613.
- Schimel, J., Balser, T. & Wallenstein, M. (2007) Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*, **88**, 1386–1394.
- Schimel, J.P. & Klein, J.S. (1996) Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga

- soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**, 1061–1066.
- Schimel, J.P., Gullledge, J.M., Clein-Curley, J.S., Lindstrom, J.E. & Braddock, J.F. (1999) Moisture effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 831–838.
- Schmidli, J. & Frei, C. (2005) Trends of heavy precipitation and wet and dry spells in Switzerland during the 20th century. *International Journal of Climatology*, **25**, 753–771.
- Schöner, W., Auer, I. & Böhm, R. (2009) Long term trend of snow depth at Sonnblick (Austrian Alps) and its relation to climate change. *Hydrological Processes*, **23**, 1052–1063.
- Schröter, C.J. (1908) *Das Pflanzenleben Der Alpen: Eine Schilderung Der Hochgebirgsflora*. Albert Raustein, Zurich, Switzerland.
- Schuster, M.J. (2016) Increased rainfall variability and N addition accelerate litter decomposition in a restored prairie. *Oecologia*, **180**, 645–655.
- Sebastiá, M.-T. (2004) Role of topography and soils in grassland structuring at the landscape and community scales. *Basic and Applied Ecology*, **5**, 331–346.
- Sebastiá, M.-T. (2007) Plant guilds drive biomass response to global warming and water availability in subalpine grassland. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 158–167.
- Sebastiá, M.-T., Kirwan, L. & Connolly, J. (2008) Strong shifts in plant diversity and vegetation composition in grassland shortly after climatic change. *Journal of Vegetation Science*, **19**, 299–306.
- Seneviratne, S.I. (2012) Climate science: Historical drought trends revisited. *Nature*, **491**, 338–339.
- Seneviratne, S.I., Nicholls, N., Easterling, D., Goodess, C.M., Kanae, S., Kossin, J., Reichstein, M. & Changes in climate extremes and their impacts on the natural physical environment. Managing the risks of extreme events and disasters to advance climate change adaptation, 109–230. (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, A Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on C*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- Serquet, G., Marty, C., Dulex, J.-P. & Rebetez, M. (2011) Seasonal trends and temperature dependence of the snowfall/precipitation-day ratio in Switzerland. *Geophysical Research Letters*, **38**, n/a--n/a.
- Serquet, G., Marty, C. & Rebetez, M. (2013) Monthly trends and the corresponding altitudinal shift in the snowfall/precipitation day ratio. *Theoretical and Applied Climatology*, **114**, 437–444.
- Sharma, S., Szele, Z., Schilling, R., Munch, J.C. & Schlöter, M. (2006) Influence of Freeze-Thaw Stress on the Structure and Function of Microbial Communities and Denitrifying Populations in Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 2148–2154.

- Spiegelberger, T., Matthies, D., Müller-Schärer, H. & Schaffner, U. (2006) Scale-dependent effects of land use on plant species richness of mountain grassland in the European Alps. *Ecography*, **29**, 541–548.
- Spollen, W.G. & Nelson, C.J. (1994) Response of Fructan to Water Deficit in Growing Leaves of Tall Fescue. *Plant Physiology*, **106**, 329–336.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B. & Sörlin, S. (2015) Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, **347**.
- Steger, C., Kotlarski, S., Jonas, T. & Schär, C. (2013) Alpine snow cover in a changing climate: a regional climate model perspective. *Climate Dynamics*, **41**, 735–754.
- Sterk, M., Gort, G., Klimkowska, A., van Ruijven, J., van Teeffelen, A.J.A. & Wamelink, G.W.W. (2013) Assess ecosystem resilience: Linking response and effect traits to environmental variability. *Ecological Indicators*, **30**, 21–27.
- Stinson, K.A. (2004) Natural selection favors rapid reproductive phenology in *Potentilla pulcherrima* (Rosaceae) at opposite ends of a subalpine snowmelt gradient. *American Journal of Botany*, **91**, 531–539.
- Suding, K.N., Lavorel, S., Chapin, F.S., Cornelissen, J.H.C., Díaz, S., Garnier, E., Goldberg, D., Hooper, D.U., Jackson, S.T. & Navas, M.-L. (2008) Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology*, **14**, 1125–1140.
- Swift, M.J., Heal, O.W. & Anderson, J.M. (1979) *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. University of California Press, Berkeley, CA, USA.
- Tappeiner, U., Tasser, E., Leitinger, G., Cernusca, A. & Tappeiner, G. (2008) Effects of Historical and Likely Future Scenarios of Land Use on Above- and Belowground Vegetation Carbon Stocks of an Alpine Valley. *Ecosystems*, **11**, 1383–1400.
- Tasser, E. & Tappeiner, U. (2002) Impact of land use changes on mountain vegetation. *Applied Vegetation Science*, **5**, 173–184.
- Tasser, E., Walde, J., Tappeiner, U., Teutsch, A. & Nogglar, W. (2007) Land-use changes and natural reforestation in the Eastern Central Alps. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **118**, 115–129.
- Taylor, B.R., Parkinson, D. & Parsons, W.F.J. (1989) Nitrogen and Lignin Content as Predictors of Litter Decay Rates: A Microcosm Test. *Ecology*, **70**, 97–104.
- Theurillat, J. & Guisan, A. (2001) Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Climatic change*, 77–109.

- Tierney, G.L., Fahey, T.J., Peter, M., Hardy, J.P., Fitzhugh, R.D. & Driscoll, C.T. (2001) Soil freezing alters fine root dynamics in a northern hardwood forest. *Biogeochemistry*, **56**, 175–190.
- Tilman, D. (1997) Distinguishing between the Effects of Species Diversity and Species Composition. *Oikos*, **80**, 185.
- Tilman, D., Naeem, S., Knops, J., Reich, P., Siemann, E., Wedin, D., Ritchie, M. & Lawton, J. (1997) Biodiversity and Ecosystem Properties. *Science*, **278**, 1865 LP-1869.
- Tu, L., Hu, H., Chen, G., Peng, Y., Xiao, Y., Hu, T., Zhang, J., Li, X., Liu, L. & Tang, Y. (2014) Nitrogen Addition Significantly Affects Forest Litter Decomposition under High Levels of Ambient Nitrogen Deposition. *PLOS ONE*, **9**, 1–9.
- Valluru, R. & den Ende, W. (2008) Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects. *Journal of Experimental Botany*, **59**, 2905.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Demel, R.A., Smeekens, S.C.M. & Kruijff, B. De. (2001) Fructans insert between the headgroups of phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, **1510**, 307–320.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Hoekstra, F.A., Smeekens, S.C.M. & de Kruijff, B. (2003a) The Effect of Fructan on Membrane Lipid Organization and Dynamics in the Dry State. *Biophysical Journal*, **84**, 3759–3766.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Islamov, A., Kuklin, A., Hinch, D.K. & Kruijff, B. de. (2003b) The Effect of Fructan on the Phospholipid Organization in the Dry State. *Biophysical Journal*, **85**, 3058–3065.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos*, **116**, 882–892.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J. & Melillo, J.M. (1997) Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science*, **277**, 494–499.
- Vittoz, P., Randin, C., Dutoit, A., Bonnet, F. & Hegg, O. (2009) Low impact of climate change on subalpine grasslands in the Swiss Northern Alps. *Global Change Biology*, **15**, 209–220.
- 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. & Lelièvre, 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.R. & Lelièvre, F. (2009) Summer Drought Survival Strategies and Sustainability of Perennial Temperate Forage Grasses in Mediterranean Areas All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any

- means, electronic or mechanical, incl. *Crop Science*, **49**, 2386–2392.
- de Vries, F.T., Liiri, M.E., Bjørnlund, L., Setälä, H.M., Christensen, S. & Bardgett, R.D. (2012) Legacy effects of drought on plant growth and the soil food web. *Oecologia*, **170**, 821–833.
- Walter, J., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Kreyling, J., Weber, M. & Jentsch, A. (2012) Increased rainfall variability reduces biomass and forage quality of temperate grassland largely independent of mowing frequency. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **148**, 1–10.
- Walter, J., Hein, R., Beierkuhnlein, C., Hammerl, V., Jentsch, A., Schädler, M., Schuerings, J. & Kreyling, J. (2013) Combined effects of multifactor climate change and land-use on decomposition in temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **60**, 10–18.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004) Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science*, **304**, 1629–1633.
- Wardle, D.A., Barker, G.M., Bonner, K.I. & Nicholson, K.S. (1998) Can comparative approaches based on plant ecophysiological traits predict the nature of biotic interactions and individual plant species effects in ecosystems? *Journal of Ecology*, **86**, 405–420.
- Weiher, E., van der Werf, A., Thompson, K., Roderick, M., Garnier, E. & Eriksson, O. (1999) Challenging Theophrastus: A common core list of plant traits for functional ecology. *Journal of Vegetation Science*, **10**, 609–620.
- Welker, J.M., Fahnestock, J.T., Sullivan, P.F. & Chimner, R.A. (2005) Leaf mineral nutrition of Arctic plants in response to warming and deeper snow in northern Alaska. *Oikos*, **109**, 167–177.
- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P.A. & Wright, I.J. (2002) Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 125–159.
- White, L.M. (1973) Carbohydrate Reserves of Grasses: A Review. *Journal of Range Management*, **26**, 13–18.
- Wielke, L.-M., Haimberger, L. & Hantel, M. (2004) Snow cover duration in Switzerland compared to Austria. *Meteorologische Zeitschrift*, **13**, 13–17.
- Wiemken, A., Sprenger, N. & Boller, T. (1995) Fructan: an extension of sucrose by sucrose. *Sucrose Metabolism, Biochemistry, Physiology and Molecular Biology* (eds H. Pontis, G. Salerno & E. Echeverria), pp. 178–189. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, USA.
- Wipf, S. (2010) Phenology, growth, and fecundity of eight subarctic tundra species in response to snowmelt manipulations. *Plant Ecology*, **207**, 53–66.
- Wipf, S. & Rixen, C. (2010) A review of snow manipulation experiments in Arctic and alpine

- tundra ecosystems. *Polar Research*, **29**, 95–109.
- Wipf, S., Rixen, C. & Mulder, C.P.H. (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Global Change Biology*, **12**, 1496–1506.
- Wipf, S., Stoeckli, V. & Bebi, P. (2009) Winter climate change in alpine tundra: plant responses to changes in snow depth and snowmelt timing. *Climatic Change*, **94**, 105–121.
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.-L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J. & Villar, R. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, **428**, 821–827.
- Yoshida, M., Abe, J., Moriyama, M. & Kuwabara, T. (1998) Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. *Physiologia Plantarum*, **103**, 8–16.
- Zebisch, M., Wechsung, F. & Kenneweg, H. (2004) Landscape response functions for biodiversity—assessing the impact of land-use changes at the county level. *Landscape and Urban Planning*, **67**, 157–172.
- Zhang, T. (2005) Influence of the seasonal snow cover on the ground thermal regime: An overview. *Reviews of Geophysics*, **43**, n/a--n/a.
- Zhang, D., Hui, D., Luo, Y. & Zhou, G. (2008) Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology*, **1**, 85–93.
- Zimmermann, P., Tasser, E., Leitinger, G. & Tappeiner, U. (2010) Effects of land-use and land-cover pattern on landscape-scale biodiversity in the European Alps. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **139**, 13–22.

CHAPITRE 2 : EXPÉRIMENTATIONS ET MÉTHODES

Ma thèse s’est appuyée sur un dispositif expérimental d’envergure qui a permis divers suivis et campagnes d’échantillonnage de la végétation et du sol. Ce chapitre présente le lieu, la mise en place et les travaux réalisés lors de cette expérimentation durant quatre années. Les différentes modalités de ces travaux aboutissent à la segmentation de cette étude en quatre chapitres distincts formant le corps de ma thèse.

2.1 - LES PRAIRIES SUBALPINES DE LA HAUTE-ROMANCHE

Notre étude porte sur la haute vallée de la Romanche et plus précisément sur les prairies subalpines situées sur l'adret de la commune de Villar d'Arène (45°02'N, 6°20' E) entre 1650 et 2100 m d'altitude en aval du Col du Lautaret, dans le département des Hautes Alpes (Région Provence Alpes Côte d'Azur, France) (Figure 2.1).

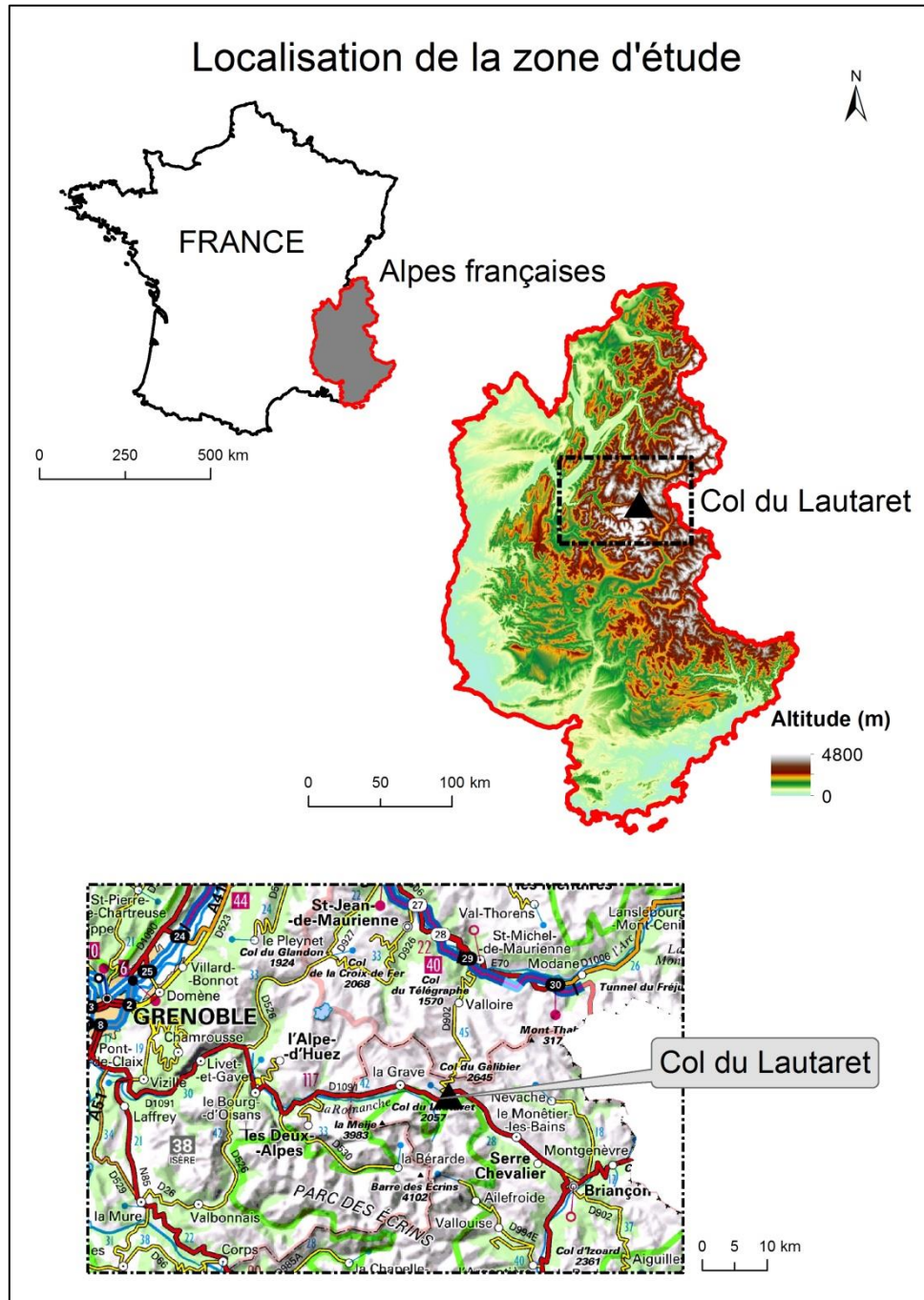


Figure 2.1. Localisation de la zone d'étude dans les Alpes françaises (Crédits : Emilie Crouzat).

2.1.1 - LES CONDITIONS CLIMATIQUES SUBALPINES

La région du Col du Lautaret est soumise à un climat intermédiaire entre les Alpes internes (hivers froids et étés chauds, faibles régimes de précipitations avec un léger creux estival) et externes (amplitude thermique moins marquée, précipitations plus fortes et régulières au cours de l'année) (Aubert *et al.* 2011) résultant de sa situation géographique au carrefour d'un climat océanique à l'Ouest, d'un climat continental à l'Est et d'influences méditerranéennes en provenance du Sud (Ozenda 1985). Les prairies subalpines sont ainsi soumises à de fortes amplitudes thermiques avec deux saisons très contrastées, un hiver prolongé, froid et humide à l'inverse d'un été court, relativement chaud et sec. Les températures mensuelles moyennes varient de - 7°C en février à +16°C en juillet, tandis que la moyenne annuelle de précipitations est de 956 mm, la plupart tombant sous forme de neige durant l'hiver et seulement 18% en été entraînant une sécheresse estivale naturelle prononcée (Quétier 2006). Cette accumulation de neige forme un important manteau neigeux, pouvant dépasser les trois mètres d'épaisseur par endroits du fait du travail du vent. Ce manteau neigeux perdure tard dans le printemps et entraîne par conséquent une relativement courte période de végétation. Cette dernière débute à la fonte des neiges, entre mi-avril et mi-mai selon les années, l'altitude et la topographie, et s'achève fin septembre, début octobre.

Compte tenu de ces caractéristiques climatiques, l'optimum de végétation (climax) de cette région est forestier avec des espèces dominantes comme le pin cembro (*Pinus Cembra*) ou le pin à crochet (*Pinus uncinata*) jusqu'à une altitude de 2200-2300 m marquant la limite entre les étages subalpin et alpin (Ozenda 1985). La végétation herbacée rencontrée en lieu et place témoigne de la colonisation humaine progressive à partir du Moyen Age et de la déforestation associée jusqu'à l'optimum démographique du XIX^{ème} siècle (Girel *et al.* 2010).

2.1.2 - CARACTERISTIQUES DES GROUPEMENTS VEGETAUX LIES AUX ACTIVITES HUMAINES

L'adret de Villar d'Arène est caractérisé par une mosaïque de prairies (description détaillée dans Quétier, Thébault & Lavorel 2007). La combinaison des facteurs climatiques et anthropiques (notamment les pratiques agricoles telles que la fauche et les cultures sur terrasses pour casser la pente) a permis le développement de communautés végétales à forte diversité spécifique et fonctionnelle (Quétier *et al.* 2007). Cette diversité varie selon l'utilisation des terres (labour, fertilisation organique, fauche, pâturage) avec notamment l'arrêt de la fauche des prairies les plus difficiles d'accès au profit d'un pâturage extensif depuis la fin de la seconde guerre mondiale. Ces différents types d'utilisation des terres agricoles ont été classés en « trajectoires » définies par la combinaison des usages historiques et de la gestion actuelle des prairies (Quétier *et al.* 2007, Girel *et al.* 2010) :

- sur les anciennes terrasses, historiquement labourées et utilisées pour la culture (majoritairement céréalière : avoine, froment, orge et seigle ; ou de pommes de terres, Girel *et al.* 2010) ou pour la production de fourrage, on retrouve aujourd'hui les prairies fauchées et fertilisées (T1), les prairies uniquement fauchées (T2) et les prairies pâturées (T3).
- sur les anciennes prairies de fauches, non terrassées et jamais labourées, on retrouve aujourd'hui les prairies d'altitude fauchées (T4) et les prairies d'altitude pâturées (T5).
- les alpages (T6), prairies jamais fauchées et pâturées depuis au moins 1810.

Les prairies terrassées, fertilisées et fauchées (T1) présentent la plus forte diversité spécifique et fonctionnelle. Elles sont dominées par des espèces exploitatrices (c.à.d. surface foliaire élevée, forte concentration en azote foliaire et faible teneur en matière sèche foliaire) qui représentent $55 \pm 17\%$ de la biomasse totale comme *Dactylis glomerata*, *Trisetum flavescens*, *Chaerophyllum hirsutum*, *Heracleum sphondylium*, *Geranium sylvaticum* ou *Gentiana lutea*, coexistant avec des espèces conservatrices qui représentent $45 \pm 12\%$ de la biomasse totale (Quétier *et al.* 2007). Cette forte diversité végétale est due à la combinaison de la fauche avec l'apport d'azote et de phosphore via un épandage de fumier (épandu à des doses de 10 à 20 tonnes/ha et qui représente 5kg de nitrite et 15 unité de potassium par tonne de fumier frais, Lamarque 2012) qui augmente la disponibilité des nutriments, normalement basse dans ces prairies (78 mg par kg de sol d'azote minéral en moyenne pour T1/T2 /T3 vs 6.1 mg par kg de sol en moyenne pour T4/T5, Robson *et al.* 2007). Les prairies terrassées, fauchées ou pâturées mais non fertilisées (T2 et T3) sont dominées par des espèces conservatrices (c.à.d. faible surface foliaire, faible concentration en azote foliaire et forte teneur en

matière sèche foliaire) comme *Bromopsis erecta*, *Briza media*, *Sesleria caerulea* ou *Festuca ovina*, et présentent une diversité spécifique et fonctionnelle plus faible, en particulier sous pâturage plutôt que fauche. Les prairies de pente situées plus en altitude, fauchées depuis plusieurs siècles mais non fertilisées (T4), sont dominées par des espèces conservatrices comme *Patzkea paniculata*, *Meum athamanticum*, *Sanguisorba officinalis* ou *Carex sempervirens*, et présentent une diversité spécifique et fonctionnelle intermédiaire. Les prairies d'altitude situées en pente, où persiste uniquement un pâturage extensif après un arrêt progressif de la fauche surtout depuis les années 1970 (T5), sont fortement dominées par des espèces conservatrices qui représentent $80 \pm 8\%$ de la biomasse totale et sont plus particulièrement dominées par *Patzkea paniculata* qui à elle seule représente plus de 70% de la biomasse totale (Quétier *et al.* 2007). L'expérimentation mise en place pour cette thèse s'est basée schématiquement sur cette diversité fonctionnelle de prairies à l'échelle du paysage, et leurs relations aux pratiques de gestion agricole.

2.2 - EXPERIMENTATION EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES

2.2.1 - SITE EXPÉRIMENTAL

Le dispositif expérimental a été installé au Col du Lautaret (45°02'13''N, 6°24'01''E) au sein de la Zone Expérimentale Naturelle de l'Unité Mixte de Services Station Alpine Joseph Fourier (SAJF, UMS 3370 UGA-CNRS, membre des réseaux AnaEE-France et LTER-Europe) à 2100 m d'altitude au cours des étés 2012 et 2013 (Figure 2.2). De plus, cette étude est partie prenante de la Zone Atelier Alpes qui anime et fédère des recherches portant sur la problématique « Diversité, fonctionnement et services des géo-socio-écosystèmes alpins dans un contexte de changements climatiques et de mutations des territoires de montagne ».

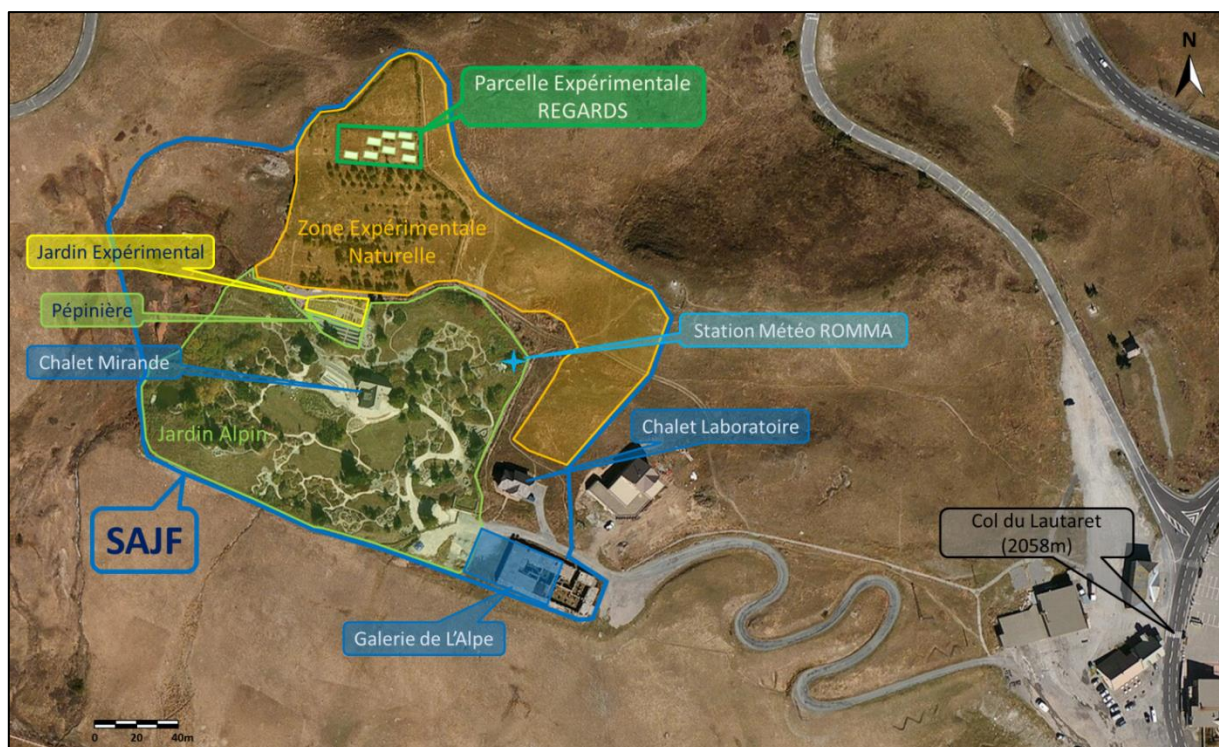


Figure 2.2. Situation de la parcelle expérimentale au sein de la SAJF, non loin du Col du Lautaret. (Photo aérienne GéoPortail).

2.2.2 - DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

Le dispositif se décline sous la forme d'une expérimentation en conditions semi-contrôlées, basée sur la mise en place de mésocosmes qui sont des écosystèmes artificiels et simplifiés, convenant ainsi parfaitement aux contraintes liées à la problématique de cette étude. En effet, ils permettent à la fois le contrôle de paramètres biotiques tels que la biodiversité et/ou la composition fonctionnelle, en manipulant le nombre et l'abondance des espèces tout en maintenant une densité constante (Hooper, Chapin & Ewel 2005; Legay 2013), ainsi que le contrôle de paramètres abiotiques, en étant implantés *in situ* et en manipulant les conditions climatiques locales.

2.2.2.1 - MATÉRIEL VÉGÉTAL

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur les espèces de graminées qui représentent 50% à 80% du couvert total des prairies subalpines sur l'adret de Villar d'Arène (Gross, Suding & Lavorel 2007). Nous avons sélectionné trois espèces vivaces à touradons réparties le long d'un gradient de stratégie d'utilisation des ressources allant de la conservation à l'exploitation des ressources: la très conservatrice *Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos (anciennement *Festuca paniculata* (L.) Schinz & Thell.) (Figure 2.3); la relativement plus exploitatrice *Dactylis glomerata* (L.) (Figure 2.4); et la fonctionnellement intermédiaire *Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr. (anciennement *Bromus erectus* (Huds.)) (Figure 2.5) par rapport au pool d'espèces herbacées locales. Cette sélection s'est opérée compte tenu de la teneur en matière sèche foliaire (LDMC), de la concentration en azote foliaire (LNC) ainsi que sur la hauteur de végétation, mesurée en conditions optimales de croissance (non contraintes par les ressources, Tableau 2.1, Gross *et al.* 2007; Grassein *et al.* 2015).

Espèces	LDMC (mg.g ⁻¹)	LNC (mg.g ⁻¹)	Hauteur végétative (cm)
<i>Dactylis glomerata</i>	295	22.2	29.3
<i>Bromopsis erecta</i>	396	13.7	21.7
<i>Patzkea paniculata</i>	385	11.6	49.1

Tableau 2.1. Valeurs de traits moyens au champ des trois espèces d'intérêts ; LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.

Nous avons choisi de travailler avec un nombre restreint d'espèces dominantes et subordonnées issues de la mosaïque de communautés végétales décrites ci-dessus, afin d'appréhender au mieux les mécanismes fins de résilience de ces prairies face au changement global. De façon plus détaillée, la fétuque paniculée (*Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos, Figure 2.3) est une graminée pérenne (C3) cespiteuse géophyte à bulbe typiquement subalpine, de sols plutôt profonds. Cette espèce a été classée dans le groupe des compétiteurs conservatifs avec une canopée dense, une extension latérale importante, une croissance assez rapide, mais présentant des feuilles résistantes et fibreuses avec un fort C/N et une faible surface spécifique foliaire (Gross *et al.* 2007). C'est l'espèce dominante des prairies subalpines d'adret où la fauche a cessé. Elle est co-dominante dans les prés de fauche et devient dominante après l'arrêt de la fauche (Quétier *et al.* 2007). Le brome érigé (*Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr., Figure 2.5) est une graminée pérenne (C3) cespiteuse commune dans les pelouses semi-naturelles infertiles à tendance xérique (Grime, Hodgson & Hunt 1988; Corcket *et al.* 2003). Cette espèce démontre une stratégie intermédiaire entre compétiteur et tolérant au stress avec une croissance lente et une surface spécifique foliaire intermédiaire (Ryser & Urbas 2000; Ryser & Wahl 2001). Cette espèce est dominante au sein des prairies terrassées mais non amendées et devient subordonnée dans les prés de fauche (Quétier *et al.* 2007). Le dactyle aggloméré (*Dactylis glomerata* (L.), Figure 2.4) est une graminée pérenne cespiteuse ou clonale (cespiteuse sur le site d'étude) présentant une stratégie plutôt exploitatrice en comparaison des deux précédentes espèces. Elle se caractérise par une croissance plus rapide, des feuilles larges, peu épaisses et appétentes présentant un faible C/N et une surface spécifique foliaire supérieure aux deux graminées précédentes (Grime *et al.* 1988). Elle est dominante sur les prairies terrassées et régulièrement amendées et devient subordonnée dans les prés de fauche ; on la trouve aussi comme espèce subordonnée dans les prairies non fauchées dominées par *Patzkea paniculata* (Quétier *et al.* 2007).

Ces prairies subalpines sont exclusivement dominées par de la végétation pérenne où les événements de recrutement *via* la banque de graines sont rares (Zeiter, Stampfli & Newbery 2006). Pour cette raison, nous avons choisi de nous concentrer sur les stades adultes de végétation et d'utiliser des talles matures collectées sur le terrain. Toutes les espèces ont été échantillonnées dans les prairies subalpines voisines de la SAJF, sur le site d'étude de l'adret Villar d'Arène.

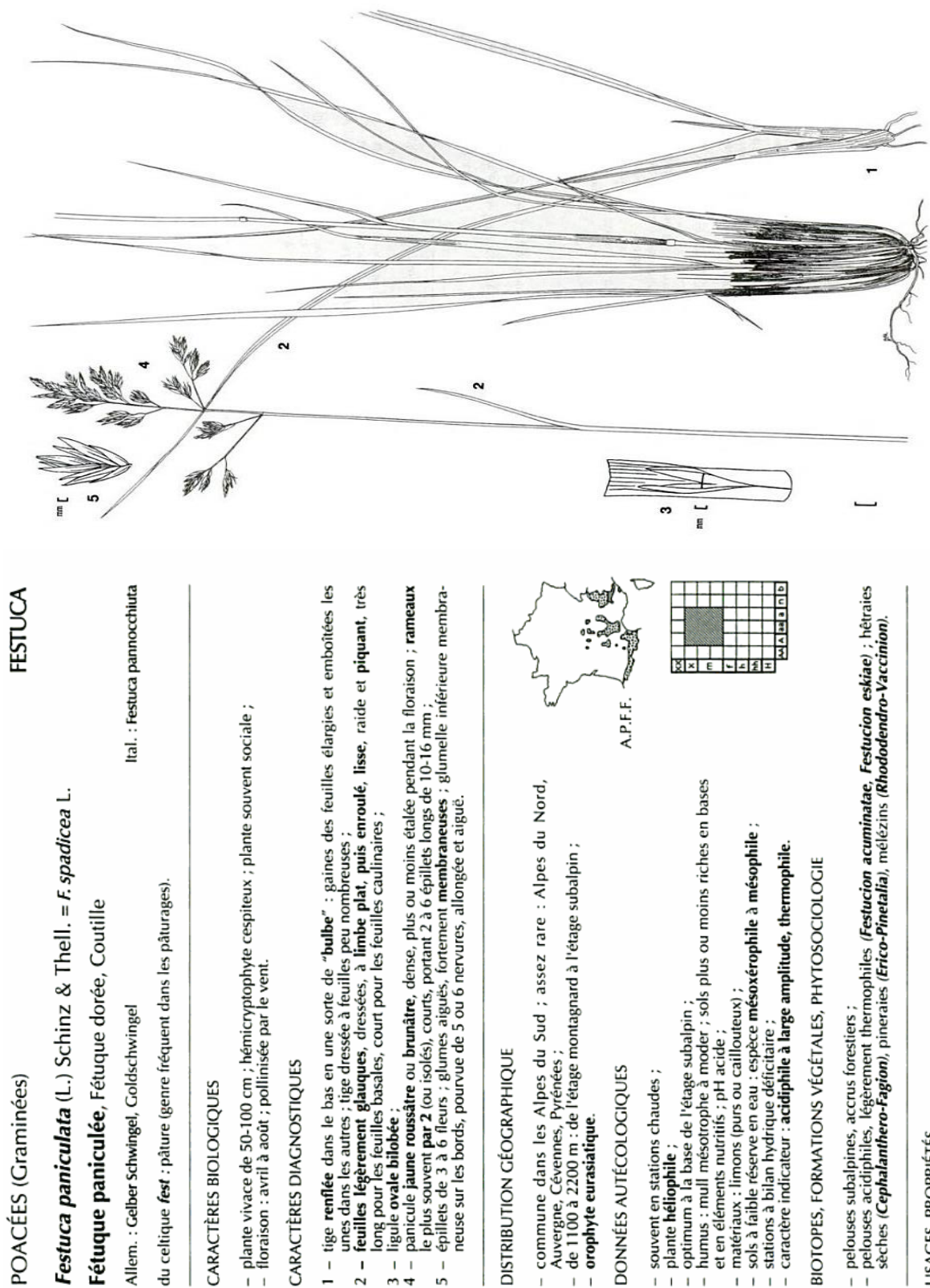


Figure 2.3. Description et planche illustrée de *Festuca paniculata* (nouvellement *Patzkea paniculata*) issue de la Flore forestière française (guide écologique illustré. Tome 2, Montagnes). Rameau, J. C., Mansion, D., & Dumé, G. (1993).

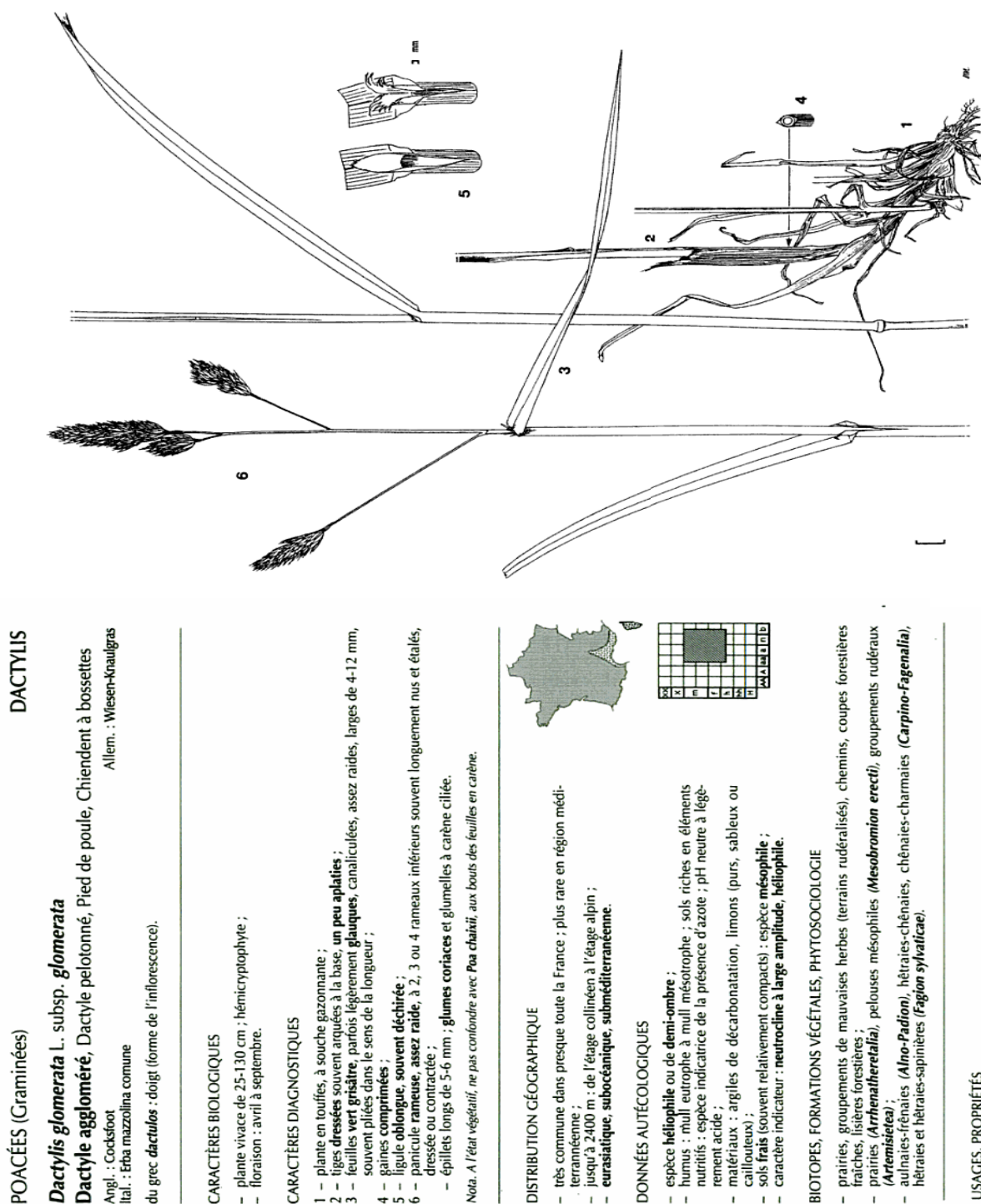


Figure 2.4. Description et planche illustrée de *Dactylis glomerata* issue de la Flore forestière française (guide écologique illustré. Tome 2, Montagnes). Rameau, J. C., Mansion, D., & Dumé, G. (1993).

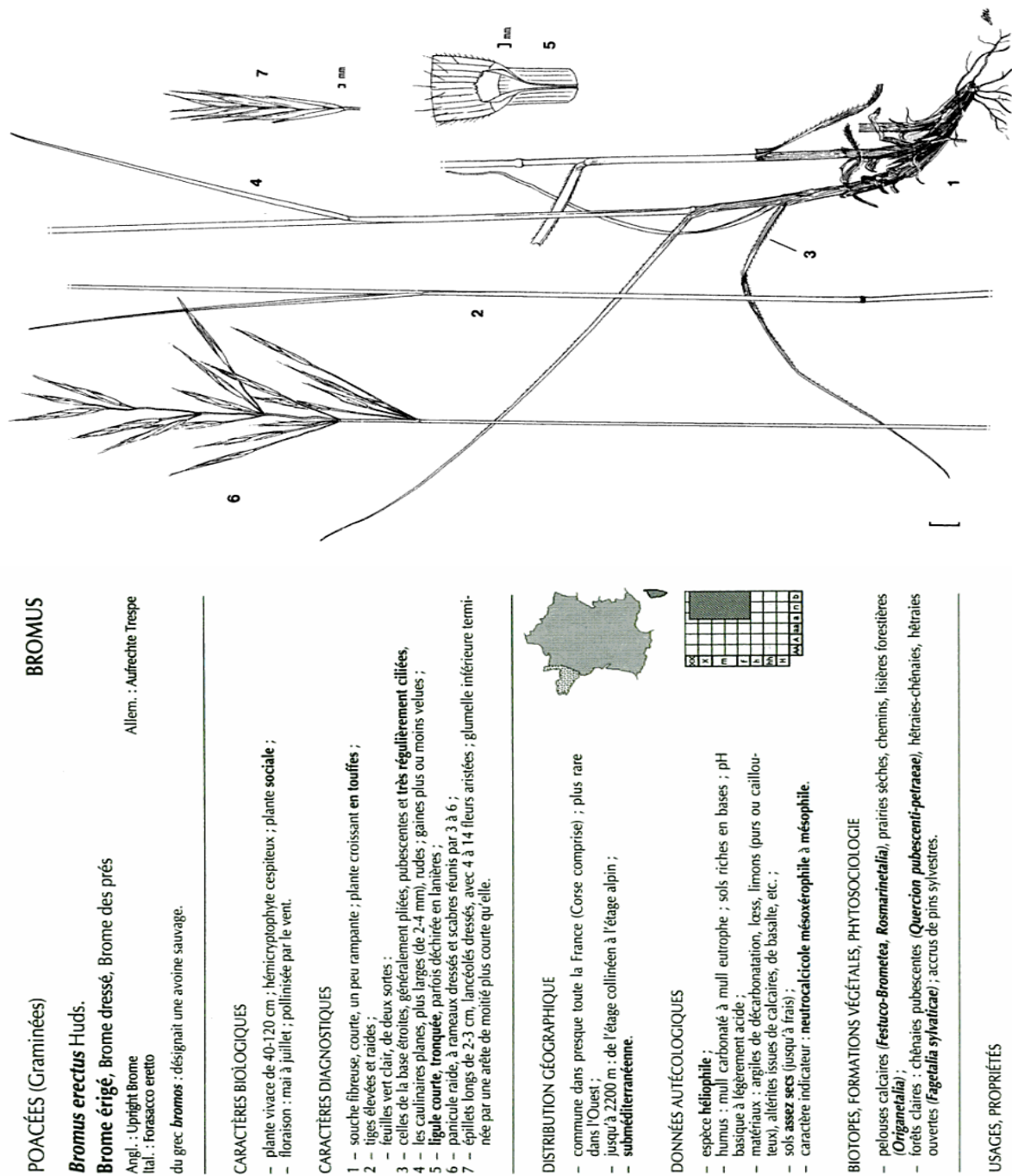


Figure 2.5. Description et planche illustrée de *Bromus erectus* (nouvellement *Bromopsis erecta*) issue de la Flore forestière française (guide écologique illustré. Tome 2, Montagnes). Rameau, J. C., Mansion, D., & Dumé, G. (1993).

2.2.2.2 - DISPOSITIF EXPERIMENTAL EN SPLIT-PLOT

Fin Juillet 2012, des talles des trois espèces de graminées ont été séparées de grands touradons et plantées dans des godets individuels remplis avec du terreau. Au total 4608 godets ont été préparés avec l'aide de Remy LASSEUR (ingénieur d'étude contractuel au LECA). Début Septembre 2012, ces talles ont de nouveau été transplantées, cette fois-ci dans les mésocosmes (pots plastiques de 50L: Ø 45 cm, h 50 cm) remplis avec du sol prélevé *in situ* sous prairie pâturée à *Patzkea paniculata*, tamisé (5 mm, homogeneous calc-shale substrate) et homogénéisé (seule la fraction de sol de -10 à -50 cm a été conservée pour éviter à la fois les débris végétaux épigés et hypogés ainsi que les graines, Tableau 2.2). Le repiquage s'est effectué après rinçage des racines afin de minimiser d'éventuelles contaminations dues au terreau. J'ai encadré différentes équipes d'une dizaine de personnes (équipe FYSE-LECA - équipe du LEM-Lyon) lors de l'étape de tamisage de la terre et de sa mise en place dans les pots ainsi que pour l'étape de la transplantation des individus dans les mésocosmes.

Au total 36 plants ont été disposés dans chaque mésocosme, selon quatre assemblages spécifiques présentés dans la figure 2.6a. Nous travaillons donc à nombre d'espèces et d'individus constant pour nous intéresser uniquement à l'effet de la composition fonctionnelle, et en particulier des variations de stratégies d'acquisition des ressources moyennes pondérées sur la communauté (*via* les traits fonctionnels, Figure 2.7). L'analyse de certains de ces mêmes traits mesurés à la fin de l'expérimentation sur les communautés « contrôle » nous apprend que le gradient a été globalement conservé durant cette étude. Dans chacune des communautés, les 36 individus ont été transplantés selon une répartition spatiale identique (Figure 2.6b). Pour faciliter ce travail, j'ai mis au point un système de cadres quadrillés référençant l'emplacement de chaque talle par espèce pour chacune des quatre communautés.

	SOM (mg.g ⁻¹)	pH	Carbone (mg.g ⁻¹)	Azote (mg.g ⁻¹)	C/N
Temps initial	6.80 ± 0.075	4.50 ± 0.010	2.48 ± 0.036	0.24 ± 0.03	10.54 ± 0.037

Tableau 2.2. Paramètres des sols nus avant repiquage des plantes en septembre 2012. Moyenne et erreur standard des 128 mésocosmes. SOM: Soil organic matter.



Illustration des différentes étapes de mise en place des mésocosmes sur la parcelle expérimentale.

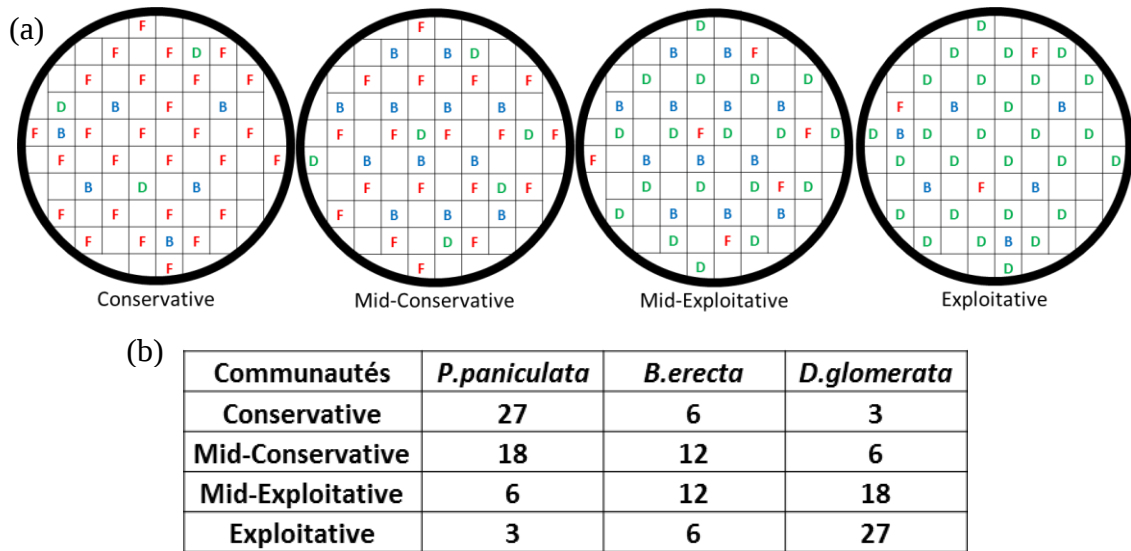


Figure 2.6. Répartition numérique (a) et spatiale (b) des talle individuelles par espèces plantées pour les quatre communautés fonctionnelles. Cercle noir : vue schématique du dessus d'un mésocosme ; F rouge : talle de *P.paniculata* ; D vert : talle de *D.glomerata* ; B bleu : talle de *B.erecta*.

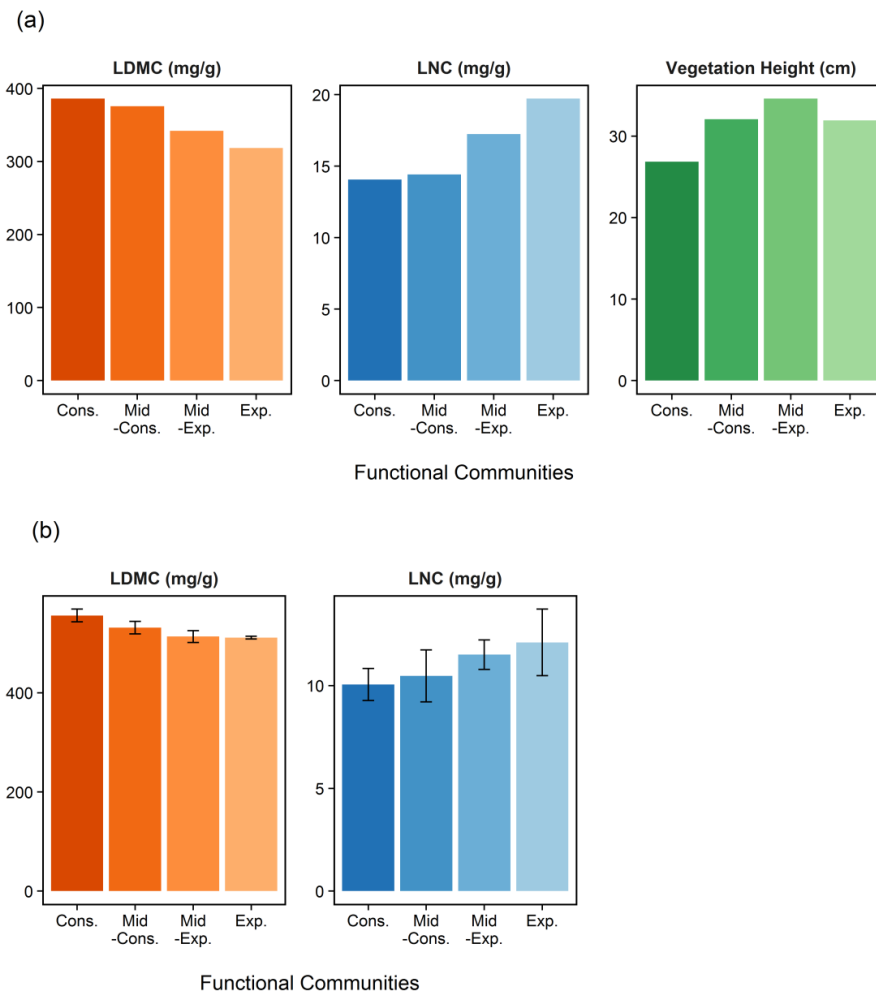


Figure 2.7. Gradient des traits fonctionnels attendus (a) et réalisés (à la fin de l'expérimentation dans les communautés contrôle, b) évalués selon les quatre compositions fonctionnelles. Exp. : Exploitative ; Cons. : Conservative ; LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.

Au total, 128 pots ont été mis en place, avec 32 répétitions des 4 communautés végétales fonctionnellement distinctes. Ces pots ont été insérés dans le sol de sorte que leur sommet dépasse de quelques centimètres la surface du sol, afin d'éviter l'entrée d'eau extérieure par ruissellement. Le fond de chacun de ces pots comportait un drain et n'était percé que sur les bas cotés, afin de limiter la sortie de racines hors du mésocosme. De plus, chaque pot a été inséré dans un second, celui-ci hermétique créant ainsi une cavité reliée à la surface par un tube permettant l'échantillonnage des lixiviats à l'aide de pompes péristaltiques. La confection des mésocosmes à double fond et leur installation sur la parcelle (préparation des emplacements en terre et mise en place) ont été effectuées par Remy LASSEUR (ingénieur d'étude contractuel au LECA) et moi-même durant le mois d'août 2012. Les 128 mésocosmes ont été distribués au sein d'un dispositif expérimental en « split-plot » avec le couvert neigeux comme traitement principal (parcelle) et l'arrosage comme facteur secondaire (sous-parcelle) (Figure 2.8). Chacune de ces sous-parcelles contenait huit mésocosmes avec chacune des quatre communautés végétales expérimentales répétées deux fois et distribuées aléatoirement de façon circulaire. Une moitié des communautés végétales appariées est restée intacte tandis que la seconde a été coupée pour simuler la fauche et fertilisée durant l'expérimentation. Pour la totalité des parcelles, les précipitations ont été interceptées par des abris transparents installés après la fonte des neiges et retirés à la fin Septembre.

Les abris « anti-pluie » sont des cadres en bois amovibles, reposant pour leur partie Nord sur des armatures en métal fixes. Les cadres sont couverts par des panneaux ondulés en résine de polyester translucide renforcée de fibres de verre. La conception des abris a été effectuée en collaboration avec Remy LASSEUR (ingénieur d'étude contractuel au LECA) et j'ai construit et mis en place les 16 abris (un pour chaque sous-parcelle) au printemps 2013 avec l'aide de Fanny GUILLOT (stagiaire L2 UJF). Ces toitures ont été disposées à 1.5 m de hauteur par rapport à la surface du sol et débordent de 50 cm par rapport à chacun des mésocosmes extérieurs. J'ai ensuite assuré l'entretien des abris, leurs retraits/stockages/mis en place avant et après chaque hiver. De plus j'ai pensé et mis en place une protection individuelle des 128 mésocosmes avant chaque hiver en prévention de ravages par les campagnols des champs sous le manteau neigeux.

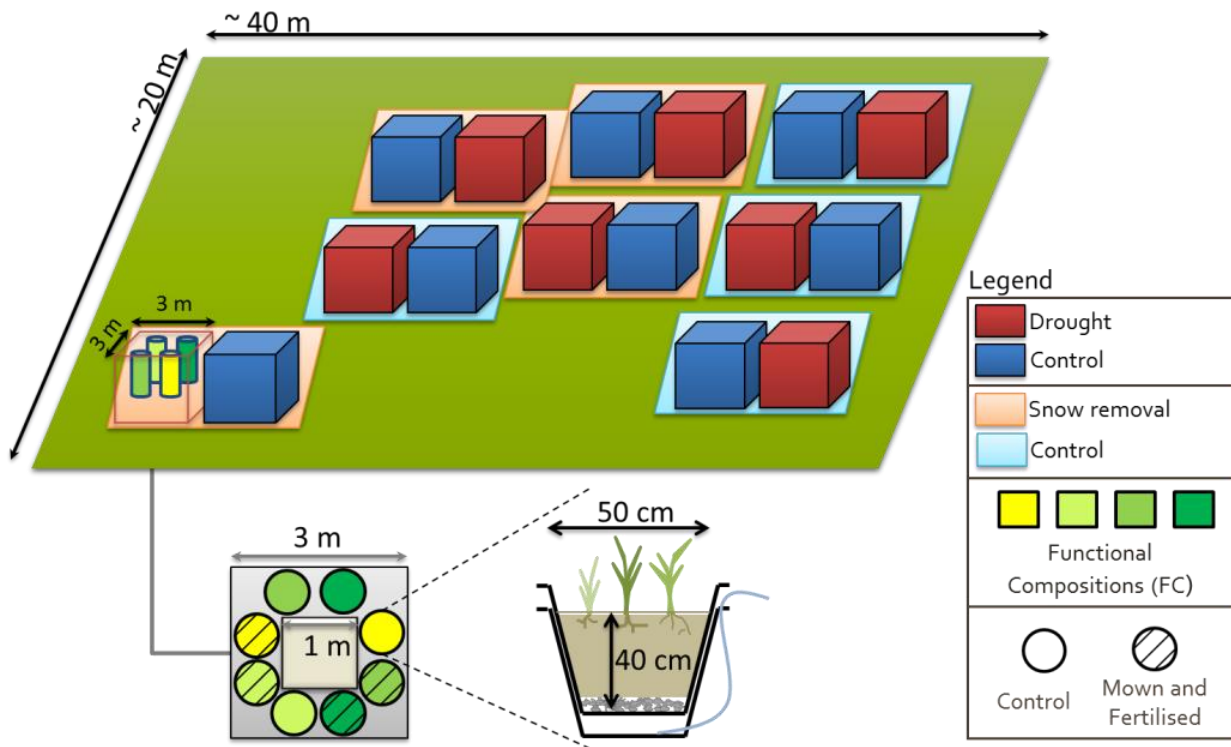


Figure 2.8. Vue schématique du dispositif expérimental.



Différentes vues des abris « anti-pluie » positionnés sur la parcelle expérimentale.

2.2.2.3 - CHRONOLOGIE DE L'EXPÉRIMENTATION

Après la mise en place du dispositif expérimental à l'été 2012, nous avons conduit l'expérimentation sur les trois années suivantes (Figure 2.9 & Tableau 2.3). La réalisation de campagnes d'échantillonnage avant et après l'application de chacun des traitements nous permet de quantifier à la fois la résilience et la résistance de façon séquentielle par comparaison aux différents contrôles.

(a)

Traitements	Date(s)
Sécheresse n°1 (D1)	16/08 au 12/09/2013
Sécheresse n°2 (D2)	20/06 au 06/08/2014
Déneigement n°1 (SR1)	14-16/04/2014 au 16-19/05/2014
Déneigement n°2 (SR2)	10/04/2015 au 26/04 et 02/05/2014
Abris positionnés (2013)	04/07 au 17/09/2013
Abris positionnés (2014)	29/05 au 16/10/2014
Fertilisation (F)	30/05/2014
Fauche (M)	09-10/07/2014

(b)

Echantillonnage	Mesures traits végétaux épiées	Echantillonnage biomasse épiées et Racines	Echantillonnage sol	Echantillonnage lixiviat	Fructose	LitterBag
T0	10-11-12/07/2013	-	18/06/2013	31/07/2013	-	-
T1	17-18/10/2013	-	12/09/2013	25/09/2013	-	-
T2	11-12-13/06/2014	-	21/05/2014	07/05/2014(SR) 30/05/2014(NSR)	-	-
T3	04-05-06/08/2014	-	24/07/2014	07/08/2014	-	-
Tf	13-14-15/09/2014	17/09/2014	17/09/2014	18/09/2014	16/09/2014	17/09/2014 (récolte biomasse)
Tα	-	-	-	-	-	17/10/2014 (mise en place)
Tβ	-	-	-	-	-	11/05/2015 (récolte n°1)
Tγ	-	-	-	-	-	10/06/2015 (récolte N°2)

Tableau 2.3. Dates d'application des différents traitements (a) et dates de réalisation des différentes campagnes d'échantillonnages (b).

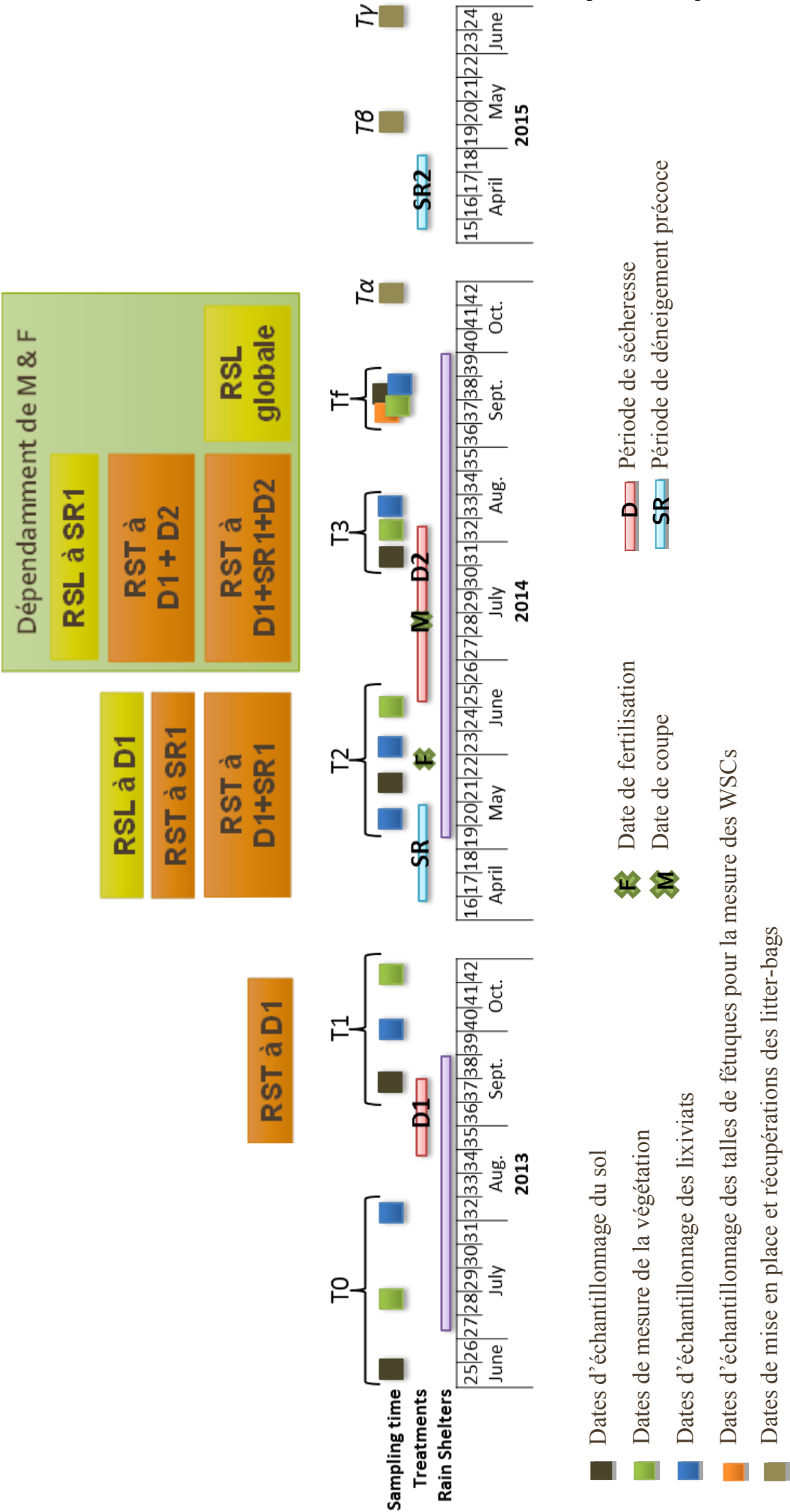


Figure 2.9. Calendrier des différents traitements expérimentaux et des différentes sessions d'échantillonnages. RST : mesure de la résistance ; RSL : mesure de la résilience ; Ligne violette: période sous abris; T₀ n=32; T₁ n=16; T₂ n=8; T₃ & T₄ n=4; T_α, T_β & T_γ n=4.

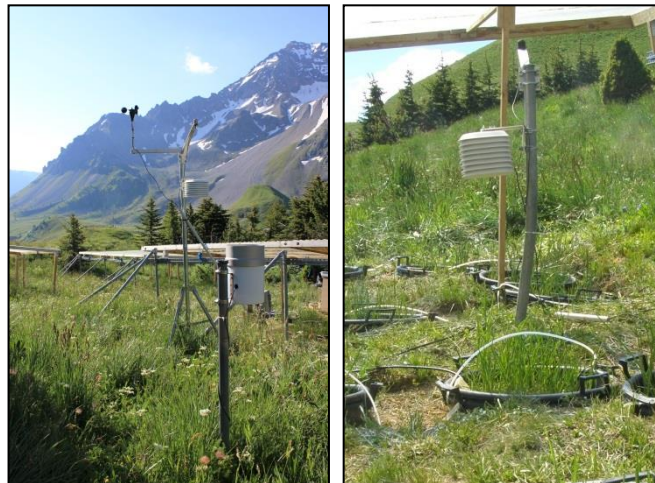
2.2.2.4 - SUIVIS DES PARAMETRES ABIOTIQUES ET METEOROLOGIQUES

A partir de la fin Juillet 2013, 64 mésocosmes ont été équipés avec des sondes de mesure de l'humidité du sol Hobo ECH2O 10C (Onset Computer Corporation, MA, USA) à 10 cm de profondeur jusqu'à ce qu'elles cessent de fonctionner pendant l'hiver suivant. Ces données ont été enregistrées toutes les cinq minutes et agrégées pour chaque heure. En 2014, dans deux communautés végétales distinctes par sous-parcelle, l'humidité du sol a été enregistrée avec des capteurs Campbell CS616 (Campbell Scientific, UT, USA) insérés dans le sol à 30 cm de profondeur. Toujours en 2014, la température du sol a été enregistrée à 5 cm de profondeur dans la moitié des sous-parcelles avec des capteurs Campbell 107 thermistors (Campbell Scientific, UT, USA). Ces mesures ont été effectuées toutes les deux minutes et agrégées pour chaque heure. De plus, de 2013 à 2014, huit sondes Hobo Pendant Temperature (Onset Computer Corporation, MA, USA) ont été placées à 15 cm de profondeur dans un mésocosme de chacune des huit parcelles. Ces données températures ont été enregistrées toutes les cinq minutes et agrégées à l'heure. Étant donné que la température et l'humidité du sol ont été enregistrées à la fois par des capteurs Campbell et Hobo au cours de l'expérimentation, des régressions linéaires entre les deux capteurs de données ont été établies ($R^2 = 0,99$ pour la température du sol et $R^2 = 0,94$ pour l'humidité du sol). Les équations résultantes ont été utilisées pour corriger les données Hobo dans les communautés quand et où uniquement ces données étaient disponibles. A l'automne 2014, les huit capteurs Hobo Pendant ont été redéployés durant l'expérimentation de décomposition (cf § 2.3.4).



Aperçu des différents capteurs utilisés lors de l'expérimentation. De gauche à droite : Centrale de mesure et de contrôle des sondes Hobo ECH2O 10C, Centrale de mesure et de contrôle Campbell CR1000 des sondes CS616 et 107, Hobo Pendant Temperature.

Lors des saisons de végétation 2013 et 2014, les variables météorologiques ont été enregistrées par deux stations météorologiques Hobo (Onset Computer Corporation, MA, USA). Une station a été disposée sous un abri transparent et la seconde en plein champ afin de quantifier l'effet des abris sur les paramètres météorologiques pendant l'expérience. Le rayonnement solaire total entrant (W/m^2), la température de l'air ($^{\circ}\text{C}$) et l'humidité relative de l'air (%) pour les deux stations, la vitesse moyenne du vent (m.s^{-1}) et la quantité de pluie (mm) pour la station extérieure seulement, ont été enregistrés toutes les cinq minutes et agrégés pour chaque heure. Lorsque ces deux stations n'étaient pas en place sur la zone expérimentale (principalement lors des saisons hivernales), les paramètres météorologiques ont été suivis *via* la station ROMMA (Réseau d'Observation Météo du Massif Alpin) du Col du Lautaret, localisée au sein du jardin alpin à 120 m de la parcelle d'expérimentation REGARDS. La mise en place et le retrait des équipements Hobo OnSet et Campbell Scientific ont été assurés avec l'aide de Jean-Christophe CLEMENT et Karl GRIGULIS (ingénieur de recherche au LECA).



Aperçu des stations météorologiques Hobo en plein champ (à gauche) et sous abris (à droite).

Durant la période couverte 2013 (Figure 2.10a), les abris diminuent le rayonnement photosynthétiquement actif (PAR pour *Photosynthetic Active Radiation*) en moyenne de 27.7% (moyenne des moyennes journalières sur la période effective de mise en place des abris, 553.4 vs 400.3 W/m²). Cette diminution du PAR n'est pas uniforme au cours de la journée et est maximale au pic radiatif de mi-journée. En revanche, la présence d'abris impacte peu l'humidité relative de l'air (plein champ : 79.7 % et sous abris 77.7 %) et n'impacte pas la température de l'air journalière moyenne (plein champ : 11.64°C et sous abris 11.62°C). Les abris affectent peu les moyennes des valeurs minimum et maximum de température (respectivement 7.8°C plein champ et 7.2°C sous abris et 17.2°C plein champ et 17.5°C sous abris) mais augmentent l'amplitude journalière moyenne de 1°C (plein champ : 9.4°C et sous abris 10.4°C).

Des effets similaires sont observés lors de la période 2014 de couverture (Figure 2.10b) : les abris diminuent le PAR en moyenne de 32.7% (539.3 vs 362.7 W/m²). La présence d'abris entraîne une diminution d'environ 2% de l'humidité relative de l'air (plein champ : 82.2% et sous abris 80.5%) et n'impacte pas la température de l'air journalière moyenne (plein champ : 9.95°C et sous abris 9.96°C). Les abris affectent peu les moyennes des valeurs minimum et maximum de température (respectivement 6.0°C plein champ et 5.7°C sous abris et 14.8°C plein champ et 15.3°C sous abris) mais augmentent l'amplitude journalière moyenne de 0.8°C (plein champ : 8.8°C et sous abris 9.6°C).

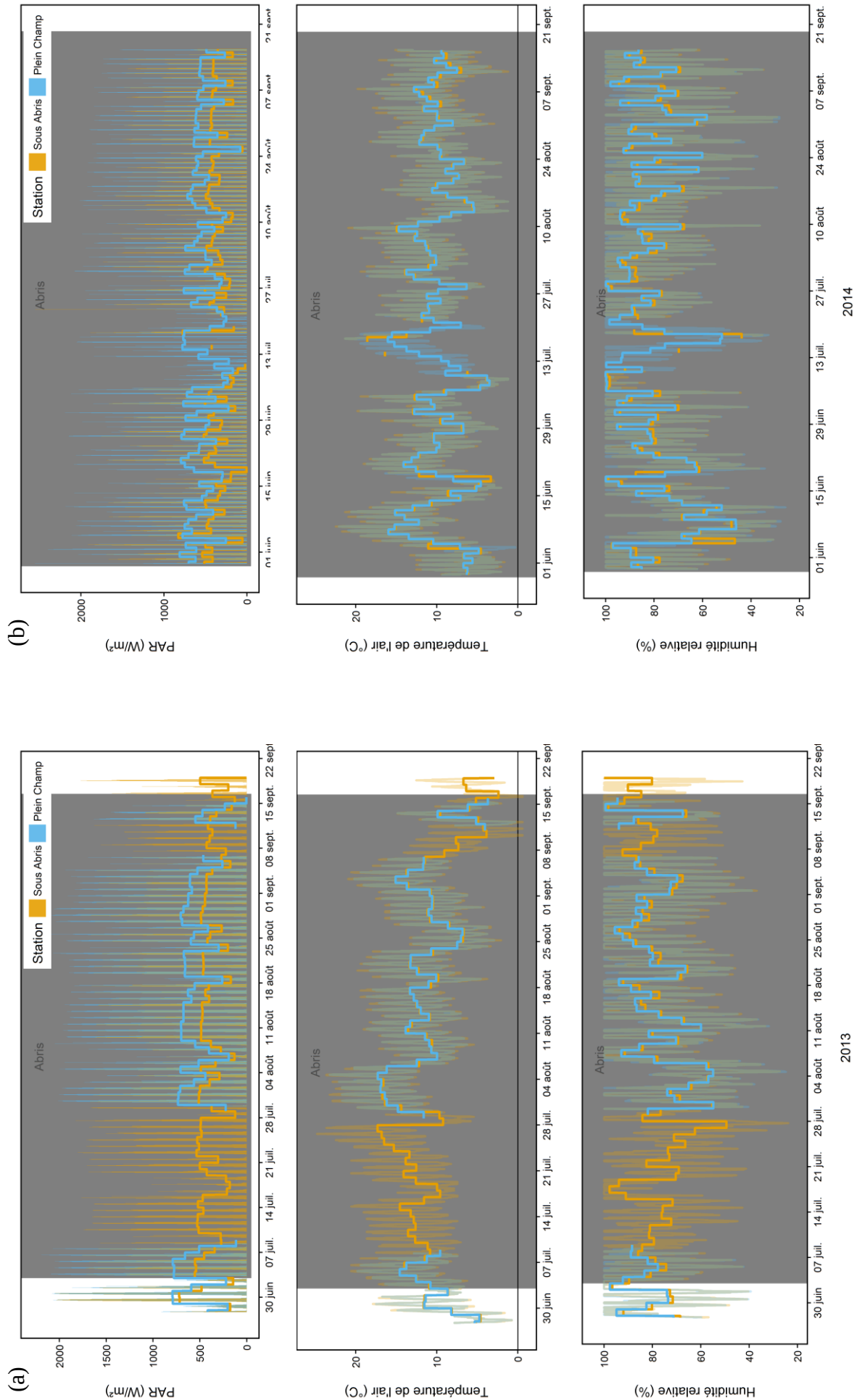


Figure 2.10. Effets des abris sur le PAR, la température et l'humidité de l'air lors des saisons de végétation de 2013(a) et 2014(b). La surface grisée correspond à la période effective de présence des abris.

2.2.2.5 - MISE EN ŒUVRE DES TRAITEMENTS

2.2.2.5.1 - LE DÉNEIGEMENT

Deux traitements sur le couvert neigeux, un déneigement (SR) et une fonte naturelle du manteau neigeux (NSR) ont été appliqués sur huit parcelles de 6*3 m. Le traitement SR consiste en un déneigement manuel (à la pelle) un mois avant la fonte naturelle complète de la neige sur la zone d'expérimentation. Cette date de déneigement a été déterminée en combinant un suivi du manteau neigeux au cours de l'hiver (Snow Water Equivalent et épaisseur) avec les prédictions d'un modèle détaillé du manteau neigeux SURFEX/ISBACrocus (Morin *et al.* 2013), lui-même basé sur la réanalyse du modèle SAFRAN pour les régions montagneuses (Durand *et al.* 2009; Vionnet *et al.* 2012), et enfin sur une connaissance de la dynamique de fonte de la neige sur la zone d'expérimentation observée les années précédentes.



Photos des parcelles après déneigement précoce.

En 2014 le déneigement artificiel s'est opéré les 14 et 16 avril et la fonte totale naturelle des parcelles contrôle s'est achevée entre le 16 et 19 mai, soit une diminution de 33 jours de couvert neigeux amenant une augmentation de 89.25 *Growing Degree Days* (GDD) pour les plants déneigés, ainsi qu'une privation théorique de 63.77 L/pot par rapport aux mésocosmes « contrôle » (différence entre l'équivalent en eau du manteau neigeux au moment du déneigement et les précipitations qu'ont reçu les plants déneigés ; ce calcul ne tient pas compte de la perte d'eau importante par ruissellement lors de la fonte naturelle). En 2015, le déneigement artificiel a eu lieu le 10 avril et la fin de la fonte est intervenue plus rapidement : le 26 avril pour deux des quatre parcelles contrôle et le 2 mai pour les deux restantes, soit une diminution respectivement de 16 et 22 jours du couvert neigeux. Ceci a entraîné une augmentation respectivement de 86.65 et 106.15 GDD pour les plants déneigés ainsi qu'une privation théorique de 46.82 à 51.98 L/pot par rapport aux mésocosmes contrôle. De plus, lors de ces deux saisons, le retrait précoce du couvert neigeux a exposé les plants à des cycles supplémentaires de gel-dégel. Ceci est surtout effectif pour les tissus épigés et pour le déneigement précoce de l'année 2014 (Figure 2.11) mais pas pour les tissus hypogés d'après les courbes de température du sol, où l'on note une augmentation de température couplée au retrait neigeux. Pour le printemps 2014 on note une augmentation de $+3.6^{\circ}\text{C}$ de la moyenne des températures journalières moyennes ($-0.4^{\circ}\text{C} \pm 0.3$ vs. $3.3^{\circ}\text{C} \pm 0.2$) et une augmentation de $+1.8^{\circ}\text{C}$ de la moyenne des minimums journaliers de température ($-0.8^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ vs. $1^{\circ}\text{C} \pm 0.1$). De façon similaire, pour l'année 2015 on note une augmentation de $+4.7^{\circ}\text{C}$ de la moyenne des températures journalières moyennes ($0.9^{\circ}\text{C} \pm 0.4$ vs. $5.6^{\circ} \pm 0.2$) et une augmentation de $+1.1^{\circ}\text{C}$ de la moyenne des minimums journaliers de température ($0.4^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ vs. $1.5^{\circ}\text{C} \pm 0.1$). Ces deux sessions de déneigement précoce ont été effectuées avec l'aide de différentes équipes d'une demi-douzaine de personnes (équipe FYSE-LECA).

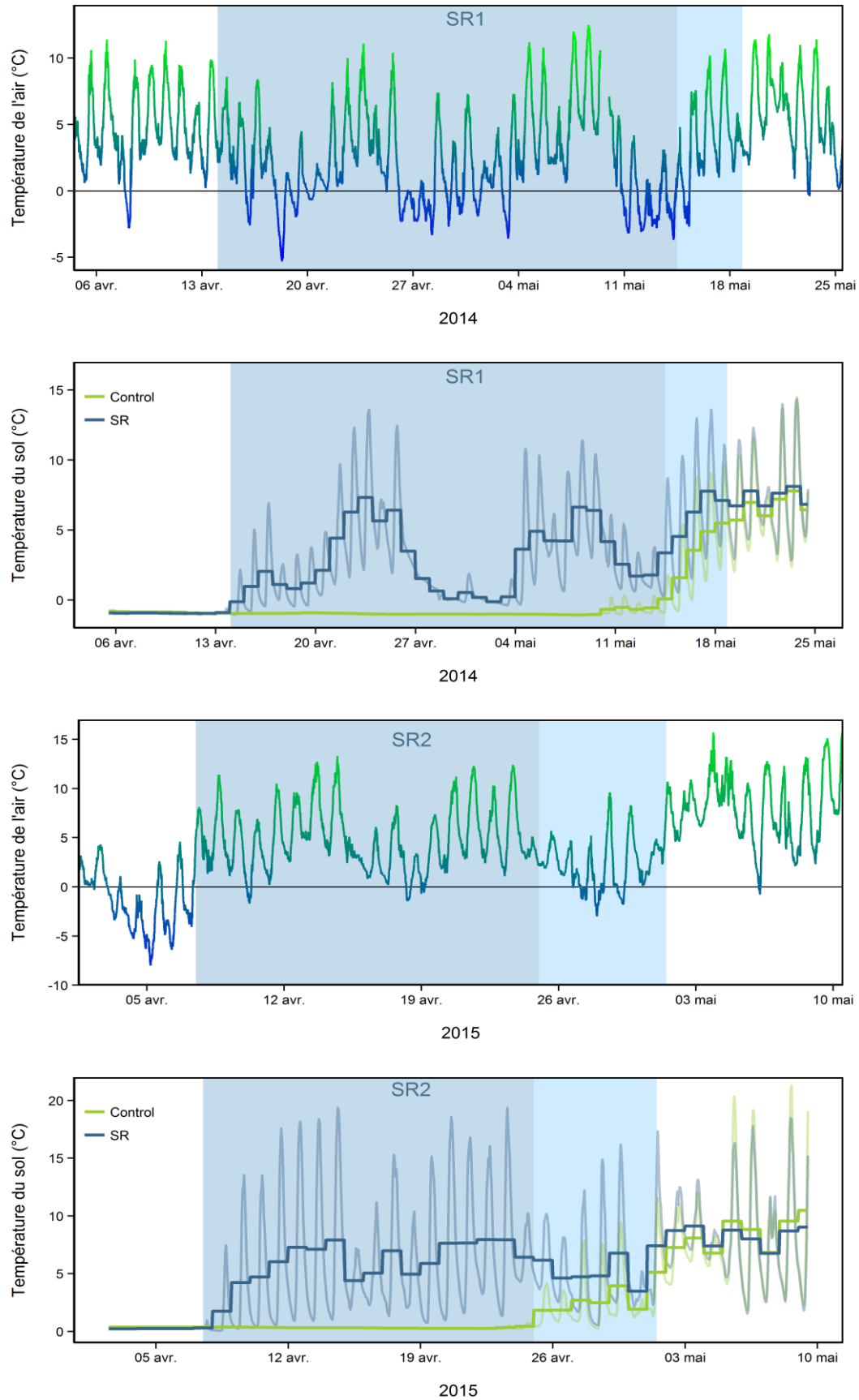


Figure 2.11. Effets du déneigement précoce sur la température du sol et température de l'air correspondante. La surface grisée représente la période entre le traitement artificiel et la fin de la fonte naturelle des parcelles « contrôle » déneigées les premières, la surface bleutée la fonte naturelle des dernières parcelles « contrôle ».

2.2.2.5.2 - LA SÉCHERESSE

Chacune des parcelles SR et NSR se subdivise en deux sous-parcelles de 2*2 m avec une zone tampon de 0.5 m, auxquelles a été assigné un traitement de régime d'arrosage : soit une sécheresse (D), soit un arrosage normalisé (ND). Le traitement D se caractérise par trois semaines sans adjonction d'eau durant la période de végétation. Sur toutes les parcelles, les précipitations ont été interceptées par des abris transparents installés après la fonte des neiges et retirés à la fin Septembre. Sous ces abris, les communautés végétales ont été arrosées manuellement chaque semaine à hauteur des pertes d'eau par évapotranspiration ; ces pertes ont été évaluées par la formule de l'ETP0 de Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998) et implémentées avec les variables météorologiques enregistrées sous abri et en plein champ par les stations météorologiques Hobo (Onset Computer Corporation, MA, USA). J'ai mis en place le système d'arrosage manuel hebdomadaire et le protocole de calcul de la quantité d'eau à ajouter basé sur l'évapotranspiration des communautés et j'ai réalisé la majeure partie de ces arrosages.



Opposition entre les mésocosmes ND (colonne de gauche) et D (colonne de droite) fin juillet 2014.

En 2013 (Figure 2.12), la sécheresse a été appliquée entre le 16 août et le 12 septembre, soit une période de 27 jours entraînant une différence d'apports en eau de 9.5 L d'eau (par mésocosme) entre les mésocosmes contrôle et sécheresse (l'application tardive de ce traitement, par rapport au cycle végétatif des plantes, reflète des difficultés techniques rencontrées lors de la mise en place expérimentale au printemps). Cette réduction mène à une diminution de -2.2% de l'humidité du sol moyenne ($13.4\% \pm 0.6$ vs. $11.2\% \pm 0.9$) sur la période effective de sécheresse. En 2014 (Figure 2.12), la sécheresse a été appliquée entre le 20 juin et le 6 août, soit une période de 44 jours entraînant une différence d'apports en eau de 11.7 L d'eau entre les mésocosmes contrôle et sécheresse. Cette réduction mène à une diminution de -10% de l'humidité du sol moyenne ($19.5\% \pm 1.6$ vs. $9.6\% \pm 0.4$). De plus la période de sécheresse a entraîné en 2013 une augmentation de +0.7°C de la moyenne des températures journalières moyennes du sol ($13.6^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ vs. $14.3^{\circ}\text{C} \pm 0.2$) et une augmentation de +1.7°C de la moyenne des maximums journaliers de la température du sol ($17.3^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ vs. $19^{\circ}\text{C} \pm 0.2$). De même, pour l'année 2014 on note une augmentation de +0.9°C de la moyenne des températures journalières moyennes ($12.2^{\circ}\text{C} \pm 0.1$ vs. $13.1^{\circ}\text{C} \pm 0.2$) et une augmentation de +1.5°C de la moyenne des maximums journaliers de température ($15.3^{\circ}\text{C} \pm 0.2$ vs. $16.8^{\circ}\text{C} \pm 0.3$) dans les sous-parcelles asséchées.

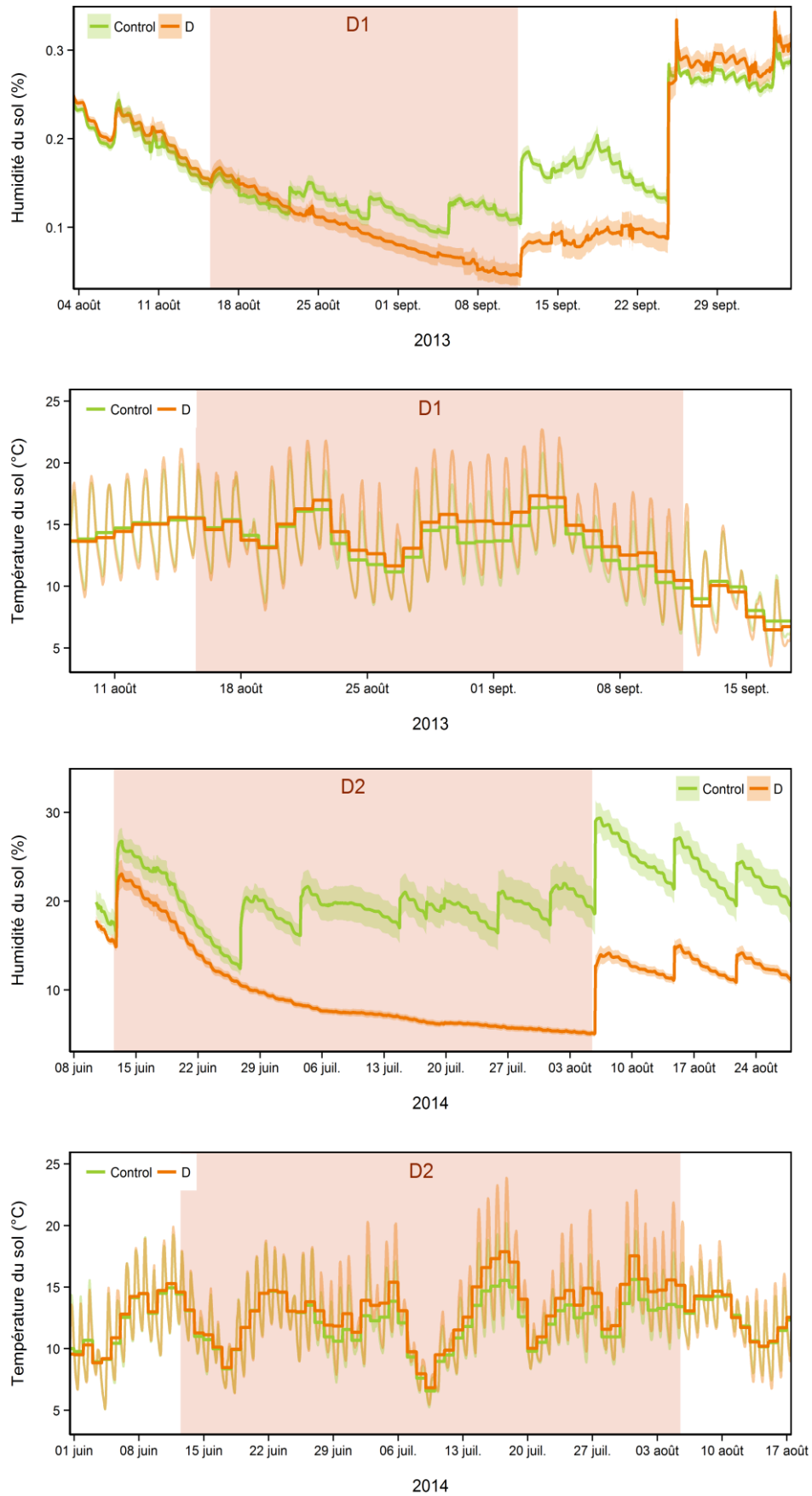


Figure 2.12. Effets de la sécheresse sur l'humidité et la température du sol. La surface rosée représente la période entre l'arrêt et la reprise de l'arrosage sur les sous-parcelles D.

2.2.2.5.3 - LA FERTILISATION ET LA COUPE DE LA BIOMASSE EPIGEE

Chaque sous-placette contenait huit mésocosmes avec chacune des quatre communautés répétée une fois et répartie en cercle de façon aléatoire. Une moitié des communautés végétales appariées a été fertilisée après la fonte des neiges, le 30 mai 2014, avec 17.55 g (pour atteindre l'équivalent de 150 kgN.ha⁻¹) d'engrais à libération lente (13-13-13 +2 MgO + oligo-éléments, Nutricote, Fertil, France) et « fauchée » au pic de végétation de la même année (MF, Le 9 et 10 juillet) suivant les pratiques agricoles locales. Cette « fauche » consistait en une coupe des talles à 10 cm au-dessus du sol et à l'exportation de cette biomasse coupée. La seconde moitié des communautés appariées est restée intacte (NMF). J'ai effectué les traitements de fertilisation et de coupe avec l'aide de Rachel GERARDIN (stagiaire 4^{ème} année ingénieur, Institut Polytechnique LaSalle-Beauvais). Ce traitement n'a été appliqué qu'en 2014 au moment où les plantes avaient atteint une taille suffisante, ce qui n'était pas encore le cas en 2013.

La végétation native extérieure aux mésocosmes de chaque parcelle a été fauchée deux à trois fois par saison par moi-même, afin de prévenir d'éventuels effets d'ombrage différents selon les huit parcelles. Cette coupe a été manuelle afin d'éviter l'envoi de débris végétaux extérieurs dans les mésocosmes. Tout au long des saisons 2013 et 2014, j'ai assuré l'entretien quasi-quotidien des communautés.



Photos des mésocosmes sous abris. Au centre, illustration d'une communauté dominée par *P. paniculata* après la coupe de juillet 2014.

2.3 - METHODES POUR LE SUIVI ECOLOGIQUE DES COMMUNAUTES

2.3.1 - MESURES DES TRAITS FONCTIONNELS VÉGÉTAUX

Lors des campagnes de T0 à T3, différents traits végétatifs ont été mesurés dans chaque mésocosme: le nombre de talles, considéré ici comme un proxy de la croissance par reproduction végétative des individus ; la croissance en utilisant la longueur de la plus longue feuille suivie au cours des différentes campagnes d'échantillonnage (croissance = $\ln(\text{longueur foliaire}(t)/\text{longueur foliaire}(t_1))$); et la sénescence, calculée comme le pourcentage de sénescence de la feuille la plus longue (Benot *et al.* 2014). Selon la communauté considérée, ces traits végétatifs ont été mesurés sur trois ou cinq individus par espèce à chaque date d'échantillonnage. Ainsi 1792 individus ont été suivis sur un total de 4608 avec 576 individus de fétuque paniculée, 576 de dactyle aggloméré et 640 individus de brome érigé. J'ai effectué la totalité de ces mesures.

Lors de l'échantillonnage final (T_f), en plus des relevés précédents, l'ensemble de la biomasse aérienne (par espèce et par mésocosme) a été collecté et pesé. Ce travail a été réalisé avec l'aide d'une dizaine de personnes (équipe FYSE-LECA, équipe du LEM-Lyon). A la fois le poids frais et le poids sec (7 jours à 60°C) ont été mesurés par espèce et par communauté pour calculer la teneur de la biomasse en matière sèche (DMC : Dry Matter Content calculé comme le poids sec de la biomasse épiquée par rapport à sa masse fraîche). Un sous-échantillon de 10 mg, pris au hasard parmi les feuilles vertes récoltées par espèce, a été séché, broyé et analysé pour la concentration en carbone et azote en utilisant un analyseur élémentaire CHONS (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA). Ces concentrations en azote et en carbone des feuilles (LNC & LCC, mg.g^{-1}) ont été calculées à la fois à l'échelle de l'espèce et de la communauté.

En plus de ces traits foliaires, j'ai relevé la mortalité totale par espèce et par mésocosme à chaque campagne d'échantillonnage. Ceci permet de calculer l'abondance relative de chaque espèce et trois différentes valeurs moyennes pondérées par la communauté (CWM pour *Community Weighted Mean*) pour chaque trait:

- $CWM_i = \sum_{i=1}^S p_i \times \text{trait}_i$, où S est le nombre d'espèces de la communauté, p_i est l'abondance relative de l'espèce i et trait_i est la valeur du trait de l'espèce i . Il s'agit d'une valeur moyenne des traits fonctionnels, pondérée par les abondances relatives des différentes espèces de la communauté (Garnier *et al.* 2004).

- CWM_t , il s'agit d'une valeur moyenne des traits fonctionnels, pondérée par les densités relatives des différentes espèces de la communauté (en utilisant une abondance calculée sur le nombre de talles t de chaque espèce présente dans la communauté).

- CWM_b uniquement à T_f , il s'agit d'une valeur moyenne des traits fonctionnels, pondérée par les biomasses relatives des différentes espèces de la communauté (en utilisant une abondance calculée sur la biomasse épigée b de chaque espèce présente dans la communauté).

A la dernière date d'échantillonnage (T_f), deux carottes de sol ont été collectées au hasard (3.5 cm de diamètre sur 20 cm de profondeur) dans chaque mésocosme pour l'analyse des traits racinaires. Chaque paire de carottes de sol, dont le volume est connu, a été mélangée puis lavée doucement à l'eau distillée et enfin séquentiellement tamisée ($\emptyset 4 - \emptyset 2 - \emptyset 0.5$ mm) pour séparer les racines de la matrice du sol. A la fois le poids frais et le poids sec (7 jours à 70°C) ont été mesurés par communauté pour calculer la teneur des racines en matière sèche (RDMC : Root Dry Matter Content, calculée comme le rapport entre poids sec des racines et leur masse fraîche). Les concentrations en azote et en carbone des racines ont été analysées sur un sous-échantillon de 10 mg préalablement séché et broyé en utilisant un analyseur élémentaire CHONS (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA). Étant obtenues à un niveau « communauté », ces mesures de traits racinaires représentent directement des valeurs moyennes pondérées de la communauté. Enfin, une troisième carotte de sol a été collectée par pot pour quantifier la densité apparente du sol et la densité racinaire. Les prétraitements des carottes de sol destinées aux traits racinaires (pesées et tamisages) ont été en majeure partie effectués par Jonathan CORJON (stagiaire L2 UJF) et j'ai assuré les analyses physico-chimiques à la fois des feuilles et des racines avec l'aide de Cindy ARNOLDI (assistante ingénieur au LECA).



Photos de l'échantillonnage final et notamment des carottes de sol en septembre 2014.

2.3.2 - MESURES DES PARAMETRES DU SOL

À chaque session d'échantillonnage, un ensemble de paramètres du sol a été mesuré sur quatre carottes de sol (1.5 cm de diamètre * 10 cm de profondeur) regroupées en un échantillon composite par mésocosme (Figure 2.13). Après chacun des prélèvements, les trous ont été rebouchés avec du sol initial, conservé lors de mise en place des pots. Ces échantillons de sols composites ont été stockés à 4°C et traités dans les 24h pour la détermination de la biomasse microbienne, des activités enzymatiques potentielles et pour les analyses physico-chimiques. J'ai encadré différentes équipes d'une demi-douzaine de personnes (équipe FYSE-LECA, équipe du LEM-Lyon) lors de ces campagnes d'échantillonnage du sol. Pour faciliter ce travail, j'ai mis au point un système de cadres référençant l'emplacement de chaque carotte à chaque campagne afin de prélever aux mêmes emplacements dans tous les pots au cours d'une campagne et de ne jamais re-échantillonner aux mêmes endroits lors des sessions suivantes.

Sur les échantillons composites, des sous-échantillons de 5 g de sol frais ont été séchés à 70°C pendant une semaine pour déterminer la teneur en eau du sol (SWC : Soil Water Content calculé comme le poids sec de sol par rapport à sa masse fraîche), séchage suivi d'une perte au feu de 4h à 550°C pour déterminer la teneur en matière organique du sol (SOM : Soil Organic Matter calculé comme le poids du sol à 550°C par rapport à sa masse sèche à 70°C). Un second sous-échantillon de sol a été séché à l'air libre puis broyé à l'aide d'un broyeur à billes et 10 mg ont été analysés pour les teneurs en azote et en carbone du sol en utilisant un analyseur élémentaire CHONS (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA). Le pH du sol a été mesuré dans une solution à 1:4 (sol séché à l'air libre/eau distillée).

$$\text{SWC } (.g^{-1}) = [(\text{poids frais (g)} - \text{poids sec (g) à } 70^{\circ}\text{C}) / \text{poids sec (g) à } 70^{\circ}\text{C}] \times 100$$

$$\text{SOM } (\%) = [(\text{poids sec (g) à } 70^{\circ}\text{C} - \text{poids sec (g) à } 550^{\circ}\text{C}) / \text{poids sec (g) à } 70^{\circ}\text{C}] \times 100$$

Un autre sous-échantillon de 10 mg de sol frais a été extrait dans 50 ml de K₂SO₄ (0,5 M) pendant 1h à 250 rpm et filtré (Whatman GR42, Ø2.5µm) pour déterminer la concentration en N-NH₄⁺ et N-NO₃⁻ du sol, la teneur en azote total dissout (TDN : Total Dissolved Nitrogen) ainsi que la teneur d'azote organique dissout (DON : Dissolved Organic Nitrogen) en utilisant une chaîne colorimétrique FS-IV (OI-Analytical Corp., TX, USA) (Jones & Willett 2006).

La minéralisation potentielle de l'azote (NMP : Nitrogen Mineralization Potential) a été déterminée par incubation anaérobique (Waring & Bremner 1964; Wienhold 2007). Un premier sous-échantillon de 10 mg de sol frais a subi une extraction au K_2SO_4 (0.5 M) pour déterminer la teneur initiale en $N-NH_4^+$, un second sous-échantillon de 10 mg a été utilisé pour déterminer la concentration « finale » en $N-NH_4^+$ après 7 jours d'incubation anaérobie dans le noir et à 40°C. La différence de teneur en $N-NH_4^+$ analysée par chaîne colorimétrique FS-IV donne une estimation du taux de NMP.

$$NMP (\mu g \text{ N. g}^{-1} \text{ sol sec. jour}^{-1}) = [((N- NH_4^+)_{t1} - (N- NH_4^+)_{t2}) / 7 \text{ jours}] / \text{poids secs de sol (g)}$$

La biomasse microbienne azotée (MBN : Microbial Biomass Nitrogen) a été obtenue par la différence de concentration en $N-NO_3^-$ d'extraits de 10 mg de sol frais (K_2SO_4 , 0,5 M) fumigé ou non (dans une atmosphère saturée en chloroforme et dans le noir pendant 7 jours) (Brookes *et al.* 1985a; b; Voroney, Brookes & Beyaert 2006). Le chloroforme permet la lyse cellulaire microbienne donnant ainsi accès à leur contenu cellulaire et notamment l'azote. Ces extraits de sol (non-fumigés et fumigés) sont oxydés au persulfate de potassium à 120°C pour transformer les formes dissoutes d'azote en $N-NO_3^-$ afin de les déterminer par colorimétrie (chaîne FS-IV).

$$MBN (\mu g \cdot g^{-1} \text{ de sol sec}) =$$

$$([N- NO_3^- \mu gN \cdot g^{-1} \text{ de sol sec}]_{\text{post fumigation}} - [N- NO_3^- \mu gN \cdot g^{-1} \text{ de sol sec}]_{\text{pre fumigation}}) \times 0.54$$

J'ai assuré les analyses physico-chimiques du sol avec l'aide de Cindy ARNOLDI (assistante ingénieur au LECA). Le prétraitement du grand nombre d'échantillons a souvent fait l'objet d'une aide collective de la part de l'équipe FYSE du LECA.

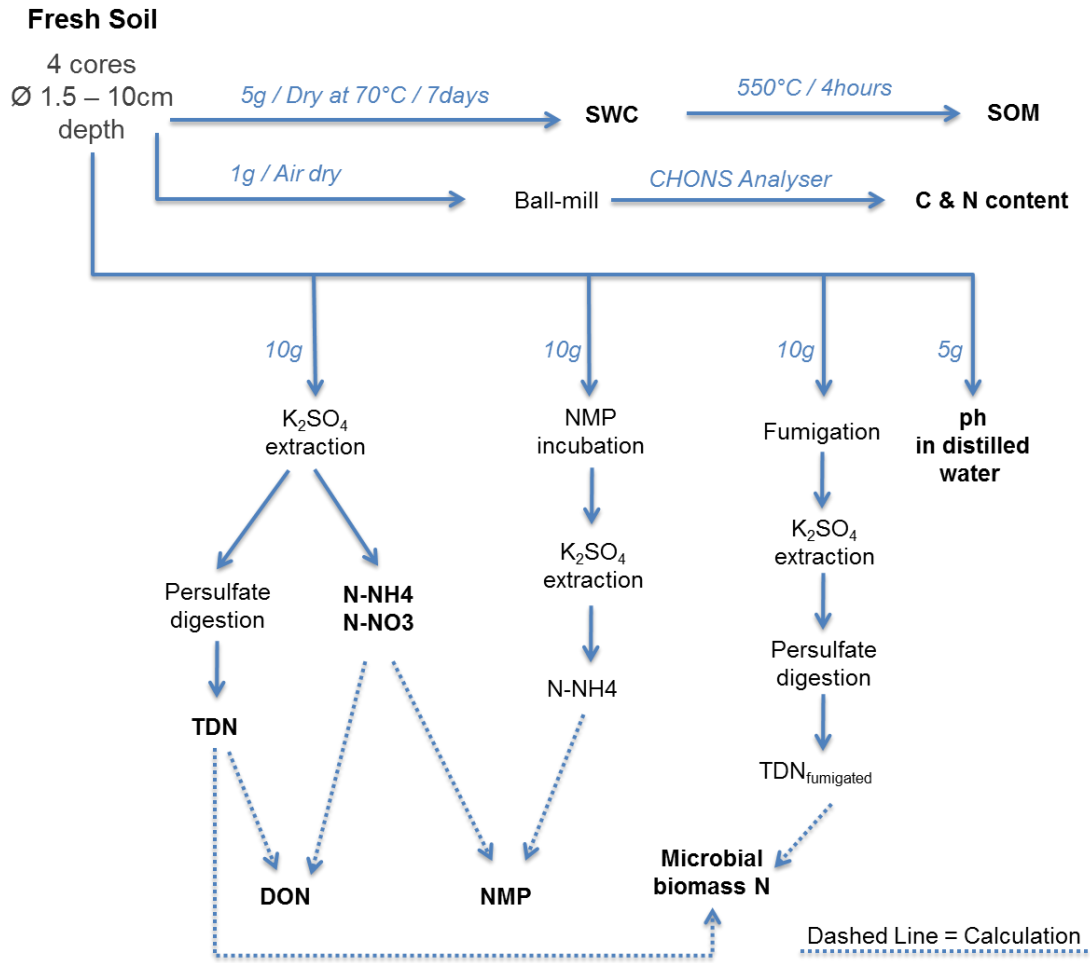


Figure 2.13. Protocole d'échantillonnage, de calcul et de traitement des différentes variables sol à chaque récolte.



Photos illustrant la technique d'échantillonnage des carottes de sol de T₀ à T₃.

2.3.3 - ANALYSES DES LIXIVIATS

Après chaque campagne d'échantillonnage, chaque pot a été arrosé avec 8 L d'eau afin d'obtenir des lixiviats sur une période de +18-24h. Ces lixiviats ont été collectés à l'aide de pompes péristaltiques puis immédiatement filtrés (Whatman GF/C, $\text{\O}1.2\mu\text{m}$), acidifiés avec 0.2 ml d'acide chlorhydrique puis congelés (Figure 2.14). Les concentrations en nitrate et ammonium (NH_4^+ et NO_3^-), en azote total dissout (TDN) et en azote organique dissout (DON) ont été caractérisées sur une chaîne colorimétrique FS-IV (OI-analytique Corp., TX, USA). J'ai assuré quatre des cinq campagnes d'échantillonnage et filtration des lixiviats et les analyses ont été effectuées avec l'aide de Cindy ARNOLDI (assistante ingénieur au LECA).

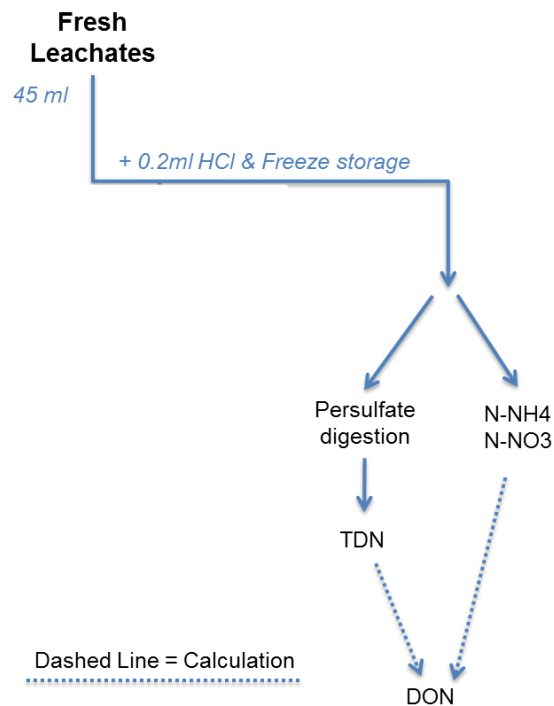


Figure 2.14. Protocole de traitement et de calcul des différentes variables issues des lixiviats.



Photo illustrant le pompage des lixiviats.

2.3.4 - MESURES SUR LA DECOMPOSITION DES LITIÈRES

Comme explicité précédemment, à T_f (environ 6 semaines après la fin de la deuxième période de sécheresse) l'ensemble de la biomasse aérienne a été récoltée, séchée (7 jours à 60°C) et pesée au niveau de l'espèce avant de préparer l'expérimentation sur la décomposition des litières. Pour l'étude de la décomposition des litières, seules deux communautés fonctionnelles (Exploitative : 27x *P.paniculata* / 6x *B.erecta* / 3x *D.glomerata* vs Conservative : 3x *P.paniculata* / 6x *B.erecta* / 27x *D.glomerata*), deux traitements climatiques (contrôle et SR+D) et les deux options de gestion ont été conservés pour arriver à un total de 32 mésocosmes (3*2*2*2*4 réplicats). Pour chaque traitement choisi, 100 milligrammes de litière mixte des trois espèces ont été préparés en conservant les proportions relatives des trois espèces lors de la récolte de la biomasse aérienne (Fortunel *et al.* 2009). Les feuilles sèches ont ensuite été mises dans des litter-bags de 8*8 cm et de maillage de 2 mm (Tulle moustiquaire fibre de verre, Windhager, Autriche).

Deux sacs de litière par mésocosme ont été préparés, correspondant à deux temps de récolte. Afin de distinguer les effets des traitements artificiels sur la qualité des feuilles et sur les décomposeurs microbiens, un sac supplémentaire a été rempli avec 1g de litière de *Patzkea paniculata* « contrôle » provenant des alentours de la zone expérimentale. Dans chaque mésocosme, les deux sacs de litière ont été placés sur le sol du pot dans lequel les feuilles ont été récoltées et le troisième litter-bag avec la fétuque paniculée « contrôle » a été ajouté. L'expérience de décomposition a commencé mi-October 2014 (T_α) avec une première récolte mi-mai 2015 (T_β, 1^{er} échantillon) et une seconde récolte mi-Juin 2015 (T_γ, 2^{ème} échantillon et litière de *P.paniculata* « contrôle »).

Les feuilles décomposées ont été extraites des litter-bags et séchées pendant 7 jours à 40°C.

La masse de la litière restante au printemps et le taux de perte de masse de litière à chaque temps t ont été calculés :

$$RL_t = 100 * M_t / M_i$$

$$R_t = 100 * (M_i - M_t) / (M_i * d)$$

RL_t le pourcentage de masse de litière restante dans les litter-bags par rapport à la masse initiale de feuilles. R_t le taux de perte de masse de litière en pourcentage par jour de T_α au temps t considéré, M_t la masse de litière sèche au temps t, M_i la masse initiale de feuilles sèches disposées dans les litter-bags et “d” le nombre de jours entre T_α et le temps t considéré.

Après séchage, le contenu des litter-bags a été broyé, puis un sous-échantillon de 10 mg a été analysé pour déterminer les concentrations en carbone et azote de la litière en utilisant un analyseur élémentaire CHN (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA).

J'ai confectionné, mis en place et échantillonné les 96 litter-bags. Le prétraitement des litières issues des litter-bags (pesées et broyages) a été effectué par Jonathan CORJON (stagiaire L2 UJF) et les analyses physico-chimiques des litières ont été assurées par Cindy ARNOLDI.



Photos de litter-bags sur le sol de mésocosme en octobre 2014 (gauche) et juin 2015 (droite).

2.3.5 - MESURES SUR LES GLUCIDES HYDROSOLUBLES

La concentration en glucides hydrosolubles dans les parties hypogées des talles de *P. paniculata* a été mesurée une fois : le 16 Septembre 2014 (Tf), selon le protocole établi par Benot *et al.* (2013). Pour cette étude, seules deux communautés fonctionnelles (Exploitative : 27x *P.paniculata* / 6x *B.erecta* / 3x *D.glomerata* vs Conservative : 3x *P.paniculata* / 6x *B.erecta* / 27x *D.glomerata*), deux traitements climatiques (contrôle et SR+D) et les deux options de gestion ont été conservés pour arriver à un total de 32 mésocosmes (3*2*2*2*4 réplicats). Trois individus de *P. paniculata* ont été sélectionnés au sein de chaque mésocosme et soigneusement déterrés avec un plantoir. Une attention particulière a été accordée afin d'éviter des dommages sur la base des talles et de permettre la collecte des racines. Les talles échantillonnées ainsi que les racines associées ont été immédiatement lavées, enveloppées dans une feuille d'aluminium, et congelées dans de la glace carbonique (-80°C) puis transportées au laboratoire. Elles ont été stockées à -80°C jusqu'à ce qu'elles soient lyophilisées. Chaque talle a été séparée en quatre sous-échantillons: partie supérieure de la base des talles, partie inférieure de la base des talles, rhizome et racines (Figure 2.15). La totalité de ces sous-échantillons a ensuite été pesée puis broyée. Cette campagne d'échantillonnage

des individus de *P. paniculata* a été réalisée avec l'aide de Marie-Pascale COLACE (ingénieure d'étude au LECA) et j'ai assuré le prétraitement des échantillons.

Les glucides hydrosolubles (Water Soluble Carbohydrates: fructanes, saccharose, glucose et fructose) ont été extraits de sous-échantillons de 20 à 50-mg de poudre sèche. Les WSC ont été séparés et quantifiés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC, Millipore Waters, MA, USA, Figure 2.16). Cette méthode a permis la séparation de fructanes à haut degré de polymérisation ($DP > 5$) et de fructanes à faible degré de polymérisation (DP4 et DP5). La concentration de chaque WSC a été calculée en divisant la masse de WSC quantifiée par la masse des sous-échantillons. La concentration absolue de chaque WSC dans un organe (partie supérieure de la base des talles, partie inférieure de la base des talles, rhizome et racines) a été calculée en multipliant la concentration en WSC par la masse sèche de l'organe.

J'ai effectué les analyses physico-chimiques des talles de *P. paniculata* lors d'un séjour d'une semaine à l'Université de Normandie au sein du laboratoire UCBN-INRA EVA (Ecophysiologie Végétale & Agronomie, UMR 950) avec l'aide de Marie-Laure DECAU et Annette MORVAN-BERTRAND.

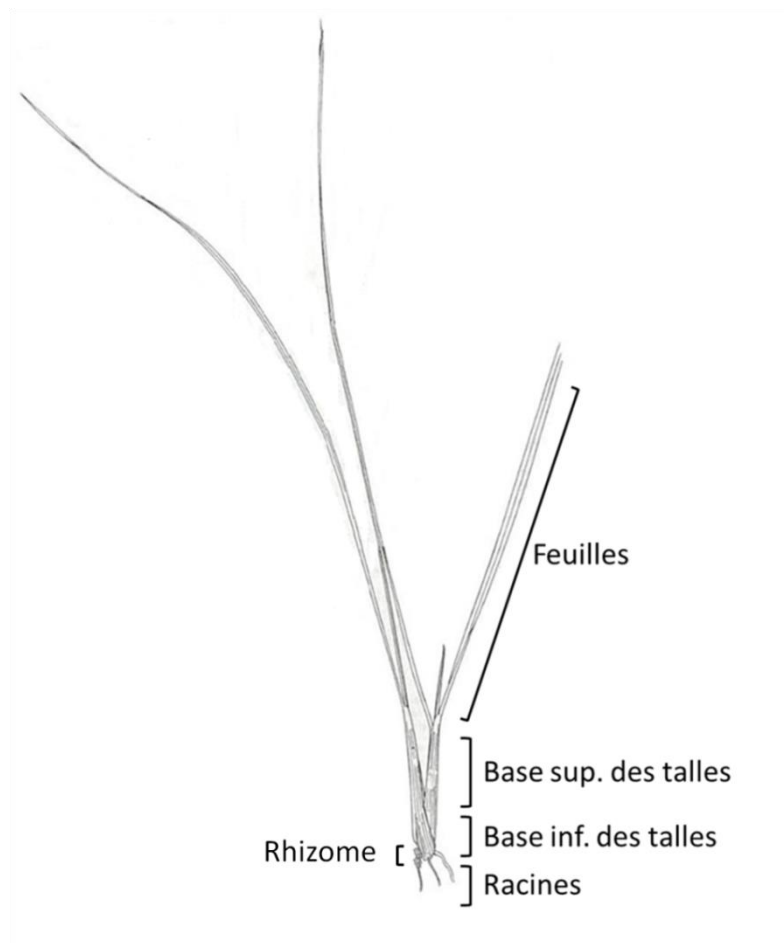


Figure 2.15. Illustration des quatre sous-échantillons considérés pour l'analyse des sucres hydrosolubles de *P. paniculata*.

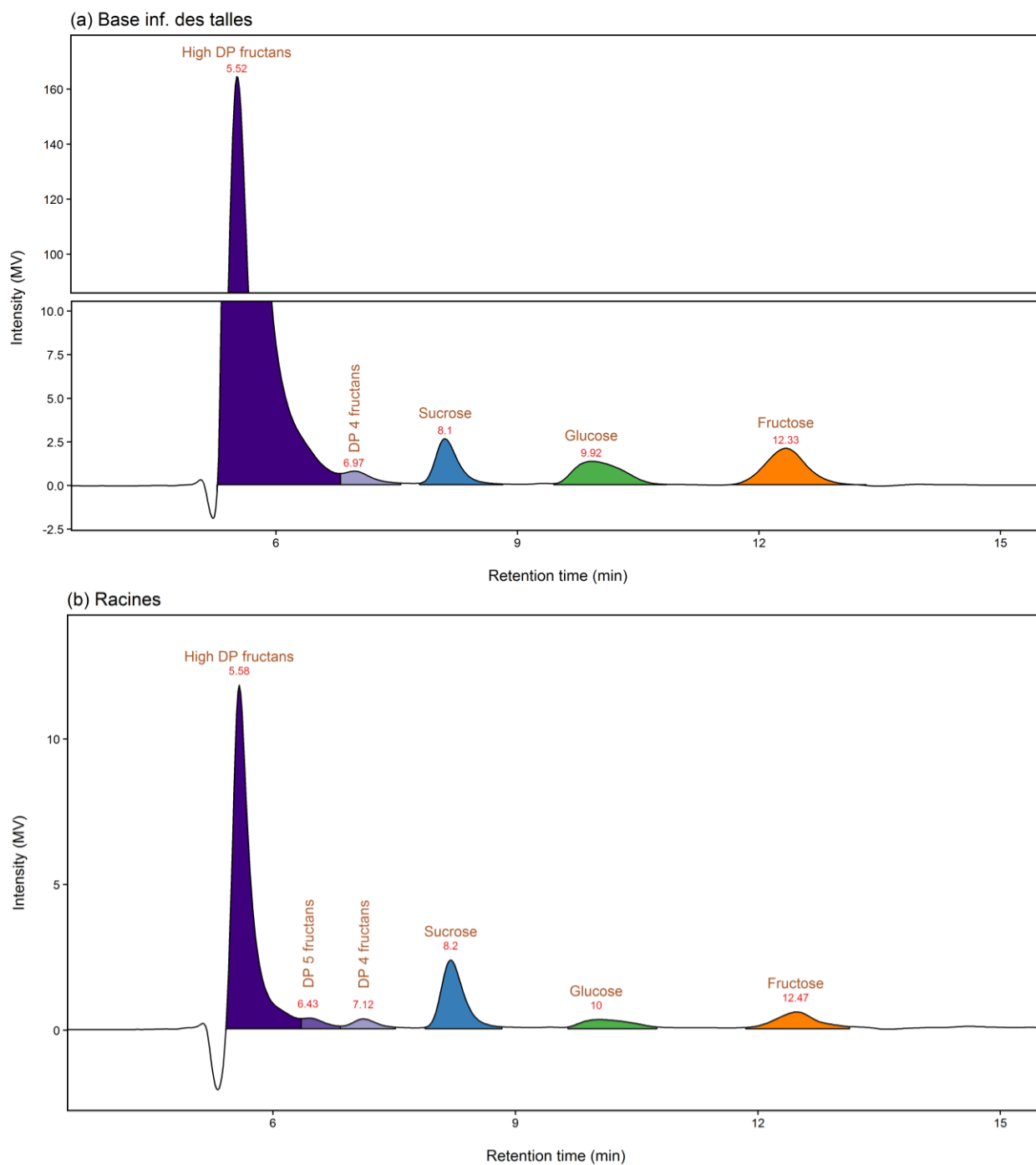


Figure 2.16. Exemples de spectres d'HPLC représentant la composition en WSC de la base inférieure des talles (a) et des racines (b) de *Patzkea paniculata* en septembre 2014. Les pics représentent les différents WSC et la surface du pic est proportionnelle à la concentration de chaque WSC.

2.4 - BIBLIOGRAPHIE

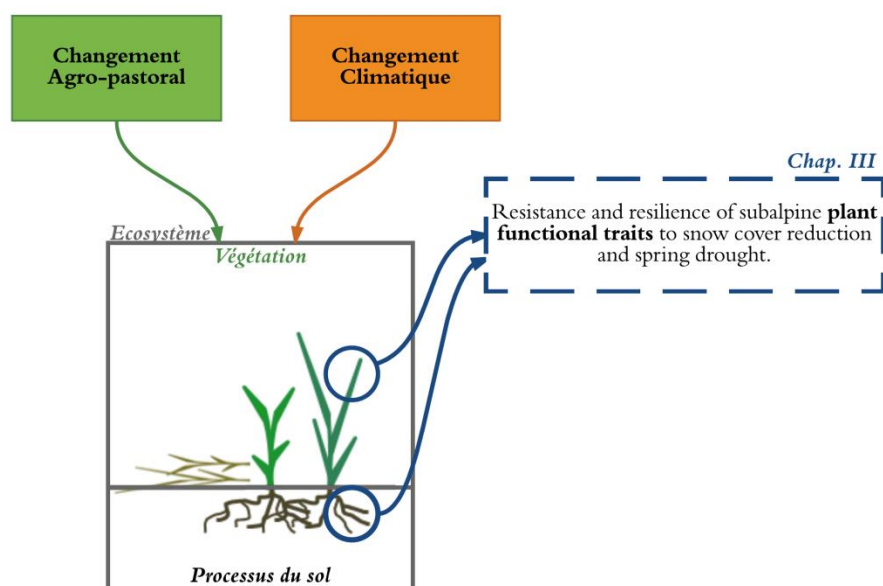
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements - Irrigation and Drainage Paper 56*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Aubert, S., Bec, S., Choler, P., Rolland, D., Richard, M. & Thuiller, W. (2011) *Découverte Botanique de La Région Du Lautaret et Du Briançonnais - Partie 1. Eléments D'écologie Alpine*. SAJF, Grenoble, France.
- Benot, M.L., Saccone, P., Pautrat, E., Vicente, R., Colace, M.P., Grigulis, K., Clément, J.C. & Lavorel, S. (2014) Stronger Short-Term Effects of Mowing Than Extreme Summer Weather on a Subalpine Grassland. *Ecosystems*, **17**, 458–472.
- Benot, M., Saccone, P., Vicente, R., Pautrat, E., Morvan-Bertrand, A., Decau, M.-L., Grigulis, K., Prud'homme, M.-P. & Lavorel, S. (2013) How extreme summer weather may limit control of *Festuca paniculata* by mowing in subalpine grasslands. *Plant Ecology & Diversity*.
- Brookes, P.C., Kragt, J.F., Powlson, D.S. & Jenkinson, D.S. (1985a) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: The effects of fumigation time and temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 831–835.
- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G. & Jenkinson, D.S. (1985b) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 837–842.
- Corcket, E., Liancourt, P., Callaway, R.M. & Michalet, R. (2003) The relative importance of competition for two dominant grass species as affected by environmental manipulations in the field. *Ecoscience*, **10**, 186–194.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- Fortunel, C., Garnier, E., Joffre, R., Kazakou, E., Quested, H., Grigulis, K., Lavorel, S., Ansquer, P., Castro, H., Cruz, P., Doležal, J., Eriksson, O., Freitas, H., Golodets, C., Jouany, C., Kigel, J., Kleyer, M., Lehsten, V., Lepš, J., Meier, T., Pakeman, R., Papadimitriou, M., Papanastasis, V.P., Quétier, F., Robson, M., Sternberg, M., Theau, J.-P., Thébault, A. & Zarovali, M. (2009) Leaf traits capture the effects of land use changes and climate on litter decomposability of grasslands across Europe. *Ecology*, **90**, 598–611.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers

- capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Girel, J., Quétier, F., Bignon, A. & Aubert, S. (2010) *Histoire de L'agriculture En Oisans - Haute Romanche et Pays Faranchin*. SAJF, Grenoble, France.
- Grassein, F., Lemauiel-Lavenant, S., Lavorel, S., Bahn, M., Bardgett, R.D., Desclos-Theveniau, M. & Laîné, P. (2015) Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. *Annals of Botany*, **115**, 107–115.
- Grime, J.P., Hodgson, J.G. & Hunt, R. (1988) *Comparative Plant Ecology: A Functional Approach to Common British Species*. Unwin Hyman Ltd, London, UK.
- Gross, N., Suding, K.N.K. & Lavorel, S. (2007) Leaf dry matter content and lateral spread predict response to land use change for six subalpine grassland species. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 289–300.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S. & Ewel, J.J. (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, **75**, 3–35.
- Jones, D. & Willett, V. (2006) Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 991–999.
- Lamarque, P. (2012) *Une Approche Socio-Écologique Des Services Écosystémiques: Cas D'étude Des Prairies Subalpines Du Lautaret*. PhD thesis, Université Joseph Fourier, Grenoble, France.
- Legay, N. (2013) *Une Approche Fonctionnelle Des Relations Plantes Microorganismes Dans Le Cadre Du Cycle de L'azote - Cas Des Prairies de Montagnes*. PhD thesis, Université Joseph Fourier, Grenoble, France.
- Morin, S., Lafaysse, M., Coleou, C. & Lejeune, Y. (2013) Will There (Still) Be Snow for the Upcoming Winter Holidays? On the Conditional Predictability of Snow Conditions Several Weeks to Months in Advance. *International Snow Science Workshop*, pp. 1171–1176. Grenoble - Chamonix Mont-Blanc, France.
- Ozenda, P. (1985) *La Végétation de La Chaîne Alpine Dans L'espace Montagnard Européen*. Masson, Paris, France.
- Quétier, F. (2006) *Vulnérabilité Des Écosystèmes Semi-Naturels Européens Aux Changements D'utilisation Des Terres - Application Aux Prairies Subalpines de Villar d'Arène, France*. PhD thesis, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- Rameau, J.C., Mansion, D., Dumé, G., Timbal, J., Lecoïnte, A., Dupont, P. & Keller, R. (1993) *Flore Forestière Française - Guide Écologique Illustré - Tome 2: Montagnes*. Institut pour le

développement forestier, Paris, France.

- Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *Journal of Ecology*, **98**, 62–73.
- Robson, T., Lavorel, S., Clement, J. & Roux, X. (2007) Neglect of mowing and manuring leads to slower nitrogen cycling in subalpine grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 930–941.
- Ryser, P. & Urbas, P. (2000) Ecological significance of leaf life span among Central European grass species. *Oikos*, **91**, 41–50.
- Ryser, P. & Wahl, S. (2001) Interspecific variation in RGR and the underlying traits among 24 grass species grown in full daylight. *Plant Biology*, **3**, 426–436.
- Vionnet, V., Brun, E., Morin, S., Boone, A., Faroux, S., Le Moigne, P., Martin, E. & Willemet, J.-M. (2012) The detailed snowpack scheme Crocus and its implementation in SURFEX v7.2. *Geoscientific Model Development*, **5**, 773–791.
- Voroney, R.P., Brookes, P.C. & Beyaert, R.P. (2006) Soil microbial biomass C, N, P, and S. *Soil Sampling and Methods of Analysis* (eds M.R. Carter & E.G. Gregorich), pp. 637–651. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Waring, S.A. & Bremner, J.M. (1964) Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. *Nature*, **201**, 951–952.
- Wienhold, B.J. (2007) Comparison of Laboratory Methods and an In Situ Method for Estimating Nitrogen Mineralization in an Irrigated Silt-Loam Soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **38**, 1721–1732.
- Zeiter, M., Stampfli, A. & Newbery, D.M. (2006) Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology*, **87**, 942–951.

CHAPITRE 3 : ARTICLE 1



RESISTANCE AND RESILIENCE OF SUBALPINE PLANT FUNCTIONAL TRAITS TO SNOW COVER REDUCTION AND SPRING DROUGHT.

Lionel Bernard^{1*}, Arnaud Foulquier¹, Nicolas Legay², Sandra Lavorel¹ & Jean-Christophe Clément¹³.

In prep.

¹ *Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553, Université Grenoble Alpes, BP 53, 38041 Grenoble cedex 09, France*

² *Agroécologie, UMR INRA 1347, Université de Bourgogne, BP 86510, 21065 DIJON cedex, France*

³ *Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques et les Écosystèmes Limniques, UMR INRA A42, Université Savoie Mont Blanc, Campus scientifique, 73376 Le Bourget du Lac cedex, France*

Keywords: environmental changes, drought, snowmelt, mowing, fertilization, subalpine grasslands, plant functional traits, community structure, conservative and exploitative strategies.

3.1 - ABSTRACT

Extreme climate events are expected to increase in frequency and magnitude as a consequence of global warming, especially in mountain regions. These extreme events may have profound effects on high elevation grasslands especially when they are coupled with changing management practices which also modify their biodiversity and functioning. As a result, these social-ecological systems are expected to be profoundly affected together with the numerous ecosystem services they support.

Our study on assembled subalpine grassland communities in the central French Alps evaluated the effects of combinations of an earlier snowmelt, a drought event during the growing season and contrasted management practices. Plant community structure and ecosystem functioning responses were surveyed in four assembled grassland communities distributed along a resource-use strategies gradient.

Overall, subalpine grasslands appeared to be resistant to two years of successive extreme climate events as no extra mortality was recorded. However, earlier snowmelt and associated frost affected more significantly the structure and the functioning of subalpine grasslands than drought in absence of management. Our results suggest a weak resilience to earlier snowmelt and a high resistance to drought of subalpine grasslands. Singularly, the application of snow removal before drought enhanced communities' resistance to water scarcity, probably through pre-hardening mechanisms. Mowing and fertilization cancelled snow removal effects because it removed the biomass that was primarily constrained by frost and allowed plants resprouting which benefited from fertilization. Management prior drought fostered resilience of exploitative communities but had limited effect on conservative ones. In all case, functional resistance and resilience were mainly driven by interspecific variability within communities. Finally, this study suggest that combining community composition and management practices can compensate yield reductions caused by extreme climate events, and thus offers practical management options to adapt forage production to climate change.

3.2 - INTRODUCTION

Mountain ecosystems, because they are strongly constrained by climate (Parmesan 2006; Hülber, Winkler & Grabherr 2010), are expected to respond sensitively to ongoing and future climate change (Theurillat & Guisan 2001; Nogués-Bravo *et al.* 2007; Engler *et al.* 2011; Gottfried *et al.* 2012; IPCC 2013), with profound ecological and social impacts at local to global scales (Beniston 2006; IPCC 2014). In addition, changes in land use are widely considered as one of the main drivers of global change affecting mountain ecosystems (Chemini & Rizzoli 2003; Tasser, Tappeiner & Cernusca 2005). Subalpine grasslands are supports of key ecosystem services and have high ecological, economic and cultural values (Grêt-Regamey, Brunner & Kienast 2012; Haida, Rüdissler & Tappeiner 2016; Zoderer *et al.* 2016). They are particularly exposed to combined effects of changing climate and management (Tappeiner & Bayfield 2004; Gellrich & Zimmermann 2007), which are considered as major drivers of their biodiversity (Vittoz *et al.* 2009). In European mountains since the 1970's traditional mowing has often been converted either to extensive summer grazing or to intensification through manuring (Fischer & Wipf 2002; Tasser & Tappeiner 2002; Quétier *et al.* 2007a). Different management practices (fertilization, grazing, cutting...) lead to different disturbance regimes (frequency and timing of biomass harvest) and resource availability (nutrients, water), which might interact with climate change to affect plant communities (Pausas, Lavorel & Lepš 2003). However the combined effects of climate and such management changes on subalpine grassland functioning, and the underlying mechanisms remain poorly known (Thuiller *et al.* 2008; Engler *et al.* 2011).

IPCC scenarios predict that mountain regions from the northern hemisphere will experience an increase in mean temperatures, changes in precipitation amounts and seasonal patterns, and changes in snow cover duration as well as an increased frequency of extreme weather events (Bahn *et al.* 2014). The predicted decrease in snowfall or snowpack thickness (Beniston 2005; Hantel & Hirtl-Wielke 2007; Durand *et al.* 2009a; Serquet *et al.* 2011; Serquet, Marty & Rebetez 2013; Gobiet *et al.* 2014), combined with increased temperature (Auer *et al.* 2007; Nogués-Bravo *et al.* 2007; Gobiet *et al.* 2014) is likely to advance spring snowmelt (Beniston *et al.* 2003; Keller, Goyette & Beniston 2005; Steger *et al.* 2013), and consequently to affect soil temperature and moisture regimes (Choler 2005; Jonas *et al.* 2008; Clement *et al.* 2011). A reduced snow cover during winter associated with an earlier snowmelt would result in longer growing seasons which could stimulate vegetation growth (Theurillat & Guisan 2001; Dye 2002; Wipf, Stoeckli & Bebi 2009; Wipf 2010). On the other hand, the absence of insulating snow cover could increase the risk of frost damage while an extended growing season could lead to summer water stress (Inouye 2000;

Wipf, Rixen & Mulder 2006; Edwards, Scalenghe & Freppaz 2007; Wipf & Rixen 2010). Additionally, variations in winter precipitation may be just as important as summer precipitation for grassland ecosystem functioning because snow melt water provides critical water resources to vegetation during the following spring and summer (Chimner & Welker 2005; Welker *et al.* 2005; Wipf 2010). The predicted decrease in summer precipitations and increased frequency of summer drought (Schär *et al.* 2004; Schmidli & Frei 2005; Beniston *et al.* 2007; Christensen & Christensen 2007; Knapp *et al.* 2008; Dai 2011; GIEC 2013) in Central Europe/north temperate ecosystems are likely to have large impacts on ecosystem processes in water-limited grasslands (Knapp & Smith 2001; Fay *et al.* 2002, 2011). Indeed, plant drought sensitivity is predicted to change the competitive ability of plant species with important cascading effect at the ecosystem level (Jentsch *et al.* 2011). To survive severe droughts, most perennial herbaceous species display a combination of responses (Volaire, Norton & Lelièvre 2009) including leaf senescence associated with a reduction in plant transpiration (Ludlow 1989; Gepstein 2004), as well as a deep rooting (Volaire & Lelièvre 2001). Precipitations and related soil water content are consequently important for the phenology and the magnitude of vegetation growth and ecosystem primary productivity (Leitinger *et al.* 2015; Obojes *et al.* 2015). While concomitant changes in climate drivers are expected (Jentsch, Kreyling & Beierkuhnlein 2007; IPCC 2014), most manipulative experiments on precipitation regimes have focused on single climate drivers such as drought or early snow removal.

One might argue that subalpine grassland are highly resistant to climate change for evolutionary reasons following selection by glaciations and *via* functional mechanisms of resistance to climate variability (Körner 2003), but the critical question of potential thresholds to the resistance of these systems remains open (Beniston 2003). The few experiments analyzing the response of subalpine grasslands to global change have led to contrasting conclusions depending on methods and studied models. In the Alps, Vittoz *et al.* (2009) and Benot *et al.* (2014) recorded limited effects on plant community structure and functioning with observed changes predominantly driven by management rather than water scarcity. In the same way Price & Waser (2000) found no effects on Rocky Mountain vegetation in a warming experiment affecting both snow cover period and summer growth, but they highlighted the possible critical effect of a precipitation pattern variation. In contrast, in the Pyrenees Sebastiá (2004, 2007) and Sebastià, Kirwan & Connolly (2008) reported profound modifications in plant community structure and functioning in an elevation transplant experiment with or without N and P addition.

The engineering concepts of resistance and resilience have been widely used for evaluating stability of ecological systems (e.g. Orwin & Wardle 2005; Orwin, Wardle & Greenfield 2006; Vogel, Scherer-Lorenzen & Weigelt 2012; Klimeš *et al.* 2013; Rivest *et al.* 2014). Resistance

reflects the ability of a system to tolerate a disturbance, and is usually expressed as the difference of an ecosystem property measured between perturbed and unperturbed systems (Pimm 1984; Orwin & Wardle 2004; Folke *et al.* 2004). Resilience relates to the ability of a system to recover a pre-perturbation state or to reach an unaffected control after perturbation, and is usually measured as the proportion of return at a given time after disturbance of an ecosystem property (Pimm 1984; Gunderson 2000; Orwin & Wardle 2004).

We hypothesize that these two components of ecosystem stability are linked to functional traits of dominant plant species. Plant functional traits have been proposed as useful tools to understand and project plant performance in response to environment (Lavorel & Garnier 2002; Violle *et al.* 2007), and can be used to anticipate the consequences of global changes (Chapin 2003). Suding *et al.* (2008) suggested that community level leaf traits and functional diversity should respond more rapidly to climate change drivers than species diversity. Plant resource-use strategies (Grime 2001; Westoby *et al.* 2002; Wright *et al.* 2004) are one of the plant functional dimensions that relate well to the environment. Species with an exploitative strategy, characterized by rapid tissue turnover, high resource capture rate and fast-growth ability with high specific leaf area (SLA) or leaf nitrogen content (LNC), are dominant in resource-rich habitats (Reich, Walters & Ellsworth 1997; Reich *et al.* 1999; Grime 2001; Lavorel & Garnier 2002; Wright *et al.* 2004), and conversely species with a conservative strategy dominate in resource-poor habitats. Traits underpinning plant resource-use strategies have been also largely used as indicators of management effects on communities (e.g. Gross, Suding & Lavorel 2007; Quétier, Thébaud & Lavorel 2007b; Pakeman *et al.* 2009; Vandewalle *et al.* 2014) and on ecosystem functioning (e.g. Grigulis *et al.* 2013). They are also indicators of individual plant water loss regulation through leaves (Wright, Reich & Westoby 2001; Ackerly 2004). For instance, drought tolerance can be reflected by higher LDMC and/or lower SLA (Volaire 2008; Poorter *et al.* 2009). Previous studies have shown that exploitative communities have higher resilience and lower resistance to climate perturbations than conservative communities which exhibit high resistance and low resilience (MacGillivray, Grime & Team 1995; Díaz & Cabido 2001).

However, up to now, most studies on plant communities response to climate change have focused on community taxonomic responses (plant species composition, diversity and thus plant turnover) (e.g. (Sandel *et al.* 2010; Kreyling, Jentsch & Beierkuhnlein 2011; Kreyling, Haei & Laudon 2012), or on plant functional responses (growth and/or phenology) (e.g. (Galen & Stanton 1993, 1995; Inouye 2008; Wipf *et al.* 2009; Wipf 2010; Hudson, Henry & Cornwell 2011). In contrast, studies incorporating responses to climate change from individual plants and their traits to plant communities are scarcer (see Peñuelas *et al.* 2004; Jentsch *et al.* 2011; Benot *et al.* 2014; Jung

et al. 2014; Malyshev *et al.* 2015). Therefore, combined (winter and summer) water stresses and management are expected to shift community trait composition. Short-term events such as extreme droughts are likely to induce community functional responses mainly *via* intraspecific, individual level variability through plastic adjustment of the resident plants natives (Helmuth, Kingsolver & Carrington 2004; Jung *et al.* 2014), while long-term progressive changes are likely to impact plant communities mainly through species turnover (Theurillat & Guisan 2001; Helmuth *et al.* 2004; Jump & Peñuelas 2005). As a result we expect community-weighted mean traits (CWM, (Garnier *et al.* 2004; Violle *et al.* 2007) to respond to combined climate and management modifications due to combinations of changes in species composition and intraspecific trait variability (Lepš *et al.* 2011).

To quantify the resistance and resilience of subalpine grassland structure and functioning to winter and summer extremes, depending on functional composition and to identify underlying mechanisms, we created a gradient of functional diversity based on resource-use strategies using three dominant grass species from subalpine pastures in a common garden experiment. Combinations of altered precipitation patterns (earlier snow removal and drought) and management options (fertilization and mowing) were applied against controls, and the species/community growth responses were surveyed. Our overall aims were: (1) to characterize the community functional responses to single and combine effects of winter and summer extreme event , (2) to determine how management practices modulate or buffer the climate stress effects and (3) to assess the relationships between plant/community resource-use strategy and resistance and resilience patterns to water scarcity. More specifically, the following hypotheses were tested: (1) an earlier snowmelt affects more significantly the structure and the functioning of subalpine grasslands than drought, and their combination deeply impact grasslands functioning through synergic effects, and (2) fertilization and mowing lower resistance and enhance resilience by promoting fast growing exploitative species over slow growing conservative species and (3) there is a trade-off between plant resource-use strategies: exploitative functional traits decrease resistance but improve resilience in opposition to conservative traits. Consequently, balanced functional composition increase both resistance and resilience of grasslands structure and functioning.

3.3 - MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE

The experiment was located in a common garden at the Station Alpine Joseph Fourier near the Col du Lautaret (45°02'13''N, 6°24'01''E, 2 100-m a.s.l.) in the central French Alps. The climate is subalpine with a pronounced continental influence. Mean annual precipitation is 956 mm, most of which falls as snow during winter, and there is a pronounced summer drought with only 18% of the annual rainfall occurring during summer. Mean monthly temperatures range between -7.4°C in February and 19°C in July. The growing season starts after snowmelt, between mid-April and early May, and finishes at the early autumn (October).

STUDY SPECIES AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS

In this study we focused on grass species, which make up 50% to 80% of the total cover of the subalpine grasslands at the study site (Gross *et al.* 2007). The study area is characterized by a mosaic of grasslands distributed along a fertility gradient resulting from an abandonment of mowing in favor of light grazing since the end of WWII. In fertilized mown meadows, conservative (i.e. low SLA, low leaf nitrogen concentration and high leaf dry matter content) and exploitative species (with opposite traits) represent about half of the total biomass each. In unfertilized pastures, conservative species are dominant making up to 80% of the total biomass (Quétier *et al.* 2007b). Subalpine grasslands are exclusively dominated by perennial vegetation and recruitment events are rare (Zeiter, Stampfli & Newbery 2006). For this reason, we choose to focus on the adult stage and used tillers collected from the field. All plants were collected in the neighboring subalpine grasslands, on the south-facing aspect of the Villar d'Arène municipality (45.04°N, 6.34°E), ranging from 1 700 to 2 100 m a.s.l (detailed description in Quétier *et al.* 2007b).

We selected three locally abundant perennial tussock grasses along a gradient of conservative-exploitative resources use based on their leaf dry matter content (LDMC), leaf nitrogen content (LNC) and vegetative height measured under optimal manipulation (no resource limitation, Gross *et al.* 2007; Grassein *et al.* 2015): the highly conservative *Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos (formerly *Festuca paniculata* (L.) Schinz & Thell.), which has tough, fibrous leaves and high leaf C/N; the more exploitative *Dactylis glomerata* (L.), which has thinner and tender leaves, higher specific leaf area and lower leaf C/N relative to the local grass species pool (Gross *et al.* 2007); and *Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr. as a functional intermediate.

EXPERIMENTAL DESIGN

In late July 2012, single tillers of the three species were separated from large tussocks and planted in individual pots filled with potting soil. One month later, they were planted in larger pots (Ø 45-cm, h 50-cm) filled with *in situ* sieved (5-mm) and homogenized soil from nearby grasslands (homogeneous calc-shale substrate, only keeping the -10 to -50-cm depth soil fraction), after a preliminary root wash to minimize potting soil contamination.

In each pot, 36 individual plants were established to obtain gradually contrasted community weighted mean traits (Garnier *et al.* 2004; Appendix I) according to the following design:

‘Exploitative’ treatment (E): 27 *D. glomerata*, six *B. erecta* and three *P. paniculata* individuals

‘Mid-Exploitative’ treatment (ME): 18 *D. glomerata*, 12 *B. erecta* and six *P. paniculata* individuals

‘Mid-Conservative’ treatment (MC): six *D. glomerata*, 12 *B. erecta* and 18 *P. paniculata* individuals

‘Conservative’ treatment (C): three *D. glomerata*, six *B. erecta* and 27 *P. paniculata* individuals

In each distinct plant community, the 36 individuals’ tillers were transplanted according to the same spatial scheme. In total, 128 pots were set, with 32 replicates of four distinct plant mixtures/communities. They were inserted into the ground so that their top was a few centimeters above the soil surface to avoid runoff. The bottom of each pot contained a drain which was drilled on the bottom side to limit root growth outside the pots. They were distributed within a split-plot experimental design with snow cover as main factor and watering as sub factor (Fig. 3.1). Two snow cover treatments, snow removal (SR) and natural snowmelt (NSR) were assigned to eight 6*3m plots. Each plot was divided into two 3*3-m sub-plots (with a 0.5-m buffer zone) which were assigned a watering treatment, either drought (D) or normalized watering (No-Drought - called hereafter ND). Each of these sub-plots contained eight pots with each of the four experimental plant community repeated twice and randomly set in a square way. Two management-related treatments were assigned to each half of the paired plant communities, namely mowing with fertilizing (MF) and unmanaged (NMF). After this 2012 experimental set-up we conducted three successive years of experimental manipulation (Fig. 3.2).

Treatments

The SR treatment consisted of snow removal by shoveling one month earlier than the end of the natural snowmelt, which was assessed using a combination of snowpack measurement throughout winter (Snow Water Equivalent and snow depth), with the detailed snowpack model SURFEX/ISBA-Crocus prediction (Morin *et al.* 2013) based on the French reanalysis SAFRAN in mountain regions (Durand *et al.* 2009b; Vionnet *et al.* 2012), and on field observations. The D treatment consisted of a 4 to 8 weeks period during the growing period with no water addition (the late timing of the first D treatment reflects difficulties during the experimental set up). For all plots, precipitations were intercepted by transparent shelters (corrugated polyester reinforced with glass fibres, 1.5-m above ground surface) installed after snow melt and removed in late September. Under the shelters, plant communities were watered manually each week to complement water losses due to evapotranspiration, which were assessed by ETP0 formula of Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998), and implemented with meteorological variables recorded under shelter by a Hobo weather station (Onset Computer Corporation, MA, USA). When this station was not in place on the experimental area (mainly during winter seasons), meteorological parameters were monitored using the ROMMA weather station (Réseau d'Observation Météo du Massif Alpin) of Col du Lautaret, located at 120-m from the common garden. The MF plant communities were fertilized after the first snow melt with 17.55-g (to reach the equivalent of 150-kgN.ha⁻¹) of slow release fertilizer (13-13-13 +2 MgO + oligoelements, Nutricote, Fertil, France) and mown once a year following farmers practices at peak vegetation. Mowing consisted in cutting the sward to 10-cm above soil surface and exporting the cut biomass. The NMF paired communities were left unmanaged (Not Mown and Fertilized).

In 2013, 64 pots (half of the whole design) were equipped by Hobo Ech2o 10C soil moisture probes (Onset Computer Corporation, MA, USA) from late July until they crush during winter. In 2014, in two distinct plant communities per subplot, soil moisture was recorded by CS616 Campbell sensors (Campbell Scientific, UT, USA) inserted in the soil down to 30-cm depth. Soil temperature was monitored at 5-cm depth in half of the subplots with Campbell 107 thermistors (Campbell Scientific, UT, USA). Given that soil temperature and soil moisture were recorded either with Campbell or hobo sensors during the experiment, linear regressions between both sensors data were established ($R^2 = 0.99$ for soil temperature and $R^2 = 0.94$ for soil moisture). The resulting equations were then used to correct Hobo data in communities where and when these data were available. Throughout the experiment, eight Hobo Pendant Temperature (Onset Computer Corporation, MA, USA), were distributed among the eight plots to monitor soil temperature at 15-cm depth.

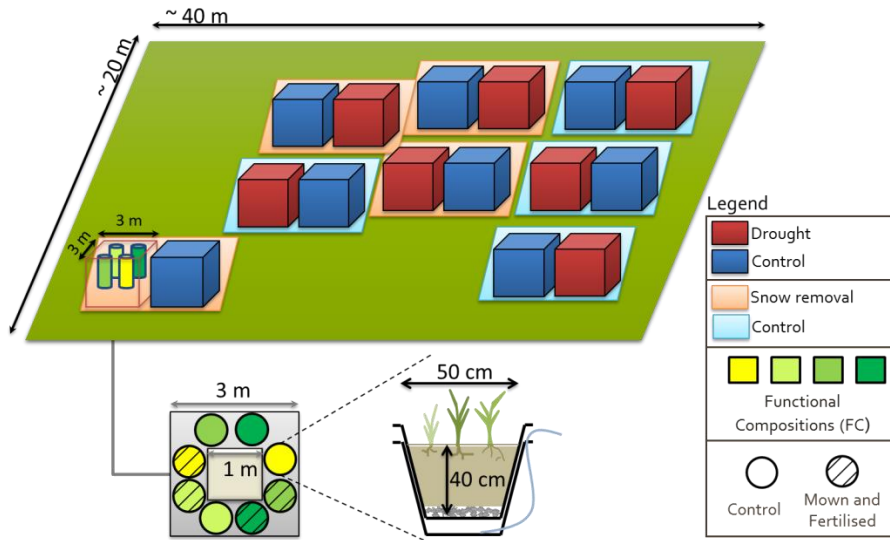


Figure 3.1. Field experimental design.

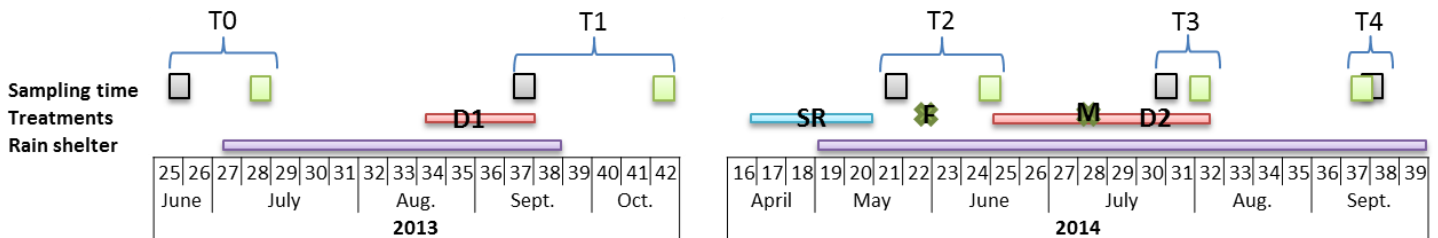


Figure 3.2. Calendar of experimental treatments and data collection. Purple line: sheltered period; D: Drought; SR: Snow removal; F: Fertilization; M: Mowing; Black square: SWC measurements; Green square: Vegetation survey; T₀ n=32; T₁ n=16; T₂ n=8; T₃ & T₄ n=4.

Aboveground community and species functional parameters

From T₀ to T₃, in each pot we measured plant traits: **tiller number**, which is considered as a whole plant growth proxy; **Leaf Growth_t Index** = $\ln(\text{length}_t / \text{length}_{t-1})$ using the length of the longest leaf monitored through the sampling events; **Leaf Senescence**, which is the percentage of the longest leaf being senescent. Depending on the community, the leaf traits of the same three or five individuals per species were measured at each sampling time.

At T₄, in addition to the previous recordings, the whole **aboveground biomass** (per species and per community) was collected and weighted fresh and dried (7-d at 70°C) to calculate a **DMC** (dry matter content, calculated as the dry weight of the biomass relative to its fresh mass) at the species and community levels. A sub-sample (10-mg) randomly taken from the harvested green leaves was dried, ground to powder, and analyzed for carbon and nitrogen concentration using a C/N elemental analyzer (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation). **Leaf nitrogen and carbon content** (LNC

& LCC, mg/g) was calculated at the species and community levels (Cornelissen *et al.* 2003; Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013).

In addition we surveyed individual mortality within each pot at each sampling event to obtain the relative abundance of each species and thus calculate three different community weighted mean values (CWM) for each trait of interest at each date:

- $CWM_i = \sum_{i=1}^S p_i \times trait_i$, S is the number of species in the community, p_i is the relative abundance of species i and $trait_i$ is the trait value of species i . This is an average value of the functional traits, weighted by the relative abundances of the different species in the community (Garnier *et al.* 2004).

- CWM_t , this is an average value of the functional traits, weighted by the relative densities of the different species in the community (using density based on the number of tillers t of each species present in the community).

- CWM_b solely at T_4 , this is an average value of the functional traits, weighted by the relative biomass of the different species in the community (using biomass calculated on aboveground biomass b of each species present in the community).

Due to the overall low mortality throughout the whole experiment, we considered only the CWM_t values (i.e. using tiller abundance –density– based calculation), rather than CWM values (i.e. using individual abundance based calculation). In addition, CWM_t values were highly correlated with CWM_b at T_4 (data not shown), giving the better approximation of actual community trait values.

Belowground community functional & soil parameters

At all sampling events soil water content was measured on four soil cores (2-cm diameter*10-cm depth) pooled in a composite sample per community. After sampling, each hole was filled with the initial soil and tagged to avoid sampling afterwards. Soil water content (SWC) was calculated as the dry soil weight relative to the fresh mass.

For the last date of sampling (T_4), we also randomly sampled two soil cores (4.5-cm diameter, 20-cm depth) in each community to measure root traits. Each core was weighted, pooled, gently washed with distilled water and sieved sequentially (Ø4 - Ø2 - Ø0.5-mm) to separate the roots from the soil matrix. We calculated **root fresh and dry biomass**, root dry matter content (**RDMC**, calculated as the roots dry weight relative to its fresh mass), and **root carbon and nitrogen concentrations** on a 10-mg subsample ground to powder and analyzed using the same elemental analyzer as for leaves. Being obtained from community-level soil cores, these root trait measurements represented community-weighted means (Roumet, Urcelay & Díaz 2006). Finally, a

third soil core was collected within each pot to quantify the soil bulk density for calculating **root density**.

With data coming from above and belowground measurements at T₄ we additionally calculated total **dry biomass**, **root-shoot ratio**, tissue **carbon and nitrogen contents** and tissue **dry matter content**.

STATISTICAL ANALYSIS

Split-plot linear mixed-model analysis of variance (ANOVA) was used to test the effects of snow removal, drought, functional composition and mowing-fertilizing treatments on the climate variables and on the different traits collected throughout the experiment. Models were fitted by the restricted maximum-likelihood (REML) method using the 'lme' function from the 'nlme' package (Pinheiro *et al.* 2015) in the free R software version 3.2.1 (R Core Team 2015) and the random error structure was specified as plot/subplot (Crawley 2005).

For continuous climate measurements, each variable was first averaged by day and secondly averaged by time period ranging from the beginning of the experiment to each sampling event. Due to climate data logger restriction, only snow removal and drought treatment were set as fixed effects: at T₁ only the drought treatment was set as fixed effect, while at T₂, T₃ and T₄ snow removal was added to the models.

For soil variables and plant functional traits data all treatments were taken into account depending on sampling time. At T₁ only drought and the functional composition treatment were set as fixed effects while at T₂ snow removal was added. At T₃ and T₄, a first full model with snow removal, drought, functional composition and the mowing-fertilizing treatment as fixed effects showed that the management treatment on half of the pots induced profound modifications of most plant parameters ($p < 0.001$), suggesting that management switched the functioning of plant communities. Consequently, the data was split between managed and unmanaged communities with two separated mixed-model ANOVA including snow removal, drought and functional composition treatment as fixed effects. Where necessary, data was transformed to achieve normality and homoscedasticity. The significance threshold was fixed to 0.05. When a significant effect was observed, post hoc comparisons of means using Tukey contrasts were conducted with the 'lsmeans' package (Lenth & Hervé 2015).

At T₄, plant functional strategies for leaf traits, root traits and ratio between leaf and root traits were also analyzed using principal component analyses (PCAs) with the R base function 'prcomp'. PCAs were performed on four traits of the three grass species expressed at CMW_t level and

unmanaged/managed communities were analyzed under separated PCAs. Effects of climate treatments combinations were assessed by representing their centroids and 0.68 ellipses probabilities on each PCA.

3.4 - RESULTS

Treatments effects on soil climate variables

Drought and snow removal significantly affected several micro-climatic variables: drought mainly affected soil moisture while snow removal mainly affected soil and air temperatures. In late 2013 summer (T_1) the first experimental drought induced a drop in SWC (about -43%, Table 3.1, Appendix I) and a 1°C raise of mean daily maximum and amplitude soil temperature at the seasonal scale (Table 3.1, Appendix II). Early snow removal increased all soil temperature variables and decreased all air temperature variables (Table 3.1, Appendix III). While early snow removal created a transient increase in water availability due to exposure to early spring rainfalls in April 2014 (T_2), a significant lower SWC (-8.7%, Table 3.1, Appendix I) was measured at the end of the natural snowmelt period (May) in soils with early snow removal. At the end of the second drought in 2014 (T_3) all variables were impacted by climate treatment except for daily minimal soil temperature. Drought and snow removal effects followed the same trends as in T_1 and T_2 , with no interaction : soil and air temperature variations were mainly driven by early snow removal, whereas SWC was mainly modified by drought (Table 3.1). In September 2014 (T_4), six weeks after the end of the second drought, differences in micro-climatic variables observed at T_3 still persisted (Table 3.1). However, the influence of the drought on SWC was modulated by management (management x drought interaction). Drought still led to a lower SWC when no management was applied (-17.7%, *post hoc* Tukey test: $p < 0.001$), while drought did not change SWC in managed communities anymore (Fig. 3.3, Appendix I).

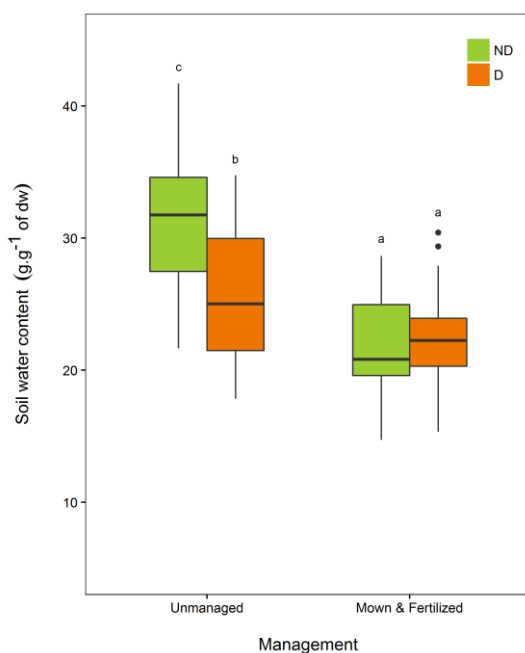


Figure 3.3. Effects of drought and management treatments on soil water content at T_4 . Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=32$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and boxes that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3.1. Mean $\pm$ SE daily climate variables from the beginning of the experiment to each sampling event and punctual Mean $\pm$ SE soil water content (SWC) values at each sampling event. NSR: control snow removal, SR: early snow removal, ND: control drought, D: drought event. Mean: mean daily value, Min: minimal daily value, Max: maximal daily value, Amp: daily range value. TSoil: soil temperature, MSoil: soil moisture, TAIR: air temperature, MAIR: air relative moisture. Italic letters indicate significant differences inside each variable column and period ($p < 0.05$).

	Mean TSoil (°C)	Min TSoil (°C)	Max TSoil (°C)	Amp TSoil (°C)	Mean MSoil	SWC (g.g ⁻¹)	Rain/ Watering (mm)	Mean TAir (°C)	Min TAir (°C)	Max TAir (°C)	Amp TAir (°C)	Mean MAir (°C)
T1 - 08/01 → 10/18												
ND	11.1±0.1 ^a	8.2±0.2 ^a	14.5±0.1 ^a	6.3±0.2 ^a	0.19±0.008 ^a	19.74±0.28 ^a	137.7	9.3	5.4	14.5	9.1	78.8
D	11.2±0.2 ^a	8.0±0.2 ^a	15.4±0.2 ^b	7.3±0.2 ^b	0.17±0.010 ^a	11.20±0.26 ^b	77.5					
T2 - 04/14 → 06/12												
NSR	3.2±0.2 ^a	1.7±0.2 ^a	5.2±0.4 ^a	3.5±0.2 ^a	NA	40.35±0.34 ^a	89.8	7.6	3.4	12.8	9.4	74.4
SR	5.4±0.1 ^b	2.8±0.1 ^b	9.0±0.2 ^b	6.2±0.2 ^b		36.83±0.24 ^b	148.2	5.1	1.4	9.7	8.3	75.2
T3 - 04/14 → 08/05												
NSR x ND	7.8±0.1 ^a	5.9±0.1 ^a	10.3±0.1 ^a	4.4±0.1 ^a	0.21±0.029 ^a	30.36±1.12 ^a	174.4	9.2	5.3	14.2	8.9	80.7
SR x ND	9.0±0.4 ^b	6.2±0.4 ^a	12.7±0.5 ^b	6.5±0.3 ^b	0.18±0.010 ^a	30.53±1.02 ^a	232.8	7.6	3.9	12.3	8.5	79.6
NSR x D	8.6±0.1 ^b	6.3±0.1 ^a	11.6±0.1 ^c	5.2±0.2 ^c	0.09±0.004 ^b	14.79±1.21 ^b	89.8	9.2	5.3	14.2	8.9	80.7
SR x D	8.9±0.2 ^b	6.1±0.1 ^a	12.6±0.4 ^b	6.4±0.3 ^b	0.10±0.006 ^b	15.88±1.32 ^b	148.2	7.6	3.9	12.3	8.5	79.6
T4 - 04/14 → 09/14												
NSR x ND	9.0±0.1 ^a	6.9±0.1 ^a	11.5±0.1 ^a	4.6±0.1 ^a	0.22±0.034 ^a	27.51±1.26 ^a	246.4	9.4	5.3	14.6	9.2	80.5
SR x ND	9.9±0.3 ^b	7.0±0.3 ^a	13.4±0.4 ^b	6.4±0.2 ^b	0.20±0.013 ^a	25.67±1.04 ^a	304.8	8.2	4.3	13.2	8.9	79.7
NSR x D	9.7±0.1 ^b	7.2±0.1 ^a	12.8±0.1 ^c	5.6±0.2 ^c	0.11±0.004 ^b	24.98±0.85 ^a	161.9	9.4	5.3	14.6	9.2	80.5
SR x D	9.7±0.2 ^b	6.9±0.1 ^a	13.3±0.4 ^b	6.4±0.4 ^b	0.11±0.006 ^b	23.38±0.79 ^a	220.3	8.2	4.3	13.2	8.9	79.7

First Drought and Snow Removal short-term effects at plant community level

The leaf growth index varied significantly among functional compositions at both T₁ and T₂ (Table 3.2). While the effects were weak after the first drought (T₁), conservative and mid-conservative communities (C and M-C) had larger growth rates than exploitative and mid-exploitative communities (E and M-E) after the end of the natural snowmelt (T₂) (*post hoc* Tukey test: $p < 0.001$). Conversely, the two climate treatments did not induce any variations in the leaf growth index at either T₁ or T₂ (Table 3.2).

Table 3.2. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Drought, Snow Removal and Functional Composition on CWM_i Leaf Growth Index from T₁ to T₂. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
T1 - Growth Index			
Drought	64	0.7	0.439
Functional Composition	32	2.7	0.048
D : FC	16	<0.1	0.995
T2 - Growth Index			
SnowRemoval	64	2.5	0.168
Drought	64	0.6	0.476
Functional Composition	32	51.6	<0.001
SR : D	32	1.7	0.236
SR : FC	16	0.6	0.587
D : FC	16	2.5	0.066
SR : D : FC	8	2.1	0.105

Climate treatments and functional composition effects in the absence of management

At the end of the second drought period and similarly to prior sampling events (T₂), the leaf growth index was mediated by functional composition and increased significantly from the conservative (C) communities to the exploitative (E) communities (Fig. 3.4). In addition, early snow removal communities showed significantly slower leaf growth rates than those experiencing normal snow cover, while drought did not influence leaf growth (Table 3.3). At T₃ leaf senescence (%) was not related to functional composition, but responded to changes in snow cover and watering regimes (Table 3.3). The interaction between both climatic treatments was close to significance and *post hoc* Tukey analyses revealed that early snow removal in addition to drought lessened the increase in leaf necrosis due to drought (Fig. 3.5).

One month after the last drought (T₄), the leaf growth index was not affected by any treatment while leaf senescence was still impacted by drought (Table 3.3).

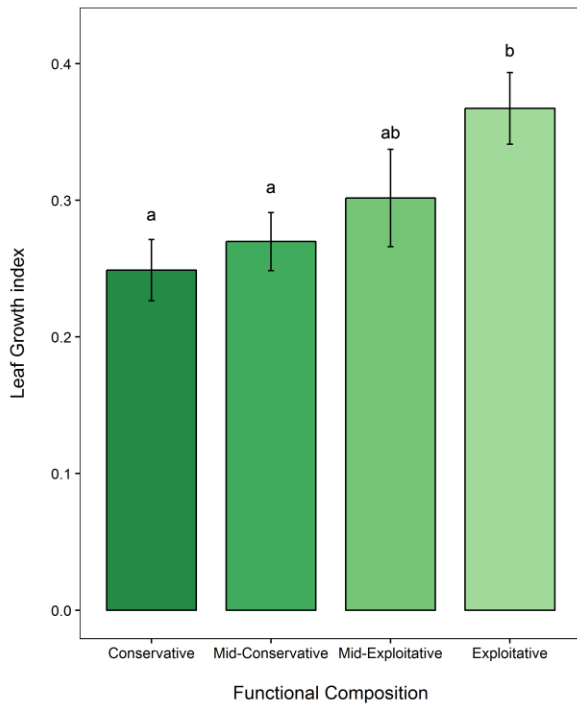


Figure 3.4. CWM_t Leaf Growth Index at T₃ in unmanaged communities. Values are expressed as means ± SE (n=16) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

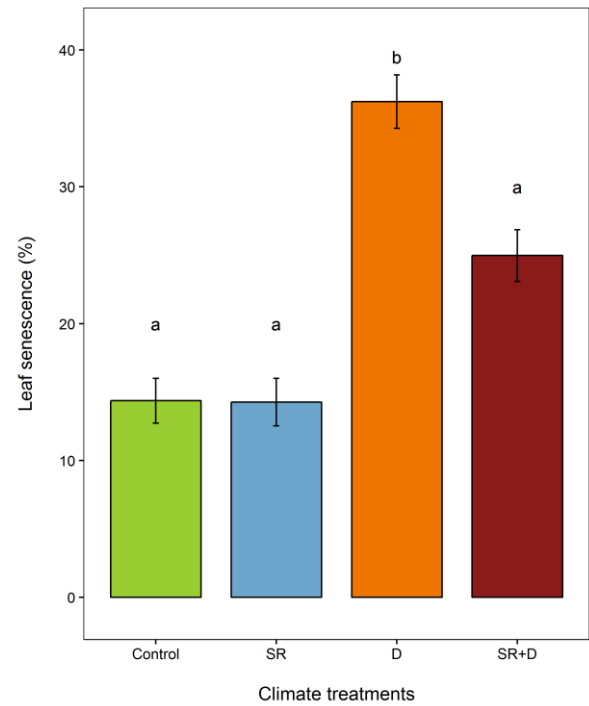


Figure 3.5. CWM_t leaf senescence percentage measured at T₃ in unmanaged communities. Values are expressed as means ± SE (n=16) of the four climate treatments combinations. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

Table 3.3. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on CWM_t Leaf Growth Index and CWM_t Leaf Senescence from T₃ to T₄ in unmanaged communities. Values in bold indicate significance at P<0.05. n = sample size.

<i>Un-managed</i>		Growth Index		Senescence (%)	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	10.3	0.018	6.2	0.048
Drought	32	1.1	0.335	50.8	<0.001
Functional Composition	16	5.5	0.003	0.3	0.802
SR : D	16	1.6	0.252	5.9	0.051
SR : FC	8	0.4	0.748	0.5	0.684
D : FC	8	0.9	0.475	1.7	0.175
SR : D : FC	4	1.1	0.350	1.9	0.150
T4	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	0.6	0.463	1.1	0.340
Drought	32	4.4	0.081	20.2	0.004
Functional Composition	16	2.1	0.111	1.5	0.243
SR : D	16	3.0	0.134	0.2	0.670
SR : FC	8	0.7	0.587	0.1	0.963
D : FC	8	1.5	0.241	0.2	0.896
SR : D : FC	4	1.6	0.204	0.5	0.713

In contrast to the leaf growth index, the three treatments significantly affected other leaf and root traits only at T₄ (Table 3.4). The snow removal treatment effect on aboveground dry biomass was close to significance and decreased aboveground dry biomass by app. 23% on average. DMC was responsive to drought alone, with an increase of app. 5% when drought was applied (Table 3.4). LNC was related to both early snow removal and drought; their interaction revealed that snow removal alone increased leaf nitrogen content by about 21%, but the addition of drought override this increase (Fig. 3.6). The influence of drought on LCC varied among functional compositions with a 3.5% increase in LCC only in E and M-E communities (post hoc Tukey test: $p < 0.01$). DMC was also mediated by functional composition and increased as expected from E to C communities (post hoc Tukey test: $p < 0.05$). In addition the M-E communities exhibited singular behavior (Table 3.4) with lower aboveground dry biomass than in the three other communities leading to higher leaves and roots nitrogen content (post hoc Tukey test: $p < 0.05$). RNC appeared to be mediated by the three treatments interaction but with no clear pattern (Table 3.4). Nonetheless, RNC remained sensitive to drought with an increase of about 13% on average (Table 3.4). Similarly, RDMC and root biomass were also mediated by drought, with respectively an increase of app. 15% and a 21% decrease when drought was applied (Table 3.4).

ANOVAs of root-shoot ratios indicated only limited effects of all treatments (Table 3.4). The root:shoot biomass ratio responded to the interaction between snow removal and functional composition. Early snow removal in the M-C communities enabled lower ratio values than in E and M-E communities (post hoc Tukey test: $p < 0.05$), while without snow removal no differences were detected among functional compositions. The root-shoot N ratio responded to the interaction between early snow removal and drought; while these climate treatments alone did not diverge from the control. Root-shoot ratios from snow removal alone were significantly lower than from snow removal plus drought (post hoc Tukey test: $p < 0.05$, Fig. 3.7).

Table 3.4. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on Aboveground Dry Biomass, LCC, LNC, DMC, Root Dry Biomass, RCC, RNC, RDMC; as well as biomass, C content, N content and dry matter content root-shoot ratio at T₄ in unmanaged communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

<i>Un-managed</i>		Aboveground Dry Biomass		LCC		LNC		Leaf C/N		DMC	
T4	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	5.6	0.056	0.9	0.386	0.6	0.482	2.0	0.209	0.3	0.616
Drought	32	0.6	0.471	4.5	0.078	0.0	0.841	0.0	0.880	14.2	0.009
Functional Composition	16	8.2	<0.001	0.2	0.901	5.6	0.003	3.8	0.019	11.0	<0.001
SR : D	16	0.1	0.724	0.0	0.998	6.9	0.040	2.7	0.152	4.5	0.079
SR : FC	8	0.5	0.709	2.0	0.125	0.2	0.903	0.3	0.789	0.7	0.554
D : FC	8	1.0	0.384	7.6	<0.001	0.3	0.820	1.5	0.234	0.7	0.580
SR : D : FC	4	0.9	0.456	0.8	0.502	2.2	0.102	0.8	0.528	1.7	0.184
		Root Dry Biomass		RCC		RNC		Root C/N		RDMC	
	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	0.3	0.576	1.1	0.334	1.0	0.366	0.0	0.981	0.0	0.938
Drought	32	5.8	0.053	0.0	0.975	16.9	0.006	9.8	0.021	33.8	0.001
Functional Composition	16	1.1	0.382	0.7	0.563	3.4	0.027	1.5	0.234	1.6	0.201
SR : D	16	0.8	0.397	3.3	0.121	3.2	0.123	0.1	0.726	2.4	0.173
SR : FC	8	1.1	0.355	0.8	0.494	0.8	0.504	2.3	0.091	0.9	0.455
D : FC	8	0.4	0.780	0.8	0.499	0.4	0.776	0.4	0.764	0.7	0.551
SR : D : FC	4	0.6	0.589	0.6	0.637	4.6	0.008	1.7	0.177	1.3	0.298
		Root-Shoot Biomass ratio		Root-Shoot C content ratio		Root-Shoot N content ratio		Root-Shoot DMC ratio		—	
	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	-	-
SnowRemoval	32	1.3	0.300	0.7	0.450	0.5	0.495	0.0	0.975	-	-
Drought	32	0.4	0.539	0.1	0.786	6.8	0.041	3.8	0.100	-	-
Functional Composition	16	2.8	0.056	0.6	0.637	0.9	0.469	0.7	0.566	-	-
SR : D	16	0.2	0.708	3.3	0.121	6.2	0.047	2.4	0.171	-	-
SR : FC	8	3.9	0.017	0.7	0.578	0.3	0.819	0.7	0.557	-	-
D : FC	8	2.2	0.102	0.7	0.561	2.1	0.115	1.1	0.345	-	-
SR : D : FC	4	0.7	0.574	0.7	0.556	2.0	0.132	0.6	0.623	-	-

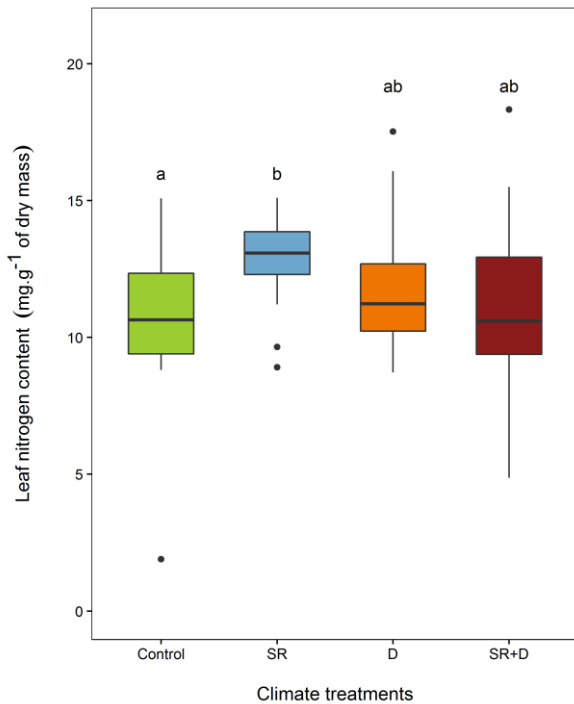


Figure 3.6. Effects of climate treatments combinations on leaf nitrogen content at T_4 in unmanaged communities. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=16$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and boxes that do not share any letter are significantly different. ($p<0.05$)

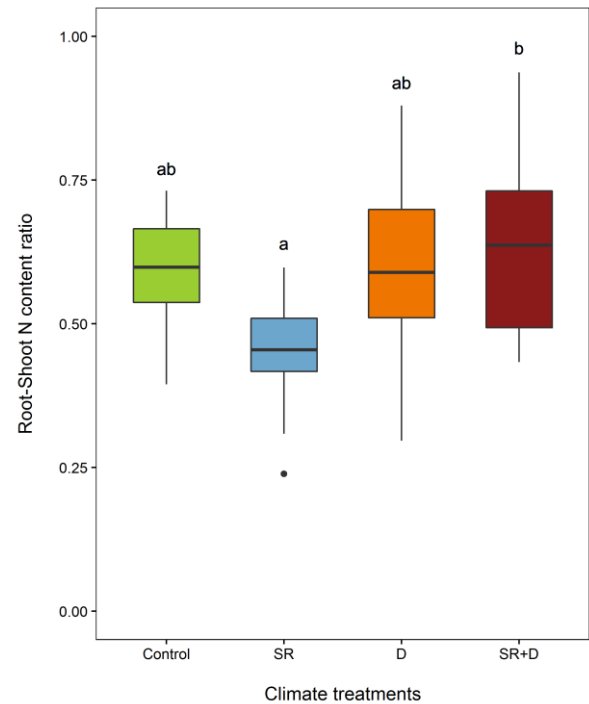


Figure 3.7. Effects of climate treatments combinations on root-shoot N content ratio at T_4 in unmanaged communities. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=16$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and boxes that do not share any letter are significantly different. ($p<0.05$)

In order to capture the whole variance distribution of leaf and root traits, PCAs were conducted. The first two axes of the PCAs of leaf traits (Fig. 3.8a), root traits (Fig. 3.8b) and root-shoot ratios (Fig. 3.8c) accounted respectively for 63.2%, 65.2% and 83.9% of the total variance observed among communities. The PCA of leaf traits showed a main contrast between drought and snow removal, associated respectively with DMC, aboveground biomass and LNC, whereas communities under combined treatments had an intermediate position. The PCA of root traits showed a clear separation between communities submitted or not to drought events. RDMC and RNC were strongly positively correlated and associated with drought response, while no-drought communities had greater root biomass.

The PCA of root:shoot ratios showed a separation between communities subjected to snow removal only and the others, and this was mainly associated with nitrogen content ratio while importance of drought is lowered.

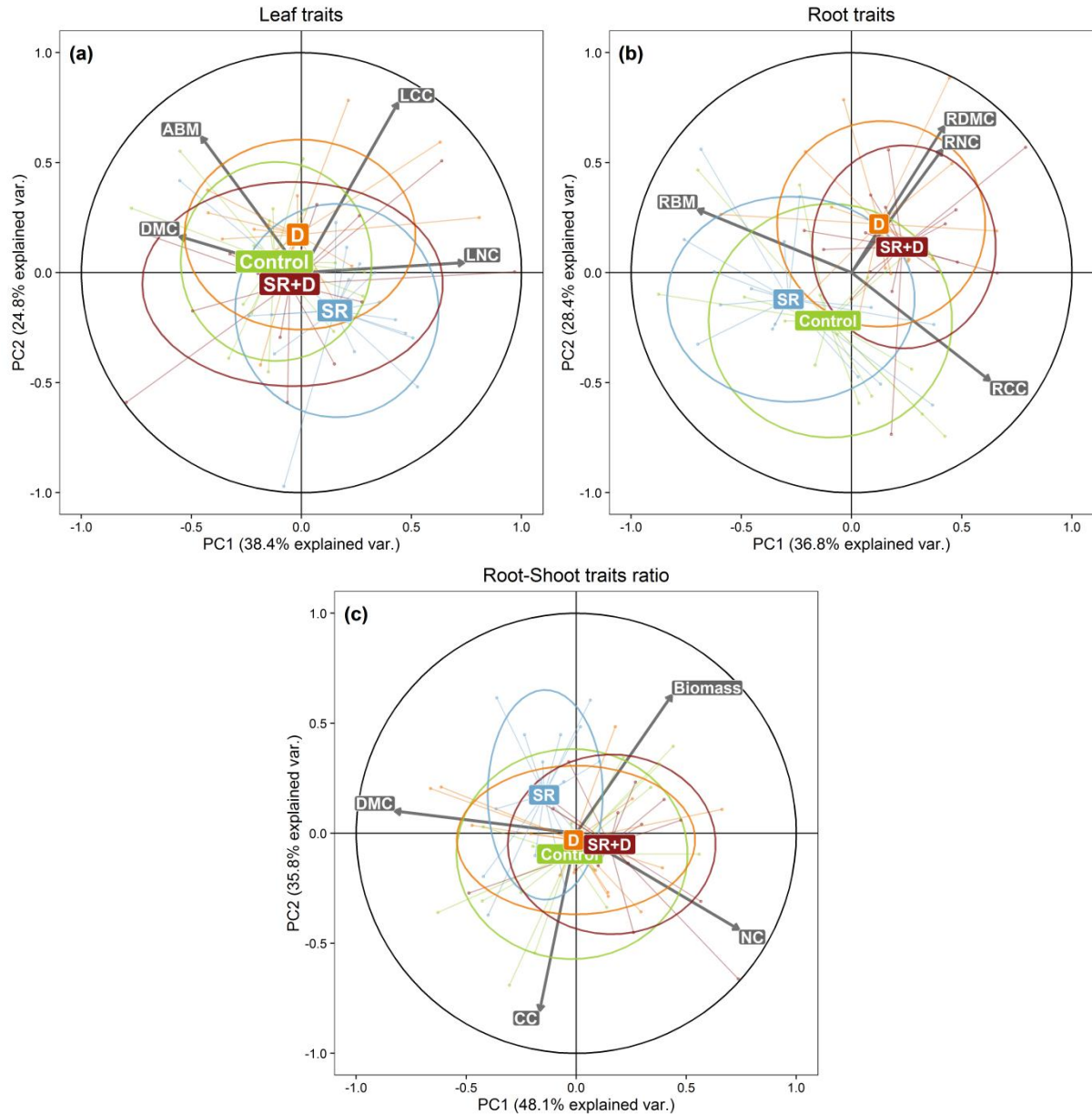


Figure 3.8. Analyses of principal components combining leaf traits **(a)**, root traits **(b)** and root shoot traits ratio **(c)** measured at T_4 and expressed at CWM_t level. ABM: aboveground dry biomass; LCC: leaf carbon content; LNC: leaf nitrogen content; DMC: dry matter content; RBM: root dry biomass; RCC: root carbon content; RNC: root nitrogen content; RDMC: root dry matter content; Biomass ratio: dry biomass root-shoot ratio; CC ratio: tissue carbon content root-shoot ratio; NC ratio: tissue nitrogen content root-shoot ratio; DMC ratio: tissue dry matter content root-shoot ratio.

Climate treatments & Functional composition effects under management

At the end of the second drought period (T₃) no leaf senescence was recorded in managed communities as a logical outcome of cutting (Table 3.5). The leaf growth index was influenced by the interaction between the three treatments but with no clear pattern (Table 3.5). Despite that, similarly to prior sampling events and to unmanaged communities, the leaf growth index varied with functional composition with increasing growth rates from conservative to exploitative communities (Fig. 3.9). On the other hand, the leaf growth index was not affected by snow removal but, contrary to unmanaged communities, decreased strongly (about 75%) during drought (Table 3.5).

At T₄, the leaf growth index was again influenced by the interaction of the three treatments but with no clear pattern (Table 3.5). However, contrary to unmanaged communities, one month after the last drought : leaf growth still continued in drought communities but not in no-drought communities (Table 3.5). Leaf senescence responded to the interaction between functional composition and drought (Fig. 3.10): in the absence of drought C and M-C communities had lower leaf senescence than E and M-E communities (*post hoc* Tukey test: $p < 0.001$), but under drought no difference in leaf senescence was recorded (*post hoc* Tukey test: $p > 0.05$). In addition, and contrary to unmanaged communities, leaf senescence decreased under drought (Fig. 3.10).

Table 3.5. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on Plant Vegetative Growth and Leaf Senescence from T₃ to T₄ in managed communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

<i>Managed</i>		Leaf Growth Index		Leaf Senescence (%)	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	0.7	0.432	NA	
Drought	32	34.3	0.001	NA	
Functional Composition	16	7.9	<0.001	NA	
SR : D	16	0.4	0.541	NA	
SR : FC	8	1.2	0.313	NA	
D : FC	8	2.3	0.090	NA	
SR : D : FC	4	5.2	0.004	NA	
T4	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	1.5	0.264	0.0	0.916
Drought	32	12.9	0.011	89.2	<0.001
Functional Composition	16	1.6	0.202	10.0	<0.001
SR : D	16	2.4	0.173	0.4	0.564
SR : FC	8	2.3	0.090	6.4	0.001
D : FC	8	0.4	0.775	7.8	<0.001
SR : D : FC	4	3.7	0.020	2.0	0.136

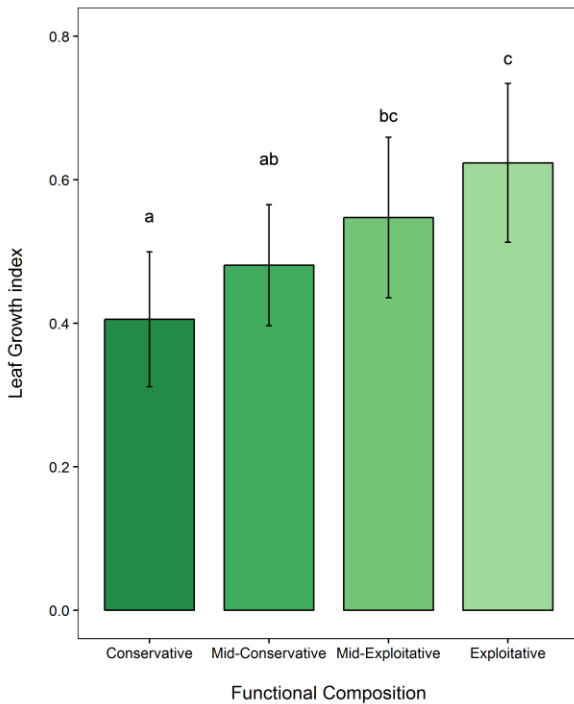


Figure 3.9. CWM_t Growth Index at T₃ in managed communities. Values are expressed as means ± SE (n=16) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

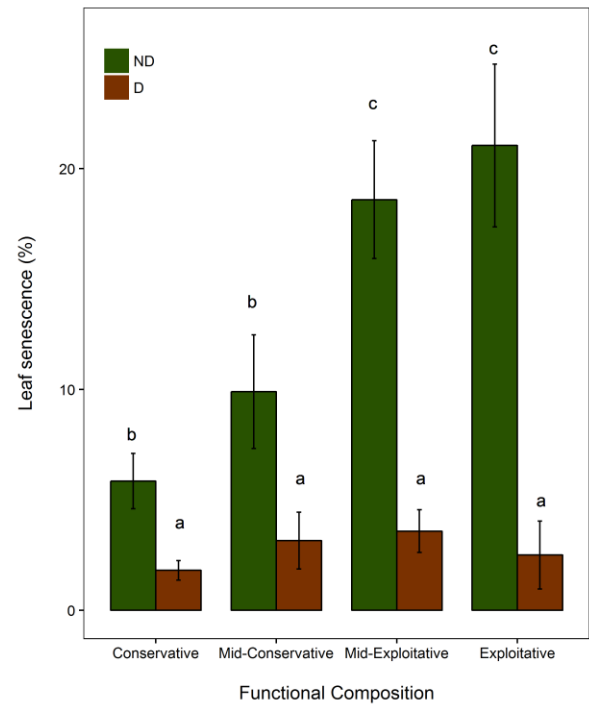


Figure 3.10. Effects of drought treatment on CWM_t Leaf senescence at T₄ in managed communities. Values are expressed as means ± SE (n=8) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

ANOVAs of leaf and root traits at T₄ (Table 3.6) identified drought and functional composition as major sources of variation in managed communities. Unlike unmanaged communities, early snow removal did not show a strong effect on plants traits. Rather, aboveground dry biomass, leaf nitrogen and dry matter contents were sensitive to the interaction between drought and functional composition (Fig. 3.11). Aboveground biomass was significantly reduced by drought (post hoc Tukey test, $p < 0.001$) and decreased significantly from exploitative to conservative communities (post hoc Tukey test, $p < 0.01$, Fig. 3.11a). Drought had a much greater effect in managed than in unmanaged communities as it decreased aboveground dry biomass by app. 54%. Within each functional composition, drought increased LNC (*post hoc* Tukey test: $p < 0.05$) except for the conservative (C) communities (Fig. 12b). For each functional composition except for the exploitative (E) communities, drought increased DMC (*post hoc* Tukey test: $p < 0.05$). Moreover, in absence of drought there was no difference in DMC across functional compositions whereas under drought, DMC was greater in C and M-C communities than in E and M-E communities (Fig. 12c). Drought DMC was app. 12% higher, a much greater effect compared to +5% without management.

LCC responded to the all treatments interaction with no clear pattern and only very weak drought effects (Table 3.6).

Root biomass responded to the interaction between snow removal and drought (Table 3.6), with no direct effect of any treatment individually. However, root biomass after snow removal alone was significantly higher than after drought or snow removal plus drought (post hoc Tukey test: $p < 0.05$, Fig. 3.12a). Contrary to unmanaged communities, drought did not induce a significant decrease in root biomass. In addition to climatic events, root biomass depended on functional composition with increasing values from conservative to exploitative communities (post hoc Tukey test: $p < 0.001$). Conversely, RDMC and RNC responded to drought, with respectively a 15% increase and a 7% decrease similarly to unmanaged communities (Table 3.6). RCC appeared to be mediated by the three treatments interaction but no clear pattern was found (Table 3.6). Nonetheless, and contrary to unmanaged conditions, climatic treatment p-values were beyond or close to significance (Table 3.6) and post hoc Tukey analyses confirmed that drought in addition to snow removal attenuated the decrease of RCC due to snow removal alone (Fig. 3.12b). Additionally, RCC was affected by the functional composition with higher values in C and M-C than in E and M-E communities (post hoc Tukey test: $p > 0.05$, Table 3.6).

ANOVAs of root-shoot ratios of biomass, N content and dry matter content showed they were sensitive to drought (Table 3.6). Drought increased the root:shoot biomass ratio by app. 40%, while no effect of snow removal and functional composition was detected as for unmanaged communities. Drought increased the root-shoot DMC ratio by about 33% on average and also decreased the root-shoot N content ratio by about 22.5%, whereas snow removal had no effect as observed in unmanaged communities. The root-shoot C content ratio responded to the all treatments interaction but with no clear pattern. Nonetheless, contrary to unmanaged conditions, the root-shoot C ratio was weakly sensitive to snow removal (app. -9% ; Table 3.6). Additionally, root-shoot C content ratios responded to functional composition and were higher in C and M-C than in E and M-E communities (post hoc Tukey test: $p < 0.01$, Table 3.6).

Table 3.6. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on Aboveground Dry Biomass, LCC, LNC, DMC, Root Dry Biomass, RCC, RNC, RDMC; as well as biomass, C content, N content and dry matter content root-shoot ratio at T₄ in managed communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

<i>Managed</i>		Aboveground Dry Biomass		LCC		LNC		Leaf C/N		DMC	
T4	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	1.5	0.274	4.0	0.093	1.8	0.228	3.4	0.116	0.8	0.394
Drought	32	470.7	<0.001	11.7	0.014	35.5	0.001	20.3	0.004	25.2	0.002
Functional Composition	16	23.7	<0.001	2.6	0.066	3.3	0.031	1.7	0.185	3.5	0.025
SR : D	16	5.5	0.057	1.8	0.234	0.1	0.790	0.0	0.846	0.2	0.664
SR : FC	8	1.3	0.302	1.0	0.384	3.8	0.017	3.0	0.043	1.1	0.355
D : FC	8	5.2	0.004	0.8	0.524	9.9	<0.001	7.4	0.001	5.0	0.005
SR : D : FC	4	3.4	0.029	5.4	0.004	0.1	0.972	0.5	0.710	0.4	0.777
		Root Dry Biomass		RCC		RNC		Roots C/N		RDMC	
	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	0.4	0.545	14.4	0.009	0.2	0.700	2.5	0.163	0.1	0.821
Drought	32	18.7	0.005	5.0	0.068	4.4	0.080	0.1	0.803	11.1	0.016
Functional Composition	16	17.3	<0.001	6.8	0.001	1.8	0.174	4.2	0.012	0.8	0.510
SR : D	16	6.7	0.041	4.7	0.074	0.8	0.417	0.0	0.992	0.9	0.371
SR : FC	8	0.5	0.703	1.5	0.236	0.9	0.461	1.1	0.358	1.3	0.301
D : FC	8	1.0	0.397	0.4	0.720	1.5	0.229	1.5	0.231	0.1	0.951
SR : D : FC	4	1.5	0.225	3.6	0.022	1.1	0.347	2.1	0.112	0.5	0.704
		Root-Shoot Biomass ratio		Root-Shoot C content ratio		Root-Shoot N content ratio		Root-Shoot DMC ratio		-	
	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	-	-
SnowRemoval	32	0.0	0.856	7.7	0.032	0.3	0.598	0.3	0.617	-	-
Drought	32	17.7	0.006	1.7	0.239	17.5	0.006	26.5	0.002	-	-
Functional Composition	16	0.8	0.508	4.7	0.007	1.2	0.327	3.5	0.025	-	-
SR : D	16	5.0	0.066	2.8	0.146	0.5	0.519	0.1	0.789	-	-
SR : FC	8	1.1	0.352	1.1	0.368	0.9	0.471	0.4	0.742	-	-
D : FC	8	0.2	0.928	1.1	0.371	2.6	0.069	2.4	0.083	-	-
SR : D : FC	4	0.1	0.968	3.3	0.030	0.3	0.821	1.1	0.362	-	-

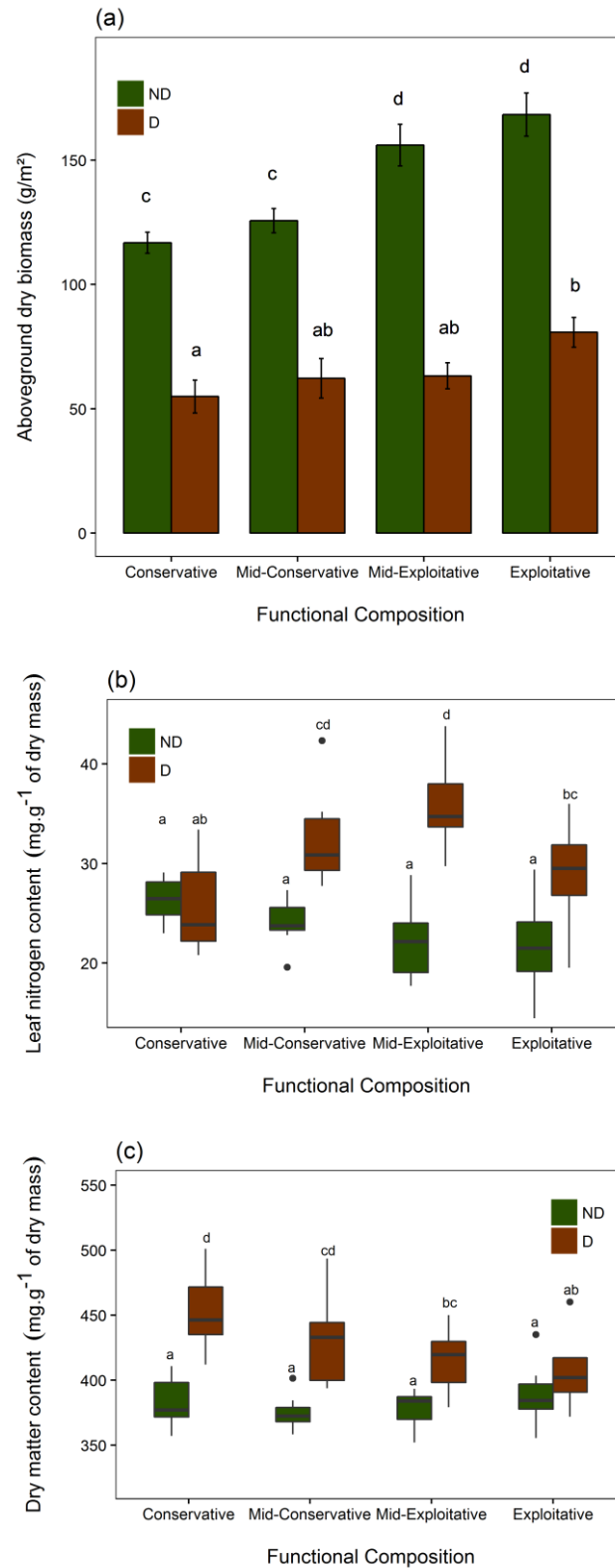


Figure 3.11. Effects of drought treatment on **(a)** aboveground dry biomass, **(b)** leaf nitrogen content and **(c)** aboveground dry matter content at T_4 in managed communities. (a) Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=8$). (b)(c) Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=8$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each bar or box correspond to the result of the Tukey's test, and bars or boxes that do not share any letter are significantly different.

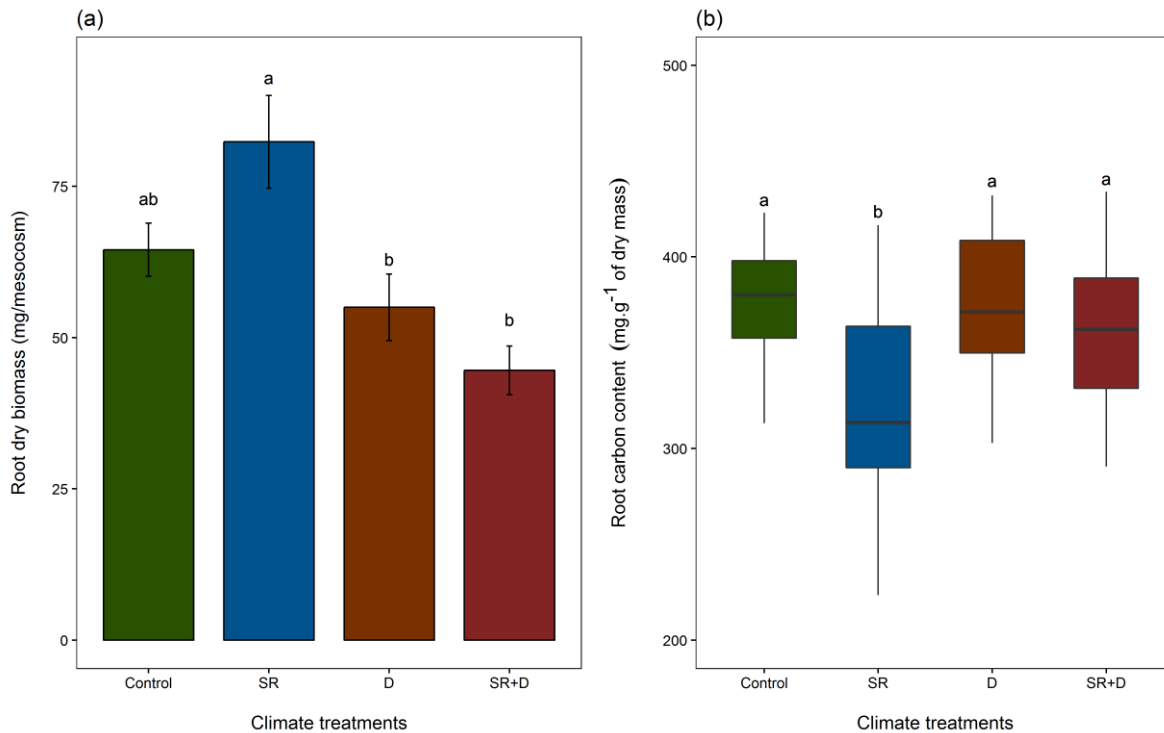


Figure 3.12. Effects of climate treatments combinations on **(a)** root dry biomass and **(b)** root carbon content at T₄ in managed communities. (a) Values are expressed as means $\pm$ SE (n=16). (b) Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=16). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each bar or box correspond to the result of the Tukey's test, and bars or boxes that do not share any letter are significantly different.

The first two axes of the PCAs for leaf traits (Fig. 3.13a), root traits (Fig. 3.13b) and root-shoot ratios (Fig. 3.13c) accounted respectively for 78.6%, 67.8% and 80.3% of the total variance observed among communities. The leaf trait PCA showed a main contrast between drought and no-drought treatments mainly associated with ABM. Additionally, drought was associated with leaf traits (LCC, LNC and LDMC). The PCA of root traits showed a clear separation mainly associated with RBM and RCC (negatively correlated) between communities subjected to snow removal only and the others. Importance of drought was lowered and associated with RNC and RDMC (negatively correlated). The PCA of root:shoot ratios discriminated communities subjected to snow removal only from communities subjected to drought and control communities. Drought was correlated negatively with NC ratios and positively with DMC ratios. Snow removal was correlated with NC ratio. Finally, both drought and snow removal were associated with biomass ratio.

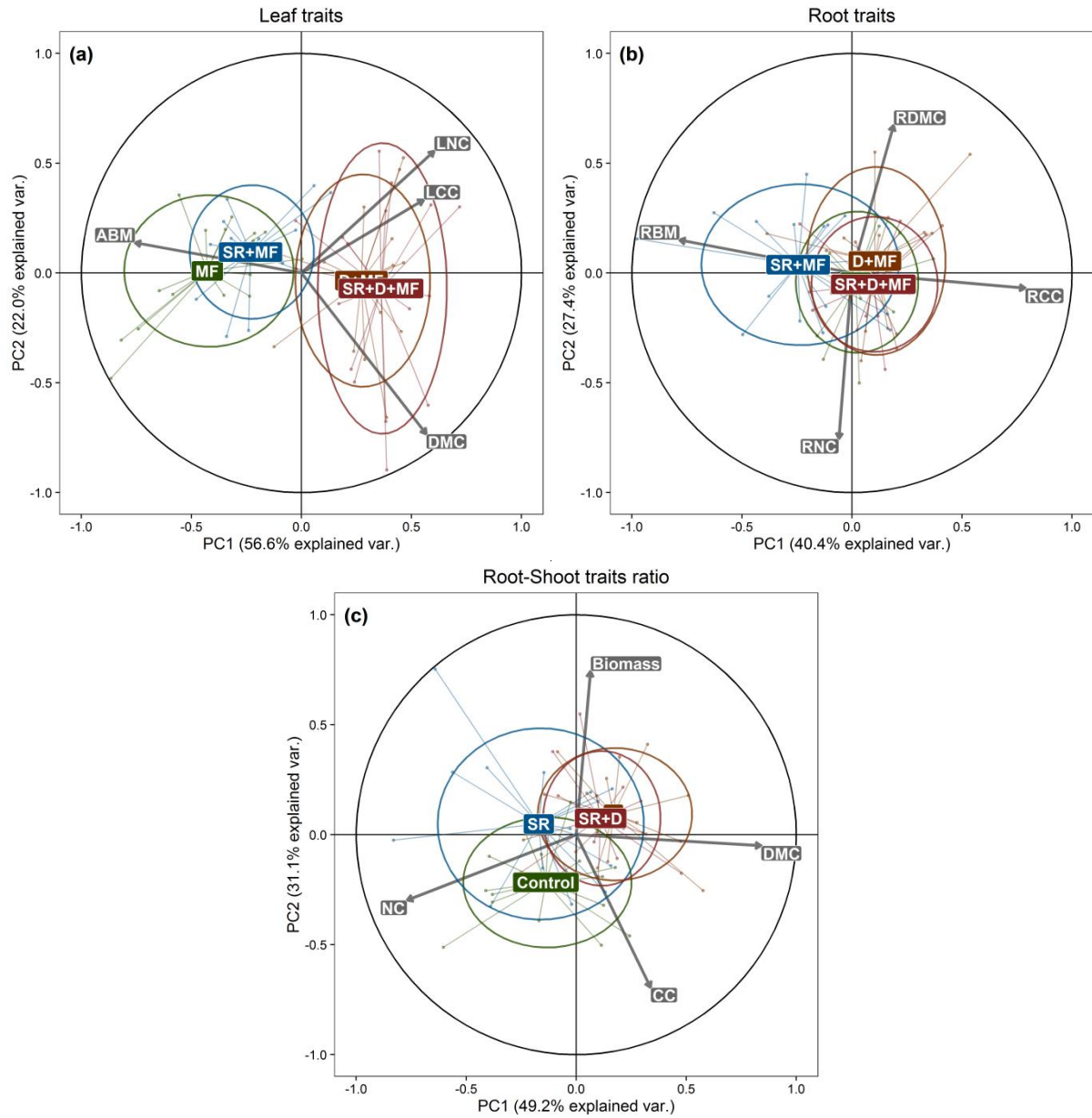


Figure 3.13. Analyses of principal components combining leaf traits **(a)**, root traits **(b)** and root shoot traits ratio **(c)** measured at T_4 under mowing and fertilization and expressed at CWM_t level. ABM: aboveground dry biomass; LCC: leaf carbon content; LNC: leaf nitrogen content; DMC: dry matter content; RBM: root dry biomass; RCC: root carbon content; RNC: root nitrogen content; RDMC: root dry matter content; Biomass ratio: dry biomass root-shoot ratio; CC ratio: tissue carbon content root-shoot ratio; NC ratio: tissue nitrogen content root-shoot ratio; DMC ratio: tissue dry matter content root-shoot ratio.

Comparative analysis of managed and unmanaged communities

Plant traits usually responding to management alone such as aboveground biomass and leaf nitrogen content were sensitive to the interaction between drought, functional composition and management, but not to snow removal (Table 3.7).

Fertilization and mowing increased biomass production only in the absence of drought. Under drought, biomass production was similar to unmanaged and no-drought communities, except in C and M-C communities where fertilization and mowing decreased biomass production compared to unmanaged communities (Fig. 3.14a). However, even if the combination of drought and management did not result in increased biomass production, it led to a net increase in leaf nitrogen concentration (Fig. 3.14b). In addition, this LNC increase was greater than the increase due to management alone.

Table 3.7. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition and management on Aboveground Dry Biomass, LCC, LNC, DMC, Root Dry Biomass, RCC, RNC and RDMC at T₄. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

T4	Aboveground Dry Biomass			LCC		LNC		DMC	
	n	F	P	F	P	F	P	F	P
Management	64	106.8	<0.001	0.1	0.723	755.4	<0.001	1020.0	<0.001
SR : M	32	3.1	0.082	4.4	0.039	0.1	0.733	0.3	0.557
D : M	32	161.9	<0.001	0.8	0.368	27.7	<0.001	4.4	0.040
FC : M	16	18.5	<0.001	1.9	0.132	2.1	0.110	2.7	0.050
SR : D : M	16	3.0	0.085	0.9	0.353	2.4	0.129	1.7	0.195
SR : FC : M	8	0.5	0.674	0.7	0.571	1.9	0.130	1.4	0.239
D : FC : M	8	3.1	0.032	4.9	0.004	3.9	0.012	1.4	0.242
SR : D : FC : M	4	1.5	0.217	2.9	0.041	0.9	0.462	1.6	0.197

T4	Root Dry Biomass			RCC		RNC		RDMC	
	n	F	P	F	P	F	P	F	P
Management	64	61.0	<0.001	18.6	<0.001	105.2	<0.001	3.5	0.063
SR : M	32	0.9	0.358	4.0	0.049	1.0	0.310	0.0	0.898
D : M	32	7.1	0.009	2.3	0.137	0.6	0.460	0.0	0.876
FC : M	16	9.8	<0.001	1.5	0.213	0.3	0.797	1.5	0.213
SR : D : M	16	4.0	0.048	0.0	0.910	0.1	0.717	0.0	0.986
SR : FC : M	8	0.2	0.920	1.0	0.414	0.5	0.704	1.4	0.248
D : FC : M	8	0.3	0.799	0.1	0.977	1.4	0.258	0.2	0.870
SR : D : FC : M	4	1.4	0.256	1.0	0.402	3.1	0.030	0.0	0.989

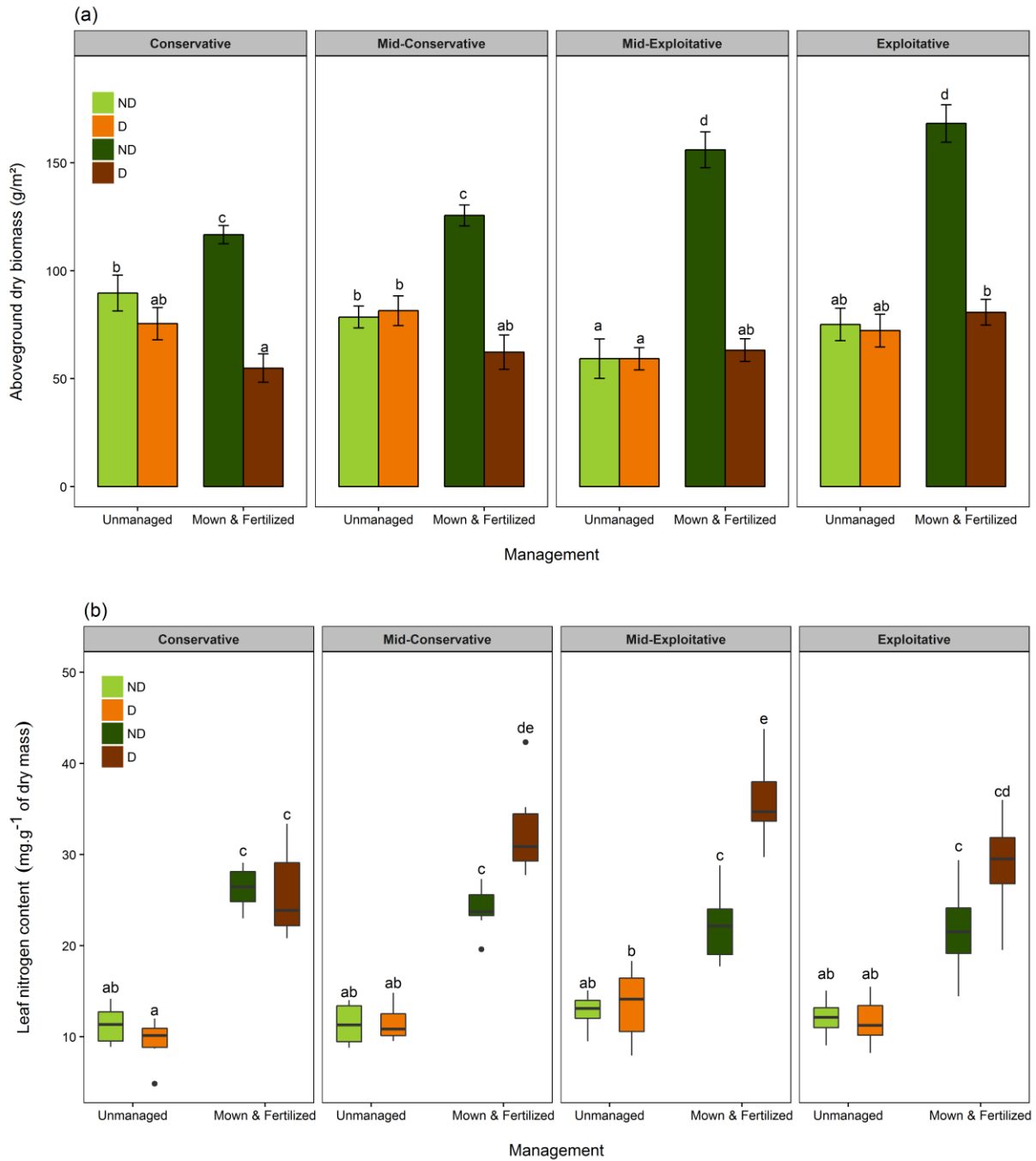


Figure 3.14. Effects of drought and management treatments on **(a)** aboveground dry biomass and **(b)** leaf nitrogen content at T₄. (a) Values are expressed as means $\pm$ SE (n=8). (b) Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=8). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each bar or box correspond to the result of the Tukey's test, and bars or boxes that do not share any letter are significantly different.

3.5 - DISCUSSION

This study investigated the short-term response of assembled subalpine grassland communities to combined changes in climate and management. Functional diversity, management, early snowmelt and drought were independently manipulated allowing the characterization of single treatments effects and their interactions. Contrary to our expectations, the two successive years of the experiment did not markedly alter the vegetation structure and dynamics. In particular, the climatic or management treatments did not affect species abundances over the course of the experiment. Such stability in species composition and abundance has already been reported for long term observational studies in semi natural subalpine grasslands in the Swiss Alps (Vittoz *et al.* 2009), as well as by a manipulative warming experiment on a subalpine grassland in the Rocky Mountains (Price & Waser 2000), and in upland grasslands in the French Massif Central (Bloor *et al.* 2010). Moreover, the short term high resistance of subalpine grasslands to extreme drought has been already highlighted at the same site in a previous study by Benot *et al.* (2014) which hypothesized that Mediterranean climatic influences enabled this subalpine system to be acclimated to high summer variability in precipitations and temperatures.

Even if the snowmelt and drought events in our study were supposed to be extreme, they cannot be considered as such as they did not match the definition of statistically rare climatic events causing substantial alteration of ecosystem structure and functioning (Smith 2011). However, the two successive years of the experiment significantly altered plant growth and biomass production/allocation as well as the overall forage quality (linked to dry matter content, Gardarin *et al.* 2014).

Effectiveness of experimental treatments

The community-level trait values of controlled communities at the end of the experiment were consistent with those projected when designing the communities. Consequently, the plant functional gradient remained after two successive years in the common garden (Appendix I).

Drought had a major significant effect on water availability through the reduction of soil moisture and soil water content (Appendix II & III). To a lesser extent, drought also induced an increase in soil temperature, probably due to water losses and the resulting reduction in the soil moisture capacity to buffer temperature fluctuations (Appendix III, Abu-Hamdeh 2003). Conversely, snow removal had more influence on soil temperature than on soil moisture. As expected, earlier snowpack removal deprived the plant communities of snowmelt water, but this reduction in soil

water remained weak and was probably compensated by the exposure of plant communities to early rainfall (Appendix IV). The reduction of the snow covered period had much greater effects on temperature parameters. Lower air temperature due to the loss of snow insulating capacity exposed plants aboveground tissues to frost events (Appendix IV). However, early snow removal communities also experienced an increase in mean soil temperature above 0°C (Appendix IV), which sheltered belowground plant tissues from frost damage. We associated this higher soil temperature to an increased albedo after snow removal. Managements mainly affected vegetation through biomass removal and changes in soil nutrient availability, but not through significant modifications of micro-climate as previously shown by (Benot *et al.* 2014).

The comparisons between unmanaged vs mown and fertilized communities consistently showed well-known effects of these agricultural practices on semi-natural grasslands such as increased above and belowground biomass, decreased leaf and root dry matter concentrations, greater leaf and root nitrogen concentrations, with greater increases in exploitative than in conservative communities except for LNC (Appendix IV & V).

Importance of snowmelt timing regardless of functional composition in unmanaged subalpine grasslands

Spring regrowth (T_2) was not affected by early snow removal probably as a result of mountain plant species adaptation to climate variability (Körner 2003). This absence of growth differences despite a 4-weeks delay to access sunlight could reflect a strong reduction of vegetative growth in grassland communities where snow was removed earlier as already reported (Baptist *et al.* 2010). They found, in nearby alpine meadows, that integrated vegetative growth from snowmelt was lower with early snow removal with a longer growing period compared to natural snowmelt. These first conclusions were further confirmed by a delayed response later in the season with a decrease in vegetative growth (T_3) and aboveground biomass (T_4) in early snow free communities. None or negative effects on plant growth of early snowmelt have also been observed by Starr, Oberbauer & Pop (2000) and Wipf *et al.* (2006, 2009). Early snow removal communities could be limited by early season water availability (T_2) leading to reduced plant growth (Fig. 3.2, Appendix I). However soil moisture measured at T_3 and T_4 , and DMC at T_4 , which are a known indicators of water stress (Volaire 2008; Poorter *et al.* 2009), did not vary from the controlled communities suggesting that soil moisture did not affect biomass production.

It is possible that plant communities did not benefit from a longer growing season and warmer soils because of low temperatures and frost events (up to -5°C, Fig. 3.2, Appendix III). These observations were consistent with Wipf *et al.* (2006, 2009) who found a negative correlation

between the number of frost events and vegetative growth of subalpine species. Both *Patzkea paniculata* and *Dactylis glomerata* are photosynthetically active and initiate growth under snow (pers. obs), showing physiological resprouting capacity due to diurnal temperature and photoperiod increases during snowmelt. Therefore, freezing night temperatures may lead to leaf cell and tissues damages costly for plants (Inouye 2008; Baptist *et al.* 2009), along with possible low temperature photo-inhibition (Baptist & Choler 2008). The higher N concentrations in leaves of plants that experienced early snow removal can be explained considering the reduction in vegetative growth and aboveground biomass compared with natural snowmelt communities (Gerdol *et al.* 2013). Conversely, the absence of effects on root parameters could be the result of rapid seasonal roots turnover (Aerts 1999; Garcia-Pausas *et al.* 2012). As a result, the reduced growth led to lesser aboveground biomass and higher leaf nitrogen content at the end of the vegetation season (T₄), indicating that early snow removal alone decreased community productivity (Livensperger *et al.* 2016) but enhanced forage quality.

Despite the lack of traits values divergence from control communities at T₂ it appears difficult to conclude to a high resistance of subalpine grasslands to early snow removal (*sensu* Pimm 1984). Moreover, we clearly observed a weak resilience at T₃ and T₄. Early snow removal generated large morphological and functional effects which are likely to be even stronger with increased frequency of frost as well as decreases of water derived from snowpack melting.

Contrasted effects of snow removal and drought regardless of functional composition in unmanaged subalpine grasslands

Spring and summer rainfall is known to be a key driver of grassland productivity. Consequently, grasslands often show strong and rapid functional responses to altered precipitation patterns (Dukes *et al.* 2005; Grime *et al.* 2008). Nonetheless, in our study leaf growth responses suggested that the first drought (2013) had limited impact on plants in contrast to the second drought (2014), which induced stronger effects and thus ruled out plant acclimation to the drought experienced the previous year (Walter *et al.* 2013). Most likely, exacerbated responses observed following the second drought traduced an increased sensitivity as a consequence of the first drought (Bloor *et al.* 2010; Benot *et al.* 2014). In addition, the timing of the first drought could partly explain its lack of effect. Indeed, mid-summer (late July to late-August) subalpine plants had already completed their vegetative cycle (growth, tillering and flowering, Körner 2003; Benot *et al.* 2014) and were consequently less sensitive to drought (Jentsch *et al.* 2011). Furthermore, at the study site, water scarcity occurs regularly in late July implying low soil moisture during periods of high biomass (as described in Obojes *et al.* 2015), and this regular soil moisture decline is likely to enhance or select resistance of subalpine grasslands to a late summer drought (Benot *et al.* 2014). In the present study, the watering to complement water losses by evapotranspiration did not prevent the soil moisture decrease throughout the season, reflecting the natural periodic reduction of soil water availability (Appendix II). This could explain the similar soil moisture integrated at the whole seasonal level compared to discrete SWC measurements in 2013 (Table. 2). Contrastingly, extended duration and earlier timing of the second drought strongly impacted communities.

Subalpine grasslands were somehow resistant to drought as no extra individual mortality was recorded. Moreover, neither vegetative growth nor above ground biomass production were impacted by the second drought. Nevertheless, increased of leaf senescence, dry matter content and decrease in root biomass occurred. The two droughts should have decreased plant productivity (Peñuelas *et al.* 2004) as a result of low soil moisture leading to a decrease in stomatal conductance (to control transpiration), contributing to a reduction in photosynthetic rates (Llorens *et al.* 2004; De Boeck *et al.* 2008) and in nutrient uptake by roots (Chapin 1980). However, in polar and arctic regions, productivity is primarily limited by low temperatures and low nutrients concentrations (Aerts 2006). Our observation were similar to Gilgen & Buchmann (2009) in a Swiss temperate grasslands, for which a second drought did not impact vegetative growth and above ground biomass production either. Besides this lack of overall standing biomass responses to drought, we observed that green standing biomass was strongly decreased as important stamina senescence occurred. More specifically, leaf senescence has been described as a mechanism that limits the transpiring

leaf area to minimize water loss in meristems during water shortage (Ludlow 1989; Gepstein 2004). Meanwhile, joined dry matter content increase reflects a higher investment in structural tissues to maintain leaf turgor of remaining green leaves (Chaves *et al.* 2002). Reinforced water uptake is another important mechanism to delay leaf dehydration, which is mainly associated with the plant capacity to expand its root system (mass and depth, Voltaire & Lelièvre 2001; Chaves *et al.* 2002; Voltaire *et al.* 2009). Most studies on drought effects in grasslands which found an increase in below ground plant productivity associated with a decrease in above ground productivity dealt with a decreased water supply over long time periods but not with a complete water withdrawal over defined periods (Kreyling *et al.* 2008a). In the present study, we observed a decrease in root biomass accordingly to Kreyling *et al.* (2008b) observations on the effects of longer drought events. Moreover, strong increase of leaf senescence suggests that plants did not manage to maintain cell integrity during drought and thus did not enhance belowground biomass for reinforced water uptake. We hypothesized that nutrients that could not be translocated from the roots to leaves (because of senescence), were neither invested in roots expansion nor leached through the soil profile, but sequestered in still living roots tissues (increased RNC and RDMC), which could reflect an increasing allocation of resources to roots under drought (Karlowsky *et al.* in prep.) in a sort of physiological pause stage. Apart from leaf necrosis, we conclude that subalpine grasslands seemed to be resistant to drought (because of no extra mortality after drought), but weakly resilient as illustrated by the absence of leaf growth with the upturn of watering, at least during the same growing season. Physiological lethargy induced by drought persisted until the end of the growing season and consequently reduced effectively realized plant growing season (Ernakovich *et al.* 2014).

All in all, **the analysis of resistance and resilience patterns to both climatic treatments individually supported our first hypothesis on the prevalence of earlier snowmelt for significantly affecting the structure and the functioning of subalpine grasslands compared to drought**, at least in plant communities without agricultural practices.

Communities experiencing both snow removal and drought showed an identical reduction of their vegetative growths and aboveground biomasses, similarly to communities subjected to snow removal only reflecting the dominant effect of snow removal. Although drought also induced a decrease in soil water content, plants could maintain water tissues more efficiently with a lower leaf and evapotranspiration area (Ludlow 1989; Chaves *et al.* 2002; Gepstein 2004). This mechanism could explain the lower leaf senescence measured in communities under combined snow removal and drought, than in those only experiencing drought at T₃. The absence of data supporting this hypothesis at T₄ could be explained by natural senescence which usually occurs in September in these subalpine grasslands, and might cover-up initial difference. However, drought-stressed communities still showed higher leaf senescence at T₄, probably due to prior larger extent of leaf necrosis, even in SR+D communities. Moreover, the strong reduction in soil water content inhibited water and nutrient allocation from roots to leaves leading to an increase in dry matter content and no change in leaf nitrogen amounts, as observed in communities only submitted to early snow removal. The analysis of the interaction of both climatic treatments suggests that snow removal decreased community productivity while maintaining a forage quality similar to the control, and thus lessens deleterious drought effects. **We hypothesized that early snow removal induced a plant pre-hardening, which decreased the impact of the following drought, and thus invalidated the synergic effect hypothesis (1) of climatic treatments on subalpine grasslands resistance.** Similarly to “drought-only” communities, once the vegetation peak was reached subalpine grasslands displayed weak resilience.

Prevalence of drought and functional composition in managed subalpine grasslands responses

Under fertilization and mowing, snow removal did not induce a delayed response of plant communities (at T₃ or T₄), contrary to unmanaged communities. More precisely, resprouting pattern following mowing was identical between communities subjected to snow removal only (SR+MF) and natural snowmelt ones (MF). We hypothesized that sward cutting at vegetation peak retrieved initial photosynthetically damaged tissues by frost and thus cancelled out growth and biomass production differences due to snow removal. The only weak detected effect on root traits tend to support this hypothesis. We hence confirm the resilience promoting effect hypothesis of management, at least in early snowmelt date hypothesis. In line, no interaction between snow removal and drought were observed in managed context, as only drought communities (D) showed similar responses than snow removal plus drought communities (SR+D). Consequently, our climatic treatments synergic hypothesis could be rejected in the managed context as well.

Mowing at peak biomass during the second drought period prevented tiller regrowth and led to a phenological lag between mown and unmown communities (pers. obs.). Indeed, only mown and fertilized grasslands (MF) resprouted immediately after cutting and exhibited a strong vegetative growth index at T_3 , though not at T_4 . Contrastingly, mown and fertilized communities that withstood drought (D or SR+D) started resprouting only when watering resumed, and thus exhibited vegetative growth only between T_3 and T_4 . Despite strong divergence from control on measured traits at T_3 due to this phenological lag, it appears hazardous to conclude on a lower drought resistance of managed grasslands (*sensu* Pimm 1984). The extent of growth, as well as biomass production, depended on the functional gradient and was larger in exploitative communities when no drought occurred, whereas no differences were observed with drought. The lag in resprouting led to lower biomass production in drought communities in a quantitatively similar manner than in unmanaged communities, and explained the strong increase in root-shoot biomass ratio when drought occurred. Nonetheless, managed communities under drought had larger leaf nitrogen content than only mown and fertilized grasslands or control unmanaged grasslands, traducing lower structural investment in leaves. Additionally, this could explain the decrease in root-shoot N content ratio observed under drought. Managed communities under drought also exhibited higher dry matter content than just mown and fertilized communities, but lower than control unmanaged grasslands and additionally, this could be related to the increase in root-shoot DMC ratio when drought was applied. However, these patterns were dependent on the functional gradient with no LNC increase in conservative communities and no DMC increase in exploitative ones. Moreover, leaf nitrogen content showed a singular pattern: lower LNC values were found in exploitative communities than mid-exploitative ones. We hypothesized that this could result from stronger plant competition among exploitative species (i.e. *D.glomarata*) for available soil N after rewetting inside most exploitative stands. In roots, drought induced a decrease in nitrogen content which could be explained by the direct export of assimilated soil nitrogen to the leaves to support vegetative growth, in parallel to an increase in root dry matter content.

Overall, these results indicate that drought decreased plant community productivity but enhanced forage quality of subalpine grasslands especially in managed exploitative and mid-exploitative communities. In addition, these results also suggest that, under drought, fertilization and mowing did not lead to an increase of biomass production but to a better forage quality in comparison to unmanaged grasslands.

Functional gradient and inter/intraspecific variability

The variation in CWM traits reflects trait shifts due to change in species composition, relative abundance or intraspecific variability (Lepš *et al.* 2011; Albert *et al.* 2012; Violle *et al.* 2012; Jung *et al.* 2014). Through this experiment, temporal variations of species abundance (and thus identity) were not affected by our treatments. Despite apparent intraspecific variability (Appendix VII & VIII) the fact that the functional gradient was still apparent, to a more or less marked degree for most traits, traduced stronger traits variations between than within species (Garnier *et al.* 2001). We thus hypothesize that functional resistance/resilience community responses were mainly driven by interspecific variability rather than by intraspecific variability. Genetic variability and phenotypic plasticity are the two factors commonly described to explain intraspecific traits variations among heterogeneous environments (Jung *et al.* 2014). All plants individuals used in this experiment came from the same subalpine ecotype: extensively used grasslands of south-facing aspect of the commune of Villard d'Arène ranging from 1 700 to 2 100-m a.s.l. This long term specific disturbance regime (human induced and climate) might have selected restricted plants genotype. In addition, previous studies pointed out the prevalence of phenotypic plasticity rather than genetic differentiation in traits values variations in these grasslands (Quétier *et al.* 2007b; Grassein, Till-Bottraud & Lavorel 2010). Concerning phenotypic plasticity, Jung *et al.* (2014) in a drought experiment on natural subalpine communities, found that most of intraspecific variance observed in their dataset occurred among plots within treatments rather than between drought treatments. They related this pattern with the high fine scale soil heterogeneity suggesting that the level of intraspecific variability involved in drought response did not exceed the level of spatial heterogeneity response (Jung *et al.* 2014). In our study, soil was sieved and homogenized among pots prior to plants installation, which could thus explain the weak preponderance of intraspecific traits variability among functional gradient and climatic treatments. Consequently to our experiment specificities, CWM variations appeared to mainly reflect interspecific variability and can be used as proxy of plant functional strategy response to environment.

Regardless of treatment, functional gradient was still apparent thus suggesting that resource use strategy syndromes were primarily affected by soil fertility (Quétier *et al.* 2007b; Gross *et al.* 2008)

and weakly affected by water availability (through both drought and snow removal). Nonetheless, variance in responses extent between conservative and exploitative communities to treatments still implied difference in resistance and resilience patterns.

In unmanaged communities no difference in responses between conservative and exploitative communities were observed under early snow removal. Under drought, exploitative communities showed an increase in LCC, whereas conservative communities exhibited an increase in DMC (data not shown). In view of these weak differences, we cannot conclude on contrasted sensitivity among functional strategies to climate change. This apparent similarity in resistance pattern among resources-used contrasted communities could be due to *Dactylis glomerata* which has been described as a drought tolerant species (Zwicke *et al.* 2015). Drought tolerance has been widely associated with low SLA which reduces water losses through evapotranspiration (Volaire 2008; Poorter *et al.* 2009), and which is a common feature of conservative species (Grime 2001; Lavorel & Garnier 2002; Wright *et al.* 2004). One of the principal mechanisms to avoid drought effect by exploitative species is a fostering of roots allocation to increase root length and depth for water foraging (Pérez-Ramos *et al.* 2013). However, in this experiment no evidence of increased belowground allocation was found. Given that no vegetative growth was recorded after drought during this experiment neither in exploitative nor in conservative communities, we conclude of a short term low resilience of subalpine grasslands under no management pressure.

In communities where agricultural practices occurred, it appears difficult to conclude on a resistance pattern (*sensu* Pimm 1984), because mowing was done in the middle of the drought event and resulted in a phenological pause until upturn of watering. Nonetheless, mowing and fertilizing allowed grasses to regrow with resumed watering, consequently enhancing grasslands resilience in comparison to unmanaged communities. The strong decrease in biomass production observed in exploitative communities under drought (leading to similar amount than in unmanaged communities) traduced a weak resilience. Nonetheless, coupled with this biomass reduction, an increase in LNC and a decrease in senescence were observed. Conservative communities' biomass also strongly decreased and was lower than in unmanaged communities. This result put forth the strong influence of mowing on *P. paniculata* performance (its intolerance to cutting) already highlighted in numerous studies (e.g. Benot *et al.* 2013, 2014). In parallel to this biomass reduction, we observed lower leaf senescence, similar LNC and higher DMC than for only mown and fertilized conservative communities.

As consequences, we only partially confirmed our second hypothesis, as fertilization and mowing enhanced resilience of subalpine exploitative communities compared to conservative ones by both promoting fast growing exploitative species and constraining slow growing

conservative species. This confirms the plant resource-use strategies tradeoff hypothesis (3, at least in managed context). Indeed, considering one growing season, the promoting effect of mowing and fertilization on exploitative aboveground biomass is weak (much less weak than conservative) but is partly compensated by a strong increase of forage quality (much better than conservative). **In unmanaged grasslands, we cannot conclude on contrasted resistance patterns among resources-used contrasted communities, while resilience was null for both within one growing season.**

Nevertheless, contrary to our third hypothesis, balanced functional composition did not influence resistance and resilience of plant community structure and functioning (no enhancement in resistance or resilience of functionally intermediate communities). The lack of balanced functional composition effect in mediating responses to assembled communities could be due to the growth failure of *Bromus erectus* resulting in a much lower biomass proportion in communities than expected (Appendix IX). Despite no extra mortality, *B. erectus* growth was likely impacted by strong competition for resources uptake by its neighbors. Moreover another explanation to this weak balanced functional composition effect could be attributed to the use of controlled assemblages. Indeed, some ecosystem features are less realistically mimicked in this kind of experiment such as age structure of populations (too homogeneous) and “history” of the experimental objects (too young). These simplified features keep the experiment manageable but complicate the extrapolation of the results (Van Peer *et al.* 2004).

3.6 - CONCLUSION

This study clarifies how ongoing and future environmental changes in the Alps influence vegetation growth performance in subalpine grasslands. Based on assembled plant communities, our analysis confirmed that, on the short-term, climatic perturbation and land-use affect mostly plant functional traits rather than species turnover, which highlighted the importance of functional strategies in driving such responses. Despite the short-term high resistance of subalpine grasslands to drought and earlier snowmelt, profound modifications of their structure and functioning are not ruled out if unusual climate events were to become recurrent. Succession of climatic perturbations could affect these ecosystems functioning through de-synchrony of plant-soil interactions and soil processes, for instance through changes in nutrient availability *via* litter decomposition and nutrients storage plant strategies.

The present common garden experiment confirmed also the predominant role of agricultural practices in driving subalpine grasslands responses to climatic events. Management both long-term regulate the functional diversity of plant communities and thus their resistance/ resilience capability, and could be a short-term adaptive tool to ensure forage quality and quantity in context of climate changes.

3.7 - ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Adeline Bierry, Coline Byczek, Amélie Cantarel, Emilie Crouzat, Franck Delbart, Caroline Devaux, Marine Gabillet, Rachel Gerardin, Pierre Gos, Karl Grigulis, Fanny Guillot, Nadine Guillaumaud, Remy Lasseur, Maud Mouchet, Franck Poly, Thomas Pommier and Laure Zupan for their help with the global change experiment, Cindy Arnoldi and Marie-Pascale Colace for their help with chemical analyses and sampling event. This study was supported by the ERA-Net BiodivERsA project REGARDS ANR XXX. This research was conducted at the Station Alpine Joseph Fourier (UMS 3370 CNRS-UGA, France) and on the long-term research site Zone Atelier Alpes (ZAA), a member of LTER-Europe network.

3.8 - REFERENCES

- Abu-Hamdeh, N.H. (2003) Thermal Properties of Soils as affected by Density and Water Content. *Biosystems Engineering*, **86**, 97–102.
- Ackerly, D. (2004) Functional Strategies Of Chaparral Shrubs In Relation To Seasonal Water Deficit And Disturbance. *Ecological Monographs*, **74**, 25–44.
- Aerts, R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 29–37.
- Aerts, R. (2006) The freezer defrosting: global warming and litter decomposition rates in cold biomes. *Journal of Ecology*, **94**, 713–724.
- Albert, C.H., de Bello, F., Boulangeat, I., Pellet, G., Lavorel, S. & Thuiller, W. (2012) On the importance of intraspecific variability for the quantification of functional diversity. *Oikos*, **121**, 116–126.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements - Irrigation and Drainage Paper 56*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Auer, I., Böhm, R., Jurkovic, A., Lipa, W., Orlik, A., Potzmann, R., Schöner, W., Ungersböck, M., Matulla, C., Briffa, K., Jones, P., Efthymiadis, D., Brunetti, M., Nanni, T., Maugeri, M., Mercalli, L., Mestre, O., Moisselin, J.-M., Begert, M., Müller-Westermeier, G., Kveton, V., Bochnicek, O., Stastny, P., Lapin, M., Szalai, S., Szentimrey, T., Cegnar, T., Dolinar, M., Gajic-Capka, M., Zaninovic, K., Majstorovic, Z. & Nieplova, E. (2007) HISTALP—historical instrumental climatological surface time series of the Greater Alpine Region. *International Journal of Climatology*, **27**, 17–46.
- Bahn, M., Reichstein, M., Dukes, J.S., Smith, M.D. & McDowell, N.G. (2014) Climate–biosphere interactions in a more extreme world. *New Phytologist*, **202**, 356–359.
- Baptist, F. & Choler, P. (2008) A simulation of the importance of length of growing season and canopy functional properties on the seasonal gross primary production of temperate alpine meadows. *Annals of botany*, **101**, 549–559.
- Baptist, F., Flahaut, C., Streb, P. & Choler, P. (2010) No increase in alpine snowbed productivity in response to experimental lengthening of the growing season. *Plant biology*, **12**, 755–64.
- Baptist, F., Tcherkez, G., Aubert, S., Pontailleur, J.-Y., Choler, P. & Nogués, S. (2009) 13C and 15N allocations of two alpine species from early and late snowmelt locations reflect their different growth strategies. *Journal of experimental botany*, **60**, 2725–2735.
- Beniston, M. (2003) Climatic Change in Mountain Regions: A Review of Possible Impacts. *Climate Variability and Change in High Elevation Regions: Past, Present {&} Future* (ed H.F. Diaz),

- pp. 5–31. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Beniston, M. (2005) Mountain Climates and Climatic Change: An Overview of Processes Focusing on the European Alps. *pure and applied geophysics*, **162**, 1587–1606.
- Beniston, M. (2006) Mountain Weather and Climate: A General Overview and a Focus on Climatic Change in the Alps. *Hydrobiologia*, **562**, 3–16.
- Beniston, M., Keller, F., Koffi, B. & Goyette, S. (2003) Estimates of snow accumulation and volume in the Swiss Alps under changing climatic conditions. *Theoretical and Applied Climatology*, **76**, 125–140.
- Beniston, M., Stephenson, D.B., Christensen, O.B., Ferro, C.A.T., Frei, C., Goyette, S., Halsnaes, K., Holt, T., Jylhä, K., Koffi, B., Palutikof, J., Schöll, R., Semmler, T. & Woth, K. (2007) Future extreme events in European climate: an exploration of regional climate model projections. *Climatic Change*, **81**, 71–95.
- Benot, M.L., Saccone, P., Pautrat, E., Vicente, R., Colace, M.P., Grigulis, K., Clément, J.C. & Lavorel, S. (2014) Stronger Short-Term Effects of Mowing Than Extreme Summer Weather on a Subalpine Grassland. *Ecosystems*, **17**, 458–472.
- Benot, M., Saccone, P., Vicente, R., Pautrat, E., Morvan-Bertrand, A., Decau, M.-L., Grigulis, K., Prud'homme, M.-P. & Lavorel, S. (2013) How extreme summer weather may limit control of *Festuca paniculata* by mowing in subalpine grasslands. *Plant Ecology & Diversity*.
- Bloor, J.M.G., Pichon, P., Falcimagne, R., Leadley, P. & Soussana, J.-F. (2010) Effects of Warming, Summer Drought, and CO₂ Enrichment on Aboveground Biomass Production, Flowering Phenology, and Community Structure in an Upland Grassland Ecosystem. *Ecosystems*, **13**, 888–900.
- De Boeck, H.J., Lemmens, C.M.H.M., Zavalloni, C., Gielen, B., Malchair, S., Carnol, M., Merckx, R., den Berge, J., Ceulemans, R. & Nijs, I. (2008) Biomass production in experimental grasslands of different species richness during three years of climate warming. *Biogeosciences*, **5**, 585–594.
- Chapin, F.S. (1980) The Mineral Nutrition of Wild Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 233–260.
- Chapin III, F.S. (2003) Effects of Plant Traits on Ecosystem and Regional Processes: a Conceptual Framework for Predicting the Consequences of Global Change. *Annals of Botany*, **91**, 455.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T. & Pinheiro, C. (2002) How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, **89**, 907–916.
- Chemini, C. & Rizzoli, A. (2003) Land use change and biodiversity conservation in the Alps. *Journal of Mountain Ecology*, **7**, 1–7.

- Chimner, R.A. & Welker, J.M. (2005) Ecosystem respiration responses to experimental manipulations of winter and summer precipitation in a Mixedgrass Prairie, WY, USA. *Biogeochemistry*, **73**, 257–270.
- Choler, P. (2005) Consistent Shifts in Alpine Plant Traits along a Mesotopographical Gradient. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **37**, 444–453.
- Christensen, J.H. & Christensen, O.B. (2007) A summary of the PRUDENCE model projections of changes in European climate by the end of this century. *Climatic Change*, **81**, 7–30.
- Clement, J.C., Robson, T.M., Guillemin, R., Saccone, P., Lochet, J., Aubert, S. & Lavorel, S. (2011) The effects of snow-N deposition and snowmelt dynamics on soil-N cycling in marginal terraced grasslands in the French Alps. *Biogeochemistry*, **108**, 297–315.
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., Ter Steege, H., Morgan, H.D., Van Der Heijden, M.G. a, Pausas, J.G. & Poorter, H. (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, **51**, 335–380.
- Crawley, M.J. (2005) *Statistics: An Introduction Using R*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- Dai, A. (2011) Drought under global warming: a review. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, **2**, 45–65.
- Díaz, S. & Cabido, M. (2001) Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646–655.
- Dukes, J.S., Chiariello, N.R., Cleland, E.E., Moore, L.A., Shaw, M.R., Thayer, S., Tobeck, T., Mooney, H.A. & Field, C.B. (2005) Responses of Grassland Production to Single and Multiple Global Environmental Changes. *PLOS Biology*, **3**, e319.
- Durand, Y., Giraud, G., Laternser, M., Etchevers, P., Mérindol, L. & Lesaffre, B. (2009a) Reanalysis of 47 Years of Climate in the French Alps (1958–2005): Climatology and Trends for Snow Cover. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 2487–2512.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009b) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- Dye, D.G. (2002) Variability and trends in the annual snow-cover cycle in Northern Hemisphere land areas, 1972–2000. *Hydrological Processes*, **16**, 3065–3077.
- Edwards, A.C., Scalenghe, R. & Freppaz, M. (2007) Changes in the seasonal snow cover of alpine regions and its effect on soil processes: A review. *Quaternary International*, **162–163**, 172–181.

- Engler, R., Randin, C.F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N.E., Araújo, M.B., Pearman, P.B., Le Lay, G., Piedallu, C., Albert, C.H., Choler, P., Coldea, G., De Lamo, X., Dirnböck, T., Gégout, J.-C., Gómez-García, D., Grytnes, J.-A., Heegaard, E., Høistad, F., Nogués-Bravo, D., Normand, S., Puşcaş, M., Sebastià, M.-T., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Trivedi, M.R., Vittoz, P. & Guisan, A. (2011) 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology*, **17**, 2330–2341.
- Ernakovich, J.G., Hopping, K. a, Berdanier, A.B., Simpson, R.T., Kachergis, E.J., Steltzer, H. & Wallenstein, M.D. (2014) Predicted responses of arctic and alpine ecosystems to altered seasonality under climate change. *Global change biology*.
- Fay, P.A., Blair, J.M., Smith, M.D., Nippert, J.B., Carlisle, J.D. & Knapp, A.K. (2011) Relative effects of precipitation variability and warming on tallgrass prairie ecosystem function. *Biogeosciences*, **8**, 3053–3068.
- Fay, P.A., Carlisle, J.D., Danner, B.T., Lett, M.S., McCarron, J.K., Stewart, C., Knapp, A.K., Blair, J.M. & Collins, S.L. (2002) Altered Rainfall Patterns, Gas Exchange, and Growth in Grasses and Forbs. *International Journal of Plant Sciences*, **163**, 549–557.
- Fischer, M. & Wipf, S. (2002) Effect of low-intensity grazing on the species-rich vegetation of traditionally mown subalpine meadows. *Biological Conservation*, **104**, 1–11.
- Folke, C., Carpenter, S., Walker, B., Scheffer, M., Elmqvist, T., Gunderson, L. & Holling, C.S. (2004) Regime Shifts, Resilience, and Biodiversity in Ecosystem Management. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 557–581.
- Galen, C. & Stanton, M. (1993) Short-term responses of alpine buttercups to experimental manipulations of growing season length. *Ecology*, **74**, 1052–1058.
- Galen, C. & Stanton, M. (1995) Responses of snowbed plant species to changes in growing-season length. *Ecology*, **76**, 1546–1557.
- Garcia-Pausas, J., Casals, P., Rovira, P., Vallecillo, S., Sebastià, M.-T.T. & Romanyà, J. (2012) Decomposition of labelled roots and root-C and -N allocation between soil fractions in mountain grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **49**, 61–69.
- Gardarin, A., Garnier, E., Carrère, P., Cruz, P., Andueza Urrea, J.D., Bonis, A., Colace, M.-P., Dumont, B., Duru, M., Farruggia, A., Gaucherand, S., Grigulis, K., Kerneis, E., Lavorel, S., Louault, F., Loucougaray, G., Mesleard, F., Yavercovski, N. & Kazakou, E. (2014) Plant trait-digestibility relationships across management and climate gradients in permanent grasslands. *Journal of Applied Ecology*, **51**, 1207–1217.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.

- Garnier, E., Laurent, G., Bellmann, A., Debain, S., Berthelier, P., Ducout, B., Roumet, C. & Navas, M.-L. (2001) Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *New Phytologist*, **152**, 69–83.
- Gellrich, M. & Zimmermann, N.E. (2007) Investigating the regional-scale pattern of agricultural land abandonment in the Swiss mountains: A spatial statistical modelling approach. *Landscape and Urban Planning*, **79**, 65–76.
- Gepstein, S. (2004) Leaf senescence - not just a “wear and tear” phenomenon. *Genome Biology*, **5**, 212.
- Gerdol, R., Siffi, C., Iacumin, P., Gualmini, M. & Tomaselli, M. (2013) Advanced snowmelt affects vegetative growth and sexual reproduction of *Vaccinium myrtillus* in a sub-alpine heath (ed B Collins). *Journal of Vegetation Science*, **24**, 569–579.
- Gilgen, A.K. & Buchmann, N. (2009) Response of temperate grasslands at different altitudes to simulated summer drought differed but scaled with annual precipitation. *Biogeosciences*, **6**, 2525–2539.
- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J. & Stoffel, M. (2014) 21st century climate change in the European Alps—A review. *Science of The Total Environment*, **493**, 1138–1151.
- Gottfried, M., Pauli, H., Futschik, A., Akhalkatsi, M., Barancok, P., Benito Alonso, J.L., Coldea, G., Dick, J., Erschbamer, B., Fernandez Calzado, M.R., Kazakis, G., Krajci, J., Larsson, P., Mallaun, M., Michelsen, O., Moiseev, D., Moiseev, P., Molau, U., Merzouki, A., Nagy, L., Nakhutsrishvili, G., Pedersen, B., Pelino, G., Puscas, M., Rossi, G., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Tomaselli, M., Villar, L., Vittoz, P., Vogiatzakis, I. & Grabherr, G. (2012) Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Clim. Change*, **2**, 111–115.
- Grassein, F., Lemauiel-Lavenant, S., Lavorel, S., Bahn, M., Bardgett, R.D., Desclos-Theveniau, M. & Laîné, P. (2015) Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. *Annals of Botany*, **115**, 107–115.
- Grassein, F., Till-Bottraud, I. & Lavorel, S. (2010) Plant resource-use strategies: The importance of phenotypic plasticity in response to a productivity gradient for two subalpine species. *Annals of Botany*, **106**, 637–645.
- Grêt-Regamey, A., Brunner, S.H. & Kienast, F. (2012) Mountain Ecosystem Services: Who Cares? *Mountain Research and Development*, **32**, S23–S34.
- Grigulis, K., Lavorel, S., Krainer, U., Legay, N., Baxendale, C., Dumont, M., Kastl, E., Arnoldi, C., Bardgett, R.D., Poly, F., Pommier, T., Schlöter, M., Tappeiner, U., Bahn, M. & Clément, J.-C. (2013) Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services (ed M Hutchings). *Journal of Ecology*, **101**, 47–57.

- Grime, J.P. (2001) *Plant Strategies, Vegetation Processes and Ecosystem Properties (2nd Edn.)*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- Grime, J.P., Fridley, J.D., Askew, A.P., Thompson, K., Hodgson, J.G. & Bennett, C.R. (2008) Long-term resistance to simulated climate change in an infertile grassland. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 10028–10032.
- Gross, N., Robson, T.M., Lavorel, S., Albert, C., Le Bagousse-Pinguet, Y. & Guillemin, R. (2008) Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *The New phytologist*, **180**, 652–62.
- Gross, N., Suding, K.N.K. & Lavorel, S. (2007) Leaf dry matter content and lateral spread predict response to land use change for six subalpine grassland species. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 289–300.
- Gunderson, L.H. (2000) Ecological Resilience—In Theory and Application. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **31**, 425–439.
- Haida, C., Rüdisser, J. & Tappeiner, U. (2016) Ecosystem services in mountain regions: experts' perceptions and research intensity. *Regional Environmental Change*, **16**, 1989–2004.
- Hantel, M. & Hirtl-Wielke, L.-M. (2007) Sensitivity of Alpine snow cover to European temperature. *International Journal of Climatology*, **27**, 1265–1275.
- Helmuth, B., Kingsolver, J.G. & Carrington, E. (2004) Biophysics, Physiological Ecology, And Climate Change: Does Mechanism Matter? *Annual Review of Physiology*, **67**, 177–201.
- Hudson, J.M.G., Henry, G.H.R. & Cornwell, W.K. (2011) Taller and larger: shifts in Arctic tundra leaf traits after 16 years of experimental warming. *Global Change Biology*, **17**, 1013–1021.
- Hülber, K., Winkler, M. & Grabherr, G. (2010) Intraseasonal climate and habitat-specific variability controls the flowering phenology of high alpine plant species. *Functional Ecology*, **24**, 245–252.
- Inouye, D.W. (2000) The ecological and evolutionary significance of frost in the context of climate change. *Ecology Letters*, **3**, 457–463.
- Inouye, D. (2008) Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*, **89**, 353–362.
- IPCC. (2013) *IPCC Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- IPCC. (2014) *IPCC Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II, and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. 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., Gellesch, E., Glaser, B., Grant, K., Hein, R., Lara, M., Mirzae, H., Nadler, S.E., Nagy, L., Otieno, D., Pritsch, K., Rascher, U., Schädler, M., Schlöter, M., Singh, B.K., Stadler, J., Walter, J., Wellstein, C., Wöllecke, J. & Beierkuhnlein, C. (2011) Climate extremes initiate ecosystem-regulating functions while maintaining productivity. *Journal of Ecology*, **99**, 689–702.
- Jonas, T., Rixen, C., Sturm, M. & Stoeckli, V. (2008) How alpine plant growth is linked to snow cover and climate variability. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, **113**, n/a--n/a.
- Jump, A.S. & Peñuelas, J. (2005) Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, **8**, 1010–1020.
- Jung, V., Albert, C.H., Violle, C., Kunstler, G., Loucougaray, G. & Spiegelberger, T. (2014) Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to extreme drought events. *Journal of Ecology*, **102**, 45–53.
- Keller, F., Goyette, S. & Beniston, M. (2005) Sensitivity Analysis of Snow Cover to Climate Change Scenarios and Their Impact on Plant Habitats in Alpine Terrain. *Climatic Change*, **72**, 299–319.
- Klímeš, L., Hájek, M., Mudrák, O., Dančák, M., Preislerová, Z., Hájková, P., Jongepierová, I. & Klímešová, J. (2013) Effects of changes in management on resistance and resilience in three grassland communities (ed M Hermy). *Applied Vegetation Science*, **16**, 640–649.
- Knapp, A.K., Beier, C., Briske, D.D., Classen, A.T., Luo, Y., Reichstein, M., Smith, M.D., Smith, S.D., Bell, J.E., Fay, P.A., Heisler, J.L., Leavitt, S.W., Sherry, R., Smith, B. & Weng, E. (2008) Consequences of More Extreme Precipitation Regimes for Terrestrial Ecosystems. *BioScience*, **58**, 811–821.
- Knapp, A.K. & Smith, M.D. (2001) Variation Among Biomes in Temporal Dynamics of Aboveground Primary Production. *Science*, **291**, 481–484.
- Körner, C. (2003) *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems (2nd Edn.)*. Springer, Berlin, Deutschland.
- Kreyling, J., Beierkuhnlein, C., Elmer, M., Pritsch, K., Radovski, M., Schlöter, M., Wöllecke, J. & Jentsch, A. (2008a) Soil biotic processes remain remarkably stable after 100-year extreme weather events in experimental grassland and heath. *Plant and Soil*, **308**, 175.
- Kreyling, J., Haei, M. & Laudon, H. (2012) Absence of snow cover reduces understory plant cover and alters plant community composition in boreal forests. *Oecologia*, **168**, 577–587.
- Kreyling, J., Jentsch, A. & Beierkuhnlein, C. (2011) Stochastic trajectories of succession initiated by extreme climatic events. *Ecology Letters*, **14**, 758–764.
- Kreyling, J., Wenigmann, M., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2008b) Effects of Extreme Weather

Events on Plant Productivity and Tissue Die-Back are Modified by Community Composition. *Ecosystems*, **11**, 752–763.

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.

Leitinger, G., Ruggenthaler, R., Hammerle, A., Lavorel, S., Schirpke, U., Clement, J.-C., Lamarque, P., Obojes, N. & Tappeiner, U. (2015) Impact of droughts on water provision in managed alpine grasslands in two climatically different regions of the Alps. *Ecohydrology*, **8**, 1600–1613.

Lenth, R. & Hervé, M. (2015) *Lsmeans: Least-Squares Means*. R package version 2.16, <http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>.

Lepš, J., de Bello, F., Šmilauer, P. & Doležal, J. (2011) Community trait response to environment: disentangling species turnover vs intraspecific trait variability effects. *Ecography*, **34**, 856–863.

Livensperger, C., Steltzer, H., Darrouzet-Nardi, A., Sullivan, P.F., Wallenstein, M. & Weintraub, M.N. (2016) Earlier snowmelt and warming lead to earlier but not necessarily more plant growth. *AoB PLANTS*, **8**, plw021-plw021.

Llorens, L., Peñuelas, J., Estiarte, M. & Bruna, P. (2004) Contrasting Growth Changes in Two Dominant Species of a Mediterranean Shrubland Submitted to Experimental Drought and Warming. *Annals of Botany*, **94**, 843–853.

Ludlow, M.M. (1989) Strategies in response to water stress. *Structural and functional response to environmental stresses: water shortage*. (eds H. Kreeb, H. Richter & T. Hinkley), pp. 269–281. SPB Academic Press, Den Haag, Koninkrijk der Nederlanden.

MacGillivray, C.W., Grime, J.P. & Team, T.I.S.P. (ISP). (1995) Testing Predictions of the Resistance and Resilience of Vegetation Subjected to Extreme Events. *Functional Ecology*, **9**, 640–649.

Malyshev, A. V., Arfin Khan, M.A.S., Beierkuhnlein, C., Steinbauer, M.J., Henry, H.A.L., Jentsch, A., Dengler, J., Willner, E. & Kreyling, J. (2015) Plant responses to climatic extremes: within-species variation equals among-species variation. *Global Change Biology*, n/a-n/a.

Morin, S., Lafaysse, M., Coleou, C. & Lejeune, Y. (2013) Will There (Still) Be Snow for the Upcoming Winter Holidays? On the Conditional Predictability of Snow Conditions Several Weeks to Months in Advance. *International Snow Science Workshop*, pp. 1171–1176. Grenoble - Chamonix Mont-Blanc, France.

Nogués-Bravo, D., Araújo, M.B., Errea, M.P. & Martínez-Rica, J.P. (2007) Exposure of global mountain systems to climate warming during the 21st Century. *Global Environmental Change*, **17**, 420–428.

- Obojes, N., Bahn, M., Tasser, E., Walde, J., Inauen, N., Hiltbrunner, E., Saccone, P., Lochet, J., Clément, J.C., Lavorel, S., Tappeiner, U. & Körner, C. (2015) Vegetation effects on the water balance of mountain grasslands depend on climatic conditions. *Ecohydrology*, **8**, 552–569.
- Orwin, K.H. & Wardle, D.A. (2004) New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances. *Soil Biology and Biochemistry*, **36**, 1907–1912.
- Orwin, K.H. & Wardle, D. a. (2005) Plant Species Composition Effects on Belowground Properties and the Resistance and Resilience of the Soil Microflora to a Drying Disturbance. *Plant and Soil*, **278**, 205–221.
- Orwin, K., Wardle, D. & Greenfield, L. (2006) Context dependent changes in the resistance and resilience of soil microbes to an experimental disturbance for three primary plant chronosequences. *Oikos*, **112**, 196–208.
- Pakeman, R.J., Lepš, J., Kleyer, M., Lavorel, S., Garnier, E. & consortium, the V. (2009) Relative climatic, edaphic and management controls of plant functional trait signatures. *Journal of Vegetation Science*, **20**, 148–159.
- Parmesan, C. (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **37**, 637–669.
- Pausas, J.G., Lavorel, S. & Lepš, J. (2003) A hierarchical deductive approach for functional types in disturbed ecosystems. *Journal of Vegetation Science*, **14**, 409–416.
- Van Peer, L., Nijs, I., Reheul, D. & De Cauwer, B. (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. *Functional Ecology*, **18**, 769–778.
- Peñuelas, J., Gordon, C., Llorens, L., Nielsen, T., Tietema, A., Beier, C., Bruna, P., Emmett, B., Estiarte, M. & Gorissen, A. (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-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., Gurvich, D.E., Urcelay, C., Veneklaas, E.J., Reich, P.B., Poorter, L., Wright, I.J., Ray, P., Enrico, L., Pausas, J.G., de Vos, A.C., Buchmann, N., Funes, G., Quétier, F., Hodgson, J.G., Thompson, K., Morgan, H.D., ter Steege, H., Sack, L., Blonder, B., Poschlod, P., Vaieretti, M. V, Conti, G., Staver, A.C., Aquino, S. & Cornelissen, J.H.C. (2013) New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, **61**, 167–234.
- Pérez-Ramos, I.M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A. & Roumet, C. (2013) Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, **87**, 126–136.

- Pimm, S.L. (1984) The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, **307**, 321–326.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. (2015) *{nlme}: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-127, <http://cran.r-project.org/package=nlme>.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I.J. & Villar, R. (2009) Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist*, **182**, 565–588.
- Price, M. V & Waser, N.M. (2000) Responses of subalpine meadow vegetation to four years of experimental warming. *Ecological Applications*, **10**, 811–823.
- Quétier, F., Lavorel, S., Thuiller, W. & Davies, I. (2007a) Plant-trait-based modeling assessment of ecosystem-service sensitivity to land-use change. *Ecological Applications*, **17**, 2377–2386.
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007b) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- R Core Team. (2015) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Walters, M.B., Vose, J.M., Gresham, C., Volin, J.C. & Bowman, W.D. (1999) Generality Of Leaf Trait Relationships: A Test Across Six Biomes. *Ecology*, **80**, 1955–1969.
- Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S. (1997) From tropics to tundra: Global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94**, 13730–13734.
- Rivest, D., Paquette, A., Shipley, B., Reich, P.B. & Messier, C. (2014) *Tree Communities Rapidly Alter Soil Microbial Resistance and Resilience to Drought*.
- Roumet, C., Urcelay, C. & Díaz, S. (2006) Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist*, **170**, 357–368.
- Sandel, B., Goldstein, L.J., Kraft, N.J.B., Okie, J.G., Shulman, M.I., Ackerly, D.D., Cleland, E.E. & Suding, K.N. (2010) Contrasting trait responses in plant communities to experimental and geographic variation in precipitation. *New Phytologist*, **188**, 565–575.
- Schär, C., Vidale, P., Lüthi, D. & Frei, C. (2004) The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature*, **427**, 3926–3928.
- Schmidli, J. & Frei, C. (2005) Trends of heavy precipitation and wet and dry spells in Switzerland during the 20th century. *International Journal of Climatology*, **25**, 753–771.
- Sebastiá, M.-T. (2004) Role of topography and soils in grassland structuring at the landscape and community scales. *Basic and Applied Ecology*, **5**, 331–346.
- Sebastiá, M.-T. (2007) Plant guilds drive biomass response to global warming and water availability in subalpine grassland. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 158–167.
- Sebastià, M.-T., Kirwan, L. & Connolly, J. (2008) Strong shifts in plant diversity and vegetation

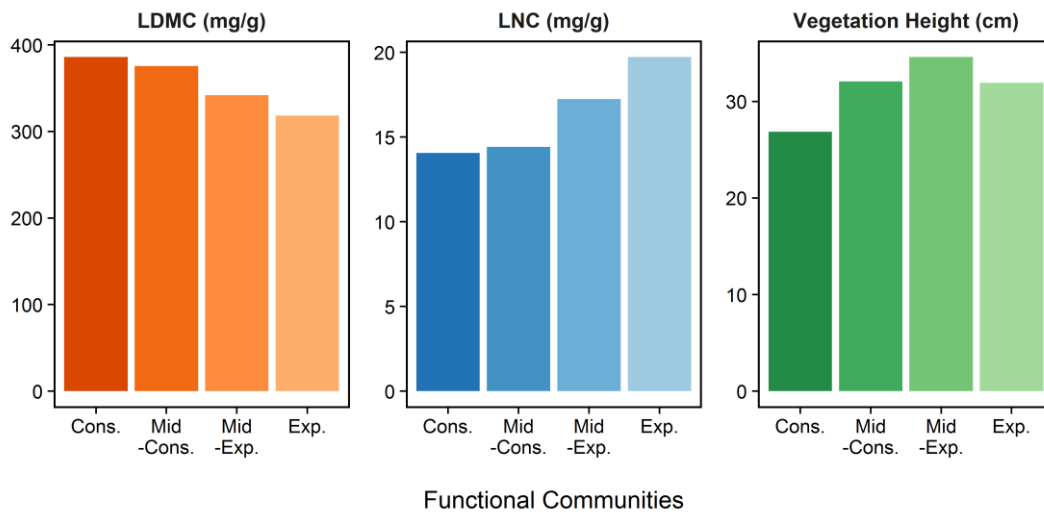
- composition in grassland shortly after climatic change. *Journal of Vegetation Science*, **19**, 299–306.
- Serquet, G., Marty, C., Dulex, J.-P. & Rebetez, M. (2011) Seasonal trends and temperature dependence of the snowfall/precipitation-day ratio in Switzerland. *Geophysical Research Letters*, **38**, n/a--n/a.
- Serquet, G., Marty, C. & Rebetez, M. (2013) Monthly trends and the corresponding altitudinal shift in the snowfall/precipitation day ratio. *Theoretical and Applied Climatology*, **114**, 437–444.
- Smith, M.D. (2011) The ecological role of climate extremes: current understanding and future prospects. *Journal of Ecology*, **99**, 651–655.
- Starr, G.R. egor., Oberbauer, S.F. & Pop, E.R.I.C.W. (2000) Effects of lengthened growing season and soil warming on the phenology and physiology of *Polygonum bistorta*. *Global Change Biology*, **6**, 357–369.
- Steger, C., Kotlarski, S., Jonas, T. & Schär, C. (2013) Alpine snow cover in a changing climate: a regional climate model perspective. *Climate Dynamics*, **41**, 735–754.
- Suding, K.N., Lavorel, S., Chapin, F.S., Cornelissen, J.H.C., Díaz, S., Garnier, E., Goldberg, D., Hooper, D.U., Jackson, S.T. & Navas, M.-L. (2008) Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology*, **14**, 1125–1140.
- Tappeiner, U. & Bayfield, N. (2004) Management of mountainous areas. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)* (ed W. Verbeye), pp. 1–17. UNESCO Eolss Publishers, Oxford, UK.
- Tasser, E. & Tappeiner, U. (2002) Impact of land use changes on mountain vegetation. *Applied Vegetation Science*, **5**, 173–184.
- Tasser, E., Tappeiner, U. & Cernusca, A. (2005) Ecological Effects of Land-use Changes in the European Alps. *Global Change and Mountain Regions: An Overview of Current Knowledge* (eds U.M. Huber, H.K.M. Bugmann & M.A. Reasoner), pp. 409–420. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Theurillat, J. & Guisan, A. (2001) Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Climatic change*, 77–109.
- Thuiller, W., Albert, C., Araújo, M.B., Berry, P.M., Cabeza, M., Guisan, A., Hickler, T., Midgley, G.F., Paterson, J., Schurr, F.M., Sykes, M.T. & Zimmermann, N.E. (2008) Predicting global change impacts on plant species' distributions: Future challenges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **9**, 137–152.
- Vandewalle, M., Purschke, O., de Bello, F., Reitalu, T., Prentice, H.C., Lavorel, S., Johansson, L.J. & Sykes, M.T. (2014) Functional responses of plant communities to management, landscape

- and historical factors in semi-natural grasslands. *Journal of Vegetation Science*, **25**, 750–759.
- Violle, C., Enquist, B.J., McGill, B.J., Jiang, L., Albert, C.H., Hulshof, C., Jung, V. & Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 244–252.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos*, **116**, 882–892.
- Vionnet, V., Brun, E., Morin, S., Boone, A., Faroux, S., Le Moigne, P., Martin, E. & Willemet, J.-M. (2012) The detailed snowpack scheme Crocus and its implementation in SURFEX v7.2. *Geoscientific Model Development*, **5**, 773–791.
- Vittoz, P., Randin, C., Dutoit, A., Bonnet, F. & Hegg, O. (2009) Low impact of climate change on subalpine grasslands in the Swiss Northern Alps. *Global Change Biology*, **15**, 209–220.
- Vogel, A., Scherer-Lorenzen, M. & Weigelt, A. (2012) Grassland resistance and resilience after drought depends on management intensity and species richness. *PloS one*, **7**, e36992.
- Volaire, F. (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. & Lelièvre, 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.R. & Lelièvre, F. (2009) Summer Drought Survival Strategies and Sustainability of Perennial Temperate Forage Grasses in Mediterranean Areas All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, incl. *Crop Science*, **49**, 2386–2392.
- Walter, J., Jentsch, A., Beierkuhnlein, C. & Kreyling, J. (2013) Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. *Environmental and Experimental Botany*, **94**, 3–8.
- Welker, J.M., Fahnestock, J.T., Sullivan, P.F. & Chimner, R.A. (2005) Leaf mineral nutrition of Arctic plants in response to warming and deeper snow in northern Alaska. *Oikos*, **109**, 167–177.
- Westoby, M., Falster, D.S., Moles, A.T., Vesk, P.A. & Wright, I.J. (2002) Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 125–159.
- Wipf, S. (2010) Phenology, growth, and fecundity of eight subarctic tundra species in response to snowmelt manipulations. *Plant Ecology*, **207**, 53–66.
- Wipf, S. & Rixen, C. (2010) A review of snow manipulation experiments in Arctic and alpine tundra ecosystems. *Polar Research*, **29**, 95–109.

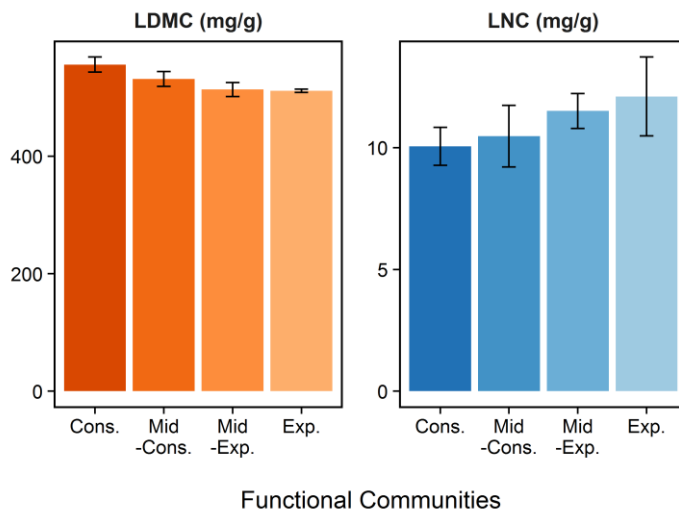
- Wipf, S., Rixen, C. & Mulder, C.P.H. (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Global Change Biology*, **12**, 1496–1506.
- Wipf, S., Stoeckli, V. & Bebi, P. (2009) Winter climate change in alpine tundra: plant responses to changes in snow depth and snowmelt timing. *Climatic Change*, **94**, 105–121.
- Wright, I.J., Reich, P.B. & Westoby, M. (2001) Strategy shifts in leaf physiology, structure and nutrient content between species of high- and low-rainfall and high- and low-nutrient habitats. *Functional Ecology*, **15**, 423–434.
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.-L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J. & Villar, R. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, **428**, 821–827.
- Zeiter, M., Stampfli, A. & Newbery, D.M. (2006) Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology*, **87**, 942–951.
- Zoderer, B.M., Lupo Stanghellini, P.S., Tasser, E., Walde, J., Wieser, H. & Tappeiner, U. (2016) Exploring socio-cultural values of ecosystem service categories in the Central Alps: the influence of socio-demographic factors and landscape type. *Regional Environmental Change*, **16**, 2033–2044.
- Zwicke, M., Picon-Cochard, C., Morvan-Bertrand, A., Prud'homme, M.-P. & Volaire, F. (2015) What functional strategies drive drought survival and recovery of perennial species from upland grassland? *Annals of Botany*.

3.9 - APPENDICES

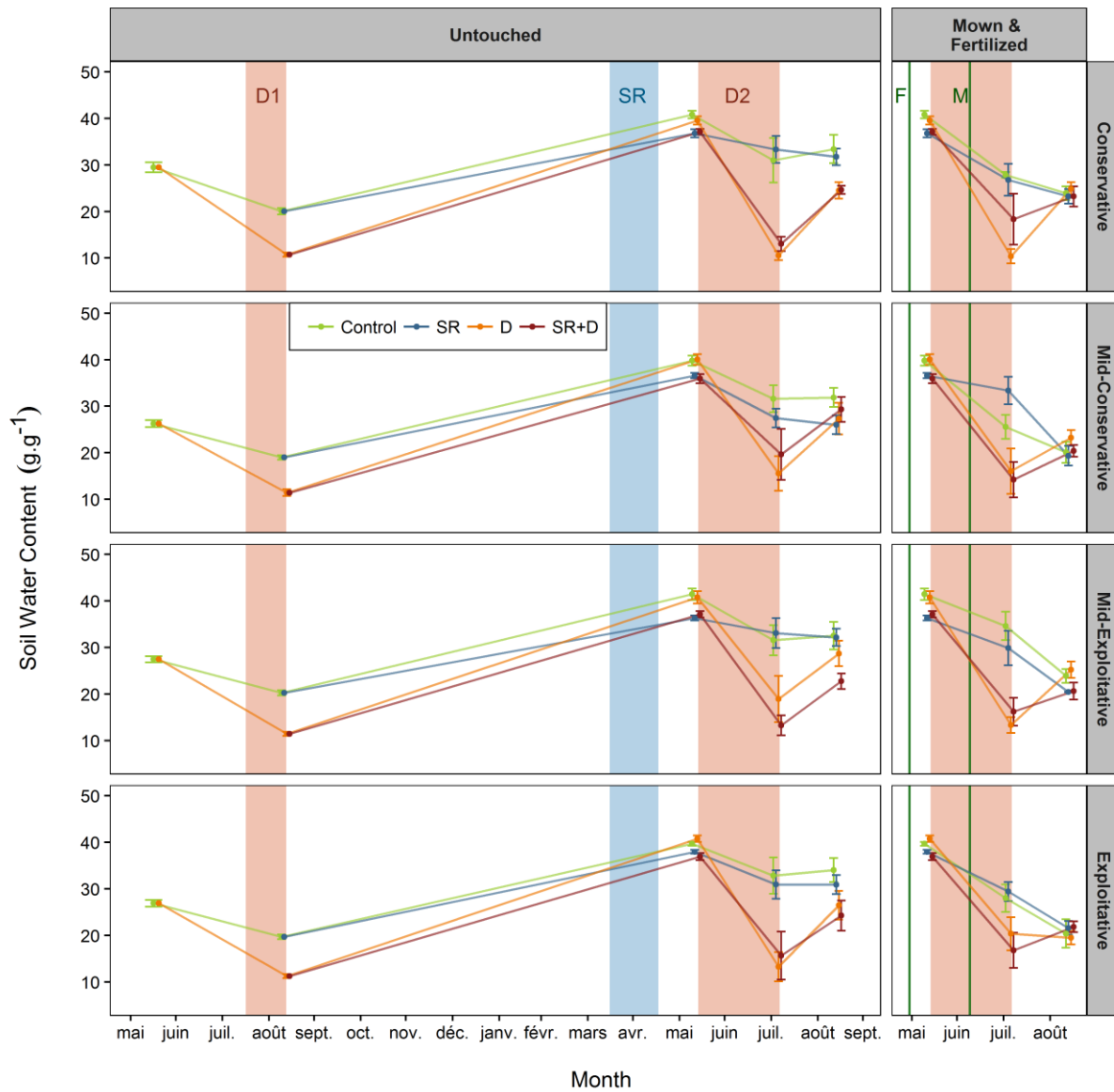
(a)



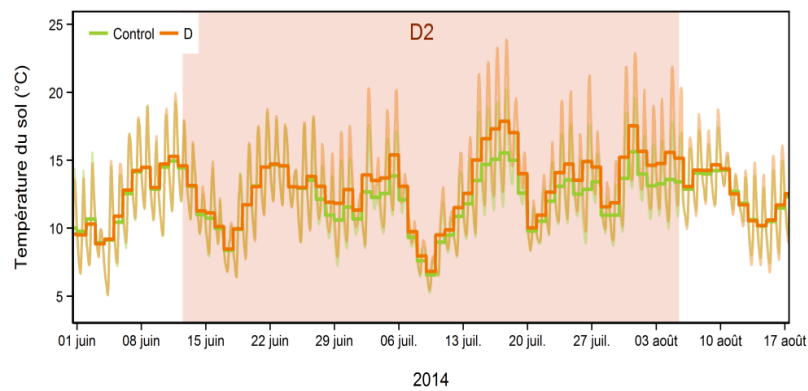
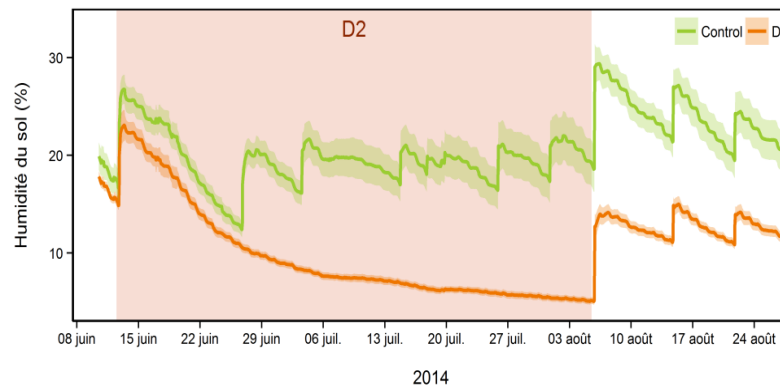
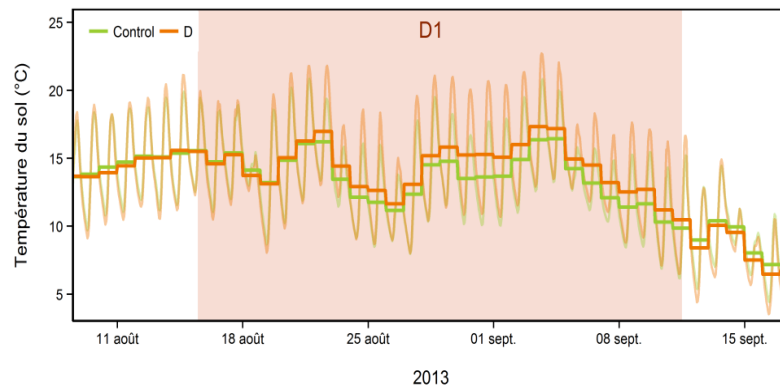
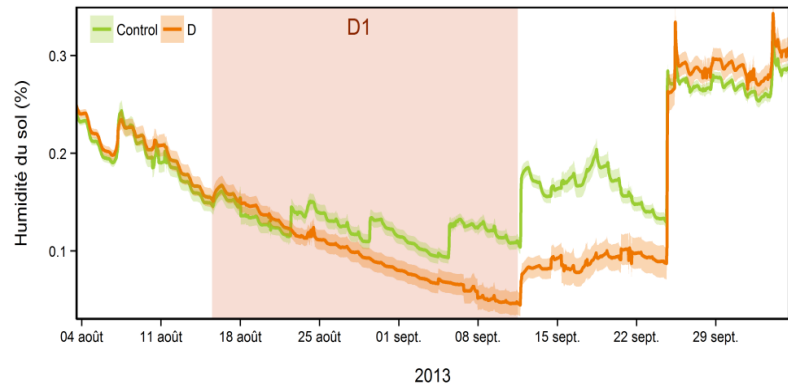
(b)



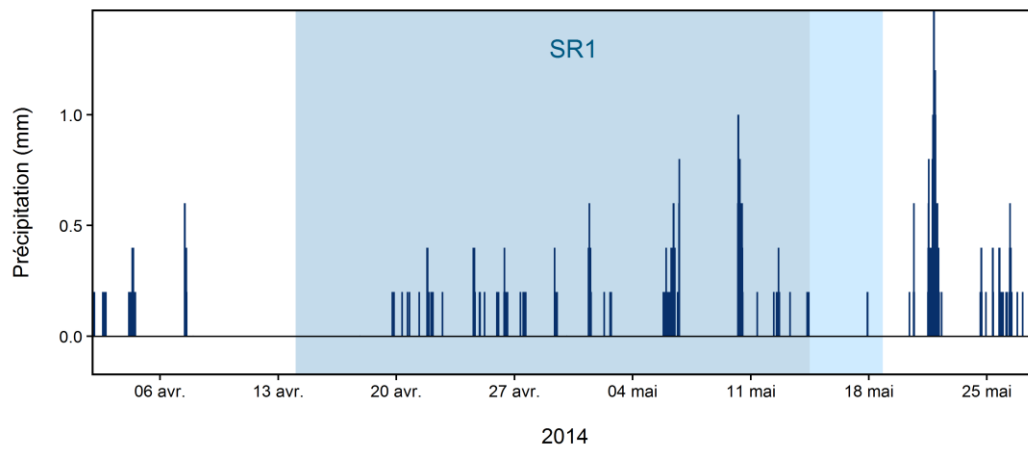
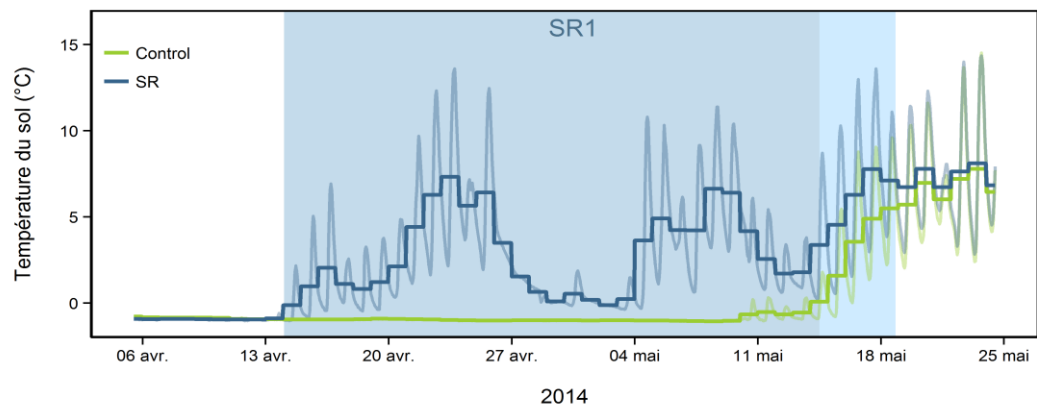
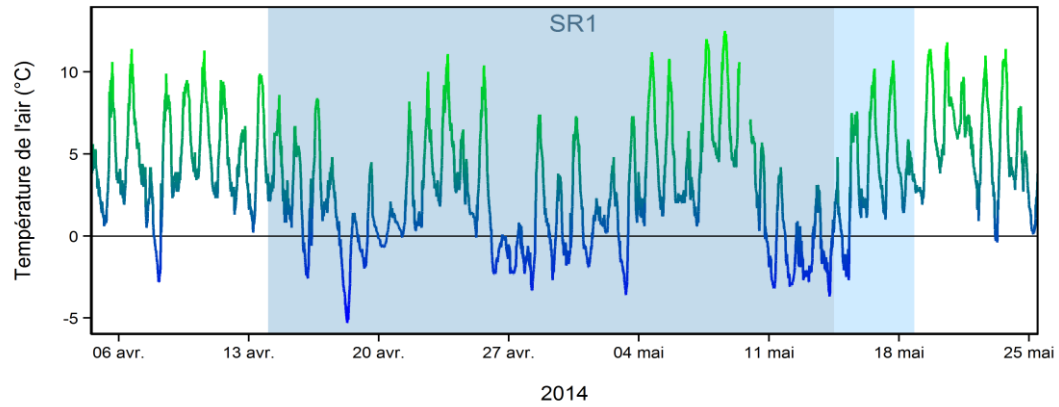
APPENDIX I. Theoretical (a) and realized (at experiment ending in control communities, b) functional gradient of assembled communities. Exp. : Exploitative; Cons. : Conservative; LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.



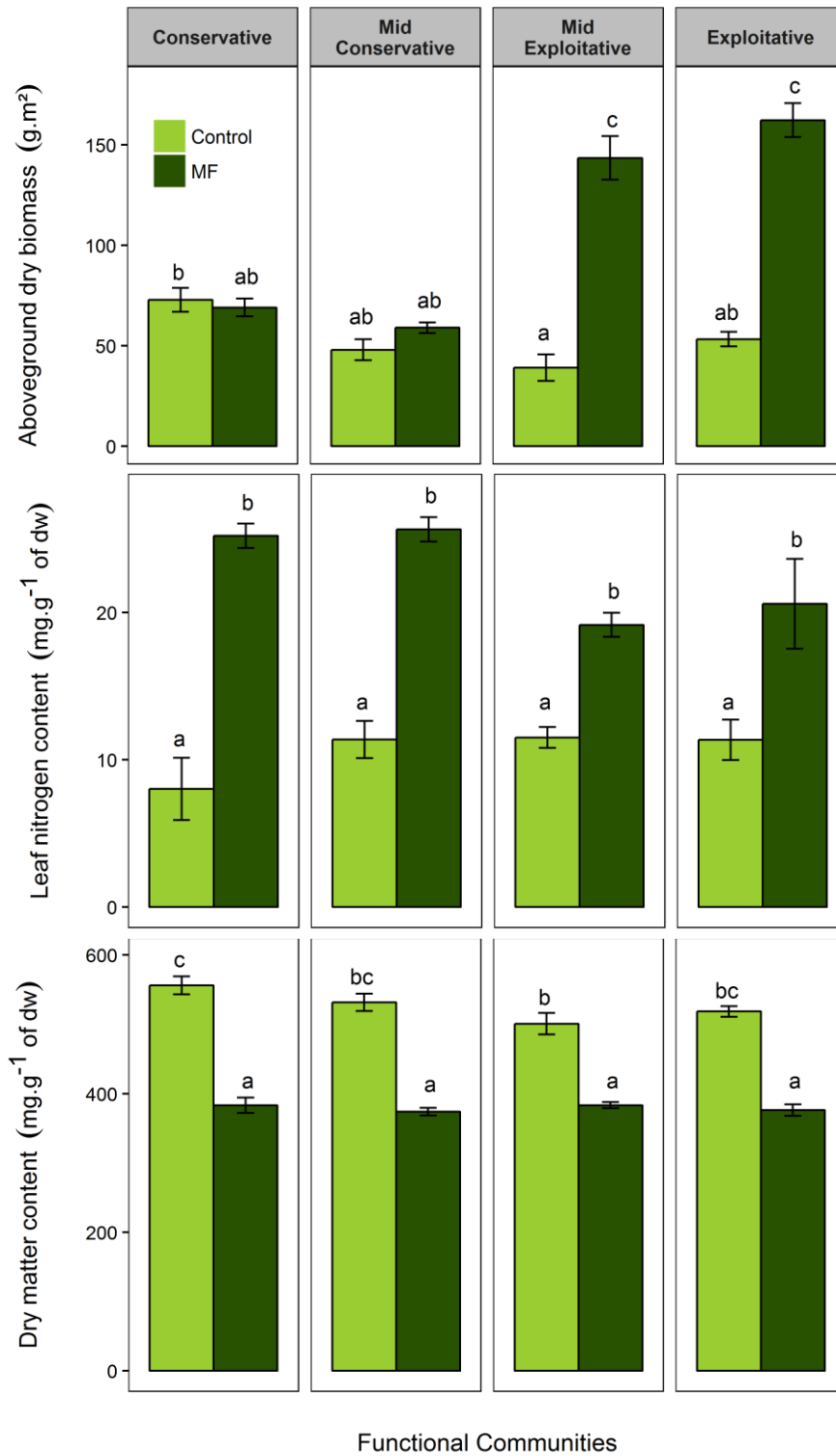
APPENDIX II. Time courses of means $\pm$ SE soil water content (g.g⁻¹) during 2013 and 2014 year of experiment. Orange boxes represent the time period without watering in drought parcels. Blue box represents the differential time period of snow cover among control and snow removal parcels. Dark green vertical lines represent management operations timing; F for fertilization event and M for mowing event.



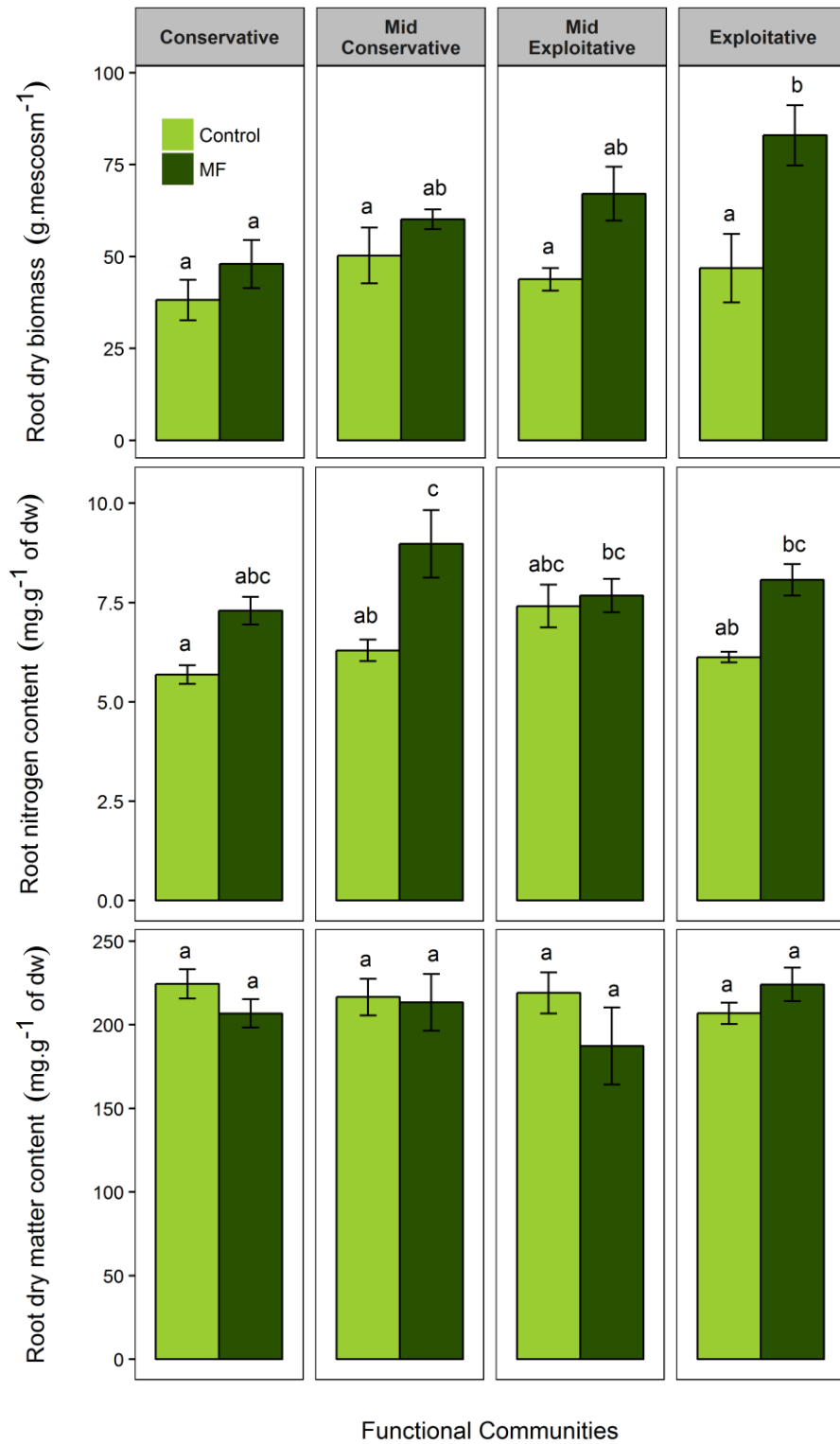
APPENDIX III. Time courses of daily mean soil temperature (°C) and soil humidity $\pm$ SE (%) during 2013 and 2014 drought event. Orange boxes represent the time period without watering in drought parcels.



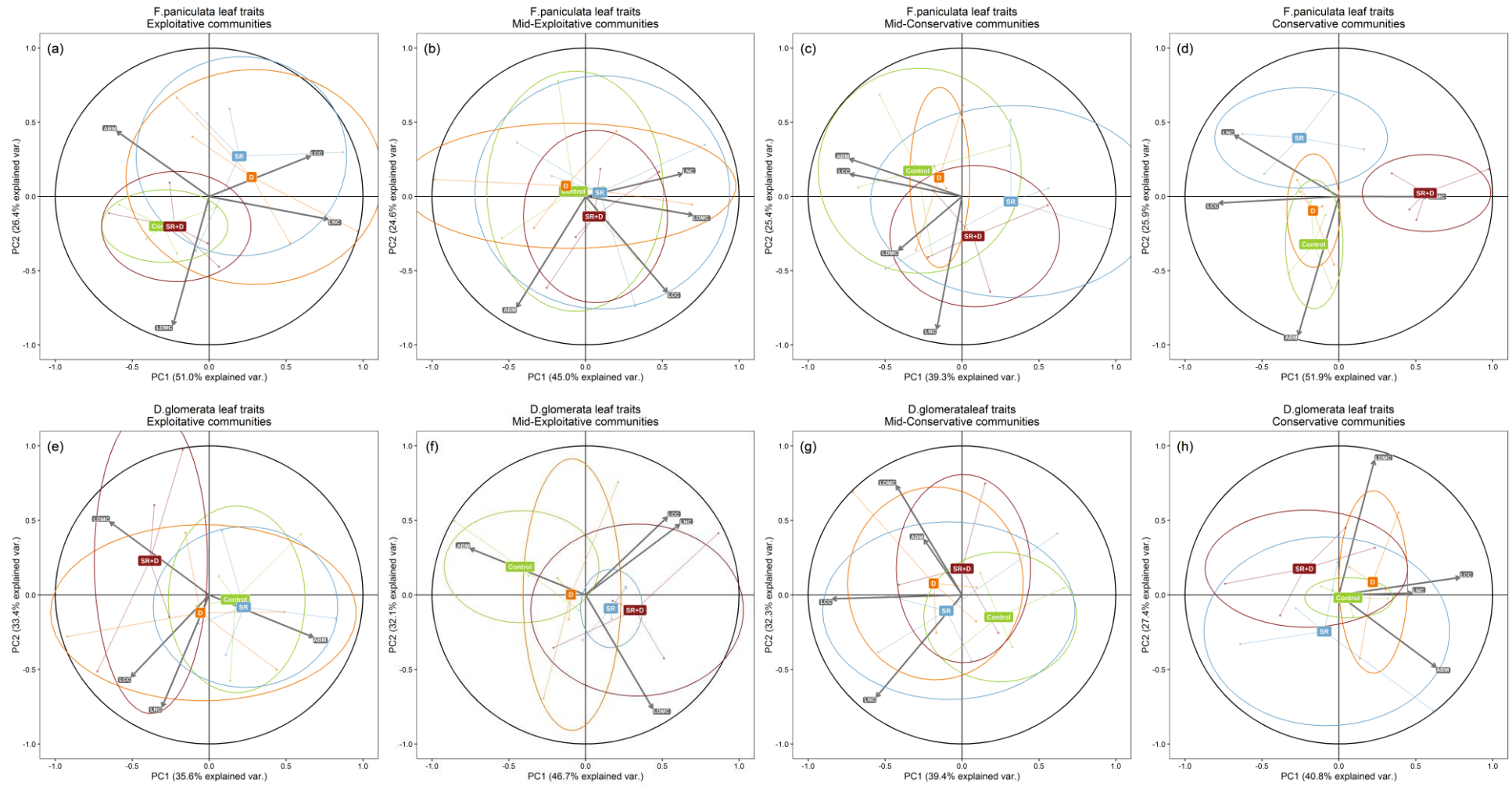
APPENDIX IV. Time courses of air and daily mean soil temperature (°C) and rain (mm) during 2014 snow removal event. Blue boxes represent the differential time period of snow cover among control and snow removal parcels. Lighter blue box represent differential time period of snow melt between the first and last snow removal parcels.



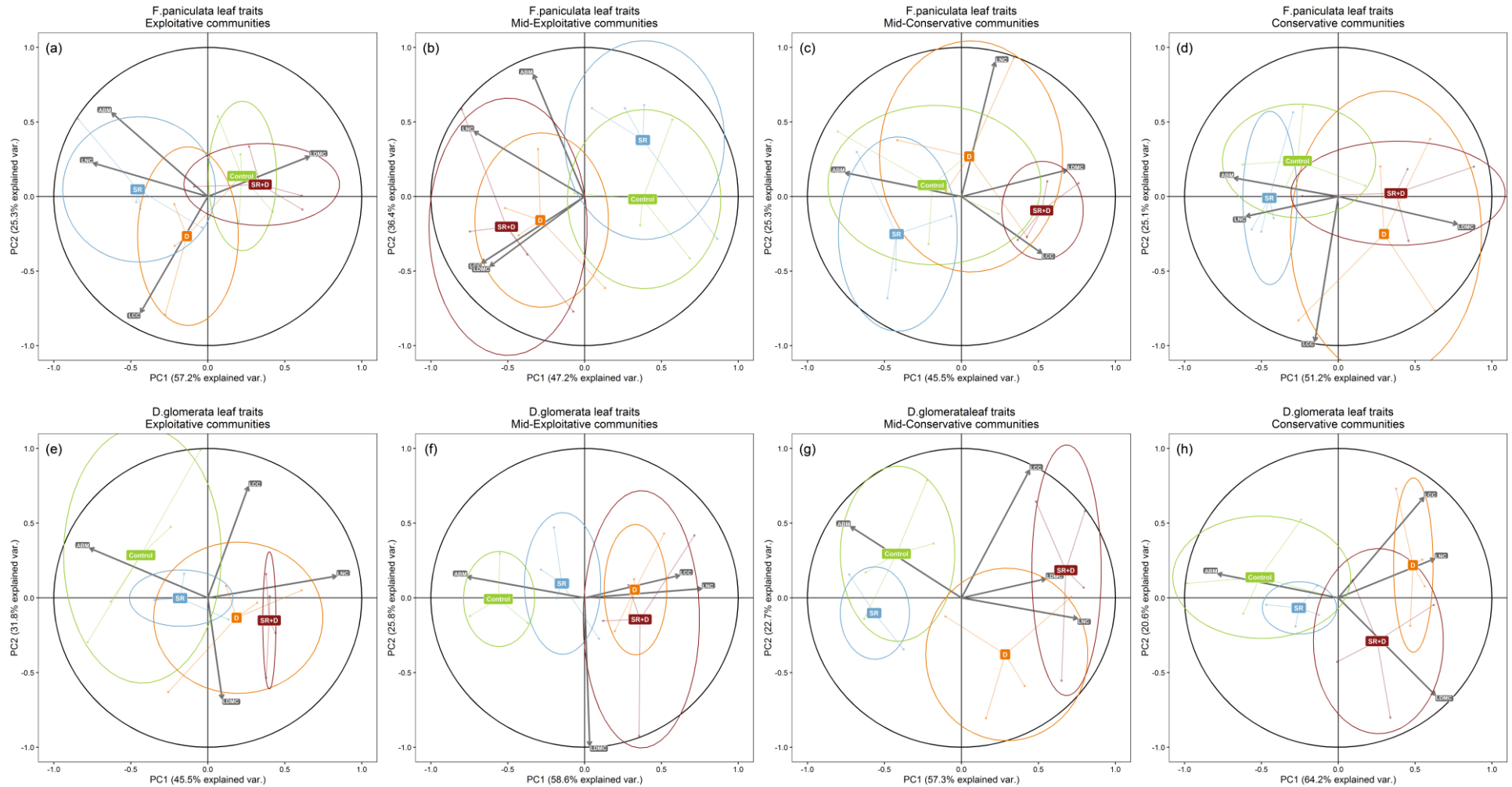
APPENDIX V. Effects of management treatment on aboveground dry biomass, leaf nitrogen content and dry matter content at T₄. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).



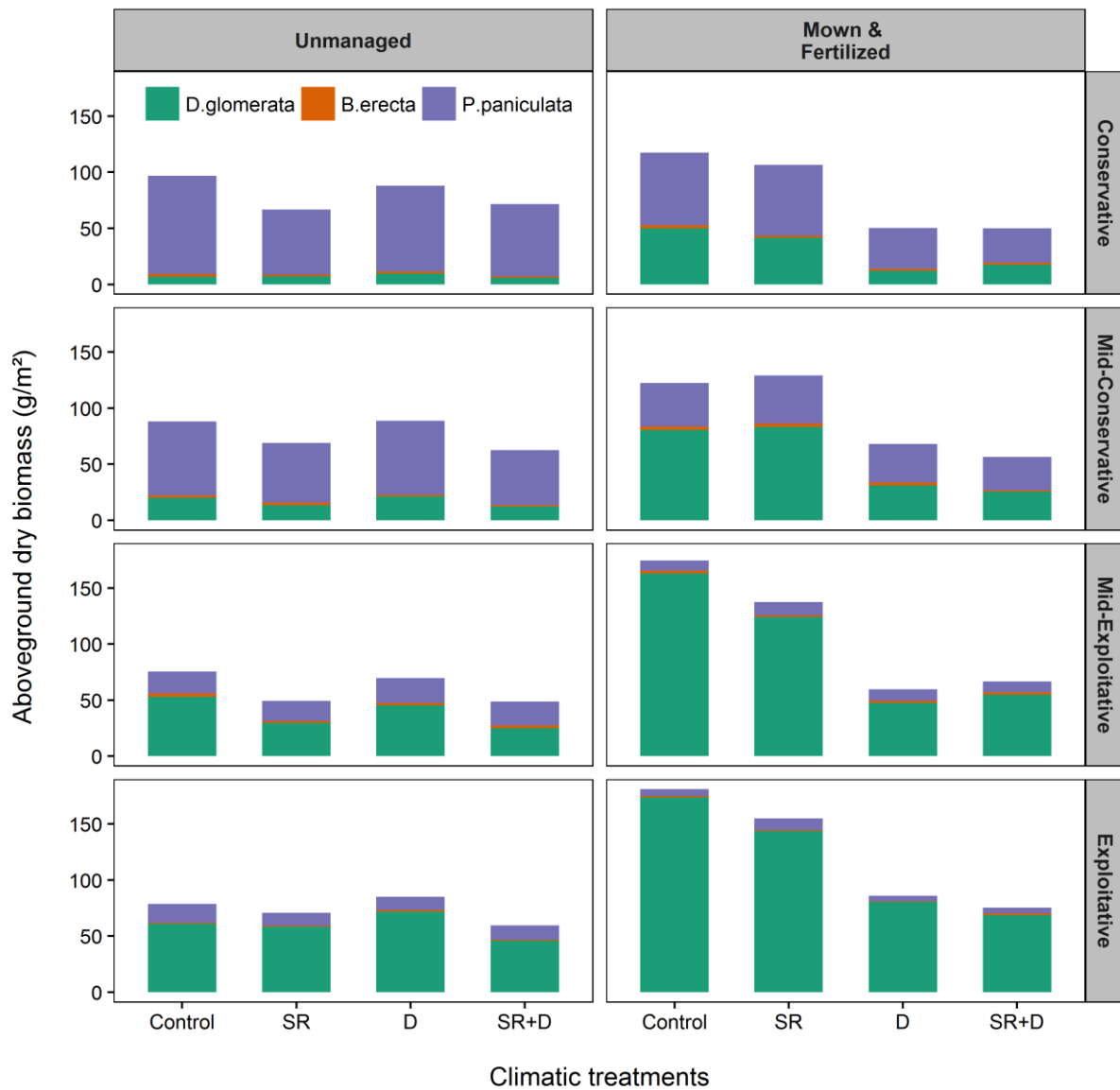
APPENDIX VI. Effects of management treatments on roots dry biomass, roots nitrogen content and roots dry matter content at T₄. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four different functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).



APPENDIX VII. Analyses of principal components combining leaf traits measured at T₄ in untouched communities and expressed at species level depending on functional gradient. ABM: aboveground dry biomass; LCC: leaf carbon content; LNC: leaf nitrogen content; DMC: dry matter content.

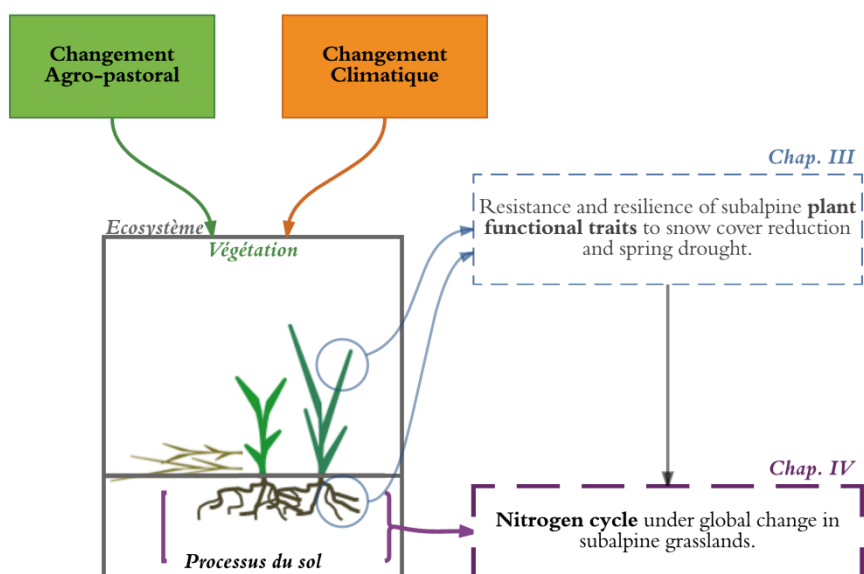


APPENDIX VIII. Analyses of principal components combining leaf traits measured at T_4 under mowing and fertilization at species level depending on functional gradient. ABM: aboveground dry biomass; LCC: leaf carbon content; LNC: leaf nitrogen content; DMC: dry matter content.



APPENDIX IX. Effects of climate and management treatments on aboveground dry biomass (g.m⁻²) at T₄. Values are expressed as means ± SE (n=4) of the four plant functional compositions.

CHAPITRE 4 : ARTICLE 2



NITROGEN CYCLE UNDER LOCAL CHANGE IN SUBALPINE GRASSLANDS.

Lionel Bernard^{1*} & Jean-Christophe Clément^{1 3}, Nicolas Legay², Thomas Pommier⁴, Sandra Lavorel¹.

In prep.

¹ *Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553, Université Grenoble Alpes, BP 53, 38041 Grenoble cedex 09, France*

² *Agroécologie, UMR INRA 1347, Université de Bourgogne, BP 86510, 21065 DIJON cedex, France*

³ *Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques et les Écosystèmes Limniques, UMR INRA A42, Université Savoie Mont Blanc, Campus scientifique, 73376 Le Bourget du Lac cedex, France*

⁴ *Ecologie Microbienne Lyon. INRA – UMR1418, CNRS – UMR5557, UCBL, Villeurbanne, France*

Note: This chapter lacks data on nitrification and denitrification enzymatic activities and nitrifiers and denitrifiers genes abundances. When available, these data will be incorporated in the analyses.

4.1 - ABSTRACT

Nutrient-poor subalpine grasslands in the French Alps have been created and used by extensive agricultural practices for centuries. They harbor extremely rich plant communities and deliver key ecosystem services which are increasingly threatened by climate and land-use changes. The impact of these changes on the subalpine vegetation has been intensively studied, especially aboveground. For instance, drought impacts net primary productivity and the cessation of mowing favors tussock species. However, other studies suggest that high elevation grasslands are highly resistant to climate change for evolutionary reasons following selection by glaciations and via functional mechanisms of resistance to climate variability. Meanwhile, the responses of the joined belowground properties to environmental changes may have potential effects on soil fertility or carbon storage but they remain difficult to anticipate. In particular, little is known on the resistance and resilience of subalpine soil parameters to simultaneous snowpack reduction, summer drought, and land-use.

Here we tested for two years whether two climatic events (snow removal and drought) combined with two land-uses (abandonment vs. fertilization plus mowing) could induce shifts in soil characteristics, in particular N pools and fluxes in four assembled plant communities differing in their composition and grown in a common garden at 2100 m a.s.l.

Mainly, we observed a reduction of soil microbial biomass in all assembled plant communities after the first climatic event: snow removal having a stronger impact than the first drought. This drop was associated to a release of immobilized N illustrated by higher soil N contents and leachates N concentrations. However, after a second drought, soil microbial biomass increased and most of the nitrogen pools and fluxes appeared to be unaffected. This resilience suggests that surviving soil microbes to the snow removal or to the first drought immobilized more soil N afterwards to increase their contents in osmolytes better withstand further cold and dry environmental conditions. In plant communities where mowing and fertilization occurred, this resilience of the soil microbial biomass was limited. We also noticed that soil parameters typical of long term soil formation (i.e. SOM, total C, C/N) were highly resistant to the tested climatic events and weakly related to the assembled plant functional composition. Finally, these results confirmed that soil N cycling and microbes in subalpine grasslands are affected on the short-term by local climatic events and land-use changes. Long-term observatory studies remain needed to confirm the observed patterns.

4.2 - INTRODUCTION

Subalpine grasslands are typically characterized by nutrient-poor soils, short vegetation seasons, and strong climatic constraints with snow covered or frozen grounds during harsh winters (Körner 2003; Seastedt *et al.* 2004). In the central French Alps, these grasslands are often supporting extensive agricultural practices during summer such as hay cutting and sheep grazing (Quétier, Thébaud & Lavorel 2007b; Girel *et al.* 2010), and they have been shown to harbor an important plant diversity and to deliver key ecosystem services (e.g. fodder production, water supply, C storage, soil stability and patrimonial value; Lavorel *et al.* 2011). Yet, in these marginal grasslands, climate change is expected to strongly impact their biodiversity, their functioning and eventually the services they support (Sala *et al.* 2000; Schirpke *et al.* 2013). Specifically, the IPCC predicts longer, more intense and frequent droughts, less snow falls, more freeze-thaw events, and more precipitations at high altitudes (Beniston 2005; IPCC 2013). Additionally, land-use changes such as intensification (N, P inputs) or abandonment are occurring (Tasser & Tappeiner 2002). Consequently, subalpine grasslands have to withstand strong on-going variation of their abiotic framework with potential feedbacks on plant composition and diversity, soil nutrient and organic matter content, microbial composition and activities with cascading effects on ecosystem services.

For instance, the cessation of mowing modifies subalpine plant-community functional composition towards more conservative nutrient use strategies, particularly tussock grasses, which are less palatable for grazing and alter ecosystem functioning including microbial activities such as soil organic matter decomposition, nitrogen (N) mineralization or denitrification (Robson *et al.* 2007, 2010; Niedrist *et al.* 2008). Summer droughts have been shown to increase leaf senescence and decreases plant vegetative growth of subalpine grasslands on the short-term (Benot *et al.* 2014, *Chapter 1*) and to impact N-related soil conditions (Cantarel *et al.* 2012). Similarly, a reduction of the subalpine snowpack impedes its insulating effect for the under-snow ecosystem, which undergoes more freeze-thaw events (Wipf & Rixen 2010; Bokhorst *et al.* 2012). This may cause early frost damages on seedlings but also longer growing seasons (Theurillat & Guisan 2001), while soil microbes and abiotic components are also affected (Merbold, Rogiers & Eugster 2012; Saccone *et al.* 2013; Jusselme *et al.* 2016). Finally, these harsher abiotic conditions can directly, or through their effect on the plant and microbial communities, modify soil characteristics such as soil pools and fluxes of nutrient cycling in these oligotrophic grasslands where plant available soil nitrogen, particularly NH_4 and NO_3 , strongly limit net primary productivity and fodder production. Yet, the magnitude and the direction of these belowground ecosystem variations remain challenging to

predict for the above mentioned climatic and land-use changes, both individually and in combination (Davidson & Janssens 2006; Borken & Matzner 2009).

In this study, our objective was to determine how local climatic and land-use pressures would induce a shift in soil characteristics, in particular N pools and fluxes, of four assembled subalpine plant communities differing in their functional composition in a common garden experiment in the French Alps (2100 m a.s.l.). Specifically, two hydric stresses (summer drought or earlier snowpack removal) and two land-uses (abandonment or fertilization + mowing) were applied on a 2 years period in isolation or in combination to disentangle their effect under various scenarios. At chosen times, we measured the responses of the inorganic and organic soil nitrogen pools including the microbial biomass, and of the inorganic and organic N fluxes including leaching and potential mineralization. Additional parameters were also monitored: soil and atmospheric climatic conditions, soil organic matter (SOM) contents and soil pH. *Finally, abundances and activities of nitrifiers and denitrifiers, as well as substrate-induced (SIR) respiration, were also measured simultaneously but data are not available yet and will be excluded from the following analyses.*

In a companion study based on the same experimental design (*chapter 1*), earlier snow removal was found to decrease the above-ground biomass of the assembled communities whereas it increased their leaf nitrogen content, suggesting an overall weak effect on N uptake and soil N availability. Yet, snowpack reduction is also expected to reduce water availability and increase freeze-thaw events at the beginning of the growing season. This should limit early spring plant N uptake, enhance microbial turn-over and concomitant N loss through leaching. As a result, we hypothesize that leached nitrogen concentrations will present strong temporal variations during the experiment with earlier spring leachates (T₂) showing the highest values. During this joint survey, summer drought increased plant senescence and leaf dry matter content of an intact standing biomass suggesting resistance as found by Benot *et al.* (2014) in nearby grasslands, even though the recovery of plant growth after the drought in our study was limited. We hypothesize that this lack of resilience to drought (T₂ and T₄) when precipitations returned was related either to losses of soil N through leaching or to strong microbial competition and N immobilization. When snow removal and drought were combined, above-ground biomass decreased similarly to snow removal alone, while senescence and leaf dry matter content were less impacted than after drought alone. This suggested that previous snow removal enhanced the resistance of the plant communities to water scarcity, and we suspected pre-hardening mechanisms. Consequently, we hypothesize that soil N contents and leaching in plant communities withstanding joined drought and snow removal (T₂, T₃, T₄) should show intermediate temporal variations compared to the individual hydric stresses. Finally, overall mowing and fertilization improved the resilience of the assembled communities to

all climatic conditions, while the initial community composition did not interact with these responses to local climate change. However, N cycling usually presents larger pools and fluxes in mown and fertilized plant communities dominated by exploitative species (Robson *et al.* 2007), whereas smaller N pools and fluxes characterized plant communities dominated by conservative species when mowing and fertilization ceased. Furthermore, the cessation of mowing and fertilization in these grasslands decreased plant diversity and increased the dominance of conservative species such as *Patzkea paniculata* (Quétier *et al.* 2007a). Therefore, we hypothesize that soil variables, including N contents and leaching, should be linked to the community composition with higher values in exploitative vs. conservative communities. Soil N contents and leachates N concentrations might be amplified in communities where mowing and fertilization occurred (T₃, T₄) compared to abandoned communities and we hypothesize that these practices should reduce the overall resistance of the plant communities due to N-rich leaves more susceptible to soil water shortages, but improve their resilience because of an overall higher fertility favorable to re-sprouting and growth.

To test our hypotheses, we examined the soil pH, soil contents of total carbon (TC), total nitrogen (TN), organic matter (SOM), moisture (SWC), ammonium (NH₄), nitrate (NO₃), total dissolved nitrogen (TDN), dissolved organic nitrogen (DON), and microbial biomass nitrogen (MBN) for the different treatments. Alongside, leachates NH₄, NO₃, TDN and DON concentrations and potential of nitrogen mineralization (PNM) were measured as proxies of key N fluxes. The temporal variations of these parameters between stressed and control assembled communities were used as markers of their resistance when measured immediately after the perturbation, or of their resilience when measured weeks or months after the perturbation.

In this research, we addressed the following questions: (1) How strongly do soil variables including N pools and fluxes in subalpine grasslands respond to climatic and land-use changes individually or combined, and are they good indicators of their resistance and resilience; (2) Is the magnitude of these responses modulated by the functional composition of the assembled communities? and (3) Do fertilization and mowing alleviate their resilience and decrease their resistance.

4.3 - MATERIAL AND METHODS

STUDY SITE

The experiment was located in a common garden at the Station Alpine Joseph Fourier near the Col du Lautaret (45°02'13''N, 6°24'01''E, 2100 m a.s.l.) in the central French Alps. The climate is subalpine with a pronounced continental influence. Mean annual precipitation is 956 mm, most of which falls as snow during winter, and there is a pronounced summer drought with only 18% of the annual rainfall occurring during summer. Mean monthly temperatures range between -7.4°C in February and 19°C in July. The growing season starts after snowmelt, between mid-April and early May, and finishes at the early autumn (October).

STUDY SPECIES AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS

We focused on grass species, which make up from 50% to 80% of the total cover of the subalpine grasslands at the study site (Gross, Suding & Lavorel 2007). The study site is characterized by a mosaic of grasslands distributed along a fertility gradient resulting from an abandonment of mowing in favor of light grazing since the end of Second World War. In fertilized mown meadows, conservative (i.e. low SLA, leaf nitrogen concentration and high leaf dry matter content) and exploitative species (with opposite traits) represent about half of the total biomass each. In unfertilized pastures, conservative species are dominant, with up to 80% of the total biomass (Quétier *et al.* 2007a). Subalpine grasslands are exclusively dominated by perennial vegetation where recruitment events are rare (Zeiter *et al.* 2006). For this reason, we choose to focus on the adult stage and used tillers collected from the field. All plants were collected in the neighboring subalpine grasslands, on the south-facing aspect of the Villar d'Arène municipality (45.04°N, 6.34°E), ranging from 1700 to 2100 m a.s.l (detailed description in Quétier *et al.* 2007a).

We selected three locally abundant perennial tussock grasses along a gradient of conservative-exploitative resources use based on their leaf dry matter content (LDMC), leaf nitrogen content (LNC) and vegetative height measured under optimal manipulation (no resource limitation, (Gross *et al.* 2007): the highly conservative *Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos, which has tough, fibrous leaves and high leaf C/N; the more exploitative *Dactylis glomerata* (L.), which has thinner and tender leaves, higher Specific Leaf Area and lower leaf C/N relative to the local grass species pool (Gross *et al.* 2007; Grassein *et al.* 2015); and *Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr. as a functional intermediate between these.

EXPERIMENTAL DESIGN

In late July 2012, single tillers of the three species were separated from large tussocks and planted in individual pots filled with potting soil. One month later, they were planted in larger pots (Ø 45 cm, h 50 cm) filled with *in situ* sieved (5 mm) and homogenized soil from nearby grasslands (homogeneous calc-shale substrate, only keeping the -10 to -50 cm depth soil fraction), after a root wash to minimize potting soil contamination.

In each pot, 36 individual plants were established to obtain gradually contrasted community weighted mean traits (Garnier *et al.* 2004; Appendix I) according to the following design:

‘**Exploitative**’ treatment: **27** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **three** *P. paniculata* individuals

‘**Mid-Exploitative**’ treatment: **18** *D. glomerata*, **12** *B. erecta* and **six** *P. paniculata* individuals

‘**Mid-Conservative**’ treatment: **six** *D. glomerata*, **12** *B. erecta* and **18** *P. paniculata* individuals

‘**Conservative**’ treatment: **three** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **27** *P. paniculata* individuals

In each distinct plant community, the 36 individuals’ tillers were transplanted according to the same spatial scheme. In total, 128 pots were set, with 32 replicates of four distinct plant mixtures/communities. They were inserted into the ground so that their top was a few centimeters above the soil surface to avoid runoff. The bottom of each pot contained a drain which was drilled on the bottom side to limit root growth outside the pots. They were distributed within a split-plot experimental design with snow cover as main factor and watering as sub factor. (Fig. 4.1). Two snow cover treatments, snow removal (SR) and natural snowmelt were assigned to eight 6*3m plots. Each plot was divided into two 3*3 m sub-plots (with a 0.5 m buffer zone) which were assigned a watering treatment, either drought (D) or normalized watering. Each of these sub-plots contained eight pots with each of the four experimental plant community repeated twice and randomly set in a square way. Two management-related treatments were assigned to each half of the paired plant communities, namely mowing with fertilizing (MF) and unmanaged (NMF). After this 2012 experimental set-up we conducted three successive years of experimental manipulation (Fig. 4.2).

Treatments

The SR treatment consisted of snow removal by shoveling one month earlier than the end of the natural snowmelt, which was assessed using a combination of snowpack measurement throughout winter (Snow Water Equivalent and snow depth), with the detailed snowpack model SURFEX/ISBA-Crocus prediction (Morin *et al.* 2013), based on the French reanalysis SAFRAN in

mountain regions (Durand *et al.* 2009; Vionnet *et al.* 2012) and on field observations. The D treatment consisted of a 4 to 8 weeks period during the growing period without water addition (the late timing of the first D treatment reflects delays during the experimental set up). For all plots, precipitations were intercepted by transparent shelters (corrugated polyester reinforced with glass fibers, 1.5 m above ground surface) installed after snow melt and removed in late September. Under the shelters, plant communities were watered manually each week to complement water losses due to evapotranspiration, which were assessed by ETP0 formula of Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998), and implemented with meteorological variables recorded under shelter by a Hobo weather station (Onset Computer Corporation, MA, USA). When this station was not in place on the experimental area (mainly during winter seasons), meteorological parameters were monitored using the ROMMA weather station (Réseau d'Observation Météo du Massif Alpin) of Col du Lautaret, located at 120m from our experimental area. The MF plant communities were fertilized after snow melt with 17.55 g (to reach the equivalent of 150 kgN.ha⁻¹) of slow release fertilizer (13-13-13 +2 MgO + oligoelements, Nutricote, Fertiligène, France) and mown once a year following farmers practices at peak vegetation. Mowing consisted in cutting the sward to 10 cm above soil surface and exporting the cut biomass. The NMF paired communities were left unmanaged (Not Mown and Fertilized).

In 2013, 64 pots (half of the whole design) were equipped by Hobo Ech2o 10C soil moisture probes (Onset Computer Corporation, MA, USA) from late July until they crush during winter. In 2014, in two distinct plant communities per subplot, soil moisture was recorded with CS616 Campbell sensors (Campbell Scientific, UT, USA) inserted in the soil down to 30 cm depth. Given that soil moisture were recorded either with Campbell or hobo sensors during the experiment, linear regressions between both sensors data were established ($R^2 = 0.94$ for soil moisture).

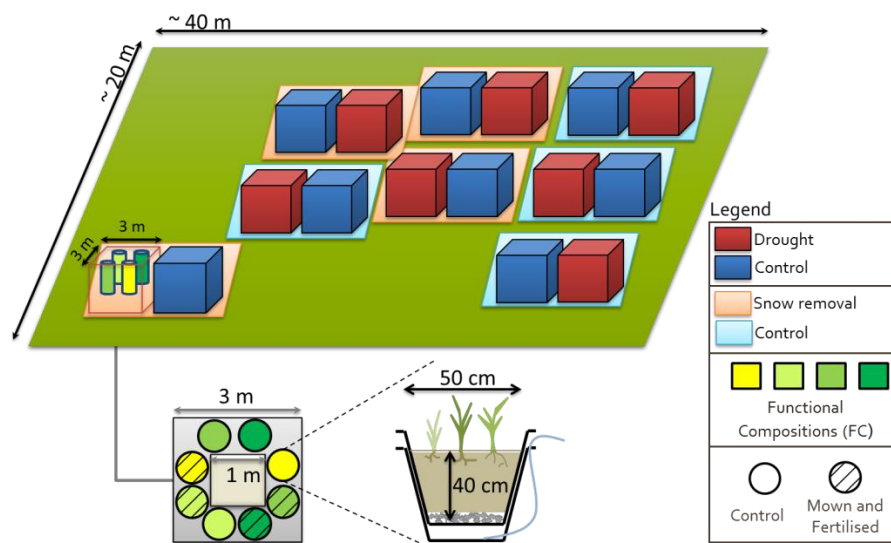


Figure 4.1. Field experimental design.

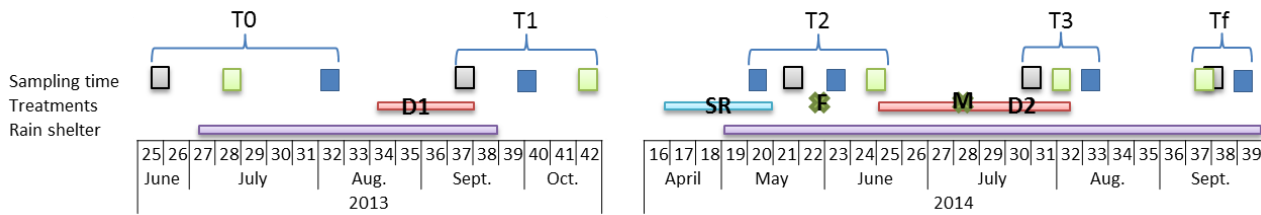


Figure 4.2. Calendar of experimental treatments and data collection. Purple line: sheltered period; D: Drought; SR: Snow removal; F: Fertilization; M: Mowing; Black square: Soil sampling; Blue square: Leachates sampling; Green square: Vegetation survey; T₀ n=32; T₁ n=16; T₂ n=8; T₃ & T₄ n=4.

Soil chemical analyses

At all sampling events, in each pot, a set of soil variables was measured on four soil cores (2 cm diameter*10 cm depth) pooled in a composite sample. After sampling, each hole was filled with the initial soil and tagged to avoid sampling afterwards. Composite soil samples were stored at 4 °C and processed within 24 h for the determination of microbial biomass, potential enzymatic activities, and soil chemical analyses.

Subsamples of 5 g fresh soil were dried at 70°C for 1 week to determine soil water content (SWC, in g.g⁻¹ dw calculated as the 70°C dry soil weight relative to the fresh mass), followed by 4 h at 550° C to determine soil organic matter content (SOM, calculated as the 550°C soil weight relative to the 70°C dry mass). Soil subsamples were air dried and ground to powder and 10 mg were analyzed for soil total carbon and nitrogen concentrations using a C/N elemental analyzer (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA). Soil pH was measured in a 1:4 (air dry soil/distilled water) solution. Another 10 mg subsample of fresh soil was shaken in 50mL of K₂SO₄ (0.5 M) during 1h at 250 rpm and filtered (Whatman GR42, Ø2.5µm) to extract and determine soil N-NH₄⁺ and N-NO₃⁻, total dissolved nitrogen (N-TDN), and dissolved organic nitrogen (N-DON) using an FS-IV colorimetric chain (OI-Analytical Corp., TX, USA) (Jones & Willett 2006).

Potential nitrogen mineralization rate (PNM) was determined using anaerobic incubation (Waring & Bremner 1964; Wienhold 2007). A first 10 mg fresh soil subsample was extracted with K₂SO₄ (0.5 M) for “initial” NH₄⁺ availability, a second one was used to determine “final” NH₄⁺ concentrations following 7 days incubation (dark, 40 °C) and identical extraction. The difference between NH₄⁺ contents analyzed by FS-IV colorimetric chain gave PNM:

$$\text{PNM } (\mu\text{g N. g}^{-1} \text{ dw. d}^{-1}) = [((\text{N- NH}_4^+)_{t1} - (\text{N- NH}_4^+)_{t2}) / 7 \text{ days}] / \text{soil dw (g)}$$

Soil microbial biomass nitrogen (MBN in $\mu\text{gN.g}^{-1}\text{ dw}$) was calculated from the difference of total dissolved N concentrations between 10 mg fresh soil subsamples extracted (K_2SO_4 , 0.5 M) before and after chloroform fumigation (7 days in the dark) (Brookes *et al.* 1985a; b; Voroney, Brookes & Beyaert 2006).

Leachates chemical analyses

Following each sampling event, each pot received 8 L of spring water to produce leachates within +18-24h period. Leachates were sampled using a peristaltic pump, immediately filtered (Whatman GF/C, $\text{Ø}1.2\mu\text{m}$), and acidified with 0.2 ml of hydrochloric acid. Concentrations of N-NH_4^+ and N-NO_3^- , total dissolved nitrogen (N-TDN) and dissolved organic nitrogen (N-DON) were measured using an FS-IV colorimetric chain (OI-Analytical Corp., TX, USA). The exact volume of leachate was not recorded because each pot was equipped with an overflow reservoir to avoid any soil saturation, which could occur under the snowpack during snowmelt. As a result, only concentrations could be compared, but it should be noted that within the same treatment each mesocosm received the same normalized amount of water.

STATISTICAL ANALYSIS

Split-plot linear mixed-model analysis of variance (ANOVA) was used to test the effects of snow removal, drought, functional composition and land-uses on the different N pools and fluxes measured throughout the experiment. Models were fitted by the restricted maximum-likelihood (REML) method using the 'lme' function from the 'nlme' package (Pinheiro *et al.* 2015) in the free R software version 3.2.1 (R Core Team 2015), and the random error structure was specified as plot/subplot (Crawley 2005).

For nitrogen-related variables all treatments were taken into account or not depending on sampling time. At T_1 only drought and functional composition treatment were set as fixed effects while at T_2 snow removal was added in the model. At T_3 and T_4 , a first full model with snow removal, drought, functional composition and mowing-fertilizing treatment as fixed effects showed that the application of management treatment on half of the pots induced profound modifications of almost all N-related parameters ($p < 0.001$) suggesting plant communities were brought toward another functioning. Consequently, the results were split between managed and unmanaged communities with two separated mixed-model ANOVA including snow removal, drought and functional composition treatment as fixed effect. Where necessary, data was transformed to achieve normality

and homoscedasticity criteria. The significance threshold was fixed to 0.05. When a significant effect was observed, post hoc comparisons of means using Tukey contrasts, were conducted with the 'lsmeans' package (Lenth & Hervé 2015). From T_0 to T_3 , split-plot linear mixed-model analysis of variance was applied to SOM, DON, MBN, PNM, NH_4^+ , NO_3^- , TDN, leached [DON], leached [NH_4^+], leached [NO_3^-] and leached [TDN]. Additionally, ANOVAs were also performed on soil environmental variables at each sampling event: SWC, SOM, Soil pH, Soil C content, Soil N content and Soil C/N ratio.

4.4 - RESULTS

Drought, snow removal and functional composition effects on soil parameters

At T_0 , prior any climatic treatments, **soil moisture** (i.e. SWC) was related to functional composition (Table 4.1) with slightly higher mean values in the exploitative communities compared to others ($\sim 30 \text{ g.g}^{-1}$ vs. $\sim 28 \text{ g.g}^{-1}$ dw). The first experimental drought in late 2013 summer (T_1) decreased SWC by app. -43% and **soil pH**, while soil **total N** remained linked to plant functional composition (Table 4.1), and were 5.2% higher in conservative than exploitative communities (Fig. 4.3). At T_2 , snow removal reduced SWC by app. -9% and **soil C/N** ratio by app. -12% (Table 4.1).

Between T_2 and T_3 , fertilization and mowing occurred on half of the mesocosms (MF), while the others were left untouched (NMF). At T_3 , the end of the second drought, SWC was app. 52% lower **in NMF communities** where the second drought occurred compared to watered NMF communities (Table 4.1), and this difference persisted at T_4 (six weeks later) except for mid-conservative communities (Table 4.1, Fig. 4.4). Soil C/N ratio did not show much variations among NMF communities during the experiment (Table 4.1, Appendix II.)

In MF communities the second drought also strongly decreased SWC at T_3 (app. -47%, Table 4.1); with some treatments interaction, but post-hoc analysis revealed no clear pattern. At T_4 , limited SWC reduction due to previous snow removal was related to functional composition with no clear patterns. After the second drought (T_3), soil pH were significantly lower in communities which experienced both climatic treatments (i.e. SR+D; Fig. 4.5), and this reduction was still significant six weeks later (T_4 , Table 4.1). Soil C/N ratio were mainly linked to the functional composition alone at T_4 , or in interaction with snow removal at T_3 and T_4 (Table 4.1). This was paralleled by both soil total C and N contents which were also related to the plant functional gradient: conservative communities showed slightly larger C and N values than mid-exploitative communities (data not shown).

Table 4.1. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on SWC, SOM, Soil pH, Soil C content, Soil N content and Soil C/N ratio at T₀, T₁ and T₂ (i.e. prior fertilization and mowing); as well as at T₃ and T₄ in unmanaged /managed communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

		SWC			SOM		Soil pH		Soil C		Soil N		Soil C/N	
T0	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	
Functional Composition	32	9.8	<0.001	1.3	0.267	2.0	0.120	0.6	0.634	0.6	0.636	0.7	0.530	
T1														
Drought	64	229.4	<0.001	0.1	0.724	4.5	0.071	0.0	0.935	0.0	1.000	0.0	0.937	
Functional Composition	32	0.6	0.648	0.9	0.452	0.2	0.890	2.1	0.101	2.7	0.047	3.5	0.019	
D : FC	16	1.0	0.377	0.5	0.652	0.7	0.559	1.3	0.266	1.5	0.208	0.3	0.856	
T2														
SnowRemoval	64	7.6	0.033	1.8	0.223	0.0	0.875	0.0	0.986	1.3	0.295	5.5	0.058	
Drought	64	0.1	0.813	0.1	0.828	0.9	0.391	0.2	0.647	1.4	0.287	2.5	0.168	
Functional Composition	32	1.6	0.195	2.1	0.103	1.0	0.374	1.7	0.167	2.3	0.084	1.1	0.344	
SR : D	32	0.0	0.998	0.7	0.447	0.4	0.539	0.2	0.646	0.8	0.411	0.2	0.703	
SR : FC	16	1.3	0.277	0.5	0.704	0.8	0.483	1.2	0.318	0.3	0.803	1.7	0.175	
D : FC	16	0.2	0.919	0.7	0.557	0.5	0.704	0.2	0.898	1.2	0.312	0.6	0.589	
SR : D : FC	8	2.4	0.077	1.3	0.292	0.6	0.590	0.2	0.889	0.7	0.547	0.5	0.675	
Un-managed		SWC			SOM		Soil pH		Soil C		Soil N		Soil C/N	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	
SnowRemoval	32	0.0	0.959	0.1	0.799	0.0	0.896	0.3	0.585	0.3	0.626	0.2	0.699	
Drought	32	36.6	0.001	0.0	0.918	1.6	0.250	1.0	0.350	0.9	0.368	0.2	0.711	
Functional Composition	16	0.5	0.674	0.5	0.703	0.2	0.886	0.4	0.765	0.5	0.670	0.3	0.800	
SR : D	16	0.1	0.810	0.0	0.838	0.5	0.518	0.7	0.421	0.4	0.535	0.8	0.408	
SR : FC	8	0.5	0.693	0.5	0.655	0.1	0.973	2.0	0.136	2.1	0.113	0.2	0.890	
D : FC	8	1.8	0.171	1.7	0.188	0.4	0.786	1.4	0.267	0.9	0.475	2.2	0.102	
SR : D : FC	4	1.6	0.215	0.3	0.841	1.2	0.320	0.4	0.727	0.2	0.862	0.2	0.864	
T4														
SnowRemoval	32	1.3	0.290	0.6	0.459	0.2	0.709	0.9	0.387	0.1	0.759	1.4	0.279	
Drought	32	9.2	0.023	0.5	0.492	0.9	0.377	0.5	0.507	0.3	0.633	1.5	0.262	
Functional Composition	16	0.1	0.982	0.5	0.674	1.5	0.238	1.3	0.303	0.7	0.584	3.6	0.022	
SR : D	16	0.1	0.748	0.1	0.773	0.2	0.650	0.0	0.848	0.1	0.716	0.3	0.588	
SR : FC	8	0.3	0.825	0.4	0.737	0.2	0.866	1.1	0.365	1.1	0.352	0.1	0.942	
D : FC	8	3.2	0.036	0.5	0.691	0.4	0.726	0.9	0.463	1.4	0.252	1.2	0.331	
SR : D : FC	4	2.1	0.113	0.2	0.885	0.9	0.437	0.7	0.586	0.7	0.576	0.3	0.836	
Managed		SWC			SOM		Soil pH		Soil C		Soil N		Soil C/N	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	
SnowRemoval	32	0.2	0.678	0.1	0.764	0.9	0.377	0.0	0.864	0.0	0.967	0.1	0.830	
Drought	32	29.2	0.002	0.0	0.930	19.8	0.004	0.4	0.552	0.0	0.835	1.6	0.248	
Functional Composition	16	1.2	0.336	0.8	0.515	0.5	0.662	1.0	0.392	1.1	0.359	1.3	0.299	
SR : D	16	0.0	0.928	0.4	0.570	14.3	0.009	0.1	0.823	0.0	0.872	1.8	0.231	
SR : FC	8	1.0	0.389	1.2	0.324	1.4	0.253	0.1	0.975	0.1	0.946	3.3	0.030	
D : FC	8	1.6	0.205	0.9	0.474	2.4	0.084	1.1	0.346	1.3	0.275	1.7	0.176	
SR : D : FC	4	3.7	0.020	2.7	0.058	1.3	0.275	0.4	0.785	0.1	0.965	1.3	0.296	
T4														
SnowRemoval	32	0.8	0.396	1.4	0.279	0.9	0.377	1.2	0.306	0.9	0.378	2.0	0.204	
Drought	32	0.4	0.536	0.3	0.585	6.9	0.039	0.6	0.480	0.0	0.913	1.1	0.330	
Functional Composition	16	4.9	0.006	1.9	0.155	1.3	0.306	4.1	0.014	3.7	0.021	5.6	0.003	
SR : D	16	0.1	0.749	0.2	0.683	0.0	0.931	0.2	0.660	0.1	0.829	0.0	0.841	
SR : FC	8	3.2	0.035	1.0	0.424	1.5	0.225	1.2	0.328	0.7	0.565	3.0	0.044	
D : FC	8	0.6	0.636	0.1	0.938	0.3	0.798	0.2	0.879	0.7	0.577	1.2	0.324	
SR : D : FC	4	0.3	0.852	1.1	0.374	0.0	1.000	2.0	0.132	3.5	0.024	1.5	0.219	

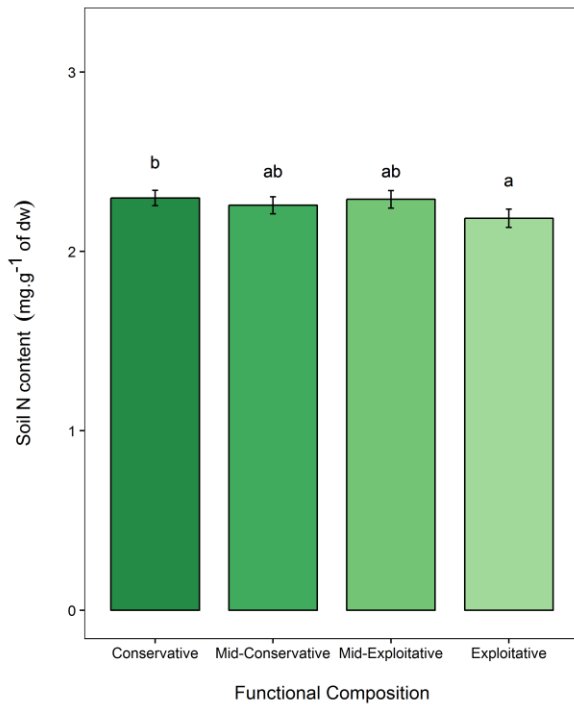


Figure 4.3. Total soil nitrogen contents at T₁. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=32) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

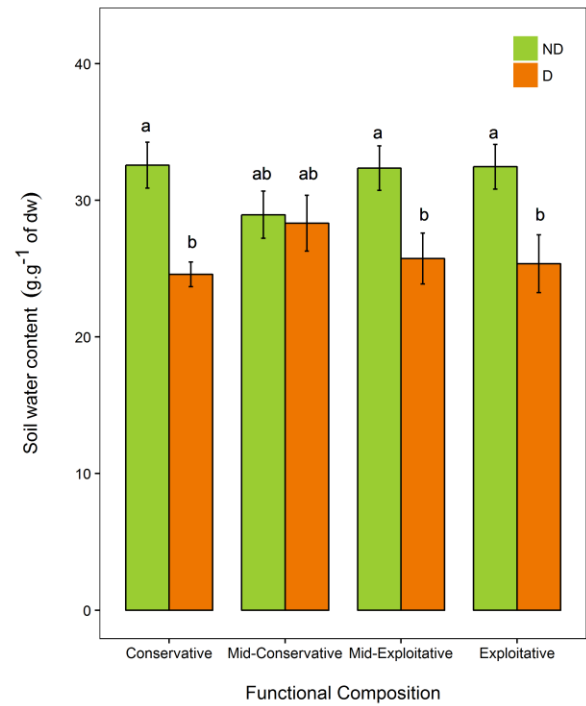


Figure 4.4. Effects of drought treatment on soil water contents at T₄ in unmanaged communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=8) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

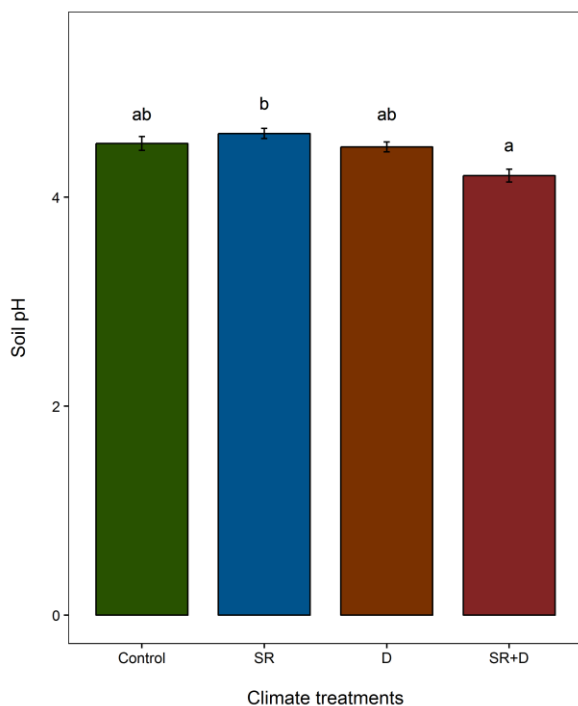


Figure 4.5. Soil pH at T₃ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=16) of the four climate treatments combinations. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

Functional composition & Climatic treatments short-term effects on N cycle

Prior any climatic treatments (T_0), soil extractable total dissolved nitrogen (i.e. N-TDN) including ammonium (i.e. N-NH_4^+), nitrate (i.e. N-NO_3^-) and dissolved organic nitrogen (i.e. N-DON) contents were all responsive to plant functional composition contrary to the two N-related microbial parameters: MBN and PNM (Table 4.2). Soil N-TDN and N-DON contents were not significantly different between conservative and exploitative communities, even though slightly higher values were found in conservative communities (Table 4.2, Fig. 4.6). Soil N-NH_4^+ and N-NO_3^- contents were found to be generally lower in conservative communities (Fig. 4.6).

At T_0 , concentrations of leached N forms were also often related to the plant functional gradient (Table 4.2). For instance, leached [N-TDN] and leached [N-NO_3^-] were globally lower in exploitative communities than in conservative ones (Table 4.2, Fig. 4.7), whereas no ammonium leaching was detected (Table 4.2). Simultaneously, leached [N-DON] were two fold lower in mid-conservative communities than in others ones (Fig. 4.7).

Table 4.2. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on soil N-TDN, N-DON, N-NO_3^- , N-NH_4^+ , MBN and PNM; as well as on Leached N-TDN, Leached N-DON, Leached N-NO_3^- and Leached N-NH_4^+ at T_0 , T_1 , and T_2 . Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

		TDN		DON		NO_3^-		NH_4^+		MBN		PNM	
T0	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Functional Composition	32	4.0	0.009	4.4	0.006	8.1	<0.001	7.4	<0.001	0.9	0.438	1.9	0.137
T1													
Drought	64	16.7	0.005	23.4	0.002	10.1	0.015	0.2	0.688	34.8	0.001	2.5	0.157
Functional Composition	32	1.9	0.127	0.5	0.677	3.0	0.035	3.2	0.028	0.5	0.700	2.7	0.047
D : FC	16	0.7	0.537	0.5	0.682	1.0	0.376	1.9	0.137	2.2	0.092	1.6	0.205
T2													
SnowRemoval	64	14.5	0.009	13.6	0.010	13.2	0.011	0.0	0.989	5.7	0.055	6.7	0.041
Drought	64	6.0	0.049	2.5	0.162	2.1	0.197	3.7	0.102	3.6	0.107	0.2	0.677
Functional Composition	32	0.4	0.732	0.3	0.806	1.0	0.377	0.5	0.701	1.0	0.385	0.4	0.781
SR : D	32	3.5	0.110	2.3	0.179	0.0	0.888	0.2	0.662	0.0	0.851	1.3	0.300
SR : FC	16	0.9	0.426	0.7	0.576	0.3	0.838	0.7	0.531	1.2	0.319	1.0	0.407
D : FC	16	0.5	0.717	0.3	0.800	0.8	0.505	2.5	0.062	1.2	0.319	2.0	0.119
SR : D : FC	8	0.9	0.421	0.8	0.471	0.6	0.621	0.7	0.547	0.3	0.859	0.6	0.616
		Leach TDN		Leach DON		Leach NO_3^-		Leach NH_4^+		–		–	
T0	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>				
Functional Composition	32	42.2	<0.001	25.7	<0.001	59.7	<0.001	NA	NA	-	-	-	-
T1													
Drought	64	8.0	0.025	4.9	0.063	4.9	0.062	6.1	0.043	-	-	-	-
Functional Composition	32	0.3	0.822	0.6	0.596	1.8	0.157	4.4	0.006	-	-	-	-
D : FC	16	0.7	0.548	0.4	0.781	0.1	0.948	5.6	0.001	-	-	-	-
T2													
SnowRemoval	64	2.4	0.173	4.7	0.073	0.3	0.593	NA	NA	-	-	-	-
Drought	64	1.9	0.220	3.1	0.128	0.4	0.573	NA	NA	-	-	-	-
Functional Composition	32	5.0	0.003	1.5	0.223	4.9	0.003	NA	NA	-	-	-	-
SR : D	32	0.0	0.834	0.5	0.521	3.9	0.095	NA	NA	-	-	-	-
SR : FC	16	6.6	<0.001	9.4	<0.001	1.3	0.289	NA	NA	-	-	-	-
D : FC	16	1.2	0.308	4.1	0.009	5.0	0.003	NA	NA	-	-	-	-
SR : D : FC	8	3.6	0.016	1.0	0.395	3.7	0.014	NA	NA	-	-	-	-

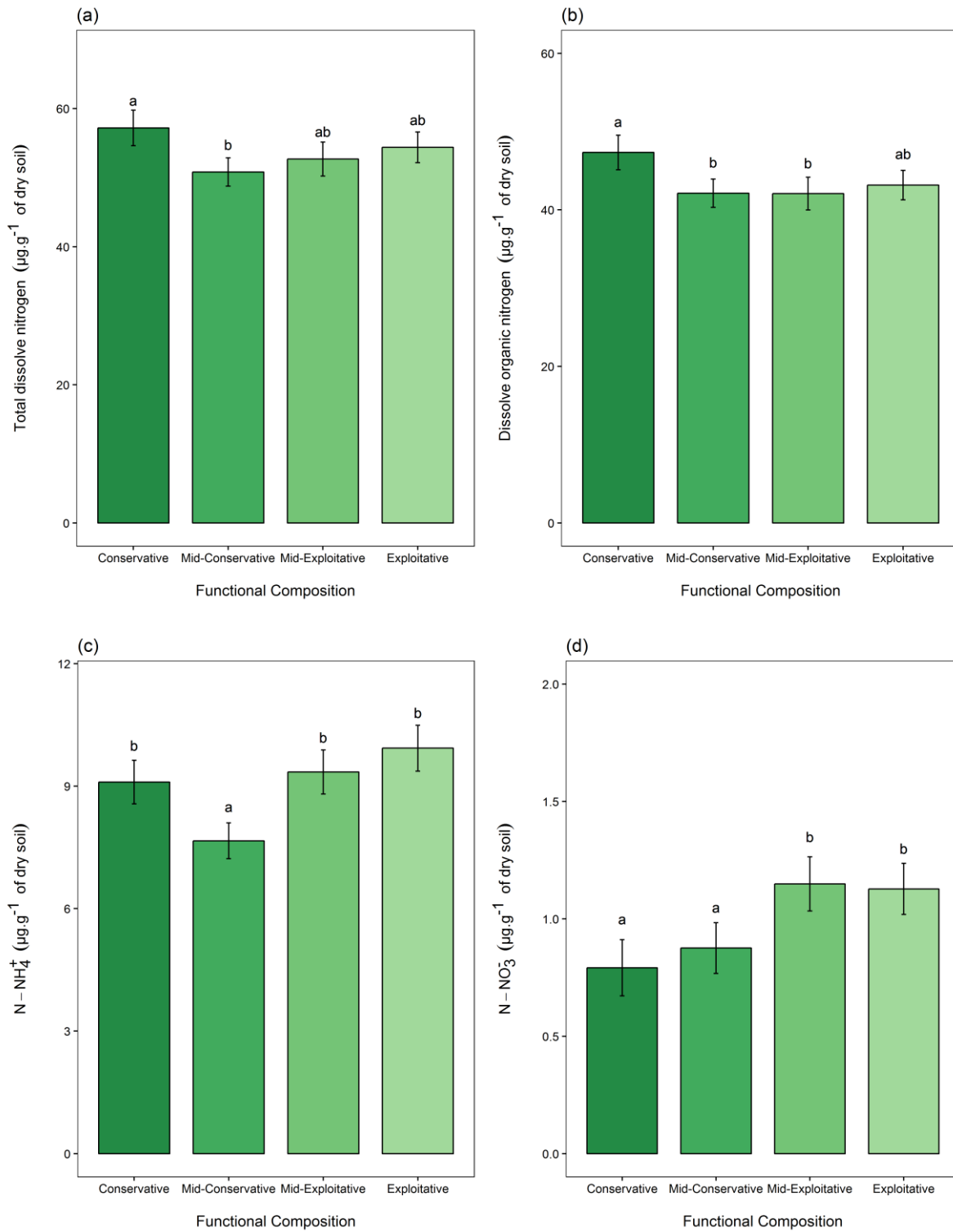


Figure 4.6. (a) Soil total dissolved nitrogen (N-TDN), (b) dissolved organic nitrogen (N-DON), (c) ammonium (N-NH₄⁺), (d) nitrate (N-NO₃⁻) contents at T₀. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=32) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

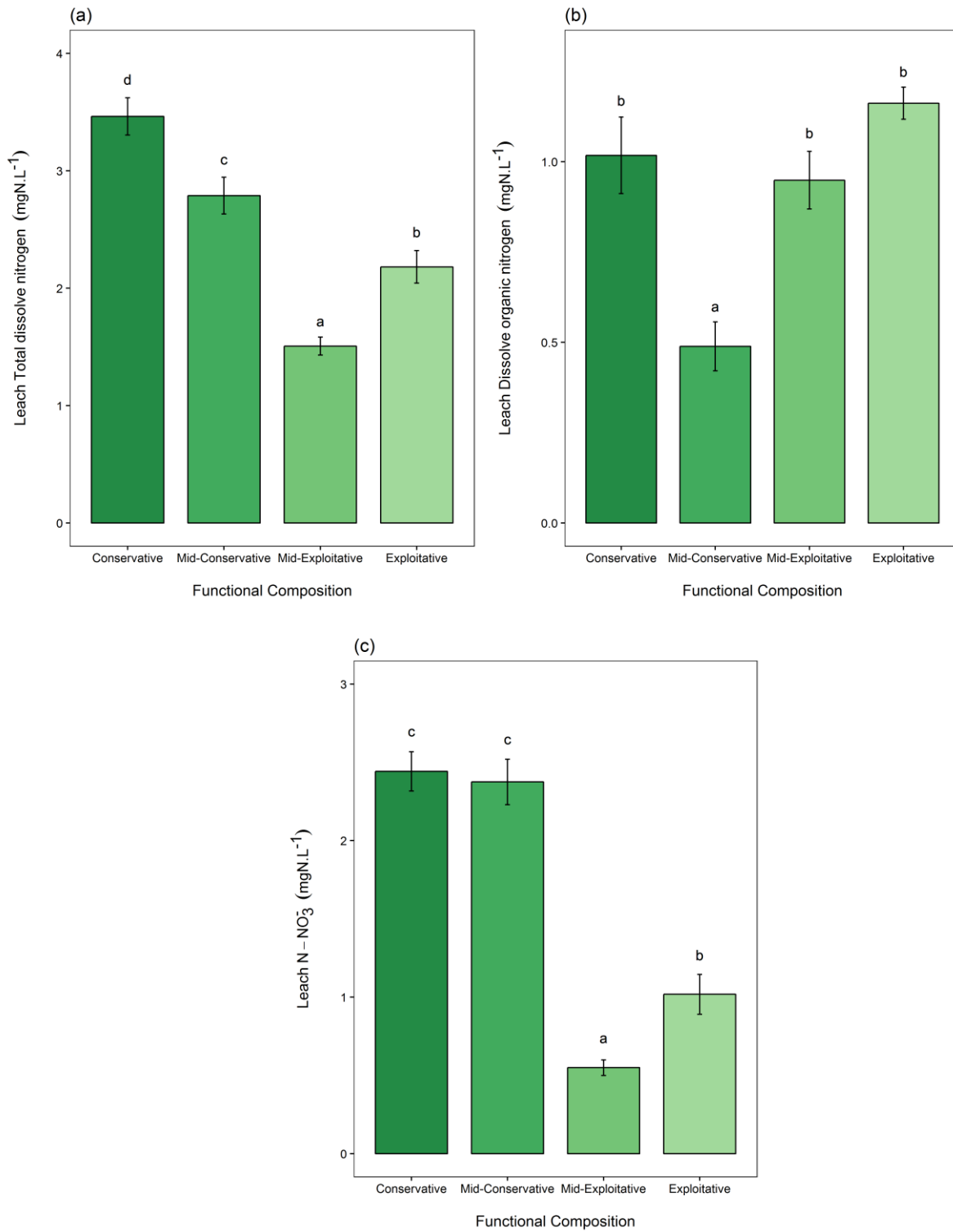


Figure 4.7. (a) Leached total dissolved nitrogen (N-TDN), **(b)** dissolved organic nitrogen (N-DON), **(c)** nitrate (N-NO₃⁻) concentrations at T₀. Values are expressed as means ± SE (n=32) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

T1

At T₁, immediately after the first drought, significant effects on soil N pools were observed (Table 4.2), with +14% soil N-TDN and N-DON, and +96% N-NO₃⁻, but significantly lower MBN (app. - 28.2%). Additionally, lower soil N-NO₃⁻ contents were found in exploitative communities (Fig. 4.8b). Soil PNM rates and ammonium contents were only related by the functional composition (Table 4.2), with higher or similar values in (mid)-conservative than in exploitative communities (Fig. 4.8a & 4.9).

Just as for soil extracts, leached [N-TDN] increased by app. + 22% in the communities which endured the first drought (Table 4.2) and similar trends were observed for leached [N-DON] and [N-NO₃⁻] (respectively app. + 15% and + 40%). Conversely, no relevant pattern could be found for leached N-NH₄⁺ concentrations despite significant relationships with the tested drivers (Table 4.2).

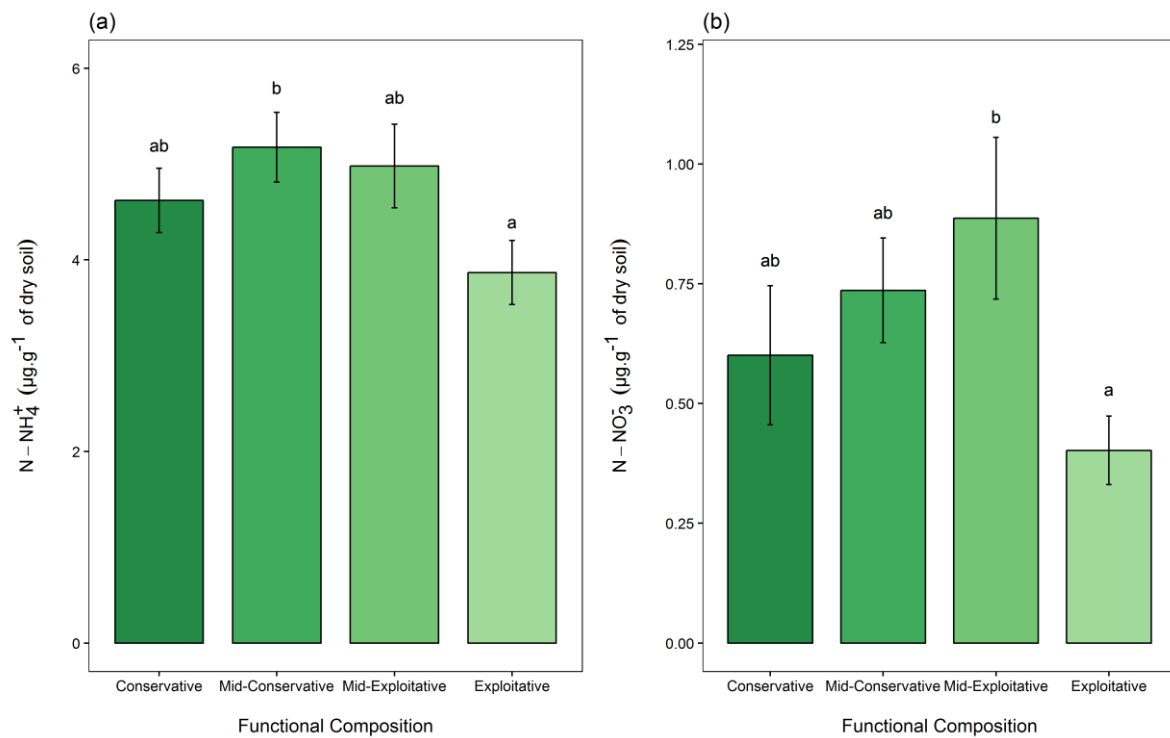


Figure 4.8. (a) Soil ammonium (N-NH₄⁺) and (b) nitrate (N-NO₃⁻) contents at T₁. Values are expressed as means ± SE (n=32) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

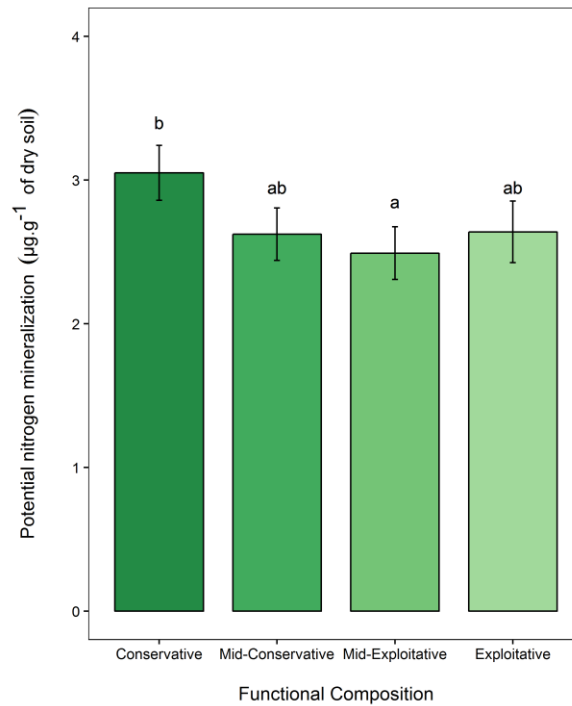


Figure 4.9. Potential nitrogen mineralization rates at T_1 . Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=32$) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p<0.05$).

T_2

At T_2 , the end of the natural snowmelt period (May 2014), snow removal had strong and significant negative effects on soil N pools and N-related microbial parameters (Table 4.2), including N-DON (-28.9%), MBN (-54.6%), PNM (-15.7%) and N-NO_3^- (-75.4%). Contrariwise, soil N-NH_4^+ contents were not responsive to snow removal (Table 4.2), and no NH_4^+ leaching was detected at T_2 . Interestingly, at T_2 , the previous drought still increased soil TDN contents, whereas they were significantly reduced by the recent snow removal alone or in interaction with drought (SR+D), suggesting snow removal had a dominant impact on soil TDN contents (Fig. 4.10; Table 4.2).

In opposition to soil extracts, leached [N-TDN], [N-DON] and [N- NO_3^-] were influenced by the functional composition in complex interaction with snow removal and/or drought, whereas no ammonium leaching was detected (Table 4.2). Overall, leached [N-TDN] and [N-DON] exhibited the same positive response in mid-exploitative communities with higher values for snow removal alone or in combination with drought (Fig. 4.11). Contrastingly, drought alone did not impact significantly leached [N-TDN], [N-DON] and [N- NO_3^-] (not shown).

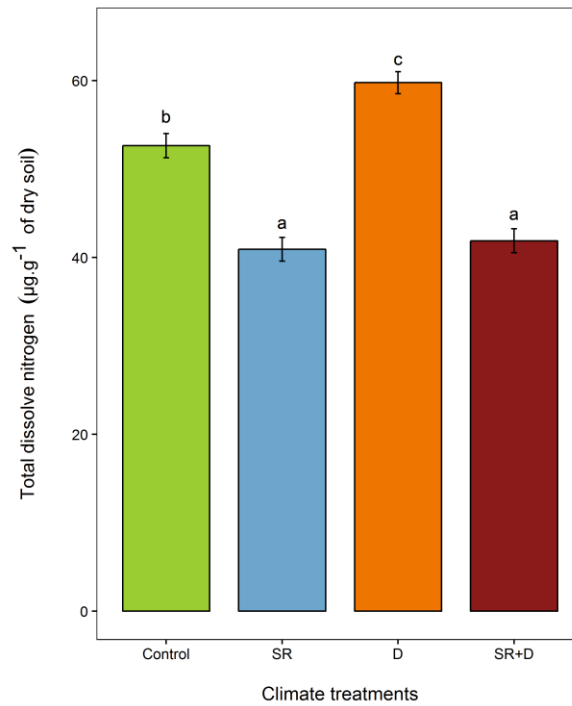


Figure 4.10. Soil total dissolved nitrogen (N-TDN) contents at T₂. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=16) of the four climate treatment combinations. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

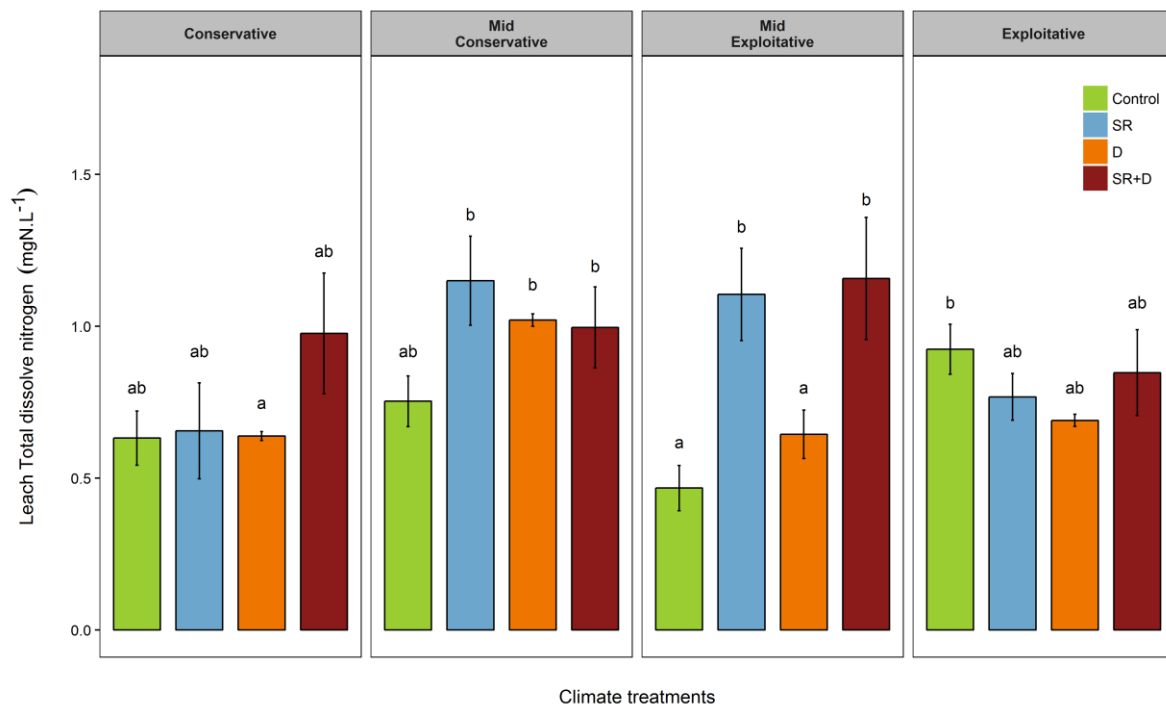


Figure 4.11. Effects of climate treatment combinations on leached total dissolved nitrogen (N-TDN) concentrations at T₂. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=8) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

Climatic treatments & Functional composition effects under no management (NMF)***T3***

At T₃, after the second drought, neither PNM rates nor soil TDN, ammonium or nitrate contents in NMF communities were related to the treatments (Table 4.3). Yet, soil N-DON contents were still significantly reduced where snow removal previously occurred (app. -24). Soil MBN showed significantly lower values compared to the control only in the exploitative plant communities that withstood the drought (Table 4.3).

At T₃, no leachates could be retrieved from the “drought” only (i.e. D) communities unlike communities under SR+D, traducing a strong effect of the climatic treatments interaction on the soil water reservoir. Leached [N-TDN] and [N-DON] were mediated by the functional composition and its interaction with climatic treatments (Table 4.3). *Post hoc* Tukey analyses revealed higher [N-TDN] only in the leachates of both conservative communities under SR+D compared to SR and normalized climatic conditions (Fig. 4.12). Leached [N-DON] presented similar pattern than leached [N-TDN] but in a lower extent (data not shown). Leached [N-NO₃⁻] mainly varied according to the climatic treatments interaction as they increased significantly in SR+D communities compared to SR and normalized climatic conditions (Table 4.3, Fig. 4.13). Additionally, leached [N-NO₃⁻] also varied according to the functional composition as they were significantly lower in exploitative communities compared to others (data not shown). Finally, ammonium was not detected in NMF leachates.

Table 4.3. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on N-TDN, N-DON, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, N-MBN and PNM; as well as on Leached N-TDN, Leached N-DON, Leached N-NO₃⁻ and Leached N-NH₄⁺ at T₃ and T₄ in unmanaged communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

<i>Un-managed</i>		TDN		DON		NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺		MBN		PNM	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	3.3	0.119	9.5	0.022	0.1	0.714	1.7	0.240	2.6	0.156	1.8	0.229
Drought	32	3.0	0.135	0.0	0.947	0.9	0.381	0.6	0.480	1.8	0.229	1.6	0.255
Functional Composition	16	0.6	0.603	1.2	0.337	1.1	0.353	1.8	0.166	0.8	0.507	0.4	0.785
SR : D	16	0.2	0.655	0.1	0.804	1.3	0.293	0.3	0.599	0.1	0.830	0.1	0.741
SR : FC	8	1.9	0.146	0.1	0.938	0.6	0.611	0.7	0.571	2.6	0.065	1.6	0.197
D : FC	8	2.7	0.061	0.4	0.766	0.3	0.837	0.6	0.648	3.6	0.024	1.6	0.216
SR : D : FC	4	0.4	0.764	0.2	0.878	1.8	0.167	0.5	0.654	2.2	0.101	0.9	0.463
T4													
SnowRemoval	32	2.8	0.148	2.6	0.155	0.2	0.675	2.0	0.210	5.1	0.064	0.5	0.498
Drought	32	0.8	0.405	1.4	0.276	0.9	0.369	6.7	0.041	10.2	0.019	0.1	0.736
Functional Composition	16	1.9	0.148	0.8	0.508	1.8	0.170	2.0	0.135	1.4	0.254	1.1	0.362
SR : D	16	0.6	0.458	0.0	0.918	1.0	0.354	0.1	0.798	0.3	0.630	0.2	0.699
SR : FC	8	0.4	0.723	1.5	0.232	0.9	0.458	0.7	0.566	2.3	0.099	0.5	0.679
D : FC	8	4.0	0.015	1.4	0.248	0.8	0.505	2.6	0.065	2.5	0.077	2.2	0.106
SR : D : FC	4	0.3	0.842	0.3	0.852	0.9	0.474	1.6	0.202	1.4	0.260	0.4	0.778
		Leach TDN		Leach DON		Leach NO ₃ ⁻		Leach NH ₄ ⁺		-		-	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>				
SnowRemoval	32	6.1	0.048	5.0	0.066	3.1	0.128	NA	NA	-	-	-	-
Drought	32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
Functional Composition	16	2.7	0.065	2.8	0.061	3.4	0.033	NA	NA	-	-	-	-
SR : D	16	16.2	0.058	3.2	0.238	44.3	0.022	NA	NA	-	-	-	-
SR : FC	8	3.4	0.031	3.3	0.033	1.4	0.248	NA	NA	-	-	-	-
D : FC	8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
SR : D : FC	4	4.2	0.004	3.5	0.011	1.0	0.437	NA	NA	-	-	-	-
T4													
SnowRemoval	32	0.2	0.690	0.0	0.889	7.8	0.031	NA	NA	-	-	-	-
Drought	32	12.7	0.012	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
Functional Composition	16	0.5	0.662	0.8	0.497	0.5	0.717	NA	NA	-	-	-	-
SR : D	16	1.4	0.285	0.3	0.778	6.5	0.133	NA	NA	-	-	-	-
SR : FC	8	2.0	0.125	1.2	0.322	0.1	0.981	NA	NA	-	-	-	-
D : FC	8	0.9	0.463	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
SR : D : FC	4	1.0	0.404	0.8	0.550	2.1	0.083	NA	NA	-	-	-	-

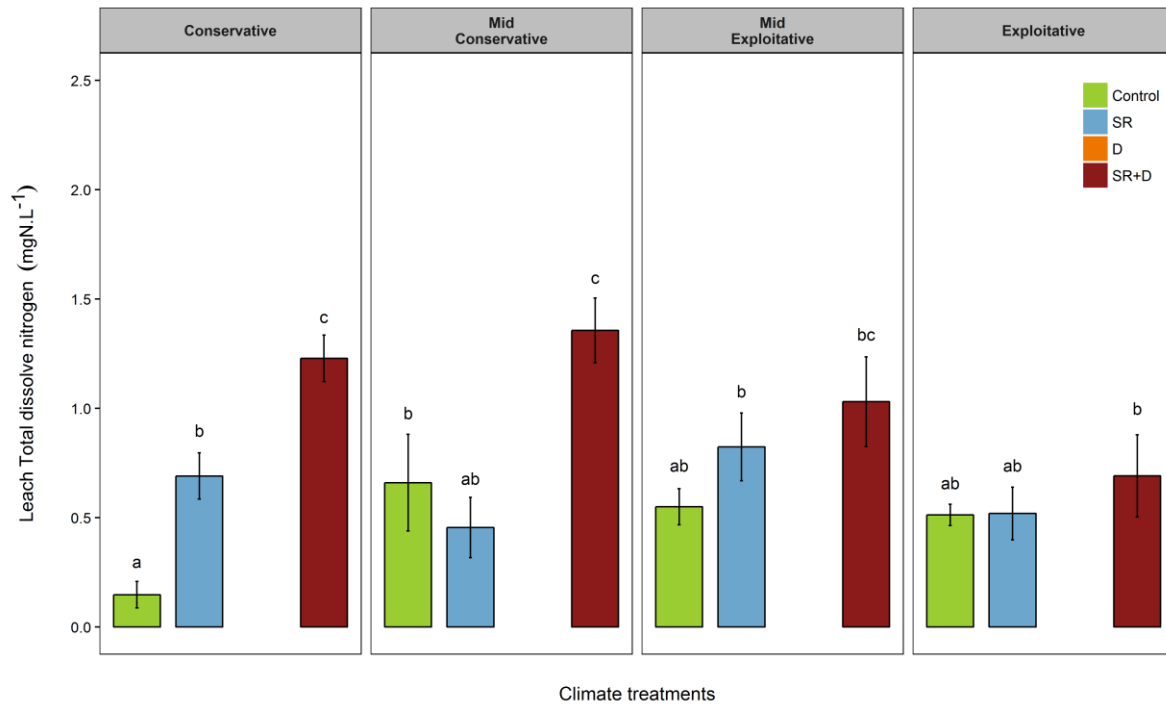


Figure 4.12. Effects of climate treatments combinations on leached total dissolved nitrogen (N-TDN) concentrations at T₃ in unmanaged communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

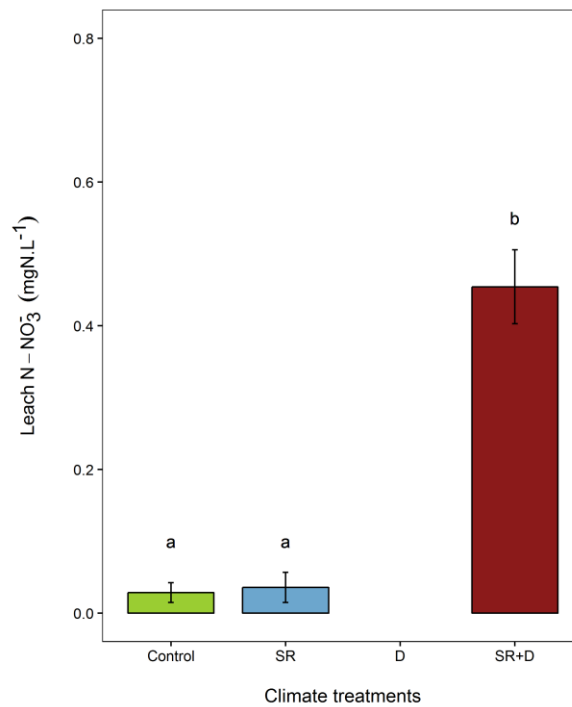


Figure 4.13. Leached nitrates (N-NO₃⁻) concentrations at T₃ in unmanaged communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=16) of the four climate treatments combinations. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

T4

Six weeks after the last drought (T_4), soil TDN contents were still related to the interaction of plant functional composition with drought (Table 4.3): mean values followed the plant functional gradient when drought was applied from low contents in exploitative communities to high contents in conservative ones (Fig. 4.14). Soil PNM rates and nitrate contents in the NMF communities did not show any treatments effect similarly to the previous sampling (T_3), while soil N-DON contents were no longer related to the previous snow removal (Table 4.3). Meanwhile, soil MBN was 18.7% and 24% lower after drought and snow removal respectively (Table 4.3). Additionally, soil PNM rates were three fold lower than at T_3 . Contrary to the previous sampling date, the drought reduced the soil NH_4^+ contents by 51%.

Only limited leachate volumes could be retrieved from “only drought” NMF communities; hence only leached TDN contents were analyzed at T_4 (Table 4.3) and showed a 37% increase with drought. Leached [N-DON] was not related to any treatments (Table 4.3). Leached [N- NH_4^+] remained below the detection limit at T_4 , while leached [N- NO_3^-] appeared to be responsive to SR treatment but with no relevant pattern (Table 4.3).

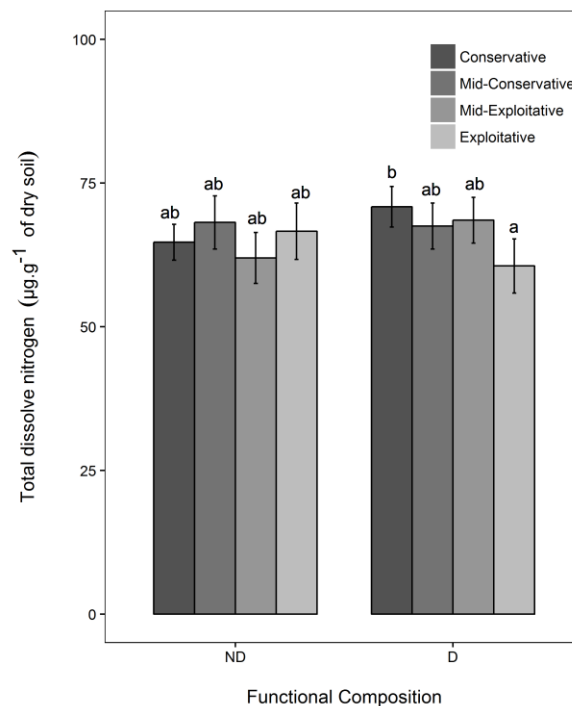


Figure 4.14. Effects of drought treatment on soil total dissolved nitrogen (N-TDN) contents at T_4 in unmanaged communities. Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=8$) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey’s test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p<0.05$).

Impact of fertilization and mowing (MF) on the responses to Climatic treatments & Functional composition

T3

At T₃, the end of the second drought period, and contrastingly to NMF communities, significant effects were observed on soil nitrogen contents in MF communities (Table 4.4). Soil TDN contents in the MF communities were four fold increased by the drought, and soil DON contents were related to whole treatments interaction (Table 4.4). In exploitative MF communities, “drought alone” and SR+D significantly increased soil DON contents, whereas this increase was significant in the MF conservative communities solely for SR+D (Fig. 4.15). Drought significantly increased soil NH₄⁺ and NO₃⁻ contents in exploitative communities but not in conservative communities (Fig.4.16). Concomitantly, a significantly lower soil MBN (-32.2%) was measured in soils where drought was applied (Table 4.4). Soil PNM rates of MF communities were linked to the interaction of snow removal and plant functional gradient but with no clear pattern (data not shown).

At T₃ and accordingly to NMF communities, no leachates could be retrieved from “only drought” communities (D) and only limited leachate volumes could be retrieved from “SR+D”; hence only leached TDN contents were analyzed (Table 4.4). Leached [N-TDN] were affected by snow removal and drought interaction (Table 4.4), and *Post hoc* Tukey analyses revealed that leached [N-TDN] were two fold increased by SR+D compared to SR and normalized climatic conditions (Fig. 4.17). Concomitantly, leached [N-DON] and [N-NO₃⁻] were not sensitive neither to functional composition nor to snow removal (Table 4.4), while no NH₄⁺ leaching was detected at T₃ similarly to NMF communities.

Table 4.4. Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal, Drought and Functional Composition on N-TDN, N-DON, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, N-MBN and PNM; as well as on Leached N-TDN, Leached N-DON, Leached N-NO₃⁻ and Leached N-NH₄⁺ at T₃ and T₄ in managed communities. Values in bold indicate significance at $P < 0.05$. n = sample size.

<i>Managed</i>		TDN		DON		NO ₃ ⁻		NH ₄ ⁺		MBN		PNM	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
SnowRemoval	32	0.9	0.376	1.0	0.365	0.1	0.757	0.1	0.814	0.6	0.478	0.1	0.817
Drought	32	29.3	0.002	79.2	<0.001	8.0	0.030	14.3	0.009	11.0	0.016	0.6	0.459
Functional Composition	16	2.0	0.127	13.7	<0.001	2.8	0.054	5.0	0.005	1.4	0.269	1.2	0.337
SR : D	16	2.4	0.171	43.5	0.001	3.5	0.109	3.8	0.100	2.2	0.192	0.0	0.957
SR : FC	8	0.9	0.456	3.3	0.030	0.2	0.895	1.2	0.319	2.1	0.115	4.2	0.011
D : FC	8	1.3	0.297	5.6	0.003	2.6	0.069	2.5	0.072	1.4	0.273	2.5	0.077
SR : D : FC	4	0.8	0.485	17.7	<0.001	1.9	0.142	1.1	0.365	2.8	0.053	1.5	0.229
T4													
SnowRemoval	32	2.1	0.199	3.4	0.116	0.0	0.990	0.2	0.683	3.7	0.103	2.8	0.147
Drought	32	14.8	0.009	0.1	0.787	20.9	0.004	31.2	0.001	1.7	0.244	7.6	0.033
Functional Composition	16	1.8	0.157	0.4	0.735	2.0	0.135	1.3	0.303	2.0	0.139	1.9	0.141
SR : D	16	0.7	0.436	0.2	0.686	2.1	0.198	1.4	0.279	0.0	0.995	1.1	0.328
SR : FC	8	0.7	0.535	0.7	0.559	1.1	0.367	0.8	0.510	4.3	0.011	3.8	0.019
D : FC	8	1.8	0.158	0.6	0.636	2.9	0.050	1.4	0.256	0.2	0.885	0.1	0.953
SR : D : FC	4	0.5	0.683	1.2	0.319	0.5	0.691	0.6	0.637	1.0	0.402	0.6	0.595
<i>Managed</i>		Leach TDN		Leach DON		Leach NO ₃ ⁻		Leach NH ₄ ⁺		–		–	
T3	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>				
SnowRemoval	32	3.9	0.094	1.1	0.339	2.6	0.160	NA	NA	-	-	-	-
Drought	32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
Functional Composition	16	2.1	0.124	1.3	0.299	2.4	0.101	NA	NA	-	-	-	-
SR : D	16	20.8	0.046	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
SR : FC	8	0.8	0.526	0.6	0.632	2.4	0.100	NA	NA	-	-	-	-
D : FC	8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
SR : D : FC	4	0.5	0.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-
T4													
SnowRemoval	32	0.2	0.680	0.0	0.979	13.7	0.010	NA	NA	-	-	-	-
Drought	32	79.8	<0.001	9.2	0.023	41.8	<0.001	NA	NA	-	-	-	-
Functional Composition	16	1.2	0.336	2.6	0.067	1.9	0.155	NA	NA	-	-	-	-
SR : D	16	6.0	0.049	1.1	0.342	0.3	0.624	NA	NA	-	-	-	-
SR : FC	8	0.6	0.597	2.9	0.047	0.4	0.776	NA	NA	-	-	-	-
D : FC	8	3.2	0.034	1.2	0.315	1.0	0.415	NA	NA	-	-	-	-
SR : D : FC	4	3.8	0.019	5.9	0.002	7.0	<0.001	NA	NA	-	-	-	-

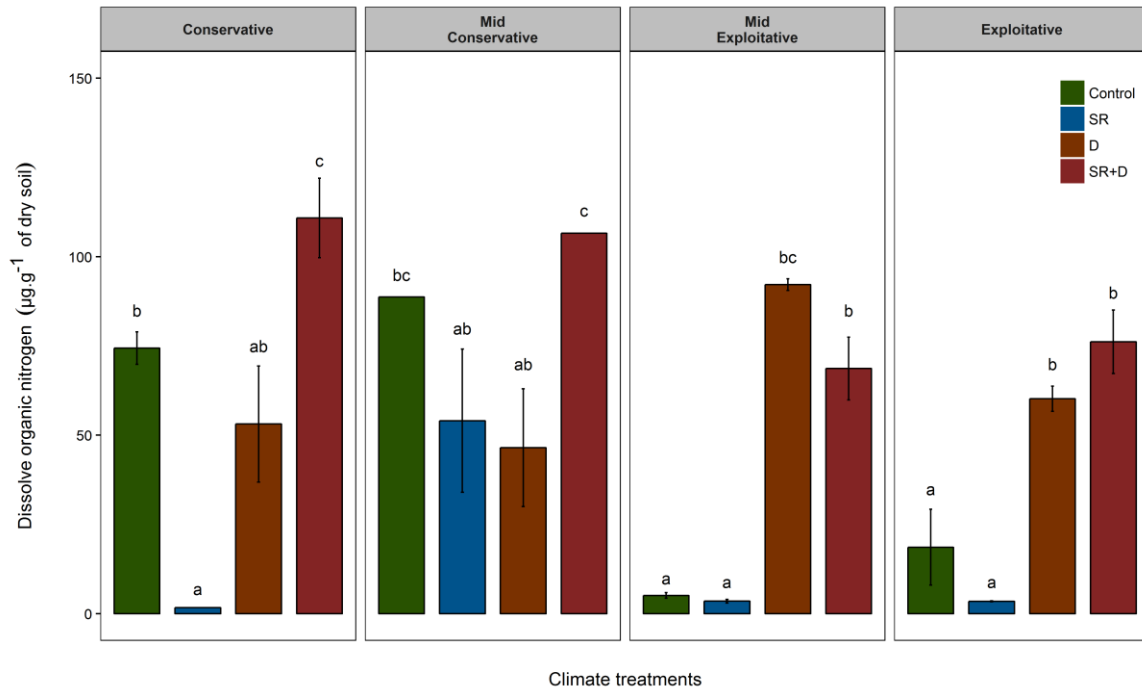


Figure 4.15. Effects of climate treatments combinations on soil dissolved organic nitrogen (N-DON) contents at T₃ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

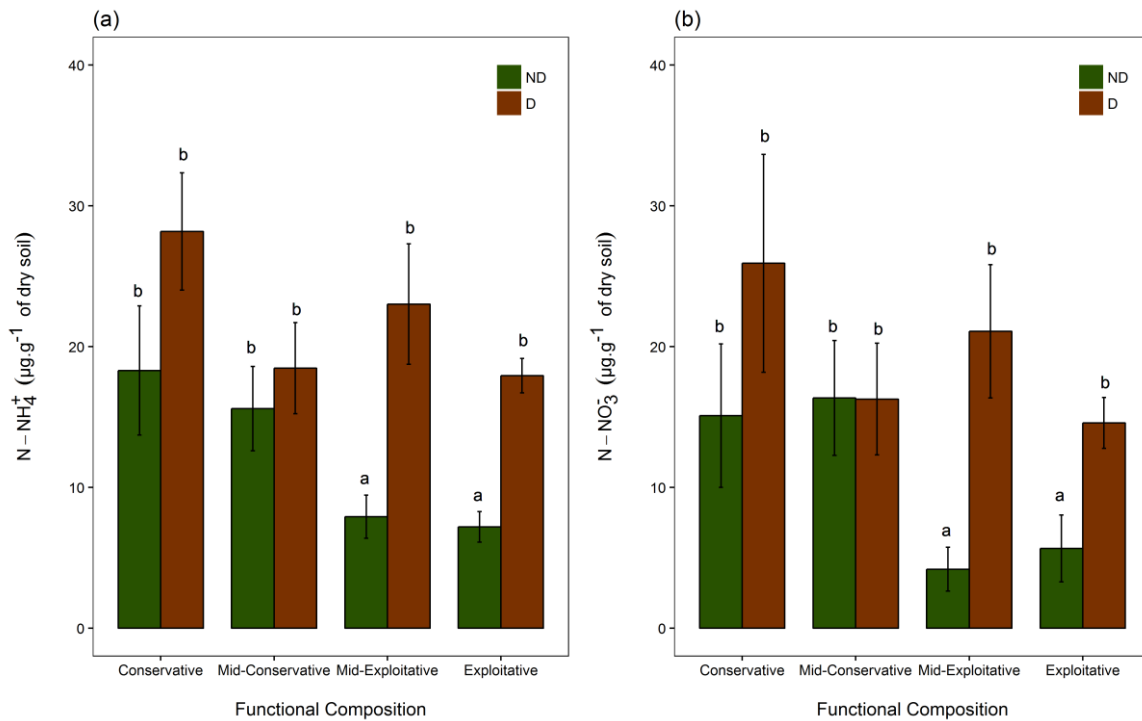


Figure 4.16. (a) Effects of drought treatment on soil ammonium (N-NH₄⁺) and **(b)** nitrate (N-NO₃⁻) contents at T₃ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=8) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

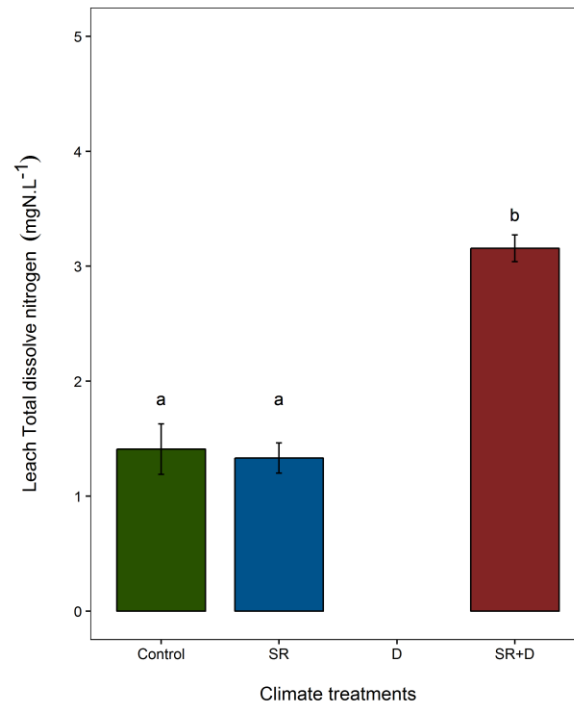


Figure 4.17. Leached total dissolved nitrogen (N-TDN) concentrations at T₃ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=16) of the four climate treatments combinations. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

T4

At T₄, six weeks after the last drought, soil TDN contents remained affected by drought (+25.1%, Table 4.4). In line with previous sampling date, soil NO₃⁻ and NH₄⁺ contents were respectively 2.5 and three fold higher after the drought (Table 4.4). Soil DON contents of the MF communities were no longer sensitive to any treatment compared to T₃ (Table 4.4); as observed for the NMF communities. Soil PNM rates were three fold lower than at T₃, but they were for the first time sensitive to drought with a 27% reduction in communities which have experienced drought events (Table 4.4). Soil MBN was not affected by drought anymore as opposed to T₃ but now responded to the interaction of snow removal with plant functional gradient (Table 4.4). *Post hoc* Tukey revealed that, at T₄, snow removal still overruled the increase of soil MBN contents in MF conservative communities under normalized climatic conditions (Fig. 4.18, Table 4.4).

At T₄, leached [N-TDN] and [N-DON] were mediated by the functional composition and its interaction with both climatic treatments (Table 4.4). For instance, snow removal or drought have no effect, while SR+D increased leached [N-TDN] concentrations in both mid-conservative and mid-exploitative communities compared to normalized climatic conditions (Fig. 4.19). Leached [N-DON] present similar pattern than leached [N-TDN] but in lower extent (data not shown). Like

previous sampling events, and similarly to NMF communities, no NH_4^+ leaching was detected whereas leached $[\text{N}-\text{NO}_3^-]$ were related to the whole treatments interaction (Table 4.4). Except in mid-conservative communities, drought alone (D) increased leached $[\text{N}-\text{NO}_3^-]$ while the addition of snow removal and drought (SR+D) overrode this promoting effect (Fig. 4.20).

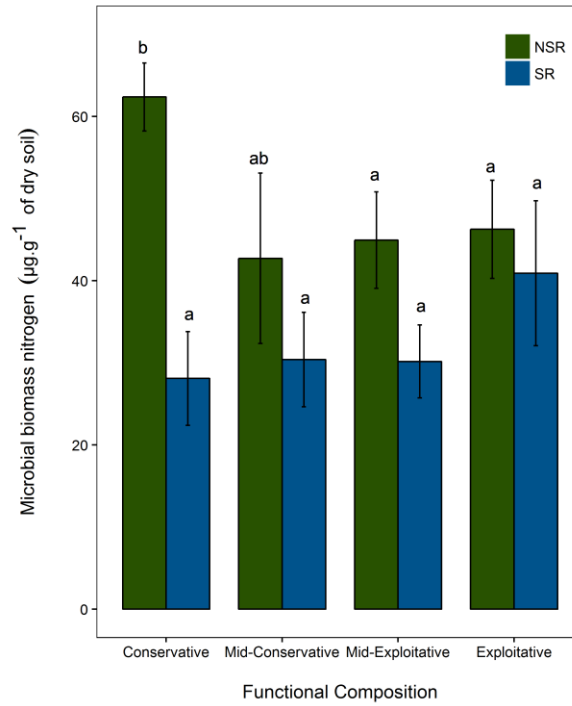


Figure 4.18. Soil microbial biomass nitrogen (N-MBN) at T_4 in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=8) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different ($p < 0.05$).

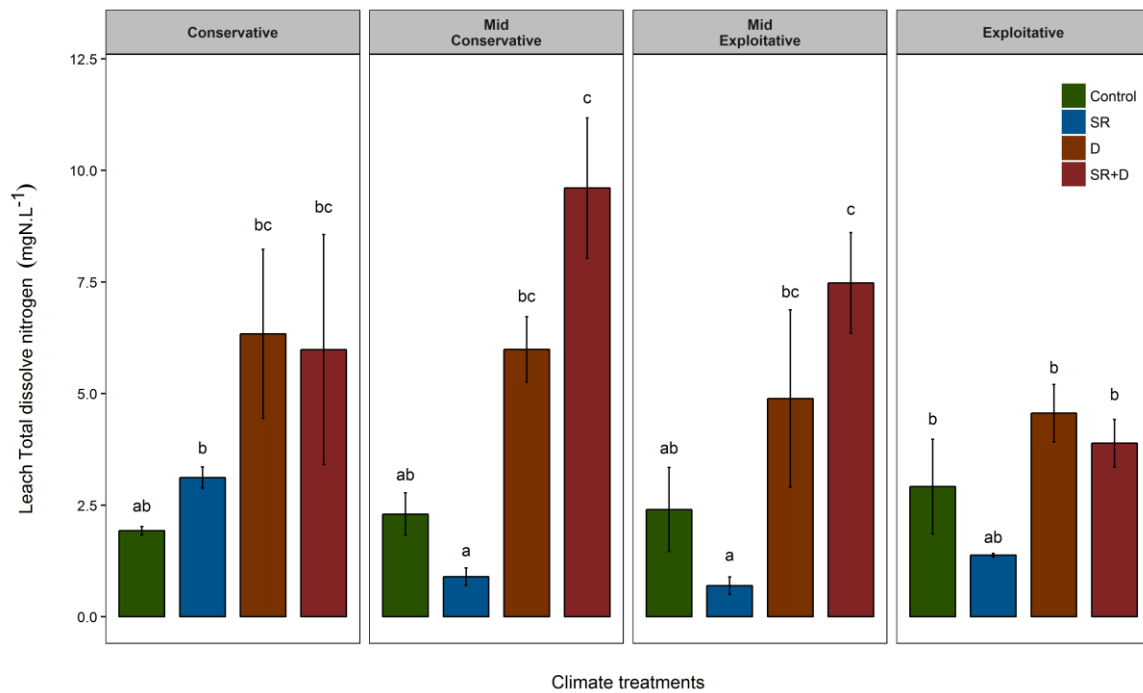


Figure 4.19. Effects of the four climate treatments combinations on leached total dissolved nitrogen (N-TDN) concentrations at T₄ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

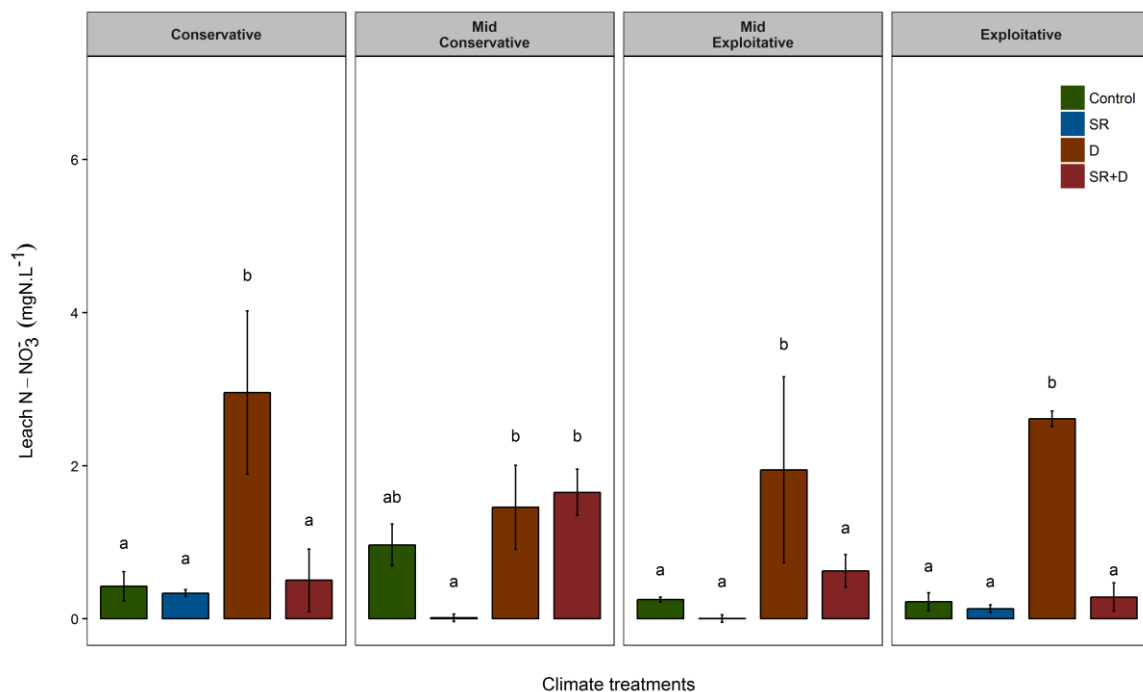


Figure 4.20. Effects of the four climate treatments combinations on leached nitrate (N-NO₃⁻) concentrations at T₄ in managed communities. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

4.5 - DISCUSSION

The common garden experiment at the Col du Lautaret (i.e. 2100 m a.s.l.) was set up to study how soil parameters and N-cycling components in assembled grasses communities grown in homogenized local soil were responding to earlier snow removal, summer drought, land-uses and their combination.

Some initial soil parameters were highly resistant or resilient

As expected from the experimental design, **soil moisture** was initially related to the manipulated gradient of functional plant composition and joined resource-use strategy. This confirmed that **plant functional composition controlled the water balance of subalpine grasslands** through evapotranspiration (Leitinger *et al.* 2015; Obojes *et al.* 2015). Yet, once drought or snow removal occurred, functional composition and SWC were not related anymore. As anticipated and similarly to other abiotic parameters (soil pH, i.e. *Chap. III*), soil water content was depleted by both hydric stresses. Consequently, **responses of the plant (biomass production, height, leaf C and N contents...etc; see Chapter III) and microbial (biomass, processes, abundances) communities to these abiotic constrains were foreseen as well as cascading and direct impacts on N cycling**, and will be discussed. Nevertheless, rapidly after the end of the 2.5 years experiment (T_4), SWC was again mainly related to plant functional composition in MF communities, **suggesting the strong resilience of this plant-soil relationship**.

Soil organic matter content (SOM) was never affected by any of the experimental conditions (i.e. snow removal, drought, functional composition, mowing and fertilization). For all mesocosms, we used the same subalpine homogenized and sieved soil with its own SOM (*see Chap. II*), which resulted from long-term pedogenesis. This explains the failure for the assembled communities and treatments to modify this soil parameter on the short term, as observed for arid grasslands (Bell *et al.* 2014). We were expecting a SOM reduction due to both faster decomposition after fertilization (*see Fig. 6.5, Chap. VI*) and lower litter input owing to mowing. The lack of response implies that either these SOM inputs variations were negligible compared to original SOM content, or that SOM was replenished through root exudation and turnover. This was supported by equally limited treatment effect on soil total C and N contents during the course of the experiment. However, **soil C:N was mainly related to the assembled communities** at T_0 and T_4 , suggesting a dominant control of this soil variable by plant functional composition, even though a transient response to snow removal was observed at T_2 and T_3 . Because soil total N was also related to functional

composition on occasions (T_1 and T_4), we suggest that soil N changes were driving this relationship. Alternatively, drought and snow removal were expected to raise, individually or in combination, SOM contents through a reduction of decomposers abundance and activity and through further plant mortality (Jaeger *et al.* 1999; Bardgett *et al.* 2002; Chaves *et al.* 2002). Yet, SOM contents remained unrelated to the experimental water stresses. Consequently, **subalpine grasslands SOM may be considered as a highly resistant soil variable at least on the short-term to climate change** for evolutionary reasons related to strong *in situ* climate variability (Körner 2003). **Overall, subalpine grassland soil parameters that are features of long term soil formation (i.e. SOM, total C, C:N) were weakly related to assembled plant functional composition and highly resistant to snow removal and drought.**

Initial grasslands plant functional composition was related to soil N forms and leaching.

Although extracted soil N contents were strongly linked to the assembled plant functional composition at T_0 , which partially validated our fourth hypothesis, the resource-use strategy gradient depended on the soil N form considered. Soil N-NO_3^- contents followed the expected pattern and were higher for the exploitative communities (as for total N), whereas soil N-NH_4^+ , TDN and DON contents showed more complex trends with similar contents in exploitative and conservative communities and lower values in the intermediate ones. These trends suggested that **inorganic and organic N forms were differently affected by the plant resource use strategy at the beginning of the experiment. This control by plant functional composition over N cycling was also partly illustrated by initial (T_0) leached N concentrations** with again some variations according to the N form. As such, first leachates from the exploitative communities presented the highest N-DON concentrations, whereas those from the conservative communities had the highest $[\text{N-NO}_3^-]$. These variations may be related to coexisting plant species that use different N sources as already showed (Ashton *et al.* 2010), though this is not systematic (Harrison, Bol & Bardgett 2007; Grassein *et al.* 2015). It is also possible that we measured these various responses because NH_4^+ may be adsorbed on clay minerals, soil NO_3^- is more prone to be leached, and DON encompasses labile and recalcitrant molecules whatever the plant functional composition. Finally, it is likely that the delay between the installation of the communities and T_0 was too brief to detect a resource-use strategy gradient for all N forms and processes. Even though comparison of soil N contents with leached N concentrations must be considered with care, it appears that the relationship between assembled plant functional composition and a given N form (e.g. Nitrate) differed whether this N was in the soil or leached. We propose that **soil extractable or leached N compounds were under different biotic and abiotic controls**, because they originate from different soil compartments with

soil extractable N being mainly located in the soil microporosity, whereas leached N originates from the macroporosity. Accordingly, these distinct locations could also drive and be related to patterns of plant-microorganisms competition and soil enzymatic activities.

Soil N pools in NMF communities over the course of the experiment

The **first drought** (T₁) strongly depleted soil microbial biomass of all assembled plant communities. This was associated to a release of immobilized N as illustrated by significantly higher soil TDN and NO₃ contents, along with higher leachates N concentrations when watering resumed at T₁. Because above-ground biomass decreased (*Chap. III*), it is also likely that root death occurred during the drought, releasing carbon and nitrogen rich compounds into the soil; this would explain why soil TDN was still significantly enhanced by the first drought several months later (T₂). Soil NO₃ and NH₄ contents were significantly lower in exploitative community even after the first drought (T₁) which was consistent with their resource use strategy and our fourth hypothesis. Their positive response to the **first drought** was not maintained at T₂ as if these inorganic N pools were fully resilient, and these patterns could be related to the lack of resilience of the above-ground biomass (second hypothesis). Further, they showed no variations after the **second drought** (T₃) and later on (T₄), which implied that the sources and sinks of NO₃ and NH₄ were not affected anymore. Similarly, we did not find much significant effect of the **second drought** on soil TDN and DON contents, as well as on leachates N concentrations, suggesting their resistance (T₃) and resilience (T₄).

Contrastingly, we found that microbial biomass increased after T₃ in most communities, whereas soil N contents generally decreased. It is possible that soil microbes responded to the first drought by immobilizing more soil N afterwards to increase their contents in osmolytes, antifreeze and ice nucleating proteins that act as protectants against cold and dry environmental conditions (Buckeridge & Grogan 2010). Interestingly, potential nitrogen mineralization (PNM) was never sensitive to drought over the course of the experiment. However, it should be noted that months after the last drought (T₄), leachates N-TDN and N-DON concentrations started to be linked to this previous water stress, suggesting that resistance of the dissolved N pools could be diminished after repeated water stresses (i.e., two droughts and the earlier snow removal).

The impact of earlier **snow removal** (T₂) was stronger than drought on N-related microbial parameters with soil microbial biomass (MBN) and potential nitrogen mineralization (NMP) being more negatively impacted. This indicates a more intense turn-over of soil microbial communities when snow cover was removed (Mikan, Schimel & Doyle 2002), which is in favor of our first

hypothesis that snow removal would induce the highest losses of N in assembled subalpine grasslands. Concomitant highest leached TDN concentrations for two tested communities also partially confirmed this hypothesis. In fact, snow removal translates into a reduction of melt water input for the soil profile and larger amplitude of soil surface temperature, which eventually affect N-related processes and microbes (Buckeridge & Grogan 2008). This was also consistent with research works in cold ecosystems which identified a microbial crash at the end of snowmelt illustrated both by a drop in microbial N contents and a release of available N (Edwards *et al.* 2006). Nevertheless, in our study, one month separated the artificial snow removal and the sampling because we waited for all plots to be accessible. Therefore, there was enough time for denitrification, plant N uptake or N leaching to diminish soil DON and NO₃ contents. In fact, steady soil NH₄ contents and the absence of NH₄ leaching plead for plant N uptake, though its adsorption on clay minerals is also possible. Further, on nearby grasslands, (Legay *et al.* 2013) showed at the end of snowmelt that soil DIN consumption was high and dominated by plant uptake. This could explain the higher leaf nitrogen content found in plant communities that withstood snow removal (*Chap.III*).

Finally, the negative impact of snow removal on PNM also suggests that this water/climatic stress had a stronger impact than drought on the microbes involved in N mineralization. **We propose that this distinct influence of snow removal vs. drought on mineralization could be due to differential sensitivity of soil functional microbial groups. It is also plausible that snow removal had a stronger impact because it happened at a time when mineralization is usually significant underneath the snowpack (Saccone *et al.* 2013), whereas drought occurred at a season when N mineralization is reduced.**

Overall, these responses to drought or to snow removal in the unmanaged assembled plant communities confirmed that soil **water availability is a proximal control of soil N compounds through direct influence on their mobility or indirect impact on the activity and composition of plants and soil microorganisms. Soil organic and inorganic N forms were differentially affected by drought and snow removal on the short term of the experiment.** Consequently, to respond to our first question : most soil N pools and fluxes in the assembled communities dramatically responded to local climatic stresses, but their use as indicators of resistance or resilience is blurred by the variability of their response.

Effect of mowing and fertilization

Half of the assembled communities were mown and fertilized between T_2 and T_3 to enhance soil N availability for plants and soil microbes and potentially changed the resistance and resilience of the artificial ecosystems when facing water shortage. Consequently, we observed that soil TDN, DON, NO_3^- and NH_4^+ contents, as well as leached N forms, were much more responsive to the second drought (T_3) in these communities. In particular, their soil microbial biomass (MBN) was less resistant to the second drought (T_3) and proportionally released available N as illustrated by higher soil DON contents. **This confirms that fertilization and mowing reduced the resistance of the soil microbial biomass to water shortage in the assembled plant communities. The susceptibility of the soil NO_3^- and NH_4^+ pools to be impacted by water stresses was logically enhanced either directly through nitrogen addition or indirectly through changes in the ecosystem functioning linked to microbial and plant communities.**

These relationships with drought faded away after several weeks (T_4) which suggested the resilience of the soil microbial biomass as hypothesized. Yet, snow removal still had a negative effect on MBN particularly in the mown and fertilized conservative communities and therefore suggested that microbial biomass responded differently to distinct water stresses. Fertilization and mowing not only modified the amount of N resources but also their quality, hence the associated plant-microbes competition.

Interestingly, fertilization and mowing increased the PNM susceptibility to the interaction of water stresses with plant functional composition immediately after the second drought (T_3) and even a few weeks later (T_4), in particular in the conservative communities. Because microbes involved in N mineralization use soil DON as a substrate and produce NH_4 contents, we propose that they were more sensitive to drought when fertilization and mowing was applied because added N negatively feedbacks to the mineralization process.

Overall, soil microbial biomass was fast to respond to water stress with an amplifying effect of the agricultural practices, and it was more resilient to drought than to snow removal. This implies an important plasticity of the microbial biomass, but we do not know (yet) whether this applies also to its composition in terms of species richness and abundances.

4.6 - ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Adeline Bierry, Coline Byczek, Amélie Cantarel, Emilie Crouzat, Franck Delbart, Caroline Devaux, Arnaud Foulquier, Marine Gabillet, Rachel Gerardin, Pierre Gos, Karl Grigulis, Fanny Guillot, Nadine Guillaumaud, Remy Lasseur, Maud Mouchet, Franck Poly and Laure Zupan for their help with the local change experiment, Cindy Arnoldi and Marie-Pascale Colace for their help with chemical analyses and sampling event. This study was supported by the ERA-Net BiodivERsA project REGARDS ANR XXX. This research was conducted at the Station Alpine Joseph Fourier (UMS 3370 CNRS-UGA, France) and on the long-term research site Zone Atelier Alpes (ZAA), a member of LTER-Europe network.

4.7 - REFERENCES

- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements - Irrigation and Drainage Paper 56*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Ashton, I.W., Miller, A.E., Bowman, W.D. & Suding, K.N. (2010) Niche complementarity due to plasticity in resource use: plant partitioning of chemical N forms. *Ecology*, **91**, 3252–3260.
- Bardgett, R.D., Streeter, T.C., Cole, L. & Hartley, I.R. (2002) Linkages between soil biota, nitrogen availability, and plant nitrogen uptake in a mountain ecosystem in the Scottish Highlands. *Applied Soil Ecology*, **19**, 121–134.
- Beniston, M. (2005) Mountain Climates and Climatic Change: An Overview of Processes Focusing on the European Alps. *pure and applied geophysics*, **162**, 1587–1606.
- Benot, M.L., Saccone, P., Pautrat, E., Vicente, R., Colace, M.P., Grigulis, K., Clément, J.C. & Lavorel, S. (2014) Stronger Short-Term Effects of Mowing Than Extreme Summer Weather on a Subalpine Grassland. *Ecosystems*, **17**, 458–472.
- Bokhorst, S., Bjerke, J.W., Tømmervik, H., Preece, C. & Phoenix, G.K. (2012) Ecosystem Response to Climatic Change: The Importance of the Cold Season. *AMBIO*, **41**, 246–255.
- Borken, W. & Matzner, E. (2009) Introduction: Impact of extreme meteorological events on soils and plants. *Global Change Biology*, **15**, 781.
- Brookes, P.C., Kragt, J.F., Powlson, D.S. & Jenkinson, D.S. (1985a) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: The effects of fumigation time and temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 831–835.

- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G. & Jenkinson, D.S. (1985b) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **17**, 837–842.
- Buckeridge, K.M. & Grogan, P. (2008) Deepened snow alters soil microbial nutrient limitations in arctic birch hummock tundra. *Applied Soil Ecology*, **39**, 210–222.
- Buckeridge, K.M. & Grogan, P. (2010) Deepened snow increases late thaw biogeochemical pulses in mesic low arctic tundra. *Biogeochemistry*, **101**, 105–121.
- Cantarel, A.A.M., Bloor, J.M.G., Pommier, T., Guillaumaud, N., Moirrot, C., Soussana, J.-F. & Poly, F. (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.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T. & Pinheiro, C. (2002) How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, **89**, 907–916.
- Crawley, M.J. (2005) *Statistics: An Introduction Using R*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- Davidson, E.A. & Janssens, I.A. (2006) Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, **440**, 165–173.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- Edwards, K.A., McCulloch, J., Peter Kershaw, G. & Jefferies, R.L. (2006) Soil microbial and nutrient dynamics in a wet Arctic sedge meadow in late winter and early spring. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 2843–2851.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Girel, J., Quétier, F., Bignon, A. & Aubert, S. (2010) *Histoire de L'agriculture En Oisans - Haute Romanche et Pays Faranchin*. SAJF, Grenoble, France.
- Grassein, F., Lemauiel-Lavenant, S., Lavorel, S., Bahn, M., Bardgett, R.D., Desclos-Theveniau, M. & Lâiné, P. (2015) Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. *Annals of Botany*, **115**, 107–115.
- Gross, N., Suding, K.N.K. & Lavorel, S. (2007) Leaf dry matter content and lateral spread predict response to land use change for six subalpine grassland species. *Journal of Vegetation Science*,

18, 289–300.

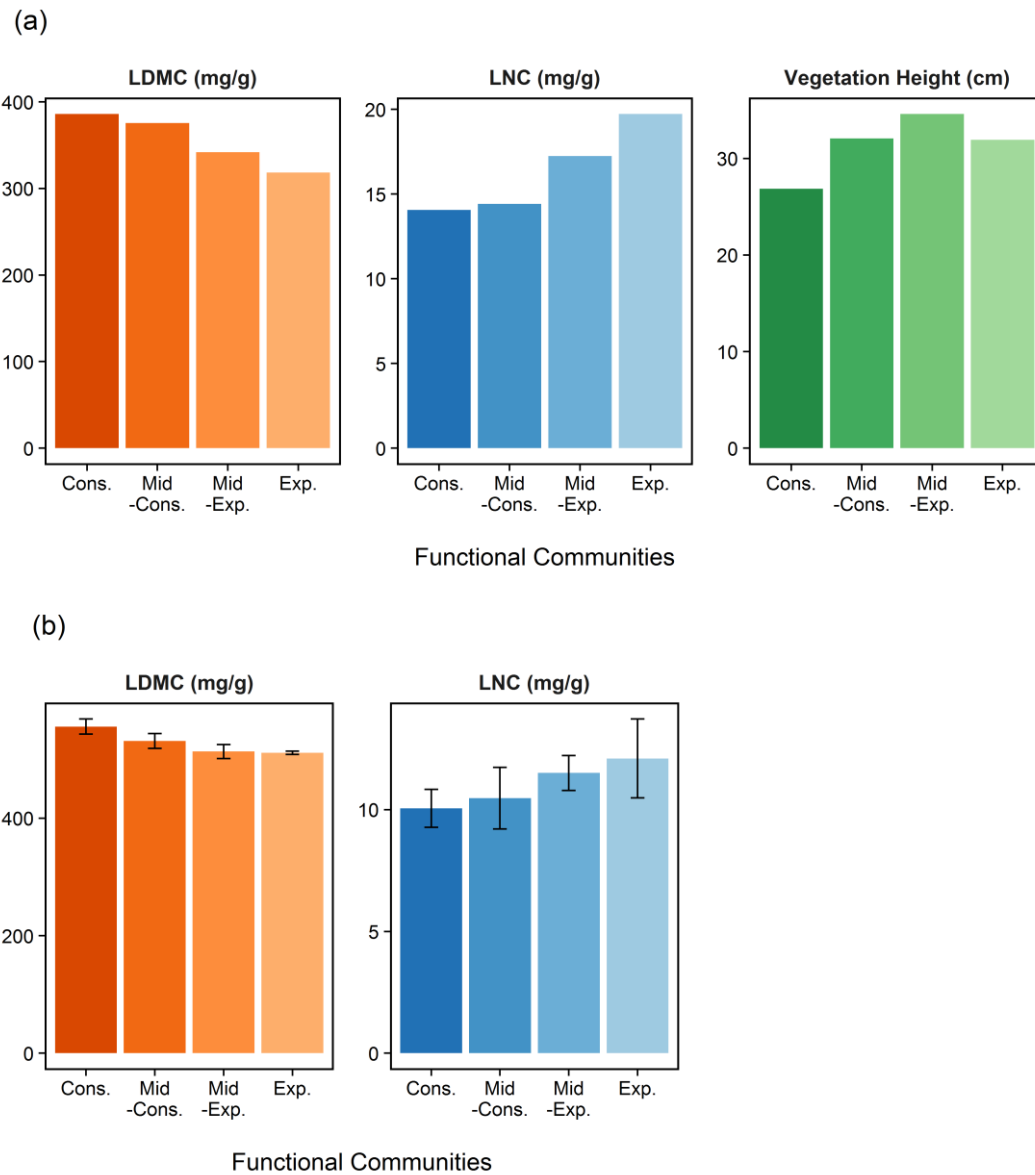
- Harrison, K.A., Bol, R. & Bardgett, R.D. (2007) Preferences for different nitrogen forms by coexisting plant species and soil microbes. *Ecology*, **88**, 989–999.
- IPCC. (2013) *IPCC Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA.
- Jaeger, C., Monson, R., Fisk, M. & Schmidt, S. (1999) Seasonal partitioning of nitrogen by plants and soil microorganisms in an alpine ecosystem. *Ecology*, **80**, 1883–1891.
- Jones, D. & Willett, V. (2006) Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 991–999.
- Jusselme, M.-D., Saccone, P., Zinger, L., Faure, M., Le Roux, X., Guillaumaud, N., Bernard, L., Clement, J.-C. & Poly, F. (2016) Variations in snow depth modify N-related soil microbial abundances and functioning during winter in subalpine grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **92**, 27–37.
- Körner, C. (2003) *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems (2nd Edn.)*. Springer, Berlin, Deutschland.
- Lavorel, S., Grigulis, K., Lamarque, P., Colace, M.-P., Garden, D., Girel, J., Pellet, G. & Douzet, R. (2011) Using plant functional traits to understand the landscape distribution of multiple ecosystem services. *Journal of Ecology*, **99**, 135–147.
- Legay, N., Grassein, F., Robson, T.M., Personeni, E., Bataillé, M.P., Lavorel, S. & Clément, J.C. (2013) Comparison of inorganic nitrogen uptake dynamics following snowmelt and at peak biomass in subalpine grasslands. *Biogeosciences*, **10**, 7631–7645.
- Leitinger, G., Ruggenthaler, R., Hammerle, A., Lavorel, S., Schirpke, U., Clement, J.-C., Lamarque, P., Obojes, N. & Tappeiner, U. (2015) Impact of droughts on water provision in managed alpine grasslands in two climatically different regions of the Alps. *Ecohydrology*, n/a-n/a.
- Lenth, R. & Hervé, M. (2015) *Lsmeans: Least-Squares Means*. R package version 2.16, <http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>.
- Merbold, L., Rogiers, N. & Eugster, W. (2012) Winter CO₂ fluxes in a sub-alpine grassland in relation to snow cover, radiation and temperature. *Biogeochemistry*, **111**, 287–302.
- Mikan, C.J., Schimel, J.P. & Doyle, A.P. (2002) Temperature controls of microbial respiration in arctic tundra soils above and below freezing. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**, 1785–1795.
- Morin, S., Lafaysse, M., Coleou, C. & Lejeune, Y. (2013) Will There (Still) Be Snow for the Upcoming Winter Holidays? On the Conditional Predictability of Snow Conditions Several

- Weeks to Months in Advance. *International Snow Science Workshop*, pp. 1171–1176. Grenoble - Chamonix Mont-Blanc, France.
- Niedrist, G., Tasser, E., Lüth, C., Dalla Via, J. & Tappeiner, U. (2008) Plant diversity declines with recent land use changes in European Alps. *Plant Ecology*, **202**, 195.
- Obojes, N., Bahn, M., Tasser, E., Walde, J., Inauen, N., Hiltbrunner, E., Saccone, P., Lochet, J., Clément, J.C., Lavorel, S., Tappeiner, U. & Körner, C. (2015) Vegetation effects on the water balance of mountain grasslands depend on climatic conditions. *Ecohydrology*, **8**, 552–569.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. (2015) *{nlme}: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-127, <http://cran.r-project.org/package=nlme>.
- Quétier, F., Lavorel, S., Thuiller, W. & Davies, I. (2007a) Plant-trait-based modeling assessment of ecosystem-service sensitivity to land-use change. *Ecological Applications*, **17**, 2377–2386.
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007b) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- R Core Team. (2015) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *Journal of Ecology*, **98**, 62–73.
- Robson, T., Lavorel, S., Clement, J. & Roux, X. (2007) Neglect of mowing and manuring leads to slower nitrogen cycling in subalpine grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 930–941.
- Saccone, P., Morin, S., Baptist, F., Bonneville, J.-M., Colace, M.-P., Domine, F., Faure, M., Geremia, R., Lochet, J., Poly, F., Lavorel, S. & Clément, J.-C. (2013) The effects of snowpack properties and plant strategies on litter decomposition during winter in subalpine meadows. *Plant and Soil*, **363**, 215–229.
- Sala, O.E., Chapin III, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H. (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science*, **287**, 1770–1774.
- Schirpke, U., Leitinger, G., Tasser, E., Schermer, M., Steinbacher, M. & Tappeiner, U. (2013) Multiple ecosystem services of a changing Alpine landscape: past, present and future. *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management*, **9**, 123–135.
- Seastedt, T.R., Bowman, W.D., Caine, T.N., McKnight, D., Townsend, A. & Williams, M.W. (2004) The Landscape Continuum: A Model for High-Elevation Ecosystems. *BioScience*, **54**,

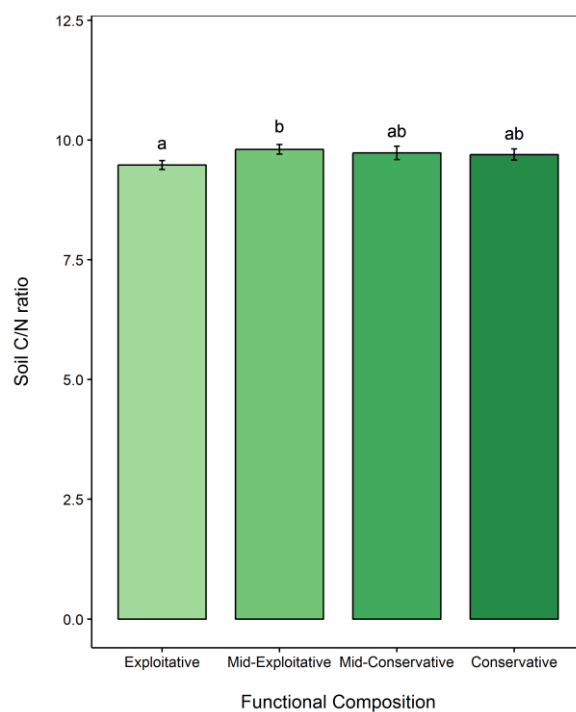
111–121.

- Tasser, E. & Tappeiner, U. (2002) Impact of land use changes on mountain vegetation. *Applied Vegetation Science*, **5**, 173–184.
- Theurillat, J. & Guisan, A. (2001) Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: a review. *Climatic change*, 77–109.
- Vionnet, V., Brun, E., Morin, S., Boone, A., Faroux, S., Le Moigne, P., Martin, E. & Willemet, J.-M. (2012) The detailed snowpack scheme Crocus and its implementation in SURFEX v7.2. *Geoscientific Model Development*, **5**, 773–791.
- Voroney, R.P., Brookes, P.C. & Beyaert, R.P. (2006) Soil microbial biomass C, N, P, and S. *Soil Sampling and Methods of Analysis* (eds M.R. Carter & E.G. Gregorich), pp. 637–651. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Waring, S.A. & Bremner, J.M. (1964) Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. *Nature*, **201**, 951–952.
- Wienhold, B.J. (2007) Comparison of Laboratory Methods and an In Situ Method for Estimating Nitrogen Mineralization in an Irrigated Silt-Loam Soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **38**, 1721–1732.
- Wipf, S. & Rixen, C. (2010) A review of snow manipulation experiments in Arctic and alpine tundra ecosystems. *Polar Research*, **29**, 95–109.
- Zeiter, M., Stampfli, A. & Newbery, D.M. (2006) Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology*, **87**, 942–951.

4.8 - APPENDICES

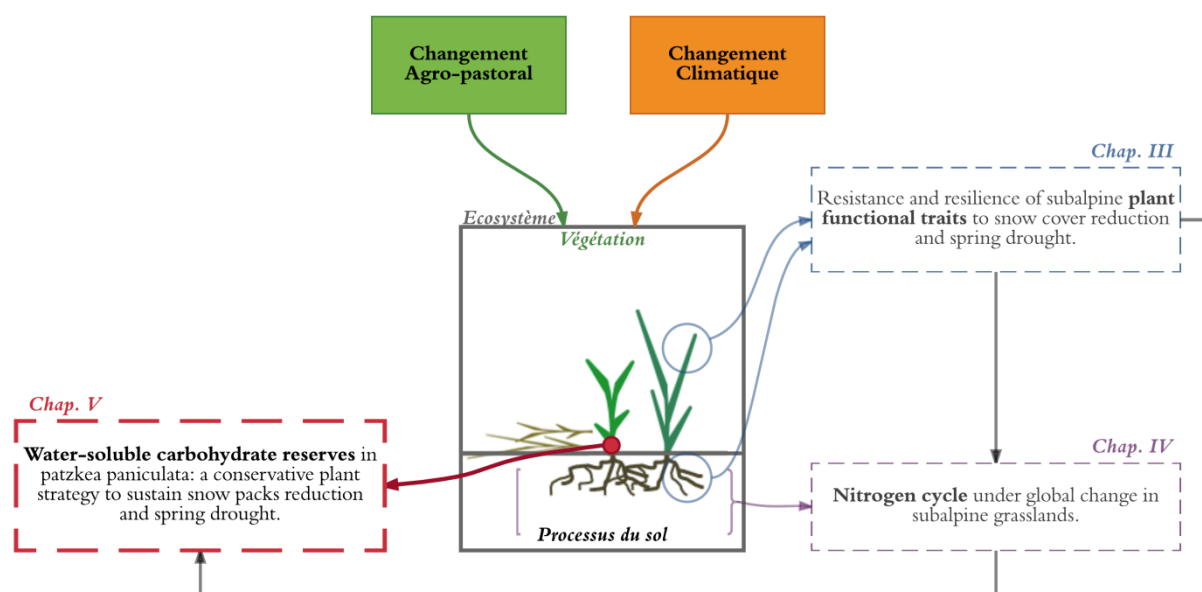


APPENDIX I. Theoretical (a) and realized (at experiment ending in control communities, b) functional gradient of assembled communities. Exp. : Exploitative; Cons. : Conservative; LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.



APPENDIX II. Soil carbon/nitrogen ratio at T₄ from NMF communities. Values are expressed as means ± SE (n=16) of the four plant functional compositions. Letters above each bar correspond to the result of the *post hoc* Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different (p<0.05).

CHAPITRE 5 : ARTICLE 3



WATER-SOLUBLE CARBOHYDRATE RESERVES IN *PATZKEA PANICULATA*: A CONSERVATIVE PLANT STRATEGY TO SUSTAIN SNOW PACK REDUCTION AND SPRING DROUGHT.

Lionel Bernard^{1*}, Marie-Laure Decau², Annette Morvan-Bertrand², Sandra Lavorel¹ & Jean-Christophe Clément^{1 3}.

In prep.

¹ *Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553, Université Grenoble Alpes, BP 53, 38041 Grenoble cedex 09, France*

² *Ecophysiologie Végétale, Agronomie et nutriments N, C, S, UMR INRA 950 Normandie Université, Esplanade de la Paix, 14032 Caen, France*

³ *Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques et les Écosystèmes Limniques, UMR INRA A42, Université Savoie Mont Blanc, Campus scientifique, 73376 Le Bourget du Lac cedex, France*

Keywords: subalpine grasslands, environmental change, drought, snowmelt, mowing, fertilization, functional composition, water-soluble carbohydrates (WSCs)

5.1 - ABSTRACT

In subalpine grasslands of the central French Alps, traditional mowing cessation causes strong expansion of *Patzkea paniculata*, a competitive grass species adapted to nutrient-poor conditions, associated to a decrease in plant species richness and functional diversity. Maintenance of regular mowing is a management option that limits their abundance. Among the involved mechanisms, depletion of water-soluble carbohydrate (WSC) reserves by mowing has been highlighted. However these particular effects of mowing could be challenged by ongoing climate change as WSC compounds, and notably fructans, are known to be part of the plant physiological responses to climate stress. In order to best characterized mechanisms underpinning such land use - climate interaction we focused on functional composition as well as fertilization practices which control N soil availability in subalpine grasslands and consequently WSC synthesis.

This study tested the effects of combinations of climate and management manipulations on WSC storage in *P. paniculata* at the end of the growing season, namely: a decrease in winter snow-precipitation, a drought event during the growing season under different management practices, applied to on assembled subalpine grassland communities of varying functional composition. We quantified variations in fructans, fructose, sucrose and glucose soluble sugars in tiller bases and roots of *P. paniculata* at the end of the growing season and related them to its functional traits and soil nutrient concentration. As expected fructans were the main constituents of WSC pools. Summer mowing+fertilization and climatic stresses separately decreased seasonal fructans storage at the end of the vegetation season. However, neither additive nor synergic effects between these treatments were recorded, primarily due to an overriding of climate effects by management. Fructans stocks were higher in individuals growing in unmown exploitative communities compared to unmown conservative communities regardless of climatic treatments, but mowing and fertilization occurrence removed these differences. Due to lower concentrations of others WSC compounds, the explanation of the functional significance of their variations was hazardous. The understanding of their responses probably needs a more detailed dynamic perspective as these compounds operate in different place/moment among metabolic pathways of polymerization, depolymerization and synthesis of fructans (see Appendix II).

5.2 - INTRODUCTION

In mountain regions, subalpine grasslands sustain important ecological, social and economic values as they are the support of key ecosystem services. However, these grasslands are threatened by ongoing global change through modification of their environmental manipulation (Tappeiner & Bayfield 2004; Gellrich & Zimmermann 2007). Climate and land use changes are expected to be the principal changes likely to cause alteration of their biodiversity and functioning (Engler *et al.* 2011): respectively through changes in both winter and summer precipitations patterns, including increases of frequency and intensity of extreme events such as drought, and through changes in agricultural practices including intensification or abandonment.

In subalpine grasslands of the central French Alps, mowing cessation since World War II has caused strong expansion of *Patzkea paniculata*, which can reach over 70% of the total plant community biomass decreasing its overall biodiversity and fodder quality (Vittoz *et al.* 2005; Quétier, Thébault & Lavorel 2007). This species is characterized by thick and high-statured tussocks producing a thick layer of low quality litter at season ending (Gross, Suding & Lavorel 2007), which restricts soil N mineralization and thus depletes soils nutrients availability (Robson *et al.* 2007, 2010), and summer soil moisture by intercepting rainfall (Gross *et al.* 2008), leading to an exclusion of other species through resource competitions. Moreover, Viard-Crétat *et al.* (2009) demonstrated that *P. paniculata* individuals inhibited germination and growth of surrounding species by allelopathy through the release of polyphenolic compounds in the soil. In addition *P. paniculata* presents the ability to synthesize and store large amounts of water soluble carbohydrates (WSC), and notably large amount of fructans in stem bases during summer (Benot *et al.* 2013).

Fructans are the principal carbohydrate reserve in temperate grasses (Hendry 1987; Hendry & Wallace 1993) mainly in storage organs such as tiller bases and roots (White 1973). Plant fructans present diverse molecular structure and weight: they are fructose based oligo- and polysaccharides derived from sucrose by the action of fructosyltransferases and they can be linear or branched with various degree of polymerization (DP) depending on species, developmental stage and environmental condition (Appendix II). Plants fructans mainly act as short-term carbohydrates reserve which can be mobilized during spring periods of limited energy supply or enhanced energetic demands (Garcia *et al.* 2011). Seasonal accumulation of fructans before the beginning of the cold period in perennial grasses can also be considered as longer term reserve carbohydrates. Indeed, carbon storage is needed for plants to survive overwinter, to enable respiration as well as early spring growth initiation (Yoshida *et al.* 1998; Janeček *et al.* 2011). In the case of *P. paniculata*, this carbohydrate reserve appears to support effectively the activation of vegetative

reproduction during winter and early spring growth initiation (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013), but these reserves account only for a few days after snowmelt and do not support afterward leaf blades elongation in spring (Baptist *et al.* 2013). Anyway, tiller base carbohydrate storage is likely to provide *P. paniculata* with a competitive advantage in addition to previous detailed mechanisms.

A way to counteract *P. paniculata* hegemony is the maintenance of regular mowing practices which significantly limit their abundance and thereby promote higher species and functional diversity (Quétier *et al.* 2007). The underlying mechanisms through which mowing alters the growth of this species have been subject of only few studies (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013). Nevertheless, among other identified mechanisms, alteration of carbohydrate use pattern might play an important role in the effect of mowing practices on *P. paniculata*. For example, after aboveground tissue removal, a decrease in carbohydrate reserves in storage organs has been demonstrated because of remobilization for compensatory growth (i.e. restoration of photosynthetically active leaves; Morvan-Bertrand, Boucaud & Prud'homme 1999; Bartoš, Janeček & Klimešová 2011; Janeček *et al.* 2011; Janeček & Klimešová 2014). In the case of *P. paniculata*, as tiller bases in soil were protected from damage, water soluble carbohydrates were not retrieved directly by mowing. Yet, mowing of *P. paniculata* swards in early august strongly decreased tiller bases carbohydrates concentration one month later (mid-September) compared to unmown individuals, while a reduced compensatory growth was recorded (Baptist *et al.* 2013). Besides this immediate response to defoliation, Bartoš *et al.* (2011) found that over one growing season dominant meadow graminoid species stored less reserves with mowing. This indicates that long-term response of carbohydrates reserves includes not only depletion but also variability in storage organs refilling. Despite short-term effects, Baptist *et al.* (2013) observed that *P. paniculata* carbohydrates storage at the beginning of the following growing season was not affected by previous mowing event. Similarly, Benot *et al.* (2013) found that WSC decreased only in early June of the following year but not later in the growing season. However, concomitantly number of *P. paniculata* tillers per tussock on a given year has been shown to be strongly reduced when mowing occurred the year before (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013) as well as total biomass accumulation at peak standing biomass (Baptist *et al.* 2013) or tussock growth rate and vegetation height (Benot *et al.* 2013). In inducing a stored carbon shortage at the end of the growing season, mowing reduced allocation to tillering during winter and thereby dramatically limited lateral expansion of *P. paniculata* tussocks.

Nevertheless, in subalpine grasslands, management practices also include fertilization practices which could modulate the effect of mowing on WSC seasonal pattern. Indeed N soil availability triggers WSC accumulation as well as the extent of WSC reserves refilling. For example, in N

limiting environment, WSC storage by plants, and notably fructans, have been found to be promoted due to C surplus (Wang & Tillberg 1996; Morvan-Bertrand *et al.* 1999; Wang, Van den Ende & Tillberg 2000). Inversely, increases of N soil availability leads to a decrease of WSC plant storage due to promoted C investment in aboveground tissues (Bélanger, Gastal & Warembourg 1992). Additionally, Gonzalez *et al.* (1989) found that, under mowing, high N level allows rapid refilling of all tiller base carbohydrates (i.e. glucose, fructose, sucrose and fructans) after a carbohydrates mobilization to regrowth. Contrastingly, under low N level, refill of fructans was 2·3-fold lower traducing a depletion of soluble carbohydrates reserves by defoliation only in N limiting environments. Mechanisms underpinning such patterns are that after defoliation, C becomes limiting due to photosynthesis failure; WSC remobilization added to high N supply will favor rapid photosynthetically active tissue restoration thus allowing storage of newly synthesized carbohydrates (Gonzalez *et al.* 1989; Morvan-Bertrand *et al.* 1999).

Not only actual management options control N soil availability in subalpine grasslands but also functional composition; which also results of historical agricultural context (Robson *et al.* 2007, 2010). Thus, by defining functional composition and associated soil N content in communities, this historical context could affect *P. paniculata* WSC patterns. These observations highlight the importance to integrate the global change effect on N soil availability for understanding the WSC pattern of *P. paniculata* under such abiotic stresses.

Apart to land use/management effect, extreme climatic events (such as drought and early season frost due to early snowmelt) are inclined to induce rapid plant responses, notably through physiological adjustments (Chaves, Maroco & Pereira 2003; Orsenigo *et al.* 2014). An important metabolic re-adjustments to abiotic stresses of these grasses is change in the concentration and composition of water-soluble carbohydrates (Krasensky & Jonak 2012). The involvement of fructans in drought and cold tolerance has been suggested (see reviews of Wiemken, Sprenger & Boller 1995; Valluru & den Ende 2008; Livingston, Hinch & Heyer 2009). Indeed, under abiotic stress fructans are accumulated, modified in chain length, or reduced. Fructans appeared to improve stress tolerance *via* several mechanisms. During abiotic stress, fructans are thought to act as protective compounds in stabilizing cell membranes (Hinch *et al.* 2000, 2002, Vereyken *et al.* 2001, 2003), and through cell osmotic adjustment during freezing and dehydration (Spollen & Nelson 1994; Pilon-Smits *et al.* 1995; Hoekstra, Golovina & Buitink 2001). Fructans also play a role as antioxidants in preventing cellular damage under stress (den Ende 2013; Peshev *et al.* 2013). Additionally, the functional significance of the balance between high- and low-DP fructans on stress tolerance remains unclear. Depending on studies and species, high- or low-DP fructans were alternatively correlated with either drought or freezing tolerance (see reviews of Valluru & den

Ende 2008; Livingston *et al.* 2009). Low-DP fructans (DP4 to 5) could originate from two possible sources: remobilization of High-DP fructans (DP>5) or synthesis from sucrose (see Appendix II). As a results of these fructans' specificities, the ability of *P. paniculata*, in subalpine grasslands, to synthesize and store large amounts of fructans in its tiller bases is likely to enhance its tolerance to extreme climatic events (Benot *et al.* 2013).

Previous studies in subalpine grasslands have addressed the effects of management, alone (Baptist *et al.* 2013) or combined with summer drought (Benot *et al.* 2013), on the dominance of *P. paniculata* through water soluble carbohydrates dynamics. Yet, the effects of combined winter and summer climate events, along with management on WSC storage are unknown. In the present study, we aimed to (1) evaluate the consequences of mowing and fertilization on carbohydrates storage in *P. paniculata* organs when compared to unmanaged situations, (2) investigate how both summer drought and earlier snowmelt may alter these capacities and (3) determine the outcome of community functional composition. We built two functionally contrasted plant communities based on their theoretical resource-use strategies in a common garden experiment in the central French Alps. Combinations of climatic stresses (earlier snow removal and drought) and management (fertilization and mowing) were applied. *P. paniculata* WSC-related parameters were surveyed in September thus integrated the whole growing season pattern, and parameters were measured on tiller bases, rhizomes and roots. We hypothesized that (1) *P. paniculata* carbohydrates storage capacity will decrease in exploitative communities compared to conservative ones because of higher nutrients availability linked to faster N cycling, (2) mowing and fertilization will have limited impact on WSC through rapid carbohydrates refilling after defoliation, (3) the succession of drought and snow removal will deplete WSC storage due to successive remobilization to maintain leaf integrity as well as lower replenishment induced by photosynthetic apparatus damage and (4) combination of agricultural practices and climate change will favor carbohydrates storage through rapid pools replenishment allowed by rapid leaf renewal stimulated by cut, upturn of water and fertilization.

5.3 - MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE

The experiment was located in a common garden at the Station Alpine Joseph Fourier near the Col du Lautaret (45°02'13''N, 6°24'01''E, 2100m a.s.l.) in the central French Alps. The climate is subalpine with a pronounced continental influence. Mean annual precipitation is 956 mm, most of which falls as snow during winter, and there is a pronounced summer drought with only 18% of the annual rainfall occurring during summer. Mean monthly temperatures range between -7.4°C in February and 19°C in July. The growing season starts after snowmelt, between mid-April and early May, and finishes at the early autumn (October).

STUDY SPECIES AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS

In this study we focused on *Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos (formerly *Festuca paniculata* (L.) Schinz & Thell.), which reaches on average 50 % of the total cover of subalpine grasslands at the study site (Quétier *et al.* 2007). *P. paniculata* is a tussock-forming, nutrient conservative species which belongs to the Poaceae (Gross *et al.* 2007) and presents tough leaves, high C/N and low growth rates. It can reproduce either sexually or vegetatively. Its leaves are annual with tiller bases and composed of leaf sheaths of the year and vegetative buds. Tiller bases are found largely below-ground and are thereby protected from mowing and grazing. Early spring tillering and vegetative growth start during snowmelt (personal observation). Tillering is intra-vaginal: new offspring tillers grow vertically and are enclosed within the sheaths of mother tillers. Several daughter tillers can emerge from a single mother tiller. Tiller bases can store large amounts of water-soluble carbohydrates (WSC), mainly in the form of fructans (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013).

The study site is characterized by a mosaic of grasslands distributed along a fertility gradient resulting from an abandonment of mowing in favor of light grazing since the end of WWII. In fertilized mown meadows, conservative (i.e. low SLA, leaf nitrogen content and high leaf dry matter content) and exploitative species (with opposite traits) represent about half of the total biomass each. In unfertilized pastures, conservative species are dominant, with up to 80% of the total biomass (Quétier *et al.* 2007). Subalpine grasslands are exclusively dominated by perennial vegetation where recruitment events are rare (Zeiter, Stampfli & Newbery 2006). For this reason, we choose to focus on the adult stage and used tillers collected from the field. All plants were collected in the neighboring subalpine grasslands, on the south-facing aspect of the Villar d'Arène

municipality (45.04°N, 6.34°E), ranging from 1700 to 2100 m a.s.l (detailed description in Quétier *et al.* 2007).

In addition to the conservative *P. paniculata*, we selected two other perennial tussock species in order to obtain a gradient of conservative-exploitative resources use based on their leaf dry matter content (LDMC), leaf nitrogen content (LNC) and vegetative height measured under optimal manipulation (no resource limitation, Gross *et al.* 2007; Grassein *et al.* 2015) : the more exploitative *Dactylis glomerata* (L.), which has thinner and tender leaves, higher Specific Leaf Area and lower leaf C/N relative to the local grass species pool (Gross *et al.* 2007); and *Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr. as a functional intermediate between these.

ENVIRONMENTAL CHANGE EXPERIMENT

In late July 2012, single tillers of the three species were separated from large tussocks and planted in individual pots filled with potting soil. One month later, they were planted in larger pots (Ø 45 cm, h 50 cm) filled with *in situ* sieved (5-mm) and homogenized soil from nearby grasslands (homogeneous calc-shale substrate, only keeping the -10 to -50 cm depth soil fraction), after a brief preliminary root wash to minimize potting soil contamination.

In each pot, 36 individual plants were established to obtain contrasted community weighted mean traits (Garnier *et al.* 2004; Appendix I) according to the following design:

‘Exploitative’ treatment: **27** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **three** *P. paniculata* individuals

‘Conservative’ treatment: **three** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **27** *P. paniculata* individuals

The plants mixtures were designed for the purpose of a companion study focusing on resistance and resilience to global change of functionally contrasted communities (*see chapter III & IV*) and additionally, in each distinct plant community, the 36 individuals’ tillers were transplanted according to the same spatial scheme. In total, 32 pots were set, with 16 replicates of two distinct plant mixtures/communities (FC for functional composition). They were inserted into the ground so that their top was a few centimeters above the soil surface to avoid runoff. The bottom of each pot contained a drain which was drilled on the bottom side to limit root growth outside the pots. They were distributed within a plot experimental design (Fig. 5.1). Two water-related treatments, snow removal with spring drought (SR + D) and natural snowmelt with normalized watering (Control), were assigned to eight 3*3m plots. Each of these plots contained four pots with each of the two experimental plant community repeated twice and randomly set in a square way. Two management-related treatments were assigned to each half of the paired plant communities, namely

mowing with fertilization (MF) and unmanaged (NMF). After this 2012 experimental set-up we conducted three successive years of experimental manipulation (Fig. 5.2).

The SR treatment consisted of snow removal by shoveling one month earlier than the end of the natural snowmelt, which was assessed using a combination of snowpack measurement throughout winter (Snow Water Equivalent and snow depth), with the detailed snowpack model SURFEX/ISBA-Crocus prediction (Morin *et al.* 2013) based on the French reanalysis SAFRAN in mountain regions (Durand *et al.* 2009; Vionnet *et al.* 2012) and on field observation. The D treatment consisted of a 4 to 8 weeks period during the growing period without water addition (the late timing of the first D treatment reflects difficulties during the experimental set up). For all plots, precipitations were intercepted by transparent shelters (corrugated polyester reinforced with glass fibres, 1.5 m above ground surface) installed after snow melt and removed in late September. Under the shelters, plant communities were watered manually each week to complement water losses due to evapotranspiration, which were assessed by ETP0 formula of Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998), and implemented with meteorological variables recorded under shelter by a Hobo weather station (Onset Computer Corporation, MA, USA). When this station was not in place on the experimental area (mainly during winter seasons), meteorological parameters were monitored using the ROMMA weather station (Réseau d'Observation Météo du Massif Alpin) of Col du Lautaret, located at 120m from our experimental area. The MF plant communities were fertilized after first snow melt with 17.55 g (to reach the equivalent of 150 kgN.ha⁻¹) of slow release fertilizer (13-13-13 +2 MgO + oligoelements, Nutricote from Fertil, France) and mown once a year following farmers practices at peak vegetation. Mowing consisted in cutting the sward to 10 cm above soil surface and exporting the cut biomass. The NMF paired communities were left unmanaged (Not Mown and Fertilized).

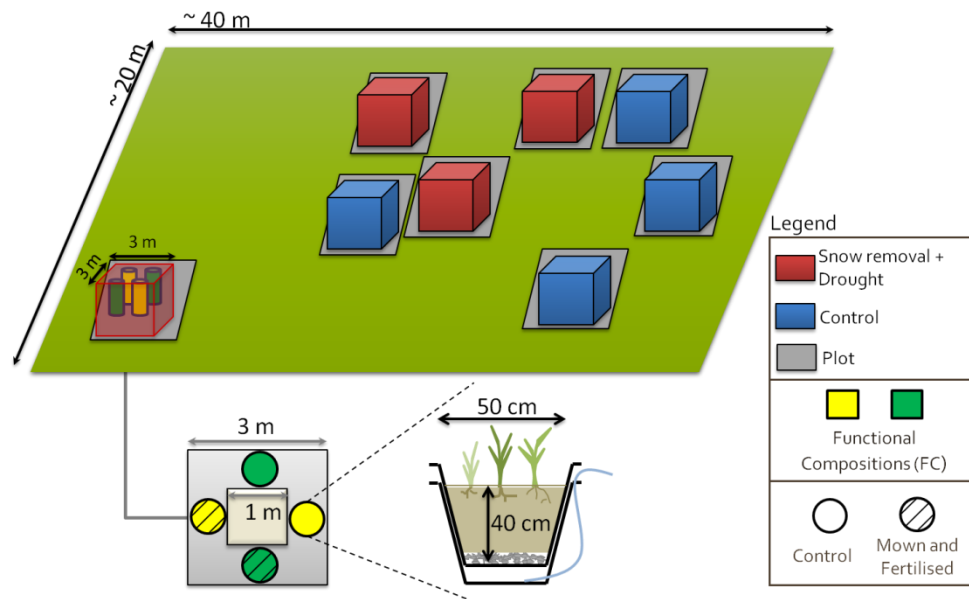


Figure 5.1. Field experimental design.

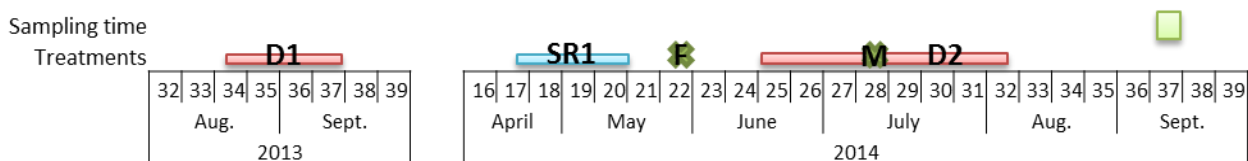


Figure 5.2. Calendar of experimental treatments and data collection. D: Drought; SR: Snow removal; F: Fertilization; M: Mowing; Green square: *P. paniculata* individuals harvest; n=4.

WATER-SOLUBLE CARBOHYDRATE MEASUREMENTS

P. paniculata tillers' collection

Carbohydrates concentration in tiller bases was measured once, on the 16th of September 2014. Three individuals were selected within each pot and carefully dug out with a dibble. Attention was paid to avoid damaging tiller bases and to allow root collection. Collected tillers and associated roots were washed immediately, wrapped in aluminum foil, frozen in dry ice (-80°C) and transported to the laboratory. They were stored at -80°C until they were freeze-dried. Each tiller was cut into four subsamples: upper tiller base, lower tiller base, rhizome and roots. All parts of these tillers were then weighed (organ dry mass) and ground to powder using a ball-mill (MM400, Retsch, Germany).

Extraction and quantification of water-soluble carbohydrates

Water-soluble carbohydrates (WSCs: fructans, sucrose, glucose and fructose) were extracted from a sample of 10 to 50 mg of dry powder in 2 mL of 80 % ethanol at 80° C for 15 min. Samples were then centrifuged at 12 000 g for 10 min. The supernatant was kept at 4°C and 2 mL of MilliQ water were added to the pellet. The tube contents were mixed, incubated 15 min at 60°C and centrifuged at 12 000 g for 10 min. The supernatant was kept at 4°C and the aqueous extraction was repeated once with the pellet. The three supernatants were pooled, evaporated to dryness under vacuum for at least 800 min. The residue was dissolved into 900 µL of ultra-pure water. To remove charged compounds 100 µL aliquots of WSC extract were desalinized through minicolumns (Mobicols from MoBITec, Germany) containing 150 µL of anion exchange resin (formate form of Amberlite CG400 II from Fluka, Switzerland) and 250 µL of cation exchange resin (H⁺ form of Dowex 50WX8 400 from Sigma-Aldrich, MO, USA). Between these two resins, 80 µL of PVPP (PolyVinylPolyPyrrolidone) were used to eliminate lipids, pigments and phenolic compounds. WSCs were separated and quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC). A pre-column Guard-PAK (Millipore Waters, MA, USA) was used to remove the eventual remaining impurities. Fructans of high degree of polymerisation (DP >5) , low DP fructans (DP4 and DP5) as well as sucrose, glucose and fructose were then separated on a cation exchange column (Sugar-PAK I, 300 × 6.5mm, Millipore Waters, MA, USA) eluted at 0.5 mL.min⁻¹ with 0.1 mM CaEDTA at 85°C, and detected using a refractometer as a sugar detector.

The concentration of each WSC were calculated by dividing the quantified WSC mass by the dry powder sample mass of each tiller subsample WSC amounts were calculated as the whole dry biomass of each tiller subsample x WSC concentration. Roots WSC amounts were not calculated because our field sampling method could not ensure the recovery of the entire root system.

Leaf chemical analyses

On the 17th of September 2014, whole aboveground leaves were sampled from *P. paniculata* individuals. Leaves were dried (7 d at 60°C) and, for each pot, a sub-sample (10 mg) was ground to powder and analyzed for carbon and nitrogen content using a CHN elemental analyzer (FlashEA 1112, Thermo Electron Corporation, MA, USA).

In situ measurements

On the 15th of September 2014, in each pot we measured *P. paniculata* leaf traits: Growth_t = $\ln(\text{length}_t / \text{length}_{t-1})$ using the length of the longest leaf followed through the sampling and with vegetation peak as *t-1* (end of July); Senescence, which is the percentage of the longest leaf being senescent. Depending on plant mixture, the leaf traits of three or five *P. paniculata* individuals were measured in each pot (see chapter III for more details procedure).

STATISTICAL ANALYSIS

Split-plot linear Mixed-model analysis of variance (ANOVA) was used to test the effects of snow removal and drought, functional composition and mowing-fertilization treatments on the different leaf traits, soil nutrient concentrations and WSC parameters measured at T₄. Models were fitted by the restricted maximum-likelihood (REML) method using the ‘lme’ function from the ‘nlme’ package (Pinheiro *et al.* 2015) in the free R software version 3.2.1 (R Core Team 2015) and plot was specified at the random error structure (Crawley 2005).

Preliminary analyses showed that the different part of respectively tiller base (upper and lower tiller base) and roots derived organs (rhizome and roots) gave similar results (data not shown). Thus, to gain analysis power, we divided the dataset into only two different organ locations as WSCs concentration of tiller base and roots derived organs respectively. For all variables (leaf traits, nutrient contents and WSCs parameters), the effects of all treatments were analyzed for each of the organ considered: leaf blades, tiller base or roots derived organs. Where necessary, data was transformed to achieve normality and homoscedasticity criteria. The significance threshold was fixed to 0.05. When a significant effect was observed, post hoc comparisons of means using Tukey contrasts, were conducted with the ‘lsmeans’ package (Lenth & Hervé 2015).

5.4 - RESULTS

Tiller biomass, leaf traits and soil inorganic N forms responses to treatments

Tiller bases biomass and leaf senescence of *P. paniculata* were affected by the management and climate treatments, whereas leaf growth index responded to the combination of management with snow removal plus drought (SR+D hereafter) (Table 5.1). In unmanaged communities, biomass allocation to tiller bases was greater in exploitative than in conservative communities in contrast to percentage of leaf senescence which was larger in conservative compared to exploitative communities (Fig. 5.3). Similarly, SR+D decreased biomass allocation to tiller bases while it enhanced leaf senescence for both contrasted communities (Fig. 5.3). Additionally, the leaf growth index remained close to zero in unmanaged communities and reflected an absence of vertical growth since the end of July (vegetation peak) regardless of treatments identity (Fig. 5.3). Under mowing and fertilization, functional composition (FC) and SR+D effects on tiller bases biomass or on leaf senescence were no longer apparent (Fig. 5.3). Cutting blades allowed leaf growth, while leaf elongation was larger under SR+D compared to control communities (Fig. 5.3).

Simultaneously, both soil NO_3^- and NH_4^+ were similarly and positively responding to management and SR+D interaction (Table 5.1, Fig. 5.4). Soil NO_3^- content remained close to zero in unmanaged communities. Mowing and fertilization led to higher soil N inorganic availability at season ending, particularly under SR+D, likely reflecting overall lower plant uptake throughout the growing season.

Table 5.1. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on tiller base dry mass, leaf growth index and leaf senescence; as well as on soil Nitrates and Ammonium content. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and n indicates the sample size.

	n	Tiller base dry mass		Leaf growth index		Leaf senescence		Soil N- NO_3^-		Soil N- NH_4^+	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
SR+D	16	15.6	0.008	13.6	0.010	28.6	0.002	3.5	0.111	4.4	0.081
Management	16	28.7	<0.001	68.9	<0.001	69.5	<0.001	21.7	<0.001	18.1	<0.001
Functional Composition	16	6.2	0.023	0.1	0.773	21.9	<0.001	0.1	0.754	0.2	0.630
SR+D : Management	8	13.1	0.002	33.8	<0.001	33.4	<0.001	7.2	0.015	5.7	0.028
SR+D : FC	8	0.0	0.849	0.2	0.703	0.7	0.430	0.3	0.594	0.2	0.643
Management : FC	8	14.5	0.001	1.0	0.335	7.1	0.016	0.1	0.788	0.0	0.893
SR+D : Management : FC	4	3.1	0.098	0.2	0.687	0.1	0.757	0.3	0.601	0.0	0.974

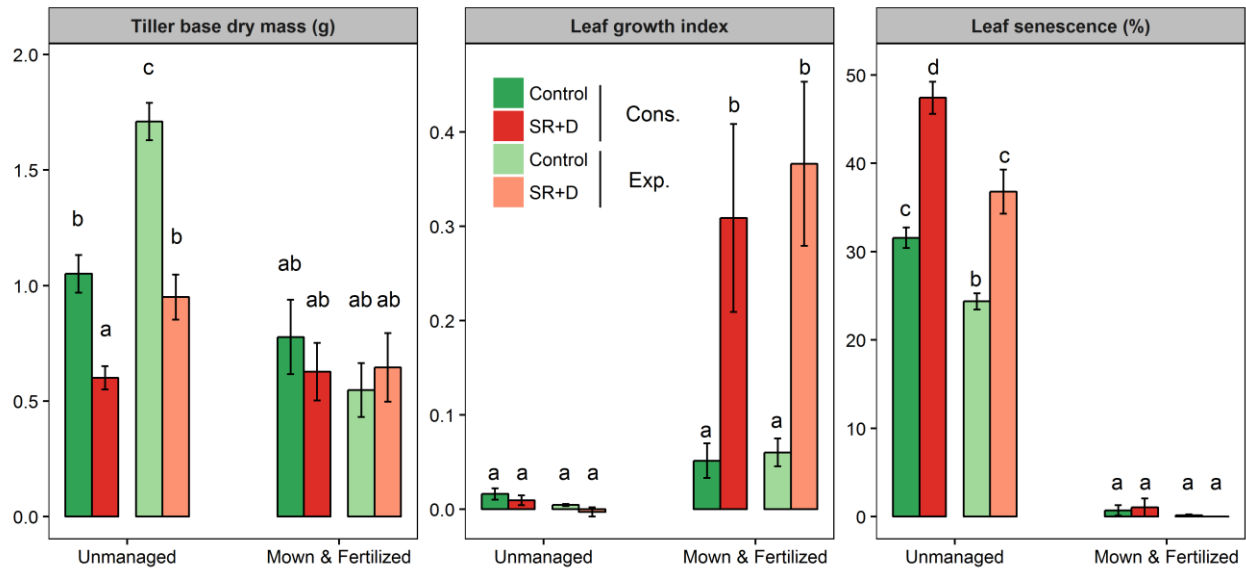


Figure 5.3. Effects of climate and management treatments on individuals tiller base dry mass, leaf growth index and leaf senescence of *P. paniculata* from conservative and exploitative in September 2014. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4). Letters above each bar correspond to the result of the Tukey's test, and bar that do not share any letters are significantly different.

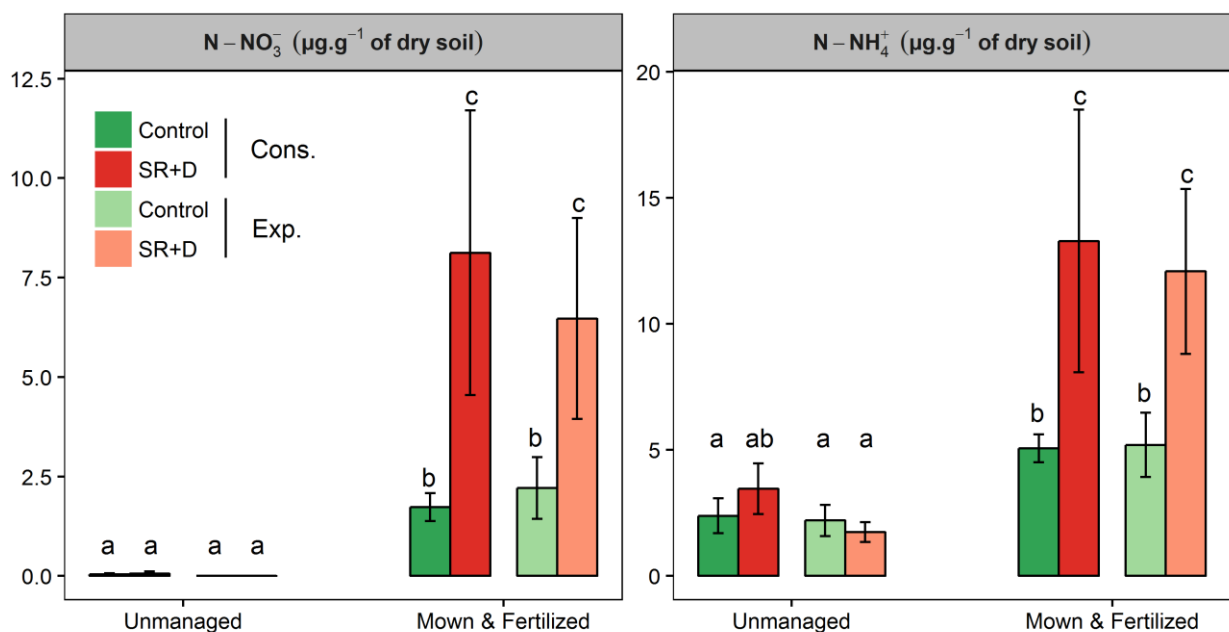


Figure 5.4. Effects of climate and management treatments on nitrate and ammonium soil content from conservative and exploitative communities in September 2014. Values are expressed as means $\pm$ SE (n=4). Letters above each bar correspond to the result of the Tukey's test, and bar that do not share any letters are significantly different.

Management, Snow removal plus Drought and Functional composition effects on tiller base WSC concentration of *Patzkea paniculata*.

P. paniculata tiller bases WSC concentrations were affected by the interaction between management and functional composition, and by the interaction between management and SR+D (Table 5.2). Additionally, DP5 fructans were not detected in *P. paniculata* tiller bases in September which was consistent with previous observations (Benot *et al.* 2013), but were detected in *P. paniculata* root system (see hereafter).

In unmanaged communities, high-DP and DP4 fructans concentrations decreased under SR+D (respectively -25.9% and -9.6%, Fig. 5.5c, 5.6c), while other compounds were not affect. In managed communities, glucose and fructose concentrations were still not responsive to SR+D (Fig 5.8c, 5.9b), in contrast to sucrose concentration. Mowing and fertilization induced an increase in sucrose tiller base concentration; however this increase was 35.5%, lower under SR+D compared to control Fig. 7c). At the opposite, DP4 fructans concentrations were still decreased by SR+D in managed communities (-18.0%, Fig. 5.6c) unlike high-DP fructans concentrations for which agricultural practices overruled initial differences caused by SR+D in unmanaged communities (Fig. 5.5c). More precisely MF decreased high-DP fructans in both separate climatic treatments in similar extent than did SR+D in unmanaged communities. Sucrose concentration in unmanaged communities was greater in conservative compared to exploitative communities (Fig. 5.7d), whereas DP4 fructans, glucose and fructose concentrations were not influenced by FC (Fig 5.6d, 5.8d, 5.9c). Mowing and fertilization overruled this initial difference by enhancing sucrose concentration in individuals tiller bases from both conservative and exploitative communities (respectively +36.1% and +120.6%, Fig. 5.7d). In addition, management led to higher glucose, fructose and DP4 fructans concentrations in individuals from the conservative communities (respectively +54.6%, +56.5% and +38.5%, Fig 5.8d, 5.9c, 5.6d) whereas these dissimilar responses among FC were not observed in unmanaged communities (Fig 5.8d, 5.9c, 5.6d). Finally, high-DP fructans concentration was not sensitive to FC whatever the management (Fig 5.5d).

Table 5.2. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on high-DP, DP5 and DP4 fructans concentration, sucrose, glucose and fructose concentration in September 2014 *P. paniculata* tiller bases. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and n indicate sample size.

Tiller base	n	High-DP fructans		DP5 fructans		DP4 fructans		Sucrose		Glucose		Fructose	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
SR+D	16	2.3	0.183	ND		33.0	0.001	9.2	0.023	2.5	0.166	0.0	0.883
Management	16	7.8	0.012	ND		24.6	<0.001	52.6	<0.001	12.7	0.002	7.6	0.013
Functional Composition	16	1.1	0.303	ND		0.3	0.611	2.1	0.166	0.0	0.937	0.5	0.478
SR+D : Management	8	4.4	0.050	ND		1.2	0.284	8.1	0.011	1.9	0.187	0.4	0.540
SR+D : FC	8	0.0	0.873	ND		0.8	0.390	0.0	0.994	1.2	0.285	1.4	0.246
Management : FC	8	0.0	0.912	ND		7.9	0.012	13.2	0.002	7.5	0.013	7.2	0.015
SR+D : Management : FC	4	0.0	0.905	ND		0.9	0.358	0.0	0.899	0.3	0.620	0.1	0.813

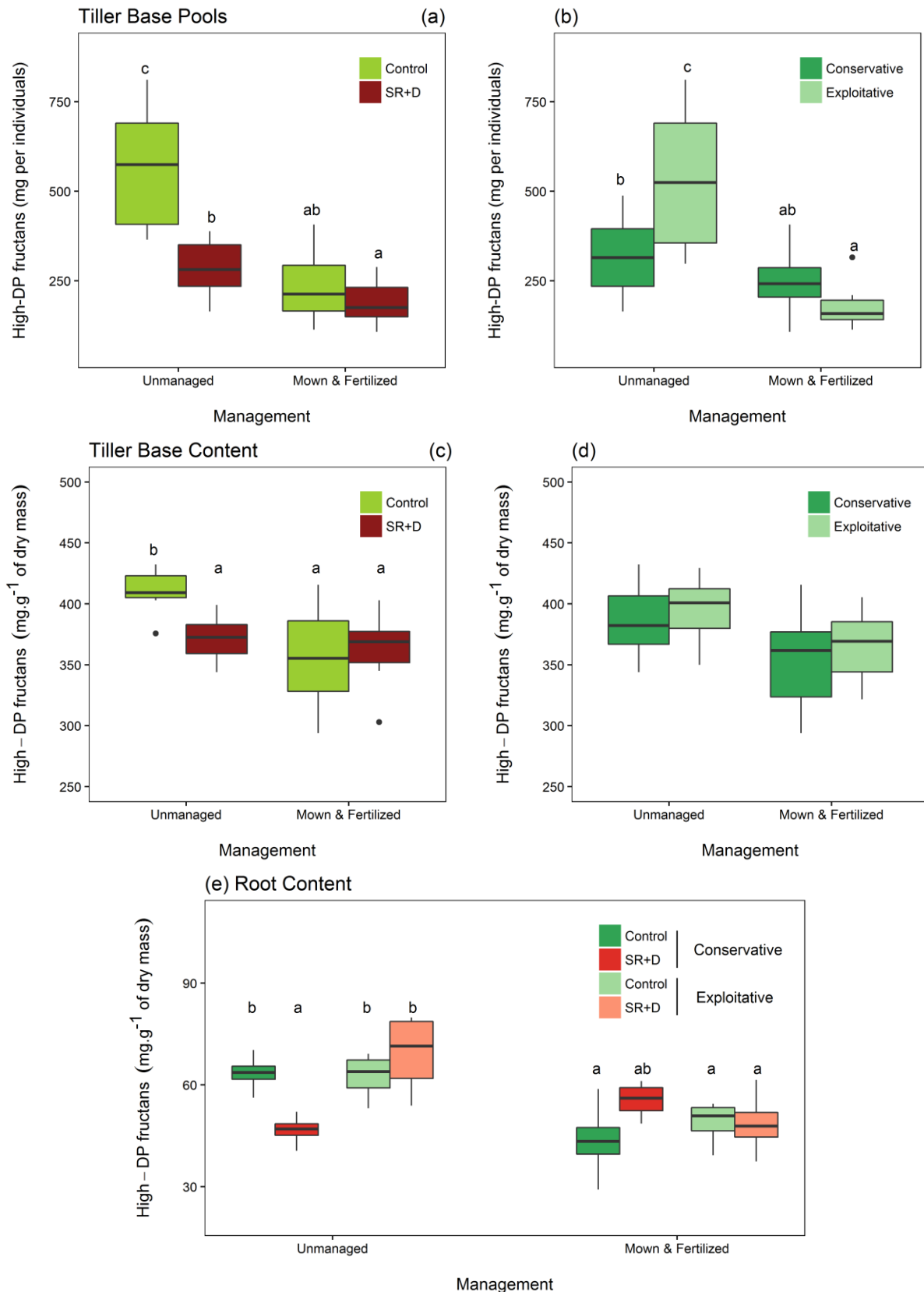


Figure 5.5. Effects of climate and management treatments on High-DP fructans amounts (a) & (b) or concentration (c) & (d) in tiller base of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities; as well as High-DP fructans concentration in roots derived organs (e). Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

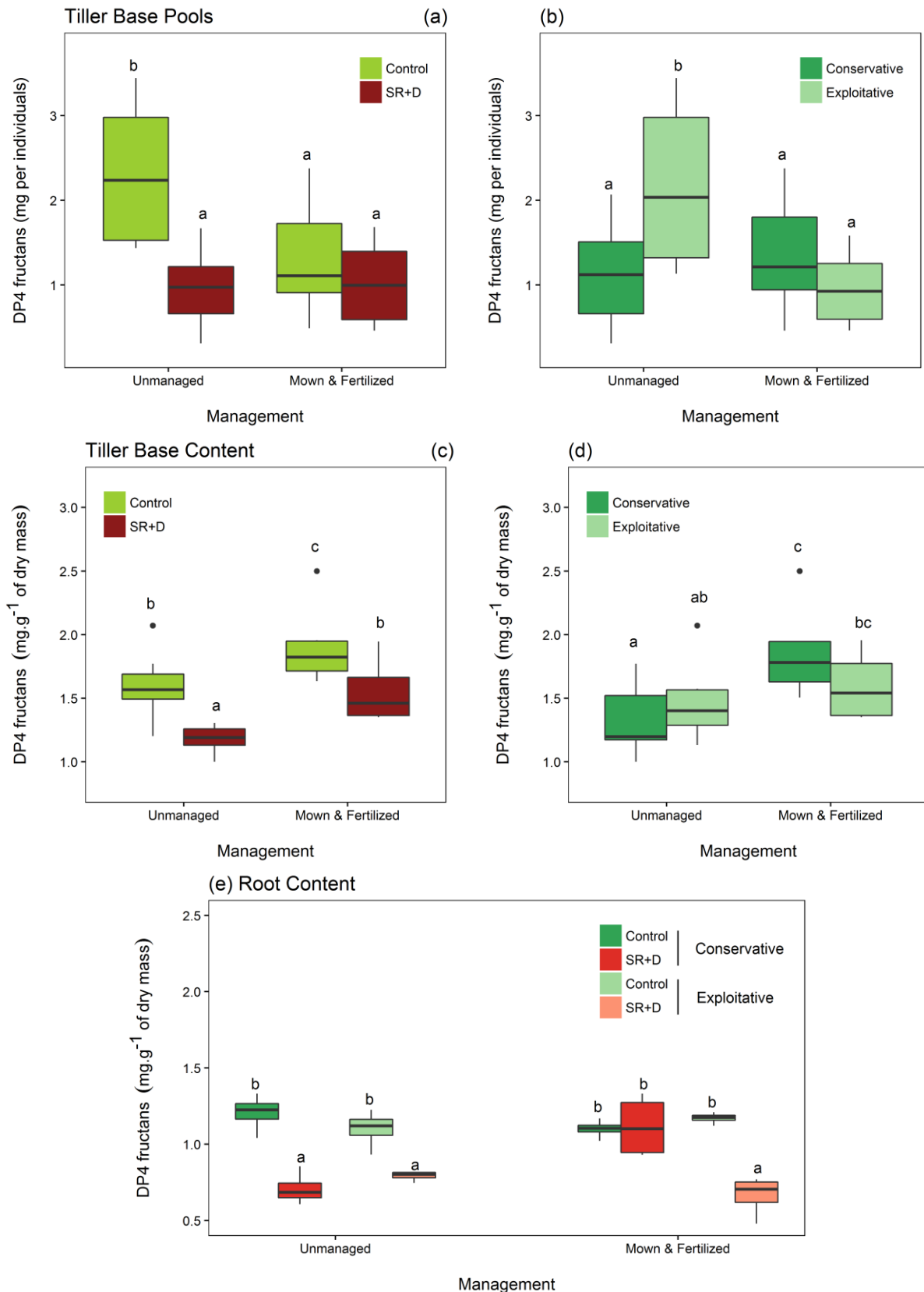


Figure 5.6. Effects of climate and management treatments on DP4 fructans amounts (a) & (b) or concentration (c) & (d) in tiller base of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities; as well as DP4 fructans concentration in roots derived organs (e). Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

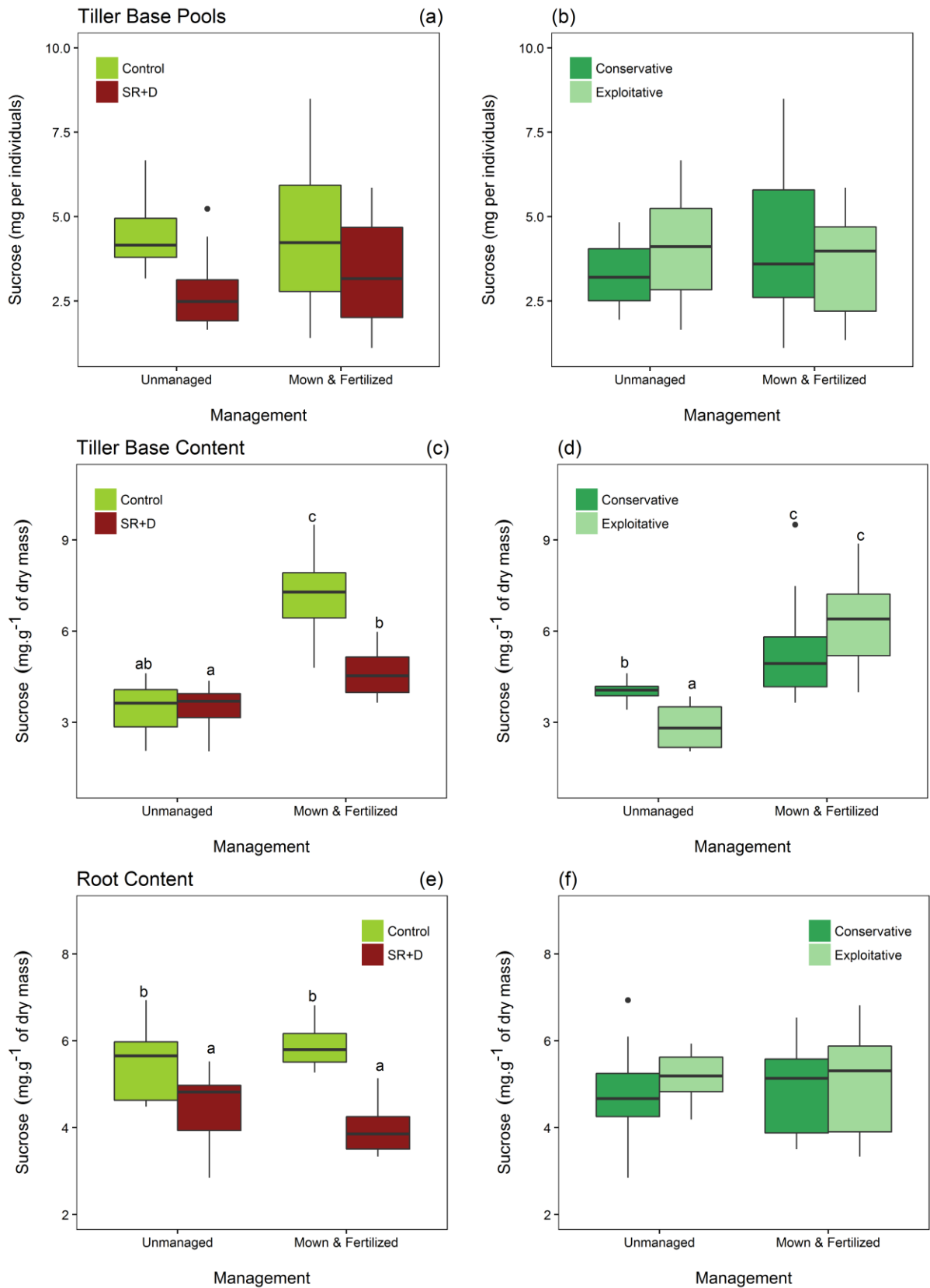


Figure 5.7. Effects of climate and management treatments on sucrose amounts (a) & (b) or concentration (c) & (d) in tiller base of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities; as well as sucrose concentration in roots derived organs (e) & (f). Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

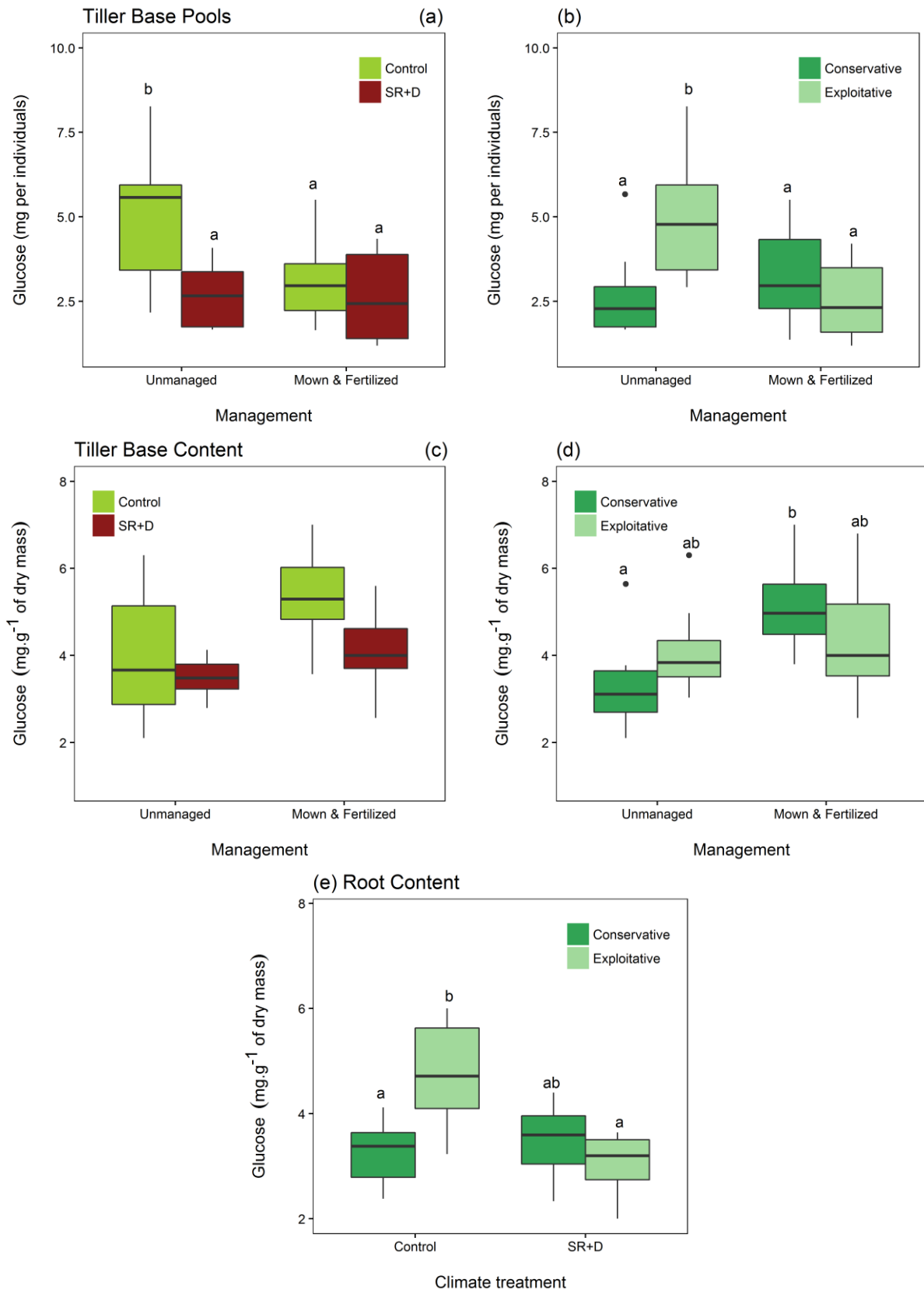


Figure 5.8. Effects of climate and management treatments on glucose amounts (a) & (b) or concentration (c) & (d) in tiller base of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities; as well as glucose concentration in roots derived organs (e). Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

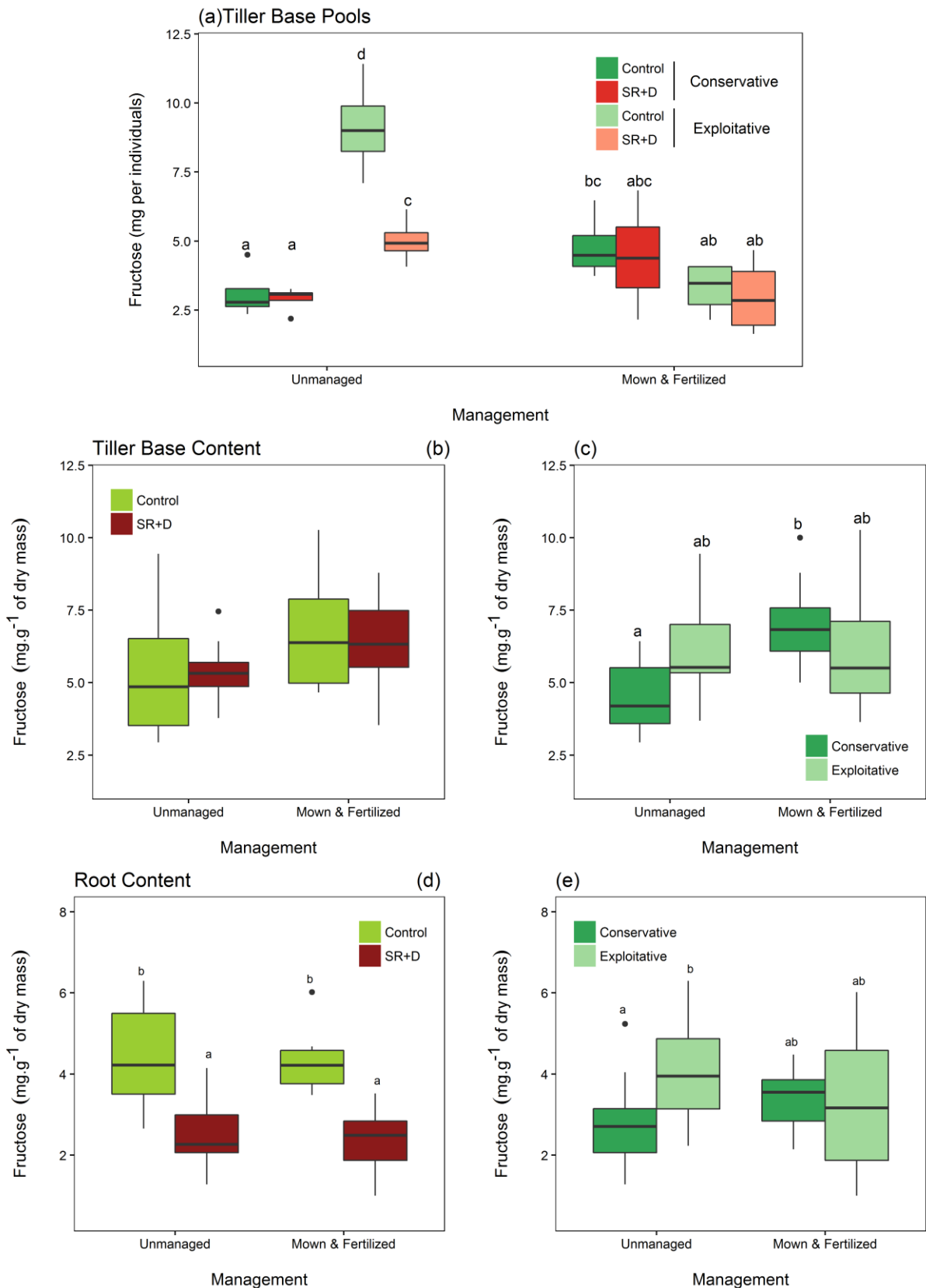


Figure 5.9. Effects of climate and management treatments on fructose amounts (a) or concentration (b) & (c) in tiller base of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities; as well as fructose concentration in roots derived organs (d) & (e). Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

Treatments effects on *Patzkea paniculata* WSC storage pattern.

Regardless of treatment, high-DP fructans accounted for more than 90 % of the tiller bases WSC pools at the end of the growing season. DP4 fructans represented < 1% of WSC pools, while glucose, sucrose and fructose ranged from 0.5% to 3%. Nevertheless, tiller bases WSC reserves composition and total amount did vary among treatments. WSC pools were mainly affected by management and functional composition interaction, and by management and SR+D interaction (Table 5.3). Nonetheless, stored WSC variations were principally linked to changes in tiller biomass induced by treatments (see above and Fig. 5.5). Indeed, both High-DP and DP4 fructans, glucose and fructose tiller base amounts followed identical pattern than tiller biomass allocation with greater amounts in individuals coming from exploitative than conservative communities, as well as lower amounts with SR+D under no management pressure (Fig 5.5a & b, 5.6a & b, 5.8a & b, 5.9a). At the same time, mowing and fertilization overruled FC and SR+D effects on WSC. More precisely MF decreased fructans in both separate climatic treatments in similar extent than did SR+D in unmanaged communities (Fig 5.5a, 5.6a, 5.8a, 5.9a). As a result, *P. paniculata* had similar or lower WSC concentrations as well as lower WSC reserves in managed than unmanaged communities.

Sucrose compounds show singular patterns. Despite differences in sucrose tiller base concentration and tiller biomass induced by treatments, no changes in sucrose amounts were observed (Table 5.3, Fig 5.7a & 5.b). Therefore, low tiller biomass was associated with high sucrose concentration and *vice versa*.

Table 5.3. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on high-DP and DP4 fructans amounts, sucrose, glucose and fructose amounts in September 2014 *P. paniculata* tiller bases. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and *n* indicate sample size.

		High-DP fructans			DP4 fructans		Sucrose		Glucose		Fructose	
Tiller base	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	
SR+D	16	47.1	<0.001	26.5	0.002	5.0	0.067	10.8	0.017	7.4	0.035	
Management	16	81.1	<0.001	8.7	0.009	0.2	0.661	5.0	0.039	6.4	0.021	
Functional Composition	16	9.8	0.006	3.7	0.070	0.0	0.943	3.2	0.090	8.1	0.011	
SR+D : Management	8	25.0	<0.001	10.2	0.005	0.1	0.722	4.8	0.041	4.0	0.060	
SR+D : FC	8	3.0	0.100	0.1	0.756	0.5	0.506	0.7	0.399	4.4	0.050	
Management : FC	8	35.5	<0.001	20.6	<0.001	1.1	0.314	12.0	0.003	36.6	<0.001	
SR+D : Management : FC	4	3.9	0.063	2.3	0.144	0.2	0.695	0.5	0.483	4.7	0.044	

Specificity of roots WSC concentrations

Roots WSC concentrations were similar to tiller bases excepted for high-DP fructans which was five to six time lower in the roots. Roots high-DP concentrations had similar responses to treatments than tiller bases: SR+D decreased high-DP concentration in unmanaged but not in managed communities, yet only for individuals from conservative communities in the case of roots (Fig 5.5e). Other WSC compounds were mainly affected by the interaction between management and functional composition or SR+D similarly to tiller bases (Table 5.4). Sucrose and Fructose concentrations were reduced by SR+D independently from management (Fig 5.7e, 5.9d). DP4 fructans followed similar pattern except in conservative communities under mowing and fertilization where no response was measured (Fig. 5.6e). Fructose concentrations were additionally responsive to FC and management interaction with lower concentration in *P. paniculata* roots coming from conservative compared to exploitative communities only in unmanaged situation (Table 5.4, Fig 5.9e). Similar results were observed in unmanaged communities for DP5 fructans concentrations, whereas under mowing and fertilization, DP5 fructans exhibited a shift between FC with higher concentrations observed in *P. paniculata* roots from conservative communities (Fig. 5.10b). Glucose concentration show singular response patterns to treatments. It was the only compound sensitive to FC and SR+D interaction (Table 5.4). Glucose concentration was lower in *P. paniculata* roots coming from conservative compared to exploitative communities under no management pressure and SR+D overruled this primary effect of FC (Fig. 5.8e).

Table 5.4. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on high-DP, DP5 and DP4 fructans concentration, sucrose, glucose and fructose concentration in September 2014 *P. paniculata* roots derived organs. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and n indicate sample size.

		High-DP fructans		DP5 fructans		DP4 fructans		Sucrose		Glucose		Fructose	
Roots system													
SR+D	16	0.0	0.912	0.8	0.415	62.4	<0.001	23.0	0.003	7.5	0.034	35.6	0.001
Management	16	14.1	0.001	1.7	0.209	2.3	0.150	0.0	0.979	0.2	0.656	0.1	0.727
Functional Composition	16	2.7	0.115	0.3	0.572	6.0	0.024	1.2	0.287	3.8	0.066	1.2	0.291
SR+D : Management	8	3.3	0.087	0.0	0.963	3.8	0.068	2.2	0.151	0.0	0.893	0.2	0.669
SR+D : FC	8	0.9	0.356	3.7	0.069	4.1	0.057	0.7	0.404	13.3	0.002	2.0	0.170
Management : FC	8	3.7	0.070	15.3	0.001	4.8	0.042	0.3	0.617	2.7	0.116	6.7	0.019
SR+D : Management : FC	4	8.7	0.009	1.7	0.207	18.8	<0.001	1.6	0.218	0.7	0.409	2.5	0.134

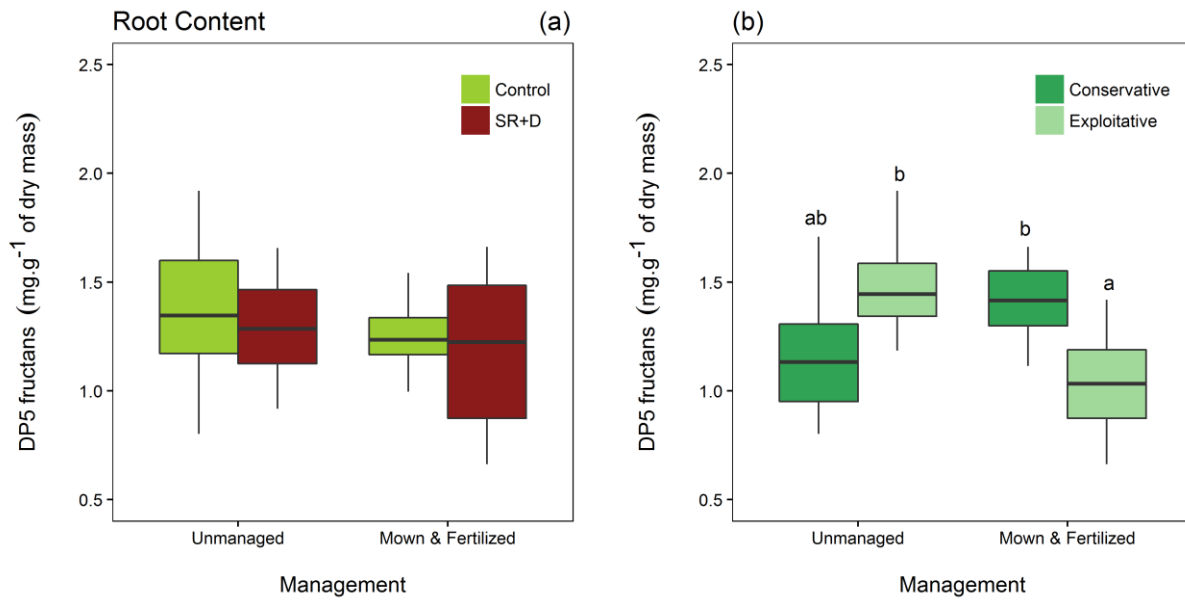


Figure 5.10. Effects of climate and management treatments on DP5 fructans concentration in roots derived organs of *P. paniculata* from conservative and exploitative communities. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letters are significantly different.

5.5 - DISCUSSION

P. paniculata is characterized by cycles of storage and depletion of soluble carbohydrates: winter and spring depletion followed by a period of replenishment until mid-July (Baptist *et al.* 2013). This carbohydrate reserve supports the activation of vegetative reproduction of *P. paniculata* during winter as well as early spring growth initiation on the long-term (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013). However, we found that the manipulation of management and extreme climatic events affected short term *P. paniculata* WSC dynamics and thereby its WSC amounts at the end of the growing season, which could potentially affect the next season tillering.

Our results confirmed that fructans was the main form of carbohydrates stored before winter in *P. paniculata* mainly in their tiller bases even if roots reserves are not precisely quantified. The functional significance of the balance between high- and low-DP fructans on stress tolerance remains unclear. Depending on studies and species, high- or low-DP fructans were alternatively correlated with stress tolerance to drought or frost (see reviews of Valluru & den Ende 2008; Livingston *et al.* 2009). Subsequently, Valluru & den Ende (2008) hypothesized that a combination of both high DP and lower DP fructans might provide abiotic stress tolerance. Low-DP fructan (DP4 to 5) could originate from two possible sources: remobilization of High-DP fructan (DP>5) or synthesis from sucrose. Considering the season of sampling, we hypothesize that low-DP fructans have been already polymerized into high-DP fructan for winter storage. The functional significance of low-DP fructans probably occurred earlier in the season, closer in time from treatments occurrences, as there correlations with stress tolerance have been already observed in different species (Valluru & den Ende 2008; Livingston *et al.* 2009). Further investigations would however be required to test this assumption.

Our study revealed that functional composition, management practices and extreme climate events affected High-DP fructans storage at the end of the vegetation season. More precisely, management interacted with the responses of WSC reserves to FC and climatic stresses. Due to lower concentrations of others WSC compounds, the explanation of the functional significance of their variations remain hazardous. The analysis of their responses probably needs a more dynamic perspective as these compounds operate in different place/moment among metabolic pathways of polymerization, depolymerization and synthesis of fructans (see Appendix II).

Management as prevailing treatment affecting *P. paniculata* WSC storage capacity

WSC amounts remaining in tiller bases at season ending were lower in mown and fertilized than in unmanaged communities, principally as a result of decreased tiller biomass. Baptist *et al.* (2013) found that mowing of *P. paniculata* swards in early august strongly decreased tiller bases carbohydrates concentration one month later (mid-September) compared to unmown individuals, while a reduced compensatory growth (i.e. restoration of photosynthetically active leaves) was recorded. This compensatory growth of *P. paniculata* was found to be limited by low soil nutrients availability and low soil moisture during summer (Baptist *et al.* 2013). Consequently, the decrease in WSC amount induced by mowing was likely to result from the removal of photosynthetic leaf area, thereby limiting WSC synthesis and accumulation (Livingston *et al.* 2009; Benot *et al.* 2013), rather than resulting from remobilization of carbohydrate reserves for regrowth (Morvan-Bertrand *et al.* 1999; Bartoš *et al.* 2011; Janeček *et al.* 2011; Janeček & Klimešová 2014). In the present study, the increase of leaf nitrogen content in managed compared to unmanaged communities (see chapter III), while vegetative growth remain similar, suggests an investment in compensatory regrowth after cutting. Thus, lower amount of high-DP could be partly due to remobilization of carbohydrate reserves for regrowth in the few days after defoliation (Morvan-Bertrand *et al.* 1999; Bartoš *et al.* 2011; Janeček *et al.* 2011; Janeček & Klimešová 2014). In opposition to Baptist *et al.* (2013) this compensatory growth in our study was facilitated by higher nutrients availability *via* fertilization as well as maintenance of soil moisture level by upturn of normalized watering. However, despite an earlier mowing (mid-July) and a subsequent longer time period to WSC re-accumulation, we did not observe a complete storage organs refilling phase following primary depletion of WSC. Yet, sucrose represents the substrate for fructan synthesis (see Appendix II). Therefore, the observed increase of sucrose concentrations could be the first step of metabolic reactions that eventually leads to higher amounts of High-DP fructans synthesized and stored before winter. Indeed, Gonzalez *et al.* (1989) found that under mowing, high N availability enabled rapid carbohydrates refilling of all tiller bases (i.e. glucose, fructose, sucrose and fructans) after a first carbohydrates mobilization to regrowth purpose while under low N availability. Refill of fructan pools was 2-3-fold lower while glucose concentration remained at low level traducing a depletion of soluble carbohydrates reserves by defoliation only when N was limiting.

Nonetheless, nitrate has been also described as a negative signal for fructan synthesis in barley (*Hordeum vulgare*) (Morcuende *et al.* 2004) and thereby could explain the relative low rate of WSC refilling in tiller bases exhibited by *P. paniculata*. As a consequence, contrary to our second hypothesis, mowing and fertilization negatively impacted WSC at the end of the growing season,

indicating that increasing nutrient availability did not lead to rapid carbohydrates refilling after defoliation and thus may alter *P. paniculata* performance on longer perspective.

Indeed, carbon storage is needed for perennial plants to survive overwinter and they accumulate carbohydrates seasonally before the beginning of the cold season to enable respiration as well as early spring growth initiation (Yoshida *et al.* 1998; Janeček *et al.* 2011). Despite short-term effects, Baptist *et al.* (2013) observed that *P. paniculata* carbohydrates storage at the beginning of the following growing season was not affected by previous mowing event. Similarly, Benot *et al.* (2013) found a reduction only in early June of the following year but not later in the growing season. However, the number of *P. paniculata* tillers per tussock on a given year has been shown to be strongly reduced when mowing occurred the year before (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013). This winter reduction of new tillers production is due to stored carbon shortage induced by late-summer mowing (Klimeš & Klimešová 2002). Resulting in a stored carbon shortage at the end of the growing season, mowing reduces allocation to tillering during winter and thereby dramatically limits the horizontal growth of *P. paniculata* tussocks in the long term. Additionally, total biomass accumulation at peak standing biomass (Baptist *et al.* 2013), or tussock growth rate and vegetation height (Benot *et al.* 2013), of the following growing season were largely reduced by mowing and could be linked with winter tillering limitation. However, in both studies, mowing operation occurred in late summer after peak biomass when vegetative growth was limited and investment in compensatory growth was likely to be weak (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013). In the present study, despite an earlier mowing (mid-July) and a subsequent longer time period to WSC re-accumulation as well as an absence of nutrient scarcity, we did not observe a full WSC refill of the storage organs following primary depletion of WSC. Consequently, we hypothesize that a mowing event occurring earlier in vegetation season, if not coupled with fertilization, could potentially deeply impact WSC storage capacity: by inducing a compensatory regrowth through WSC remobilization from reserves and a limited stock refilling due to nutrient scarcity. However, experimentation with distinct mowing and fertilization treatment is necessary to test the hypothesis. Nevertheless, this studies comparison points out the importance of summer timing in mowing *P. paniculata* to limit both its refilling capacity of storage organs before winter and its expansion during the following year. A too early mowing event will allow compensatory regrowth and thereby a refill of carbohydrates before winter, while a too late mowing event will not induce compensatory regrowth and thus will not deplete its carbohydrates reserves.

Climatic events impact WSC storage before winter

Accordingly to our third hypothesis, WSC amounts remaining in tiller bases at season ending in mid-September were lower in SR+D than in Control communities without management pressure, principally as a result of combined decrease in tiller biomass and WSC concentration in these tissues. An important metabolic re-adjustments in response to abiotic stresses of these grasses is variations in the concentration and composition of water-soluble carbohydrates (Krasensky & Jonak 2012). The involvement of fructans in drought and cold tolerance by acting in the maintenance of leaf integrity has been suggested (Wiemken *et al.* 1995; Valluru & den Ende 2008; Livingston *et al.* 2009). Indeed, under abiotic stress fructans are accumulated, modified in chain length, or reduced. Consequently, lower amount of high-DP could be partly due to their mobilization for maintaining cell integrity in leaf swards during both early snow removal and drought. At the beginning of the vegetation season, remaining fructans reserves were mobilized to sustain a rapid early spring growth initiation as temperatures increases during snowmelt (Benot *et al.* 2013; Baptist *et al.* 2013), as well as to prevent frost damages to newly photosynthetically active biomass. Consequently, earlier snowmelt date induced by climate change could potentially increase remobilization of WSC reserves in leaves by augmenting the duration of the frost period (*see chapter II and III*). Furthermore, earlier snowmelt, in decoupling N flush (due to microbial turnover and freeze-thaw cycle, *see chapter IV*) and plant growth initiation could enhance plant energetic rely on WSC reserves to sustain growth.

The drought application at the middle of June to the end of July, potentially limited accumulation of WSC in tiller bases. Newly synthesized compounds were used *in-situ* to maintain leaf integrity. However, drought treatment led to a strong increase of leaf senescence, suggesting that *P. paniculata* did not manage to maintain cell integrity during drought (Benot *et al.* 2013). Additionally, drought involves dismantling of the photosynthetic machinery and remobilization of the stem fructans reserves (Munné-Bosch & Alegre 2004; Joudi *et al.* 2012). However, drought, in reducing photosynthesis efficiency, also prevents WSC stocks replenishment by newly synthesized compounds during summer. Thus, succession of climatic events during the same vegetation season might prevent replenishment of *P. paniculata* WSC storage leading to both constrained amounts and concentration of WSC in tiller bases at season ending. However, this cannot be verified as WSC compounds were not measured for each climatic event.

The fact that SR+D and only MF communities presented identical amount of high-DP fructans at season ending suggest that climate manipulation may have a similar effect than management on *P. paniculata* performance during the following growing season. However, longer experimentation is

needed to fully understand climate change effects on WSC dynamics of *P. paniculata* on the long-term, and how this affect plant performance and competitive ability.

Mowing plus fertilization combined with snow removal plus drought did not induce synergic effect on both *P. paniculata* WSC concentrations and amounts at season ending. Moreover, SR+D, MF and SR+D+MF had similar effect on high-DP fructans (concentrations and amounts). Thereby, we did not verified our fourth hypothesis stipulating that both agricultural practices and climate change favored carbohydrates storage because of multiple mechanisms: no investment in compensatory growth after mowing because of water scarcity, no remobilization of reserves to maintain leaf integrity after defoliation, rapid pools replenishment allowed by rapid leaf renewal, itself stimulated by cut, upturn of water and fertilization. However, these results suggest that management operation override the effects of climatic events contrastingly to findings of Benot *et al.* (2013), which suggest that the effects of mowing on *P. paniculata*, and especially on carbon allocation to WSC storage, could be limited during years with extreme summer drought.

Incomplete understanding of the role of neighboring species and functional composition on WSC storage

WSC remaining in *P. paniculata* tiller bases at the end of the growing season were lower in conservative than in exploitative communities without management, principally as a result of a decreased tiller biomass. *P. paniculata* is known to restrict soil N mineralization and limit soils inorganic N contents (Robson *et al.* 2007, 2010). As a result, N availability is thought to be weaker under conservative *P. paniculata* stands than under more exploitative communities. Consequently, we expected WSC compounds to be more abundant in conservative communities as N restriction would stimulate both WSC synthesis and accumulation (Morvan-Bertrand 1999, Wang & Tillberg 1996, Wang, den Ende & Tillberg 1997). However, our first hypothesis was not verified in the present study since we recorded lower amount of high-DP in tiller bases coming from conservative communities compared to exploitative communities, while concentrations were similar. These singular results could be related to the enhanced leaf senescence in conservative communities leading to lower photosynthetically active biomass to sustain WSC reserves refilling before the onset of winter. Yet, increase of leaf senescence could also result from a limited amount of WSC available to maintain leaf integrity later in the season. Additionally, these counterintuitive results could be partly due to the fact that studied communities were not totally mature even after three growing seasons. Indeed, no differences in soil nutrients were recorded at season ending similarly to previous sampling dates (*see chapter III*). Thus, the enhanced accumulation of WSC reserves in

individuals coming from exploitative communities could be due to an exacerbated competition for N resources by exploitative neighboring species. The ability of *P. paniculata* to capture new nutrients is limited compared to more exploitative species and thereby N shortage conditions should stimulate WSC storage. Nonetheless, further investigations are required to better understand the mechanisms underpinning the effects of functional composition on *P. paniculata* dominance ability. Mowing plus fertilization overruled the effects of the functional composition by both increasing tiller bases WSC concentrations of individuals coming from conservative communities and decreasing tiller bases WSC amounts of individuals coming from exploitative communities. One possible explanation could be linked to replenishment patterns after mowing: in conservative communities replenishment could be stimulated by high N availability (consecutively to fertilization, Gonzalez et al 1989), while in exploitative communities, exacerbated competition by more exploitative species could impact this replenishment pattern. However, our experimental design did not allow the distinction between mowing and fertilization effects between functionally contrasted communities thereby limiting the understanding of management treatment repercussion. However such results raise the question of the distinct consequences of mowing vs fertilization in subalpine grasslands.

Do roots-derived organs WSC storage matter in P. paniculata species response to climate and management?

Although water soluble carbohydrates are assimilated in leaves (seen Appendix II), substantial amounts are stored in specialized organs that are less likely to be damaged thanks to their location (e.g. tiller bases are located belowground). Most studies assessed storage organs of stem origin rather than roots (Janeček & Klimešová 2014). However some studies which have considered multiple plant organs with a potential storage function (e.g. tiller base, rhizome and roots) showed that tiller bases are not always those with the highest accumulation of carbohydrates (Bartoš *et al.* 2011; Janeček *et al.* 2011; Janeček & Klimešová 2014). Additionally, diverse experiments pointed out different carbohydrates storage organ supporting leaves growth after cutting: either roots (Schmitt, Pausch & Kuzyakov 2013), tiller bases (Kuzyakov *et al.* 2002) or both (Johansson 1993; Janeček & Klimešová 2014). Thus, integration of multiple plant organs of *P. paniculata* is necessary to fully characterized underlying mechanism of their dominance through water soluble carbohydrates dynamics.

Our experimental design as well as our roots derived organs sampling method did not allow WSC pools calculation because we were not able to extract whole *P. paniculata* roots system from

experimental communities. However, our analyses of WSC concentration provide first indications of their functional significance in a global change context. First of all, presence of glucose, sucrose and fructose concentration at similar level in roots than in tiller bases indicates that WSC storage occurred also in roots derived organs. Furthermore, even if high-DP fructans concentration were largely smaller in roots derived organs than in tiller bases, these concentrations remain substantial (tenfold higher than other WSC), and thereby roots derived organs could represent a significant location of WSC reserves. Concerning low-DP fructan (DP4 and DP5), their concentration in the roots were very low and we could emit identical hypothesis than for tiller bases, namely that low-DP fructans have been already polymerized into high-DP fructan for winter storage.

The changes in High-DP concentrations in roots derived-organs caused by treatments were similar than changes exhibited by WSC pools in tiller bases and illustrate a whole plant integration. However despite the observed responses to treatments, the significance of such results remains unclear. Indeed, WSC concentrations are more able to reflect rapid carbohydrate mobilization in response to disturbance rather than WSC accumulation before winter (better represented by pools). Thus, further researches using labeled carbon are needed to study the dynamic role of roots-derived organs WSC reserves in response to stress as well as to spring remobilization. Additionally, quantification of roots-derived organs WSC pools before winter in different climatic and management contexts is needed to identify their functional significance on the long-term.

5.6 - CONCLUSION

Our results confirmed that tiller bases carbohydrate storage provide *P. paniculata* with a competitive advantage over more exploitative species under mowing cessation. Furthermore, our findings suggest that the effects of climatic events on *P. paniculata*, and especially on its carbon allocation to WSC storage may limit the expansion of *P. paniculata* similarly to mowing. However long-term effects of climate change as well as its interaction with management practices are beyond the scope of this study and may lead to contrasted responses of *P. paniculata*. Additionally this study raises the question of the importance of roots derived organs in *P. paniculata* WSC storage and remobilization patterns, as well as the distinct consequences of mowing and fertilization practices in *P. paniculata* WSC storage pattern, and their implication under climate change. Addressing such questions will require further and longer-term investigations.

5.7 - ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Adeline Bierry, Coline Byczek, Amélie Cantarel, Emilie Crouzat, Franck Delbart, Caroline Devaux, Arnaud Foulquier, Marine Gabillet, Rachel Gerardin, Pierre Gos, Karl Grigulis, Fanny Guillot, Nadine Guillaumaud, Nicolas Legay, Remy Lasseur, Maud Mouchet, Franck Poly, Thomas Pommier and Laure Zupan for their help with the global change experiment, Cindy Arnoldi and Marie-Pascale Colace for their help with chemical analyses and sampling event. This study was supported by the ERA-Net BiodivERsA project REGARDS. This research was conducted at the Station Alpine Joseph Fourier (UMS 3370 CNRS-UGA, France) and on the long-term research site Zone Atelier Alpes (ZAA), a member of LTER-Europe network.

5.8 - REFERENCES

- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements - Irrigation and Drainage Paper 56*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Baptist, F., Secher-Fromell, H., Viard-Cretat, F., Aranjuelo, I., Clement, J.-C., Creme, A., Desclos, M., Laine, P., Nogues, S. & Lavorel, S. (2013) Carbohydrate and nitrogen stores in *Festuca paniculata* under mowing explain dominance in subalpine grasslands. *Plant biology*, **15**, 395–404.
- Bartoš, M., Janeček, Š. & Klimešová, J. (2011) Effect of mowing and fertilization on biomass and carbohydrate reserves of *Molinia caerulea* at two organizational levels. *Acta Oecologica*, **37**, 299–306.
- Bélanger, G., Gastal, F. & Warembourg, F.R. (1992) The Effects of Nitrogen Fertilization and the Growing Season on Carbon Partitioning in a Sward of Tall Fescue (*Festuca arundinacea* Schreb). *Annals of Botany*, **70**, 239–244.
- Benot, M., Saccone, P., Vicente, R., Pautrat, E., Morvan-Bertrand, A., Decau, M.-L., Grigulis, K., Prud'homme, M.-P. & Lavorel, S. (2013) How extreme summer weather may limit control of *Festuca paniculata* by mowing in subalpine grasslands. *Plant Ecology & Diversity*.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. & Pereira, J.S. (2003) Understanding plant responses to drought — from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, **30**, 239–264.
- Cimini, S., Locato, V., Vergauwen, R., Paradiso, A., Cecchini, C., Vandenpoel, L., Verspreet, J., Courtin, C.M., D'Egidio, M.G., den Ende, W. & De Gara, L. (2015) Fructan biosynthesis and

- degradation as part of plant metabolism controlling sugar fluxes during durum wheat kernel maturation. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 89.
- Crawley, M.J. (2005) *Statistics: An Introduction Using R*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- den Ende, W. (2013) Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, **4**, 247.
- Engler, R., Randin, C.F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N.E., Araújo, M.B., Pearman, P.B., Le Lay, G., Piedallu, C., Albert, C.H., Choler, P., Coldea, G., De Lamo, X., Dirnböck, T., Gégout, J.-C., Gómez-García, D., Grytnes, J.-A., Heegaard, E., Høistad, F., Nogués-Bravo, D., Normand, S., Puşcaş, M., Sebastià, M.-T., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Trivedi, M.R., Vittoz, P. & Guisan, A. (2011) 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology*, **17**, 2330–2341.
- Garcia, P.M.A., Asega, A.F., Silva, E.A. & Carvalho, M.A.M. (2011) Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. *Plant Physiology and Biochemistry*, **49**, 664–670.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Gellrich, M. & Zimmermann, N.E. (2007) Investigating the regional-scale pattern of agricultural land abandonment in the Swiss mountains: A spatial statistical modelling approach. *Landscape and Urban Planning*, **79**, 65–76.
- Gonzalez, B., Boucaud, J., Salette, J., Langlois, J. & Duyme, M. (1989) Changes in stubble carbohydrate content during regrowth of defoliated perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) on two nitrogen levels. *Grass and Forage Science*, **44**, 411–415.
- Grassein, F., Lemauiel-Lavenant, S., Lavorel, S., Bahn, M., Bardgett, R.D., Desclos-Theveniau, M. & Laîné, P. (2015) Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. *Annals of Botany*, **115**, 107–115.
- Gross, N., Robson, T.M., Lavorel, S., Albert, C., Le Bagousse-Pinguet, Y. & Guillemin, R. (2008) Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *The New phytologist*, **180**, 652–662.

- Gross, N., Suding, K.N.K. & Lavorel, S. (2007) Leaf dry matter content and lateral spread predict response to land use change for six subalpine grassland species. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 289–300.
- Hendry, G. (1987) The ecological significance of fructan in a contemporary flora. *New Phytologist*, **106**, 201–216.
- Hendry, G. & Wallace, R. (1993) The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. *Science and technology of fructans* (eds M. Suzuki & N. Chatterton), pp. 119–139. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Hincha, D.K., Hellwege, E.M., Heyer, A.G. & Crowe, J.H. (2000) Plant fructans stabilize phosphatidylcholine liposomes during freeze-drying. *European Journal of Biochemistry*, **267**, 535–540.
- Hincha, D.K., Zuther, E., Hellwege, E.M. & Heyer, A.G. (2002) Specific effects of fructo- and gluco-oligosaccharides in the preservation of liposomes during drying. *Glycobiology*, **12**, 103.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A. & Buitink, J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, **6**, 431–438.
- Janeček, Š. & Klimešová, J. (2014) Carbohydrate storage in meadow plants and its depletion after disturbance: do roots and stem-derived organs differ in their roles? *Oecologia*, **175**, 51–61.
- Janeček, Š., Lanta, V., Klimešová, J. & Doležal, J. (2011) Effect of abandonment and plant classification on carbohydrate reserves of meadow plants. *Plant Biology*, **13**, 243–251.
- Johansson, G. (1993) Carbon distribution in grass (*Festuca pratensis* L.) during regrowth after cutting—utilization of stored and newly assimilated carbon. *Plant and Soil*, **151**, 11–20.
- Joudi, M., Ahmadi, A., Mohamadi, V., Abbasi, A., Vergauwen, R., Mohammadi, H. & Van den Ende, W. (2012) Comparison of fructan dynamics in two wheat cultivars with different capacities of accumulation and remobilization under drought stress. *Physiologia Plantarum*, **144**, 1–12.
- Klimeš, L. & Klimešová, J. (2002) The effects of mowing and fertilization on carbohydrate reserves and regrowth of grasses: do they promote plant coexistence in species-rich meadows? *Ecology and Evolutionary Biology of Clonal Plants: Proceedings of Clone-2000. An International Workshop held in Obergurgl, Austria, 20--25 August 2000* (eds J.F. Stuefer, B. Erschbamer, H. Huber & J.-I. Suzuki), pp. 141–160. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Krasensky, J. & Jonak, C. (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, **63**, 1593.
- Kuzyakov, Y., Biryukova, O., Kuznetsova, T., Mölter, K., Kandeler, E. & Stahr, K. (2002) Carbon partitioning in plant and soil, carbon dioxide fluxes and enzyme activities as affected by

- cutting ryegrass. *Biology and Fertility of Soils*, **35**, 348–358.
- Lenth, R. & Hervé, M. (2015) *Lsmeans: Least-Squares Means*. R package version 2.16, <http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>.
- Livingston, D.P., Hinch, D.K. & Heyer, A.G. (2009) Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **66**, 2007–2023.
- Morcuende, R., Kostadinova, S., Pérez, P., Del Molino, I.M.M. & Martínez-Carrasco, R. (2004) Nitrate is a negative signal for fructan synthesis, and the fructosyltransferase-inducing trehalose inhibits nitrogen and carbon assimilation in excised barley leaves. *New Phytologist*, **161**, 749–759.
- Morin, S., Lafaysse, M., Coleou, C. & Lejeune, Y. (2013) Will There (Still) Be Snow for the Upcoming Winter Holidays? On the Conditional Predictability of Snow Conditions Several Weeks to Months in Advance. *International Snow Science Workshop*, pp. 1171–1176. Grenoble - Chamonix Mont-Blanc, France.
- Morvan-Bertrand, A., Boucaud, J. & Prud'homme, M.-P. (1999) Influence of initial levels of carbohydrates, fructans, nitrogen, and soluble proteins on regrowth of *Lolium perenne* L. cv. Bravo following defoliation. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 1817.
- Munné-Bosch, S. & Alegre, L. (2004) Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, **31**, 203–216.
- Orsenigo, S., Mondoni, A., Rossi, G. & Abeli, T. (2014) Some like it hot and some like it cold, but not too much: plant responses to climate extremes. *Plant Ecology*, **215**, 677–688.
- Peshev, D., Vergauwen, R., Moglia, A., Hideg, É. & den Ende, W. (2013) Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? *Journal of Experimental Botany*, **64**, 1025.
- Pilon-Smits, E.A.H., Ebskamp, M.J.M., Paul, M.J., Jeuken, M.J.W., Weisbeek, P.J. & Smeekens, S.C.M. (1995) Improved Performance of Transgenic Fructan-Accumulating Tobacco under Drought Stress. *Plant Physiology*, **107**, 125–130.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. (2015) *{nlme}: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-127, <http://cran.r-project.org/package=nlme>.
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- R Core Team. (2015) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands

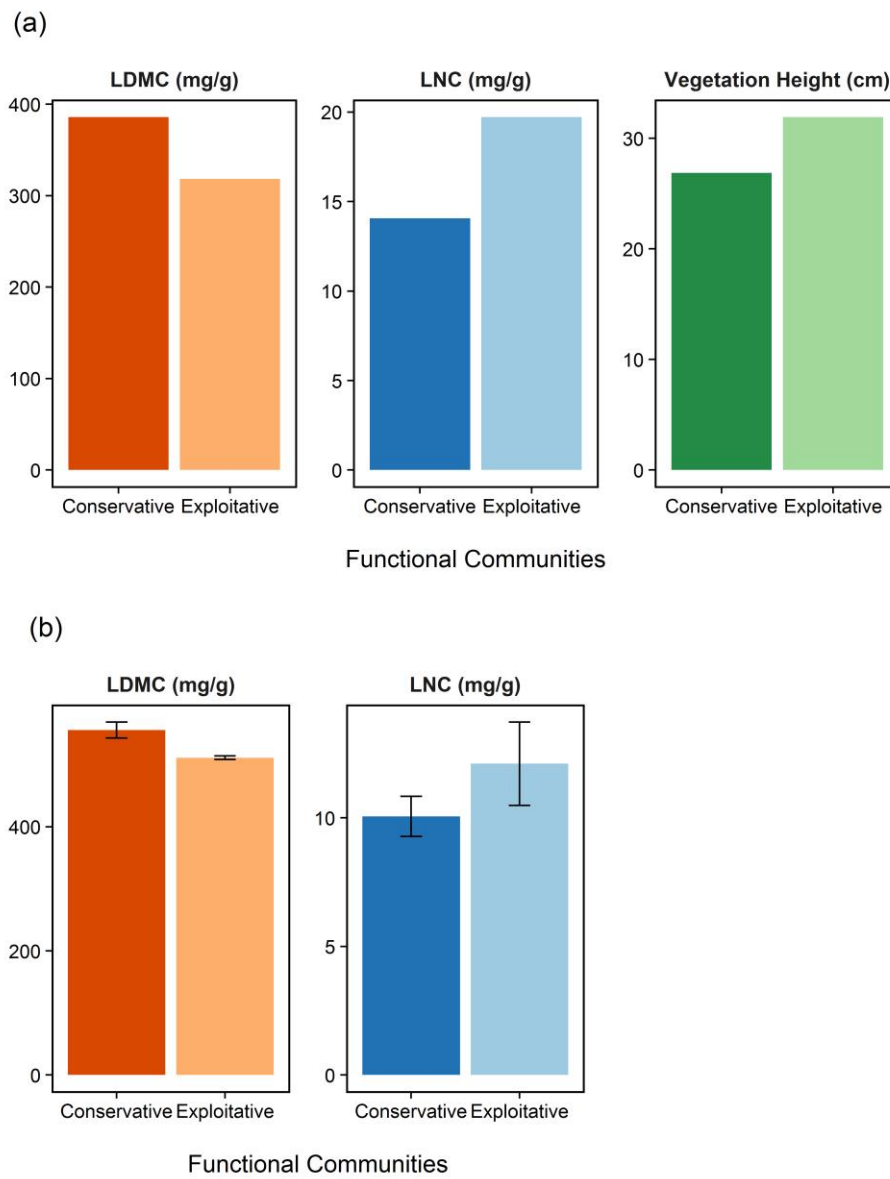
affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics.

Journal of Ecology, **98**, 62–73.

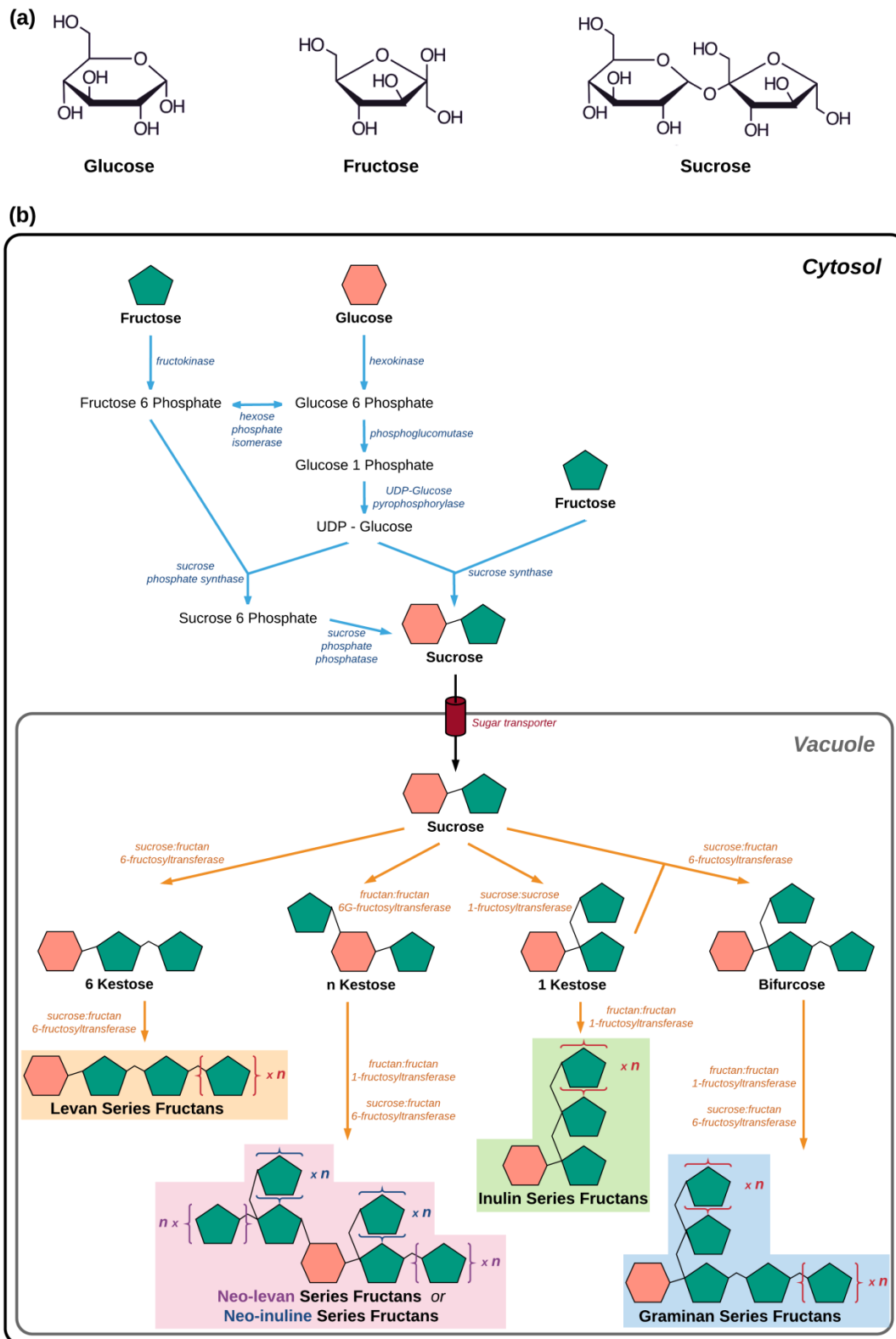
- Robson, T., Lavorel, S., Clement, J. & Roux, X. (2007) Neglect of mowing and manuring leads to slower nitrogen cycling in subalpine grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 930–941.
- Salinas, C., Handford, M., Pauly, M., Dupree, P. & Cardemil, L. (2016) Structural Modifications of Fructans in *Aloe barbadensis* Miller (Aloe Vera) Grown under Water Stress. *PLOS ONE*, **11**, 1–24.
- Schmitt, A., Pausch, J. & Kuzyakov, Y. (2013) Effect of clipping and shading on C allocation and fluxes in soil under ryegrass and alfalfa estimated by ¹⁴C labelling. *Applied Soil Ecology*, **64**, 228–236.
- Spollen, W.G. & Nelson, C.J. (1994) Response of Fructan to Water Deficit in Growing Leaves of Tall Fescue. *Plant Physiology*, **106**, 329–336.
- Tappeiner, U. & Bayfield, N. (2004) Management of mountainous areas. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)* (ed W. Verbeye), pp. 1–17. UNESCO Eolss Publishers, Oxford, UK.
- Tarkowski, L.P. & den Ende, W. (2015) Cold tolerance triggered by soluble sugars: a multifaceted countermeasure. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 203.
- Valluru, R. & den Ende, W. (2008) Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects. *Journal of Experimental Botany*, **59**, 2905.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Demel, R.A., Smeekens, S.C.M. & Kruijff, B. De. (2001) Fructans insert between the headgroups of phospholipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, **1510**, 307–320.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Hoekstra, F.A., Smeekens, S.C.M. & de Kruijff, B. (2003a) The Effect of Fructan on Membrane Lipid Organization and Dynamics in the Dry State. *Biophysical Journal*, **84**, 3759–3766.
- Vereyken, I.J., Chupin, V., Islamov, A., Kuklin, A., Hinch, D.K. & Kruijff, B. de. (2003b) The Effect of Fructan on the Phospholipid Organization in the Dry State. *Biophysical Journal*, **85**, 3058–3065.
- Viard-Cr  tat, F., Gallet, C., Lefebvre, M. & Lavorel, S. (2009) A leachate a day keeps the seedlings away: mowing and the inhibitory effects of *Festuca paniculata* in subalpine grasslands. *Annals of botany*, **103**, 1271–1278.
- Vionnet, V., Brun, E., Morin, S., Boone, A., Faroux, S., Le Moigne, P., Martin, E. & Willemet, J.-M. (2012) The detailed snowpack scheme Crocus and its implementation in SURFEX v7.2. *Geoscientific Model Development*, **5**, 773–791.

- Vittoz, P., Selldorf, P., Eggenberg, S. & Maire, S. (2005) Les pelouses à *Festuca paniculata* du Tessin (Suisse) dans un contexte Alpin. *Botanica Helvetica*, **115**, 33–48.
- Wang, C., Van den Ende, W. & Tillberg, J.-E. (2000) Fructan accumulation induced by nitrogen deficiency in barley leaves correlates with the level of sucrose:fructan 6-fructosyltransferase mRNA. *Planta*, **211**, 701–707.
- Wang, C. & Tillberg, J.-E. (1996) Effects of nitrogen deficiency on accumulation of fructan and fructan metabolizing enzyme activities in sink and source leaves of barley (*Hordeum vulgare*). *Physiologia Plantarum*, **97**, 339–345.
- White, L.M. (1973) Carbohydrate Reserves of Grasses: A Review. *Journal of Range Management*, **26**, 13–18.
- Wiemken, A., Sprenger, N. & Boller, T. (1995) Fructan: an extension of sucrose by sucrose. *Sucrose Metabolism, Biochemistry, Physiology and Molecular Biology* (eds H. Pontis, G. Salerno & E. Echeverria), pp. 178–189. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, USA.
- Yoshida, M., Abe, J., Moriyama, M. & Kuwabara, T. (1998) Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. *Physiologia Plantarum*, **103**, 8–16.
- Zeiter, M., Stampfli, A. & Newbery, D.M. (2006) Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology*, **87**, 942–951.

5.9 - APPENDICES

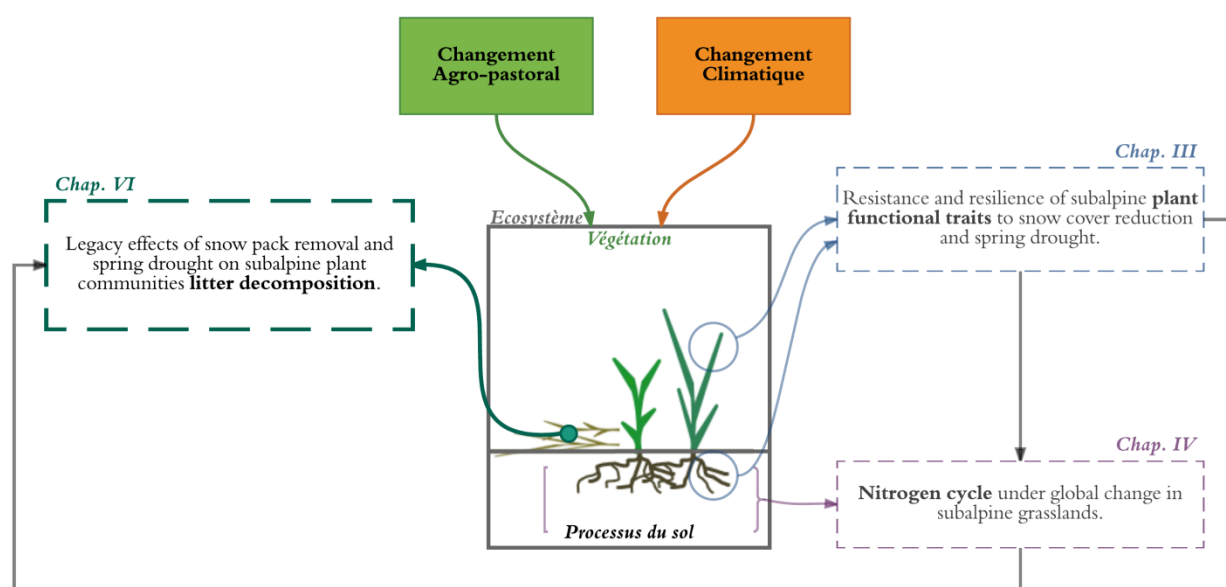


APPENDIX I. Theoretical (a) and realized (at experiment ending in control communities, b) functional gradient of assembled communities. LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.



APPENDIX II. Structure and metabolic pathways of different fructans types in plants. Fructans are synthesized starting from Sucrose, itself derivate from both Glucose and Fructose. In higher plants, fructans are classified into four structurally distinct major categories depending on the position of the glucosyl unit and on the type of glycosidic linkage between fructosyl residues: inulin, levan, graminan and neoseries fructan. Cytosolic Sucrose biosynthesis reactions and associated enzymes are represented in blue. Vacuolar Fructan biosynthesis reactions and associated fructosyl-transferases enzymes are represented in orange (Diagram adapted from Cimini *et al.* 2015; Tarkowski & den Ende 2015; Salinas *et al.* 2016).

CHAPITRE 6 : ARTICLE 4



LEGACY EFFECTS OF SNOW PACK REMOVAL AND SPRING DROUGHT ON LITTER DECOMPOSITION IN SUBALPINE PLANT COMMUNITIES.

Lionel Bernard^{1*}, Arnaud Foulquier¹, Christiane Gallet², Sandra Lavorel¹ & Jean-Christophe Clément^{1,3}.

In prep.

¹ *Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553, Université Grenoble Alpes, BP 53, 38041 Grenoble cedex 09, France*

² *Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR CNRS 5553, Université Savoie Mont Blanc, Campus scientifique, 73376 Le Bourget du Lac cedex, France*

³ *Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques et les Écosystèmes Limniques, UMR INRA A42, Université Savoie Mont Blanc, Campus scientifique, 73376 Le Bourget du Lac cedex, France*

Keywords: subalpine grasslands, environmental change, drought, snowmelt, mowing, fertilization, functional composition, nutrient cycling, plant litter decomposition

6.1 - ABSTRACT

In subalpine nutrient-poor grasslands of the central French Alps, litter decomposition occurs mainly during winter under the snowpack. It represents a major ecological process controlling and interacting with soil nutrient availability, plant community composition as well as soil microbial structure and activities. Litter decomposition relies on litter quality and quantity which are related to plant community composition and the agricultural activities. It also depends on climatic parameters such as air and soil temperature and moisture. In marginal subalpine grasslands, these proximal controls of litter decomposition are likely to be strongly impacted by ongoing land use and climatic changes.

The present study aimed at disentangling the direct and indirect effects of climatic stresses and managements on subalpine grasslands litter decomposition. Two contrasted assembled plant communities (Exploitative vs Conservative) were grown in a homogenized subalpine soil in a common garden at 2100 m a.s.l. They were submitted to combinations of climatic events (snow removal plus drought or control) and land-uses (mowing plus fertilization or unmanaged). After 2.5-years, litter bags were filled with leaf material from each community's and from a standard species, and incubated on the treated soils for seven months.

Overall, we found that quantitative and qualitative leaf litter were stronger determinants of litter decomposition than soil biotic activity under climate changes. Combined drought and earlier snowmelt lower N availability as a consequence of slowdown decomposition rates. In unmanaged communities, decomposition rates were mainly impacted by direct legacy effects of climatic events on soil biotic activities. Standard litter decomposition kinetics demonstrated that soil biotic activities in unmanaged exploitative communities were negatively impacted by climatic stresses, but with no consequences on community litter decomposition thanks to its quality. When mowing and fertilization occurred, both direct and indirect legacy effects controlled litter decomposition with, again, a prevailing impact of litter quality. Indeed, climate change strongly reduced conservative litter decomposition rates *via* lowering litter N content, whereas neither litter quality nor decomposition were impacted in exploitative community. In fact, standard litter decomposition patterns prove that management practices compensated the negative effect of climate change on soil biotic activity.

Finally, feedback loops on the long term between climatic extreme events, litter decomposition and plant functional community composition in subalpine grasslands may lessen the beneficial effect of typical agricultural practices to constrain conservative plant species expansion.

6.2 - INTRODUCTION

Decomposition of organic matter is a key ecosystem process which contributes to most biogeochemical cycles (Aerts 1997; Chapin, Matson & Vitousek 2011). As roughly 90% of global terrestrial plant production enters the dead organic matter pool (Cebrian 1999), its decomposition regulates the release of nutrients in the soil (Berg & Laskowski 2006), and the release of photosynthetically fixed carbon back to the atmosphere (Gholz *et al.* 2000; Scherer-Lorenzen 2008). Dead plant residues are fragmented, partially incorporated in soil organic matter, and decomposed or stabilized mainly through microbial activities (Van Der Heijden, Bardgett & Van Straalen 2008; Garcia-Pausas *et al.* 2012). Litter decomposition is controlled by three main factors: (1) microclimate conditions (i.e., temperature, humidity, UV radiation); (2) litter quality (i.e. chemical and physical characteristics) and (3) the functional diversity and abundance of the decomposer community (Swift, Heal & Anderson 1979; Coûteaux, Bottner & Berg 1995; Hättenschwiler, Tiunov & Scheu 2005; Bardgett *et al.* 2005; Austin & Vivanco 2006). In mountain temperate regions, subalpine grasslands sustain important ecological, social and economic values as they support key ecosystem services (Grêt-Regamey, Brunner & Kienast 2012; Haida, Rüdiger & Tappeiner 2016; Zoderer *et al.* 2016). Litter decomposition in these usually nutrient-poor grasslands represents a major ecological process controlling nutrient availability, soil carbon storage, and the soil microbial and plant communities' composition (Cornelissen *et al.* 2007; Quétier, Thébault & Lavorel 2007b; Robson *et al.* 2010). Climate and land use changes are expected to cause alteration of mountain biodiversity and functioning (Dirnböck, Dullinger & Grabherr 2003; Niedrist *et al.* 2008; Engler *et al.* 2011); respectively through changes in both winter and summer precipitations, including changes in snow cover duration as well as an increased frequency of extreme weather events such as summer drought (Bahn *et al.* 2014; Gobiet *et al.* 2014), and through changes in agricultural practices, including shift of traditional mowing towards extend grazing or land abandonment (Fischer & Wipf 2002; Tasser & Tappeiner 2002; Quétier *et al.* 2007a). All three factors controlling decomposition will be potentially impacted by climate and management practices and consequently may influence the decomposition process *via* direct and indirect effects.

Changing climate is likely to alter decomposition processes on the short term directly through (1) changes in soil moisture or temperature which affect soil community composition and activity, and indirectly through (2) chemical changes of litter within individual plants (Hobbie 1996; Aerts 1997, 2006; Cornelissen *et al.* 2007; Parton *et al.* 2007). In mountain ecosystems, significant litter mass loss coupled with carbon and nutrient cycling occur during winter (Baptist & Choler 2008; Gessner *et al.* 2010; Saccone *et al.* 2013). This winter decomposition is permitted by the insulating

properties of the snowpack which maintains near zero temperatures at the snow/soil interface (Zhang 2005; Saccone *et al.* 2013). The failure of insulation induced by a thinner snowpack as a result of climate change could lead to colder soil conditions with more frequent freeze-thaw event (Bardgett *et al.* 2005; Bokhorst *et al.* 2010; Kreyling, Beierkuhnlein & Jentsch 2010), especially in early spring due to advance snowmelt date. These rapid temperature changes are likely to impact soil organisms and their activities (Schimel, Balser & Wallenstein 2007; Feng, Nielsen & Simpson 2007; Bokhorst *et al.* 2012) including litter decomposition (Wu *et al.* 2010; Baptist, Yoccoz & Choler 2010; Saccone *et al.* 2013). Additionally, snowmelt has long lasting effects on spring and summer soil moisture (Edwards, Scalenghe & Freppaz 2007). Consequently, a thinner snowpack due to climate change could also influence litter decomposition through water scarcity. Indeed, drought negatively affect decomposition as a consequence of a direct reduction in soil heterotrophic respiration induced by limited water availability, implying therefore lower microbiological activity (Gessner *et al.* 2010; Bloor & Bardgett 2012; Sanaullah *et al.* 2012; Walter *et al.* 2013). In addition to a direct effect through environmental parameters, drought can also strongly influence leaf litter quality, especially its N concentration, C:N ratio and polyphenol concentrations that control its decomposability (Aerts 1997; Gartner & Cardon 2004; Zhang *et al.* 2008; Cornwell *et al.* 2008). Drought generally favors litter with higher C:N ratio, as a result of limited soil fertility and leaf productivity, which decomposes more slowly than litter with lower C:N (Aerts 1997; Parton *et al.* 2007). Thus, the variations of litter carbon and nutrient contents due to climatic events could strongly affect the abundance and activity of the decomposers leading to changing rates of decomposition (Melillo, Aber & Muratore 1982; Taylor, Parkinson & Parsons 1989).

Agricultural practices such as mowing and fertilization can significantly alter decomposition on the short term by changing leaf and soil quality. Increased soil N availability promotes plant tissue N concentrations which enhances litter quality and subsequently accelerates litter decay (Manning *et al.* 2008). However, nitrogen addition has also been found to inhibit decomposition (Hobbie 2008; Tu *et al.* 2014). Mowing also impacts litter quality through a reduced shoot:root ratio or higher nitrogen concentrations in resprouting leaves (Walter *et al.* 2012), which consequently alters decomposition.

Besides this short term effects, environmental changes are likely to modify plant community composition as plants partially control nutrient availability *via* litter quality and quantity, and through their cascading effect on plants mineral nutrition and functional trait values (Hobbie 1992; Aerts 1999; Wardle *et al.* 2004; Ehrenfeld, Ravit & Elgersma 2005). Variations of litter formation and decomposition kinetics between functionally contrasted plant species in response to environmental change may induce shift in plant functional composition on the long term. For

instance, plant species with resource acquisition strategies (exploitative) produce higher-quality tissues favoring soil food web activities and consequently faster decomposition, whereas species with resource conservation strategies (conservative) produce longer-lived, nutrient poorer, and more recalcitrant tissues that decompose slowly (Cornelissen 1996; Wardle *et al.* 1998, 2004; Cornwell *et al.* 2008).

Despite their potentially important role in regulating nutrient cycling and ecosystem function, the combined influence of climate and land use changes on litter decomposition remains largely understudied (e.g. Walter *et al.* 2013; Schuster 2016). Moreover, the interactive effects of winter (earlier snowmelt) and summer (drought) extreme events on litter decomposition have never been investigated to our knowledge.

In present study, we aimed to (1) evaluate how plant community functional composition affects community-level leaf litter decomposition rates and N dynamics, (2) investigate how combined mowing and fertilization alter these patterns, and (3) determine the outcome of combined summer drought and earlier snowmelt on community leaf litter decomposition. For this purpose, in a common garden experiment in the central French Alps, we assembled two functionally contrasted plant communities in terms of resource-use strategies. Combinations of climatic stresses (snow removal and drought) and management (fertilization and mowing) were applied, and the community-level leaf litter decomposition was quantified using litterbags. Following the conceptual model of direct and indirect effects on litter decomposition, we hypothesized that (1) litter decay is greater in exploitative compared to conservative communities as a result of the nutrient composition of their litters, (2) fertilization and mowing enhance litter decomposition by improving litter quality, (3) combined drought and early snowmelt constrain litter decay due to negative impact on leaf quality and on soil microbial activities and (4) these climate manipulations lessen the promoting effect of combined fertilization and mowing on decomposition.

6.3 - MATERIAL AND METHODS

STUDY SITE

The experiment was located in a common garden at the Station Alpine Joseph Fourier near the Col du Lautaret (45°02'13''N, 6°24'01''E, 2100-m a.s.l.) in the central French Alps. The climate is subalpine with a pronounced continental influence. Mean annual precipitation is 956 mm, most of which falls as snow during winter, and there is a pronounced summer drought with only 18% of the annual rainfall occurring during summer. Mean monthly temperatures range between -7.4°C in February and 19°C in July. The growing season starts after snowmelt, between mid-April and early May, and finishes at the early autumn (October).

STUDY SPECIES AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS

In this study we focused on grass species, which make up 50% to 80% of the total cover of the subalpine grasslands at the study site (Gross, Suding & Lavorel 2007). The study site is characterized by a mosaic of grasslands of different fertility levels resulting from an abandonment of mowing in favor of light grazing since the end of WWII. In fertilized mown meadows, conservative (i.e. low SLA, leaf nitrogen concentration and high leaf dry matter content) and exploitative species (with opposite traits) represent about half of the total biomass each. In unfertilized pastures, conservative species are dominant, with up to 80% of the total biomass (Quétier *et al.* 2007b). Subalpine grasslands are exclusively dominated by perennial vegetation where recruitment events are rare (Zeiter, Stampfli & Newbery 2006). For this reason, we choose to focus on the adult stage and used tillers collected from the field. All plants were collected in the neighboring subalpine grasslands, on the south-facing aspect of the commune of Villard d'Arène (45.04°N, 6.34°E), ranging from 1700 to 2100-m a.s.l (detailed description in Quétier *et al.* 2007).

We selected three locally abundant perennial tussock grasses along a gradient of conservative-exploitative resources use based on their leaf dry matter content (LDMC), leaf nitrogen content (LNC) and vegetative height: the highly conservative *Patzkea paniculata* (L.) G.H.Loos (formerly *Festuca paniculata* (L.) Schinz & Thell.), which has tough, fibrous leaves and high leaf C/N; the more exploitative *Dactylis glomerata* (L.), which has thinner and tender leaves, higher specific leaf area and lower leaf C/N relative to the local grass species pool (Gross *et al.* 2007); and *Bromopsis erecta* (Huds.) Fourr. as a functional intermediate.

EXPERIMENTAL DESIGN

In late July 2012, single tillers of the three species were separated from large tussocks and planted in individual pots filled with potting soil. One month later, they were planted in larger pots (Ø 45-cm, h 50-cm) filled with *in situ* sieved (5-mm) and homogenized soil from nearby grasslands (homogeneous calc-shale substrate, only keeping the -10 to -50-cm depth soil fraction), after a brief preliminary root wash to minimize potting soil contamination.

In each pot, 36 individual plants were established to obtain contrasted community weighted mean traits (Garnier *et al.* 2004; Appendix I) according to the following design:

‘**Exploitative**’ treatment: **27** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **three** *P. paniculata* individuals

‘**Conservative**’ treatment: **three** *D. glomerata*, **six** *B. erecta* and **27** *P. paniculata* individuals

In each distinct plant community, the 36 individuals’ tillers were transplanted according to the same spatial scheme. In total, 32 pots were set, with 16 replicates of two distinct plant mixtures/communities. They were inserted into the ground so that their top was a few centimeters above the soil surface to avoid runoff. The bottom of each pot contained a drain which was drilled on the bottom side to limit root growth outside the pots. They were distributed within a plot experimental design (Fig. 6.1). Two water-related treatments, earlier snow removal with spring drought (SR + D) and natural snowmelt with normalized watering (Control), were assigned to eight 3*3m plots. Each of these plots contained four pots with each of the two experimental plant community repeated twice and randomly set in a square way. Two management-related treatments were assigned to each half of the paired plant communities, namely mowing with fertilizing (MF) and unmanaged (NMF). After this 2012 experimental set-up we conducted three successive years of experimental manipulation (Fig. 6.2).

The SR treatment consisted of snow removal by shoveling one month earlier than the end of the natural snowmelt, which was assessed using a combination of snowpack measurement throughout winter (Snow Water Equivalent and snow depth), with the detailed snowpack model SURFEX/ISBACrocus prediction (Morin *et al.* 2013) based on the French reanalysis SAFRAN in mountain regions (Durand *et al.* 2009; Vionnet *et al.* 2012) and on-field observations. The D treatment consisted of a 4 to 8 weeks period during the growing period without water addition (the late timing of the first D treatment reflects difficulties during the experimental set up). For all plots, precipitations were intercepted by transparent shelters installed after snow melt and removed in late September. Under the shelters, plant communities were watered manually each week to complement water losses due to evapotranspiration, which were assessed by ETP0 formula of Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998), and implemented with meteorological variables recorded

under shelter by a Hobo weather station (Onset Computer Corporation, MA, USA). When this station was not in place on the experimental area (mainly during winter seasons), meteorological parameters were monitored using the ROMMA weather station (Réseau d'Observation Météo du Massif Alpin) of Col du Lautaret, located at 120-m from our experimental area. The MF plant communities were fertilized after the first snow melt with 17.55-g (to reach the equivalent of 150-kgN.ha⁻¹) of slow release fertilizer (13-13-13 +2 MgO + oligoelements, Nutricote, Fertil, France) and mown once a year following farmers practices at peak vegetation. Mowing consisted in cutting the sward to 10-cm above soil surface and exporting the cut biomass. The NMF paired communities were left unmanaged (Not Mown and Fertilized).

In autumn 2014, eight Hobo Pendant Temperature probes (Onset Computer Corporation, MA, USA) were installed in one replicate of each treatments' combination to monitor soil temperature at 15-cm depth.

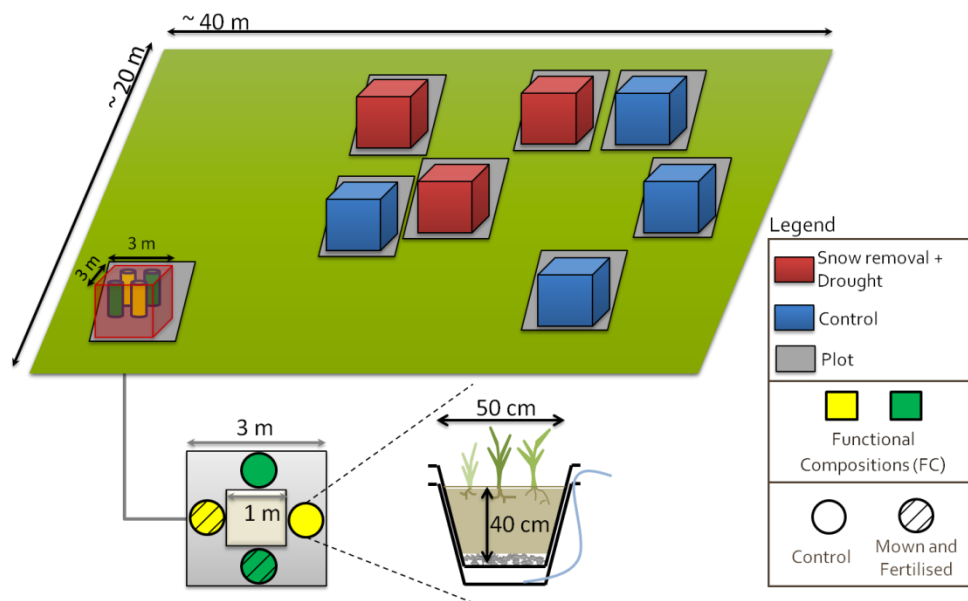


Figure 6.1. Field experimental design.

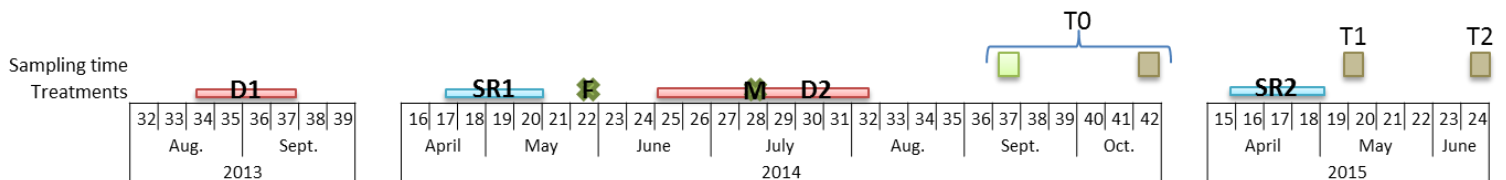


Figure 6.2. Calendar of experimental treatments and data collection. D: Drought; SR: Snow removal; F: Fertilization; M: Mowing; Green square: Vegetation harvest; Brown square = Litter-bags setup (T₀) and collection (T₁ & T₂); n=4.

DECOMPOSITION EXPERIMENT

Overall, management and climatic treatments did not alter the composition of the assembled plant communities after two years, (see chapter III), thus our decomposition experiment focused on community-level litter chemical changes caused by intraspecific changes in plant traits (Jung *et al.* 2014).

At this subalpine site, substantial winter decomposition has been observed, especially under a thick snowpack (Saccone *et al.* 2013). We therefore assessed the direct and indirect effects of community composition and environmental manipulation on winter-spring decomposition. In September 2014 (about 6 weeks after the end of the second drought period), the aboveground biomass was clipped, harvested, dried (7-d at 60°C), and weighted at the species level for each pot. Then, we prepared one hundred milligrams dry mass of the three species in the same relative proportions as the aboveground biomass for each community and replicate. The bulked dry leaves were then put in 8*8-cm fiberglass litter bags with 2-mm mesh size (Fly Screen Fabric, Windhager, Austria) and only still green leaves part were considered. Thus this experiment focused on microbial decomposition, which dominates in alpine and cold systems where especially macrofauna is temperature-limited (Bardgett *et al.* 2005) and considered that decomposition of green material is representative of litter decomposition after senescence (Fortunel *et al.* 2009; Kazakou *et al.* 2009). Two litter bags were prepared per pot, corresponding to two collection times (see hereafter). In order to disentangle the potential effects of climate/management treatments on leaves quality and on microbial decomposers, an additional litter bag was filled with 1.000-g of standard litter of *Patzkea paniculata* swards collected in natural grassland adjacent to the common garden. In each pot, two “community” litter bags and one standard litter bag were placed on the ground. Therefore, for each community treatment and replicate, three litter bags were installed, combining functionally contrasted communities (Exploitative vs Conservative), climate (Control and SR+D) and management (with / without) for a total of 96 litter bags (3*2*2*2*4 reps). The decomposition experiment started mid-October 2014 (T_0) with harvest in mid-May 2015 (T_1 , half of the experimental community litter bags) or mid-June 2015 (T_2 , second half of experimental community litter bags **and** standard *P. paniculata* litter). After collection, the decomposed leaves were carefully retrieved from the litter bags and dried for 7-d at 40 °C. The remaining litter mass at each sampling time t was expressed in the percentage of initial litter mass ($RL_t = 100 * M_t / M_i$). The rates of litter loss were calculated as: $R_t = 100 * (M_i - M_t) / (M_i * d)$, where R_t was the rate of litter loss in percentage per day from T_0 to considered time t , M_t the litter mass weighted at the time t , M_i the initial litter mass weighted and filled in the litter bag and “ d ” the day numbers from T_0 to considered time t .

Vegetation and litter chemical analyses

At T_0 , in each pots, the whole aboveground biomass per community was weighted fresh and dry (7-d at 60°C) to calculate aboveground dry matter content (DMC, calculated as the dry weight of the aboveground biomass relative to its fresh mass) at the community level. Additionally, in each pot, a sub-sample (10-mg) was randomly taken from the harvested leaves per species, dried (7-d at 60 °C), ground to powder, and analyzed for carbon and nitrogen concentrations using a CHN elemental analyzer (FlashEA 1112, ThermoFisher Scientific, MA, USA). Leaf nitrogen and carbon contents (LNC & LCC, mg.g^{-1}) were first calculated at the community level (community weighted mean values calculated using abundances based on biomass values present in each litter bag) and then expressed in leaf nitrogen and carbon content percentage of dry mass.

At T_1 and T_2 , the whole dried decomposed material from litter bag was ground and analyzed for carbon and nitrogen concentration as previously described. Litter nitrogen and carbon concentration were expressed as percentage of dry litter mass to disentangle the effect of litter weight loss during decomposition from N and C concentration variation.

STATISTICAL ANALYSIS

Split-plot linear mixed-model analysis of variance (ANOVA) was used to test the effects of snow removal + drought, functional composition and mowing-fertilization on the climatic variables and on the different decomposition variables throughout the experiment. Models were fitted by the restricted maximum-likelihood (REML) method using the 'lme' function from the 'nlme' package (Pinheiro *et al.* 2015) in the free R software version 3.2.1 (R Core Team 2015) and plot was specified at the random error structure (Crawley 2005).

For continuous climatic measurements, each variable was first averaged by day and secondly averaged by time period ranging from the beginning of the 2015 season to each sampling event. Due to climate data logger restriction, only the snow removal and drought treatment were set as fixed effects.

For decomposition variables, the effects of all treatments were analyzed at each sampling time. Where necessary, data was transformed to achieve normality and homoscedasticity. The significance threshold was fixed to 0.05. When a significant effect was observed, post hoc comparisons of means using Tukey contrasts were conducted with the 'lsmeans' package (Lenth & Hervé 2015).

6.4 - RESULTS

Climate treatments effects on meteorological and soil variables

Drought and snow removal (i.e. SR+D) significantly affected several micro-climate variables. In September 2014 (T_0), six weeks after the end of the second drought, all variables were impacted except for daily minimal soil temperature: SR+D decreased mean soil moisture and all air temperature variables, and increased all soil temperature variables (Table 6.1). Similarly, at the end of the natural snowmelt period (T_1), earlier snow removal increased all soil temperature variables and decreased all air temperature variables (Table 6.1). Concomitantly, early snow removal led to increased water availability due to soil exposure to early spring rainfalls from mid-April to mid-May 2015. Interestingly, in June 2015 (T_2), four weeks after the end of natural snowmelt period, differences in micro-climate variables observed at T_1 still persisted except for daily minimal soil temperature (Table 6.1).

Table 6.1. Mean $\pm$ SE daily climate variables from the beginning of the 2014 and 2015 season to each sampling event. Control: natural snowmelt and normalized watering, SR+D: early snow removal and summer drought event. Mean: mean daily value, Min: minimal daily value, Max: maximal daily value, Amp: daily range value. TSoil: soil temperature, MSoil: soil moisture, TAir: air temperature, MAir: air relative moisture. Italic letters indicate significant differences inside each variable column and period ($p < 0.05$).

	Mean TSoil (°C)	Min TSoil (°C)	Max TSoil (°C)	Amp TSoil (°C)	Mean MSoil	Rain (mm)
T0 - 2014 - 04/14 → 09/14						
Control	9.0 $\pm$ 0.1a	6.9 $\pm$ 0.1a	11.5 $\pm$ 0.1a	4.6 $\pm$ 0.1a	0.22 $\pm$ 0.034a	246.4
SR+D	9.7 $\pm$ 0.2b	6.9 $\pm$ 0.1a	13.3 $\pm$ 0.4b	6.4 $\pm$ 0.4b	0.11 $\pm$ 0.006b	220.3
T1-2015 - 04/10 → 05/11						
Control	3.24 $\pm$ 0.32a	1.36 $\pm$ 0.15a	6.35 $\pm$ 0.71a	4.99 $\pm$ 0.58a	-	20.00
SR+D	6.78 $\pm$ 0.17b	2.31 $\pm$ 0.10b	14.57 $\pm$ 0.58b	12.26 $\pm$ 0.53b	-	97.80
T2-2015 - 04/10 → 06/10						
Control	6.66 $\pm$ 0.13a	3.20 $\pm$ 0.17a	12.60 $\pm$ 0.26a	9.39 $\pm$ 0.34a	-	22.80
SR+D	8.22 $\pm$ 0.08b	3.47 $\pm$ 0.09a	16.40 $\pm$ 0.31b	12.93 $\pm$ 0.31b	-	100.60
	Mean TAir (°C)	Min TAir (°C)	Max TAir (°C)	Amp TAir (°C)	Mean MAir (°C)	-
T0 - 2014 - 04/14 → 09/14						
Control	9.4	5.3	14.6	9.2	80.5	-
SR+D	8.2	4.3	13.2	8.9	79.7	-
T1-2015 - 04/10 → 05/11						
Control	8.19	3.78	13.22	9.44	69.63	-
SR+D	5.36	1.69	9.85	8.16	70.08	-
T2-2015 - 04/10 → 06/10						
Control	7.96	3.70	12.98	9.28	72.32	-
SR+D	6.56	2.63	11.30	8.67	71.59	-

Treatments effects on standard litter decomposition

There was a significant overall standard litter mass loss during winter and spring (from T_0 to T_2 , from 44 to 51%, Table 6.2, data not shown).

Rates of litter mass loss and percentage of litter N concentration were both sensitive to the three treatments interaction and showed similar response patterns (Table 6.2). Standard litter C/N ratio variations were paralleled litter N variations (Table 6. 2), whereas standard litter C concentrations were not sensitive to any factors (Table 6.2).

Under NMF, higher rates of standard litter mass loss occurred on soil from exploitative than from conservative communities (Fig. 6.3). Additionally, standard litter mass loss and N concentrations were lower when decomposing on soil from exploitative communities subjected to climate manipulation (Fig. 6.3).

Management treatments did not induce strong variations in rates of standard litter mass loss or percentage of standard litter N concentration (Table 6.2, Fig. 6.3). Mowing and fertilization overrode the effect of functional composition and decreased rates of standard litter mass loss (only with *post hoc* Tukey test: $p < 0.1$) and percentage of standard litter N concentration independently from functional composition (Table 6.2, Fig. 6.3).

Table 6.2. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on standard *P. paniculata* litter masses, litter loss rates and litter C concentration, N concentration and C/N ratio. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and *n* indicate sample size.

	<i>n</i>	Litter mass		Rate of litter loss		Litter C		Litter N		Litter C/N ratio	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
June 2015 - T2											
Climatic	16	12.0	0.013	12.5	0.012	0.2	0.705	23.2	0.003	35.5	0.001
Management	16	0.1	0.749	0.1	0.713	0.4	0.532	12.4	0.002	8.4	0.010
Functional Composition	16	1.7	0.207	1.9	0.189	2.0	0.179	2.4	0.135	0.3	0.576
Clim : Management	8	0.3	0.565	0.3	0.595	0.3	0.580	0.9	0.345	1.0	0.336
Clim : FC	8	6.8	0.018	7.1	0.016	0.2	0.626	1.1	0.312	2.5	0.132
Management : FC	8	9.3	0.007	9.1	0.007	0.1	0.817	10.8	0.004	10.1	0.005
Clim : Management : FC	4	5.1	0.037	4.9	0.040	0.2	0.676	4.6	0.046	7.8	0.012

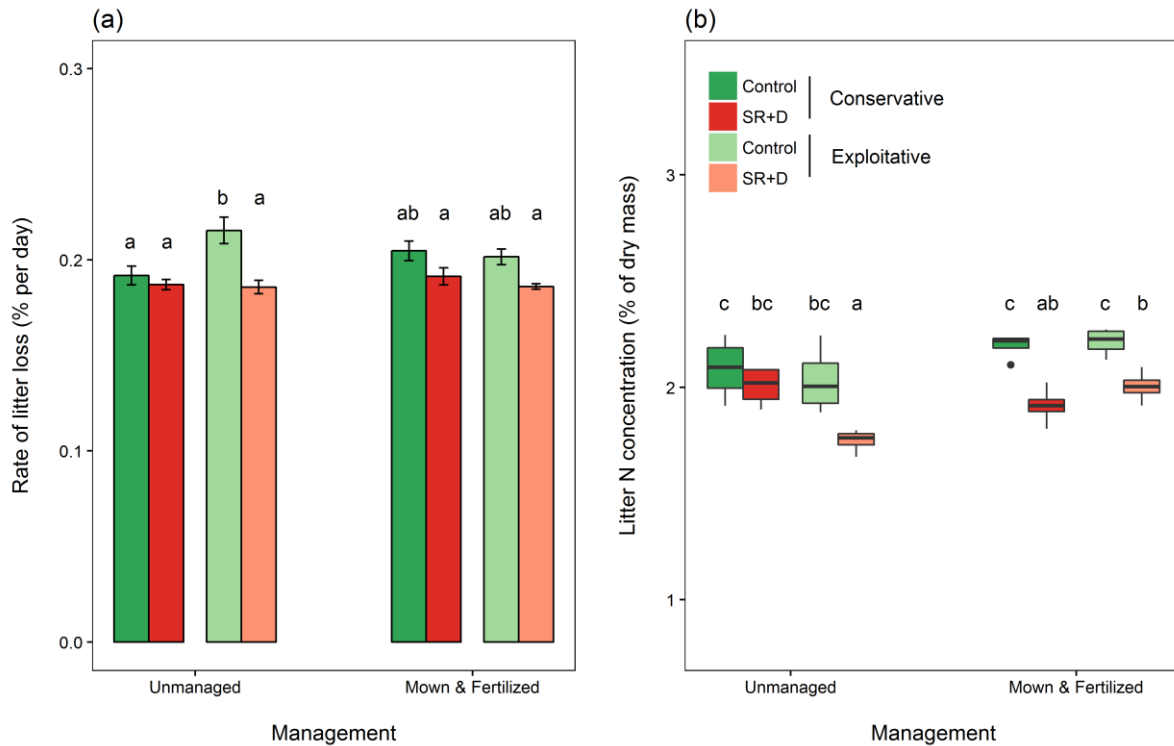


Figure 6.3. Effects of climate and management treatments on **standard *P. paniculata* litter** decomposition rates at T_2 in percentage of initial dry mass per day **(a)**, and litter nitrogen concentration **(b)** on soils grown with conservative and exploitative communities. (a) Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=4$). (b) Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=4$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each bar or box correspond to the result of the Tukey's test, and bars or boxes that do not share any letter are significantly different.

Treatments effects on autumn green leaf chemistry

Leaf chemistry was responsive to all treatments (Table 6.3). MF was the most critical factor as it strongly decreased DMC (Fig. 6.4a) and strongly increased LNC (Fig. 6.4b). Under NMF, leaf chemistry did not respond neither to functional composition nor to climate treatments (Fig. 6.4a & b), however conservative communities DMC was slightly higher under SR+D, while LNC tended to be higher in exploitative than conservative communities (*post hoc* Tukey test: $p < 0.1$). Contrastingly, under MF, SR+D increased DMC only in conservative communities and increased LNC only in exploitative communities (Fig. 6.4a & b). As LCC was not sensitive to any treatment, leaf C/N ratio variations were mainly driven by LNC changes (Appendix II & III).

Table 6.3. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on aboveground dry matter contents (DMC), C contents, N contents and C/N ratio. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and n indicate sample size.

	DMC			LCC		LNC		Leaf C/N ratio	
Oct. 2014 - T0	n	F	P	F	P	F	P	F	P
Climatic	16	18.4	0.005	0.0	0.976	1.8	0.229	0.0	0.992
Management	16	494.8	<0.001	0.4	0.515	558.4	<0.001	205.6	<0.001
Functional Composition	16	7.1	0.016	0.1	0.724	5.8	0.027	4.2	0.056
Clim : Management	8	5.7	0.028	1.3	0.273	8.5	0.009	1.3	0.265
Clim : FC	8	5.8	0.027	0.3	0.583	7.5	0.013	1.8	0.195
Management : FC	8	0.0	0.978	1.0	0.332	0.3	0.567	3.0	0.103
Clim : Management : FC	4	1.9	0.180	0.8	0.380	2.2	0.152	0.1	0.711

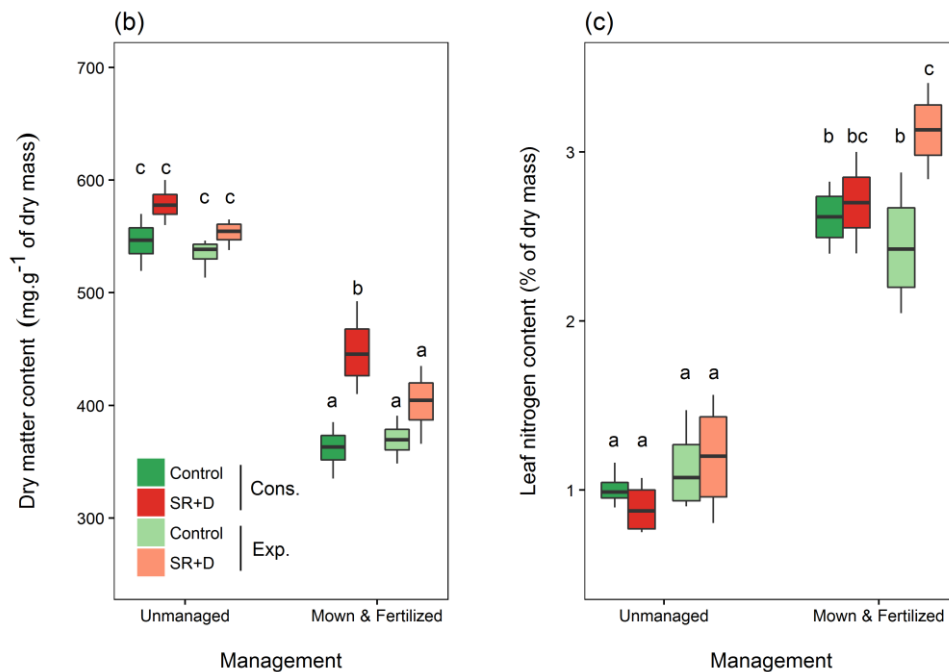


Figure 6.4. Effects of climate and management treatments on initial leaf dry matter content (a) and leaf nitrogen content (b) from **conservative and exploitative communities**. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=4$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each bar or box correspond to the result of the Tukey's test, and bars or boxes that do not share any letter are significantly different.

Treatment effects on decomposition kinetics

Litter mass decreased by 30 to 50% over winter (from T_0 to T_1), and was primarily affected by management (respectively ranging from 33 to 42% in NMF and from 44 to 55% in MF communities, Table 6.4, Fig. 6.5a). Management increased both rates of litter mass loss and litter N concentration (Table 6.4, Fig. 6.5b left panel & Fig. 6.6a). Under NMF, both mass loss and litter N were higher in exploitative communities, but were unresponsive to climate treatments. Under MF, climate treatments decreased litter N concentration and rates of litter mass loss of conservative communities, whereas decomposition rates and quality of litter from exploitative communities remained insensitive to SR+D. Litter C/N ratio variations paralleled those of litter N (Table 6.4, Appendix III), while litter C concentrations were overall slightly decreased by management (-1.1%, Table 6.4, Appendix II).

In June 2015 (T_2), four weeks after the end of the natural snowmelt, rates of litter mass loss and percentage of litter N concentrations showed similar patterns as in May 2015 (T_1) (Table 6.4, Fig. 6.5b right panel & Fig. 6.6b). However mowing and fertilization no longer enhanced exploitative communities litter N concentration or litter mass loss (Table 6.4, Fig. 6.5b right panel & Fig. 6.6b).

Table 6.4. Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions on litter masses, litter loss rates and litter C concentrations, N concentrations and C/N ratio at T_1 and T_2 . Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and n indicate sample size.

		Litter mass		Rate of litter loss		Litter C		Litter N		Litter C/N ratio	
May 2015 - T1											
Climatic	16	11.4	0.015	10.3	0.018	0.9	0.388	9.0	0.024	8.1	0.029
Management	16	88.7	<0.001	90.2	<0.001	15.4	0.001	490.8	<0.001	292.2	<0.001
Functional Composition	16	7.6	0.013	8.9	0.008	0.2	0.636	33.4	<0.001	50.7	<0.001
Clim : Management	8	3.1	0.098	2.5	0.129	2.6	0.123	0.4	0.535	2.2	0.158
Clim : FC	8	5.8	0.027	5.9	0.026	1.0	0.337	4.7	0.037	4.6	0.049
Management : FC	8	4.5	0.049	4.8	0.041	2.2	0.156	16.4	0.001	42.7	<0.001
Clim : Management : FC	4	2.1	0.169	1.8	0.198	1.9	0.186	2.8	0.111	0.0	0.879
June 2015 - T2											
Climatic	16	1.6	0.253	1.1	0.329	5.3	0.062	0.0	0.929	0.2	0.669
Management	16	32.2	<0.001	28.7	<0.001	0.2	0.698	206.7	<0.001	232.0	<0.001
Functional Composition	16	3.5	0.079	2.0	0.177	1.3	0.275	11.2	0.004	15.5	0.001
Clim : Management	8	2.8	0.111	1.5	0.230	0.1	0.805	2.1	0.160	2.1	0.165
Clim : FC	8	2.2	0.157	4.5	0.048	0.6	0.443	5.1	0.037	7.1	0.016
Management : FC	8	4.9	0.039	9.3	0.007	0.1	0.738	5.1	0.037	5.0	0.038
Clim : Management : FC	4	1.7	0.212	4.3	0.052	0.1	0.777	3.3	0.088	3.2	0.092

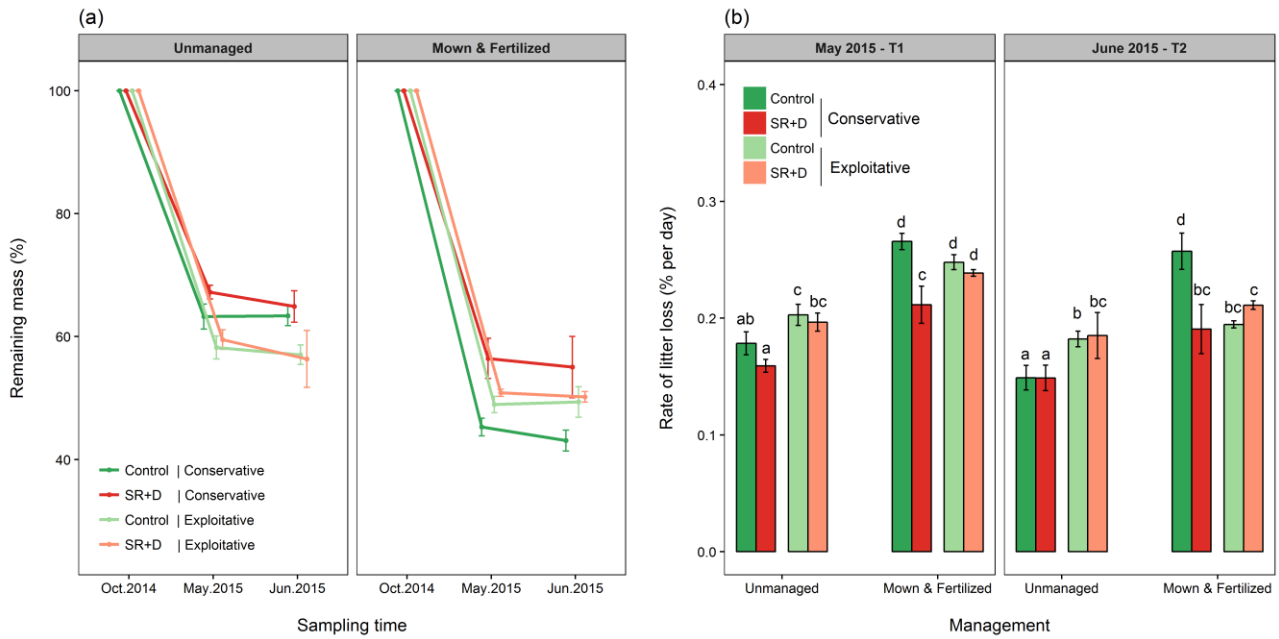


Figure 6.5. Litter decomposition throughout winter under contrasting climate and management treatment. Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=4$) of (b) litter decomposition rates in percentage of initial mass per day and of (a) remaining litter mass in percentage of initial mass. Letters above each bar correspond to the result of the Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different.

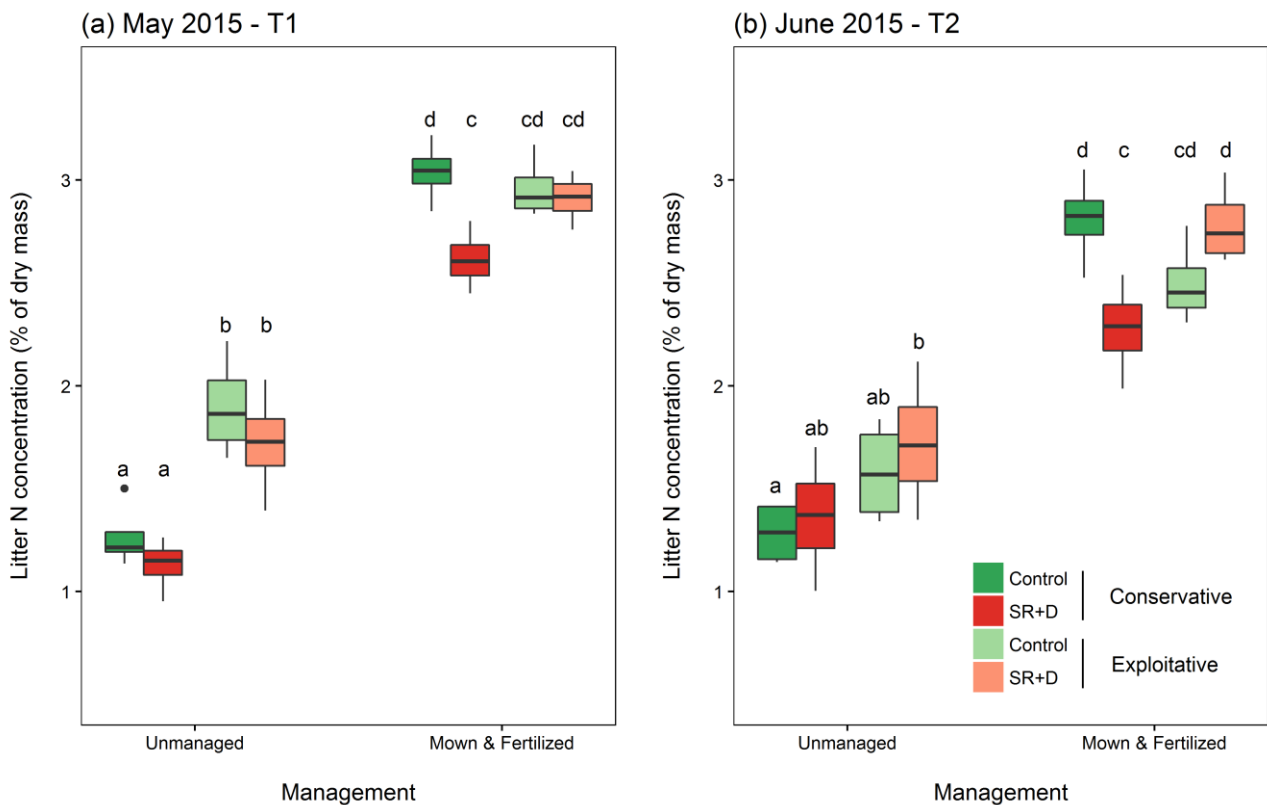


Figure 6.6. Effects of climate and management treatments on litter nitrogen concentration from **conservative and exploitative communities** at (a) T₁ and (b) T₂. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile ($n=4$). The lines correspond to a 95% confidence interval. Letters above each box correspond to the result of the Tukey's test, and boxes that do not share any letter are significantly different.

6.5 - DISCUSSION

We aimed to quantify wintertime plant litter decomposition in assembled subalpine grasslands communities and its responses to combined climate and management changes. For this, we measured litter mass losses and qualities from functionally contrasted perennial grass communities dominated either by the conservative *P. paniculata* or by the more exploitative *D. glomerata* from October to June. We observed faster litter decomposition under combined mowing and fertilization (MF) than in unmanaged communities (NMF). Moreover under NMF, while exploitative communities decomposed faster, the combination of snow removal and summer drought (SR+D) did not affect decomposition kinetics. Under MF, both functional composition and climate manipulation influenced decomposition: SR+D decreased mass loss of conservative communities litter, while litter decomposition from exploitative communities remained insensitive to climate.

Overall winter litter dry mass loss of 33 to 55% was consistent with previous decomposition experiments at the study site. In a mesocosm experiment testing the effect of orthoptera herbivory on decomposition kinetics of *P. paniculata* and *D. glomerata* litter alone or mixed, Ibanez *et al.* (2013) measured 30 to 40% of winter mass loss. Similarly, in an *in situ* litter decomposition experiment in nearby subalpine communities dominated either by *P. paniculata* or *D. glomerata*, 40% of initial litter mass was lost between October 2004 and May 2004 (VISTA EU project, unpublished data). In both studies, no differences were recorded between species alone or mixed (Ibanez *et al.* 2013), or between contrasted natural communities (VISTA EU project). In the present study, slightly higher mass loss may result from the use of green vs senesced leaf material in these previous studies, but we consider that response patterns due to variations in plant material quality across communities was relevant to actual litter decomposition rates (Fortunel *et al.* 2009; Kazakou *et al.* 2009).

Effectiveness of climate manipulation

The occurrence of snow removal plus drought (SR+D) led to lower mean soil moisture during the 2014 vegetation season (*see chapter II & III*). Snow removal had contrasting effects on both soil moisture and soil temperature (*see chapter II & III*). As expected, snowpack removal deprived the plant community of snowmelt water, but this reduction in soil water availability was weak and probably compensated by early rainfall (*see chapter II & III*). Snowpack removal had much greater effects on temperature parameters. Lower air temperature due to the loss of snow insulating capacity exposed aboveground plant tissues to frost events (*see chapter II & III*). Despite that,

communities exposed to early snow removal experienced an increase in cumulated soil temperatures above 0°C (see chapter II & III), which prevented belowground plant tissues from any frost damage. This soil temperature increase was probably the result of rising daytime temperature coupled with albedo change in response to snow removal as brown soil (low albedo) absorbed more sun's heat and released it by night. Additionally, soil temperature increase could be partly due to emerging activities from micro-organisms and plants in responses to light accessibility. We therefore hypothesize that drought may have had a major impact on litter quality (i.e. afterlife effects from plant functional traits, Cornelissen 1996) at the end of the growing season, while snow removal would have impacted soil microorganism communities and activities.

Direct effects of environmental change control litter decomposition kinetics in unmanaged grasslands

Consistent with our first hypothesis and to general knowledge on functional consequences of plant strategies (Cornelissen 1996; Cornwell *et al.* 2008), leaf material from exploitative communities decomposed faster than material from conservative communities. However, in contrast with the general framework of litter quality effects on decomposition (Zhang *et al.* 2008; Cornwell *et al.* 2008), it appeared to be non-related to initial leaf quality as no significant difference in C:N ratio, N content and DMC were recorded in these litters prior to decomposition. These previous studies compared species belonging to contrasting functional groups, whereas our community tests were intraspecific, with narrow ranges of traits variation (Saccone *et al.* 2013; Ibanez *et al.* 2013). Initial difference in leaf N content could partly explain the enhanced mass loss in exploitative communities in our study, but it was non-significant (*post hoc* Tukey test: $p < 0.1$). Alternatively, this could be related to non-measured leaf parameters (e.g. Si-, P-, lignin and phenolic contents) that were reported as influencing decomposition (Coûteaux *et al.* 1995). Additionally, *P. paniculata*, the most abundant species in conservative communities, has thicker cell walls and cuticle than many grass species, and hosts allelopathic endophytes with known deleterious impacts on fungal communities (Binet *et al.* 2013, 2017), which both could limit decomposition rates. Nonetheless, despite the fact that decomposition kinetics of both community types showed simultaneous decrease in C- and increase in N-litter contents, litter of exploitative communities had higher litter N content after winter compared to conservative communities, suggesting greater N immobilization.

Additionally, the decomposition of standard *P. paniculata* litter was enhanced in soil from exploitative communities compared to conservative ones. These findings suggest that the difference induced by the plant functional composition on decomposition patterns were partly driven by soil

biotic activity and not only by initial litter quality. In fact, standard *P. paniculata* decomposition was accompanied by litter N immobilization on soil from conservative communities, but not on soil from exploitative communities.

We hypothesize that contrasting decomposition processes between functionally distinct plant communities was, additionally to leaf quality, determined by contrasted associated soil biotic communities, since soil abiotic properties were similar between communities at the end of the 2014 growing season (namely soil C:N ratio, *see chapter IV* as well as soil nitrate and ammonium concentrations, *see chapter VI*). Indeed it has been shown that soil community composition varies among plant species (i.e. different plant species are associated with different composition of soil communities), and this microbial diversity can directly influence the decomposition process (Strickland *et al.* 2009; De Deyn, Quirk & Bardgett 2010). Although these patterns of vegetation-soil community interactions have been mainly described for differing ecosystems, several studies have shown that such differences may occur within one ecosystem type (grasslands as example) depending on plant functional diversity (De Deyn, Cornelissen & Bardgett 2008; Orwin *et al.* 2010; de Vries *et al.* 2012; Grigulis *et al.* 2013). Yet, to confirm this hypothesis further investigation and specific measurements of soil microbial communities are needed.

Our third hypothesis on the negative effects of climatic events on litter decomposition was rejected since the exposure of litter bags to 2015 snow removal in the absence of management neither inhibited decomposition nor modified leaf litter C and N concentrations. These findings were consistent with the absence of drought effects on leaf quality parameters at the start of the decomposition experiment (end of the 2014 growing season following summer drought, *see chapter III*). However, the decrease in standard litter mass loss as well as litter N immobilization under the climate manipulation in soils from exploitative plant communities indicated that climatic events directly affected soil biotic activity. Decrease in soil microbial and faunal activity under drought has been widely reported (e.g. Sanaullah *et al.* 2012; Vogel *et al.* 2013; Walter *et al.* 2013) as water scarcity limits the physiological performance of microorganisms and the diffusion of nutrients in soil pore space (Gessner *et al.* 2010; Bloor & Bardgett 2012; Sanaullah *et al.* 2012; Walter *et al.* 2012). Nonetheless these studies focused on decomposition during the growing season. Long lasting impacts of drought on soil communities are less well understood (Allison & Martiny 2008; Sayer *et al.* 2017). As microorganisms play an active role in litter degradation under snow (Bardgett *et al.* 2005; Baptist *et al.* 2010; Saccone *et al.* 2013), impaired soil microbial activity after drought might persist during the next winter and thus explain reduced decomposition of standard litter. However, in the present study, resumption of watering two months before the first snowfall might have allowed soil microorganisms to at least lessen the drought effect as they are capable of rapid

responses to environment physical changes (Austin *et al.* 2004; Borken & Matzner 2009). Additionally, we hypothesize that observed standard litter decomposition decrease in exploitative communities was also related to early snow melt effects on soil biotic activity. Even if snow removal treatment did not lead to below zero soil temperature at 5-cm depth, numerous periods of negative air temperature were recorded and thus could potentially have impacted microorganisms (see chapter II). Indeed, Jefferies *et al.* (2010) reported that a single freeze-thaw cycle strongly impacted soil microbial biomass and consequently reduced spring litter decomposition, otherwise facilitated by prior mineral-N microbial immobilization (Hefting *et al.* 2005; Baptist *et al.* 2008). But here this potential decrease of soil microbial activity did not lead to decomposition kinetics variations in exploitative communities. We hypothesize that these counter-intuitive results were due to differences in litter histological specificities. Thick cell walls and cuticle of standard *P. paniculata* leaf may delay litter colonization by decomposers leading to an increased decomposition rate in the later stages of the decomposition process coinciding with early snowmelt timing and thus reinforcing the effect of snow removal (delay the N immobilization stage). At the opposite, *D. glomerata* leaves, which were the most abundant in the exploitative communities litter, has thinner cell walls and cuticle leading to more fragile litter susceptible of leaching and fragmentation which facilitate decay. As a consequence, predicted impact of low temperatures on microbial parameters was not reflected due to facilitated metabolization by microorganisms on such litter types. However, we did not measure microbial activity directly and therefore we can only speculate on the cause of this trend.

The reason why only exploitative soil abiotic activity was susceptible to climate treatment remains unclear. Similarly to control communities, SR+D soil properties were similar between functionally contrasted communities at end of the 2014 growing season (namely soil C:N ratio, see chapter IV as well as soil nitrate and ammonium concentrations, see chapter VI), but these measurements were not repeated in spring 2015. Thus in line with our functional hypothesis on control communities, we suggest that contrasted susceptibility of decomposition process to climatic events among functional communities was related to their contrasted soil abiotic communities.

Indirect effects of environmental changes control litter decomposition kinetics in managed grasslands

In agreement with our second hypothesis, MF increased leaf material decomposition rates as well as litter N contents, except for standard *P. paniculata* litter. This might reflect leaf quality improvement by mowing plus fertilization at the end of the 2014 growing season, rather than changes in soil microbial activity. Indeed, MF decreased leaf DMC and increased LNC during the vegetation season. It is well known that N fertilization promotes tissue N concentrations while mowing induces higher N concentrations in resprouting leaves (Walter *et al.* 2012). During decomposition, MF reduced N loss and strongly promoted N immobilization in litter of both conservative and exploitative communities. This indicates that the supplemental litter N stimulated the microbial community. Contrastingly, direct supplemental soil N by fertilization had no effect on standard litter decomposition kinetics. Therefore, MF influence was stronger than the effect of functional composition on litter decomposition found in NMF, through changes in leaf quality and soil biotic activity (no differences in native as well as standard communities' decomposition process).

The combination of MF and SR+D influenced litter decomposition from exploitative and conservative communities differently. Litter mass loss and N immobilization of the MF conservative communities were reduced by SR+D, which was consistent with our fourth hypothesis. This was further supported by its reduced leaf quality observed at the end of the 2014 growing season (increased DMC), and by the lower soil biotic activity during decomposition as illustrated by the poorer N immobilization for the three litter types. These patterns suggest that climatic stresses such as SR+D impacted durably the decomposers community and eventually limited N immobilization.

Contrastingly, for exploitative communities, neither N immobilization nor litter mass losses were influenced by SR+D, which was consistent with the lack of climate treatment effect on leaf quality. However, SR+D decreased standard litter N immobilization suggesting a reduction of soil biotic activity during decomposition. As for the effects of NMF, we hypothesize that the less recalcitrant litter of dominant exploitative species facilitated microbial metabolization and counterbalanced the negative effects of SR+D on soil abiotic activity observed for the standard litter. We suggest that this difference in initial litter quality could also explain the deceleration of exploitative litter decomposition between May and June as the majority of the decomposition process was already achieved in May in comparison to the more recalcitrant conservative litter.

Consequences for long term ecosystem functioning through implications for N cycling

In subalpine grasslands, ongoing land use change created a mosaic of grasslands distributed along a resource use strategy gradient resulting from shift from mowing to grazing since WWII. Remaining managed grasslands during the last decades were dominated by exploitative plant communities where most of the nutrients released through decomposition is expected to be readily available for plants (Schimel & Hättenschwiler 2007). On assembled grasslands, extreme climatic events did not affect litter decomposition when mowing and fertilization occurred. Despite the negative impact of climatic events on soil biotic activity, the litter quality (i.e. N-rich, softer tissues...) of these exploitative communities enabled similar decomposition kinetics. However, reduced plant biomass productivity due to climatic events may potentially deplete nutrient availability for next growing season through lesser winter replenishment of N pools *via* decomposition. Indeed, SR+D strongly reduced the beneficial effect of MF on standing biomass of exploitative communities (respectively + 64.6% and +22.4% compared to control and SR+D communities under NMF manipulation, Appendix IV). Consequently, recurrence of extreme climatic events is likely to favor more conservative species and might ultimately induce a change in functional composition of mown and fertilized grasslands as suggested in a previous study (Saccone et al. 2013). Nonetheless, this observation could be challenged by the negative impact of mowing on conservative species in additional studies (*see chapter VI*). Abandonment (NMF) overruled the absence of response to climatic stress of the aboveground exploitative biomass production (Appendix IV), but also strongly decreased litter decomposition mainly through lower soil biotic activity. Consequently, our results suggest that snow removal and drought neither reinforced nor alleviated the well-known effect of mowing cessation on subalpine grasslands functional composition with a shift from exploitative towards conservative dominated communities.

Extensively grazed grasslands were represented by assembled conservative communities where limited nutrient release from litter decomposition should be subject to strong plant-microbe competition (Schimel & Bennett 2004, Legay et al. 2013). On such grasslands type, we showed that extreme climatic events did not affect decomposition patterns but strongly reduced plant biomass productivity (SR+D decreased standing biomass of conservative communities by 36.9% in absence of management, Appendix IV). Consequently, climatic events were likely to reinforce nutrient scarcity for the next growing season in conservative dominated grasslands through lesser winter replenishment of soil N pools *via* decomposition. As a result, recurrence of extreme climatic events might repress exploitative species and favor conservative resource use strategy. We observed that extreme climatic events lowered the beneficial effects of management (MF) on conservative litter production (Appendix IV) and decomposition. Nonetheless, decomposition remained more efficient

than in unmanaged (NMF) manipulation. Consequently, extreme events appeared to constrain the extent of the well-known effect of mowing to contain conservative species abundance within subalpine grasslands (Quétier *et al.* 2007b). However, these observations concerning conservative communities could be biased because we used green leaves as initial litter material, therefore underestimating their resource relocation in storage organs during leaf senescence. As a result, the strong increase in leaf quality and litter decomposition rates under mowing and fertilization could be potentially overestimated. If so, climatic extreme events may suppress the promoting effect of mowing and fertilization on litter decomposition and enable conservative species expansion.

6.6 - CONCLUSION

In the current context of global change, predicting future *in situ* trajectories of ecosystem functioning is a major challenge (Mayfield *et al.* 2010). Our results highlighted that recurrence of extreme climatic events such as summer drought and earlier snowmelt could strongly affect the relationships between soil nutrient availability and plant functional community composition through modifications of the litter decomposition process.

Our results suggested that quantitative and qualitative leaf litter production was a more important driver of decomposition under climate changes than soil biotic activity. Moreover, we highlighted that variations in functional community composition and associated litter production patterns, as a result of modifications of historical management regimes, were likely to be strongly impacted by recurrence of climatic events through effects on decomposition and biogeochemical cycling. Combined drought and earlier snowmelt lower N availability as a consequence of slowdown decomposition kinetic. We suggest that this may lessen on the long term the beneficial effect of mowing to constrain conservative species expansion in lightly grazed grasslands.

To conclude, although subalpine grasslands functional community composition seemed to be quite resistant to climate changes on the short term (*see chapter III*), their “after life” effects on the litter decomposition process could induce progressive and long lasting shifts of plant functional composition by lowering the effect of agricultural routines that typically sustained soil quality and productivity.

6.7 - ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Adeline Bierry, Coline Byczek, Amélie Cantarel, Emilie Crouzat, Franck Delbart, Caroline Devaux, Marine Gabillet, Rachel Gerardin, Pierre Gos, Karl Grigulis, Fanny Guillot, Nadine Guillaumaud, Nicolas Legay, Remy Lasseur, Maud Mouchet, Franck Poly, Thomas Pommier and Laure Zupan for their help with the global change experiment, Cindy Arnoldi and Jonathan Corjon for their help with chemical analyses. This study was supported by the ERA-Net BiodivERsA project REGARDS ANR XXX. This research was conducted at the Station Alpine Joseph Fourier (UMS 3370 CNRS-UGA, France) and on the long-term research site Zone Atelier Alpes (ZAA), a member of LTER-Europe network.

6.8 - REFERENCES

- Aerts, R. (1997) Climate, Leaf Litter Chemistry and Leaf Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems: A Triangular Relationship. *Oikos*, **79**, 439–449.
- Aerts, R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 29–37.
- Aerts, R. (2006) The freezer defrosting: global warming and litter decomposition rates in cold biomes. *Journal of Ecology*, **94**, 713–724.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. & Smith, M. (1998) *Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements - Irrigation and Drainage Paper 56*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Allison, S.D. & Martiny, J.B.H. (2008) Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**, 11512–11519.
- Austin, A.T. & Vivanco, L. (2006) Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature*, **442**, 555–558.
- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark, J.M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D.A. & Schaeffer, S.M. (2004) Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia*, **141**, 221–235.
- Bahn, M., Reichstein, M., Dukes, J.S., Smith, M.D. & McDowell, N.G. (2014) Climate–biosphere interactions in a more extreme world. *New Phytologist*, **202**, 356–359.
- Baptist, F. & Choler, P. (2008) A simulation of the importance of length of growing season and canopy functional properties on the seasonal gross primary production of temperate alpine meadows. *Annals of botany*, **101**, 549–559.

- Baptist, F., Yoccoz, N.G. & Choler, P. (2010) Direct and indirect control by snow cover over decomposition in alpine tundra along a snowmelt gradient. *Plant and Soil*, **328**, 397–410.
- Baptist, F., Zinger, L., Clement, J.C., Gallet, C., Guillemain, R., Martins, J.M.F., Sage, L., Shahnnavaz, B., Choler, P. & Geremia, R. (2008) Tannin impacts on microbial diversity and the functioning of alpine soils: a multidisciplinary approach. *Environmental Microbiology*, **10**, 799–809.
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R. & Schmidt, S.K. (2005) A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 634–641.
- Berg, B. & Laskowski, R. (2006) *Litter Decomposition: A Guide to Carbon and Nutrient Turnover*. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Binet, M.N., Sage, L., Malan, C., Clément, J.C., Redecker, D., Wipf, D., Geremia, R.A., Lavorel, S. & Mouhamadou, B. (2013) Effects of mowing on fungal endophytes and arbuscular mycorrhizal fungi in subalpine grasslands. *Fungal Ecology*, **6**, 248–255.
- Binet, M.-N., van Tuinen, D., Souard, F., Sage, L., Pérignon, S., Gallet, C., Legay, N., Lavorel, S. & Mouhamadou, B. (2017) Responses of above- and below-ground fungal symbionts to cessation of mowing in subalpine grassland. *Fungal Ecology*, **25**, 14–21.
- Bloor, J.M.G. & Bardgett, R.D. (2012) Stability of above-ground and below-ground processes to extreme drought in model grassland ecosystems: Interactions with plant species diversity and soil nitrogen availability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **14**, 193–204.
- Bokhorst, S., Bjerke, J.W., Melillo, J., Callaghan, T. V & Phoenix, G.K. (2010) Impacts of extreme winter warming events on litter decomposition in a sub-Arctic heathland. *Soil Biology and Biochemistry*, **42**, 611–617.
- Bokhorst, S., Phoenix, G.K., Bjerke, J.W., Callaghan, T. V, Huyer-Brugman, F. & Berg, M.P. (2012) Extreme winter warming events more negatively impact small rather than large soil fauna: shift in community composition explained by traits not taxa. *Global Change Biology*, **18**, 1152–1162.
- Borken, W. & Matzner, E. (2009) Introduction: Impact of extreme meteorological events on soils and plants. *Global Change Biology*, **15**, 781.
- Cebrian, J. (1999) Patterns in the Fate of Production in Plant Communities. *American Naturalist*, **154**, 449–468.
- Chapin, F.S., Matson, P.A. & Vitousek, P.M. (2011) *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer, New York, NY, USA.
- Cornelissen, J.H.C. (1996) An Experimental Comparison of Leaf Decomposition Rates in a Wide

Range of Temperate Plant Species and Types. *Journal of Ecology*, **84**, 573–582.

- Cornelissen, J.H.C., Van Bodegom, P.M., Aerts, R., Callaghan, T. V, Van Logtestijn, R.S.P., Alatalo, J., Stuart Chapin, F., Gerdol, R., Gudmundsson, J., Gwynn-Jones, D., Hartley, A.E., Hik, D.S., Hofgaard, A., Jónsdóttir, I.S., Karlsson, S., Klein, J.A., Laundre, J., Magnusson, B., Michelsen, A., Molau, U., Onipchenko, V.G., Qested, H.M., Sandvik, S.M., Schmidt, I.K., Shaver, G.R., Solheim, B., Soudzilovskaia, N.A., Stenström, A., Tolvanen, A., Totland, Ø., Wada, N., Welker, J.M., Zhao, X. & Team, M.O.L. (2007) Global negative vegetation feedback to climate warming responses of leaf litter decomposition rates in cold biomes. *Ecology Letters*, **10**, 619–627.
- Cornwell, W.K., Cornelissen, J.H.C., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V.T., Godoy, O., Hobbie, S.E., Hoorens, B., Kurokawa, H., Pérez-Harguindeguy, N., Qested, H.M., Santiago, L.S., Wardle, D. a, Wright, I.J., Aerts, R., Allison, S.D., van Bodegom, P., Brovkin, V., Chatain, A., Callaghan, T. V, Díaz, S., Garnier, E., Gurvich, D.E., Kazakou, E., Klein, J. a, Read, J., Reich, P.B., Soudzilovskaia, N. a, Vaieretti, M.V. & Westoby, M. (2008) Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology letters*, **11**, 1065–1071.
- Coûteaux, M.-M., Bottner, P. & Berg, B. (1995) Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 63–66.
- Crawley, M.J. (2005) *Statistics: An Introduction Using R*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.
- De Deyn, G.B., Cornelissen, J.H.C. & Bardgett, R.D. (2008) Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology letters*, **11**, 516–531.
- De Deyn, G.B., Quirk, H. & Bardgett, R.D. (2010) Plant species richness, identity and productivity differentially influence key groups of microbes in grassland soils of contrasting fertility. *Biology Letters*.
- Dirnböck, T., Dullinger, S. & Grabherr, G. (2003) A regional impact assessment of climate and land-use change on alpine vegetation. *Journal of Biogeography*, **30**, 401–417.
- Durand, Y., Laternser, M., Giraud, G., Etchevers, P., Lesaffre, B. & Mérindol, L. (2009) Reanalysis of 44 Yr of Climate in the French Alps (1958–2002): Methodology, Model Validation, Climatology, and Trends for Air Temperature and Precipitation. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, **48**, 429–449.
- Edwards, A.C., Scalenghe, R. & Freppaz, M. (2007) Changes in the seasonal snow cover of alpine regions and its effect on soil processes: A review. *Quaternary International*, **162–163**, 172–181.

- Ehrenfeld, J.G., Ravit, B. & Elgersma, K. (2005) Feedback in the Plant-Soil System. *Annual Review of Environment and Resources*, **30**, 75–115.
- Engler, R., Randin, C.F., Thuiller, W., Dullinger, S., Zimmermann, N.E., Araújo, M.B., Pearman, P.B., Le Lay, G., Piedallu, C., Albert, C.H., Choler, P., Coldea, G., De Lamo, X., Dirnböck, T., Gégout, J.-C., Gómez-García, D., Grytnes, J.-A., Heegaard, E., Høistad, F., Nogués-Bravo, D., Normand, S., Puşcaş, M., Sebastià, M.-T., Stanisci, A., Theurillat, J.-P., Trivedi, M.R., Vittoz, P. & Guisan, A. (2011) 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe. *Global Change Biology*, **17**, 2330–2341.
- Feng, X., Nielsen, L.L. & Simpson, M.J. (2007) Responses of soil organic matter and microorganisms to freeze–thaw cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 2027–2037.
- Fischer, M. & Wipf, S. (2002) Effect of low-intensity grazing on the species-rich vegetation of traditionally mown subalpine meadows. *Biological Conservation*, **104**, 1–11.
- Fortunel, C., Garnier, E., Joffre, R., Kazakou, E., Qested, H., Grigulis, K., Lavorel, S., Ansquer, P., Castro, H., Cruz, P., Doležal, J., Eriksson, O., Freitas, H., Golodets, C., Jouany, C., Kigel, J., Kleyer, M., Lehsten, V., Lepš, J., Meier, T., Pakeman, R., Papadimitriou, M., Papanastasis, V.P., Quétier, F., Robson, M., Sternberg, M., Theau, J.-P., Thébault, A. & Zarovali, M. (2009) Leaf traits capture the effects of land use changes and climate on litter decomposability of grasslands across Europe. *Ecology*, **90**, 598–611.
- Garcia-Pausas, J., Casals, P., Rovira, P., Vallecillo, S., Sebastià, M.-T.T. & Romanyà, J. (2012) Decomposition of labelled roots and root-C and -N allocation between soil fractions in mountain grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **49**, 61–69.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.P. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, **85**, 2630–2637.
- Gartner, T.B. & Cardon, Z.G. (2004) Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, **104**, 230–246.
- Gessner, M.O., Swan, C.M., Dang, C.K., McKie, B.G., Bardgett, R.D., Wall, D.H. & Hättenschwiler, S. (2010) Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 372–380.
- Gholz, H.L., Wedin, D.A., Smitherman, S.M., Harmon, M.E. & Parton, W.J. (2000) Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: Toward a global model of decomposition. *Global Change Biology*, **6**, 751–765.
- Gobiet, A., Kotlarski, S., Beniston, M., Heinrich, G., Rajczak, J. & Stoffel, M. (2014) 21st century climate change in the European Alps—A review. *Science of The Total Environment*, **493**,

1138–1151.

- Grêt-Regamey, A., Brunner, S.H. & Kienast, F. (2012) Mountain Ecosystem Services: Who Cares? *Mountain Research and Development*, **32**, S23–S34.
- Grigulis, K., Lavorel, S., Krainer, U., Legay, N., Baxendale, C., Dumont, M., Kastl, E., Arnoldi, C., Bardgett, R.D., Poly, F., Pommier, T., Schlöter, M., Tappeiner, U., Bahn, M. & Clément, J.-C. (2013) Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services (ed M Hutchings). *Journal of Ecology*, **101**, 47–57.
- Gross, N., Suding, K.N.K. & Lavorel, S. (2007) Leaf dry matter content and lateral spread predict response to land use change for six subalpine grassland species. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 289–300.
- Haida, C., Rüdisser, J. & Tappeiner, U. (2016) Ecosystem services in mountain regions: experts' perceptions and research intensity. *Regional Environmental Change*, **16**, 1989–2004.
- Hättenschwiler, S., Tiunov, A. V. & Scheu, S. (2005) Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 191–218.
- Hefting, M.M., Clement, J.-C., Bienkowski, P., Dowrick, D., Guenat, C., Butturini, A., Topa, S., Pinay, G. & Verhoeven, J.T.A. (2005) The role of vegetation and litter in the nitrogen dynamics of riparian buffer zones in Europe. *Ecological Engineering*, **24**, 465–482.
- Van Der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. & Van Straalen, N.M. (2008) The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 296–310.
- Hobbie, S.E. (1992) Effects of plant species on nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution*, **7**, 336–339.
- Hobbie, S.E. (1996) Temperature and Plant Species Control Over Litter Decomposition in Alaskan Tundra. *Ecological Monographs*, **66**, 503–522.
- Hobbie, S.E. (2008) Nitrogen effects on decomposition: a five-year experiment in eight temperate sites. *Ecology*, **89**, 2633–2644.
- Ibanez, S., Bernard, L., Coq, S., Moretti, M., Lavorel, S. & Gallet, C. (2013) Herbivory differentially alters litter dynamics of two functionally contrasted grasses (ed C Stevens). *Functional Ecology*, **27**, 1064–1074.
- Jefferies, R.L., Walker, N.A., Edwards, K. a. & Dainty, J. (2010) Is the decline of soil microbial biomass in late winter coupled to changes in the physical state of cold soils? *Soil Biology and Biochemistry*, **42**, 129–135.
- Jung, V., Albert, C.H., Violle, C., Kunstler, G., Loucougaray, G. & Spiegelberger, T. (2014) Intraspecific trait variability mediates the response of subalpine grassland communities to

- extreme drought events (ed W Cornwell). *Journal of Ecology*, **102**, 45–53.
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Pintor, C., Gimenez, O. & Garnier, E. (2009) Litter quality and decomposability of species from a Mediterranean succession depend on leaf traits but not on nitrogen supply. *Annals of Botany*, **104**, 1151–1161.
- Kreyling, J., Beierkuhnlein, C. & Jentsch, A. (2010) Effects of soil freeze–thaw cycles differ between experimental plant communities. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 65–75.
- Lenth, R. & Hervé, M. (2015) *Lsmeans: Least-Squares Means*. R package version 2.16, <http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>.
- Manning, P., Saunders, M., Bardgett, R.D., Bonkowski, M., Bradford, M.A., Ellis, R.J., Kandeler, E., Marhan, S. & Tscherko, D. (2008) Direct and indirect effects of nitrogen deposition on litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**, 688–698.
- Mayfield, M.M., Bonser, S.P., Morgan, J.W., Aubin, I., McNamara, S. & Veski, P.A. (2010) What does species richness tell us about functional trait diversity? Predictions and evidence for responses of species and functional trait diversity to land-use change. *Global Ecology and Biogeography*, **19**, 423–431.
- Melillo, J.M., Aber, J.D. & Muratore, J.F. (1982) Nitrogen and Lignin Control of Hardwood Leaf Litter Decomposition Dynamics. *Ecology*, **63**, 621–626.
- Morin, S., Lafaysse, M., Coleou, C. & Lejeune, Y. (2013) Will There (Still) Be Snow for the Upcoming Winter Holidays? On the Conditional Predictability of Snow Conditions Several Weeks to Months in Advance. *International Snow Science Workshop*, pp. 1171–1176. Grenoble - Chamonix Mont-Blanc, France.
- Niedrist, G., Tasser, E., Lüth, C., Dalla Via, J. & Tappeiner, U. (2008) Plant diversity declines with recent land use changes in European Alps. *Plant Ecology*, **202**, 195.
- Orwin, K.H., Buckland, S.M., Johnson, D., Turner, B.L., Smart, S., Oakley, S. & Bardgett, R.D. (2010) Linkages of plant traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. *Journal of Ecology*, **98**, 1074–1083.
- Parton, W., Silver, W.L., Burke, I.C., Grassens, L., Harmon, M.E., Currie, W.S., King, J.Y., Adair, E.C., Brandt, L.A., Hart, S.C. & Fath, B. (2007) Global-Scale Similarities in Nitrogen Release Patterns During Long-Term Decomposition. *Science*, **315**, 361–364.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. (2015) *{nlme}: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-127, <http://cran.r-project.org/package=nlme>.
- Quétier, F., Lavorel, S., Thuiller, W. & Davies, I. (2007a) Plant-trait-based modeling assessment of ecosystem-service sensitivity to land-use change. *Ecological Applications*, **17**, 2377–2386.

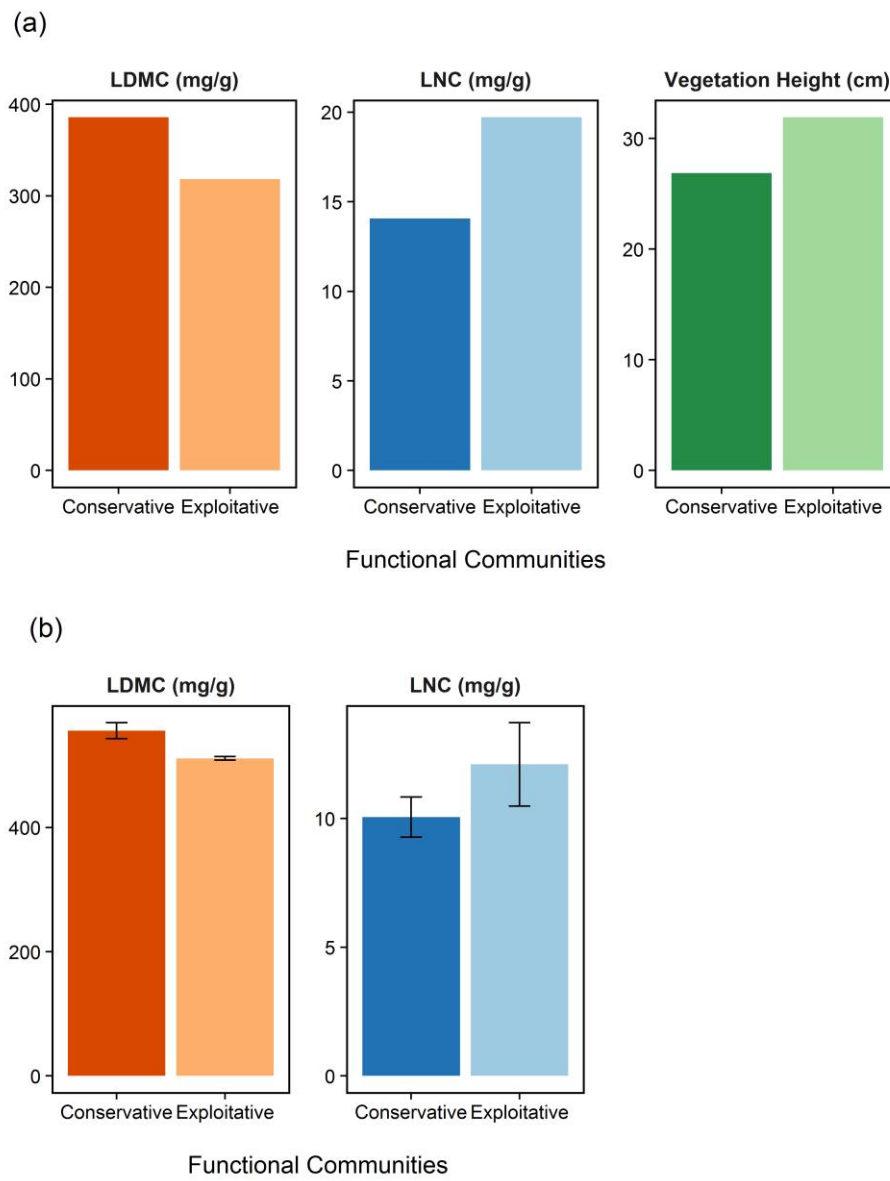
- Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007b) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.
- R Core Team. (2015) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>.
- Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *Journal of Ecology*, **98**, 62–73.
- Saccone, P., Morin, S., Baptist, F., Bonneville, J.-M., Colace, M.-P., Domine, F., Faure, M., Geremia, R., Lochet, J., Poly, F., Lavorel, S. & Clément, J.-C. (2013) The effects of snowpack properties and plant strategies on litter decomposition during winter in subalpine meadows. *Plant and Soil*, **363**, 215–229.
- Sanaullah, M., Rumpel, C., Charrier, X. & Chabbi, A. (2012) How does drought stress influence the decomposition of plant litter with contrasting quality in a grassland ecosystem? *Plant and Soil*, **352**, 277–288.
- Sayer, E.J., Oliver, A.E., Fridley, J.D., Askew, A.P., Mills, R.T.E. & Grime, J.P. (2017) Links between soil microbial communities and plant traits in a species-rich grassland under long-term climate change. *Ecology and Evolution*, **7**, 855–862.
- Scherer-Lorenzen, M. (2008) Functional diversity affects decomposition processes in experimental grasslands. *Functional Ecology*, **22**, 547–555.
- Schimel, J., Balser, T. & Wallenstein, M. (2007) Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*, **88**, 1386–1394.
- Schimel, J.P. & Bennett, J. (2004) Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. *Ecology*, **85**, 591–602.
- Schimel, J.P. & Hättenschwiler, S. (2007) Nitrogen transfer between decomposing leaves of different N status. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 1428–1436.
- Schuster, M.J. (2016) Increased rainfall variability and N addition accelerate litter decomposition in a restored prairie. *Oecologia*, **180**, 645–655.
- Strickland, M.S., Lauber, C., Fierer, N. & Bradford, M.A. (2009) Testing the functional significance of microbial community composition. *Ecology*, **90**, 441–451.
- Swift, M.J., Heal, O.W. & Anderson, J.M. (1979) *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. University of California Press, Berkeley, CA, USA.
- Tasser, E. & Tappeiner, U. (2002) Impact of land use changes on mountain vegetation. *Applied Vegetation Science*, **5**, 173–184.
- Taylor, B.R., Parkinson, D. & Parsons, W.F.J. (1989) Nitrogen and Lignin Content as Predictors of

- Litter Decay Rates: A Microcosm Test. *Ecology*, **70**, 97–104.
- Tu, L., Hu, H., Chen, G., Peng, Y., Xiao, Y., Hu, T., Zhang, J., Li, X., Liu, L. & Tang, Y. (2014) Nitrogen Addition Significantly Affects Forest Litter Decomposition under High Levels of Ambient Nitrogen Deposition. *PLOS ONE*, **9**, 1–9.
- Vionnet, V., Brun, E., Morin, S., Boone, A., Faroux, S., Le Moigne, P., Martin, E. & Willemet, J.-M. (2012) The detailed snowpack scheme Crocus and its implementation in SURFEX v7.2. *Geoscientific Model Development*, **5**, 773–791.
- Vogel, A., Eisenhauer, N., Weigelt, A. & Scherer-Lorenzen, M. (2013) Plant diversity does not buffer drought effects on early-stage litter mass loss rates and microbial properties. *Global Change Biology*, **19**, 2795–2803.
- de Vries, F.T., Manning, P., Tallowin, J.R.B., Mortimer, S.R., Pilgrim, E.S., Harrison, K.A., Hobbs, P.J., Quirk, H., Shipley, B., Cornelissen, J.H.C., Kattge, J. & Bardgett, R.D. (2012) Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecology Letters*, **15**, 1230–1239.
- Walter, J., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Kreyling, J., Weber, M. & Jentsch, A. (2012) Increased rainfall variability reduces biomass and forage quality of temperate grassland largely independent of mowing frequency. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **148**, 1–10.
- Walter, J., Hein, R., Beierkuhnlein, C., Hammerl, V., Jentsch, A., Schädler, M., Schuerings, J. & Kreyling, J. (2013) Combined effects of multifactor climate change and land-use on decomposition in temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, **60**, 10–18.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004) Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *Science*, **304**, 1629–1633.
- Wardle, D.A., Barker, G.M., Bonner, K.I. & Nicholson, K.S. (1998) Can comparative approaches based on plant ecophysiological traits predict the nature of biotic interactions and individual plant species effects in ecosystems? *Journal of Ecology*, **86**, 405–420.
- Wu, F., Yang, W., Zhang, J. & Deng, R. (2010) Litter decomposition in two subalpine forests during the freeze–thaw season. *Acta Oecologica*, **36**, 135–140.
- Zeiter, M., Stampfli, A. & Newbery, D.M. (2006) Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology*, **87**, 942–951.
- Zhang, T. (2005) Influence of the seasonal snow cover on the ground thermal regime: An overview. *Reviews of Geophysics*, **43**, n/a--n/a.
- Zhang, D., Hui, D., Luo, Y. & Zhou, G. (2008) Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology*, **1**, 85–93.

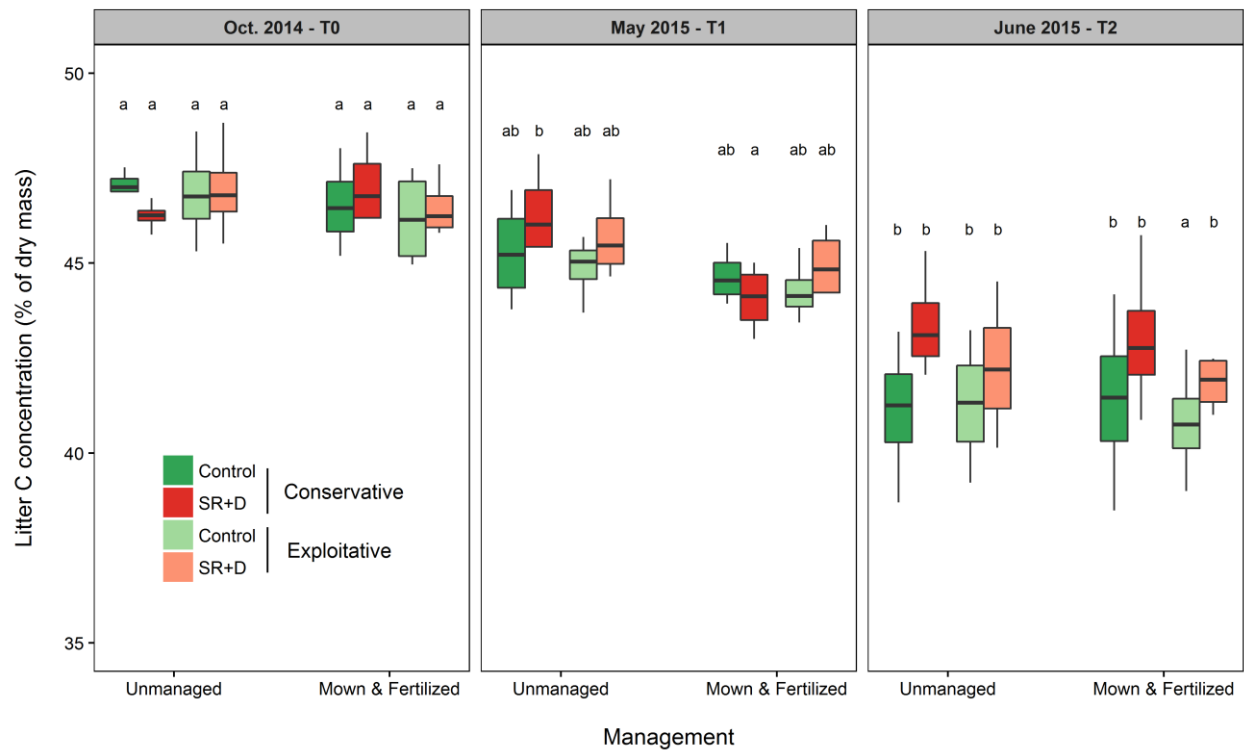
Zoderer, B.M., Lupo Stanghellini, P.S., Tasser, E., Walde, J., Wieser, H. & Tappeiner, U. (2016)

Exploring socio-cultural values of ecosystem service categories in the Central Alps: the influence of socio-demographic factors and landscape type. *Regional Environmental Change*, **16**, 2033–2044.

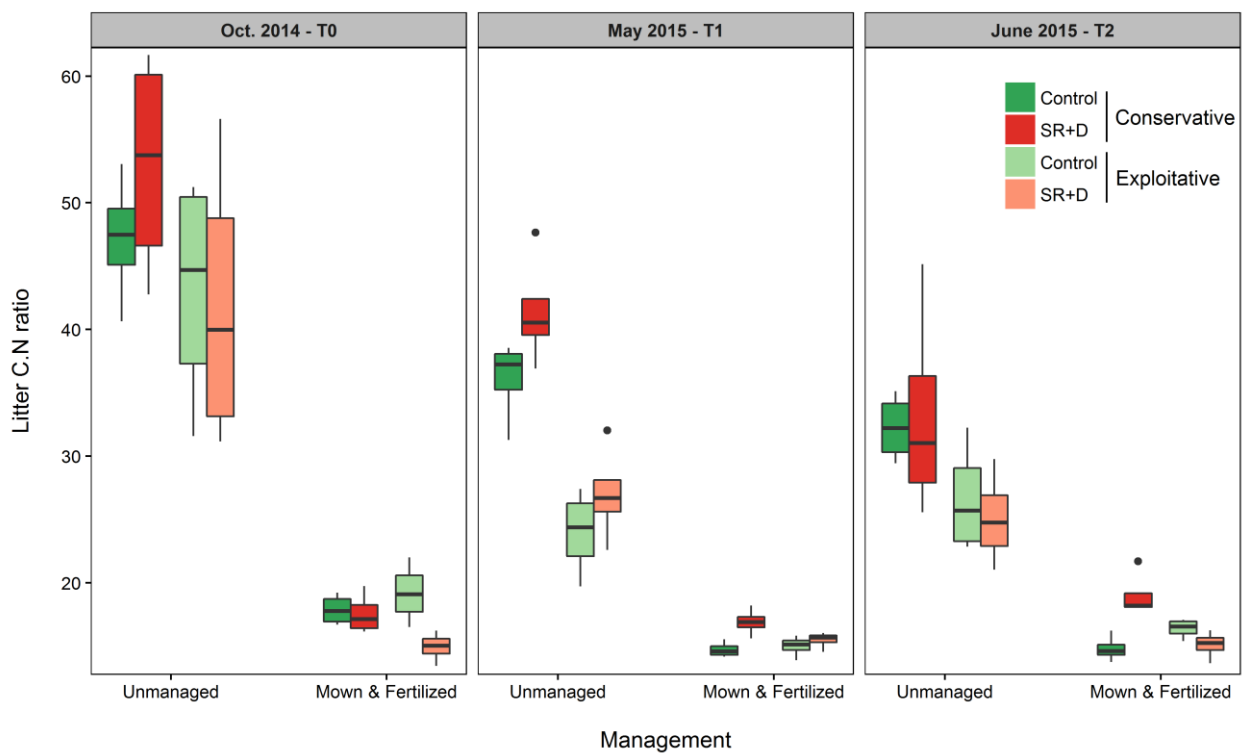
6.9 - APPENDICES



APPENDIX I. Theoretical (a) and realized (at experiment ending in control communities, b) functional gradient of assembled communities. LDMC: Leaf dry matter content; LNC: Leaf nitrogen content.



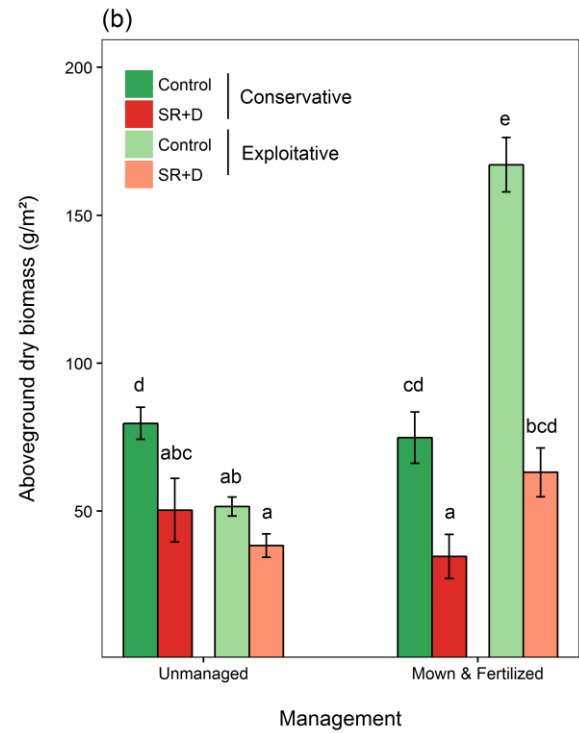
APPENDIX II. Effects of climate and management treatment on leaf carbon concentration at T0 and litter carbon content at T1 and T2 from conservative and exploitative. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval.



APPENDIX III. Effects of climate and management treatment on leaf C/N ratio at T0 and litter C/N ratio at T1 and T2 from conservative and exploitative. Each box represents the lower quartile, the median (bold line) and the upper quartile (n=4). The lines correspond to a 95% confidence interval.

(a)

Aboveground Dry Biomass			
Oct. 2014 - T0	<i>n</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Climatic	16	30.4	0.002
Management	16	64.1	<0.001
Functional Composition	16	29.0	<0.001
Clim : Management	8	46.2	<0.001
Clim : FC	8	10.1	0.005
Management : FC	8	115.6	<0.001
Clim : Management : FC	4	28.6	<0.001



APPENDIX IV. (a). Split-plot Mixed-Effects Models ANOVAs testing the effects of Snow Removal plus Drought, Functional Composition, Management and their interactions aboveground dry biomass at T0. Bold p-values indicate significant effects ($p < 0.05$) and *n* indicate sample size. **(b).** Effects of climate and management treatments on aboveground dry biomass at T0 from conservative and exploitative. Values are expressed as means $\pm$ SE ($n=4$). Letters above each bar correspond to the result of the Tukey's test, and bars that do not share any letter are significantly different.

CHAPITRE 7 : SYNTHÈSE & DISCUSSION GÉNÉRALE

L'objectif de cette thèse était de comprendre les mécanismes de résilience des prairies subalpines au changement climatique, et la manière dont cette résilience est modulée par les pratiques de gestion agricole. Nous avons étudié les réponses fonctionnelles de la végétation ainsi que les processus du sol en lien avec le cycle de l'azote, au cours de la saison de végétation. Nous nous sommes également intéressés au processus hivernal de la décomposition, composante importante du lien entre la végétation et les processus du sol dans ces systèmes prairiaux. Enfin, nous avons étudié un mécanisme spécifique impliqué dans la dominance d'une espèce végétale et dans ses réponses aux stress environnementaux : le stockage de glucides hydrosolubles à l'automne par la fétuque paniculée.

La confrontation de ces résultats permet d'appréhender les mécanismes de résilience à l'échelle de l'écosystème et donc de considérer de manière plus globale les conséquences du changement climatique sur le fonctionnement des prairies subalpines.

7.1 - SYNTHÈSE TRANSVERSALE DES PRINCIPAUX RESULTATS SELON LES SCENARII CLIMATIQUES ET AGRO-PASTORAUX

A l'échelle du paysage, notre système d'étude (l'adret de Villar d'Arène) est caractérisé par une mosaïque de prairies (description détaillée dans Quétier, Thébault & Lavorel 2007). La combinaison des facteurs climatiques et anthropiques a permis le développement de communautés végétales à forte diversité spécifique et fonctionnelle (Quétier *et al.* 2007). Cette diversité varie selon l'historique de gestion des terres et a été simplifiée dans cette thèse par un gradient fonctionnel des communautés végétales, selon l'utilisation des ressources allant de la conservation à l'exploitation.

Afin d'appréhender la stabilité écologique (résistance et résilience) de ces prairies subalpines aux changements environnementaux, ce gradient fonctionnel a été soumis à différents scenarii climatiques et agricoles, à savoir l'occurrence d'événements climatiques extrêmes à la fois hivernaux et estivaux, ainsi qu'une continuité ou une rupture du mode de gestion de ces prairies (Fig. 7.1).

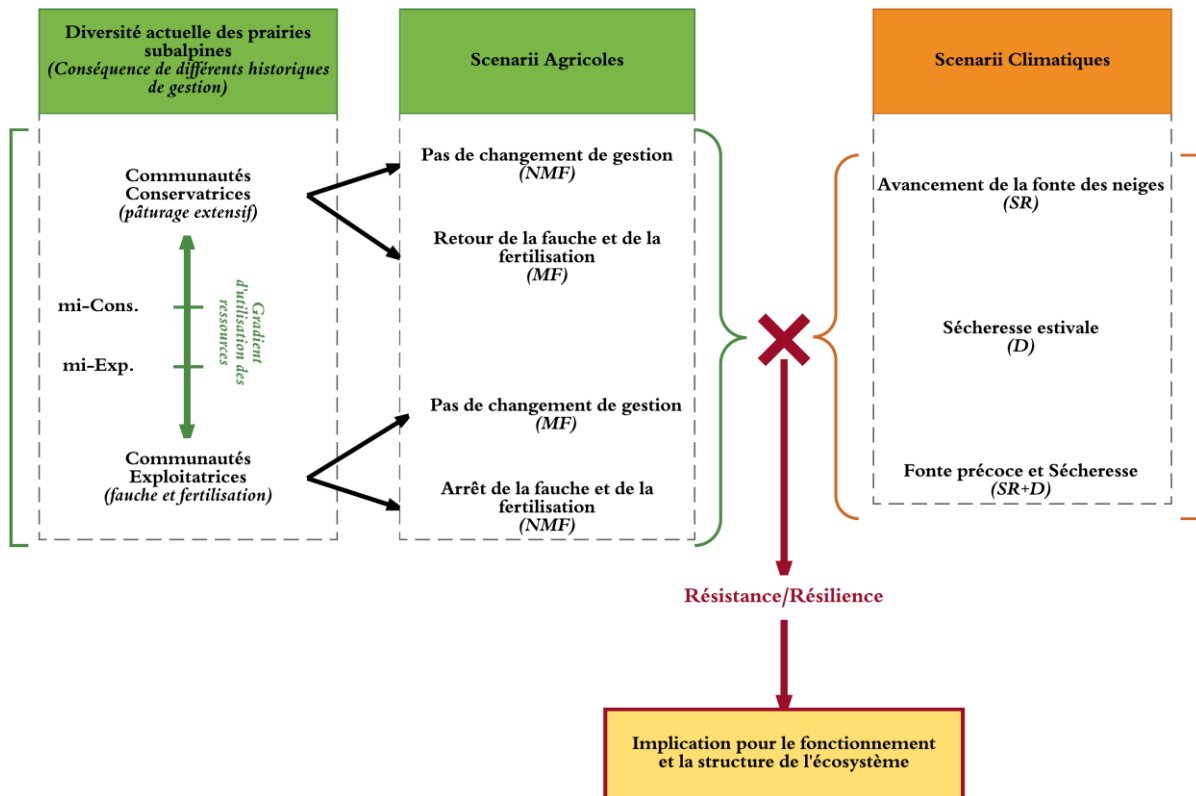


Figure 7.1. Représentation schématique des scénarii climatiques et agricoles considérés dans ce travail de thèse.

7.1.1 - REPONSES SIMILAIRES DU GRADIENT FONCTIONNEL EN ABSENCE DE COUPE ET FERTILISATION

L'absence de gestion agricole dans les traitements expérimentaux, qui représente une continuité de gestion pour les communautés conservatrices et une rupture pour les communautés exploitatrices, entraîne des mécanismes fonctionnels de résilience aux changements environnementaux identiques le long du gradient fonctionnel.

Le déneigement précoce diminue la croissance, la biomasse aérienne, et augmente la concentration en azote des feuilles à l'échelle des communautés végétales. Ces modifications sont d'une part associées à une diminution des pools d'azote dans le sol (hormis l'ammonium) et des processus microbiens (diminution de la biomasse et de la minéralisation) juste après le déneigement, et d'autre part associées à une complète récupération de ces paramètres au cours de la saison de végétation (hormis la biomasse microbienne, uniquement en fin de saison de végétation). La réduction des processus microbiens traduit un *turnover* plus important des communautés, notamment pour celles impliquées dans le processus de minéralisation (diminution de l'activité potentielle de minéralisation de l'azote) en contexte de déneigement précoce. La réduction des pools d'azote peut

être expliquée par deux phénomènes non exclusifs. D'une part par le lessivage des nutriments consécutifs aux épisodes de précipitations enregistrées après le traitement et d'autre part par une assimilation accrue par les plantes (assimilation de nitrates, d'azote organique dissout mais pas d'ammonium), consécutive à une saison de végétation plus précoce. Une plus grande assimilation par les plantes est corroborée par l'augmentation de la concentration en azote des feuilles. Cependant, la biomasse aérienne est négativement impactée par le déneigement précoce (Wipf, Rixen & Mulder 2006; Wipf, Stoeckli & Bebi 2009; Baptist *et al.* 2010; Livensperger *et al.* 2016), probablement du fait des épisodes de gel endurés par les tissus photosynthétiques en tout début de saison de végétation (Inouye 2008; Baptist & Choler 2008; Baptist *et al.* 2009). Cette plus grande assimilation couplée à une diminution de la biomasse aérienne pourrait *a priori* induire une biomasse racinaire plus élevée, ce qui n'est pas vérifié ici et pourrait ainsi traduire un rapide turnover saisonnier des racines (Aerts 1999; Garcia-Pausas *et al.* 2012). Néanmoins, une augmentation de la longueur et du diamètre racinaire n'est pas exclue (SRL pour *specific root length*). A l'inverse, une croissance et une production de biomasse limitées pourraient également être consécutives à un fort lessivage des nutriments au printemps, contraignant la croissance végétale durant la saison de végétation suivante. Cependant, la reconstitution rapide des pools d'azote (hormis l'azote organique dissout) au cours de la saison rend cette hypothèse peu probable, et souligne la forte capacité de résilience des processus souterrains. De plus, cette reconstitution rapide est cohérente avec la diminution de la croissance végétale observée, indiquant un besoin en nutriments plus faible. Enfin, une augmentation de l'assimilation de nutriments par les plantes seulement en début de saison pourrait traduire une augmentation de la synthèse de protéines participant à la protection des cellules face au gel (empêchant la cristallisation intracellulaire de glace, Kreyling 2010); et cet investissement coûteux pour la plante réduirait la croissance ainsi que la production de biomasse durant le reste de la saison de végétation.

La première sécheresse n'a pas entraîné d'effet sur les traits végétaux, contrairement aux processus microbiens. La forte mortalité microbienne (diminution de la biomasse) entraîne un relargage de l'azote préalablement immobilisé (augmentation d'azote total dissout et de nitrates) (Schimel *et al.* 1999). Du fait de la période tardive d'application de la sécheresse la première année (août), les nutriments nouvellement disponibles ne sont pas assimilés par les plantes et donc ne sont pas utilisés pour soutenir la croissance, le pic de végétation étant dépassé. Ceci a pour effet d'entraîner une perte d'azote par lixiviation, avec le retour de l'arrosage. En début de printemps suivant, la reconstitution des pools d'azote souligne la forte capacité de résilience des processus souterrains.

La seconde sécheresse a réduit la biomasse racinaire et augmenté la concentration en azote des racines, la teneur en matière sèches de racines et de la biomasse épigée ainsi que la sénescence

foliaire des communautés végétales. Les pools d'azote quant à eux ne sont pas impactés. L'absence d'effet sur les pools d'azote inorganique pourrait être associée à l'absence de croissance des plantes après le retour de l'arrosage, ainsi qu'à la diminution de la biomasse racinaire réduisant l'assimilation de nutriments. Néanmoins, selon cette hypothèse, les pools d'azote inorganique sous sécheresse devraient être supérieurs à ceux des communautés contrôle (car assimilés pour soutenir la croissance de ces dernières). L'augmentation de la concentration en azote des racines pourrait traduire alors une assimilation toujours effective de la part des plantes mais non utilisée pour soutenir une croissance consécutive à un épisode de sécheresse, expliquant ainsi l'absence de différence des pools d'azote inorganique. Conjointement, et en opposition à la première sécheresse, la biomasse microbienne est stimulée par la seconde. Ceci pourrait traduire une immobilisation de composés azotés prévenant la lyse cellulaire consécutivement à la première sécheresse, et induisant une plus grande résistance à la seconde (Buckeridge & Grogan 2010). Cette augmentation de biomasse microbienne pourrait être associée à une augmentation des activités microbiennes telles que la minéralisation, la nitrification et la dénitrification. Cela expliquerait l'absence de différence des pools azotés entre les communautés sous sécheresse et les communautés contrôles (consécutivement à l'absence d'assimilation de nutriments par les plantes, du fait de leur absence de croissance à la suite d'une sécheresse). Cependant, l'absence de variations de l'activité potentielle de minéralisation de l'azote n'est pas cohérente avec cette hypothèse. En fin de saison de végétation, la biomasse microbienne est diminuée au sein des communautés soumises à la sécheresse, et est potentiellement associée soit à un manque de résilience, soit à une mortalité accrue consécutive au phénomène de surcompensation observé en fin de sécheresse (contrecoup). Dans tous les cas, la réduction effective de la période de croissance des plantes (pause physiologique après la sécheresse) est liée à une perte d'azote du système (Ernakovich *et al.* 2014), du fait d'une forte lixiviation dans les communautés soumises à la sécheresse.

Nous émettons l'hypothèse que la différence de période d'application des deux sécheresses explique les réponses contrastées entre les deux années d'expérimentation. Les plantes sont résistantes à la première sécheresse car elle intervient une fois le pic de biomasse passé, et à une période où le cycle de l'azote est majoritairement gouverné par les processus microbiens, par conséquent beaucoup plus sensibles (Bardgett *et al.* 2005; Robson *et al.* 2010). Inversement, l'application de la seconde sécheresse plus tôt au printemps impacte plus significativement les plantes alors en pleine phase de croissance. A cette période, les plantes gouvernent majoritairement le cycle de l'azote, contrairement aux paramètres microbiens de ce fait moins sensibles (Robson *et al.* 2010; Legay *et al.* 2013).

Dans cette étude, les processus souterrains liés au cycle de l'azote n'apparaissent pas sensibles à l'interaction des deux traitements climatiques. Nous émettons l'hypothèse que la forte capacité de résilience des processus microbiens permet une récupération entre les deux traitements (suite au déneigement artificiel, Gavazov *et al.* 2017). Par conséquent, ces processus répondent de manière additive à chaque traitement. Néanmoins, les augmentations de la lixiviation d'azote total dissout, de nitrates en fin de sécheresse, et d'azote total dissout à la fin de la saison de végétation pourraient indiquer une plus faible résistance/résilience face à la succession d'évènements extrêmes. Ces augmentations pourraient être liées à la forte mortalité microbienne (diminution de la biomasse) qui entraîne un relargage de l'azote préalablement immobilisé (Schimel & Clein 1996; Schimel, Balser & Wallenstein 2007; Matzner & Borken 2008). De plus, l'atténuation des effets de la sécheresse par le déneigement précoce sur les traits fonctionnels végétaux pourrait traduire une plus grande implication des plantes dans les processus souterrains, altérant ainsi la capacité de résistance et/ou résilience des communautés microbiennes à la sécheresse.

La succession d'évènements extrêmes durant la saison de végétation, additionnée à un second déneigement en fin d'hiver, ne modifie pas les processus de décomposition des litières. Cependant, la diminution de la biomasse aérienne mesurée au sein des communautés uniquement soumises au déneigement est potentiellement à même de diminuer la quantité de nutriments disponibles pour la saison de végétation suivante, du fait d'une reconstitution hivernale moindre des pools d'azote *via* la décomposition. De plus, l'utilisation d'une litière standard démontre un impact négatif de la récurrence d'évènements extrêmes uniquement sur les communautés microbiennes issues des communautés végétales exploitatrices. Ceci pourrait être associé à la forte diminution de la biomasse microbienne enregistrée en fin de saison de végétation. Ces observations vont à l'encontre du concept de forte capacité de résilience des micro-organismes, associés aux communautés exploitatrices (ratio champignons : bactéries faibles, de Vries *et al.* 2012a; b). Il n'est pas exclu que la répétition du traitement de déneigement ait des conséquences plus profondes sur les processus microbiens.

7.1.2 - REPONSES CONTRASTEES DU GRADIENT FONCTIONNEL AU TRAITEMENT DE COUPE ET FERTILISATION

Le traitement de fertilisation et de coupe de la biomasse épigée, qui représente une rupture de gestion pour les communautés conservatrices et une continuité pour les communautés exploitatrices, entraîne des mécanismes de résilience à la sécheresse contrastés le long du gradient fonctionnel.

Le déneigement précoce, quant à lui, n'induit généralement pas de différence au sein des pools azotés et des processus microbiens. Ces observations sont cohérentes avec l'absence d'effet du déneigement précoce sur les traits épigés. Néanmoins, l'augmentation de la biomasse racinaire et la diminution de la concentration en azote des racines ne semblent pas être en lien avec une modification des processus souterrains liés au cycle de l'azote. Dans la continuité du peu d'effet du déneigement précoce en contexte de coupe de la biomasse épigée et de fertilisation, les communautés soumises aux deux traitements climatiques répondent de manière identique au seul traitement de sécheresse.

La seconde sécheresse induit un décalage de croissance compensatoire après la coupe de la biomasse épigée et diminue la biomasse aérienne. Ces modifications sont associées au sein des communautés exploitatrices à une augmentation des pools d'azote dans le sol, à la fin de la sécheresse qui perdure jusqu'en fin de saison de végétation. Cette plus forte disponibilité en azote en fin de sécheresse peut s'expliquer par le décalage de croissance compensatoire des plantes après la coupe. En effet, les communautés non soumises à la sécheresse montrent une forte croissance juste après la coupe et donc une forte assimilation de composés azotés pour soutenir cette croissance (en lien avec la stratégie exploitatrice d'utilisation des ressources). En sécheresse, cette assimilation est sans doute fortement réduite (car absence de croissance) et explique ainsi les différences des pools d'azote. Après le retour de l'arrosage, la reprise de croissance foliaire s'opérant sur un laps de temps réduit, ces différences de pools d'azote perdurent jusqu'à la fin de la saison de végétation au sein des communautés soumises à la sécheresse.

Au sein des communautés conservatrices, les pools d'azote ne sont généralement pas impactés à la fin de la sécheresse, mais augmentent en fin de saison de végétation. Ici, l'absence de différence des pools d'azote peut être expliquée par la plus lente reprise de croissance des communautés conservatrices en l'absence de sécheresse (effet délétère de la fauche sur *P. paniculata*, Baptist *et al.* 2013, Benot *et al.* 2013, 2014) ainsi que par la plus faible assimilation des nutriments par les plantes, en lien avec la stratégie conservatrice d'utilisation des ressources. Après le retour de l'arrosage, la reprise de croissance foliaire des communautés soumises à la sécheresse étant

également très faible et sur un laps de temps réduit, le décalage phénologique suffirait à créer une différence de pools azotés en fin de saison de végétation.

Au sein des deux communautés, la réduction de l'assimilation des composés azotés par les plantes en fin de saison de végétation pourrait être liée à l'augmentation globale de lixiviation d'azote (i.e. nitrates et azote total et organique dissout; même si soumise à variations entre les différents traitements) et donc de perte d'azote du système en contexte de sécheresse (sans influence de la composition fonctionnelle).

La seconde sécheresse diminue également la biomasse microbienne en fin de traitement mais pas en fin de saison de végétation. La baisse de résistance et l'augmentation de résilience des communautés microbiennes face à la sécheresse (en comparaison à la forte résistance et faible résilience exprimées en absence de gestion agricole) pourraient être liées à un changement de fonctionnement ou de structure induit par la fertilisation, et qui modifierai la quantité et la qualité des composés azotés disponibles.

La succession d'évènements extrêmes durant la saison de végétation, additionnée à un second déneigement en fin d'hiver, diminue le taux de décomposition des litières conservatrices mais pas celui des exploitatrices. Cependant, la diminution de la biomasse aérienne des deux communautés est potentiellement à même de diminuer la quantité de nutriments disponible pour la saison de végétation suivante, du fait d'une reconstitution hivernale moindre des pools d'azote *via* la décomposition. De plus, l'utilisation d'une litière standard démontre un impact négatif de la récurrence d'évènements extrêmes sur les communautés microbiennes issues des deux communautés fonctionnelles végétales ; ceci pourrait être associé à la forte diminution de la biomasse microbienne enregistrée en fin de saison de végétation. L'absence d'effet sur le taux de décomposition des litières exploitatrices peut s'expliquer par une plus grande fragilité physique des litières, qui facilite leur décomposition.

7.1.3 - REPONSES AUX QUESTIONS DE RECHERCHE

Le bilan des connaissances acquises dans les différents volets de cette étude nous permet de confronter ces résultats aux hypothèses formulées en amont de ce travail de thèse.

7.1.3.1 - EFFETS DES CHANGEMENTS DES PARAMETRES CLIMATIQUES

Conformément à notre hypothèse, le déneigement apparaît comme plus impactant qu'un épisode de sécheresse estivale, à la fois sur les paramètres végétaux et souterrains. Cependant, ces impacts sont limités car n'affectant ni la structure, ni le fonctionnement des prairies subalpines en fin de saison de végétation. Notre compréhension du rôle des processus biotiques souterrains associés aux réponses des végétaux demeure incomplète. Néanmoins, la réduction de la biomasse microbienne en fin de saison de végétation souligne leur sensibilité à ces deux stress climatiques distincts sur une saison de végétation complète.

Deuxièmement, nous infirmons notre hypothèse d'effets synergiques sur la structure et le fonctionnement des prairies d'un déneigement précoce combiné à une sécheresse estivale. A l'inverse, nous observons un effet d'amoindrissement entre ces stress climatiques, le déneigement diminuant l'impact de la sécheresse au moins sur les traits foliaires, probablement par un phénomène d'endurcissement. Par contre, l'augmentation de la perte d'azote par le système prairial en fin de saison de végétation pourrait impliquer des effets synergiques des stress climatiques sur les processus souterrains, et ce malgré une récupération totale supposée sur le laps de temps séparant les deux stress (récupération rapide après le déneigement, Gavazov *et al.* 2017).

7.1.3.2 - EFFETS DES PRATIQUES AGRICOLES

Contrairement à ce qui était attendu initialement, la coupe de la biomasse épigée et la fertilisation n'induisent pas de changement d'abondance des végétaux, que ce soit en conditions normalisées ou en contexte de changements climatiques. De ce fait, les variations de traits fonctionnels interspécifiques en réponse aux stress climatiques n'entraînent qu'un effet marginal sur les réponses fonctionnelles de chacune des communautés. Néanmoins, en accord avec notre hypothèse et par comparaison avec les communautés non soumises aux pratiques de gestion, la coupe et la fertilisation diminuent la résistance (fortement associée à la coupe de la biomasse épigée) et augmentent la résilience des prairies subalpines aux stress climatiques, tout au moins concernant les paramètres végétaux et microbiens.

De manière remarquable, les communautés démontrent une résilience quasiment complète au déneigement précoce en contexte de coupe et de fertilisation. De ce fait, dans les communautés soumises aux pratiques de gestion, la sécheresse est plus impactante que le déneigement précoce. De plus, les communautés soumises aux deux extrêmes climatiques ne divergent pas de celles uniquement soumises à la sécheresse, invalidant une nouvelle fois notre hypothèse de synergie climatique.

Néanmoins, cette augmentation de la résilience par la coupe de la biomasse épigée peut être limitée si l'on compare avec les communautés expérimentales uniquement coupées et fertilisées. Par exemple, une gestion agricole effective entraîne une perte d'azote du système en fin de saison de végétation par les communautés soumises aux extrêmes climatiques, phénomènes non observés au sein des communautés expérimentales coupées et fertilisées mais non soumises aux stress climatiques.

7.1.3.3 - EFFETS DE LA MANIPULATION DE LA COMPOSITION

FONCTIONNELLE VEGETALE

Notre hypothèse concernant l'existence d'un compromis entre les capacités de résistance et de résilience des prairies subalpines, en lien avec les stratégies fonctionnelles d'utilisation des ressources, est vérifiée seulement en contexte de pratiques effectives de gestion.

Cependant, la plus forte résilience aux stress climatiques observée au sein des communautés exploitatrices est relative. Elle peut être considérée comme telle par rapport à ces mêmes communautés exploitatrices non coupées et non fertilisées ou par rapport aux communautés conservatrices (soumises ou non aux pratiques de gestion). Elle est néanmoins très faible en comparaison des communautés expérimentales exploitatrices uniquement coupées et fertilisées.

En absence de coupe et de fertilisation, les communautés fonctionnellement contrastées démontrent des réponses similaires aux extrêmes climatiques même si le gradient fonctionnel est conservé.

7.2 - LA STABILITE ECOLOGIQUE DES PRAIRIES SUBALPINES EN QUESTION ?

Les modifications rapides de l'environnement abiotique, induites par les changements environnementaux appliqués lors de notre expérimentation, n'ont pas entraîné de modifications de la composition des communautés expérimentales (*sensu* abondances relatives) et par conséquent de changements de structure de la végétation de ces écosystèmes prairiaux subalpins. En ce sens, ils peuvent donc être considérés comme très stables face aux changements imposés. Néanmoins, les espèces composant les communautés expérimentales varient dans leur capacité à résister en réponse aux stress climatiques (variations inter-spécifiques des traits fonctionnels), et ces variations d'ensembles de traits peuvent potentiellement altérer *in fine* le fonctionnement de ces écosystèmes.

Pour les espèces considérées dans notre étude, des graminées pérennes, et pour les processus considérés liés au recyclage des nutriments, les traits d'effet et de réponse sont les mêmes : ils sont à la fois liés aux réponses aux facteurs abiotiques tels que la disponibilité en eau et en nutriments, et au fonctionnement biogéochimique de l'écosystème (recyclage de l'azote, patrons de décomposition) au sein du *Plant Economics Spectrum* (Reich 2014). Par conséquent, les combinaisons de traits (simultanément d'effets et de réponses) représentant les stratégies écologiques (i.e. conservatrice et exploitatrice) sont à la fois associées à la résistance et à la résilience des prairies aux changements environnementaux. De fait, les variations de ces stratégies fonctionnelles et des processus souterrains associés (lié au cycle de l'azote, de même que les patrons de décomposition) régissent la dynamique de réponses des communautés aux différents scénarii climatiques et agricoles (Fig. 7.1), et par conséquent définissent la stabilité des fonctions écosystémiques au sein des prairies subalpines.

7.2.1 - QUELLE STABILITE ECOLOGIQUE EN ABSENCE DE COUPE ET FERTILISATION ?

L'absence de gestion agricole dans les traitements expérimentaux, qui représente une continuité de gestion pour les communautés conservatrices et une rupture pour les communautés exploitatrices, entraîne des mécanismes fonctionnels de résilience aux changements environnementaux identiques le long du gradient fonctionnel.

En absence de gestion agricole, les paramètres fonctionnels végétaux et les processus microbiens démontrent une faible stabilité écologique en réponse à un avancement de la date de déneigement (à la fois faible résistance et faible résilience, Fig. 7.2). Néanmoins, la dynamique de résilience des processus microbiens s'opère en deux temps distincts : une première phase de récupération complète jusqu'au pic de végétation, suivie d'un décrochage en fin de saison de végétation. Cette faible stabilité est associée à une diminution transitoire de la disponibilité en nutriments à la suite du déneigement, puis à une reconstitution complète des pools d'azote en fin de saison de végétation. Elle n'est pas associée à une perte d'azote sur la totalité de la saison de végétation. De fait, en réduisant la productivité et en impactant les processus microbiens en fin de saison de végétation, le déneigement est susceptible d'altérer le fonctionnement des prairies subalpines principalement *via* une altération du processus de décomposition, en diminuant la reconstitution des pools d'azote lors de la période hivernale. Sur le long terme, une récurrence de ce type d'extrême climatique serait susceptible de diminuer la disponibilité en nutriments du sol et donc de favoriser les espèces conservatrices.

Les paramètres fonctionnels végétaux et les processus microbiens démontrent une forte résistance mais une faible résilience en réponse à un épisode de sécheresse estivale (Fig. 7.2). Cette forte résistance n'est pas associée à une diminution de la disponibilité en nutriments au cours de la saison de végétation, mais à une fuite d'azote du système en fin de saison de végétation. Ce faisant, en réduisant la qualité des litières et en impactant les processus microbiens en fin de saison de végétation, une sécheresse est susceptible d'altérer le fonctionnement des prairies subalpines à plus long terme principalement *via* une altération de la décomposition, de manière similaire aux effets d'un déneigement précoce (i.e. diminution de la reconstitution des pools d'azote par dégradation des matériaux organiques végétaux, accentuée par une lixiviation accrue d'azote à l'automne). Là encore, une augmentation de la fréquence d'épisodes de sécheresse estivale serait susceptible de diminuer la disponibilité en nutriments du sol sur le long terme et donc de favoriser les espèces conservatrices.

La stabilité écologique des prairies subalpines en réponse à la combinaison des deux extrêmes climatiques est similaire à celle en réponse à un épisode de sécheresse seul (Fig. 7.2). Néanmoins, un déneigement précoce en amont d'un épisode de sécheresse augmente la résistance des paramètres fonctionnels végétaux. Ceci a pour effet de ne pas affecter la qualité des litières. De plus, malgré l'altération des processus microbiens en fin de saison de végétation, le processus de décomposition n'est pas impacté. En induisant une perte d'azote durant la saison de végétation (par lixiviation), une augmentation de la fréquence de ces deux extrêmes climatiques sur le long terme pourrait donc diminuer la disponibilité en nutriments du sol et donc potentiellement favoriser les espèces conservatrices. Cependant, la performance clonale de *P. paniculata* pourrait être restreinte du fait d'une diminution du stockage de fructanes en fin de saison de végétation, diminution consécutive aux extrêmes climatiques.

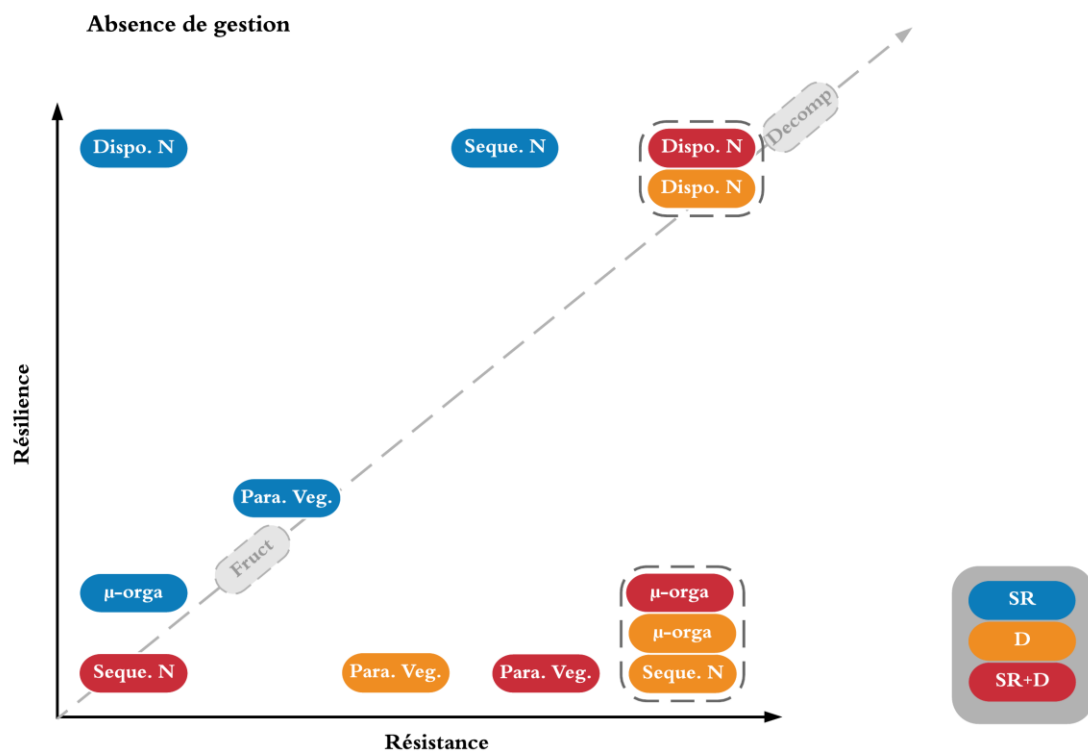


Figure 7.2. Syndrome de résistance et résilience des prairies subalpines en absence de gestion agricole. Para. Veg. : paramètres végétaux ; Dispo. N : disponibilité en azote ; Seque. N : séquestration d'azote ; μ-orga : paramètres microbiens ; Fleche grise : axe fructanes & décomposition ; Fruct : stockage de fructanes par *P. paniculata* ; Decomp : taux de décomposition ; étiquettes bleues : communautés SR ; étiquettes oranges : communautés D ; étiquettes rouges : communautés SR+D.

7.2.2 - QUELLE STABILITE ECOLOGIQUE DES COMMUNAUTES COUPEES ET FERTILISEES ?

Le traitement de fertilisation et de coupe de la biomasse épigée, qui représente une rupture de gestion pour les communautés conservatrices et une continuité pour les communautés exploitatrices, entraîne des mécanismes de résilience à la sécheresse contrastés le long du gradient fonctionnel.

Sous pratiques de gestion agricole simulée, les paramètres fonctionnels végétaux et les processus microbiens démontrent une faible résistance (malgré la fertilisation, données identiques aux communautés non coupées et non fertilisées) mais une forte résilience en réponse à un avancement de la date de déneigement (sous coupe et fertilisation, Fig. 7.3a & b). De manière similaire aux communautés déneigées précocement sans coupe ni fertilisation, la dynamique de résilience des processus microbiens s'opère en deux temps: une récupération complète jusqu'au pic de végétation, suivie d'une diminution en fin de saison de végétation. Ceci traduit par conséquent un effet limité sur les processus microbiens de l'augmentation de la disponibilité en nutriment, induite par la fertilisation. De même, cette faible stabilité est associée à une diminution transitoire de la disponibilité en nutriments à la suite du déneigement, puis d'une reconstitution complète des pools d'azote au cours de la saison de végétation, et ce de façon similaire aux communautés non coupées ni fertilisées. Cette faible stabilité n'est également pas associée à une perte d'azote sur la totalité de la saison de végétation. Cependant, ici le déneigement n'induit pas de baisse de productivité (en comparaison aux communautés seulement coupées et fertilisées, i.e. sans déneigement précoce). De plus, dans ces communautés coupées et fertilisées, la pratique de fertilisation est à même de compenser une possible diminution de la disponibilité en nutriment ; cette diminution est induite par une réduction de l'efficacité du processus de décomposition, lui-même résultant d'une altération des processus microbiens en fin de saison de végétation. De fait, dans ces conditions, un avancement de la date de fonte du manteau neigeux ne paraît pas induire de conséquences à long terme sur le fonctionnement des prairies subalpines (contrairement aux communautés uniquement coupées et fertilisées, i.e. sans déneigement précoce).

Au sein des communautés conservatrices, les paramètres fonctionnels végétaux montrent une faible stabilité écologique en réponse à un épisode de sécheresse estivale (à la fois faible résistance et faible résilience, Fig. 7.3a). Les processus microbiens quant à eux sont peu résistants mais fortement résilients. Cette faible stabilité est associée à une augmentation de la disponibilité en nutriments ainsi qu'à une perte d'azote du système en fin de saison de végétation. Ces pertes par lixiviation seraient susceptibles de diminuer les effets de la fertilisation sur la disponibilité en nutriments du sol, avec la récurrence de ces événements climatiques. Cependant, du fait de sa

sensibilité à la fauche (Baptist *et al.* 2013), le maintien de la fauche ne permettrait pas *a priori* une expansion de *P. paniculata* comme on pourrait l'attendre pour une espèce conservatrice suite à cette baisse de disponibilité en nutriments.

Au sein des communautés exploitatrices (Fig. 7.3b), la dynamique de stabilité est similaire à quelques détails près : l'augmentation de la disponibilité en nutriments est effective durant la saison de végétation et pas seulement à la fin ; et la résilience des paramètres fonctionnels végétaux est « moins faible » en comparaison des communautés conservatrices. Les issues à long terme restent les mêmes.

La stabilité écologique des prairies subalpines, à dominance conservatrice ou exploitatrice, en réponse à la combinaison des deux extrêmes climatiques et sous traitement de fertilisation et de coupe, est similaire à celle en réponse à un épisode de sécheresse seul (Fig. 7.3a & b). La seule différence provient des patrons de lixiviations avec une perte d'azote plus forte au pic de végétation pour les traitements combinés que pour la sécheresse seule et plus faible en fin de saison de végétation. De plus, la décomposition des litières conservatrices est réduite, contrairement à la décomposition des litières exploitatrices, et ce malgré la récupération totale des processus microbiens en fin de saison de végétation. De façon similaire au sein des deux types de communautés, la performance clonale de *P. paniculata* pourrait être restreinte en raison d'une diminution du stockage de fructanes en fin de saison de végétation, consécutive à des événements climatiques.

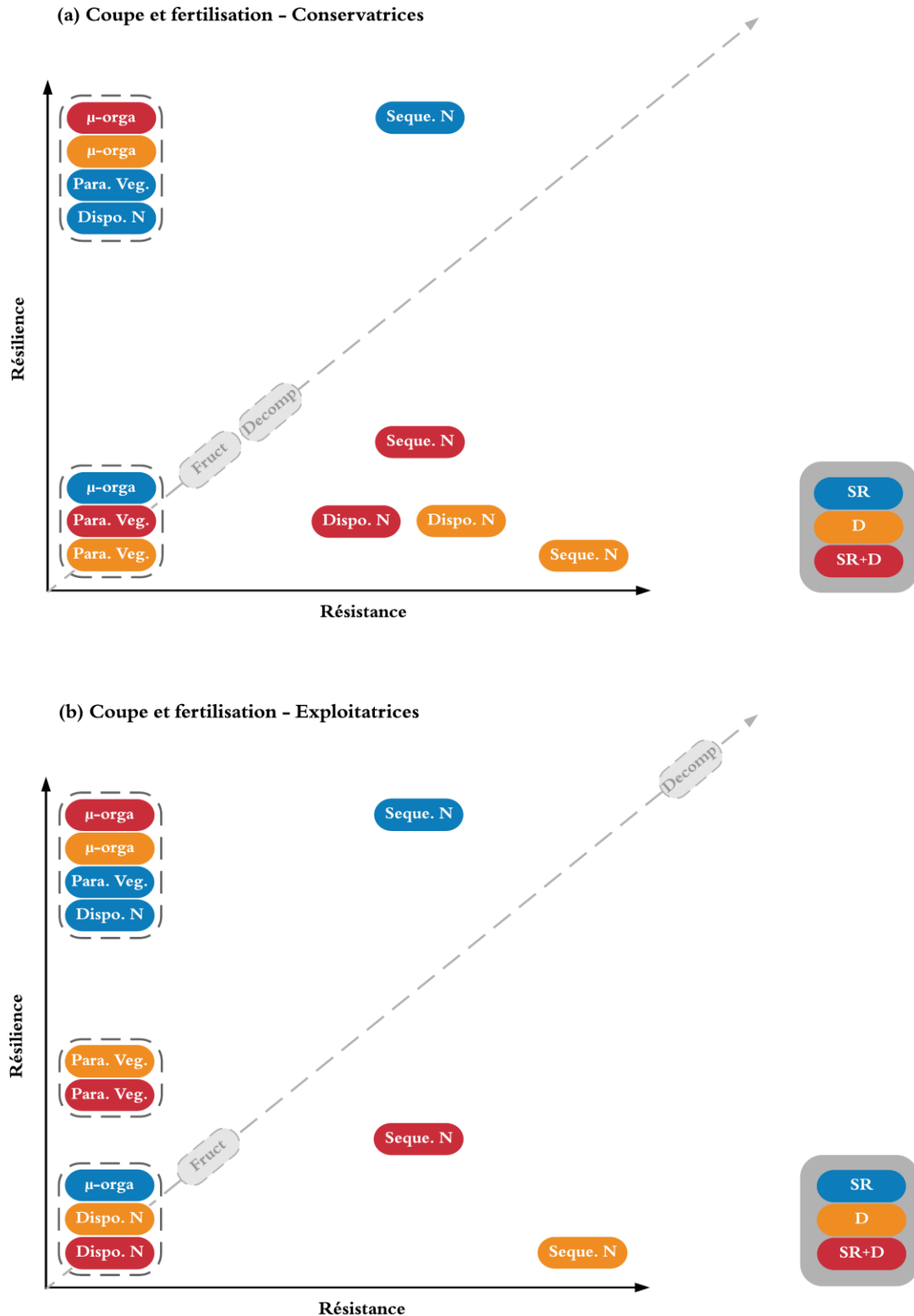


Figure 7.3. Syndrome de résistance et résilience des prairies subalpines **conservatrices (a)** et **exploitrices (b)** sous pratiques de gestion agricole. Para. Veg. : paramètres végétaux ; Dispo. N : disponibilité en azote ; Seque. N : séquestration d'azote ; μ-orga : paramètres microbiens ; Fleche grise : axe fructanes & décomposition ; Fruct : stockage de fructanes par *P. paniculata* ; Decomp : taux de décomposition ; étiquettes bleues : communautés SR ; étiquettes oranges : communautés D ; étiquettes rouges : communautés SR+D.

7.2.3 - PERSPECTIVES DE RECHERCHES

Afin de préciser la réponse des communautés subalpines aux événements climatiques extrêmes, des jeux de données issus de ce travail de thèse restent à analyser. Une partie du système racinaire des 128 mésocosmes a été extraite afin de caractériser la biomasse racinaire des communautés. Des mesures de la longueur et du diamètre racinaire permettront de préciser les stratégies d'allocation des ressources pour la production de tissus végétaux dans un contexte de fonte précoce du manteau neigeux, et dans un contexte de stress hydrique. En effet, l'un des principaux mécanismes d'évitement de la sécheresse par les espèces exploitatrices est l'augmentation de l'allocation des ressources aux racines, afin d'augmenter leurs longueur et profondeur pour la recherche d'eau (Pérez-Ramos *et al.* 2013). Ces mesures permettront aussi de caractériser le rôle des traits racinaires dans l'amoindrissement des effets de la sécheresse lorsqu'elle est combinée à un déneigement précoce.

En juin, juillet et août 2014, nous avons également réalisé une campagne de mesures d'échanges gazeux (*Net CO₂ Ecosystem Exchange* - NEE) sur un sous échantillon de communautés, identique à celui de l'expérimentation portant sur la décomposition (*chapitre VI*). L'analyse de ces données permettra de caractériser plus finement l'activité photosynthétique des communautés subalpines soumises aux deux extrêmes climatiques, et ainsi de souligner les différences de mécanismes de résistance et de résilience de cette fonction entre les communautés fonctionnellement contrastées. De plus, cela nous permettra de confirmer l'hypothèse d'une pause physiologique observée sur les traits végétaux. Par exemple, une activité photosynthétique relativement stable durant la sécheresse pourrait indiquer une plus grande allocation de ressources carbonées vers les racines (longueur et diamètre) ou une augmentation d'exsudation racinaire (Karlowsky *et al. in rev.*). Nous avons également commencé à mesurer la concentration en phénols totaux des échantillons de lixiviats qui pourra être utilisée comme proxy du carbone organique dissout (Gallet & Keller 1999; Hagedorn *et al.* 2000), afin d'appréhender (sommairement) la dynamique du carbone du sol au sein des communautés expérimentales. De plus, conjointement à l'expérimentation en mésocosmes, nous avons disposé dans les parcelles expérimentales des monolithes de prairies naturelles soit uniquement pâturées (trajectoire n°5), soit fauchées et fertilisées (trajectoire n°1 ; *chapitre II - paragraphe 2.1.2*) et donc fonctionnellement contrastées (conservatrices vs exploitatrices) (Quétier *et al.* 2007). Ces monolithes ont fait l'objet d'un marquage isotopique au ¹³C en fin de période de sécheresse lors de la saison de végétation 2014 par des partenaires du projet REGARDS (UIBK équipe de Michael Bahn et Max Planck Institut Jena équipe de Gerd Gleixner, cf Avant-Propos). L'analyse des concentrations en carbone marqué des feuilles et racines permettra de préciser les

patrons d'allocation des ressources carbonées selon le type de prairie, au maximum d'un épisode de sécheresse.

A chacune des sessions d'échantillonnage, une partie du sol a été analysée par des partenaires microbiologistes du projet REGARDS (*LEM équipe de Franck Poly et Thomas Pommier, cf Avant-Propos*). Les abondances des gènes de nitrification (NEA) et de dénitrification (DEA), ainsi que la respiration microbienne (SIR) ont été quantifiées. La mise en relation de ces résultats avec ceux explicités dans le chapitre IV permettront de préciser les relations entre les différents pools d'azote et l'implication des processus microbiens. Cela permettra une analyse plus complète des mécanismes du cycle de l'azote avant, pendant, et après les différents traitements climatiques.

En conclusion des analyses présentées dans cette thèse, les prairies subalpines apparaissent comme résistantes aux épisodes de sécheresses, même intenses, ce qui confirme les précédents résultats obtenus sur le même site d'étude (projet VALIDATE, Benot *et al.* 2014) et les observations réalisées en Suisse romande sur des prairies subalpines de composition botanique assez différentes de celles du site du Lautaret (Vittoz *et al.* 2009). Néanmoins, nos résultats montrent la prévalence des effets d'un avancement de la date de fonte du manteau neigeux sur la dynamique de végétation de ces prairies, et ce malgré des épisodes de gel-dégel de relative faible intensité. Il paraîtrait donc opportun de mettre en place une expérimentation de déneigement sur le long terme, afin de préciser si des points de basculement dans le fonctionnement des prairies subalpines peuvent être atteints par ce type de forçage climatique. Ceci serait d'autant plus pertinent que, si les scénarios climatiques ne sont pas certains quant à l'assèchement du climat pour les Alpes, le recul de l'enneigement en-dessous de 2000 m est lui une certitude. De même, afin de préciser les interactions des pratiques de gestion agricole avec les réponses de ces prairies aux modifications du climat, une séparation des pratiques de coupe et de fertilisation serait nécessaire, et ce d'autant que l'arrêt de la fertilisation est envisagée par les éleveurs sous certains scénarios socio-économiques (Lamarque *et al.* 2013).

7.3 - LIMITES DE NOTRE ÉTUDE

Cette thèse basée sur un dispositif expérimental ambitieux, en conditions semi-contrôlées à 2 100-m d'altitude, souligne et confirme en premier lieu la forte résistance des prairies subalpines dans des conditions encore plus extrêmes que celles explorées auparavant. Néanmoins, cette résistance peut être discutée au regard de certaines contraintes expérimentales.

En premier lieu, l'application de la sécheresse a parfois été déconnectée des conditions météorologiques *in situ*. En effet, les jours de brouillard et les longs épisodes de pluie estivaux ont pu atténuer les conditions de stress hydriques *via* l'humidité relative de l'air. Néanmoins, l'arrosage normalisé hebdomadaire, par comblement des pertes d'eau dues à l'évapotranspiration, a permis d'adapter les conditions hydriques des communautés contrôles aux conditions climatiques réelles. Ceci est confirmé par la diminution de l'humidité du sol progressive durant les saisons de végétation dans les communautés contrôles, de manière similaire aux prairies naturelles sur le même site d'étude. Notre méthodologie a donc permis la comparaison des effets du stress hydrique par rapport à un « contrôle » local réaliste et non pas à un « contrôle » représentant un optimum hydrique (Knapp *et al.* 2017).

A l'inverse, l'ajout de quantités d'eau substantielles à la fin de chaque épisode de sécheresse (dans le but de récolter des lixiviats) n'apparaît pas comme réaliste au regard des phénomènes naturels. En effet, en prairies naturelles, la majeure partie de l'eau apportée par des épisodes de pluie intense n'est pas incorporée dans le sol, mais est évacuée par ruissellement de surface lié à la pente et à l'imperméabilisation de surface par une sécheresse prolongée (Ruggenthaler *et al.* 2015). L'utilisation de pots a empêché ce ruissellement, et a permis une récupération plus rapide de la teneur en eau du sol qu'en conditions naturelles. Ce biais expérimental a pu par conséquent faciliter la résilience des processus souterrains, de même que la résilience des végétaux (au moins en conditions de coupe et de fertilisation, en permettant la repousse et l'absorption de nutriments).

Notre traitement de déneigement précoce n'apparaît pas comme réaliste au regard du phénomène naturel de fonte du manteau neigeux. D'une part l'exportation manuelle de la neige enlève une majeure partie de l'eau de fonte, d'autre part elle ne mime pas les modifications graduelles de température et de lumière au sol, en lien avec une diminution progressive de l'épaisseur de neige. Cependant, lors de la fonte des neiges, l'eau est au moins en partie évacuée par ruissellement de surface (lié à la pente) et s'infiltre seulement pour partie, notamment du fait de la saturation en eau des sols. De plus, la diminution de l'épaisseur de neige se fait pour partie par sublimation, du fait de la hausse des températures et de la faible humidité de l'air. De ce fait, la fonte naturelle des derniers centimètres de neige lors de notre déneigement artificiel a pu mimer de façon correcte un

phénomène naturel de fonte avancée, comme en atteste la faible différence de teneur en eau du sol induite par notre traitement tout au long de la saison de végétation.

L'effet plus faible qu'attendu du déneigement artificiel sur le fonctionnement des prairies subalpines pourrait être lié aux conditions climatiques printanières clémentes lors de notre expérimentation. En effet, l'intensité des cycles gel-dégel a été relativement faible et n'a pas entraîné de température négative du sol. La répétition de l'expérimentation de déneigement sur le long-terme permettrait de rendre compte de la variabilité interannuelle des conditions printanières suivant le déneigement.

Le peu d'effets des traitements de coupe et de fertilisation au sein des communautés (c'est-à-dire de changement d'abondance relative des espèces) peut être expliqué par le temps d'application restreint de ce traitement (seulement une saison). Néanmoins, nous avons bien observé que les pratiques de gestion modifiaient les patrons de résistance/résilience des communautés prairiales subalpines *via* des réponses contrastées le long du gradient de composition fonctionnelle.

Ce gradient est demeuré globalement stable tout au long de l'expérimentation, indiquant de ce fait que les communautés à composition fonctionnelle intermédiaire n'entraînent pas une amélioration simultanée de la résistance et de la résilience, issue d'un compromis entre espèces conservatrices (associées à la résistance) et espèces exploitatrices (associées à la résilience). Ce faible effet d'une composition fonctionnelle plus équilibrée dans la médiation des réponses des communautés subalpines aux extrêmes climatiques, pourrait être lié à la faible croissance de *Bromopsis erecta* au cours de cette expérimentation. Ceci a entraîné une biomasse relative bien inférieure à ce qui était attendu au sein des communautés végétales (*chapitre III, annexe IX*). Malgré une absence de mortalité, la croissance de *B. erecta* a vraisemblablement été impactée par une forte concurrence dans l'absorption des nutriments et dans l'accès à la lumière par les deux autres espèces (*Dactylis glomerata* et *Patzkea. paniculata*).

La relative faible différenciation des patrons de résistance/résilience entre les communautés fonctionnellement contrastées (particulièrement en absence de pratiques de gestion) pourrait être liée à deux contraintes expérimentales. Premièrement, l'utilisation d'assemblages contrôlés de végétaux implique que certaines caractéristiques de l'écosystème soient peu réalistes ; comme par exemple la structuration d'âge des populations (très homogènes) ou encore l'historique des individus (trop jeunes). Deuxièmement, l'utilisation d'un sol homogène provenant d'une prairie à Fétuque paniculée a pu limiter l'expression des caractères propres aux communautés exploitatrices. Ceci tend à être confirmé par la différenciation plus marquée des patrons de résistance/résilience entre les communautés fonctionnellement contrastées, lorsqu'elles sont soumises à une coupe de la

biomasse épigée et à une fertilisation. La prairie d'où provient le sol n'a jamais été labourée ni amendée. L'historique de gestion fait état d'une pratique de fauche jusque dans les années 1970 et d'un pâturage extensif estival depuis. Les processus du sol et donc la microflore sont fortement associés à ceux d'une prairie à Fétuques (conservatrices), ce qui pourrait expliquer la relative homogénéité des réponses des communautés microbiennes tout au long de l'expérimentation. L'absence de différenciation des pools de C et C/N totaux en l'absence de gestion indique qu'après trois années d'installation d'espèces exploitatrices, les processus souterrains n'ont pas encore divergé. Cependant, les différences de patrons de décomposition observées lors de l'hiver 2014/2015 entre les communautés exploitatrices et conservatrices traduisent peut-être un début de basculement dans le fonctionnement des communautés expérimentales.

La plupart des réserves émises ci-dessus compliquent l'extrapolation des résultats à une échelle supérieure ; cependant, elles sont inhérentes à un tel dispositif expérimental et permettent de le garder gérable (Van Peer *et al.* 2004).

7.4 - CONCLUSION GÉNÉRALE

Le changement climatique interagit avec la modification des pratiques de gestion agricole pour modifier la structure et le fonctionnement des communautés végétales, avec des répercussions sur le fonctionnement des écosystèmes, ainsi que sur les services écosystémiques qui en résultent. Plus nous comprenons la dynamique écologique qui sous-tend des écosystèmes fonctionnellement résilients, plus nous pouvons anticiper les changements potentiels et ainsi en atténuer les effets indésirables. En ce sens, ce travail de thèse contribue à une meilleure compréhension des impacts du changement climatique sur les communautés végétales et sur leurs implications potentielles pour le fonctionnement des écosystèmes prairiaux subalpins ; et ce en étudiant les différentes composantes par le biais d'une approche expérimentale d'envergure.

Nous avons mis en évidence que les prairies subalpines de la région du Lautaret, bien que très résistantes, pourraient être faiblement résilientes aux changements environnementaux en cours, et ce quelle que soit leur composition fonctionnelle. Notamment, nous soulignons une tendance sur le long terme vers un fonctionnement de plus en plus conservateur au regard de l'utilisation des ressources. De ce fait, la probable récurrence d'extrêmes climatiques pose la question d'un seuil de basculement potentiellement très dommageable pour les nombreux services écosystémiques supportés par ces écosystèmes.

A l'heure actuelle, ces services écosystémiques sont directement ou indirectement dépendants du maintien d'une agriculture extensive. Toutes proportions gardées, ce travail de thèse pourrait être un premier pas vers des recommandations pratiques à l'usage des éleveurs, lors d'événements climatiques extrêmes à l'échelle d'une même saison de végétation. En effet, nos résultats suggèrent qu'une fauche pendant un épisode de sécheresse assurerait la récolte d'un regain de meilleure qualité fourragère en fin de saison après le retour de la pluie, en comparaison d'une récolte des foin unique au pic de végétation. Cependant, la quantité de biomasse fourragère issue de ce regain est fortement dépendante des conditions climatiques au sortir de la sécheresse et resterait dans tous les cas faibles. Néanmoins, nos résultats suggèrent également qu'une telle fauche en condition de sécheresse serait accompagnée par des pertes d'azote à l'automne, potentiellement très dommageables pour ces prairies oligotrophes. Cet exemple souligne la complexe interaction entre les forçages climatiques et les pratiques agricoles, et démontre la nécessité de futures recherches pour limiter cette perte d'azote et, plus largement, pour préciser la manière dont ces mêmes pratiques pourraient être utilisées comme levier pour soutenir la résilience des prairies subalpines aux changements climatiques, à la fois sur le court et long terme.

7.5 - BIBLIOGRAPHIE

- Aerts, R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 29–37.
- Baptist, F. & Choler, P. (2008) A simulation of the importance of length of growing season and canopy functional properties on the seasonal gross primary production of temperate alpine meadows. *Annals of botany*, **101**, 549–559.
- Baptist, F., Flahaut, C., Streb, P. & Choler, P. (2010) No increase in alpine snowbed productivity in response to experimental lengthening of the growing season. *Plant biology*, **12**, 755–64.
- Baptist, F., Secher-Fromell, H., Viard-Cretat, F., Aranjuelo, I., Clement, J.-C., Creme, A., Desclos, M., Laine, P., Nogues, S. & Lavorel, S. (2013) Carbohydrate and nitrogen stores in *Festuca paniculata* under mowing explain dominance in subalpine grasslands. *Plant biology*, **15**, 395–404.
- Baptist, F., Tcherkez, G., Aubert, S., Pontailler, J.-Y., Choler, P. & Nogués, S. (2009) ¹³C and ¹⁵N allocations of two alpine species from early and late snowmelt locations reflect their different growth strategies. *Journal of experimental botany*, **60**, 2725–2735.
- Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R. & Schmidt, S.K. (2005) A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 634–641.
- Benot, M.L., Saccone, P., Pautrat, E., Vicente, R., Colace, M.P., Grigulis, K., Clément, J.C. & Lavorel, S. (2014) Stronger Short-Term Effects of Mowing Than Extreme Summer Weather on a Subalpine Grassland. *Ecosystems*, **17**, 458–472.
- Benot, M., Saccone, P., Vicente, R., Pautrat, E., Morvan-Bertrand, A., Decau, M.-L., Grigulis, K., Prud'homme, M.-P. & Lavorel, S. (2013) How extreme summer weather may limit control of *Festuca paniculata* by mowing in subalpine grasslands. *Plant Ecology & Diversity*.
- Buckeridge, K.M. & Grogan, P. (2010) Deepened snow increases late thaw biogeochemical pulses in mesic low arctic tundra. *Biogeochemistry*, **101**, 105–121.
- Ernakovich, J.G., Hopping, K. a, Berdanier, A.B., Simpson, R.T., Kachergis, E.J., Steltzer, H. & Wallenstein, M.D. (2014) Predicted responses of arctic and alpine ecosystems to altered seasonality under climate change. *Global change biology*.
- Gallet, C. & Keller, C. (1999) Phenolic composition of soil solutions: comparative study of lysimeter and centrifuge waters. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 1151–1160.
- Garcia-Pausas, J., Casals, P., Rovira, P., Vallecillo, S., Sebastià, M.-T.T. & Romanyà, J. (2012) Decomposition of labelled roots and root-C and -N allocation between soil fractions in mountain grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, **49**, 61–69.

- Gavazov, K., Ingrisch, J., Hasibeder, R., Mills, R.T.E., Buttler, A., Gleixner, G., Pumpanen, J. & Bahn, M. (2017) Winter ecology of a subalpine grassland: Effects of snow removal on soil respiration, microbial structure and function. *Science of The Total Environment*, **590–591**, 316–324.
- Hagedorn, F., Kaiser, K., Feyen, H. & Schleppi, P. (2000) Effects of Redox Conditions and Flow Processes on the Mobility of Dissolved Organic Carbon and Nitrogen in a Forest Soil. *Journal of Environmental Quality*, **29**, 288–297.
- Inouye, D. (2008) Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*, **89**, 353–362.
- Karlowisky, S., Augusti, A., Ingrisch, J., Hasibeder, R., Lavorel, S. & Bahn, M. & Gleixner, G. Land use alters drought responses of carbon allocation and plant-microbial interactions in mountain grassland.
- Knapp, A.K., Avolio, M.L., Beier, C., Carroll, C.J.W., Collins, S.L., Dukes, J.S., Fraser, L.H., Griffin-Nolan, R.J., Hoover, D.L., Jentsch, A., Loik, M.E., Phillips, R.P., Post, A.K., Sala, O.E., Slette, I.J., Yahdjian, L. & Smith, M.D. (2017) Pushing precipitation to the extremes in distributed experiments: recommendations for simulating wet and dry years. *Global Change Biology*, **23**, 1774–1782.
- Kreyling, J. (2010) Winter climate change: a critical factor for temperate vegetation performance. *Ecology*, **91**, 1939–1948.
- Lamarque, P., Artaux, A., Barnaud, C., Dobremez, L., Nettier, B. & Lavorel, S. (2013) Taking into account farmers' decision making to map fine-scale land management adaptation to climate and socio-economic scenarios. *Landscape and Urban Planning*, **119**, 147–157.
- Legay, N., Grassein, F., Robson, T.M., Personeni, E., Bataillé, M.P., Lavorel, S. & Clément, J.C. (2013) Comparison of inorganic nitrogen uptake dynamics following snowmelt and at peak biomass in subalpine grasslands. *Biogeosciences*, **10**, 7631–7645.
- Livensperger, C., Steltzer, H., Darrouzet-Nardi, A., Sullivan, P.F., Wallenstein, M. & Weintraub, M.N. (2016) Earlier snowmelt and warming lead to earlier but not necessarily more plant growth. *AoB PLANTS*, **8**, plw021-plw021.
- Matzner, E. & Borken, W. (2008) Do freeze-thaw events enhance C and N losses from soils of different ecosystems? A review. *European Journal of Soil Science*, **59**, 274–284.
- Van Peer, L., Nijs, I., Reheul, D. & De Cauwer, B. (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. *Functional Ecology*, **18**, 769–778.
- Pérez-Ramos, I.M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A. & Roumet, C. (2013) Tradeoffs between

functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, **87**, 126–136.

Quétier, F., Thébault, A. & Lavorel, S. (2007) Plant traits in a state and transition framework as markers of ecosystem response to land-use change. *Ecological Monographs*, **77**, 33–52.

Reich, P.B. (2014) The world-wide “fast–slow” plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology*, **102**, 275–301.

Robson, T.M., Baptist, F., Clément, J.-C. & Lavorel, S. (2010) Land use in subalpine grasslands affects nitrogen cycling via changes in plant community and soil microbial uptake dynamics. *Journal of Ecology*, **98**, 62–73.

Ruggenthaler, R., Schöberl, F., Markart, G., Klebinder, K., Hammerle, A. & Leitingner, G. (2015) Quantification of Soil Moisture Effects on Runoff Formation at the Hillslope Scale. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering*, **141**.

Schimel, J., Balser, T. & Wallenstein, M. (2007) Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology*, **88**, 1386–1394.

Schimel, J.P. & Clein, J.S. (1996) Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**, 1061–1066.

Schimel, J.P., Gullledge, J.M., Clein-Curley, J.S., Lindstrom, J.E. & Braddock, J.F. (1999) Moisture effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 831–838.

Vittoz, P., Randin, C., Dutoit, A., Bonnet, F. & Hegg, O. (2009) Low impact of climate change on subalpine grasslands in the Swiss Northern Alps. *Global Change Biology*, **15**, 209–220.

de Vries, F.T., Liiri, M.E., Bjørnlund, L., Setälä, H.M., Christensen, S. & Bardgett, R.D. (2012a) Legacy effects of drought on plant growth and the soil food web. *Oecologia*, **170**, 821–833.

de Vries, F.T., Manning, P., Tallwin, J.R.B., Mortimer, S.R., Pilgrim, E.S., Harrison, K.A., Hobbs, P.J., Quirk, H., Shipley, B., Cornelissen, J.H.C., Kattge, J. & Bardgett, R.D. (2012b) Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecology Letters*, **15**, 1230–1239.

Wipf, S., Rixen, C. & Mulder, C.P.H. (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Global Change Biology*, **12**, 1496–1506.

Wipf, S., Stoeckli, V. & Bebi, P. (2009) Winter climate change in alpine tundra: plant responses to changes in snow depth and snowmelt timing. *Climatic Change*, **94**, 105–121.