



HAL
open science

Etude des processus de régénération naturelle du pin maritime en contexte de dune forestière gérée : influence de la sylviculture, du climat et des interactions biotiques

Arthur Guignabert

► To cite this version:

Arthur Guignabert. Etude des processus de régénération naturelle du pin maritime en contexte de dune forestière gérée : influence de la sylviculture, du climat et des interactions biotiques. Sylviculture, foresterie. Université de Bordeaux, 2018. Français. NNT : 2018BORD0437 . tel-02121792

HAL Id: tel-02121792

<https://theses.hal.science/tel-02121792>

Submitted on 6 May 2019

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 présentée par :
Arthur GUIGNABERT

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE : **Sciences et Environnements**

SPÉCIALITÉ : **Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés**

Etude des processus de régénération naturelle du pin maritime en contexte de dune forestière gérée. Influence de la sylviculture, du climat et des interactions biotiques

Sous la direction de : Laurent AUGUSTO
Co-directrice : Maya GONZALEZ
Co-directeur : Florian DELERUE

Soutenue le : **20 décembre 2018**

Membres du jury :

M. Didier ALARD	Pr / HDR, Université de Bordeaux	Président
Mme Sonia SAÏD	CR / HDR, ONCFS Birieux	Rapporteur
M. Bernard PREVOSTO	IR / HDR, IRSTEA Aix-en-Provence	Rapporteur
M. Armin BISCHOFF	Pr / HDR, Université d'Avignon	Examineur
M. Georges KUNSTLER	CR / HDR, IRSTEA Grenoble	Examineur
Mme Maya GONZALEZ	MC, Bordeaux Sciences Agro	Invitée
M. Florian DELERUE	MC, ENSEGID Bordeaux	Invité
M. Laurent AUGUSTO	DR / HDR, INRA Bordeaux	Directeur de thèse

Résumé

Les forêts dunaires d'Aquitaine de pin maritime (*Pinus pinaster*) représentent un intérêt économique et écologique important de par leur rôle multifonctionnel (production de bois, protection contre l'érosion, préservation de la biodiversité, tourisme). La régénération naturelle est pratiquée après coupe rase pour les renouveler. Mais, de nombreux échecs de régénération sont observés depuis 20 ans, entraînant des pertes économiques non négligeables.

L'objectif de ce travail a été d'identifier les mécanismes écologiques impliqués dans ces échecs récurrents, afin de proposer des recommandations de gestion pour favoriser le renouvellement de ces pinèdes. Pour cela, nous avons étudié quatre étapes-clés du processus de régénération : dispersion des graines, germination, survie, et croissance. Un réseau de sites d'observation le long du cordon dunaire a été utilisé pour quantifier la régénération, en interactions avec des pratiques sylvicoles (coupe rase vs coupe progressive, semis de graines de pin maritime vs absence de semis). Deux sites semi-expérimentaux ont été installés afin d'étudier en détail certains facteurs explicatifs potentiellement importants dans notre contexte (climat, interactions plante-plante, herbivorie).

Nos résultats confirment que la régénération naturelle est un processus complexe, influencé par de nombreux facteurs environnementaux et d'autres liés à la gestion, pouvant être eux-mêmes en interaction. La quantité de graines atteignant le sol ne semble pas être limitante. La germination des graines est fortement liée à l'humidité du sol, et est influencée par l'hétérogénéité de la microtopographie. La sécheresse estivale, cause majeure de mortalité des plantules, peut-être modulée par le maintien d'arbres semenciers. Les interactions biotiques directes et indirectes avec la végétation de sous-bois impactent fortement la survie des plantules, mais varient grandement en direction et en intensité selon les saisons et les années. Bien que nos résultats permettent de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le cycle de régénération du pin maritime, il apparaît difficile de mettre en avant un seul facteur expliquant les échecs de régénération sur certains secteurs. Cependant, dans l'ensemble, le maintien d'arbres semenciers pendant quelques années permet d'obtenir une régénération réussie sur la globalité des forêts dunaires, grâce à l'apport pluriannuel de graines mais aussi à travers les modifications du microclimat sous leur canopée. Contrôler la végétation spontanée afin de réduire la compétition avec les plantules de pin, et augmenter les plans de chasse afin de réduire la pression des herbivores sur les plantules, doit aussi être envisagé dans les secteurs où les échecs de régénération sont fréquents.

Mots clés : régénération naturelle ; *Pinus pinaster* ; climat ; sylviculture ; interactions biotiques ; herbivorie.

Abstract

In south-western France, the coastal fringe with maritime pine (*Pinus pinaster*) forest has a multifunctional role, with erosion protection, preservation of biodiversity, tourism, and wood production as main objectives. Natural regeneration is used to renew these stands after clear-cutting. However, in recent years, regeneration failures have increased in some areas, leading to significant economic losses.

The objective of this work was to identify the ecological mechanisms involved in these recurrent failures, in order to propose adapted forestry management practices to ensure forest regeneration. To do this, we studied four stages of the regeneration process: seed dispersal, germination, survival, and growth. A monitoring network of five sites along the Aquitaine Coast was also used to quantify the regeneration and characterize local differences in terms of forest management practices (clear-cut vs seed-tree regeneration, and sowing vs no sowing). Two experimental sites were set up to study in detail some factors potentially important in our context (climate, plant-plant interactions, herbivory).

Our results confirm that natural regeneration is a complex process, influenced by many – often interacting – environmental and management factors. The quantity of seeds reaching the forest soil does not seem to be limiting. Seed germination is strongly related to soil moisture, and is influenced by the heterogeneity of the micro topography. Summer drought, the main cause of seedling mortality, may be mitigated by remaining seed trees on the stand. Direct and indirect biotic interactions with understorey vegetation have a strong impact on seedling survival, but vary greatly both in direction and intensity, depending on the season and the year.

Even though our results provide a better understanding of the mechanisms involved in the regeneration cycle of maritime pine, it is difficult to put forward a single factor explaining local regeneration failures. However, overall, maintaining seed trees for a few years allows obtaining a successful regeneration in the entire coastal forest, thanks to the multi-year supply of seeds but also through the modifications of the microclimate under their canopy. Controlling understorey vegetation to reduce competition with pine seedlings and increasing hunting plans to reduce herbivory pressure on seedlings should also be considered in areas where regeneration failures are common.

Key words: natural regeneration ; *Pinus pinaster* ; climate ; forestry ; biotic interactions ; herbivory.

Remerciements

En premier lieu, je souhaite remercier l'ensemble des membres du jury : Sonia Saïd, Didier Alard, Armin Bischoff, Georges Kunstler et Bernard Prévosto, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, ainsi que pour la discussion scientifique passionnante et instructive qui a suivie.

Merci également à Catherine Collet, Philippe Balandier, Felipe Bravo, Arndt Hampe et Richard Michalet pour votre participation dans mes comités de thèse. Votre implication et vos conseils durant ces comités ont été très utiles dans la conduite des travaux.

Pas de thèse sans financements ! Merci donc à la région Nouvelle-Aquitaine et Bordeaux Sciences Agro pour avoir financé ma bourse de thèse, ainsi qu'à l'Office National des Forêts et l'INRA pour les financements techniques et logistiques pour mener à bien les manips durant ces trois années.

Je tiens ensuite à remercier vivement mes trois encadrants, Maya Gonzalez, Florian Delerue & Laurent Augusto. Merci de m'avoir permis de faire cette thèse, merci pour l'aide et les compétences que vous m'avez apportées, de la mise en place des manips jusqu'à la préparation de la soutenance en passant par les connaissances en écologie, la rédaction, les statistiques ou la méthodologie de travail ! Merci pour la confiance et le soutien que vous m'avez toujours témoigné durant ces presque quatre années, pour votre gentillesse et votre disponibilité. Ma thèse n'aurait pas été ce qu'elle est sans vous trois, Merci pour tout !

Un grand merci à l'Office National des Forêts pour l'aide précieuse apportée sur l'ensemble des trois ans, notamment pour l'énorme travail d'installation des sites d'études ainsi que la participation aux suivis des manips. Merci en particulier à Didier Canteloup et Francis Maugard pour votre implication dans ce travail, pour la transmission de vos connaissances sur le pin maritime et la sylviculture, et pour tous les bons moments passés ensemble. Merci à l'ensemble des agents impliqués dans la gestion des forêts domaniales de Lacanau, Lège-Cap-Ferret, Ste-Eulalie-en-Born, Biscarrosse et Saint-Julien-en-Born, ainsi qu'aux ouvriers et apprentis.

Merci à Mark Bakker de m'avoir fait découvrir le monde fascinant (et fastidieux) des champignons. Ta proximité géographique avec le bureau de Laurent a également fait de toi un observateur avisé des autres parties de ma thèse : merci pour toutes les idées, remarques et conseils toujours très pertinents que tu as pu émettre.

Merci à Sylvie Niollet de m'avoir accompagné durant une grande majorité de mon terrain, avec efficacité et bonne humeur (même les rares fois où j'ai oublié le café !). Merci pour ta disponibilité. J'ai grandement apprécié les nombreuses heures passées sur le terrain (et en voiture) en ta compagnie.

Merci à tous ceux qui ont participé également à la réussite de cette thèse :

Loïc Prud'homme, Céline Gire, Céline Birolleau & Jules Vilet pour votre aide sur le terrain et le tri de la banque de graines ; Nathalie Gallegos & Cathy Lambrot pour les analyses d'échantillons de sols et d'aiguilles ; Christophe Chipeaux et Alain Kruszewski pour l'installation et la gestion des sondes et centrales météo ; Cécile Robin et Gilles Saint-Jean pour les pathogènes ; Patricia Braconnier, Corinne Sert, Sylvie Lissandreau & Nafissa Kerkoub pour la partie administrative ; Éric Martin et Tovo Rabemanantsoa pour la gestion (et les aléas) du matériel informatique ; Benoît Persyn et Météo-France pour la mise à disposition des données météo. Une pensée également pour Emmanuelle Revardel qui m'a ouvert les portes de la recherche en m'acceptant pour un stage de M1 dont je garde un excellent souvenir et qui m'a encouragé à continuer dans cette voie.

J'aimerais ensuite remercier toutes les personnes d'ISPA pour votre accueil et votre sympathie durant ces années.

Merci aussi à mes colocataires de bureau et aux camarades thésards du bureau du bas pour avoir rendu le quotidien toujours plus agréable et pour les moments partagés autour d'un café, d'une bière ou d'une pétanque : Li, David, Yoyo, Vivi, Matti, Félix, Manon, Bofang, Mohamed, Frederic, Marko, Pietro, Hugo, Andreas, Marie, Ulysse & Tania.

Merci aux Tocards – Yoyo, Vivi, Clem, Matti, Jojo, Kader, Zaza & Grems – pour tous ces instants passés ensemble à l'INRA mais surtout pour tous ceux en dehors, les voyages, les soirées, les parties de cartes, les heures passées à la laiterie, les beachs, et pleins d'autres choses...

Merci à l'équipe de volley pour m'avoir permis de garder un peu la ligne (même si la 3eme mi-temps était souvent la plus longue) toujours dans la défaite et la bonne humeur : Kiki, David, Thomas, Alain, Tovo, Chipeaux, Boule & Byl, Quentin, Joana, Kader, Clem, Amélie & Jean-Yves.

Un grand merci à ma famille et aux copains pour finir ! Bien que trop courtes et peu nombreuses, les sessions à la maison auront été des parenthèses ressourçantes grâce à vous, et nécessaires pour la bonne réalisation de ce travail ! On va pouvoir rattraper tout ça les prochains mois !

Enfin, merci à tous, et à ceux que j'aurais malencontreusement oubliés...

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : Etat de l'art	5
1. <i>Contexte de l'étude</i>	5
1.1. La forêt dunaire	5
1.2. Le pin maritime.....	10
2. <i>Le processus de régénération naturelle</i>	11
3. <i>La régénération naturelle du pin maritime</i>	18
4. <i>Objectifs et hypothèses</i>	19
Chapitre II : Dispositifs	25
1. <i>Réseau de sites d'observation</i>	26
1.1. Variabilité régionale et étude des pratiques sylvicoles	26
1.2. Etude des ectomycorhizes	30
2. <i>Sites semi-expérimentaux au sein de la zone principale d'échecs</i>	32
2.1. Impact des herbivores sur le stock de graines dans le sol.....	32
2.2. Caractérisation du microsite de germination.....	32
2.3. Etude des interactions plante-plante-herbivore.....	36
Chapitre III : Résultats	41
III. A. Etude des principales étapes de la régénération des peuplements le long du cordon dunaire Aquitain – Interactions avec des pratiques sylvicoles	43
1. <i>Introduction</i>	43
2. <i>Matériel et méthodes</i>	45
2.1. Description des sites	45
2.2. Facteurs étudiés.....	45
2.3. Mesures effectuées	46
2.4. Échantillonnage banque de graines	46
2.5. Test de germination	47
2.6. Statistiques	47
3. <i>Résultats</i>	49
3.1. Disponibilité en graines	49
3.2. Nombre de germinations	52

3.3.	Installation du semis.....	56
3.4.	Bilan.....	59
4.	<i>Discussion</i>	62
4.1.	Augmentation de la disponibilité en graines	63
4.2.	Rôle des semenciers sur le micro-habitat.....	64
4.3.	Bilan et conclusion	67

III. B. Caractérisation des sites favorables pour la germination des graines de pin maritime 71

1.	<i>Introduction</i>	71
2.	<i>Matériel et Méthodes</i>	73
2.1.	Dispositif	73
2.2.	Variables mesurées	73
2.3.	Analyses statistiques.....	74
3.	<i>Résultats</i>	74
4.	<i>Discussion</i>	79

III. C. Interactions plante-plante-herbivore 83

Partie 1: Shrub mediated complex biotic interactions and their consequences for tree seedling survival..... 85

1.	<i>Introduction</i>	85
2.	<i>Materiel and Methods</i>	87
2.1.	Study site	87
2.2.	Experimental design.....	88
2.3.	Monitoring	89
2.4.	Data analysis.....	90
3.	<i>Results</i>	93
3.1.	Meteorological conditions.....	93
3.2.	Survival curves: the role of shrubs over the whole course of the experiment and general pattern of death.....	94
3.3.	Shrub effect and mortality due to drought.....	96
3.4.	Shrub associational effects on herbivory	99
4.	<i>Discussion</i>	100
4.1.	Drought and facilitation by shrub cover.....	100
4.2.	Shrub associational effects on herbivory	101

4.3. Sum of the effects: the complexity of the shrub-seedling interaction.....	102
Partie 2 : Résultats complémentaires : Effet compétiteur de l'arbousier sur la croissance	105
1. <i>Methodes</i>	105
2. <i>Analyses statistiques</i>	106
3. <i>Résultats</i>	106
4. <i>Discussion</i>	110
III. D. Effets des pratiques de gestion et de la topographie sur les ectomycorhizes du pin maritime pendant le recrutement des semis	113
1. <i>Abstract</i>	115
2. <i>Introduction</i>	116
3. <i>Materials and Methods</i>	119
3.1. Study area description.....	119
3.2. Tree harvesting and stand regeneration management methods.....	120
3.3. Sampling of seedlings	122
3.4. Assessment of seedling dimensions and ectomycorrhizal status.....	122
3.5. Needle nutrient concentrations.....	123
3.6. Data treatments and statistics	123
4. <i>Results</i>	125
4.1. Sites.....	125
4.2. ECM status related to harvesting treatments and topographical positions	127
4.3. Seedling growth and needle nutrient concentrations	128
4.4. Effects of ECM on seedling root properties and nutrient concentrations	130
5. <i>Discussion</i>	130
5.1. Role of abiotic factors in ECM composition	130
5.2. Impact of forest management on ECM composition	132
5.3. Impact of forest management on seedling characteristics	133
5.4. Effects of ECM on seedling root development and nutritive status	134
5.5. Can ECM explain failures of forest regeneration?	135
6. <i>Conclusions</i>	136
Chapitre IV : Synthèse des travaux et perspectives	139
1. <i>Implication des résultats dans le cycle de régénération du pin maritime</i>	139
1.1. Production et dispersion des graines	139
1.2. Banque de graines et germination.....	140

1.3.	Installation des plantules (survie et croissance).....	142
1.4.	Conclusion	144
2.	<i>Limites et perspectives</i>	145
2.1.	Applications sylvicoles.....	145
2.2.	Processus écologiques à approfondir	147
	Références bibliographiques.....	149
	Annexe : Article publié	171

Liste des Figures

Figure 1 : Cartographie représentant les deux entités de la forêt des Landes de Gascogne	5
Figure 2 : Pluviométrie (A) et températures (B) moyennes annuelles en Aquitaine (Ouallet 2012).....	7
Figure 3 : Localisation des forêts domaniales de Sainte-Eulalie-en-Born et Biscarrosse (zone verte).....	9
Figure 4 : Aire de répartition des principales populations de <i>Pinus pinaster</i> (Alía and Martín, 2003).....	10
Figure 5 : Représentation schématique des différentes étapes du processus de régénération naturelle et des différents facteurs qui peuvent influencer chacune d'elle (adapté d'après Price et al., 2001)	12
Figure 6 : Illustration des interactions et des processus en jeu entre la plante et les organismes qui l'entourent (extrait de Defosse, 2012)	15
Figure 7 : Modèle conceptuel de l'occurrence des interactions positives dans les communautés naturelles (extrait de Bertness and Callaway, 1994)	16
Figure 8 : Localisation des dispositifs suivis durant la thèse	25
Figure 9 : Dispositif mis en place sur les 5 sites d'observation. a) Division de chaque site en deux selon la modalité de coupe (rase ou ensemencement), et position des zones de suivis; b) détail d'une zone de suivi avec 3 quadrats semés et un non semé; c) positionnement des graines pour un quadrat.....	27
Figure 10 : Dessin schématique des différentes stratégies d'exploration représentées par des coupes transversales d'ectomycorhizes et du mycélium (extrait d'Agerer, 2001) ...	31
Figure 11 : Schéma d'une zone de suivi	33
Figure 12 : Schéma d'un quadrat de 1m ² . Les cellules jaunes correspondent aux cellules contenant une graine de pin	34
Figure 13 : Principe de la méthode pour la mesure du micro-relief (réalisation F. Delerue) ..	35
Figure 14 : Dispositif expérimental mis en place	37
Figure 15 : Pluie de graines par site et par an. Chaque boîte à moustache correspond à la représentation de 10 valeurs. Les lettres minuscules en haut du graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.....	50
Figure 16 : Poids (à gauche) et longueur (à droite) des graines issues de la pluie de graines de 2015 pour chacun des sites. Chaque boîte à moustache correspond à la représentation de 86 graines mesurées. Les lettres minuscules en haut de chaque graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Le	

fond jaune indique la gamme de valeurs moyennes observées sur les peuplements de pin maritime en Espagne (Calama et al., 2017). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.51

Figure 17: Quantité de graines par m² présentes dans la banque du sol juste après exploitation pour chaque site (coupe rase et coupe d'ensemencement confondues. Les lettres minuscules en haut du graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.52

Figure 18: Pourcentage de germination des différents apports de graines lors de la régénération (i.e. banque de graines préexistante, pluie de graines, semis de sécurité ajouté par l'ONF). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.53

Figure 19: Germinations par m² observées au sein de chaque site en fonction de la modalité de coupe (A-B-C) et de l'effet du semis de sécurité (D-E-F). Les panels A-D correspondent aux germinations de 2015, les panels B-E à 2016, et les panels C et F à 2017. Les astérisques au-dessus de chaque site indiquent une différence significative entre les deux modalités au sein d'un même site (t-test ; *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.55

Figure 20: Courbe de survie des plantules en 2015, en fonction de la modalité de coupe. Les panels A à E représentent les résultats pour chacun des 5 sites, et le pane F correspond à l'analyse des 5 sites groupés. La significativité des analyses de survie de Cox est représentée dans l'encadré en bas à droite de chaque panel (*** $p < 0.001$; * $p < 0.05$; ns non significatif). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.57

Figure 21 : Pourcentage de plantules mortes durant cette première année, selon le type de mortalité et la modalité de coupe. Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.....58

Figure 22 : Pourcentage de pins abroustis en fonction du site et de la modalité de coupe. Les astérisques au-dessus d'un site indiquent une différence significative du pourcentage d'abroustissement entre les deux modalités de coupe au sein d'un même site ($p < 0.001$). Les lettres minuscules indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.001$). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.....58

Figure 23: Densité finale de semis selon les deux facteurs croisés du type de coupe et de l'ajout du semis de sécurité. La ligne rouge représente le seuil de 0.3 semis / m² pour une régénération réussie (=3000 semis / ha ; (Sardin, 2009). La significativité des deux

- facteurs étudiés est montrée dans le tableau 4. Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.60
- Figure 24** : Précipitations journalières durant la durée de l'étude (histogramme), et pourcentage de graines ayant germé lors de chaque suivi (en cumulé, courbe rouge). Les données pluviométriques ont été calculées par interpolation linéaire à partir des trois stations Météo-France les plus proches.75
- Figure 25**: Humidité du sol selon l'émergence ou non du semis. Le graphique A présente les valeurs de teneur en eau du sol (obtenues en fin d'expérience par pesage du sol frais puis sec), et le graphique B présente les données d'humidité obtenues à l'aide de la sonde TDR (moyennes des 3 relevés). Les carrés bleus indiquent la moyenne. Les étoiles indiquent une différence significative entre les cellules ayant germées de celle n'ayant pas germées (***: $p < 0.001$).76
- Figure 26**: Relations entre la teneur en eau du sol (A-C) ou l'humidité obtenue à l'aide de la sonde TDR (B-D), avec le nombre de germinations sur les zones de 1m² (A-B) et 4m² (C-D). La significativité de la relation est donnée en bas à droite de chaque panel.77
- Figure 27**: Relations entre microtopographie et taux de germination des graines (A), et microtopographie et teneur en eau du sol (B). Les lettres en abscisse correspondent aux 5 classes de microtopographie : C = creux, B = bas, P = plat, H = haut et S = sommet. Les nombres à la base de chaque barre correspondent aux effectifs pour chaque classe de microtopographie. Les carrés bleus indiquent la moyenne. Les lettres minuscules indiquent des différences significatives entre sites ($p < 0.05$, test de Tukey).78
- Figure 28** : Climatic variations during the experiment. Histograms represent monthly rainfall and black line represents mean monthly temperatures. Dashed red line indicates the mean temperature of the 2006-2016 period, with light red area showing values between first and ninth deciles. Blue points indicate the mean precipitations of the last decade, with the first and ninth deciles represented with the dashed blue lines. Yellow areas represent potentially drought periods (i.e. precipitations $< 2 \times$ Temperature).93
- Figure 29** : Seedling survival over the whole experiment and number of dead seedling and the cause of death. A & B: Seedling survival using cox-model as function of A) shrub and herbivory treatments for the first cohort; B) shrub treatment for the second cohort (fenced treatment was not tested because we had only two death related to herbivores). Different lower case letters indicates significant differences ($P < 0.05$) between treatments. C to F: Number and identification of the dead seedlings, for the first (C&E) and the second (D&F) cohort, according to the fenced treatment.95
- Figure 30** : Percentage of seedling mortality by desiccation in presence (S+) or absence (S-) of shrub for the two summer period of the study (from mid-May to mid-September).97

- Figure 31** : Mean of the maximum daily vapour pressure deficit (A), mean of daily relative soil humidity from permanent weather stations (B, values from weather stations set up on the site) and mean soil humidity at each monitoring day using a TDR portative probe (C) from mid-May to mid-September for the two years of the study according to presence (S+) or absence (S-) of shrub. Each value are means (\pm SE) of 7 to 9 probes for VPD, 3 probes for soil humidity, and between 30 and 286 values for punctual measurement (only humidity around alive seedling was measured). Asterisks indicate significant differences between shrub treatment (* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001; ns = non-significant).....97
- Figure 32** : A & C: Percentage of seedling mortality by desiccation in presence (S+) or absence (S-) of shrub, after splitting each summer in two, early summer (from mid-May to mid-July) and late summer (from mid-July to mid-September. Asterisks indicate significant differences between shrub treatment for the period (* P<0.05; *** P<0.001; ns=non-significant). B & D: interaction index. Each point represents an average of $12 \pm$ SE values. Asterisks indicate significant differences from 0 (α P<0.1; *** P<0.001). Positive values of the index indicate facilitation, and negative competition. Uppercase letters indicate significant differences between early and late summer (P=0.055 for 2015; P=0.027 for 2016).98
- Figure 33** : A & C: Percentage of seedling mortality by the two kinds of herbivores in presence (S+) or absence (S-) of shrub. Asterisks indicate significant differences between shrub treatment (* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001; ns = non-significant). B & D: interaction index. Each point represents an average of $12 \pm$ SE values. Asterisks indicate significant differences from 0 (* P < 0.05; *** P < 0.001). Positive values of the index indicate facilitation, and negative competition99
- Figure 34** : Croissance en hauteur des plantules selon la présence d'arbousier (en haut) et la position topographique (en bas). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement (p < 0.05; test de Tukey). 107
- Figure 35**: Biomasse (A-D), diamètre de la tige (B-E) et ratio hauteur/diamètre (C-F) des plantules de pins 2 ans après la plantation, selon la présence d'arbousier (panels du haut) et de la topographie (panels du bas). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement (p<0.05; test de Tukey)..... 108
- Figure 36**: Relations entre la lumière disponible sous les arbousiers et la performance du pin associé (A: biomasse; B: diamètre de la tige; C: hauteur du pin; D: ratio hauteur/diamètre, i.e. étiolement). Le coefficient de détermination et la significativité de la relation sont donnés en haut à droite de chaque panel (***) : p<0.001 ; * : p<0.05 : ns : non significatif). 109

Figure 37: Effets de la topographie sur l'humidité du sol, mesurée en continue (A, moyennes mensuelles) ou ponctuellement lors de chaque suivi (B). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement ($p < 0.05$; test de Tukey).....	110
Figure 38 : Location of the five study sites (a) and the seedling sampling design (b).	119
Figure 39 : Significant ($P < 0.05$) Pearson correlations between ECM variables and summer precipitation (precipitation from July to September	126
Figure 40 : Differences in ECM root colonization (a), the four ECM exploration types (b, c, d and e; expressed as the number of root tips per meter of root length) and total root tips (f) in the five study sites. Each bar represents mean \pm SE of 9 values per site (harvesting treatments and topographical positions combined). Statistical significance is shown in the top right corner of each plot (***, $P < 0.001$; **, $P < 0.01$). Different lower case letters indicates significant differences between sites ($p < 0.05$, Tukey test). SD, MD and LD are for short-distance, medium-distance and long-distance exploration types respectively.	126
Figure 41 : Number of root tips per meter of root length for the four ectomycorrhizal exploration types, under a) three harvesting treatments and b) three topographical positions. Each bar represents an average of $15 \pm$ SE values. Significance of harvesting treatments or topographical positions is shown in the top right corner of each plot (**, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; α , $P < 0.1$). Different lower case letters indicate significant differences for the same ECM exploration type between harvesting treatments (a-d) or topographical positions (e-h) at $p < 0.05$, Tukey test. SD, MD and LD are for short-distance, medium-distance and long-distance exploration types respectively.	127

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Récapitulatif des étapes du cycle de régénération étudiée, associé aux études correspondantes et les facteurs étudiés dans chacune d'elle	23
Tableau 2 : Caractéristiques principales des 5 sites d'observations utilisés pour les études n°1 et 5.....	28
Tableau 3 : Résultats statistiques des analyses effectuées sur les effets du site, de la coupe et du semis sur la germination et la survie. Les p-values en gras correspondant aux résultats significatifs. L'analyse des données de germinations a été réalisée à l'aide de modèles linéaires mixtes, alors que les analyses de survie correspondent aux significativités de modèle de survie de Cox.....	54
Tableau 4 : Significativité des modèles linéaires mixtes testant l'effet de la coupe et du semis sur la densité finale de semis de pin, pour chaque site et pour l'ensemble des sites confondus. Les valeurs indiquées correspondent aux p-values. Les valeurs significatives sont en gras.	59
Tableau 5 : Probabilité de succès de chacune des deux étapes étudiées : p_{germ} = probabilité pour une graine issue d'un semencier de germer l'année suivante; p_{surv1} = probabilité pour une germination au printemps de survivre jusqu'à la fin de l'année; p_{survtot} : probabilité de survie en prenant en compte l'ensemble des germinations des 3 années et leur survie à 3 ans. Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.	62
Tableau 6 : Résultats concernant l'émergence des plantules, selon les 3 échelles étudiées. Les valeurs correspondent à la significativité de la relation, avec uniquement les effets significatifs représentés.....	75
Tableau 7 : Résultats concernant l'influence des facteurs indirects sur l'humidité du sol, selon les 3 échelles étudiées. HP concerne les mesures d'humidité pondérale effectuées en fin d'expérience, et TDR les mesures réalisées avec la sonde ponctuelle lors de chaque relevé. Les valeurs correspondent à la significativité de la relation, avec uniquement les effets significatifs représentés.....	79
Tableau 8 : Characteristics of the five study sites.	121
Tableau 9 : Effects of harvesting treatments and topographical positions on growth variables and needle nutrient concentrations	129
Tableau 10 : Results of linear regression between ECM colonization, root properties and needle nutrient concentrations after removing effects due to harvesting treatments, topographical positions and seedling size.	130
Tableau 11 : nutrient threshold for pine seedlings A) in sand culture or B) in pot trial, from van der Burg (van den Burg, 1985).....	136

Liste des Photographies

Photo 1 : Les deux types de coupe testées: a) Coupe rase; b) Coupe d'ensemencement (source D. Canteloup).....	27
Photo 2 : Piège à graines positionné au niveau de chaque zone de suivi dans les coupes d'ensemencement (source : A. Guignabert)	29
Photo 3 : Exemple d'ectomycorhizes observées à la loupe binoculaire (source : A. Guignabert)31	
Photo 4 : Outils de mesures utilisés pour: A) le micro-relief; B) les mesures d'altitudes.(source : A. Guignabert).....	35
Photo 5 : A) Production des plantules; Transplantation sous arbousier (B) ou sans arbousier (C) (source : A. Guignabert)	38
Photo 6 : Sondes d'humidité et température du sol (A) et de l'air (C); Capteur mesurant le rayonnement solaire (B) (source : A. Guignabert)..	38
Photo 7 : A) Exemple d'un enclos sur le site expérimental ; B) Ectomycorhizes à la loupe binoculaire; C) Coupe rase et coupe d'ensemencement du S5+ (source: A. Guignabert)...	41
Photo 8 : A) Pine seedling cut down at the top with needles found nearby. Binocular observation of the cutting location is shown in panel B) ; C) Dry seedling. ; D) Photo of a rodent close to a pine planted under shrub. ; E) and F) show ungulate and the damages they caused on pine seedlings.	91

Introduction

Les forêts fournissent un nombre important de services écosystémiques, liés aux domaines économiques (production), écologiques (stockage de carbone, maintien des sols) et sociaux (valeurs récréatives et esthétiques). La production de bois est un de ces services majeurs, avec notamment 3 milliards de m³ récoltés chaque année dans le monde, et dont la demande devrait plus que doubler d'ici 2050 (pour le bois énergie notamment) (FAO, 2015). Les forêts doivent donc être renouvelées après leur exploitation pour que cette fonction soit atteinte de manière durable. Pour ce faire, les gestionnaires peuvent choisir entre la régénération artificielle (plantations) ou la régénération naturelle (i.e. en utilisant le cycle naturel de reproduction des peuplements en place). Le choix entre les deux approches est dépendant de l'objectif sylvicole des forêts concernées mais également des conditions du site. Les plantations sont généralement utilisées au sein des forêts gérées intensivement ou celles à faible capacité de résilience, mais nécessitent des coûts plus importants à la mise en place (achat de plants en pépinière, travail du sol important) et ne peuvent s'effectuer que sur des sites accessibles aux machines sylvicoles. De plus, l'origine du matériel végétal (localité, matériel génétique d'origine) peut être choisie, ce qui peut présenter un avantage si le peuplement précédent n'était pas satisfaisant en termes de production et qualité du bois. La régénération naturelle, moins coûteuse et moins perturbante pour l'écosystème, permet de conserver la diversité génétique et d'avoir des arbres bien adaptés aux conditions locales. Elle présente cependant des risques importants car elle est fortement dépendante de la fructification des peuplements avant exploitation, et la répartition spatiale des nouveaux individus est souvent très hétérogène. Dans les deux cas, l'objectif est d'obtenir un nombre de jeunes arbres suffisant et de bonne qualité pour la conduite d'une nouvelle rotation forestière.

Cependant, dans le contexte actuel de réchauffement global, la régénération forestière est de plus en plus menacée, les premiers stades du renouvellement étant les plus vulnérables. En effet, les perturbations physiques (e.g. tempêtes), climatiques (e.g. sécheresses) ou biotiques (e.g. invasions de pathogènes) sont attendues en augmentation dans les années futures, aussi bien en fréquence qu'en intensité (IPCC, 2014). Ces effets peuvent impacter directement les écosystèmes forestiers mais également indirectement en jouant un rôle sur la relation avec les autres organismes (interactions plante-plante, herbivorie), facteurs très importants dans la dynamique forestière (Tylianakis et al., 2008). Il est donc nécessaire de comprendre et d'étudier les mécanismes impliqués dans le cycle de régénération, en

interaction avec les changements globaux, afin de pouvoir adapter les travaux sylvicoles favorisant la régénération.

La forêt des landes de Gascogne est la plus grande forêt artificielle d'Europe, couvrant environ 1 million d'ha (IFN, 2017). Elle est constituée à 85% de forêts de pins maritimes, dont la majorité (900 000 ha) sont des forêts dédiées exclusivement à la production de bois et gérées de façon intensive (régénération artificielle par plantation, apports de fertilisants, rotation courte). Les 100 000 ha restant correspondent à la frange dunaire, forêt multifonctionnelle répondant aux objectifs de production, de stabilisation du cordon dunaire, d'accueil du public, et de conservation de la biodiversité. Elle est renouvelée par régénération naturelle, garantissant la conservation des ressources génétiques dont peuvent ensuite bénéficier les plantations sur la plaine (les unités de conservation de la biodiversité génétique du pin maritime sont implantées au cœur du massif dunaire), mais aussi car la plantation est très coûteuse et risquée sur ces zones (Sardin, 2009). Ce massif dunaire contribue à la fois à l'économie touristique (2.5 millions de visiteurs sur le littoral correspondant à 60% des recettes liées au tourisme en Aquitaine) et à la filière bois locale. En effet, la forêt de production dunaire représente 10% de la surface de celle de la forêt des landes de Gascogne et 13% du volume sur pied (ONF, 2006). A ce titre, elle contribue à la filière bois régionale qui porte plus de 30 000 emplois en Aquitaine. La forêt de production dunaire joue notamment un rôle important dans l'approvisionnement de l'industrie en hiver lorsque l'exploitation en plaine est rendue difficile en raison des sols gorgés d'eau. Ces forêts constituent donc une ressource économique et écologique spécifique et importante pour la région, et encore plus dans le contexte actuel. En effet, deux tempêtes importantes ont eu lieu ces 20 dernières années, dont la dernière (Klaus en 2009) affectant près de 50 % de la surface forestière du massif et un tiers du volume de bois (Thivolle-Cazat, 2013). La partie dunaire, moins impacté du fait du très bon enracinement des pins notamment, contribue désormais pour une part grandissante à l'approvisionnement en bois de l'industrie afin de compenser la diminution de la ressource en plaine.

Le renouvellement de ces forêts après exploitation devient de plus en plus difficile depuis 15 à 20 ans. Malgré un ajout de graines de provenance locale au moment de la régénération sur les secteurs en difficulté, les échecs restent présents essentiellement au sein d'une large zone centrale de la forêt dunaire, et commencent à se répandre sur d'autres secteurs. L'exploitation actuelle s'effectue par coupe rase, entraînant des pertes économiques importante en cas d'échec car le renouvellement par plantation n'est pas fonctionnel et la parcelle peut être pendant plusieurs années en impasse de gestion sylvicole.

Les travaux effectués durant cette thèse ont donc pour objectif d'identifier les facteurs impliqués dans ces échecs récurrents à l'aide d'études écologiques. En effet, l'écologie au stade jeune du pin maritime en milieu dunaire est peu connue. Il est donc important, dans une première phase, de comprendre les mécanismes écologiques en jeu afin d'identifier les causes potentielles de ces échecs. A partir de ces résultats, cette thèse devrait permettre de proposer au gestionnaire des adaptations de l'itinéraire sylvicole actuel, afin de réussir le renouvellement des pinèdes dunaires dans le contexte actuel de changement climatique.

La suite du manuscrit commence par une présentation du milieu d'étude et de l'espèce concernée, suivi d'une synthèse de la littérature sur l'écologie de la régénération naturelle débouchant sur les objectifs et hypothèses de la thèse. Le deuxième chapitre présente les dispositifs mis en place pour les différentes études. Chacune des études fera ensuite l'objet d'une section de résultats. Enfin, le dernier chapitre consiste en une synthèse des travaux réalisés, en la présentation des perspectives de recherches suite à ce premier travail, ainsi qu'en une proposition de recommandations sylvicoles.

Chapitre I : Etat de l'art

1. Contexte de l'étude

1.1. La forêt dunaire

1.1.1. Localisation, sol et climat

La forêt des Landes de Gascogne s'étend sur un million d'hectares et est composée majoritairement de pins maritimes. Cette eco-sylvo-region est découpée en deux entités (Figure 1) : la *forêt dunaire*, lieu de notre étude, et le *plateau landais*.



Figure 1 : Cartographie représentant les deux entités de la forêt des Landes de Gascogne

Le cordon dunaire s'étend sur environ 240km de l'estuaire de la Gironde au Nord à l'embouchure de l'Adour au Sud, sur une largeur de 4 à 6 km (Savoie, 1990). La surface boisée du cordon dunaire est d'environ 100 000 ha avec un taux de boisement de 80%

(Savoie, 1990), composé quasi-exclusivement de pins maritimes (*Pinus pinaster*). Trois espèces de chênes sont également présentes au sein de ces forêts : le chêne pédonculé (*Quercus robur*) sur l'ensemble du massif, le chêne vert (*Quercus ilex*) au Nord du bassin d'Arcachon, et le chêne liège (*Quercus suber*) au Sud du bassin d'Arcachon.

La majeure partie du territoire correspond à un boisement récent résultant d'une campagne de phyto-stabilisation des dunes mobiles dans le courant des 18^e et 19^e siècles (Savoie, 1989). Il reste cependant quelques noyaux de forêts anciennes (3000 à 8000 ans) réparties le long du cordon dunaire (Savoie, 1990).

Le cordon dunaire est géologiquement très homogène, et est constitué dans son ensemble par des dépôts de sable éolien apportés par les vents d'Ouest de l'Holocène jusqu'au 19^e siècle (Savoie, 1989). Ces sols plutôt acides (pH 4.5-5.0 au niveau des horizons supérieurs du sol) sont composés de sables grossiers (96–97%) et sont classifiés comme des arénosols (Augusto et al., 2010). Ils sont extrêmement pauvres en éléments nutritifs et ont une faible capacité de rétention d'eau en raison d'un drainage vertical très rapide (Augusto et al., 2010; Forey et al., 2008).

La topographie est un élément majeur et caractéristique de ces forêts. Les reliefs dunaires sont séparés par de profondes dépressions (lettres), avec un dénivelé entre lettre et dune dépassant fréquemment 30 à 40 m (Savoie, 1989). Cette topographie joue un rôle sur l'insolation, la température ou l'exposition au vent, mais surtout sur l'accessibilité à l'eau et la distance à la nappe phréatique. Le niveau de la nappe phréatique est quasiment horizontal sous la dune, et par conséquent est donc beaucoup plus proche de la surface en bas de dune (0-2m) qu'en haut de dune (17m et plus) (Pitaud, 1967).

Le climat est tempéré océanique, avec des hivers doux et pluvieux et des étés chauds et secs. Un fort gradient pluviométrique Nord-Sud existe, avec des précipitations annuelles moyennes autour de 750mm à l'extrême Nord et jusqu'à 1300mm à l'extrême Sud (Figure 2A). La température annuelle moyenne est de 13.5°C, et varie peu du Nord au Sud (Figure 2B). L'amplitude thermique annuelle est faible à cause du rôle tampon de l'océan, les jours de gels sont assez rares (moins de 30 jours par an), et l'ensoleillement plutôt important (2000 heures/an) (Ouallet, 2012; Sardin, 2009)

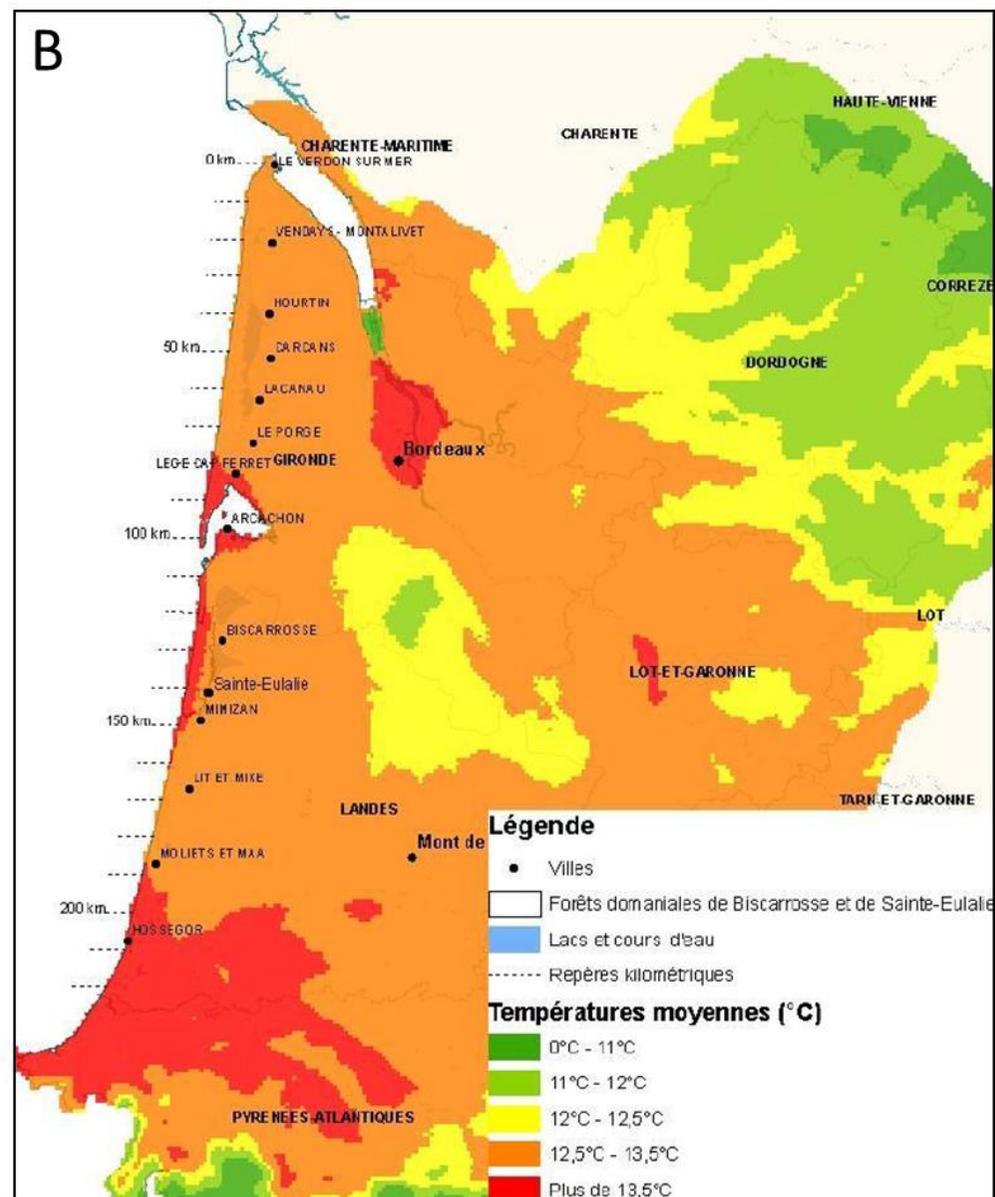
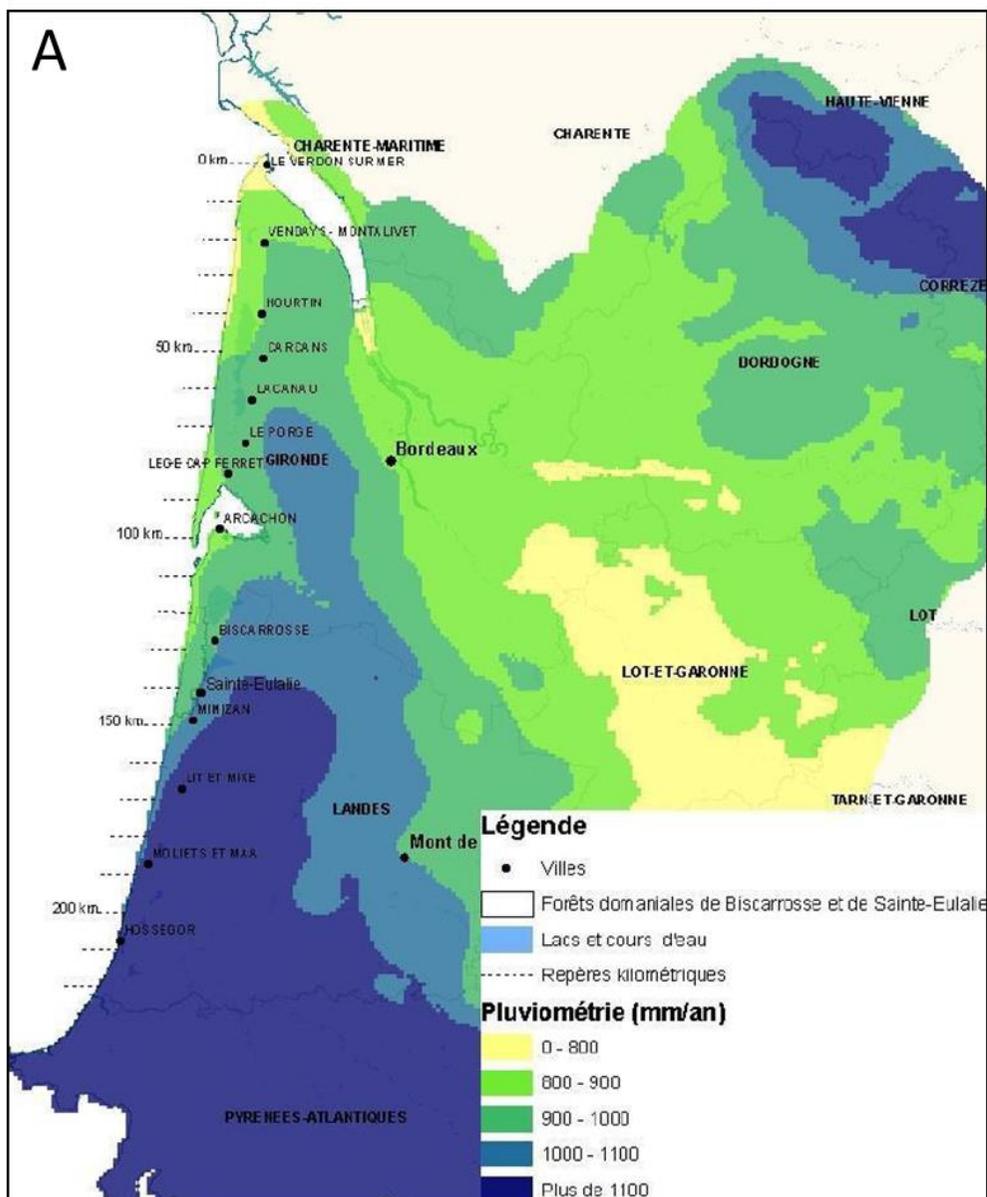


Figure 2 : Pluviométrie (A) et températures (B) moyennes annuelles en Aquitaine (Ouallet 2012).

1.1.2. Gestion sylvicole

Installée pour fixer les dunes en premier lieu (forêt de protection), la forêt dunaire a ensuite été exploitée pour le gemmage, c'est-à-dire la récolte de la résine pour fabrication d'essence de térébenthine et colophane. Cette activité a décliné progressivement depuis les années 1960 pour laisser place à des forêts de production de bois. La pression touristique croissante ainsi que la conservation des milieux et la préservation de la biodiversité sont également des sujets de plus en plus importants, et confèrent à ces forêts un rôle multifonctionnel auquel l'aménagement et les pratiques sylvicoles doivent être adaptés. Les forêts dunaires sont en très grande partie domaniales, et donc gérées par l'Office National des Forêts (ONF), avec des unités de gestion de petites tailles. Les durées de révolution varient selon la classe de fertilité des stations ainsi que l'objectif principal de la parcelle (protection ou production), avec des rotations de 50 à 60 ans pour les forêts de production et jusqu'à plus d'une centaine d'années pour les forêts à objectif de protection ou d'accueil du public (Sardin, 2009).

La régénération naturelle est pratiquée pour le renouvellement des pinèdes en lien avec la multifonctionnalité de cette forêt, permettant de conserver diversité génétique et adaptation des forêts dunaires aux changements climatiques. En fin de rotation forestière, la méthode de récolte des arbres utilisée dans la très grande majorité des forêts est la coupe rase, bien que des coupes progressives commencent à être effectuées. Dans les deux cas, une élimination de la végétation concurrente l'année précédant la coupe, suivie d'un travail du sol au rouleau landais (débroussailleur à rouleaux) quelques semaines avant, sont effectués. La régénération du peuplement se fait alors spontanément à partir des graines présentes dans le sol. Un apport manuel supplémentaire de graines (3 kg/ha) issues de peuplements locaux, dit « semis de sécurité », est également réalisé sur certaines parcelles qui pourraient être en difficulté de régénération. Suite à la mise en régénération, un objectif de 3000 jeunes pins/ha est souhaité par le gestionnaire. Cela permet ensuite une ou deux opérations de dépressage pour optimiser la répartition des semis durant les dix premières années, pour obtenir alors une densité de 900 à 1250 tiges/ha selon l'objectif. Trois ou quatre éclaircies sont ensuite réalisées pour amener la densité finale du peuplement à environ 300 tiges/ha. La période optimale pour l'exploitation des arbres se situe entre septembre et janvier, afin que les semis qui apparaissent ensuite au début du printemps soient plus vigoureux et aient plus de chance de supporter la sécheresse estivale. Cette exploitation est interdite entre le 15 avril et le 31 août (Sardin, 2009).

La réussite ou non d'une régénération est estimée par l'ONF en comptant le nombre de semis deux à trois ans après la coupe rase. La régénération est considérée comme réussie si le nombre de semis par hectare est supérieur à 3000 (cf. ci-dessus); en échec s'il y a moins de 1500 semis par hectare; et semi-réussie (c'est-à-dire que cela pourrait être suffisant, mais que

le peuplement doit rester sous surveillance) si le nombre de semis se situe entre ces deux valeurs seuils.

Des échecs de régénération ont été déjà observés depuis les années 1950 suites à de nombreux feux entraînant ainsi les premiers questionnements sur les facteurs d'influence (germination et travail du sol notamment) (Guinaudeau, 1954, 1952; Guinaudeau and Castaing, 1963). Ces échecs sont devenus récurrents depuis une vingtaine d'années (Sardin, 2009). Ceux-ci ne sont cependant pas répartis sur l'ensemble de la forêt dunaire mais sont centralisés sur une zone principale correspondant aux forêts de Sainte-Eulalie-en-Born et de Biscarrosse (Figure 3). En 2008 par exemple, 43% des parcelles en régénération sont en échec sur ces deux forêts (Ouallet, 2012). De plus, des échecs commencent à être régulièrement observés au sein des forêts au Nord du bassin d'Arcachon, alors qu'aucun problème n'est à signaler sur la partie sud des forêts dunaires d'Aquitaine.

Ce sont ces échecs récurrents, dans une zone localisée, qui ont motivé la présente étude.



Figure 3 : Localisation des forêts domaniales de Sainte-Eulalie-en-Born et Biscarrosse (zone verte)

1.2. Le pin maritime

Le pin maritime (*Pinus pinaster*) est un conifère de la famille des Pinacées, autochtone du bassin méditerranéen et de la façade atlantique du sud-ouest de l'Europe (Figure 4). Il couvre actuellement environ 4 millions d'hectares (Augusto et al., 2008), dont 1 million dans le sud-ouest de la France (IFN, 2017). Il n'existe pas de révision complète de la taxonomie de l'espèce, mais des différences morphologiques entre populations ont conduit à diviser l'espèce en deux sous-espèces (Alía and Martín, 2003) : *atlantica* (Portugal, Galice, Forêt des Landes) et *mesogeensis* (Espagne – sauf Galice –, Maghreb, Italie). De nombreuses races géographiques sont également distinguées (*atlantica*, *corteensis*, *mesogeensis*, *maghrebiana*, *renoui*...) (Gaussen, 1952; Zanoni and Farjon, 1999) et peuvent s'expliquer par l'isolement des peuplements et leur taille souvent réduite, accentuant les possibles différences génétiques entre populations.



Figure 4 : Aire de répartition naturelle des principales populations de *Pinus pinaster* (Alía and Martín, 2003)

Le pin maritime est une espèce héliophile et calcifuge (Rameau et al., 1989) et s'adapte à de nombreuses conditions environnementales. On le retrouve du niveau de la mer jusqu'à 2000m d'altitude dans le Haut-Atlas (Maroc). Il peut également se développer dans des zones avec plus de 1400mm de précipitations sans saison sèche à d'autres avec 350mm et plus de 4 mois de saison sèche (Alía and Martín, 2003). Adapté aux sols acides et pauvres

où peu d'espèces d'intérêt sylvicole peuvent se développer, il tolère également l'hydromorphie. C'est une espèce monoïque, avec un cycle de reproduction s'effectuant sur 3 ans. Il possède de larges cônes (8-22 cm de long) et de longues aiguilles (10-25 cm) comparé aux autres pins méditerranéens (Alía and Martín, 2003). La pollinisation est anémogame, et la dispersion des graines s'effectue par anémochorie sous la forme d'une pluie de graines suite à l'ouverture des cônes sous l'effet de la température. La majorité des graines atteignent le sol dans un rayon d'environ 20m autour de l'arbre-mère mais peuvent dans certains cas atteindre jusqu'à 50-60m (Juez et al., 2014). Espèce post-pionnière à croissance rapide, il est considéré comme l'une des espèces envahissantes les plus dangereuses au monde (Lowe et al., 2007), dans l'hémisphère Sud principalement (Afrique du Sud, Australie, Chili).

2. Le processus de régénération naturelle

La régénération naturelle est une phase essentielle pour la dynamique des populations végétales. C'est un processus impliquant plusieurs étapes dans le cycle de vie de la plante : la production des graines, leur dispersion et leur stockage, la germination et l'installation (i.e. la survie et la croissance) du semis (Clark et al., 1998; Gómez-Aparicio, 2008; Price et al., 2001). Le succès de chacune de ces étapes est déterminé par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques (Figure 5, Price et al., 2001), qui sont fortement affectés par l'hétérogénéité de l'environnement à différentes échelles spatiales (Beckage and Clark, 2003; Gómez-Aparicio, 2008).

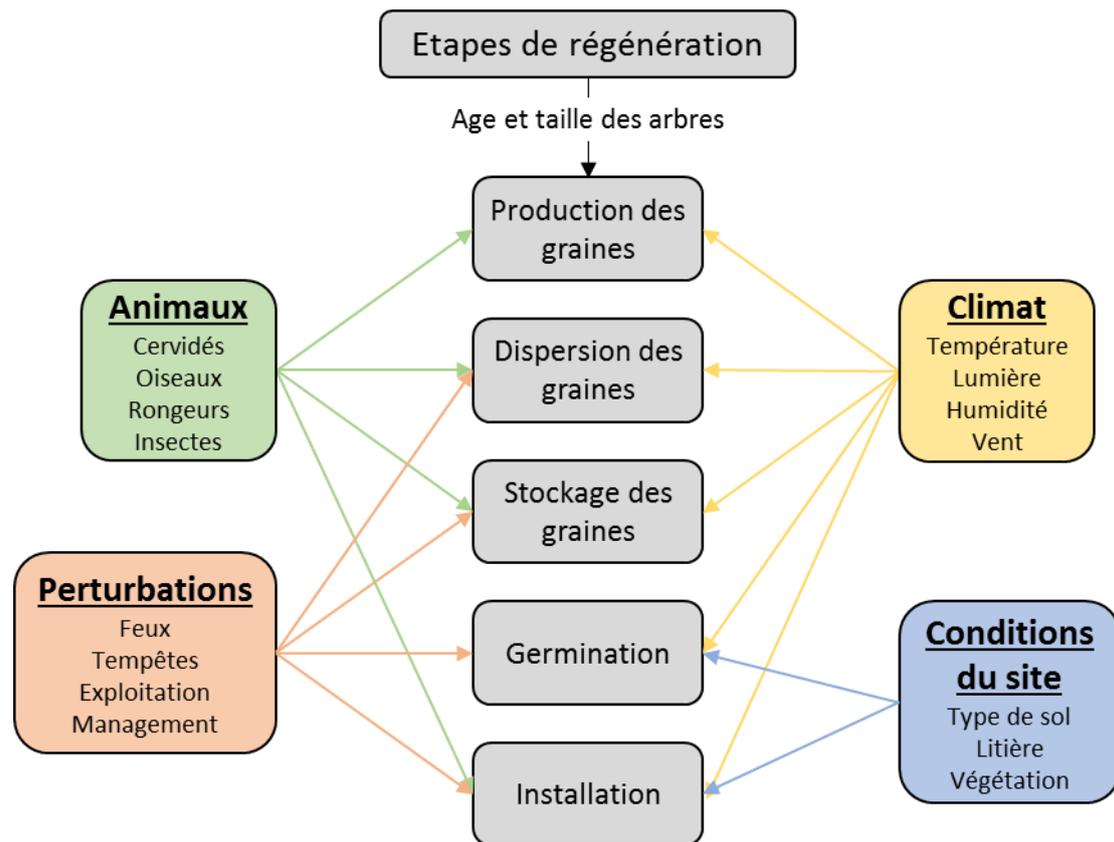


Figure 5 : Représentation schématique des différentes étapes du processus de régénération naturelle et des différents facteurs qui peuvent influencer chacune d'elle (adapté d'après Price et al., 2001)

La première étape concerne la **production des graines**. La stratégie de chaque espèce est un facteur important à ce stade. Certaines auront tendance à produire une quantité de graines de manière plus ou moins constante chaque année alors que d'autres produiront une grosse quantité de graines une année particulière de manière cyclique (phénomène de « masting ») (Herrera et al., 1998; Koenig and Knops, 2000). La production de graines est à la fois dépendante des caractéristiques des arbres matures et des conditions météorologiques (température et précipitations). En effet, la production de graines augmente avec l'âge et la surface terrière, autant à l'échelle de l'arbre que du peuplement (Greene and Johnson, 1994; Keeton and Franklin, 2005; Viglas et al., 2013). La densité, l'arrangement spatial, ainsi que l'état sanitaire des arbres sont également des facteurs d'influence de la production des graines (Greene and Johnson, 1999). Les conditions météorologiques au moment de la différenciation des bourgeons reproducteurs correspondent à l'un des principaux facteurs contrôlant la production des graines autant chez les conifères que les feuillus, qui nécessitent des conditions chaudes et sèches durant cette période (Greene and Johnson, 2003; Koenig and Knops, 2000; Zamorano et al., 2018). La fréquence et la quantité

des précipitations sont aussi des facteurs importants à différentes étapes du cycle de reproduction, notamment chez les conifères où celui-ci s'étale sur plusieurs années (Mutke et al., 2005).

En somme, la principale limitation à ce stade sur le processus de régénération réside dans l'absence ou la trop faible population d'arbres matures (Clark et al., 1999). Cependant, l'effet des conditions abiotiques sur la fructification peut engendrer des variations importantes d'une année à l'autre (Price et al., 2001), et pourrait devenir un facteur plus sensible dans les années futures avec le réchauffement climatique (Mutke et al., 2005).

La **dispersion des graines** dépend ensuite de la présence d'agents disperseurs (animaux et vents principalement) ainsi que de la morphologie de la graine (poids, présence d'ailes), qui vont jouer sur la distance sur laquelle cette dernière est capable de se disperser (Kozlowski, 2002; Price et al., 2001). La densité des graines déposées à un endroit donné est également fonction de la disposition spatiale des arbres au sein du peuplement. De forts taux de mortalité des graines peuvent survenir à ce stade, soit avant dispersion, directement par prédation (insectes, oiseaux) ou parasitisme (acariens), mais aussi post-dispersion, avec des prédatations parfois très importantes dues aux mammifères, rongeurs ou oiseaux (Calama et al., 2017; Lucas-Borja et al., 2010; Schupp, 1995).

Une fois la graine arrivée au sol, l'installation du semis (germination puis survie et croissance) correspond à la phase la plus vulnérable du cycle de régénération des espèces forestières, avec des taux de mortalité élevés dus à la sensibilité accrue aux perturbations et stress durant les premiers mois (Clark et al., 1999; Kitajima and Fenner, 2000; Poorter, 2007). En effet, une plante n'a pas les mêmes besoins selon son stade de développement. La phase juvénile d'installation nécessite des conditions très particulières, différentes de celles de l'individu adulte. Grubb (1977) a ainsi défini une niche de régénération, niche écologique spécifique à ce stade du cycle, comme étant l'ensemble des besoins pour une probabilité élevée de succès dans le remplacement d'un individu mature par un individu de la génération suivante. Ce concept est relié au « *safe site* » de Harper (1977), qui aborde la régénération à l'échelle de la graine, et correspond à la zone fournissant les *stimuli* et les ressources nécessaires pour le passage de la graine à la plantule, avec des facteurs de mortalité absents. La quantité de plantules résulte donc d'un processus complexe fortement impacté par les micro-variations de l'habitat, les conditions environnementales et les interactions biotiques.

La **germination**, étape qui correspond au passage de la phase de vie latente de la graine au développement du semis, est un processus physiologique irréversible. Une initiation du processus dans un lieu ou à un moment inopportun conduira à la mort de l'individu et peut

donc être un facteur majeur dans le recrutement des nouvelles populations (Harper, 1977). La germination dépend à la fois des caractéristiques de la graine (taille, poids, réserves tégumentaires, propriétés génétiques) ainsi que des conditions abiotiques. Elle résulte de l'interaction entre l'humidité et la température du sol, elles-mêmes sous l'influence de la lumière (Castro et al., 2005), avec des besoins optimaux propre à chaque espèce.

La température joue notamment un rôle primordial pour lever la dormance des graines, la majorité des espèces ligneuses nécessitant une périodicité thermique avec une période de froid suivi d'une période de hausse des températures (Probert, 2000). L'humidité doit également être optimale pour la germination, car chaque espèce a besoin d'une teneur en eau particulière en dessous de laquelle la germination ne pourra avoir lieu (Cornett et al., 2000; Oleskog and Sahlén, 2000a). Ces facteurs abiotiques sont fortement impactés par les conditions locales du site. Une microtopographie et un type de sol permettant une meilleure rétention de l'eau favoriseront ainsi la germination (Bochet et al., 2007; Delerue et al., 2015; Oleskog and Sahlén, 2000a). La présence de litière a généralement un impact négatif sur la germination chez les arbres, en empêchant la graine d'atteindre le sol, en interceptant l'eau de pluie, ou via des composés allélopathiques qu'elle peut contenir (Facelli and Pickett, 1991; Xiong and Nilsson, 1999). L'effet peut cependant être positif, en protégeant les graines de la dessiccation et du rayonnement solaire (Facelli and Pickett, 1991; Gray and Spies, 1997; Liu et al., 2018), ainsi que des potentiels prédateurs. La présence de souches ou de bois mort peut également servir de microsite favorable en ayant une humidité plus élevée, tout comme sous la canopée d'un couvert végétal (Cornett et al., 1998; Kuuluvainen and Juntunen, 1998; Lambert et al., 2016).

La dernière phase du processus correspond à **la croissance** du semis nouvellement germé et à **sa survie**. Comme dans les étapes précédentes, les facteurs abiotiques sont prépondérants pour la réussite de l'installation. Celle-ci peut varier fortement d'une année sur l'autre en relation avec les conditions climatiques, les plantules étant très sensibles aux épisodes de sécheresse (Kitajima and Fenner, 2000; Rey and Alcántara, 2000). L'accès à une quantité suffisante d'eau et de nutriments est essentiel à toutes les espèces d'arbres, alors que la quantité de lumière nécessaire est très dépendante de l'espèce concernée.

En plus des facteurs climatiques, les interactions biotiques ont un impact important lors de cette dernière étape du processus de régénération naturelle, affectant autant la croissance que la survie des plantules. Ces interactions avec les organismes environnants (plantes, animaux, champignons) concernent à la fois les parties aériennes et souterraines, et sont en étroite relation avec la disponibilité en ressources pour les semis (Figure 6).

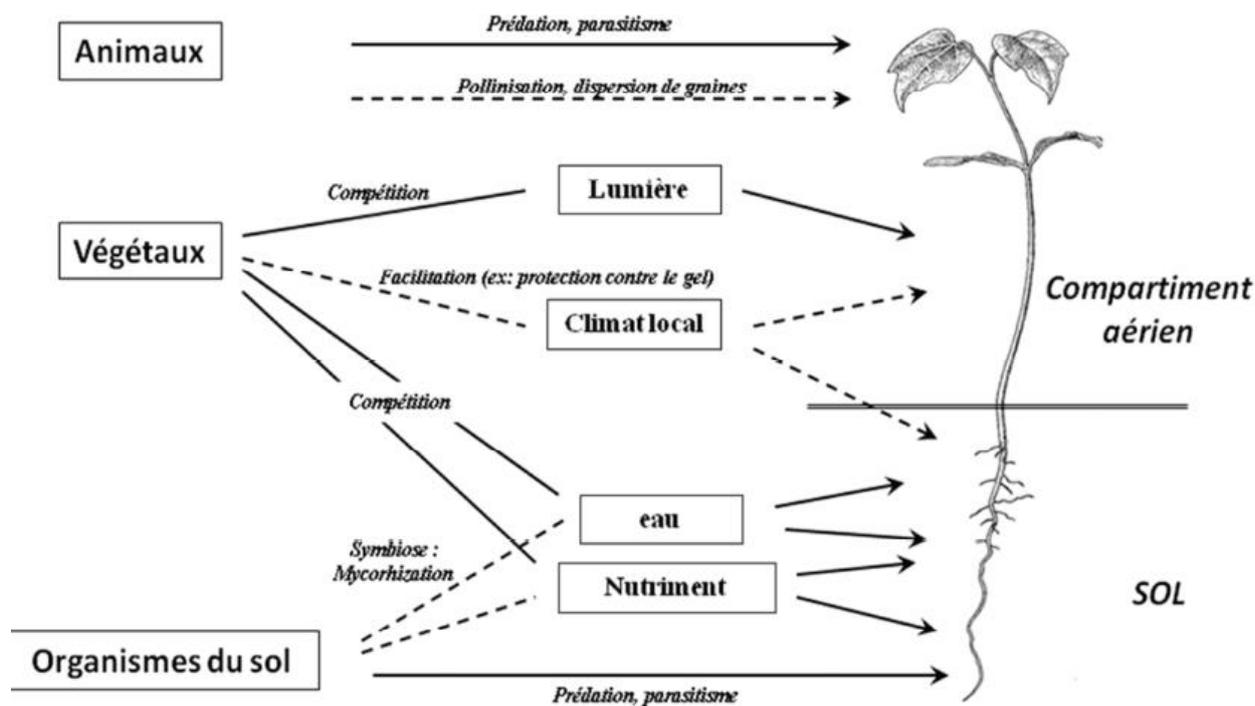


Figure 6 : Illustration des interactions et des processus en jeu entre la plante et les organismes qui l'entourent (extrait de Defosse, 2012)

La végétation avoisinante peut avoir des effets négatifs (compétition) ou positifs (facilitation) sur les performances de la plante. La compétition peut avoir lieu de deux manières : indirectement entre les deux plantes pour l'exploitation des ressources communes (lumière, eau, nutriments, espace) (Grime, 1979) ; par interférence, c'est-à-dire n'impliquant pas les ressources : c'est le cas de l'allélopathie, où une espèce va inhiber les performances de l'autre à travers la libération de composés chimiques secondaires (Mallik, 2003; Rice, 1984). A l'inverse, une plante voisine peut créer un environnement plus favorable pour l'installation d'un autre individu de son espèce ou non, à travers la réduction des stress physiques liés à sa présence (e.g. augmentation de l'humidité ou de la disponibilité en nutriments, réduction du rayonnement solaire) (Bertness and Callaway, 1994). Ces interactions sont fortement dépendantes de l'indicateur choisi pour les caractériser (survie, biomasse, fécondité), du stade de vie de la plantule, et du type fonctionnel des espèces concernées (Gómez-Aparicio et al., 2004; Prévosto et al., 2012; Torres and Renison, 2016). Elles sont également très variables d'une année sur l'autre et peuvent aussi varier au sein d'une même année entre les saisons (de la Cruz et al., 2008; Kikvidze et al., 2006; Stultz et al., 2007). Des interactions de facilitation sont régulièrement observées lors d'associations arbustes-plantules, notamment dans les milieux secs (Castro et al., 2004; Gómez-Aparicio et al., 2004; Keyes and Maguire, 2005), alors que l'association avec des espèces herbacées, caractérisées par leur développement rapide et leur capacité à prélever les ressources de

manière intensive, est généralement associé à des interactions négatives lors de régénération ligneuse sous climat tempéré (Balandier et al., 2006; Coll et al., 2003).

Ces interactions peuvent aussi s'opérer de manière indirecte, en lien avec les herbivores notamment. Le processus de facilitation indirecte, lorsque la végétation voisine protège l'espèce-cible de la consommation grâce à une barrière physique (épines, densité, dissimulation) ou des composés chimiques (Jensen et al., 2012; Perea and Gil, 2014), est qualifié de *résistance par association* (Barbosa et al., 2009; Hjalten et al., 1993). A l'inverse, on parle de *susceptibilité par association* (Barbosa et al., 2009) lorsqu'une plantule a une plus grande probabilité d'être attaquée par un herbivore lorsqu'elle est associée à une plante voisine. Cela peut se produire lorsque la végétation voisine offre à certaines guildes d'herbivores une protection contre les prédateurs, une augmentation des ressources ou une réduction des contraintes physiques du milieu (Gill, 1992; Orrock et al., 2010).

Compétition et facilitation opèrent généralement en même temps au sein d'un écosystème, et la balance entre les deux détermine la direction et l'intensité de l'interaction (Bertness and Callaway, 1994). Bertness and Callaway (1994) intègrent également le concept du « *stress gradient hypothesis* » (SGH), suggérant que la nature de l'interaction varie selon le gradient de stress, avec des interactions positives dominantes à mesure que le stress va augmenter (Figure 7).

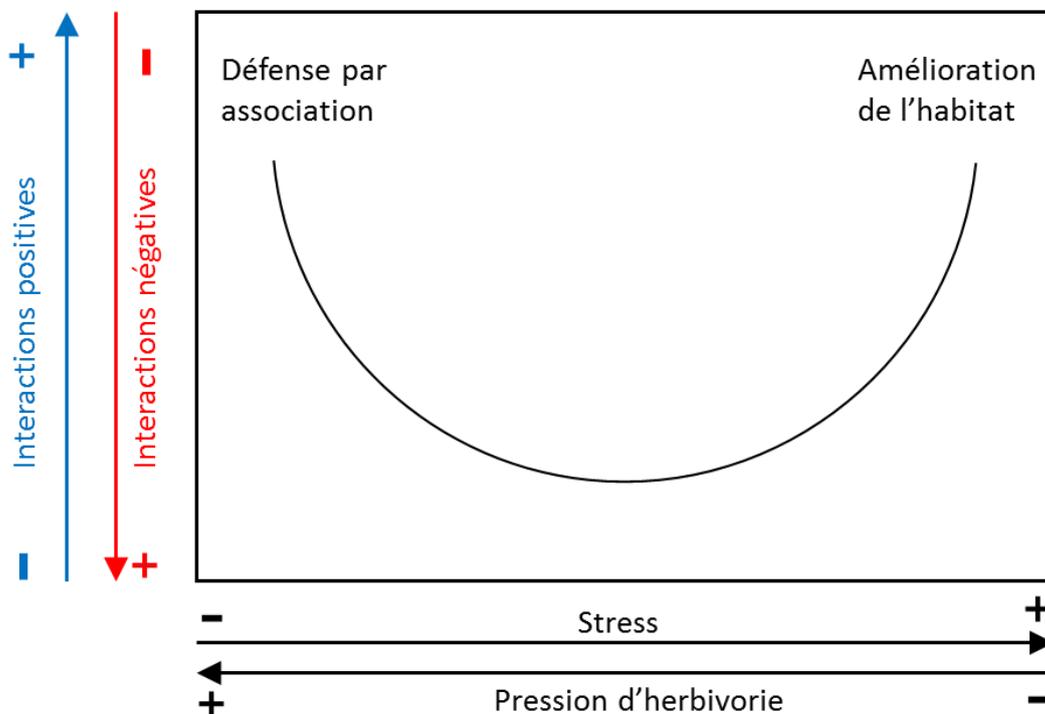


Figure 7 : Modèle conceptuel de l'occurrence des interactions positives dans les communautés naturelles (extrait de Bertness and Callaway, 1994)

Cette théorie, validée par plusieurs études (review par He et al., 2013), est néanmoins remise en cause lors d'études sur les gradients liés notamment à la ressource en eau dans les écosystèmes arides et semi-arides (Armas and Pugnaire, 2005; Maestre and Cortina, 2004; Tielborger and Kadmon, 2000), notamment en cas de stress particulièrement extrême. Cela a conduit à des révisions de la SGH, suggérant que les interactions positives pourraient être optimales à des niveaux de stress intermédiaires à élevés, puis que ces interactions positives pourraient s'effondrer vers des interactions neutres dans les environnements les plus difficiles (Michalet, 2006; Zhang et al., 2018) ou même revenir à des interactions négatives (Maestre and Cortina, 2004; Michalet et al., 2014; O'Brien et al., 2017).

Il a également été suggéré que la pression d'herbivorie peut conduire à des modifications dans la direction des interactions biotiques, autant dans des environnements stressés que non-stressés (Smit et al., 2009). Selon la SGH, la résistance par association (facilitation indirecte) se trouve principalement dans les environnements à faible stress et à productivité élevée, et où la pression d'herbivorie est élevée.

L'herbivorie est également un facteur direct majeur influençant l'installation des semis ligneux (Beguin et al., 2016; Canham et al., 1994; Gill, 1992; Harmer, 2001). En effet, les plantules sont très sensibles à la moindre perturbation les deux premières années de par leur petite taille et leur faible capacité à répondre à ces perturbations. Selon le type d'herbivores, les dégâts et conséquences sur l'espèce en régénération peuvent varier. Les rongeurs auront par exemple tendance à s'attaquer à la tige du plant, en la sectionnant, la rognant ou l'écorçant, engendrant majoritairement la mort du plantule, alors que les cervidés vont consommer tout ou partie du plantule et donc impacter autant la survie que la croissance (den Herder et al., 2009; Lyly et al., 2014). Cela peut devenir un véritable problème sur des forêts où la pression des cervidés est importante : Zamora et al. (2001) ont par exemple montré que 85% des plantules de pin sylvestre ont été abrouiti au moins deux fois durant la phase d'installation, et qu'il fallait jusqu'à douze ans de plus aux pins abrouitis pour atteindre une taille suffisante pour échapper aux herbivores et commencer leur reproduction.

Un dernier facteur biotique essentiel pour la réussite de la régénération est la symbiose avec les champignons mycorhiziens (Teste et al., 2009). Cette association est quasiment obligatoire pour toutes les espèces de conifères (Wang and Qiu, 2006), et fournit à la plante de l'eau et des nutriments en échange de carbone (Smith and Read, 2008). Les ectomycorrhizes sont d'autant plus importantes dans les écosystèmes xériques où elles peuvent augmenter la résistance à la sécheresse du jeune plant (Lehto and Zwiazek, 2011).

Le processus de régénération et notamment les phases de germination et d'installation des plantules est donc un processus dépendant de nombreux facteurs abiotiques, en lien étroit avec les autres organismes qui l'entourent. Il est donc nécessaire de comprendre au mieux l'écologie de l'espèce étudié dans ses premiers stades de vie, ainsi que les interactions qui peuvent l'influencer. Dans un milieu sec et oligotrophe comme celui de notre étude, les interactions associées aux ressources en eau et nutriments (i.e. facilitation, mycorhizes) pourraient donc être importante pour la régénération de l'espèce.

3. La régénération naturelle du pin maritime

La régénération naturelle est régulièrement infructueuse pour les espèces de pins dans des écosystèmes de types méditerranéens sur sol majoritairement sableux, avec deux *bottlenecks* principaux : la prédation des graines après dispersion, et la survie des plantules (Calama et al., 2017). C'est aussi le cas pour le pin maritime, sujet à des régénérations plus ou moins réussies ces dernières années en Espagne notamment (González-Alday et al., 2009; Rodríguez-García et al., 2011a, 2010; Ruano et al., 2009), où ce point a fait l'objet de plusieurs études récentes.

Les premières études menées en Espagne semblent indiquer que la régénération des pins maritimes n'est pas limitée par la production de graines ou les capacités de dispersion de l'espèce (Juez et al., 2014), mais que ces étapes pourraient devenir problématiques en cas d'évènements climatiques extrêmes (Ruano et al., 2015b). En effet, ces deux étapes du cycle de régénération sont sous contrôle climatique. La production de graines est influencée par les précipitations l'année précédant la dispersion (Ruano et al., 2015b), alors que la dispersion s'effectue par ouverture des cônes lorsque les températures atteignent un seuil précis. La quantité de graines atteignant le sol varie fortement d'une année sur l'autre (moyenne par an entre 7 et 24 graines/m² sur une étude de 10 ans, Ruano et al., 2015b) mais aussi spatialement, avec seulement une petite part des arbres adultes responsable d'une grande proportion de la production de graines (Juez et al., 2014).

Une fois au sol, les graines sont très vulnérables à la prédation par plusieurs types d'animaux (rongeurs, oiseaux, fourmis), dont l'abondance varie selon les conditions météorologiques, l'hétérogénéité de l'habitat ou l'abondance des graines sur la parcelle. Les taux de prédation peuvent être extrêmement élevés, et entraîner des réductions de densités de graines jusqu'à moins de 1 graine/m² sur des zones pouvant en compter 40-50 après la pluie de graines (Ruano et al., 2015a). Une étude menée par l'ONF à la fin des années 1980 au sein des forêts dunaires d'Aquitaine avait déjà montré l'impact significatif des rongeurs sur la banque de graines et celui négligeable des oiseaux (GEREA, 1990).

Les étapes de germination et de survie sont très liées dans les écosystèmes xériques, car les microsites favorables à la germination sont principalement ceux favorables à la survie (Calama et al., 2017), avec le déficit hydrique estival comme facteur principal de mortalité (Castro et al., 2004; Rodríguez-García et al., 2011a). L'importance des précipitations a été montrée dans plusieurs études, autant pour la germination que la survie (Rodríguez-García et al., 2011a; Ruano et al., 2009). Bien qu'héliophile, la lumière aurait quant à elle un impact négatif sur l'installation des jeunes pins. Rodríguez-García et al (2011b) ont observé que la germination et la survie augmentent lorsque le rayonnement global diminue, et émettent donc l'hypothèse d'une photo-inhibition de la germination des graines. Une émergence des semis très tôt au printemps leur permettrait également une meilleure chance de survie en cas de stress hydrique estival (Rodríguez-García et al., 2011a). De plus, un enfouissement des graines trop profond peut également réduire le taux de germination des graines (Guinaudeau, 1952).

L'amélioration du microclimat (conservation de l'humidité, réduction du rayonnement global) sous des canopées arbustives comme *Cistus ladanifer* (Rodríguez-García et al., 2011c), ou sous des pins adultes (Andivia et al., 2018; Rodríguez-García et al., 2011c) permet une meilleure régénération, notamment lors des années les plus stressantes. Cependant, des interactions négatives ont aussi été observés, avec des mécanismes de compétition (par les herbacées notamment González-Alday et al., 2009), ou d'allélopathie (Corcket et al., 2013, expérience en laboratoire).

Ainsi, en réponse aux contraintes climatiques et pour assurer une quantité de graines suffisante, des coupes d'ensemencement d'une densité variable sont réalisées en Espagne, permettant d'assurer dans la majorité des cas une régénération suffisante (González-Alday et al., 2009; Rodríguez-García et al., 2011a; Ruano et al., 2015b)

4. Objectifs et hypothèses

L'objectif général de la thèse est d'identifier les processus écologiques responsables des échecs de régénération dans certaines forêts, en lien avec les pratiques sylvicoles. En effet, comme vu précédemment, de nombreux facteurs entrent en jeu dans les diverses étapes du processus. Dans les forêts dunaires d'Aquitaine, la régénération naturelle du pin maritime a été très peu étudiée. A l'aide d'études à la fois observationnelles et expérimentales, nous avons plus précisément voulu :

i) Quantifier la régénération afin de caractériser la variabilité régionale, en étudiant toutes les étapes de la régénération de la pluie de graines jusqu'à l'installation réussie d'un

jeune plant. Une quantification de l'effet des pratiques sylvicoles de « semis de sécurité » et de maintien d'arbres semenciers sera ainsi réalisée.

ii) Identifier les facteurs limitants pour la régénération naturelle du pin maritime. En particulier nous nous intéresserons à la disponibilité en graines pour la germination, à l'impact de la disponibilité en eau et aux sécheresses estivales, ainsi qu'à l'impact des herbivores.

iii) Etudier l'effet des interactions biotiques (plante-plante, mycorhizes) qui peuvent moduler les facteurs précités. Ces interactions sont connues pour être particulièrement importantes dans les milieux secs et oligotrophes en diminuant les stress hydriques (interaction plante-plante de type facilitation) et nutritifs (mycorrhization) et en régulant l'impact des herbivores.

Pour répondre à cela, cinq études *in situ* ont été réalisées durant cette thèse. Les étapes du cycle de régénération et les facteurs directs et indirects étudiés sont synthétisés dans le Tableau 1.

Etude 1 : Quantifier la régénération et caractériser la variabilité régionale en fonction des pratiques sylvicoles.

L'étude de l'itinéraire sylvicole a consisté à comparer deux facteurs croisés : le type de coupe (coupe rase vs coupe d'ensemencement) et l'efficacité de l'ajout d'un semis de graines comme pratiqué par l'ONF (semé vs non semé). Les coupes d'ensemencement, déjà mises en œuvre sur les peuplements espagnols, commencent à être utilisées par l'ONF en réponse aux échecs récurrents. Il s'agira donc d'évaluer l'efficacité de cette pratique dans le cadre de notre forêt dunaire. La mesure de la dispersion des graines, de la germination et de la survie des jeunes pins a été effectuée durant 3 ans afin de quantifier la régénération en lien avec ces pratiques.

L'hypothèse principale de l'étude est que la coupe d'ensemencement pourrait permettre de compenser les années de faible régénération en apportant des graines supplémentaires chaque année, et en améliorant la survie des semis en créant des conditions microclimatiques plus favorables sous leur canopée, notamment en période estivale.

Etude 2 : Estimer la prédation des graines dans le sol par les rongeurs de manière dynamique sur un an.

Pour cela, des lots de graines protégées ou non ont été installés dans le sol (n=96). La récolte de douze échantillons était initialement prévue toutes les six semaines. Suite à un

dysfonctionnement, l'ensemble des échantillons a été récolté au bout d'un an, et le nombre de graines restant comptabilisées.

Étude 3 : Caractériser le microsite de germination, avec une approche multi-échelle afin de comprendre les mécanismes en jeu et de pouvoir transférer ces résultats à la gestion sylvicole.

L'hypothèse principale est que l'humidité est le principal facteur limitant pour la germination. Un placement contrôlé de graines a été effectué et, en plus des mesures directes d'humidité, les différents facteurs pouvant moduler l'humidité disponible ont été étudiés (climat, topographie, microrelief, matière organique, végétation, et litière).

Étude 4 : Comprendre l'effet des interactions plantes-plantes-herbivores sur la survie et la croissance en lien avec le stress hydrique et l'herbivorie.

Le modèle d'étude est le système plantule de pins – arbousiers – herbivores (à la fois cervidés et micromammifères). Ces interactions complexes ont été étudiées durant deux ans lors d'une expérimentation en réalisant des transplantations avec ou sans voisins, et protégées ou non par des enclos. Le stress hydrique a été caractérisé à l'aide de sondes aériennes et souterraines.

Les hypothèses sont que : 1) l'arbousier a un effet positif sur la survie des plantules pendant les périodes de stress hydrique, 2) l'arbousier peut jouer un rôle de médiateur sur la relation plantules – herbivores, 3) l'installation des semis et l'effet des interactions dépendent de l'année et des variations saisonnières.

Étude 5 : Observer à l'échelle régionale la relation entre la composition mycorhizienne et le développement de la plantule.

Nous avons cherché à observer si le statut de régénération du site (en échec ou en réussite), l'exploitation de la parcelle (coupe rase, coupe d'ensemencement ou forêt mature), et les conditions environnementales (topographie, conditions météorologiques et propriétés du sol) avaient des effets sur la composition en ectomycorhizes (ECM), et si celle-ci pourrait être un facteur à approfondir dans notre contexte.

Les hypothèses sont : 1) les plantules des sites en échec de régénération pourraient avoir une colonisation et une diversité ectomycorhizienne inférieure, 2) la colonisation ectomycorhizienne pourrait être plus faible dans les coupes rases que dans les coupes d'ensemencements en raison de la perte d'inoculum, 3) les ECM pourraient conduire à de meilleures concentrations de nutriments dans les aiguilles.

Ces cinq études doivent nous permettre d'améliorer d'une part les connaissances fondamentales sur l'écologie de la régénération naturelle du pin maritime en milieu dunaire, et d'autre part de proposer des pratiques de gestion pour sécuriser le renouvellement de ces pinèdes dans un contexte de réchauffement climatique où les épisodes de sécheresses devraient devenir de plus en plus nombreux et intenses (Dale et al., 2001; IPCC, 2014).

Tableau 1 : Récapitulatif des étapes du cycle de régénération étudiée, associé aux études correspondantes et les facteurs étudiés dans chacune d'elle

Etape du cycle de régénération étudiée	Facteurs premiers important pour l'étape étudiée (Objectif 2)	Pratique sylvicole en jeu (Objectif 1)	Facteurs indirects / Interactions biotiques (Objectif 3)	Etude
Dispersion des graines	Quantité de graines disponible pour la germination	Coupe d'ensemencement Semis de sécurité		1
Banque de graines dans le sol	Quantité de graines disponible pour la germination – Herbivorie			2
Germination	Disponibilité en eau / Sécheresse – Disponibilité en Lumière	Coupe d'ensemencement	Couvert forestier / Topographie	1
	Disponibilité en eau / Sécheresse		Topographie / Microrelief / Litière / Végétation concurrente / Matière organique	3
Installation (Croissance et/ou Survie)	Disponibilité en eau / Sécheresse	Coupe d'ensemencement	Couvert forestier / Topographie	1
	Disponibilité en eau / Sécheresse	Maintien du sous-bois	Topographie / Interactions biotiques pins-arbousiers	4
	Disponibilité en lumière	Coupe d'ensemencement / Maintien du sous-bois	Couvert forestier / Interactions biotiques pins-arbousiers	4 - 5
	Prélèvement eau et nutriments (mycorhizes)	Coupe d'ensemencement	Couvert forestier / Topographie / Perturbation du sol	5
	Herbivorie	Coupe d'ensemencement	Modification habitat herbivores	1
	Herbivorie		Maintien du sous-bois	Interactions pins-arbousiers-herbivores

Chapitre II : Dispositifs

Sept sites ont été suivis durant cette thèse pour réaliser les cinq études précédemment exposées: cinq sites d'observation répartis du Nord au Sud sur l'ensemble de la forêt dunaire, au sein de sites aux statuts de régénération variés (i.e. échec ou réussite), utilisés pour les études n° 1 et 5 (Figure 8, S1 à S5) ; deux sites situés au sein de la zone à forts échecs de régénération où l'on a manipulé expérimentalement des facteurs susceptibles d'avoir un rôle important sur l'installation des semis (Figure 8, S6 et 7, correspondant aux études n°1 et 3).

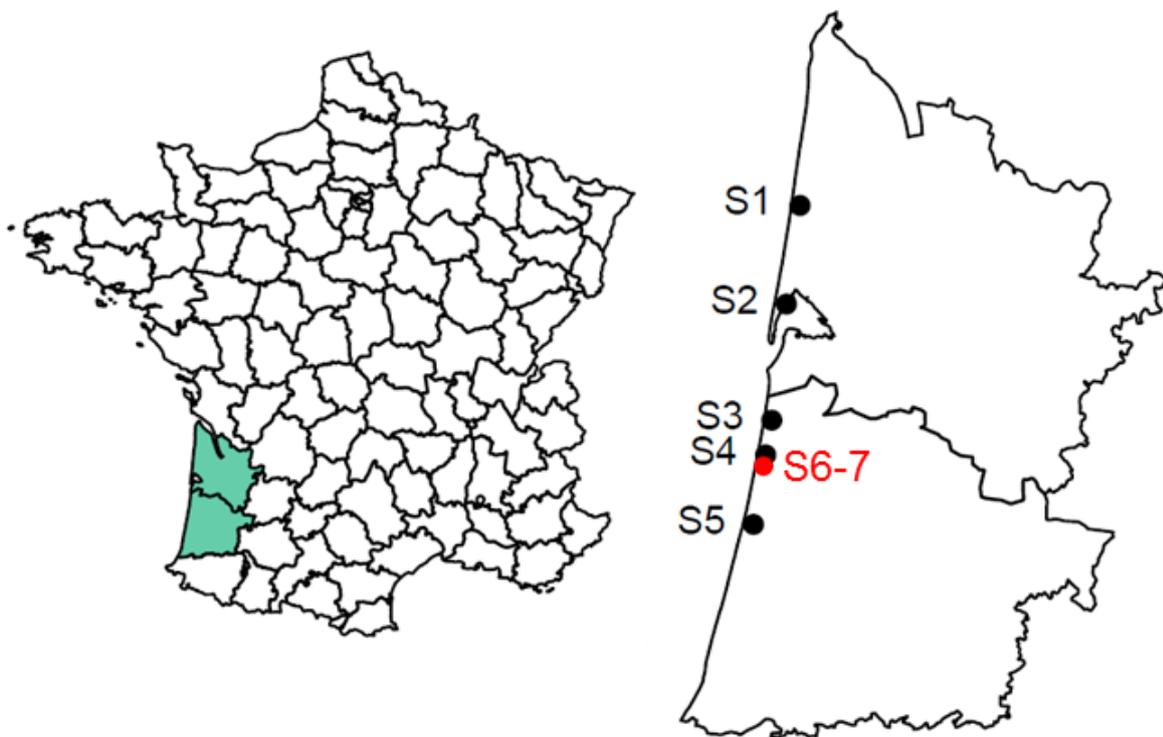


Figure 8 : Localisation des dispositifs suivis durant la thèse

L'ensemble de ces sites est situé à environ 2.5 km de l'océan, sur des pentes de 10° exposées Ouest. Outre les pins maritimes, quelques individus de chênes sont présents au sein des sites. La végétation du sous-bois est principalement composée d'arbousiers (*Arbutus unedo*), ainsi que des abondances variées d'ajoncs (*Ulex europaeus*), de genêts (*Cytisus scoparius*), de cistes (*Cistus salviifolius*) et d'Ericacées (*Erica cinerea* et *E. scoparia*). Les principales espèces herbacées sont représentées par la houlque laineuse (*Holcus lanatus*), le séneçon (*Senecio vulgaris*), la garance voyageuse (*Rubia peregrina*), la petite oseille (*Rumex acetosella*) et la canche flexueuse (*Deschampsia flexuosa*).

1. Réseau de sites d'observation

Les caractéristiques principales de ces sites sont présentées dans le Tableau 1.

1.1. Variabilité régionale et étude des pratiques sylvicoles (étude 1)

Ces cinq sites ont été utilisés pour quantifier la régénération et les disparités locales (Objectif 1), concernant les phases de pluie de graines, de germination et de survie des plantules, en fonction des pratiques sylvicoles. L'évaluation des pratiques de semis de sécurité et de maintien d'arbres semenciers est au cœur de ce dispositif (Objectif 1). Deux de ces sites se situent au sein de zones en échecs de régénération (Figure 8 ; S3 et S4) et trois autres au sein de forêts domaniales connues récemment comme étant en réussite (Figure 8 ; S1, S2 et S5). Dans la suite du manuscrit, ces sites seront numérotés de S1 à S5 selon le gradient nord-sud, avec un + (réussite) ou un - (échec) indiquant leur statut de régénération présumé : S1+ ; S2+ ; S3- ; S4- et S5+. Dans l'annexe 1 (article publié), les noms diffèrent légèrement suite à des commentaires lors du processus de publication : les sites sont notés S1, S2, F1, F2 et S3 (S pour success et F pour failure).

Les pratiques sylvicoles testées concernent le type de coupe et l'effet d'un ajout de graines, dit « semis de sécurité ». Pour cela, la moitié de chacun des 5 sites a été mis en phase de renouvellement selon l'itinéraire pratiqué actuellement, c'est-à-dire en coupe rase (Photo 1a). Sur l'autre moitié, le maintien d'arbres semenciers (70 arbres par hectare) a été testé (Figure 9a ; Photo 1b).

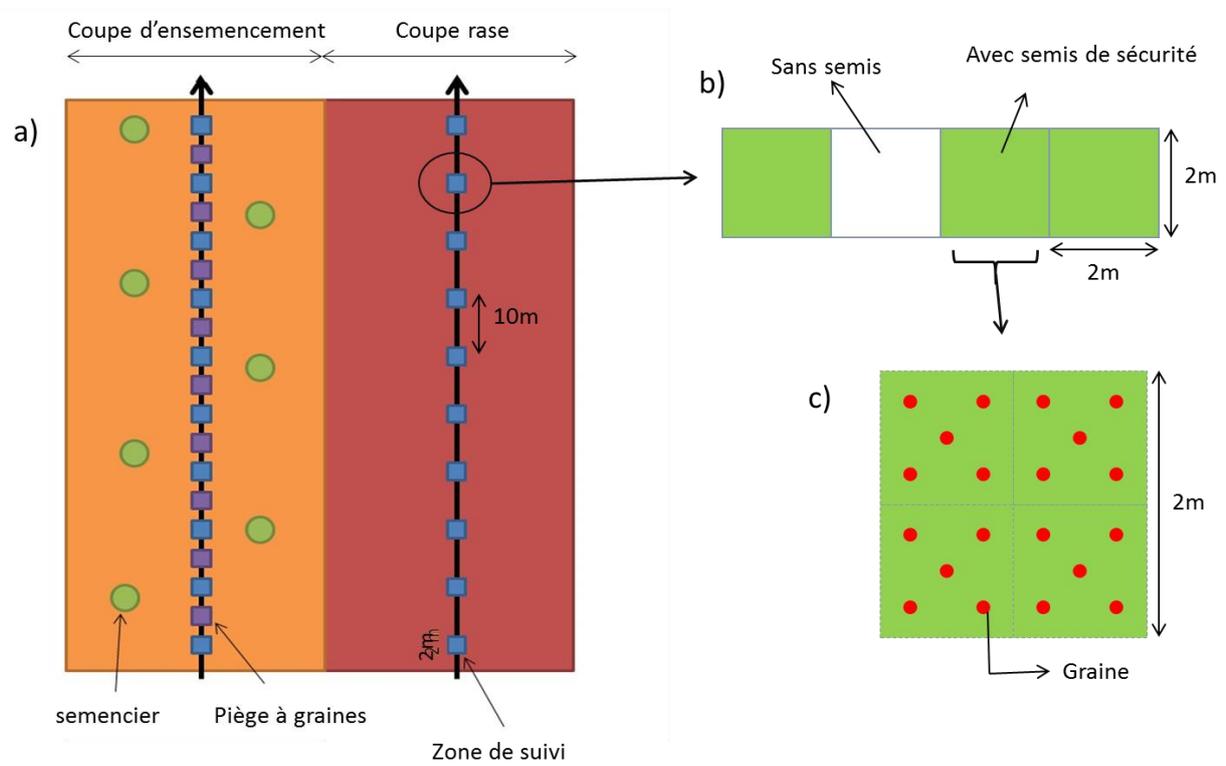


Figure 9 : Dispositif mis en place sur les 5 sites d'observation. a) Division de chaque site en deux selon la modalité de coupe (rase ou ensemencement), et position des zones de suivis; b) détail d'une zone de suivi avec 3 quadrats semés et un non semé; c) positionnement des graines pour un quadrat



Photo 1 : Les deux types de coupe testées: a) Coupe rase; b) Coupe d'ensemencement (source D. Canteloup).

Tableau 2 : Caractéristiques principales des 5 sites d'observations utilisés pour les études n°1 et 5.

	S1+	S2+	S3-	S4-	S5+
Forêt	Lacatau	Lège-Cap-Ferret	Biscarrosse	Sainte-Eulalie-en-Born	Saint-Julien-en-Born
Statuts de régénération	Réussite	Réussite	Echec	Echec	Réussite
Latitude	45°1'43.2"N	44°44'9.4" N	44°24'37.1" N	44°18'14" N	44°6'8" N
Longitude	1°10'44.1" W	1°12'35.6" W	1°14'3.4" W	1°15'8.2" W	1°17'27" W
Age du peuplement au moment de la coupe	59	58	66	65	77
Surface terrière avant la coupe (m ² /ha)	25.2	26.5	26.5	29.6	28
Surface terrière coupe d'ensemencement (m ² /ha)	7.5	13.2	8.5	9.2	10.9
Transmission directe du rayonnement solaire [△] (%)	93 (82)	86 (76)	93 (80)	92 (76)	93 (81)
pH du sol (H ₂ O) ± SE	4.46 ± 0.14	4.82 ± 0.21	4.57 ± 0.13	4.68 ± 0.19	4.44 ± 0.14
MO du sol (%) ± SE	42.5 ± 13.7	24.8 ± 13.9	28.2 ± 10.9	36.8 ± 15.7	14.3 ± 8.5

△ calculé d'après les équations de Porté et al. (2000) et Berbigier and Bonnefond (1995), à partir de la densité du peuplement et du diamètre et âge des arbres. Les valeurs correspondent à la coupe d'ensemencement, avec entre parenthèses les valeurs avant la coupe.

La germination et la survie des plantules ont été mesurées à l'aide de dix zones de suivis par type de coupe réparties de manière systématique, chacune étant composée de quatre quadrats de 4m² : trois semés et un non semé (Figure 9b). Chaque quadrat semé contient vingt graines légèrement enfouies selon un patron précis (Figure 9c), quantité qui correspond aux 3kg/ha utilisé par l'ONF lors des régénérations potentiellement difficiles. Ces graines sont issues de récoltes effectuées sur les cônes au sol après une coupe au sein des peuplements dunaires. Des pièges à graines d'une surface de 1.5 m² sont appariés à chaque zone de suivi en coupe d'ensemencement pour quantifier la pluie de graines (Photo 2).

La banque de graines juste après exploitation de la parcelle a également été étudiée pour avoir un état initial du stock de graines dans le sol. Des tests de germination ont ensuite été réalisés pour comparer la viabilité des graines issues de la banque du sol, des graines issues de la pluie de graines, et de celles utilisés par l'ONF pour le semis de sécurité. La préparation des sites (destruction de la végétation concurrente, travail du sol, exploitation des arbres) a été effectuée entre novembre 2014 et mars 2015. Le suivi de la pluie de graines, les nouvelles germinations et la survie des plantules germées ont été effectués mensuellement de mai à octobre en 2015 et 2016. Trois suivis ont été réalisés en 2017 : en mars, avant le pic de germination, mi-juin après ce pic, mais avant l'arrivée de la sécheresse estivale, et en septembre après l'été. Un dernier comptage a été effectué en mars 2018 afin de comparer les statuts de régénération par rapport aux seuils de nombre de plantules attendus par hectare (cf. Chapitre I, §1.1.2.). Le type de mortalité et la présence d'abrutissement ont été notés lors de chaque relevé, et les semis mesurés en octobre de chaque année.



Photo 2 : Piège à graines positionné au niveau de chaque zone de suivi dans les coupes d'ensemencement (source : A. Guignabert)

1.2. Etude des ectomycorhizes (étude n°5)

Ces cinq sites ont également été utilisés comme base pour l'étude concernant les ectomycorhizes (ECM) associées aux jeunes pins et leur lien potentiel avec la régénération (étude 5, objectif lié aux interactions biotiques). Afin d'observer l'impact des deux types de coupes sur la composition et la quantité d'ECM, nous avons utilisé comme témoin la parcelle forestière jouxtant chacun de nos sites.

90 plantules ont été prélevées sur chacun des sites (30 en forêt, 30 en coupe d'ensemencement et 30 en coupe rase). Afin d'étudier l'impact de la topographie et donc indirectement de l'accès à l'eau sur les communautés d'ECM, chacun des 30 échantillons a été lui-même divisé en 3 zones de prélèvements de 10 pins : 10 en bas de pente, 10 en milieu de pente, et 10 en haut de pente. L'ensemble des prélèvements de terrain a eu lieu entre fin novembre 2015 et début février 2016. L'observation des ECM a ensuite eut lieu entre février et mai 2016, où nous les avons classées selon leur type d'exploration caractérisé par la présence ou non d'hyphes et de rhizomorphes, selon la classification d'Agerer (2001; Figure 10 ; Photo 3).

Des mesures de morphologie aérienne (hauteur, diamètre, biomasse) et racinaire (longueur, biomasse, SRL) ainsi que de concentration en nutriment (N, P, K, Mg, Ca) dans les aiguilles ont été effectués sur les plantules.

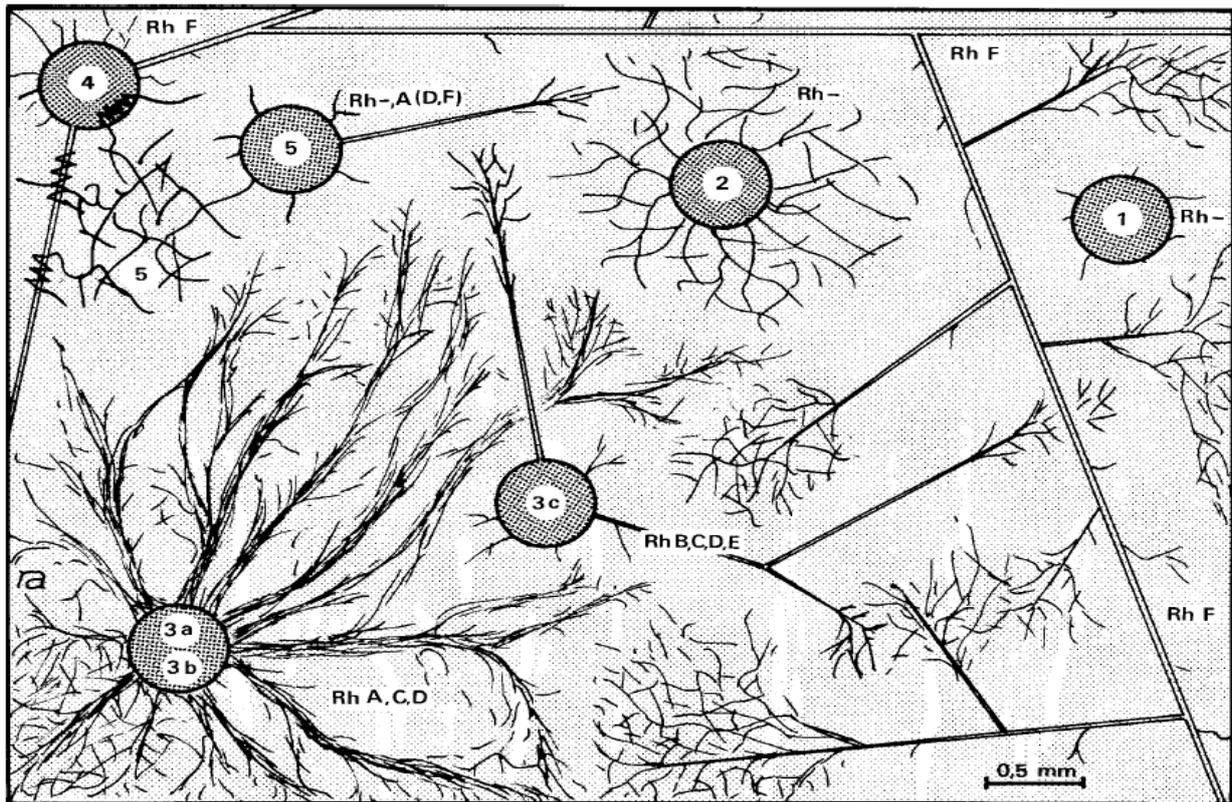


Figure 10 : Dessin schématique des différentes stratégies d'exploration représentées par des coupes transversales d'ectomycorhizes et du mycélium (extrait d'Agerer, 2001)

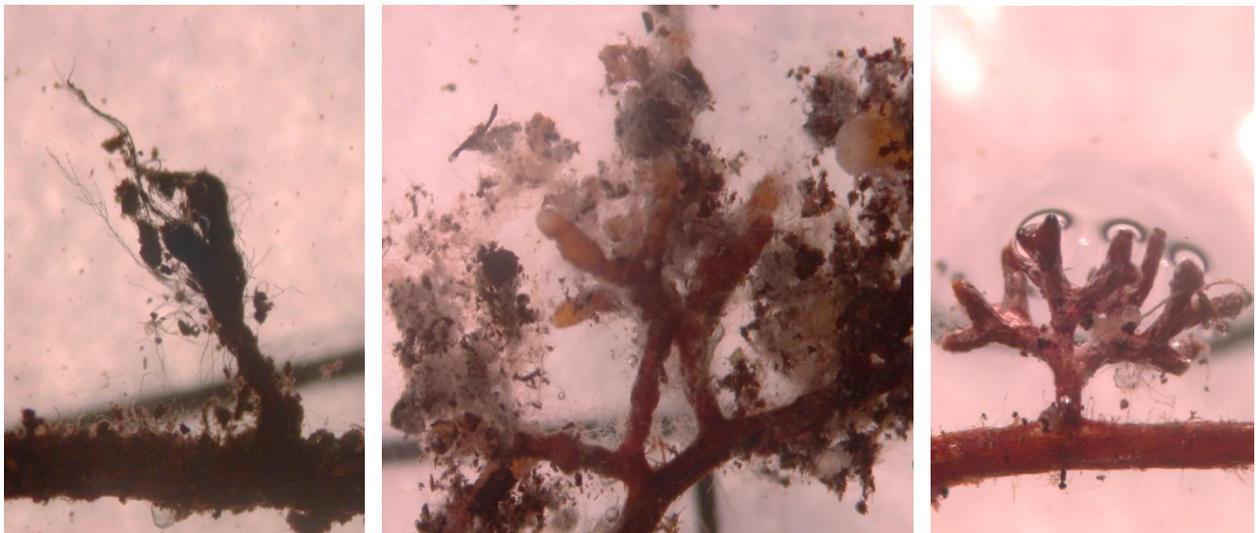


Photo 3: Exemple d'ectomycorhizes observées à la loupe binoculaire (source : A. Guignabert)

2. Sites semi-expérimentaux au sein de la zone principale d'échecs

Ces trois études, mises en place au sein de la zone à forts échecs, ont pour but de comprendre les mécanismes en jeu lors de la phase de prédatons des graines dans la banque du sol (§ 2.1., étude n°2, de germination (§ 2.2., étude n°3) et la survie/croissance des semis (§ 2.3., étude n°4).

2.1. Impact des herbivores sur le stock de graines dans le sol.

L'objectif de cette étude était d'estimer la prédation des graines dans le sol de manière dynamique sur un an.

Pour cela, 96 lots de 10 graines ont été positionnés dans le sol en juillet 2015, la moitié étant protégée par une cage. Les lots sans protection ont été installés après tamisage du sol afin de n'avoir aucune graine déjà présente sur la zone. La récolte de six échantillons de chaque modalité était prévue toutes les six semaines afin d'observer la prédation d'une manière dynamique sur la première année de régénération. Cette étude a été réalisée sur le site expérimental que l'étude des interactions biotiques (coupe rase à l'hiver précédent, cf. §2.3. ci-dessous)

Après trois récoltes, 12 échantillons sur 36 contiennent plus de 10 graines, rendant le jeu de données peu exploitable, et donc l'arrêt du suivi de cette étude. L'ensemble des échantillons a quand même été récolté au bout d'un an et les graines comptabilisées. De plus, les germinations des graines installées ont été comptabilisées tous les mois afin de prendre en compte ce facteur dans le dénombrement final.

2.2. Caractérisation du microsite de germination

Une approche multi-échelles a été réalisée pour caractériser le « *safe site* » de germination des graines de pin maritime afin de : 1) déterminer les facteurs impliqués dans ce processus, plus facilement détectable à une échelle fine (0.01m^2 ; e.g. Delerue et al., 2015) ; et 2) obtenir des résultats potentiellement transférables à la gestion sylvicole (échelles de 1m^2 et 4m^2).

Cette étude a été effectuée entre mars et juillet 2017. Le site utilisé a été entièrement exploité (élimination de la végétation + travail du sol + coupe rase) lors de l'hiver 2015-16. Etant donné que nous avons effectué un placement contrôlé des graines, choisir un site mis en régénération un an auparavant permet de réduire considérablement le nombre de

germinations issues de la banque de graines, la graine de pin maritime ne restant rarement viable au-delà de un an dans le sol.

Le site est découpé en 4 blocs, chacun d'eux subdivisés en 3 zones de suivis correspondant aux 3 niveaux topographiques de la dune : haut, milieu et bas de pente.

Chaque zone de suivi mesure 6m x 6m, et contient au centre 4 quadrats de 1m² utilisé pour caractériser les microsites de germination (Figure 11, quadrats en rouge). Les zones adjacentes permettent de positionner chaque zone de 1m² et la zone centrale de 4m² par rapport aux zones de même taille qui l'entourent. Au total, 48 quadrats ont ainsi été suivis sur l'ensemble du site.

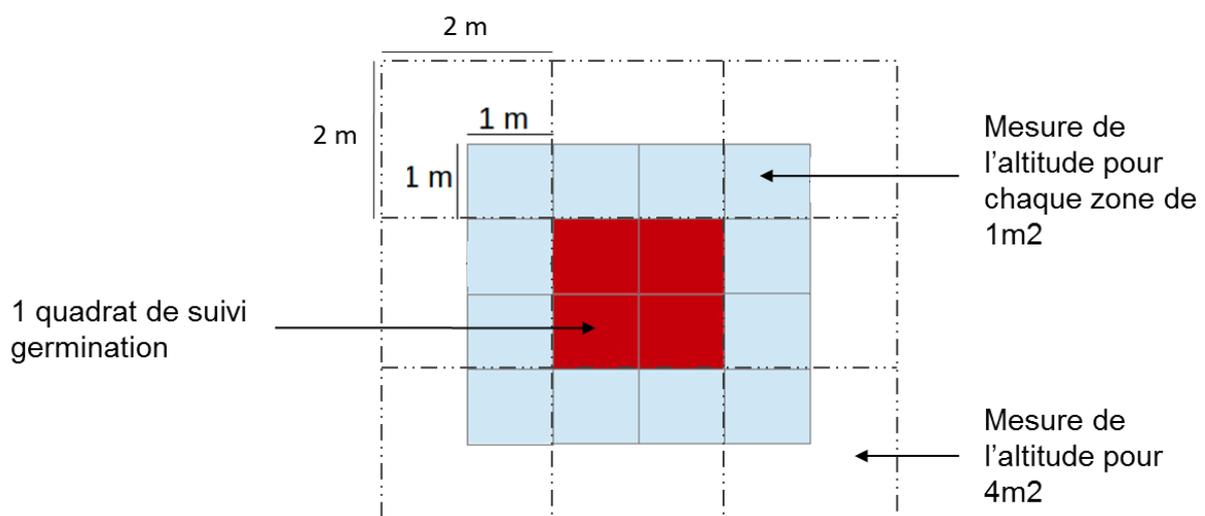


Figure 11 : Schéma d'une zone de suivi

Chaque quadrat de 1m² est composé de 100 cellules de 10 cm de côté (Figure 12). Dans chaque quadrat, 7 graines sont semées manuellement (Figure 12 ; cellules jaunes), soit 336 graines (4 blocs x 3 positions topographiques x 4 quadrats x 7 graines). Les graines utilisées, issues de peuplements dunaires de pin maritime, ont au préalable été humidifiées 24h puis passées au froid pendant un mois pour lever la dormance.

Les graines ont été positionnées le 20 mars 2017, et un suivi de l'émergence des plantules a été effectué toutes les quatre semaines jusqu'à début juillet, ce qui correspond à la période où la quasi-totalité des germinations a lieu d'après nos observations les années précédentes sur le réseau de sites suivis

Ainsi, la variable de réponse est binaire à l'échelle micro (0.01m²), et correspond à un comptage (nombre de germinations) aux échelles de 1m² et 4m². Les variables explicatives étudiées sont en lien avec l'humidité, directement ou indirectement. En effet, l'humidité, dont

on suppose qu'elle est un facteur direct principal influençant la germination, peut être modulée par de nombreux autres facteurs.

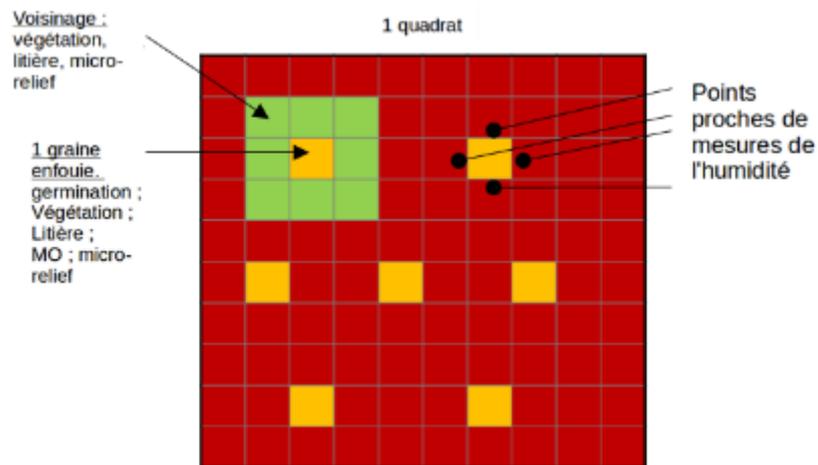


Figure 12 : Schéma d'un quadrat de 1m². Les cellules jaunes correspondent aux cellules contenant une graine de pin

Plusieurs variables explicatives ont donc été étudiées pour chacune des échelles afin de caractériser l'environnement des graines :

- **L'humidité** a été mesurée de deux manières à l'échelle de la graine : i) directement lors de chaque relevé à l'aide d'une sonde TDR (ML2, Delta-T Devices), avec quatre mesures en bordure de chaque cellule contenant une graine (Figure 12) ; ii) en prélevant à la fin de l'expérimentation un échantillon de sol à l'aide d'un carottier à graines (Nioulet et al., 2014 ; sur 5cm de profondeur au centre de la cellule, volume de 15cm³) pour déterminer la teneur en eau du sol $[(\text{poids sol humide} - \text{poids sol sec}) / \text{poids sol sec}]$.

L'humidité aux échelles supérieures a été moyennée à partir des mesures aux échelles fines.

- **Le relief** : Le micro-relief a été caractérisé par la mesure relative de chaque cellule contenant une graine par rapport aux huit cellules adjacentes. Cette mesure a été réalisée à l'aide d'une table trouée au centre de chaque cellule, et disposée au-dessus des quadrats de suivis (Figure 13 ; Photo 4A). Sur le même principe, l'altitude de chaque zone de 1m² et 4m² par rapport aux huit zones voisines a été mesurée à l'aide d'un tachéomètre pour caractériser le méso-relief (Photo 4B). Enfin le macro-relief est défini par la position topographique de chaque zone de suivi : bas de pente, milieu de pente et haut de pente.

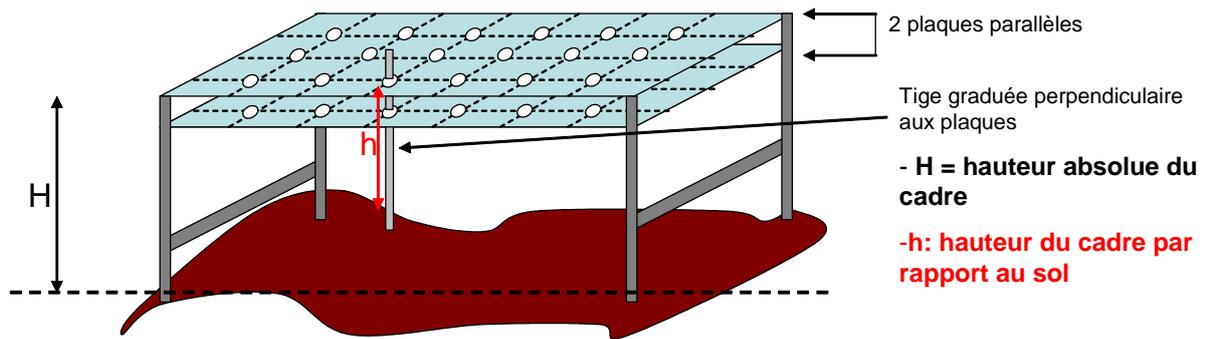


Figure 13 : Principe de la méthode pour la mesure du micro-relief (réalisation F. Delerue)

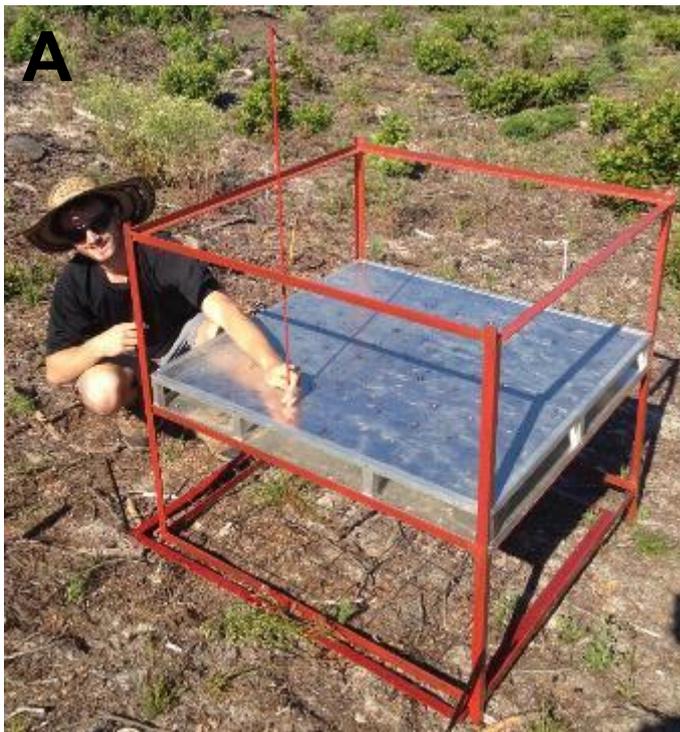


Photo 4 : Outils de mesures utilisés pour: A) le micro-relief; B) les mesures d'altitudes. (source : A. Guignabert)

- **La végétation** : A l'échelle micro, la végétation a été notée pour chaque cellule suivie ainsi que les huit cellules voisines en lui attribuant un score d'abondance de 0 (0-25%), 1 (26-75%) ou 2 (76-100%) selon le recouvrement du sol par la végétation. Aux échelles supérieures, un recouvrement total ainsi qu'un relevé floristique selon la méthode d'abondance/dominance de Braun-Blanquet ont été effectués.

- **La litière** : Sur le même principe que la végétation, un indice de recouvrement (0 ; 1 ; 2) a été donné à chaque cellule suivie et les huit voisines. Le type de litière principal a également été relevé (litière, bois, cône, écorce). De plus, la litière a été prélevée à la fin des

suivis pour chaque cellule contenant une graine enfouie puis pesée après passage à l'étuve afin d'en obtenir la biomasse. Le pourcentage de recouvrement ainsi que le type de litière ont été notés pour les échelles supérieures.

- **La matière organique** : La matière organique a été analysée par perte au feu sur chacun des 336 échantillons de sols récoltés pour déterminer la teneur en eau du sol.

2.3. Etude des interactions plante-plante-herbivore

Cette étude a été réalisée sur une coupe rase effectuée en janvier 2015. La végétation de sous-bois, majoritairement constituée d'arbousier (*Arbutus unedo*), n'a pas été éliminée dans certaines zones pré-identifiées afin de pouvoir étudier l'interaction avec les plantules. Une expérimentation à l'aide de transplantation de jeunes pins a donc été réalisée pour identifier les mécanismes en jeu au sein de l'interaction pin – arbousier – herbivores.

Trois facteurs ont été testés en interactions sur ce site : i) la topographie du site (bas, milieu, haut de pente) reflétant l'accès à l'eau à travers la distance à la nappe ; ii) l'herbivorie (zone grillagée excluant grands mammifères et lapins mais pas les rongeurs (Figure 14) vs témoin sans protection) ; iii) l'effet de l'arbousier (avec ou sans voisin).

La parcelle a été divisée en quatre blocs, chaque bloc lui-même divisés en trois zones situées à chacun des trois niveaux topographiques (Figure 14). Chacune de ces zones contient une zone grillagée et une zone non protégée, au sein desquels douze arbousiers ont été sélectionnés (Figure 14).

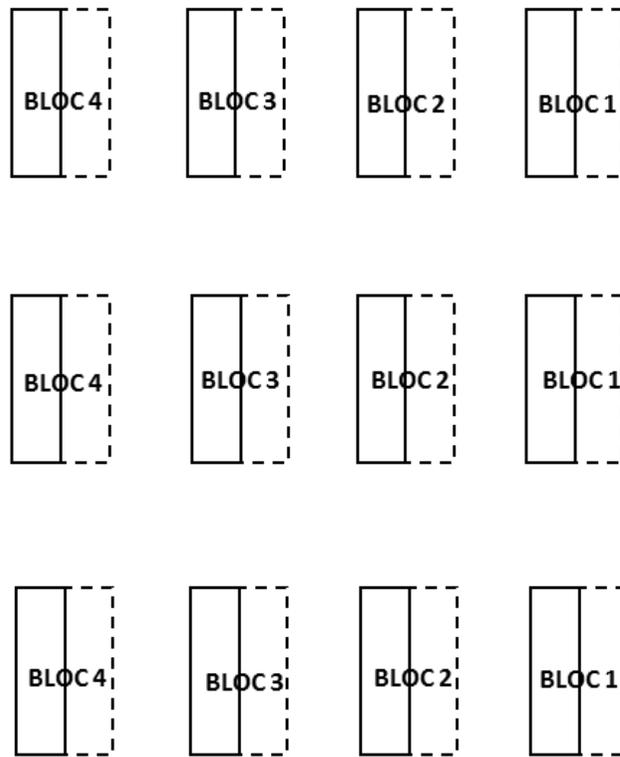
La moitié des arbousiers a été coupée à la base et les racines tranchées, afin d'obtenir des emplacements sans arbousier similaire en terme de conditions de sol aux emplacements avec arbousiers. Des plantules de pins cultivés en serre ont ensuite été plantées sous chacun des arbousiers et sur les zones où ils ont été coupés (Photo 5). Au total, 288 plantules ont été plantées en avril 2015 (4 blocs x 3 niveaux topographiques x 2 traitements clôture x 2 traitements arbuste x 6 plantules). Ce même protocole a été renouvelé en avril 2016 en utilisant de nouveaux arbousiers.

3 niveaux topographiques

Haut de pente

Milieu de pente

Bas de pente



Enclos Exclos

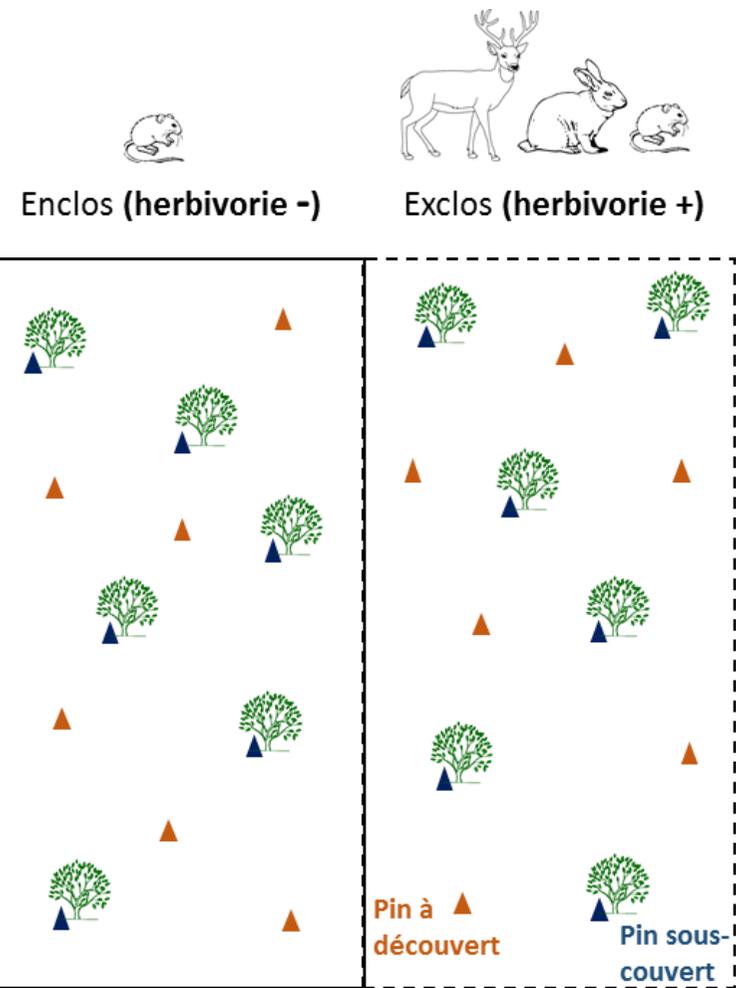


Figure 14 : Dispositif expérimental mis en place



Photo 5 : A) Production des plantules; Transplantation sous arbousier (B) ou sans arbousier (C) (source : A. Guignabert)

L'expérience a duré deux ans, d'avril 2015 à avril 2017, avec des suivis (survie et croissance) mensuels d'avril à octobre et tous les deux mois entre octobre et avril. Les pins ont été prélevés en avril 2017 pour des mesures de biomasse. Le volume des arbousiers ainsi que leur interception de la lumière ont été caractérisés pour chacune des deux cohortes de pins plantés. Trois stations météorologiques (une à chaque position topographique) ont également été installées sur le site pour mesurer la température et l'humidité relative du sol (12 sondes) et de l'air (24 sondes) avec et sans voisins, les précipitations et le rayonnement solaire (Photo 6).

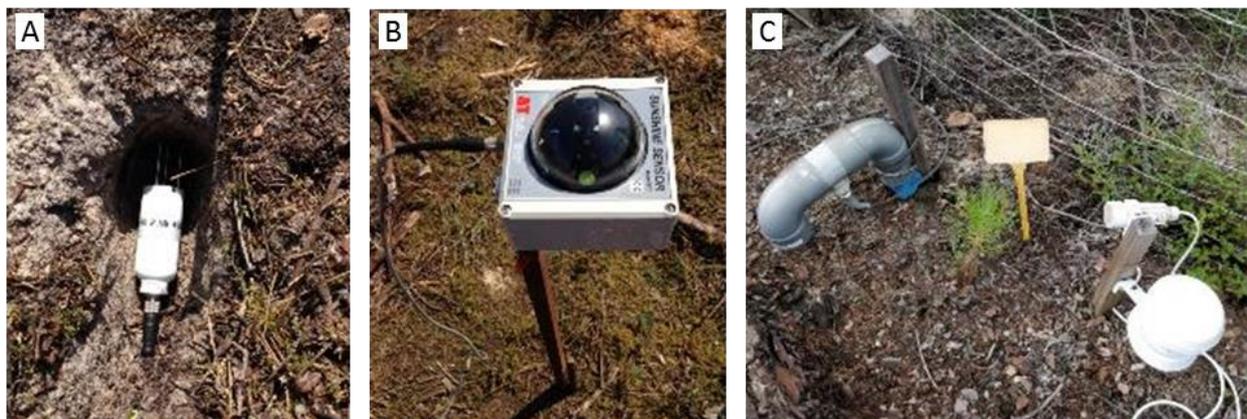


Photo 6 : Sondes d'humidité et température du sol (A) et de l'air (C); Capteur mesurant le rayonnement solaire (B) (source : A. Guignabert)..

Chapitre III : Résultats

Ce chapitre de résultats est divisé en quatre parties, chacune correspondant aux résultats d'une étude effectuée durant la thèse



Photo 7 : A) Exemple d'un enclos sur le site expérimental ; B) Ectomycorhizes à la loupe binoculaire; C) Coupe rase et coupe d'ensemencement du S5+ (source: A. Guignabert)

III. A. Etude des principales étapes de la régénération des peuplements le long du cordon dunaire Aquitain – Interactions avec des pratiques sylvicoles

1. Introduction

La régénération naturelle est une phase essentielle pour la dynamique d'un peuplement forestier. Ce processus, impliquant les phases de production des graines, de dispersion et disponibilité des graines, de germination et d'installation du semis (Kitajima and Fenner, 2000), est utilisé dans de nombreuses forêts gérées pour renouveler les peuplements forestiers. Cependant, c'est un processus complexe, car il est sous l'influence de nombreux facteurs biotiques (interactions entre plantes négatives ou positives, herbivorie, pathogènes) et abiotiques (climat, topographie, type de sol) en interactions. En forêts gérées tempérées et méditerranéennes, les régénérations sont fréquemment infructueuses (Calama et al., 2017; Clark et al., 1998; Price et al., 2001). L'installation d'une espèce résulte de l'interaction entre la quantité de graines disponibles et la quantité de microsites de régénération favorables (Harper, 1977). La densité des graines arrivant au sol dans un lieu donné dépend de la disposition spatiale des arbres semenciers, de la production de graines et de la capacité de dispersion des graines sur de plus ou moins longues distances. Une fois au sol, la possibilité qu'une plantule émerge et survive dépend des réserves métaboliques de la graine, mais aussi de conditions locales favorables telles l'humidité et la température du sol, ou la lumière (Harper, 1977). Ces conditions écologiques varient très fortement dans le temps et l'espace selon les modifications abiotiques du milieu, mais aussi à travers les interactions biotiques avec la végétation de sous-bois ou la canopée des arbres (Beckage and Clark, 2003; Catovsky and Bazzaz, 2002).

Les méthodes sylvicoles telles que le contrôle de la canopée arborée à travers le mode de récolte, le travail du sol, ou la gestion de la végétation spontanée du sous-bois peuvent moduler les différents facteurs impactant le succès d'une régénération (Balandier et al., 2006; Kozłowski, 2002; Löf et al., 2012; Montoro Girona et al., 2018; Wagner et al., 2011). Ainsi, il est important d'identifier les principaux facteurs impliqués afin d'adapter les méthodes sylvicoles pour réussir la régénération. La récolte précédant la mise en régénération naturelle d'une parcelle peut être effectuée de deux manières : 1) par coupe rase, lorsque l'ensemble des arbres est récolté en même temps, et où la régénération

naturelle se fait à partir de la banque de graines du sol. Dans les cas les plus difficiles, une régénération semi-naturelle (ou « régénération naturelle assistée ») peut être effectuée en semant des graines issues de peuplements locaux pour augmenter les chances de réussite ; 2) par coupes progressives (ou « coupe d'ensemencement »), lorsqu'une partie des arbres est laissée sur pied quelques années afin de favoriser la régénération, et est coupée une fois que cette dernière est jugée suffisante.

La fermeture partielle de la canopée à travers une coupe progressive est un facteur susceptible d'influencer la régénération de plusieurs façons. Premièrement, les arbres restants peuvent alimenter la banque de graines viables dans le sol pendant quelques années permettant de contrebalancer une faible disponibilité en graines pour la régénération (Montoro Girona et al., 2018). Par ailleurs, la présence d'un couvert forestier réduit l'intensité du rayonnement solaire et peut modifier les conditions microclimatiques au niveau du sous-bois (réduction évapotranspiration, augmentation de l'humidité, baisse de la température du sol) (Aussenac, 2000; Heithecker and Halpern, 2006; von Arx et al., 2013). Enfin, à travers la modification de l'interception de la lumière, l'ouverture plus ou moins grande de la canopée impacte le développement de la végétation du sous-bois pouvant potentiellement limiter l'installation des plantules par compétition pour les ressources en eau et nutriments (Löff, 2000; Wagner et al., 2011). Cette modification de l'habitat peut également influencer sur les populations d'herbivores et engendrer des dégâts sur les semis (Reimoser and Gossow, 1996; Velamazán et al., 2018).

La régénération naturelle par coupe rase est le mode de renouvellement habituellement pratiqué au sein des forêts dunaires de pin maritime du Sud-Ouest de la France. Cependant, de nombreux échecs de régénération sont recensés ces dernières années, en particulier dans la partie centrale du cordon dunaire aquitain. Une régénération est qualifiée comme réussie lorsque le nombre de semis deux à trois ans après exploitation est supérieur à 3000 par hectare (= 0.3/m²; Sardin, 2009). Ces échecs ont persisté malgré un apport supplémentaire de graines (appelé « semis de sécurité » correspondant à de la régénération naturelle assistée) au moment de l'exploitation pour augmenter les chances de réussite de la régénération (Ouallet, 2012; Sardin, 2009). Par ailleurs, les vergers à graines des peuplements dunaires fournissant les graines utilisées pour le semis additionnel produisent de moins en moins de graines, et la régénération naturelle assistée est donc coûteuse. Dans ce type de milieu sur substrat sableux, où les périodes de sécheresses estivales sont régulières et vont probablement s'amplifier (Dale et al., 2001), la pratique de la coupe progressive est majoritairement utilisée dans les autres régions d'Europe. C'est le cas des différentes espèces de pins en Espagne (*Pinus nigra*, *pinaster*, *sylvestris*, *pinea*; voir Calama et al., 2017), où elle présente de bons résultats pour le pin maritime notamment

(González-Alday et al., 2009; Ruano et al., 2009). Cependant, ces résultats sont très dépendants des conditions locales du site et de l'année (Rodríguez-García et al., 2010).

L'objectif de cette étude est de quantifier la régénération naturelle de pin maritime au sein de cinq parcelles forestières situées dans des zones aux succès de régénération contrastés, et en interaction avec les pratiques sylvicoles. Nous avons évalué l'efficacité d'une coupe d'ensemencement (70 semenciers / ha) en comparaison à la coupe rase traditionnelle, ainsi que l'effet d'un ajout de graines. Pour cela, les étapes de la pluie de graines, de la germination et de la survie des plantules ont été étudiées pendant trois années.

Les hypothèses de l'étude sont que : i) la coupe d'ensemencement pourrait permettre de compenser les années de faible régénération en apportant des graines supplémentaires chaque année, et en améliorant la germination et la survie des semis par la création de conditions microclimatiques plus favorables sous leur canopée, notamment en période estivale ; ii) cet effet positif pourrait être plus marqué sur les sites définis au préalable au sein de zones à fort échec, leur permettant de dépasser le seuil des 3000 individus/ha nécessaire à une régénération réussie ; iii) l'apport des graines des semenciers pourrait réduire la nécessité de l'utilisation du semis de sécurité.

2. Matériel et méthodes

2.1. Description des sites

Les sites utilisés correspondent au réseau de cinq sites d'observation, donc les caractéristiques sont détaillées dans le paragraphe 1.1. du chapitre II.

Trois de ces cinq sites sont situés dans des forêts plutôt en réussite de régénération dernièrement, alors que les deux autres sont situés au sein de la zone principale d'échecs. Ces sites seront numérotés de S1 à S5 selon le gradient nord-sud, avec un + (réussite) ou un – (échec) indiquant leur statut de régénération présumé : S1+ ; S2+ ; S3- ; S4- et S5+.

2.2. Facteurs étudiés

Deux traitements liés aux pratiques sylvicoles ont été appliqués sur les cinq sites.

i) Le type de coupe : coupe rase (ensemble des arbres récoltés) ou coupe d'ensemencement (maintien de 70 arbres semenciers par hectare).

ii) Un ajout de graines : (« semis de sécurité », 5 graines / m²) ou non.

Pour cela, chacun des deux types de coupe a été effectué sur une moitié de l'ensemble des sites (cf. figure 9, §1.1. chapitre II). Au sein de chaque coupe, 10 zones de suivis composées

de 4 quadrats de 4m² ont été semées (3 quadrats pour chaque zone) ou non semées (1 quadrat pour chaque zone) pour tester l'effet du semis de sécurité. Les 10 zones forment un gradient topographique le long de la pente de la dune (pente orientée à l'Ouest).

2.3. Mesures effectuées

La pluie de graines a été quantifiée à l'aide de 10 pièges à graines de 1.5m² installés à côté de chaque zone de suivi au sein de chaque coupe d'ensemencement, et suivis tous les mois de mai à octobre en 2015, 2016 et 2017.

Le poids et la longueur de 86 graines par site issues de la pluie de graines en 2015 ont également été mesurés.

Le comptage des germinations et la survie des plantules germées ont été effectués mensuellement de mai à octobre en 2015 et 2016. Trois suivis ont été réalisés en 2017 : en mars avant le pic de germination, mi-juin après ce pic mais avant l'arrivée de la sécheresse estivale, et en septembre après l'été.

Pour chaque année de suivi, les plantules qui ont émergé au printemps ont été suivies uniquement cette même année, et non sur les 3 ans. Afin d'obtenir le nombre de semis au bout de 3 ans pour le comparer au seuil de régénération fixé par l'ONF (3000 semis par hectare soit 0.3 semis/m² ; Sardin, 2009), un comptage final a été effectué en mars 2018.

Le type de mort (dessiccation, micromammifères, cervidés, herbivorie indéterminée) et la présence d'abroutissement ont été notés lors de chaque relevé.

2.4. Échantillonnage banque de graines

Pour évaluer l'état initial de la banque de graines, l'ensemble des cinq sites a été échantillonné, à la fois dans la coupe rase et dans la coupe d'ensemencement. Cet échantillonnage a eu lieu en début d'expérimentation au printemps 2015, juste après l'exploitation des arbres et avant le début de la pluie de graines. Quatre échantillons de 1/32 m² sur 5 cm de profondeur ont été prélevés au niveau de chaque zone de suivi (un à chaque angle). Au total, 400 échantillons ont été triés (5 sites x 2 types de coupes x 10 zones de suivi x 4 prélèvements). Après un passage aux tamis (mailles de 4 puis 2 mm), le nombre de graines a été compté au sein de chaque échantillon.

2.5. Test de germination

Un test de germination en serre a été réalisé afin de comparer la viabilité des graines selon leur origine : graines issues de la pluie de graines (issues des pièges à graines) ; graines préexistantes dans la banque du sol ; et graines utilisées par l'ONF pour le semis de sécurité. Ce test a été effectué début 2017. Les graines issues de la banque de graines ont été récoltées sur des nouveaux échantillons de sol au printemps 2016 (même procédure que le paragraphe 2.4. ci-dessus, puis stockées au froid à 4°C), et les graines issues de la pluie de graines correspondent aux graines récoltées dans les pièges à graines l'été 2016 (stockées au froid également après récolte dans les pièges). 11 lots de 50 graines ont été mis en germination : 5 lots de banque de graines et 5 lots de pluie de graines (1 pour chaque site), plus 1 lot de graines utilisées pour le semis de sécurité. Le sol utilisé pour ces tests est identique pour tous les lots. Il a été récolté sur un de nos sites (S4-) puis tamisé pour enlever les graines potentiellement présentes dans le sol prélevé. Les bacs de germinations ont été installés dans une serre à température ambiante, puis arrosés tous les 2 jours environs. Les suivis de germinations ont été effectués 1 fois par semaine durant 2 mois.

2.6. Statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R version 3.4.1. (R Core Team, 2017). L'ensemble des données correspondant à la pluie de graines, la banque de graines, le nombre de germinations, et le nombre total de pins à 3 ans sont exprimés en nombre/m². Ces variables sont quantitatives continues, exceptée la banque de graines qui ne comprend que des nombres entiers. La survie et l'abrutissement sont des variables binomiales, alors que le type de mortalité est exprimé en pourcentage.

2.6.1. Disponibilité en graines

Les effets du site et de l'année sur la pluie de graines ont été analysés à l'aide d'un modèle linéaire mixte (fonction lme, package nlme), avec le site, l'année et l'interaction en tant que facteurs testés et la zone de suivi au sein de chaque site comme facteur aléatoire.

Concernant la banque de graines, un modèle linéaire généralisé avec une distribution de Poisson a été utilisée, avec le site, le type de coupe et leur interaction comme variables explicatives.

2.6.2. Nombre de germinations

Afin de tester l'effet des différents facteurs sur le nombre de nouvelles plantules ayant germé, un modèle linéaire mixte a été réalisé, avec le site, le type de coupe, la pratique du semis de sécurité, et l'ensemble des interactions en tant que variables explicatives. L'effet aléatoire compris dans le modèle correspond à la zone de suivi imbriquée dans la modalité du type de coupe, elle-même imbriquée dans le site. L'analyse de la germination a été réalisée séparément pour les 3 années suivies. Au sein de chaque site et pour chaque année, une comparaison des deux modalités de chaque facteur (type de coupe ou semis de sécurité) a été effectuée à l'aide de t-test.

Concernant le test de germinations en serre, les différences de pourcentages de germinations entre les 3 types de provenances (banque de graines, pluie de graines, semis de sécurité) ont été comparées à l'aide de test de Khi².

2.6.3. Survie

La survie dans le temps : la survie des plantules a été étudiée à l'aide de courbes de survie. Ces courbes ont été réalisées en prenant en compte uniquement les germinations de mai (date du premier comptage chaque année, qui correspondent à 75% des germinations en 2015 et 85% en 2016). Ces courbes ont été analysées en utilisant des modèles de survie de Cox à effets mixtes (fonction `coxme`, package `coxme`). L'effet du site, de la coupe et de l'interaction sur la survie ont été testés. La partie aléatoire correspondant à la zone de suivi est identique à celle renseignée pour la germination. Les effectifs étant trop faibles en coupe rase pour 3 des 5 sites en 2016 et pour l'ensemble des sites en 2017, seulement l'effet du facteur site (coupe rase et ensemencement confondu) a été testé pour ces deux années.

Le type de mortalité : l'influence du type de coupe sur chaque type de mortalité (sécheresse, micromammifères, cervidés, indéterminée ; exprimée en pourcentage) a été réalisée à l'aide du test du Khi², pour l'ensemble des sites puis au sein de chaque site.

L'impact des cervidés a aussi été regardé spécifiquement. Il est caractérisé par l'abrutissement de tout ou partie du semis, et a été noté de manière binaire (0 : non abrouti, 1 : abrouti). L'effet du site et du type de coupe sur l'occurrence des dégâts liés aux cervidés a été analysé à l'aide d'un modèle linéaire mixte généralisé avec une fonction binomiale. Le site, la coupe et l'interaction correspondent aux facteurs fixes testés, alors que la zone de suivi au sein de chaque coupe et chaque site correspond au facteur aléatoire. Un t-test pour comparer les deux modalités de coupe au sein de chaque site a également été réalisé.

2.6.4. Bilan de la régénération

Un modèle linéaire mixte a été utilisé pour analyser les différences de densité de semis 3 ans après l'exploitation. Le type de coupe, le semis et l'interaction entre les deux ont été testés au sein de chaque site et pour l'ensemble des sites confondus. Comme précédemment, la zone de suivi est indiquée comme facteur aléatoire.

Enfin, pour chaque site, nous avons calculé la probabilité de réussite de germer et de survivre, et ce pour chaque site et selon le type de coupe :

i) La probabilité d'une graine de germer, calculée en divisant le nombre de germinations par la pluie de graines récoltées. Cela a pu être calculé sur les coupes d'ensemencement uniquement, et que sur deux ans (pluie de graines 2015 et 2016, associées aux germinations 2016 et 2017), car la pluie de graines 2014 avant exploitation n'a pas été quantifiée.

ii) La probabilité de survie à un an en prenant en compte le nombre de survivants à la fin de l'année par rapport au nombre de germinations. Cela a pu être calculé selon le type de coupe, en prenant en compte chacune des trois années. Le calcul a été fait en cumulant les valeurs des 3 premières années, afin de ne pas donner le même poids à chaque année étant donné leurs effectifs très différents, en coupe rase notamment.

iii) La probabilité de survie sur l'ensemble des 3 ans suivis, en divisant le nombre de semis au bout de 3 ans par le nombre total de germinations dénombrées sur les 3 ans. Cela permet d'intégrer à la fois les mortalités de 1^{ère} année, mais aussi les pins de 2015 morts en 2016 et 2017, et ceux de 2016 morts en 2017.

Pour l'ensemble des analyses réalisées à l'aide de modèles linéaires et de modèle de Cox, des comparaisons multiples par paires de Tukey ont été effectuées lorsque des facteurs étaient significatifs.

3. Résultats

3.1. Disponibilité en graines

3.1.1. Pluie de graines

Le nombre de graines produites et dispersées par les semenciers varie fortement selon l'année ($p < 0.001$), et entre chaque site ($p < 0.001$; Figure 15). Tous sites confondus, nous

pouvons dénombrer en moyenne 11.1 ± 0.7 graines/m²/an, avec un minimum observé de 6.1 graines/m²/an sur le S5+ et un maximum de 24 graines/m²/an sur le S2+. Un nombre de graines nettement supérieur est observé sur le site S2+, et ce pour chacune des 3 années. Bien que ce site possède la surface terrière la plus élevée, aucune relation significative n'est détectée entre la surface terrière et la pluie de graines en prenant en compte l'ensemble des sites. Nous ne distinguons pas de différence entre les sites considérés comme en échec avec ceux en réussite. L'interaction site*année est également significative ($p < 0.001$), indiquant que les variations annuelles observées ne suivent pas le même patron sur l'ensemble des sites.

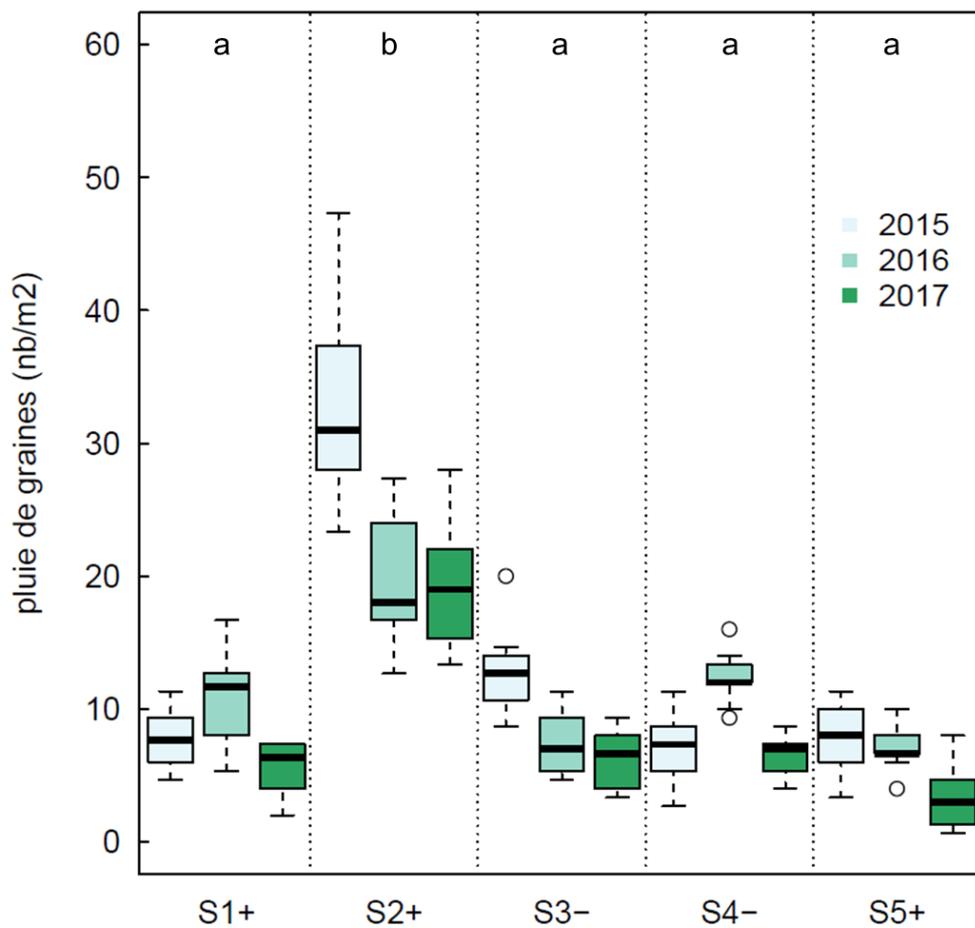


Figure 15 : Pluie de graines par site et par an. Chaque boîte à moustache correspond à la représentation de 10 valeurs. Les lettres minuscules en haut du graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Les + et - suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.1.2. Taille des graines

Le poids et la longueur des graines issues des semenciers sont significativement différentes entre les sites ($p < 0.001$; Figure 16). Dans l'ensemble, les graines des 5 sites se trouvent dans la gamme moyenne de poids et de longueur connues pour les graines de pin maritime sur les peuplements espagnols (Figure 16). Le site S4- est légèrement inférieur aux autres concernant le poids principalement.

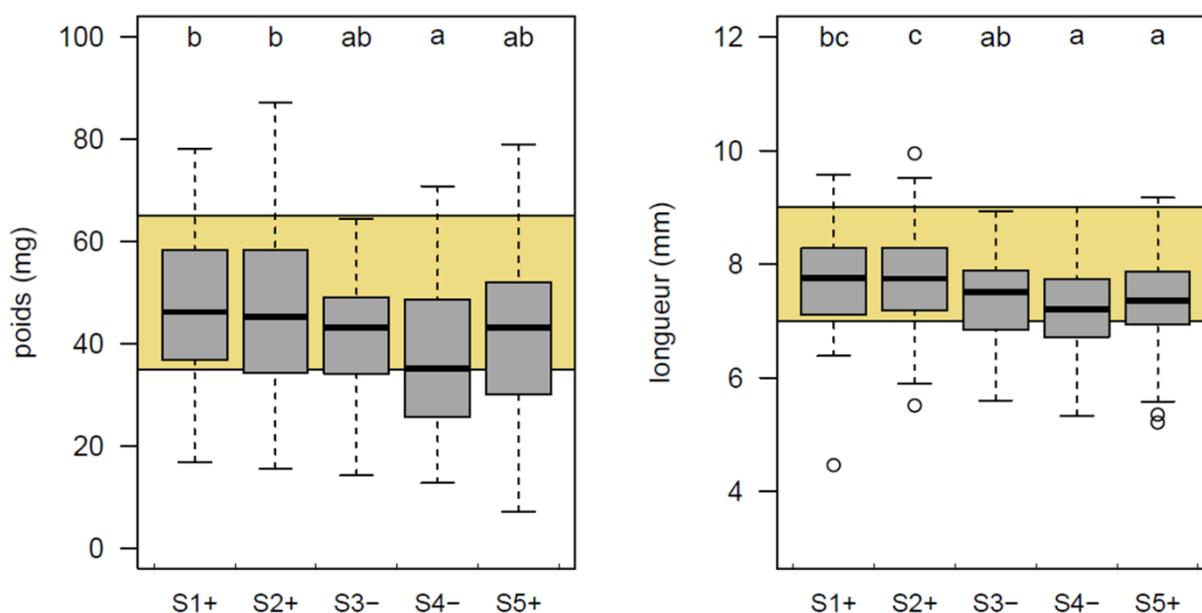


Figure 16: Poids (à gauche) et longueur (à droite) des graines issues de la pluie de graines de 2015 pour chacun des sites. Chaque boîte à moustache correspond à la représentation de 86 graines mesurées. Les lettres minuscules en haut de chaque graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Le fond jaune indique la gamme de valeurs moyennes observées sur les peuplements de pin maritime en Espagne (Calama et al., 2017). Les + et - suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.1.3. Banque de graines

Nous avons retrouvé en moyenne 119.04 ± 7.4 graines/m² de sol (minimum 8 graines/m², maximum 424 graines/m²). Bien que des différences significatives soient observées entre sites ($p < 0.001$; Figure 17), la quantité de graines présentes dans la banque du sol reste très élevée pour l'ensemble des 5 sites. Les sites S1+ et S2+ sont les mieux fournis en graines

du sol. Il n'y a aucun effet de la modalité de coupe ($p=0.215$) ni de l'interaction entre site et modalité de coupe ($p=0.126$) sur le nombre de graines trouvées au printemps 2015.

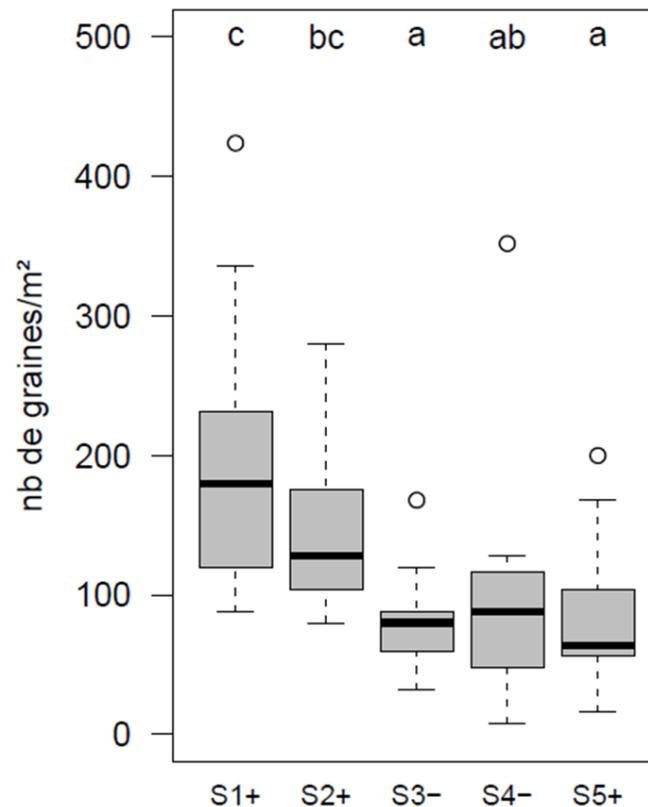


Figure 17: Quantité de graines par m^2 présentes dans la banque du sol juste après exploitation pour chaque site (coupe rase et coupe d'ensemencement confondues). Les lettres minuscules en haut du graphique indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.05$, Tukey test). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.2. Nombre de germinations

3.2.1. Expérimentation en serre

Les résultats du test de germination ont montré de grosses différences entre les différents lots de graines ($Khi^2 = 202.74$, $p < 0.001$, Figure 18). Les graines utilisées pour le semis de sécurité possèdent le potentiel germinatif le plus élevé (86%), suivi des graines issues de la pluie de graines (entre 26 et 32% de germinations selon les sites), puis de la banque de graines où aucune graine n'a germé. Aucune différence de potentiel germinatif n'a été observée entre les pluies de graines des 5 différents sites ($Khi^2 = 0.110$, $p = 0.999$; Figure 18).

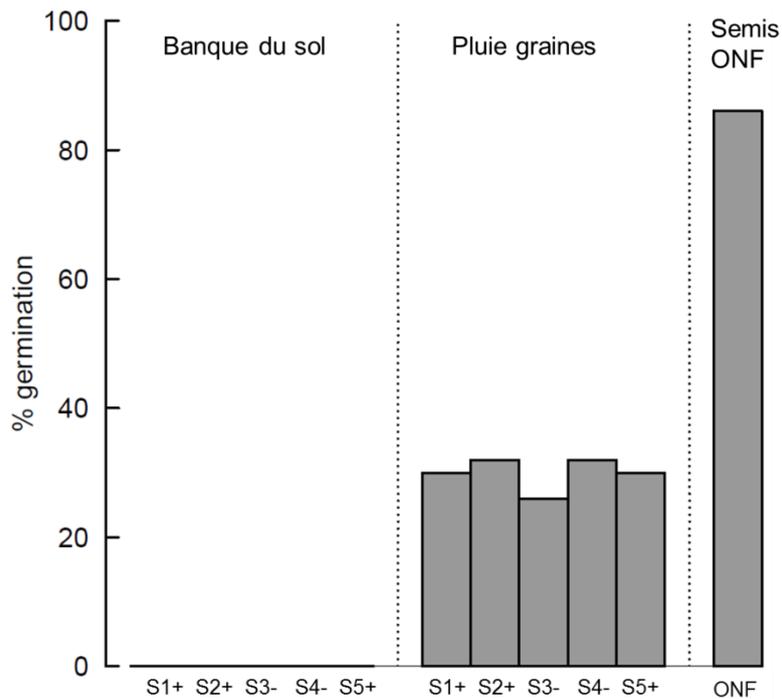


Figure 18: Pourcentage de germination des différents apports de graines lors de la régénération (i.e. banque de graines préexistante, pluie de graines, semis de sécurité ajouté par l'ONF). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.2.2. In situ

La modalité de coupe a un effet significatif chaque année sur le nombre de germinations (Tableau 3), avec un nombre de germinations plus élevé en coupe d'ensemencement qu'en coupe rase (Figure 19 A-B-C). Le nombre moyen de germinations en coupe d'ensemencement est de 0.93 pins/m² en 2015, puis diminue les deux années suivantes (0.55 ± 0.06 pins/m² en 2016 ; 0.47 ± 0.09 pins/m² en 2017). En coupe rase, le nombre de pins diminue très fortement entre la 1^{ère} et la 2^{ème} année (0.65 ± 0.07 pins/m² en 2015; 0.14 ± 0.02 pins/m² en 2016), jusqu'à atteindre une valeur quasi nulle la troisième année (0.04 ± 0.02 pins/m² en 2017). En regardant l'effet du type de coupe site par site, nous observons la première année un effet positif des semenciers uniquement significatif sur les sites en zone d'échec (S3- et S4-), mais légèrement visible et non significatif sur les 3 autres sites également (Figure 19 A). Les deuxième et troisième années après la mise en place de la coupe d'ensemencement, l'effet positif est observé sur l'ensemble des 5 sites (Figure 19 B-C). L'ajout d'un semis de sécurité a un impact positif sur le nombre de germinations uniquement la première année, en 2015 (Tableau 3 ; Figure 19 D-E-F), où le nombre moyen de germinations observé était de 0.92 ± 0.08 sur les quadrats semés et de 0.39 ± 0.07 pins/m² sur ceux non semés. Cet effet positif du semis, la première année, est observé sur

l'ensemble des 5 sites (Figure 19 D). L'interaction entre le semis et le type de coupe n'est pas significative.

L'effet du site est également fortement significatif, tout comme les interactions entre le site et la modalité de coupe ou le site et le type de semis (Tableau 3), montrant un impact important des conditions propres à chaque site sur la germination. Les sites S2+ et S5+ sont ceux ayant le plus de germinations, alors que le site S1+ est celui en ayant le moins.

Tableau 3 : Résultats statistiques des analyses effectuées sur les effets du site, de la coupe et du semis sur la germination et la survie. Les p-values en gras correspondant aux résultats significatifs. L'analyse des données de germinations a été réalisée à l'aide de modèles linéaires mixtes, alors que les analyses de survie correspondent aux significativités de modèle de survie de Cox.

	2015	2016	2017
<i>germination</i>			
site	<0.001	<0.001	<0.001
semis	<0.001	0.858	0.066
coupe	<0.001	<0.001	<0.001
site x semis	0.004	0.889	0.728
site x coupe	<0.001	<0.001	<0.001
semis x coupe	0.567	0.537	0.210
S x S x C	1	0.723	0.874
<i>survie</i>			
site	0.075	0.176	0.057
coupe	0.004	-	-
site x coupe	0.057	-	-

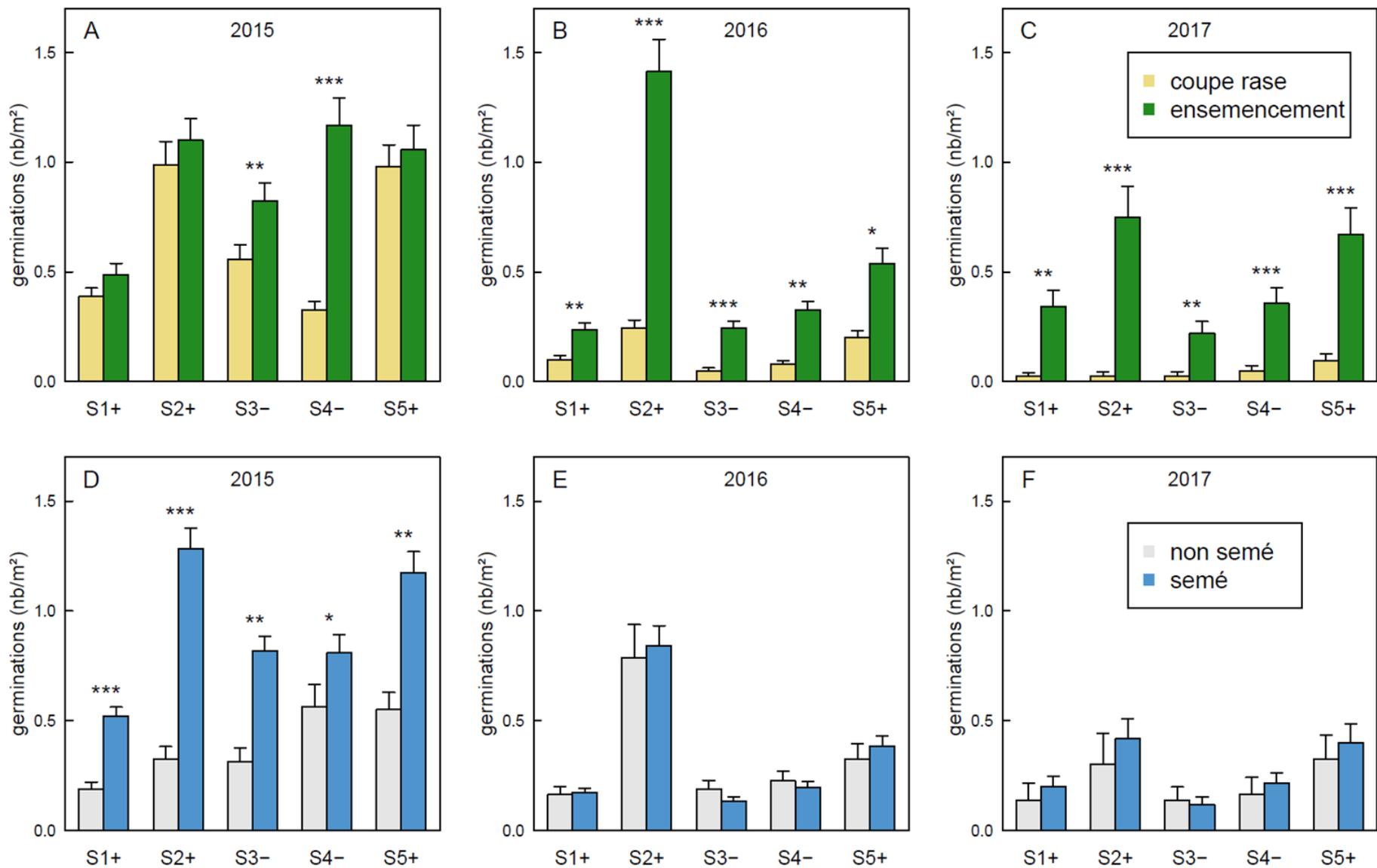


Figure 19: Germinations par m² observées au sein de chaque site en fonction de la modalité de coupe (A-B-C) et de l'effet du semis de sécurité (D-E-F). Les panels A-D correspondent aux germinations de 2015, les panels B-E à 2016, et les panels C et F à 2017. Les astérisques au-dessus de chaque site indiquent une différence significative entre les deux modalités au sein d'un même site (t-test ; *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$). Les + et - suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.3. Installation du semis

3.3.1. Courbes de survie

La survie des plantules à la fin de la première année est affectée par la présence des semenciers, et dans une moindre mesure par le site et l'interaction entre site et modalité de coupe (Tableau 3). Globalement, l'effet de la coupe d'ensemencement se traduit par une mortalité plus faible de 10.8% comparée à la mortalité en coupe rase (Figure 20 F).

En regardant l'effet du type de coupe site pour chaque site, nous pouvons voir que la coupe d'ensemencement a un effet positif sur 3 des 5 sites (réduction de la mortalité de 17.5%, 21.5% et 25.6% pour respectivement les sites S2+, S3- et S4- ; Figure 20 B-C-D), alors que sur les deux autres sites la mortalité n'est pas significativement différente entre les deux traitements ($p=0.380$ pour S1+ et $p=0.872$ pour S5+ ; Figure 20 A-E). Concernant les deux sites en échec, nous pouvons également noter que ce sont les deux seuls où la mortalité en coupe rase est supérieure à 50% (Figure 20 C-D).

La mortalité en 2016 et 2017 a été analysée uniquement sur les coupes d'ensemencement à cause du manque d'effectif en coupe rase. Elle ne présente pas de différences significatives entre les coupes d'ensemencement des différents sites (Tableau 3).

3.3.2. Type de mortalité

La mortalité provoquée par la sécheresse est la principale cause de mortalité des plantules, autant en coupe rase qu'en coupe d'ensemencement, et ce sur l'ensemble des sites (Figure 21). En prenant en compte l'ensemble des mortalités des 5 sites, on observe plus de mortalité par sécheresse en coupe rase qu'en coupe d'ensemencement ($Khi^2 = 5.91$, $p=0.015$; Figure 21). Nous n'observons pas de différence de mortalité liée à l'ensemble des herbivores ($Khi^2 = 0.01$, $p=0.906$). En explorant site par site, la coupe d'ensemencement réduit le pourcentage de morts dus à la sécheresse significativement pour les sites S2+ ($Khi^2 = 4.10$, $p=0.043$) et S4- ($Khi^2 = 4.48$, $p=0.034$), et marginalement pour le site S3- ($Khi^2 = 2.75$, $p=0.098$). Aucune influence de la modalité de coupe sur les mortalités provoquées par les herbivores n'est également observée au sein de chaque site (Figure 21).

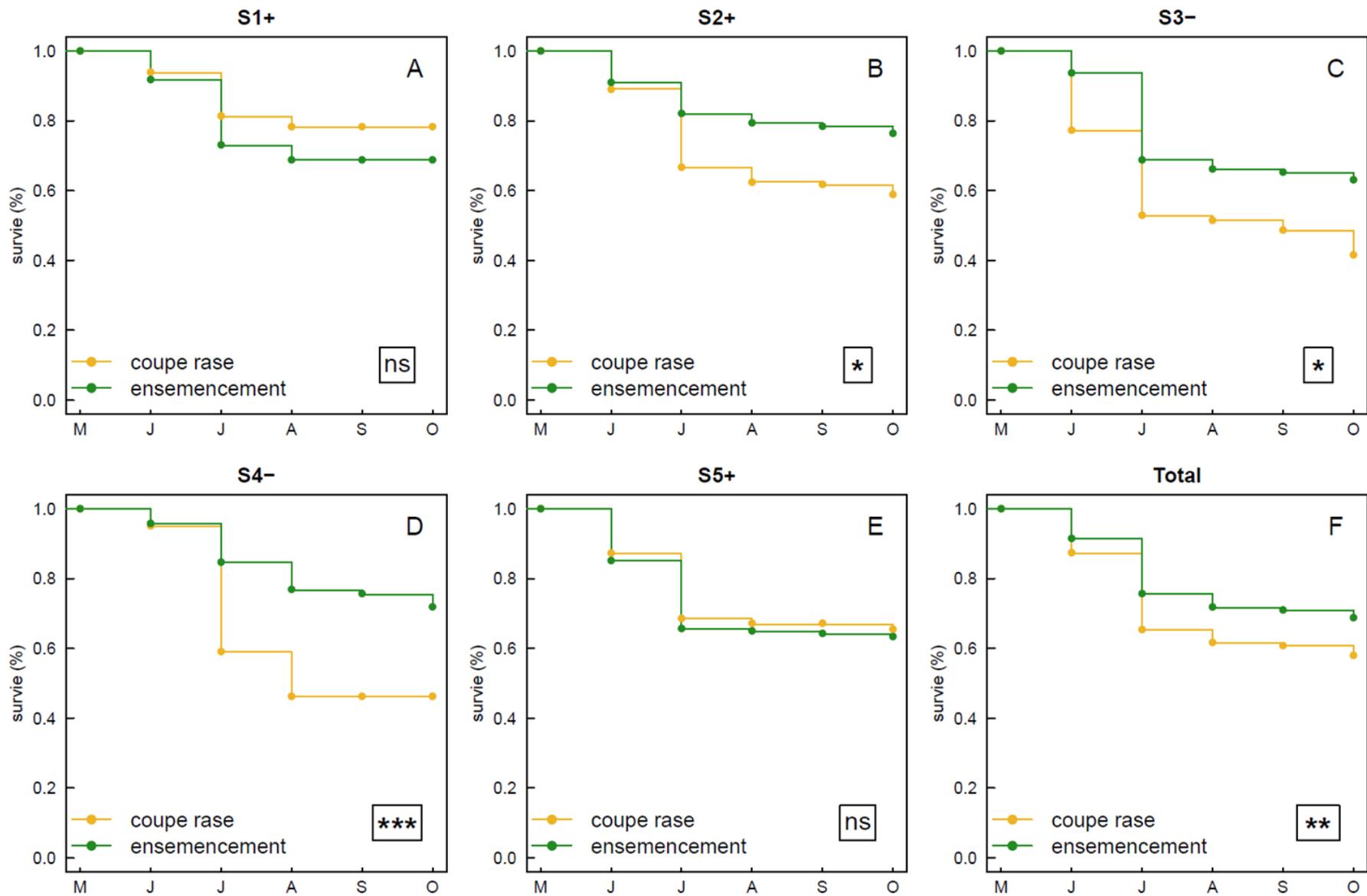


Figure 20: Courbe de survie des plantules en 2015, en fonction de la modalité de coupe. Les panels A à E représentent les résultats pour chacun des 5 sites, et le pane F correspond à l'analyse des 5 sites groupés. La significativité des analyses de survie de Cox est représentée dans l'encadré en bas à droite de chaque panel (** $p < 0.001$; * $p < 0.05$; ns non significatif). Les + et - suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

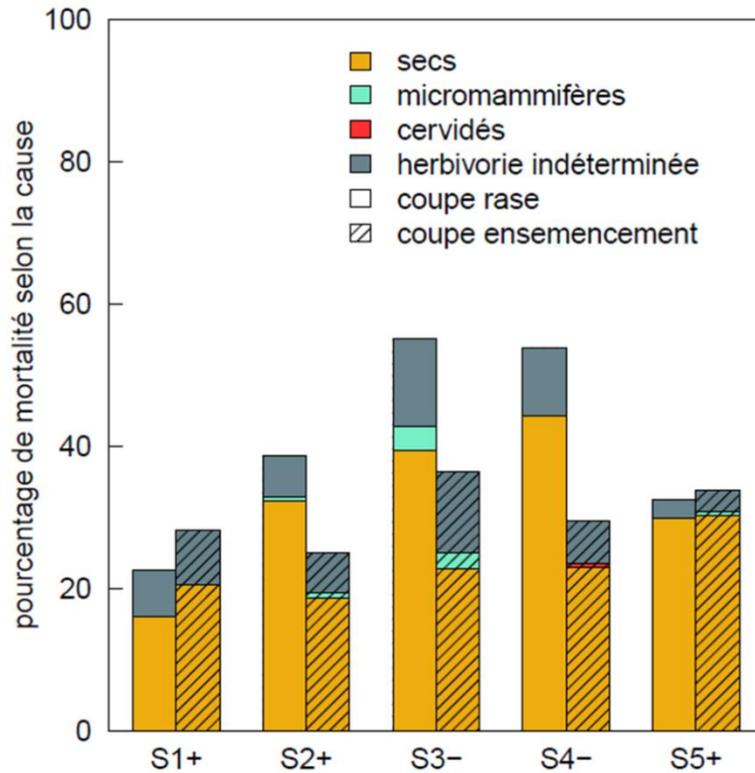


Figure 21 : Pourcentage de plantules mortes durant cette première année, selon le type de mortalité et la modalité de coupe. Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

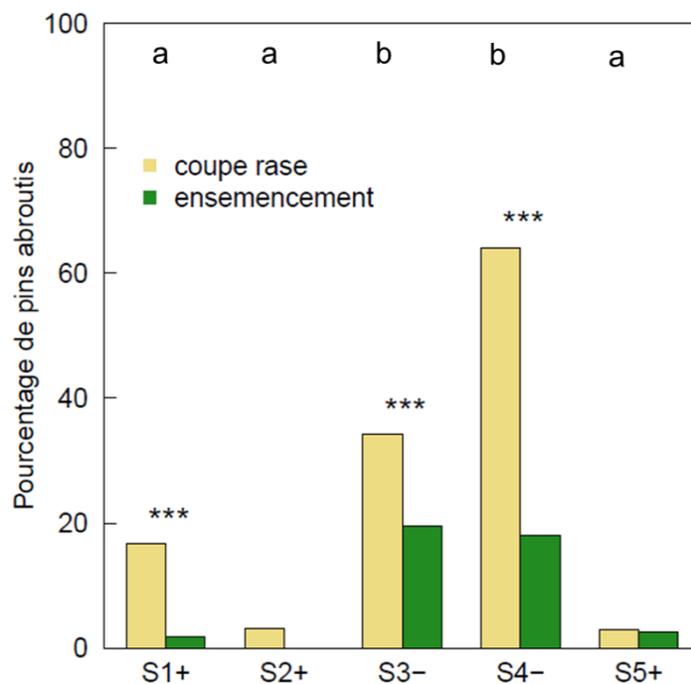


Figure 22 : Pourcentage de pins abrutis en fonction du site et de la modalité de coupe. Les astérisques au-dessus d'un site indiquent une différence significative du pourcentage d'abrutissement entre les deux modalités de coupe au sein d'un même site ($p < 0.001$). Les lettres minuscules indiquent les différences significatives entre sites ($p < 0.001$). Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

3.3.3. Abrouissement

Le site ($p < 0.001$) et la modalité de coupe ($p < 0.001$) ont un effet fortement significatif sur le pourcentage de pins abrouissés durant la première année. L'interaction n'est pas significative ($p = 0.533$). Les abrouissements sont beaucoup plus présents en coupe rase qu'en coupe d'ensemencement, et nous les retrouvons majoritairement sur les deux sites en échec (Figure 22).

3.4. Bilan

3.4.1. Densité de semis 3 ans après exploitation sylvicole

Trois ans après la mise en régénération, la densité de semis est significativement supérieure ($p < 0.001$) sur les sites S2+ et S5+ en comparaison aux trois autres sites (S1+, S3- et S4-), confirmant les différences de régénération selon les zones concernées.

Le type de coupe a un effet très significatif positif sur l'ensemble des sites alors que le semis a un effet significatif sur seulement deux sites (S2+ et S3-), et marginal sur le site S5+ (Tableau 4).

Tableau 4: Significativité des modèles linéaires mixtes testant l'effet de la coupe et du semis sur la densité finale de semis de pin, pour chaque site et pour l'ensemble des sites confondus. Les valeurs indiquées correspondent aux p -values. Les valeurs significatives sont en gras.

	S1+	S2+	S3-	S4-	S5+	Total
coupe	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.018	< 0.001
semis	0.155	0.034	0.019	0.321	0.052	0.002
coupe x semis	0.968	0.729	0.174	0.901	0.869	0.599

Le site S5+ a une régénération très satisfaisante, les 4 combinaisons de traitements ayant permis d'obtenir une densité de pins suffisante (seuil de 0.3 semis/m² ; Figure 23). La coupe d'ensemencement a tout de même influencé positivement la régénération.

Sur les 4 autres sites (du S1+ au S4-) nous observons que la pratique d'une coupe rase sans ajout de graines ne permet dans aucun des cas d'obtenir le nombre de semis nécessaire pour régénérer une parcelle (Figure 23). L'ajout d'un semis de sécurité permet de dépasser le seuil de 0.3 semis/m² pour le site S2+, partiellement pour S1+ mais reste cependant insuffisant pour les deux sites en zone d'échec, S3- et S4- (Figure 23).

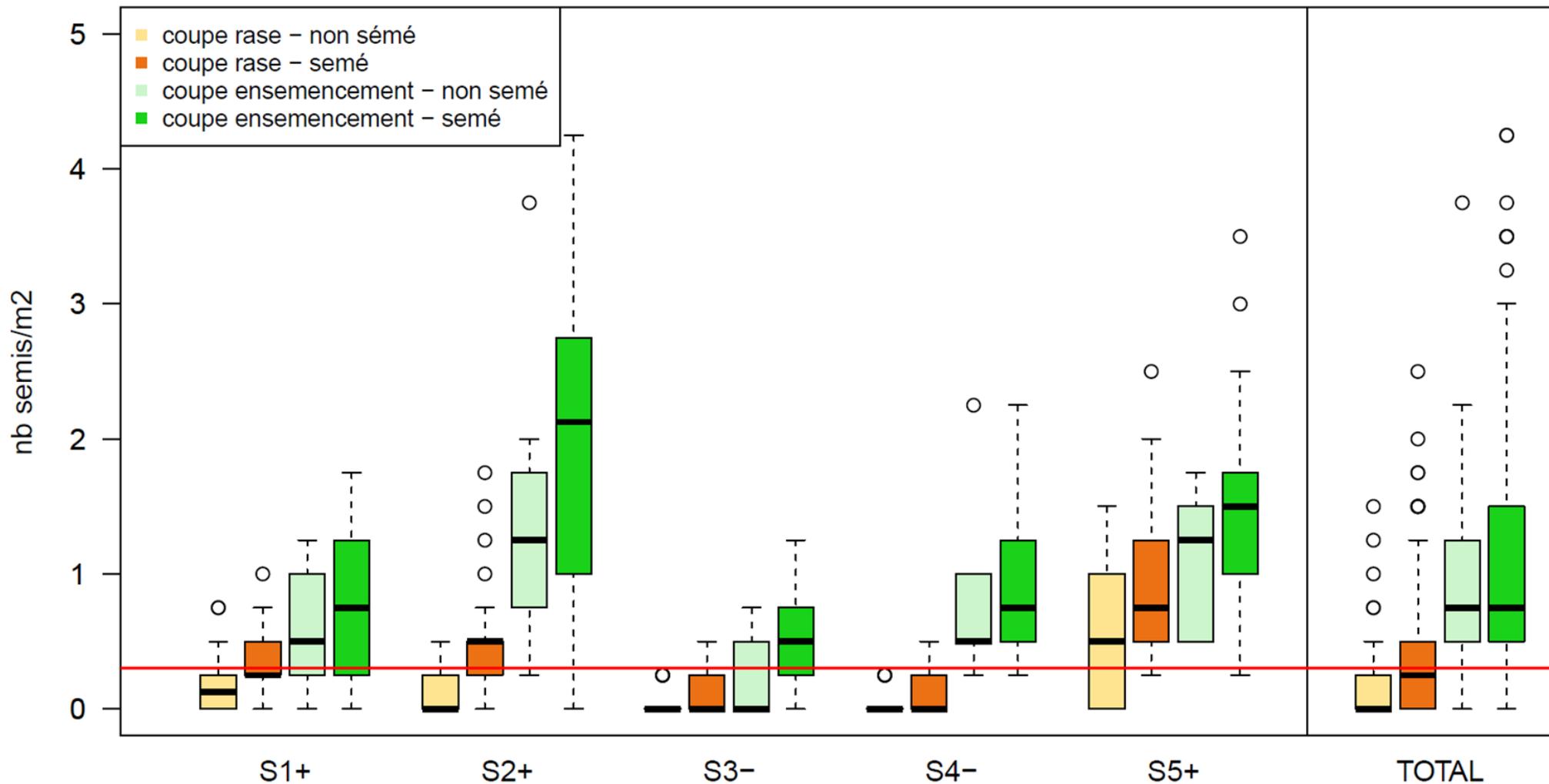


Figure 23: Densité finale de semis selon les deux facteurs croisés du type de coupe et de l'ajout du semis de sécurité. La ligne rouge représente le seuil de 0.3 semis / m² pour une régénération réussie (=3000 semis / ha ; (Sardin, 2009)). La significativité des deux facteurs étudiés est montrée dans le tableau 4. Les + et - suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

La coupe d'ensemencement a un effet positif sur la régénération, le seuil de 0.3 semis/m² étant atteint pour les 5 sites (0.69 pins/m² pour S1+, 1.88 pour S2+, 0.44 pour S3-, 0.86 pour S4-, 1.47 pour S5+). L'ajout du semis de sécurité permet également une augmentation de la densité de pins à 3 ans, et il est notamment important sur le site S3-, car ce site est le seul où la coupe d'ensemencement sans semis est en dessous du seuil préconisé (0.25 semis/m² au lieu des 0.3 semis/m² visé ; Figure 23).

Globalement, si nous étudions l'ensemble des sites, nous pouvons constater qu'au bout de trois ans, l'effet positif de la coupe d'ensemencement est supérieur à l'effet positif du semis, qui s'observe la première année uniquement (cf. Figure 19). Nous pouvons également noter que, au sein de chaque site, l'effet de la coupe d'ensemencement sans semis, à travers l'apport de graines chaque année, permet d'égaliser ou de dépasser l'effet positif de l'apport du semis la première année.

3.4.2. Probabilité de germination et de survie

Nous observons sur l'ensemble des sites que la probabilité d'une graine arrivant au sol de germer est très faible, comprise en 2 et 8% selon les sites (Tableau 5).

Une fois la germination réussie, la probabilité de réussir l'étape suivante, c'est-à-dire la survie du premier été, est beaucoup plus élevée. Cette probabilité de survie est également supérieure en coupe d'ensemencement pour les sites S2+, S3- et S4-, et l'inverse pour S1+ (Tableau 5). Ceci est en accord avec les résultats obtenus avec les courbes de survie détaillées précédemment. La probabilité de survie est plus faible si nous considérons l'ensemble des germinations des 3 ans et le nombre final de pins. Cela montre que les mortalités après la première année ne sont pas négligeables. Cette diminution est la plus marquée sur les 2 sites en échecs, et particulièrement sur le site S3-.

Tableau 5 : Probabilité de succès de chacune des deux étapes étudiées : p_{germ} = probabilité pour une graine issue d'un semencier de germer l'année suivante; p_{surv1} = probabilité pour une germination au printemps de survivre jusqu'à la fin de l'année; $p_{survtot}$: probabilité de survie en prenant en compte l'ensemble des germinations des 3 années et leur survie à 3 ans. Les + et – suivant le numéro du site correspondent aux secteurs respectivement en réussite ou en échec.

		coupe rase	coupe ensemencement
S1+	p_{germ}	-	0.03
	p_{surv1}	0.71	0.68
	$p_{survtot}$	0.60	0.63
S2+	p_{germ}	-	0.04
	p_{surv1}	0.54	0.69
	$p_{survtot}$	0.31	0.56
S3-	p_{germ}	-	0.02
	p_{surv1}	0.47	0.63
	$p_{survtot}$	0.16	0.32
S4-	p_{germ}	-	0.04
	p_{surv1}	0.44	0.63
	$p_{survtot}$	0.26	0.46
S5+	p_{germ}	-	0.08
	p_{surv1}	0.68	0.69
	$p_{survtot}$	0.66	0.63
TOTAL	p_{germ}	-	0.04
	p_{surv1}	0.58	0.67
	$p_{survtot}$	0.35	0.50

4. Discussion

Les deux pratiques sylvicoles évaluées (coupe d'ensemencement et ajout d'un semis de graines) ont un effet significatif en favorisant la régénération dans tous les peuplements. Cependant, les effets sur chacune des étapes montrent des différences entre sites, suggérant l'importance des facteurs locaux sur l'ensemble de la réussite du processus de régénération (Rodríguez-García et al., 2010). Ces deux pratiques ont deux axes d'influence sur le cycle de régénération : la quantité de graines disponibles pour la germination, à l'aide des semenciers et/ou le semis de sécurité, jouant donc un rôle sur la pluie de graines et la germination ; et la modification de l'habitat et du microclimat à travers la canopée des semenciers, ayant un rôle sur la germination et la survie.

4.1. Augmentation de la disponibilité en graines

La quantité de graines apportée, résultant des étapes de production de graines puis de leur dispersion, n'a jamais été considérée comme un facteur limitant sur les peuplements espagnols (Calama et al., 2017). Une étude récente sur des suivis de pluie de graines durant 10 ans a montré des valeurs moyennes d'environ 7 à 24 graines/m², pour des peuplements variant selon l'intensité de coupe et ayant une surface terrière comprise en 7 et 16 m²/ha (Ruano et al., 2015b). Les pluies de graines observées sur nos sites sont principalement dans la partie basse de cette gamme, et même juste en dessous pour le S5+ avec une moyenne de 6.1 graines/m². Ce dernier site correspond aussi à un des deux sites ayant le plus grand nombre de germinations, et la plus forte densité à 3 ans. Associé au fait que les 2 sites en échecs ne diffèrent pas des autres sur ce même paramètre, cela indique que ce facteur n'est également probablement pas limitant dans notre contexte. Il pourrait cependant être important de continuer à l'étudier, notamment en cas de conditions climatiques extrêmes, qui pourraient mener à des baisses de fructification dans les années à venir (Mutke et al., 2005; Ruano et al., 2015b). Le principal problème semblerait plutôt concerner leur intégration à la banque de graines jusqu'à leur germination. En effet, nous pouvons observer que sur l'ensemble des graines arrivant au sol via la pluie de graines, seulement 2–8% émergent selon les sites. Ce faible pourcentage pourrait s'expliquer par une très forte prédation des graines post-dispersion (GEREA, 1990; Ruano et al., 2015a), par la présence d'une litière et de rémanents créant une barrière physique empêchant les graines d'atteindre le sol (Facelli and Pickett, 1991), mais aussi par une conservation des facultés germinatives très faibles lorsqu'elles sont dans le sol. En effet, le nombre de germinations n'excède pas 1.5 semis/m² alors que la quantité de graines dans la banque persistante du sol est élevée, avec plus d'une centaine de graines par m² en moyenne. Nous retrouvons également une forte densité dans une autre étude sur le pin maritime dans le nord-ouest de l'Espagne sur des parcelles en régénération suite à un incendie (200 graines/m²) ou non (150 graines/m²) (Luis-Calabuig et al., 2002). Cependant, la viabilité des graines de pins maritime ne dépasse pas 2 ans, et le rôle de la banque de graines persistante pour la régénération est plutôt attendu comme mineur (Martínez-Sánchez et al., 1995). Nos résultats du test de germination *ex situ* et des suivis de germinations *in situ* sont plutôt en accord avec cela. Le test de germination *ex situ* nous montre que seulement les graines issues de la pluie de graines de l'été précédent peuvent contribuer à la germination au printemps suivant, alors que celles stockées dans la banque de graines ne sont pas viables pour la très grande majorité d'entre elles. De plus, la diminution importante du nombre de germinations en coupe rase entre la 1^{ère} et la 2^{ème} année, puis le nombre quasi-nul en 3^{ème} année confirme que les graines ne restent pas viables longtemps au-delà de la 1^{ère} année passée dans le sol. Enfin, bien que

les graines issues du semis de sécurité présentent un taux de germination de 86% en conditions optimales, leur effet sur la germination n'est aussi observable que la première année, et confirme donc la faible persistante de la viabilité des graines dans le temps, lorsqu'elles sont stockées dans le sol. La viabilité des graines n'est cependant pas un facteur discriminant entre les sites en échec ou en réussite, les résultats étant similaires entre tous. De même, la morphologie des graines diffère peu entre sites, et la longueur et le poids sont comparables à ce qui est observé sur l'espèce en Espagne (Calama et al., 2017) ou au Maroc (Wahid and Bounoua, 2013).

L'utilité du semis de sécurité et de la coupe d'ensemencement est donc de permettre un apport de graines potentiellement apte à germer l'année suivante (semis de sécurité) ou pendant plusieurs années (coupe d'ensemencement). Le semis additionnel a un effet immédiat, en augmentant significativement les germinations sur l'ensemble des sites, et ce jusqu'à 4 fois plus que les zones non semées, mais uniquement la première année. Ce fort impact s'explique par leur viabilité plus élevée (cf. test de germination), résultant d'une sélection au préalable selon leur densité après un test de flottaison, où seulement les graines les plus denses (i.e. celles qui coulent) sont conservées. Il peut également s'expliquer par le plus faible temps passé par le semis dans le sol et donc moins sujet à la prédation, aux pathogènes ou aux conditions climatiques, car le semis de sécurité s'effectue en hiver alors que la pluie de graines a lieu en été. A l'inverse, la coupe d'ensemencement a un effet plus durable avec un apport régulier sur plusieurs années, permettant un nombre de germinations significativement plus élevé sur l'ensemble des sites la 2^{ème} et 3^{ème} année.

4.2. Rôle des semenciers sur le micro-habitat

La modification du micro-habitat due à la présence des semenciers ne peut être discutée que sur la première année de l'étude pour deux raisons : i) les germinations en 2015 étant liées à la pluie de graines 2014 (i.e. avant exploitation et donc identiques aux deux modes de coupes), les différences observées sont a priori liées aux conditions locales liées à la coupe et non à la quantité de graines pouvant germer. En 2^{ème} et 3^{ème} années, les différences de nombre de germinations sont aussi le résultat d'un apport supplémentaire en graines par les semenciers et l'effet du micro-habitat devient non distinguable; ii) pour la survie, le nombre de germinations est trop faible en coupe rase les 2^{ème} et 3^{ème} années pour pouvoir effectuer des analyses statistiques.

Les résultats obtenus montrent un effet global significativement positif de la coupe d'ensemencement, autant pour les germinations que la survie. Ces résultats concordent avec plusieurs études sur le pin maritime, où la germination et la survie sont meilleures lors

d'une coupe d'ensemencement grâce à une réduction du rayonnement global et de la température ainsi qu'une meilleure humidité du sol (González-Alday et al., 2009; Rodríguez-García et al., 2011a; Ruano et al., 2009). En effet, l'atténuation des stress microclimatiques est supposée être un mécanisme sous-jacent par lequel la conservation d'une canopée arborée favorise l'installation des espèces forestières et la résilience de l'écosystème après la récolte (Heithecker and Halpern, 2006). Cependant, bien que l'effet du maintien de semenciers soit positif dans la grande majorité des cas concernant les études sur le pin maritime, il existe un fort effet local site (climat et sol) jouant sur l'intensité de cet effet (Rodríguez-García et al., 2010). C'est aussi le cas dans notre étude où l'impact global des semenciers est positif mais varie fortement entre nos 5 sites. Nous observons que cet effet est significativement positif pour deux sites concernant la germination (S3- et S4-) et trois sites concernant la survie (S2+, S3- et S4-). Il est intéressant de voir que l'impact des semenciers est fort sur les deux sites en échec, suggérant des conditions possiblement plus stressantes au sein de cette zone. Le fait que le site S2+ soit similaire à ceux en échec pour la survie mais pas la germination laisse à penser que les mécanismes d'action liées à la canopée sont différents selon l'étape de la régénération considérée. Le différentiel de germination similaire sur les S1+, S2+ et S5+, qui ont des taux de survie très différents par ailleurs, confirme cette idée que la présence d'une canopée arborée peut avoir des impacts différents sur la germination et la survie.

Concernant la germination, la lumière (rayonnement direct et augmentation de la température du sol) et l'humidité du sol sont les deux principaux facteurs d'influence (Bonnet-Masimbert, 1975; Ruano et al., 2009). Cette atténuation de la lumière entre coupe d'ensemencement et coupe rase étant similaire sur les 5 sites (cf. tableau 2, Chapitre II), cela pourrait expliquer l'effet positif (même léger) sur l'ensemble des sites. En effet, Ruano (2009) a montré dans une étude manipulant l'intensité de coupe et un traitement irrigation que l'effet de la lumière était le facteur le plus important, avant même la disponibilité en eau, avec un nombre de germinations supérieure lors d'une coupe de 25% de la surface terrière (comparé à 0%, 50% et 100%). Le pin ayant une capacité d'interception de la lumière plutôt faible, nous n'avons peut-être pas laissé assez de semenciers pour réduire suffisamment le rayonnement arrivant au sol. Un effet facilitateur de la coupe d'ensemencement concernant l'humidité du sol semble moins probable, étant donné que le site le plus sec (S2+) et le plus humide (S5+) réagissent de la même manière à l'effet de la coupe. L'accentuation de cet effet sur les sites S3- et S4- pourrait plutôt être dû à un facteur plus local tel que la prédation par les rongeurs. En effet, un fort impact des micromammifères a déjà été observé dans cette zone de la forêt dunaire (GEREA, 1990). Cela serait lié à des densités de population souvent plus fortes en coupe rase notamment en présence des rémanents laissés sur la

parcelle (Simon et al., 2002), ce qui pourraient expliquer cette importante différence entre coupe d'ensemencement et coupe rase dans notre étude.

Concernant la survie, il a été montré que la sécheresse estivale était la principale cause de mortalité des plantules (Moreno-Fernández et al., 2018; Rodríguez-García et al., 2011a), notamment sur les sols sableux très drainants où il est impossible de stocker de l'eau des mois précédents (Ledo et al., 2014). Cela est confirmé dans notre étude où, sur l'ensemble des sites, la principale cause de mortalité est la sécheresse. La différence des courbes de survie sur les trois sites significatifs s'explique par une plus faible mortalité due à la sécheresse sous coupe d'ensemencement, et montre donc l'effet facilitateur de la canopée des semenciers sur l'installation des semis. Cette facilitation de la canopée serait plutôt liée à une augmentation du déficit hydrique de l'air qu'à une augmentation de l'humidité du sol (Moreno-Fernández et al., 2018; Muhamed et al., 2013). Des températures plus élevées peuvent en effet augmenter les effets de la sécheresse sur les plantes à travers l'augmentation du déficit hydrique de l'air (Allen et al., 2010). Cela peut ainsi engendrer une perte en eau des plantes via la transpiration et jouer sur la mortalité des jeunes plantules moins robustes (Will et al., 2013). Concernant nos sites, le S1+ ayant une plus faible température moyenne et le site S5+ une plus forte pluviométrie, ils ont tous les deux une aridité plus faible que les trois autres sites (Ouallet, 2012), ce qui peut expliquer l'effet positif de la coupe sur les trois autres sites uniquement. Il est aussi important de noter que 2015 a été une année globalement sèche mais avec un été dans la moyenne, alors que 2016 a vu un été très sec (le plus sec de la dernière décennie) et 2017 très pluvieux. C'est cette sécheresse intense de 2016 qui explique les différences de survie entre la période de 0–1 an (« p_surv1 », Tableau 3) et sur l'ensemble des trois ans (« p_survtot ») montrant que des mortalités parfois importantes (S3- notamment, puis S2+ et S4-) peuvent survenir sur des pins lors de la 2^{ème} année de croissance.

Nous pouvons tout de même noter que la survie sous coupe d'ensemencement sur l'ensemble des sites en 2016 était de 60 % (± 7), alors qu'en comparaison dans une autre de nos études réalisée cette même année (cf. Chapitre III.C, partie 1), nous n'avons eu seulement que 10% de survie pour les jeunes plantules de l'année (en milieu ouvert ou même en présence d'arbustes voisins). Cela suggère un impact très positif de la coupe d'ensemencement même lors d'un été très sec.

A une échelle un peu plus large que le micro-habitat de la graine et la plantule, la perturbation liée à une coupe, influence la présence de différentes guildes d'herbivores et notamment les cervidés, potentiellement plus attirés vers les zones ayant subi une coupe rase qu'une coupe partielle (Fisher and Wilkinson, 2005; Reimoser and Gossow, 1996; Tremblay et al., 2007). Ce n'est cependant pas toujours le cas si la densité de population

d'herbivores est globalement très importante par exemple (Beguin et al., 2009). Nous observons dans notre étude un taux d'abrutissement des plantules, la première année suivant la coupe, nettement plus élevé au sein des deux sites en échecs, mais également significativement plus élevé en coupe rase. Nous pouvons proposer que cela soit lié à une densité de population de cervidés plus élevée au niveau de ces deux sites. En effet ils sont localisés au sein d'une zone militaire semi close avec une pression de chasse très limitée et contrôlée, favorisant ainsi peut-être le développement de ces populations. Cette pression des herbivores sur ces deux sites pourrait également ainsi contribuer aux échecs de régénération enregistrés dans cette zone.

4.3. Bilan et conclusion

Trois ans après la mise en régénération, nous observons qu'une coupe rase sans semis ne permettrait une régénération satisfaisante que sur un seul (S5+) des cinq sites. Si nous regardons l'effet du seul semis suivant une coupe rase, tel que pratiqué actuellement, nous observons que les deux sites en échec restent dans cette situation, alors que le S1+ et S2+ sont juste au-dessus du seuil fixé. Sur les 4 sites (S1+, S2+, S3-, S4-) où la régénération peut être difficile, pratiquer une coupe d'ensemencement sans semis favorise la régénération puisque, sur 3 de ces 4 sites, la régénération dépasse le seuil minimum de 0.3 semis/ha. Seul le site S3- nécessite une combinaison *coupe d'ensemencement + semis* pour obtenir un nombre suffisant de plantules. Ainsi, à l'aide de la maîtrise de ces deux pratiques, la régénération peut être acquise sur l'ensemble des sites étudiés. Nous noterons également que ces deux pratiques ont des effets indépendants (i.e. l'effet du semis ne varie pas selon le type de coupe). La coupe d'ensemencement, à travers son apport en graines et la modulation du micro climat sous son couvert, joue un rôle important sur plusieurs années, alors que le semis a un effet uniquement la première année.

La coupe d'ensemencement a un impact positif sur la germination et la survie au sein des deux sites en échecs, validant notre hypothèse de départ. Ainsi, pratiquer une coupe d'ensemencement semble être la pratique la mieux adaptée pour une régénération réussie pour l'ensemble de la forêt dunaire et notamment pour les zones à fort échec. Un ajout de semis pourrait également être envisagé en supplément de la coupe d'ensemencement au sein des zones à forts échecs uniquement, permettant ainsi de compter prioritairement sur l'apport en graines des semenciers sur les autres secteurs et donc de réduire les coûts liés à ce semis additionnel. Dans tous les cas, considérant la faible durée de viabilité des graines qui chute drastiquement après 1 an, il n'est pas nécessaire d'attendre 2 ou 3 ans comme dans l'itinéraire actuel afin de déterminer l'impact de ce semis: si au bout d'un an le nombre

de semis n'est pas suffisant, cet apport de graines n'aura pas été suffisant. Il est également important de prendre en compte la situation particulière de chaque site, car on peut observer un résultat global à 3 ans identique entre deux sites mais résultant d'effets différents selon les étapes en jeu. Par exemple, les sites S2+ et S5+ ont une densité équivalente de semis à 3 ans (1.13 et 1.16 semis/m²) alors que S2+ disperse 4 fois plus de graines que S5+, qu'ils ont une germination identique, une survie 2 fois plus élevée sur le S5+ que le S2+, et que la coupe et le semis ont un effet plus fort sur le S2+ que le S5+.

Les différents effets observés, sur la germination notamment, restent cependant difficiles à expliquer car cette étude est basée sur des observations, et de nombreux facteurs peuvent entrer en jeu (microtopographie, texture du sol, matière organique) et varier considérablement à de très faibles échelles (Cornett et al., 1998; Gray and Spies, 1997).

L'installation du pin maritime, bien qu'étant une espèce héliophile, semble être favorisée par la présence d'une canopée arborée, avec un fort effet du degré d'ouverture de la canopée lors de la coupe (González-Alday et al., 2009; Rodríguez-García et al., 2011a; Ruano et al., 2009). Ces études montrent une germination et une survie optimale lors de coupe d'uniquement 25% de la surface terrière initiale, et déconseillent d'en prélever plus de 50%. Dans notre cas des forêts dunaires girondines et landaises, nous sommes sur des prélèvements de 60 à 70% de la surface terrière initiale. Il serait donc intéressant de tester ce type de coupe en laissant plus de semenciers et un couvert global plus dense. Cela est d'autant plus important lorsque nous voulons agir principalement sur la réduction de la première cause de mortalité des plantules – les sécheresses estivales – plutôt que sur l'apport de graines.

III. B. Caractérisation des sites favorables pour la germination des graines de pin maritime

1. Introduction

L'étape de recrutement d'une nouvelle plantule, dont la germination fait partie, est l'une des étapes importantes dans le processus de régénération naturelle, déterminant le succès ou l'échec d'une espèce pour s'installer (Grubb, 1977). En effet, parmi le grand nombre de graines atteignant le sol, seulement une infime proportion va germer (Harper, 1977). Le passage de la graine à la plantule, indépendamment de la mortalité des graines liée aux prédateurs ou aux pathogènes, est piloté par des facteurs abiotiques directs (humidité et température du sol, lumière) et des facteurs complexes du site (litière, type de sol, végétation, microtopographie) qui impactent le niveaux des facteurs directs (Cornett et al., 1998; Delerue et al., 2015; Facelli and Pickett, 1991; Gray and Spies, 1997; Liu et al., 2018). Ces facteurs étant spatialement très hétérogènes au sein d'un site, la présence ou l'absence d'une plantule ne dépend pas seulement de la disponibilité en graines mais aussi de la fréquence de « *safe sites* » : des localisations fournissant les conditions requises par une graine précise pour germer et survivre (Harper, 1977).

Le but de cette étude est de caractériser le site optimal de germination (i.e. le « *safe site* ») des graines de pin maritime, dans le contexte d'échecs récurrents de régénération. La forêt dunaire est caractérisée par des sols ayant une très faible capacité de rétention d'eau et particulièrement pauvres en éléments nutritifs (Augusto et al., 2010). Elle est soumise à des périodes de stress hydrique estival marqué. Nous supposons donc que l'humidité du sol, facteur primordial pour la germination (Cornett et al., 2000; Oleskog and Sahlén, 2000b) et particulièrement en milieu xérique (Bochet et al., 2007; Flores and Briones, 2001; Potter et al., 1986), devrait avoir une forte influence dans notre système d'étude. Ainsi, notre hypothèse principale est que l'humidité du sol est le principal facteur contrôlant la germination.

En plus de l'impact des précipitations, plusieurs autres facteurs peuvent indirectement modifier les conditions d'humidité du sol et ainsi influencer la future germination des graines. La microtopographie, en régulant les zones d'accumulation, d'infiltration et d'évaporation de l'eau, peut induire une diminution du stress hydrique du sol dans les zones de creux et favoriser la régénération des espèces ligneuses (Delerue et al., 2015; Gray and Spies, 1997; Valtera and Schaetzl, 2017). Le relief et la pente, caractérisée dans notre site d'étude par la

topographie dunaire ayant des écarts jusqu'à plusieurs dizaines de mètres entre le bas et le haut de pente, influencent également la disponibilité en eau à travers la distance à la nappe phréatique (Pitaud, 1967).

La présence de litière et/ou d'une couverture végétale sont deux autres facteurs importants qui peuvent modifier les conditions d'humidité du sol. Malgré un impact globalement négatif de la litière sur la germination chez les espèces ligneuses, sa présence peut avoir des effets contrastés selon le type et l'épaisseur de la couche de litière (Xiong and Nilsson, 1999; Zhang et al., 2017). Celle-ci peut atténuer les potentiels stress abiotiques en réduisant l'impact du rayonnement solaire et en conservant une humidité du sol plus élevée (Facelli and Pickett, 1991; Liu et al., 2018), notamment dans les écosystèmes stressés et très peu productifs (Carson and Peterson, 1990; Suding and Goldberg, 1999). Une couche trop dense peut par contre avoir un effet négatif sur l'humidité en interceptant l'eau de pluie, mais aussi inhiber la germination via des composés allélopathiques qu'elle peut contenir ou encore constituer une barrière physique empêchant la graine d'atteindre le sol (Mallik, 2003; Xiong and Nilsson, 1999). L'interaction avec la végétation concurrente peut également impacter fortement l'installation de nouvelles plantules (George and Bazzaz, 1999). Les espèces pionnières se développant rapidement suite à une coupe rase sont généralement très compétitrices pour les ressources et notamment pour l'eau (Balandier et al., 2006), pouvant ainsi impacter la disponibilité en eau pour la graine. En revanche, la germination peut être favorisée grâce à un microenvironnement plus humide pour la graine, autant au sein d'un patch d'herbacées (Donath and Eckstein, 2010) que sous la canopée d'arbustes (Tielborger and Kadmon, 1995) ou d'arbres matures (Ruano et al., 2009).

Ainsi, afin de caractériser le microsite de germination du pin maritime, nous avons semé des graines de manière localisée et contrôlée sur un site au sein d'une zone à forts échecs de régénération. Nous avons mesuré l'humidité du sol en tant que facteur direct et caractérisé plusieurs facteurs indirects : la topographie, la végétation et la litière. Ce travail a été réalisé à trois échelles : 0.01m², 1m² et 4m². En effet, l'hétérogénéité fine à l'échelle des plantules (<10 cm) est souvent plus déterminante par rapport aux gradients environnementaux à plus large échelle (> 2 m) (Gray and Spies, 1997) pour les processus liés à la germination et à la survie précoce. Cette approche multi-échelle a pour but à la fois : i) d'observer les mécanismes contrôlant la germination, plus facilement détectables à une échelle fine (0.01m²) ; ii) mais aussi de pouvoir en observer les conséquences potentielles à des échelles supérieures pour essayer de les retranscrire dans un contexte de gestion sylvicole (e.g. gestion des rémanents, de la végétation, date de semis).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Dispositif

L'étude a été effectuée en 2017 sur un site exploité par coupe rase un an auparavant, et se situant au sein de la zone principale d'échecs de régénération. Le dispositif mis en place et les mesures effectuées sont expliqués en détail dans le paragraphe 2.2. du chapitre II.

Le site est scindé en quatre blocs, divisés eux-mêmes en trois zones de suivis (une à chacun des trois niveaux topographiques de la dune : bas, milieu et haut de pente), pour un total de douze zones de suivis. Chaque zone a une surface de 36 m² (cf. Figure 11, Chapitre II). Au sein de chaque zone, quatre quadrats de 1m² sont suivis (n=48 quadrats), dans lesquels sept graines ont été semées manuellement (n=336 graines) en contrôlant leur localisation précise. Les graines utilisées, issues de peuplement de pin maritime dunaire, ont au préalable été humidifiées 24h puis passées au froid pendant un mois pour lever leur dormance. La caractérisation du site de germination (humidité du sol, topographie, présence de végétation et litière) a donc été effectuée à l'échelle de la graine (0.01m²), ainsi qu'à l'échelle du quadrat (1m²) et de la zone de suivi (4m²) (cf. Figure 12, Chapitre II).

Les graines ont été semées le 20 mars 2017, et le suivi des émergences réalisé toutes les quatre semaines environ jusqu'à début juillet de la même année.

2.2. Variables mesurées

L'humidité du sol, facteur direct principal selon nos hypothèses, a été mesurée lors de chaque relevé à l'aide d'une sonde TDR (ML2, Delta-T Devices) au niveau des sites où ont été semées les graines (0.01m²). Elle a aussi été mesurée à la fin de l'étude à partir des poids frais et poids sec d'un échantillon de sol prélevé au niveau de chaque graine (sur 5cm de profondeur, volume de 15cm³ ; Niollet et al., 2014). Aux échelles supérieures (1m², 4m²), l'humidité a été obtenue en moyennant les valeurs mesurées à 0.01m².

Cette humidité peut être modulée indirectement par plusieurs facteurs que l'on a donc mesurés, et dont la méthode est détaillée dans la partie 2.2. du chapitre méthodologie :

- **Le relief**, en comparant la zone suivie aux huit zones adjacentes de même surface. Cinq classes de relief ont été créées pour caractériser la position de la zone centrale suivie, comparant l'altitude relative de cette zone par rapport aux huit zones voisines : i) creux (i.e. position la plus basse : rang 8, 8.5 (deux ex-aequo en dernière position) ou 9) ; ii) bas (rang 6, 6.5, 7 ou 7.5) ; iii) plat (rang 4, 4.5, 5 ou 5.5) ; iv) haut (rang 2.5, 3 ou 3.5) ; et v) sommet (rang 1, 1.5 ou 2).

- **Le recouvrement par la végétation**, attribuant un score selon le recouvrement (0: 0-25%; 1: 26-75%; 2: 76-100%) au niveau du site de semis de la graine (0.01m²), et en effectuant un pourcentage de recouvrement aux échelles supérieures.

- **Le recouvrement de litière**, sur le même principe que la végétation.

- **La masse de litière**, en récoltant l'ensemble de la litière en fin d'expérience sur chaque carré de 0.01m² où avaient été semées les graines, et en moyennant les valeurs pour les échelles supérieures.

2.3. Analyses statistiques

L'effet des différentes variables mesurées (humidité, relief, végétation, litière) sur l'émergence des semis a été testé à l'aide du modèle linéaire mixte généralisé. La fonction binomiale a été utilisée pour le microsite de 0.01 m² (1 ou 0 selon si la graine a germé ou non), et la fonction de Poisson pour les échelles supérieures car les données d'émergence sont des données entières (comptage du nombre d'émergence). La zone de suivi (i.e. bloc/topo) a été déclarée comme facteur aléatoire pour les analyses aux échelles de 0.01m² et 1m², et uniquement le bloc à l'échelle de 4m².

L'influence des facteurs indirects sur l'humidité elle-même a également été testée selon le même principe, à l'aide du modèle linéaire mixte, car les données d'humidité sont quantitatives et continues. Les données d'humidité ont été log-transformées pour répondre aux conditions d'application de l'analyse.

Des comparaisons multiples par paires de Tukey ont été effectuées lorsqu'un facteur à plusieurs modalités était significatif.

3. Résultats

Le nombre de graines ayant germé est de 110 sur 336 (32.7%), réparties en 77 émergences lors du premier suivi (avril ; 70% des germinations), 30 lors du deuxième (mai ; 27.3%) et 3 lors du troisième (juin ; 2.7%). Aucune nouvelle émergence n'a été observée entre mi-juin et début juillet, date du prélèvement du sol et de la litière (Figure 24). Concernant la pluviométrie, nous pouvons observer que la date du positionnement des graines dans le sol se trouve au moment d'un épisode pluvieux (Figure 24). Les précipitations cumulées entre chaque relevé sont de 42mm entre le semis et le suivi d'avril, 93mm entre le suivi d'avril et celui de mai, 58mm entre mai et juin, et enfin 84mm entre juin et début juillet.

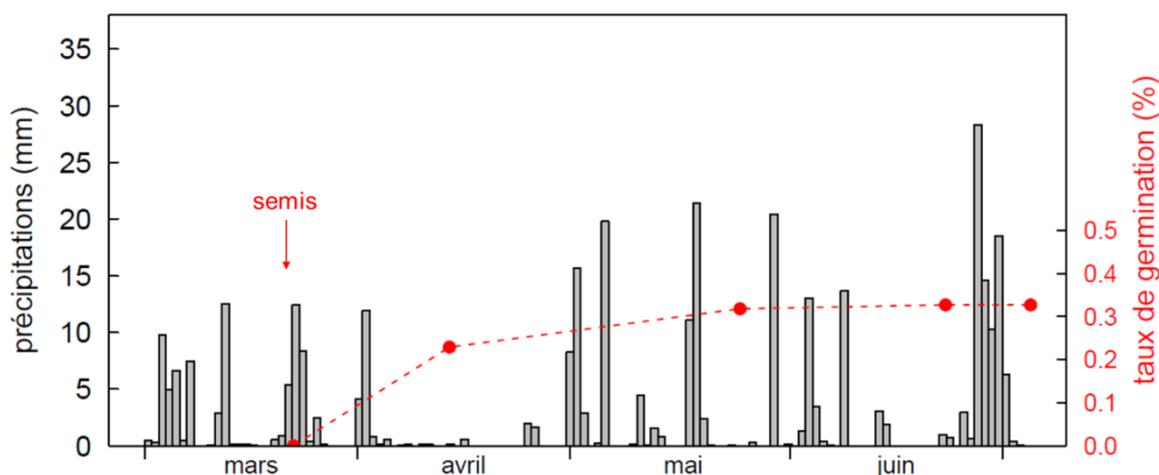


Figure 24 : Précipitations journalières durant la durée de l'étude (histogramme), et pourcentage de graines ayant germé lors de chaque suivi (en cumulé, courbe rouge). Les données pluviométriques ont été calculées par interpolation linéaire à partir des trois stations Météo-France les plus proches.

Nos résultats montrent un effet significatif de l'humidité à toutes les échelles étudiées (Tableau 6). Cette relation est significative que l'on prenne en compte la teneur en eau du sol en fin d'expérience ou l'humidité mesurée à l'aide de la sonde pour les échelles de la graine (0.01m²) et de 4m² (Tableau 6). Pour l'échelle intermédiaire (1m²), seule la relation avec l'humidité mesurée avec la sonde TDR est significative (p = 0.088 pour la teneur en eau du sol).

Tableau 6 : Résultats concernant l'émergence des plantules, selon les 3 échelles étudiées. Les valeurs correspondent à la significativité de la relation, avec uniquement les effets significatifs représentés.

Variables explicatives / Echelles	0.01m ²	1m ²	4m ²
Humidité (teneur en eau du sol)	< 0.001	-	0.030
Humidité (sonde TDR)	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Relief [△]	0.041	-	-
Topographie	-	-	-
Végétation (recouvrement)	-	-	-
Litière (recouvrement)	-	-	-
Litière (masse)	-	-	-

[△] Le relief correspond à la comparaison de la zone étudiée (cellule de 0.01m², quadrats de 1m² ou 4m²) avec les 8 zones qui l'entoure

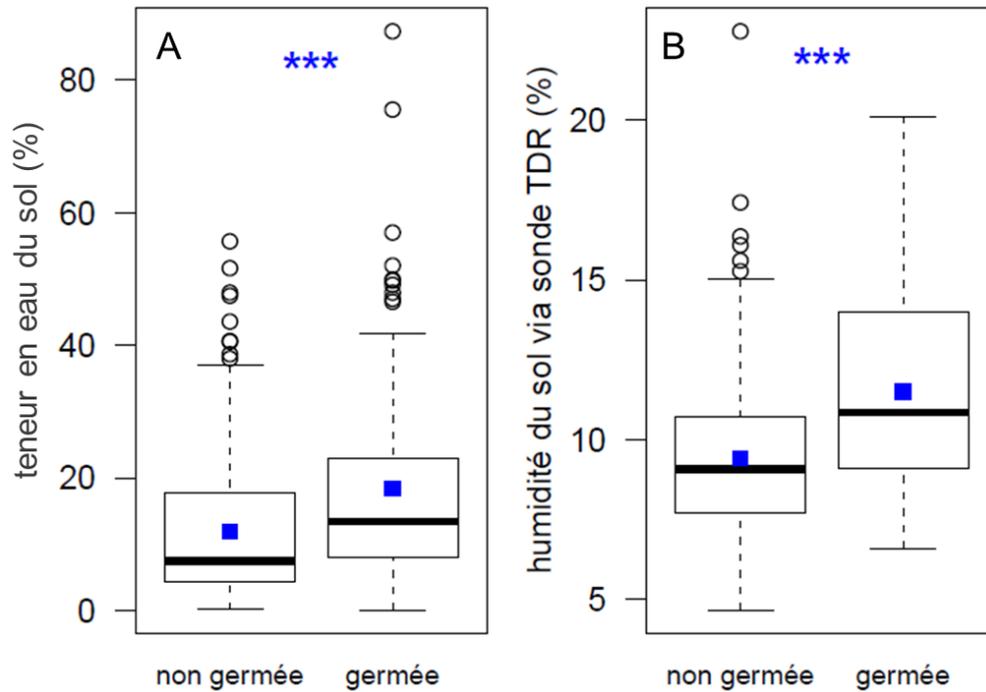


Figure 25: Humidité du sol selon l'émergence ou non du semis. Le graphique A présente les valeurs de teneur en eau du sol (obtenues en fin d'expérience par pesage du sol frais puis sec), et le graphique B présente les données d'humidité obtenues à l'aide de la sonde TDR (moyennes des 3 relevés). Les carrés bleus indiquent la moyenne. Les étoiles indiquent une différence significative entre les cellules ayant germées de celle n'ayant pas germées (***: $p < 0.001$).

L'ensemble de ces relations est positif pour la germination. Les microsites contenant des graines ayant germé sont significativement plus humides que ceux où les graines n'ont pas germé (Figure 25). Cette relation positive est conservée aux échelles supérieures, où l'augmentation du nombre de germinations au sein d'un quadrat de 1m^2 (Figure 26 A-B) ou d'une zone de suivi de 4m^2 (Figure 26 C-D) est associée à une augmentation de l'humidité du sol.

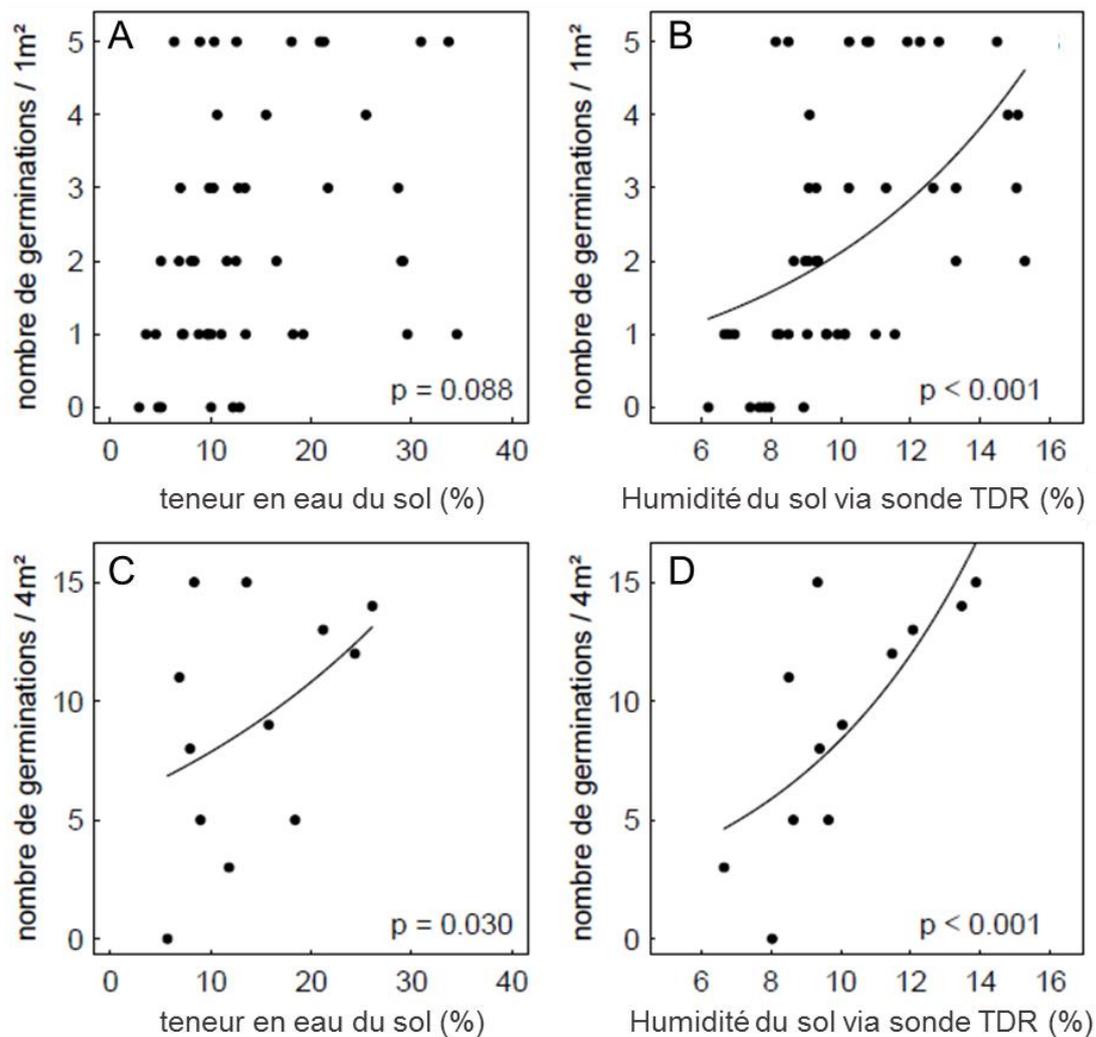


Figure 26: Relations entre la teneur en eau du sol (A-C) ou l'humidité obtenue à l'aide de la sonde TDR (B-D), avec le nombre de germinations sur les zones de 1m² (A-B) et 4m² (C-D). La significativité de la relation est donnée en bas à droite de chaque panel.

Au contraire de l'effet direct très marqué de l'humidité, nous n'observons quasiment aucun effet indirect des autres variables mesurées (Tableau 6). Seule l'influence du relief à l'échelle de la graine (microtopographie) est significative (Tableau 6).

Cela se traduit par un taux de germination plus élevée dans les « creux » (i.e. position la plus basse) qu'au niveau des « sommets » (i.e. position la plus haute), avec des taux de germinations intermédiaires pour les trois autres positions (Figure 27 A). Les différentes classes de microrelief se différencient également par leur teneur en eau du sol, avec une teneur plus élevée dans les creux et une teneur plus faible sur les sommets (Figure 27 B ; Tableau 7). Cette relation ne s'observe cependant pas avec les valeurs obtenues avec la sonde. La topographie n'a également aucun effet sur le taux de germination ($p=0.470$), mais

se différencie par une humidité plus élevée en bas de pente et plus faible en milieu de pente (Tableau 7)

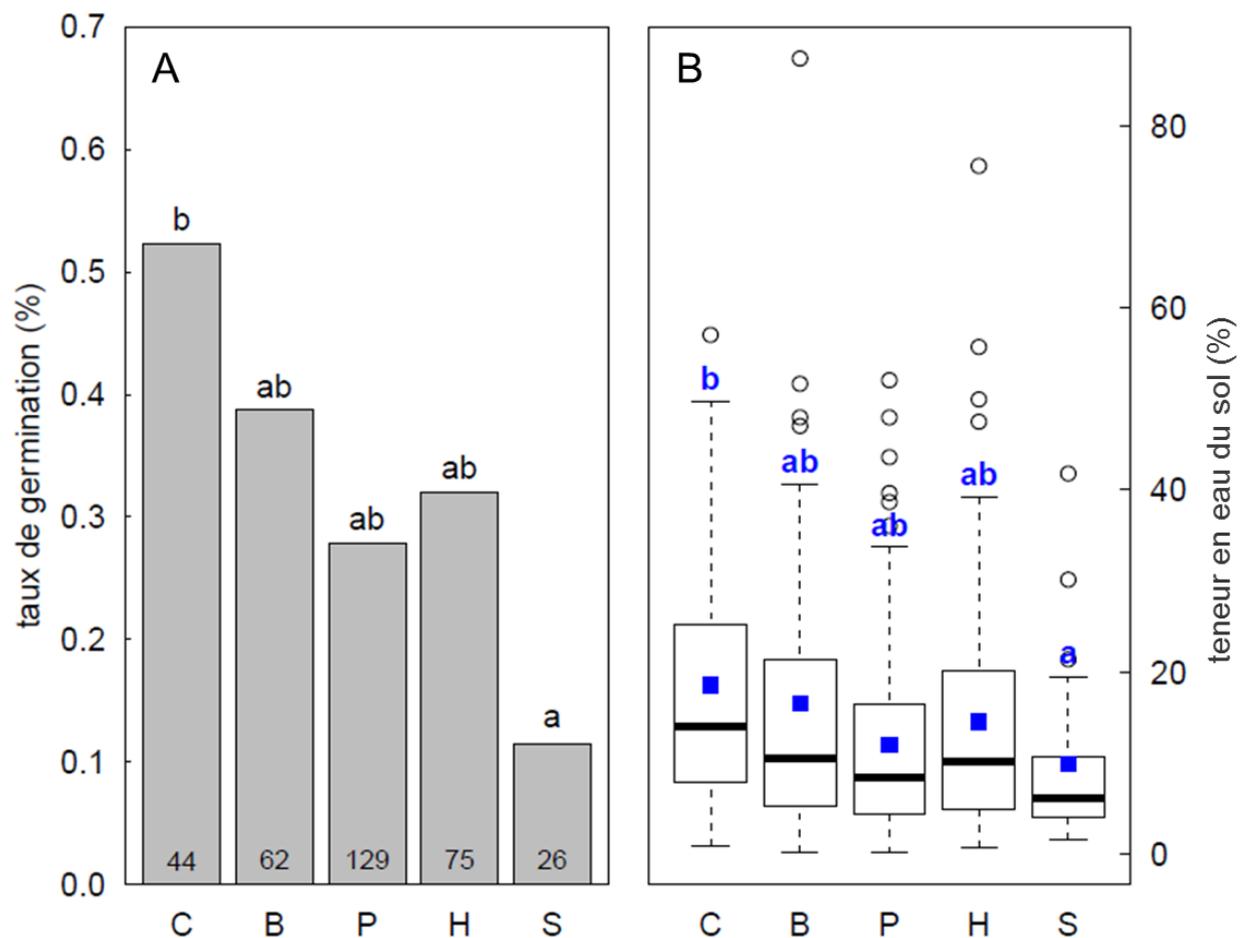


Figure 27: Relations entre microtopographie et taux de germination des graines (A), et microtopographie et teneur en eau du sol (B). Les lettres en abscisse correspondent aux 5 classes de microtopographie : C = creux, B = bas, P = plat, H = haut et S = sommet. Les nombres à la base de chaque barre correspondent aux effectifs pour chaque classe de microtopographie. Les carrés bleus indiquent la moyenne. Les lettres minuscules indiquent des différences significatives entre sites ($p < 0.05$, test de Tukey).

La litière (masse et recouvrement) ainsi que la végétation n'ont pas d'effet sur la germination (Tableau 6). Concernant l'influence de ces deux facteurs sur l'humidité, seul le recouvrement de la litière à l'échelle la plus fine modifie l'humidité du sol (Tableau 2), avec une humidité supérieure lorsque le recouvrement est supérieur à 75% (comparé aux classes de recouvrement 0-25% et 26-75%).

Tableau 7 : Résultats concernant l'influence des facteurs indirects sur l'humidité du sol, selon les 3 échelles étudiées. HP concerne les mesures d'humidité pondérale effectuées en fin d'expérience, et TDR les mesures réalisées avec la sonde ponctuelle lors de chaque relevé. Les valeurs correspondent à la significativité de la relation, avec uniquement les effets significatifs représentés

Variables explicatives	0.01m ²		1m ²		4m ²	
	HP	TDR	HP	TDR	HP	TDR
Relief [△]	0.039	-	-	-	-	-
Topographie	0.005	0.023	<0.001	0.028	<0.001	<0.001
Végétation (recouvrement)	-	-	-	-	-	-
Litière (recouvrement)	0.021	<0.001	-	-	-	-
Litière (masse)	-	-	-	-	-	-

[△] Le relief correspond à la comparaison de la zone étudiée (cellule de 0.01m², quadrats de 1m² ou 4m²) avec les 8 zones qui l'entoure.

4. Discussion

Nos résultats montrent que l'humidité du sol est un facteur essentiel impliqué dans l'émergence des plantules de pin maritime, confirmant ainsi notre hypothèse. Une augmentation de l'humidité du sol induit une chance de germer plus élevée pour la graine. Cette relation, très significative à l'échelle du microsite, est également observée aux deux échelles supérieures où le nombre de germinations est également corrélé à l'humidité du sol. La relation aux échelles supérieures est cependant à considérer avec prudence car l'humidité n'y a pas été caractérisée directement mais correspond aux moyennes des mesures à l'échelle du microsite.

L'humidité du sol est directement liée aux quantités de précipitations atteignant le site, et leur impact durant la période de germination joue un rôle majeur dans l'émergence des plantules (Bochet et al., 2007). Dans notre cas, la période de l'étude a été plus humide que la moyenne décennale. En regardant les quantités de précipitations entre chaque relevé, nous pouvons voir que la période qui a reçu la plus faible quantité de pluie concerne celle entre le semis et le 1^{er} suivi. En parallèle, 70% des germinations de l'expérience ont lieu au cours de cette période. Cela suggère que le premier épisode de pluie est très important pour déclencher la germination, et que les graines dans un microsite favorable germent rapidement dès qu'une quantité de précipitations suffisante arrive. Cependant, malgré des précipitations conséquentes durant le reste de l'expérience, peu de germinations sont

apparues ensuite. Ce pattern de germinations au printemps est également observé sur le réseau de sites d'observations (chapitre III.A.), où l'on a observé entre 75.4 et 85% de germinations avant mi-mai selon les années, et entre 91.6 et 97.2% avant mi-juin. Cela montre que même avec une humidité directe suffisante, les graines dans les microsites non favorables ne germent pas et que d'autres facteurs semblent donc impliqués dans ce processus, avec un probable contrôle saisonnier lié à d'autres facteurs impliqués dans la germination, dont les principaux sont la lumière et la température (Harper, 1977; Pons, 2000).

Il faut également noter que les graines ont été au préalable triées selon leur densité (test de flottaison, les graines viables coulent) puis passées au froid pour lever la dormance, les rendant ainsi quasi-optimales pour germer (86% de germination en serre avec la même procédure, cf. Figure 18, §3.2.1. Chapitre III.A). Malgré cela et des précipitations non limitantes durant l'étude, légèrement moins d'un tiers (32.7%) des graines ont germé, suggérant bien la limitation in situ des capacités de germination des graines et de l'installation de l'espèce dans des sites non favorables (Harper, 1977).

Nous n'observons néanmoins que très peu d'effets des facteurs indirects sur la germination. Nos résultats montrent que les différences de probabilités de germination entre les classes de microtopographies sont directement liées à la teneur en eau du sol, confirmant le rôle de l'humidité à l'échelle du microsite. On observe ainsi une probabilité de germer plus de quatre fois supérieure dans les « creux » que sur les « sommets ». Cette différence s'explique par la différence de teneur en eau dans le sol, supérieure dans les creux par rapport aux sommets. En effet, les creux sont des zones plus propices que les sommets pour retenir l'eau, de par les plus faibles ruissellements et une évaporation moins intense (Valtera and Schaetzel, 2017). Ce résultat est similaire à une étude sur la régénération de l'ajonc d'Europe dans la forêt voisine du plateau landais (cf. carte chapitre biblio), où l'émergence de l'espèce est supérieure dans les creux mais uniquement en cas de stress hydrique modéré (Delerue et al., 2015). Cela est en accord avec les conditions météorologique de l'année de notre étude, d'une pluviométrie plus importante que la moyenne décennale. Aucun effet du relief n'est observé ni aux échelles de suivis supérieures (1m² et 4m²) ni considérant la topographie. Pourtant l'humidité mesurée est bien supérieure en bas de pente. Cela suggère que les micro-variations jouent un rôle plus direct et plus important que les variations aux plus larges échelles (Gray and Spies, 1997).

En ce qui concerne la litière et la végétation, nous ne détectons pas d'influence de ces deux facteurs sur la germination autant à l'échelle du microsite qu'aux échelles plus larges. On observe cependant un effet de la quantité de recouvrement de litière (mais pas de la masse)

sur l'humidité du sol à l'échelle la plus fine, avec une humidité plus élevée lorsque le recouvrement du microsite est supérieur à 75%. L'augmentation d'humidité sous une couche de litière a déjà été observée dans de nombreuses études (Cornett et al., 2000; Liu et al., 2018; Zhang et al., 2017). Dans notre cas, on aurait pu s'attendre à un taux de germination plus élevé en cas de présence de litière en comparaison au sol nu, mais la quantité de précipitations survenues a sûrement été suffisante pour faire germer sans l'effet potentiellement facilitateur de la litière en cas de période sèche. De plus, une litière trop dense a un impact négatif sur l'émergence des plantules et pourrait contrebalancer un effet positif sur l'humidité du sol. Dans une méta-analyse étudiant l'effet de la litière sur la végétation, Xiong and Nilsson (1999) montrent que l'influence de la litière s'observe en évaluant son épaisseur plutôt que sa masse, avec une meilleure émergence lorsque la couche de litière est faible (1.5 cm environ) comparée à une litière absente ou très épaisse. Une étude sur le pin pignon suggère également qu'une litière inférieure à trois cm d'épaisseur est idéale pour la germination (Adili et al., 2013).

Concernant la végétation, l'absence d'effets observés autant en terme de germination que d'humidité peut s'expliquer par le faible développement de la végétation sur le site un an après la coupe rase. En effet, 295 graines sur 336 sont situées au sein d'une cellule dont le recouvrement de végétation est compris entre 0 et 25%, et seulement 9 graines entre 76 et 100%, rendant difficile l'observation d'un potentiel effet à l'échelle du microsite.

L'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude confirme que l'humidité est bien le principal facteur direct régissant la germination des graines de pin maritime. Cela se traduit *in situ* par la détection d'un « safe site » de germination : dans les creux formés par la microtopographie. Cependant, hormis la microtopographie, nous n'observons pas de lien entre les autres facteurs indirects et la germination. Nos résultats, montrant peu d'effets aux échelles de 1m² et 4m², sont donc difficiles à transposer dans le cadre d'une gestion sylvicole. Nous pouvons néanmoins suggérer de : i) favoriser l'hétérogénéité de la microtopographie durant la phase de travail du sol, notamment en réduisant le passage des machines lourdes contribuant directement à la réduction du micro-relief en aplanissant et compactant le sol (Valtera and Schaetzl, 2017) ; ii) Eviter d'effectuer un semis de sécurité en cas de période de stress hydrique printanier. L'influence de la litière semble positif à première vue concernant l'humidité mais son rôle sur la germination, qui pourrait être positif en cas de stress hydrique (Rotundo and Aguiar, 2005), reste à approfondir (e.g. épaisseur, trade-off entre conservation de l'humidité du sol et lumière disponible pour la graine).

III. C. Interactions plante-plante-herbivore

Cette section des résultats est divisée en deux parties. Chacune d'entre elles présentent des résultats relatifs à deux étapes du processus d'installation des plantules : la survie (Partie 1) et la croissance (Partie 2). La partie sur la survie est rédigée en anglais et fera prochainement l'objet d'une soumission. Etant donné la quantité de résultats importante concernant la survie, les résultats en lien avec la croissance n'ont pas été intégrés dans l'article. Cependant, il est également important de suivre ce paramètre, car les interactions plante-plante peuvent avoir des effets similaires ou inverses selon que la survie ou la croissance soit considérée (Gómez-Aparicio et al., 2004; Keyes and Maguire, 2005).

Partie 1: Shrub mediated complex biotic interactions and their consequences for tree seedling survival

1. Introduction

Early seedling survival has long been recognized as one of the major steps controlling plant population dynamics and community assemblage (Grubb, 1977; Harper, 1977). Indeed, because seed germination and seedling mortality are the steps the most prone to environmental stresses (Grime, 1979), they are crucial steps in the regeneration process of many trees. A large number of both biotic (competition, herbivory, pathogen) and abiotic (water or nutrient availability) factors can be responsible for high mortality rates in the first months of the seedlings (Clark et al., 1998; Kitajima and Fenner, 2000). Establishment success is not only the results of these many factors driving plant communities but also of their interactions. In particular, biotic interactions can modulate the importance of many other biotic and abiotic forces (Callaway and Walker, 1997; Torres and Renison, 2015). It makes seedlings survival an intensively studied subject in the ecology of regeneration, while delineating the respective roles of the different factors controlling it remains a complex task because of the subtle interplay between the different factors at stake (e.g. Delerue et al., 2015).

Neighbouring vegetation effect on seedling establishment is one of the main biotic interaction controlling tree seedling regeneration and has been extensively studied (Coll et al., 2003; Curt et al., 2005; Muhamed et al., 2013). More specifically, understory vegetation plays an important role in the characteristics of potential regeneration microsites, by modifying local environmental conditions (e.g. decreasing vapour deficit pressure (VPD), temperature or increasing soil moisture and fertility), and by influencing the balance between positive and negative biotic interactions for the establishment of new seedlings (Brooker et al., 2008; Callaway and Walker, 1997; Cavieres et al., 2018; Gómez-Aparicio et al., 2008; Michalet, 2006). According to the stress-gradient hypothesis (SGH), positive interactions will increase with increasing environmental stress or herbivory pressure (Bertness and Callaway, 1994; He et al., 2013). Although many studies confirmed the SGH theory, it is still often debated especially at the ends of the stress gradient. A revised version of the SGH suggests that positive interactions could be optimal at intermediate to high stress level, and then interactions of facilitation could collapse towards neutral interactions in the harshest

environments (Michalet, 2006; Zhang et al., 2018) or even switch back to competition (Michalet et al., 2014; O'Brien et al., 2017). This latter case is particularly relevant in the case of water-stressed ecosystems, where the competition for the limiting resources (e.g. through below-ground resources acquisition or rainfall interception) takes over the facilitating effect on microenvironment (Michalet, 2006; Verwijmeren et al., 2013).

Herbivory is also a major factor controlling seedling establishment (Canham et al., 1994; Castro et al., 2004; Gill, 1992; Tremblay et al., 2007). In addition to the direct impact of herbivores on seedlings, neighbouring plants can also influence seedling survival through herbivory-related indirect effects, which can be positive or negative: neighbouring understory vegetation can induce a decrease in seedling consumption, acting as a physical barrier (e.g. thorns), via chemical compounds or simply by concealment of tree seedlings (Charco et al., 2016; Jensen et al., 2012; Perea and Gil, 2014; Tálamo et al., 2015; Torres and Renison, 2015). This process is qualified as *associational resistance* (Barbosa et al., 2009). The inverse relationship, referred to as *associational susceptibility* (Barbosa et al., 2009), occurs when a seedling has a greater probability of being attacked by an herbivore species when associated with a neighbouring plant. This has been demonstrated mainly for insects or rodents, for whom neighbouring vegetation provides protection from predators, or patches of resources. (Caccia et al., 2009; Chaneton et al., 2010; Gill and Marks, 1991; Orrock et al., 2010). According to the SGH, associational resistance is mainly found in low-stress and high productivity environment, and where density of herbivores is high (Bertness and Callaway, 1994; Brooker et al., 2008). However, few studies have also shown that this indirect facilitation was a mechanism as important as the improvement of abiotic stress in dry environments (Boulant et al., 2008; Graff et al., 2007; Xie et al., 2017).

All these biotic interactions are highly species specific, and dependent on the environmental conditions, the heterogeneity of the site or the populations of herbivores, and can vary between seasons and from year to year (Cuesta et al., 2010; de la Cruz et al., 2008; Delerue et al., 2015; Gómez-Aparicio et al., 2004; Howison et al., 2015; Ibáñez and Schupp, 2001; Soliveres et al., 2011; Sthultz et al., 2007).

Our field experiment aimed to study the interactions among neighbouring vegetation, water stress, and herbivores on tree seedling survival and their potential variation according to the different seasons. We performed a transplantation experiment in an area dominated by a coastal sand dune forest system of South-West France. This ecosystem is characterised by severe summer water shortages, the presence of different types of herbivores, and by increasing concerns about regeneration failures in recent decades (GEREA, 1990; Ouallet, 2012; Sardin, 2009). In practice, we planted pine seedlings under the cover of shrubs –or

not– to observe the role of plant-plant interactions. This was done in fenced and unfenced areas, in order to investigate over time the role of large herbivores. We also recorded soil moisture and vapour pressure deficit in all conditions. This environmental monitoring was carried out during the whole course of the experiment because of the high temporal variations of water stress (de la Cruz et al., 2008), and in all topographical positions of our dune forest system, because soil water content is suspected to depend on local topography.

The aims of this study were i) to test the effect of shrubs on seedlings survival during water-stressed periods; ii) to investigate the role of the shrub as a mediator of seedling-herbivore relationships; and iii) to sum up the effects of all these biotic interactions over time to conclude about the general effect of the shrub presence on tree seedlings survival.

2. Materiel and Methods

2.1. Study site

Our study was carried out in the coastal dune forest of SW of France. Climate of this area is temperate oceanic, with an average annual precipitation of 936 mm and an average annual temperature of 14.1°C (average 2006-2016, MeteoFrance data). Soil was young sandy soil (WRB classification: arenosol; USDA classification: entisol), developed from Aeolian deposits that occurred during the Holocene period (Augusto et al., 2010). This soil is mainly composed of coarse sands (96-97%), is slightly acidic (topsoil values of pH = 4.85 ± 0.30 ; base saturation = 32-54%), nutrient-poor, and has an extremely low water holding capacity (Augusto et al., 2010). The topography induced by the dune ecosystem is a major feature of these coastal forest, and could be related to a gradient of water supply for mature trees, because it strongly determines the distance to the water table that varies from 1-3m at the bottom of dunes to 17m at the top of the dunes (Pitaud, 1967).

The experiment was set up in the Saint-Eulalie-en-Born forest (44°18'24.8" N – 1°15'17.4" W), on a west-facing slope at about 2.5 km from the ocean. The site is a former mature stand of *Pinus pinaster* (Ait in Soland), clear-cutted in late January 2015. The understory, largely dominated by the shrub *Arbutus unedo* L., was not disturbed in some pre-identified areas. Based on complementary analyses carried out on our site (48 samples of 0.125m² and 5cm deep, representing a mixture of forest floor and upper mineral horizon), the pH ranged from 4.21 to 5.60 (4.85 ± 0.3) and the soil content in organic matter from 0.05 to 0.52 mg/g (0.15 ± 0.1).

2.2. Experimental design

2.2.1. General description

To focus on plant-plant interactions, this study explicitly controlled the presence of the shrub *Arbutus unedo* and its impact on pine seedlings. We produced pine seedlings in controlled conditions (see paragraph 2.2.3. below) and then transplanted these seedlings under the canopy of shrubs or in places where shrubs were present but removed before seedlings transplantation (choosing a site without a shrub could have induced a site local difference in soil conditions). We always respected the same pattern for seedlings transplantation: close to the shrub trunk, northward to limit direct solar radiation; or in place where shrubs were removed. This baseline protocol was repeated in fenced and unfenced areas to study the associated effects of shrubs on large herbivores impacts. Note that fenced area provided protection against large mammals and hares (but not rodents). These treatments were placed at different topographical positions because we expected a water availability gradient in our dune system that could impact seedling survival during periods of low rainfall in summer. Finally, monitoring of soil water content and vapour pressure deficit were recorded close to pine seedlings and in all combinations of the treatments (see paragraphs 2.3.1 below).

2.2.2. Detailed design:

The experimental site was repeated in four blocks. In each block, we delineated 20x14m areas in 3 topographical positions (down-, mid- and up-slope positions). These areas were split in two subareas (10x14m): fenced and unfenced. In each subarea, we selected twelve shrubs. Six shrubs were kept for the “under shrub” treatment; six were removed for the “shrub removed” treatment. A total of 288 pine seedlings (4 blocks x 3 topographical position x 2 fenced-unfenced area x 2 shrub treatment x 6 replicates) were transplanted.

2.2.3. Seedling production and transplantation

We produced ~350 pine seedlings (288 seedlings plus a safety margin) in winter 2014-2015. Seeds used for seedling production came from cones collected on selected stands of maritime pine located in the same ecosystem, the sand dune forest (origin: PPA 303, “dunes littorales de Gascogne”). In late January, 24h of humidification and then 1 month of storage at 4 °C were applied to the seeds for breaking dormancy. Germination was performed at the end of February in small individual pots with soil collected from the upper soil horizon of our study site. Seedling growth took place in a greenhouse at ambient temperature, with a

watering every 2 days. Finally, after 6 weeks growth, we selected 288 seedlings that were homogeneous in size. We manually planted the selected seedlings in mid-April 2015 (hereafter reference to as “first cohort”) under shrubs or in shrub-removed places. Seedlings were watered with half a litre of water immediately after planting to improve plantation success. The plantation of the seedlings of the “shrub removed” treatment was done within a square with 40 cm side, where the shrub roots were cut on the square edges using a shovel. The whole identical procedure was repeated in 2016 (hereafter referenced to as “second cohort”), using shrubs and shrub-removed areas different from the first cohort plantation.

2.3. Monitoring

2.3.1. Meteorological data acquisition and water stress characterisation

One rain gauge was installed in our site. However, because of a technical problem with this device, rainfall was finally calculated by linear interpolation of the three closest Météo-France weather stations.

A data logger, soil and air probes were randomly installed at one of the four blocks at each topographic level, and within a fenced area to avoid any potential damage from large animals. Air temperature and relative humidity were measured with CS 215 probes (Campbell Scientific), with four probes for each topography × shrub treatment (24 probes in total). Soil temperature and humidity were measured with ML3X probes (Delta-T Devices), with two probes for each topography × shrub treatment (12 probes in total).

These measurements were recorded every minute and averaged every half-hour using data loggers (Campbell Scientific). Vapour pressure deficit (VPD) was then calculated as follows:

$$VPD = (100 - RH)/100 \times Vpsat$$

With $Vpsat = 610.7 \times 10^{7.5T/(237.3+T)}$

Vpsat, RH and T correspond respectively to saturated vapour pressure (Pa), relative humidity (%) and air temperature (°C). The mean of the maximum daily VDP was then calculated for each period between two surveys during the summer period, from June to September.

In addition, punctual measurements of soil humidity were realized with a ML2 probes (Delta-T Devices) for each alive seedling and for each census from June to September (see below).

2.3.2. Seedling census

The monitoring began in April 2015 and ended in April 2017. Seedling survival and cause of death were monitored every four weeks from April to September, and every 8 and 6 weeks for respectively the first and the second year from September to April. Censuses were more frequent in summer during period of high potential abiotic stress to identify the seedlings dead because of drought more safety. In that case, the dead seedlings were found without any damage, but seedling turned from green to red/brown (Photo 8 C). Regarding herbivory impacts leading to seedling death, two types of damages were observed (Photo 8): i) seedlings were found “decapitated”, with needles found nearby, phenomena observed in both fenced and not fenced areas (Photo 8 A-B); ii) seedlings were browsed with whole or part of the plant consumed (Photo 8 E). This latter case was only observed in not fenced areas. Because some lost seedlings followed the same pattern in space and time as deaths caused by herbivores, lost seedlings were analysed with those dead by herbivory.

Binocular observations of decapitated seedlings, as well as experts evaluations (see the Acknowledgements section) enabled us to attribute these two types of damage to i) rodents for decapitated seedlings, ii) large mammals for browsed seedlings (mainly cervid, but also boar). Six camera traps displayed over our experimental design confirmed that rodents and cervids were present in this site during the course of our study (Photo 8 D-F).

2.4. Data analysis

All statistical analyses were performed with R software (R Core Team, 2017).

2.4.1. Survival during the whole course of the experiment

The emerging pattern of the sum of the effects described at each season was analysed based on seedling survival curves during the whole course of the experiment. These curves were analysed separately for each seedling cohort (2015 and 2016), using Cox proportional hazard mixed models (package `coxme` in R). The effect of topography, fenced and shrub treatment and all interactions were tested. Random factors were used to take into consideration the block effects as well as our nested design (fenced/unfenced areas in each topographic position, shrub treatments in each fenced/unfenced area).

When a factor with more than two levels (i.e. topography), had an influence on seedling survival, pairwise multiple comparisons were carried out between groups of seedlings having the same treatments. When an interaction between 2 treatments was significant, pairwise multiple comparisons were carried for groups of seedlings having the same combination of treatments.

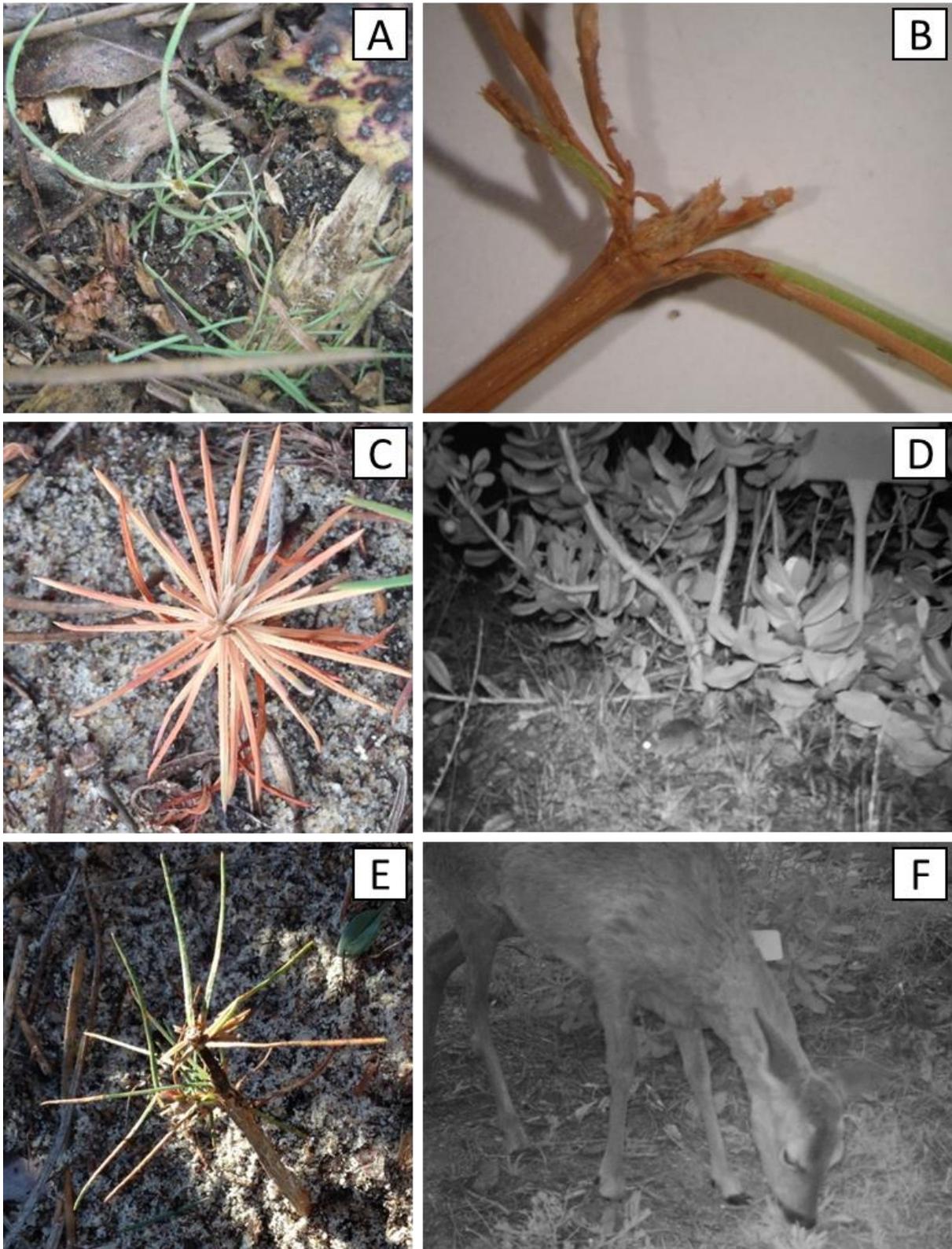


Photo 8 : A) Pine seedling cut down at the top with needles found nearby. Binocular observation of the cutting location is shown in panel B) ; C) Dry seedling. ; D) Photo of a rodent close to a pine planted under shrub. ; E) and F) show ungulate and the damages they caused on pine seedlings.

2.4.2. Causes of mortality according to the different years and season

To observe the influence of our treatments according to each kind of death, it is necessary to analyse them separately because the final result regarding seedlings fate is the combination of a set of events occurring during the 2 years of the study. Damages by both types of herbivores (i.e. rodents or large mammals, see above) were observed at totally distinct periods (see Results). These two kinds of herbivory were consequently analysed separately.

Drought mortality events were considered : i) over the whole summer period (from mid-May to mid-September); ii) splitting each summer in two periods, early summer (from mid-May to mid-July) and late summer (from mid-July to mid-September) because of the potential variable meteorological conditions during the summer time.

To detect the influence of the treatments on the different causes of mortality, we used a generalized linear mixed modelling (package lme4) with a binomial link function corresponding to the kind of response observed (died because of that cause or not). Random factors were taken into account as in survival curve analysis. Topography, fenced and shrubs treatments were tested as explanatory variables regarding herbivory damages, while only topography and shrub treatment were tested for drought killed seedlings.

2.4.3. Focus on plant-plant interactions

In addition, to quantify the effect of the shrubs on the seedlings, we calculated for each cause and period of death a neighbour-effect intensity index (Díaz-Sierra et al., 2017) as:

$$Nint_A = 2 \frac{\Delta P}{P_{-N} + |\Delta P|}$$

With $\Delta P = P_{+N} - P_{-N}$

and where P corresponds to the mean survival of seedlings with (P_{+N}) and without shrubs (P_{-N}). This index was calculated for each block x topography areas (n=12). It varies between -1 and 2, with negative and positive values corresponding to competition and facilitation respectively. A *t*-test was used to determine if the interaction index was significantly different from 0 (i.e. no effect of the interaction). A paired *t*-test was also performed between interaction indexes of early and late summer to determine if the direction of interaction changed.

Finally, influence of shrub treatments on VDP values and soil moisture were analysed with two-sample *t*-tests.

3. Results

3.1. Meteorological conditions

Annual climatic conditions varied over the two years of the experiment (Figure 28). With 718 mm of precipitation, 2015 was the driest year of the last decade, while 2016 precipitation (960 mm) was just above the decade average. The opposite pattern was observed for summer precipitations (145 mm in 2015, 85 mm in 2016) where summer 2016 was the driest summer of the past ten years. Annual average temperature was similar for both years with 14.4°C, and summer temperature was slightly higher in 2016 (20.9°C) than in 2015 (20.2°C). Regarding monthly variations, three important potential water deficit periods (i.e. low rainfall and high temperature) were observed: July 2015, July-August 2016, and October 2016 (Figure 28).

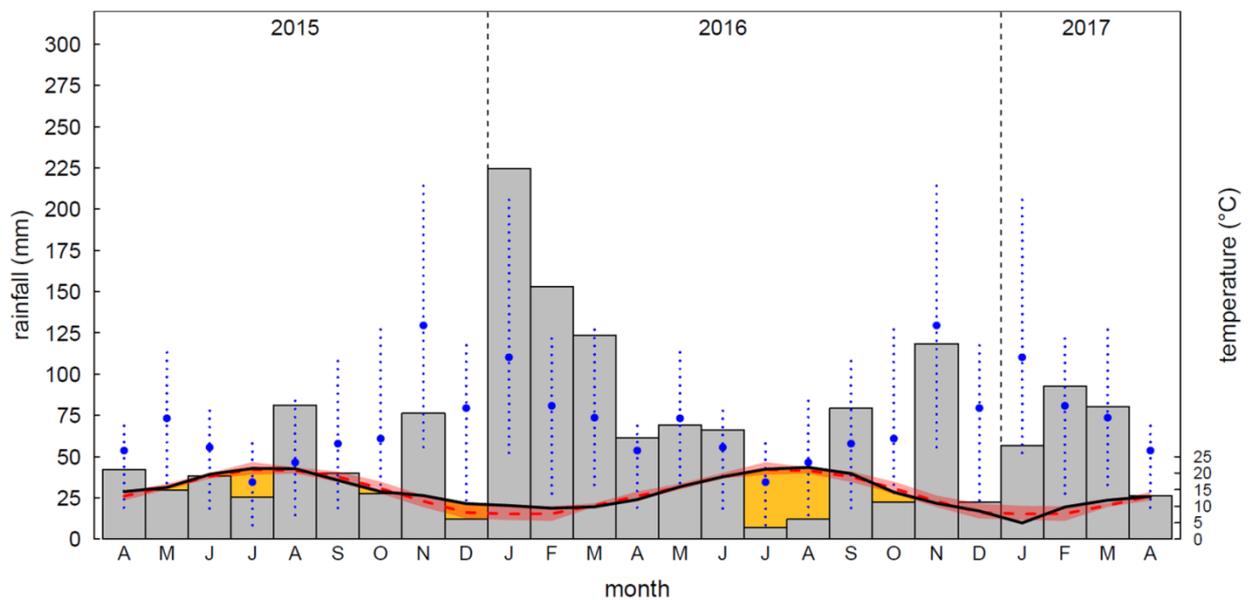


Figure 28 : Climatic variations during the experiment. Histograms represent monthly rainfall and black line represents mean monthly temperatures. Dashed red line indicates the mean temperature of the 2006-2016 period, with light red area showing values between first and ninth deciles. Blue points indicate the mean precipitations of the last decade, with the first and ninth deciles represented with the dashed blue lines. Yellow areas represent potentially drought periods (i.e. precipitations < 2*Temperature).

3.2. Survival curves: the role of shrubs over the whole course of the experiment and general pattern of death

Seedling survival at the end of the experiment was affected by shrub presence for both cohorts ($p=0.003$ and $p<0.001$ for respectively the first and the second cohort). Survival was higher in shrubs removed areas (42.9%) than under shrubs (29.8%) for the first cohort (Figure 29 A) whereas the opposite pattern was observed for the second cohort (8.3% and 11.8%, Figure 29 B). Thus on the whole no clear positive or negative effect due to the shrub presence can be detected.

For the first cohort, we found no effect of the fenced treatment ($P=0.40$). However, shrub x fenced interaction was significant for the first cohort ($P=0.017$), with greater survival for seedlings growing in fenced areas without shrubs (Figure 29 A).

No differences were found for topography ($p=0.95$ and $p=0.52$, for the two cohorts respectively).

Mortality was higher in the second cohort (256 deaths out of 288 seedlings; 88.8%) than in the first cohort (179 deaths including 143 the first year (49.7%) and 36 the second year (12.5%); Figure 29 C-F).

For the first cohort, the main period of mortality occurred the first spring and the first summer after planting in both fenced and not fenced areas (64% of the deaths, because of drought and rodents, Figure 29 C-E). Rodents' attacks on seedlings occurred only during the first spring-early summer of the study. Seedlings killed by large mammals were logically only observed in not fenced areas and during a clear distinct period (autumn until early spring, with a peak in autumn, Figure 29 E).

For the second cohort, almost all deaths occurred during summer (96% of the deaths, Figure 29 D-F), which coincided with two consecutive months of extremely low rainfall (7 mm in July and 12 mm in August; Figure 28). Seedlings killed by cervids were rare (only 2 observations, Figure 29 F) and occurred in autumn/winter as for the first cohort. No death caused by rodents was observed for this second cohort.

As a whole, the topographic positions had no, or minor only, effects on seedling survival. The only significant effect was for the first cohort during the second summer ($p=0.024$), with the lowest survival for down-slope position (59.6 %), the highest for mid-slope position (92.5 %), and an intermediate survival for up-slope position (77.3 %). Consequently, the topographic factor was ignored in subsequent data analysis.

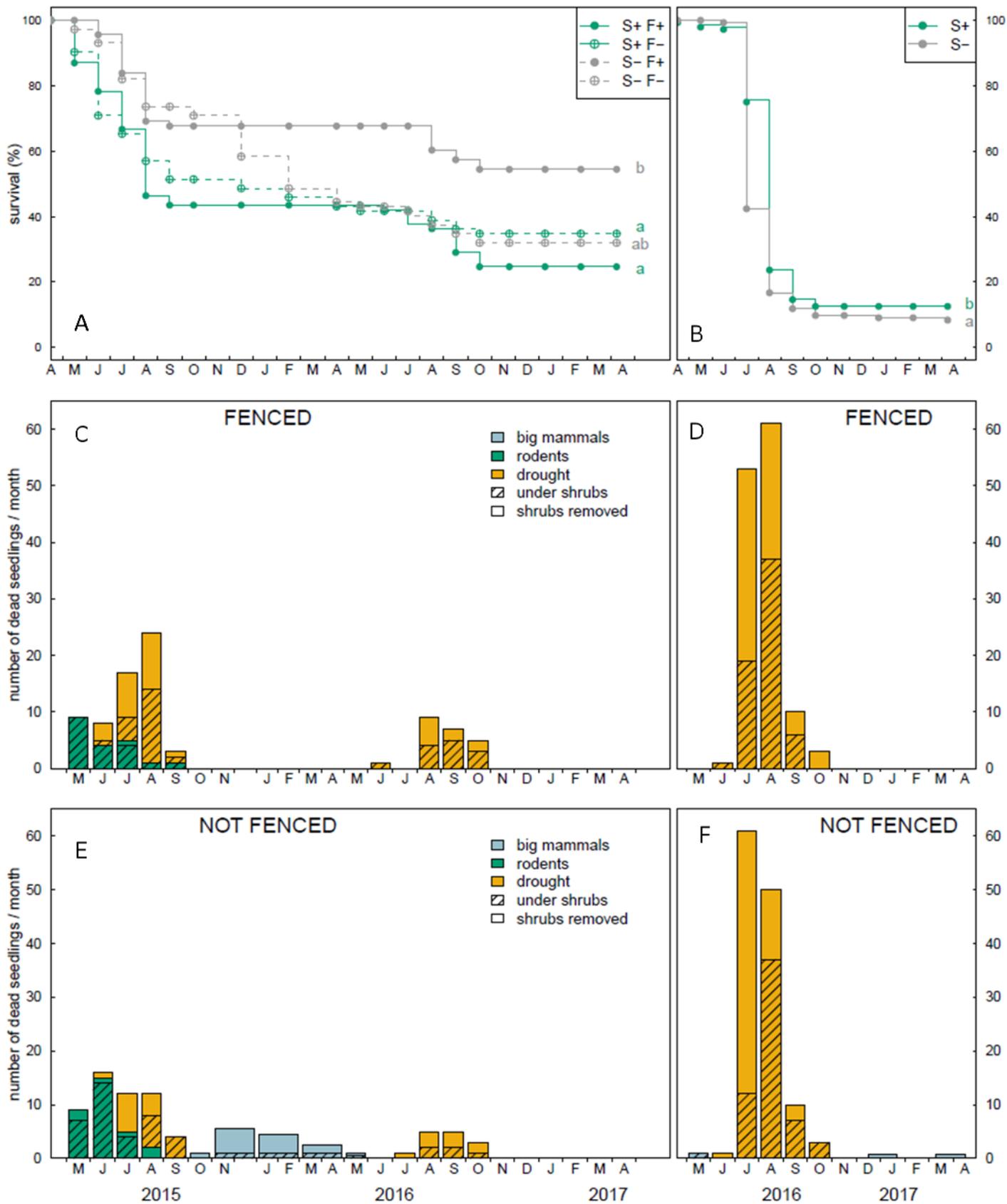


Figure 29 : Seedling survival over the whole experiment and number of dead seedling and the cause of death. *A & B*: Seedling survival using cox-model as function of *A*) shrub and herbivory treatments for the first cohort; *B*) shrub treatment for the second cohort (fenced treatment was not tested because we had only two death related to herbivores). Different lower case letters indicates significant differences ($P < 0.05$) between treatments. *C to F*: Number and identification of the dead seedlings, for the first (*C&E*) and the second (*D&F*) cohort, according to the fenced treatment.

3.3. Shrub effect and mortality due to drought

3.3.1. *Shrub effect on seedlings micro-environment during drought:*

VPD was affected by shrub cover (Figure 30 A). Values were slightly higher when shrubs were removed in summer 2015, but the difference was only significant between May and June surveys. In 2016, the shrubs strongly decreased VPD during the whole summer (Figure 30 A). Regarding soil moisture, shrubs had no effect during both years if we consider permanent probes (Figure 30 B). It seems to improve soil humidity punctually the first year in the less dry summer (Figure 30 C). In 2016, where summer was especially dry, soil moisture was similar in all conditions.

3.3.2. *Shrub effect on seedling survival*

Regarding the whole summer period, there was no effect of shrubs on seedling survival for any of the two cohorts (Figure 31). However, regarding the dynamics of the mortality rate, a significant effect of shrubs appeared during the early summer time. For both cohorts, shrubs had a positive effect by decreasing mortality in early summer by 9.9% in summer 2015 and 34.2% in summer 2016 (Figure 32 A -C). This resulted in a significant positive interaction index (Figure 32 B-D). Conversely to early summer, shrubs had a negative effect on seedlings survival in late summer for the first cohort by increasing mortality by 12.9% under their canopy (Figure 32 A), but the corresponding interaction index was not significantly different from 0. A similar but not significant trend was visible during the second year (Figure 32 C), with the corresponding interaction index marginally significantly different from 0 ($P=0.076$). In both cases, the mean comparison of interaction index from early and late summer suggest a shift in the direction of interaction from positive to neutral/negative when summer drought continues ($P=0.055$ for 2015, $P=0.027$ for 2016; Figure 32 B-D).

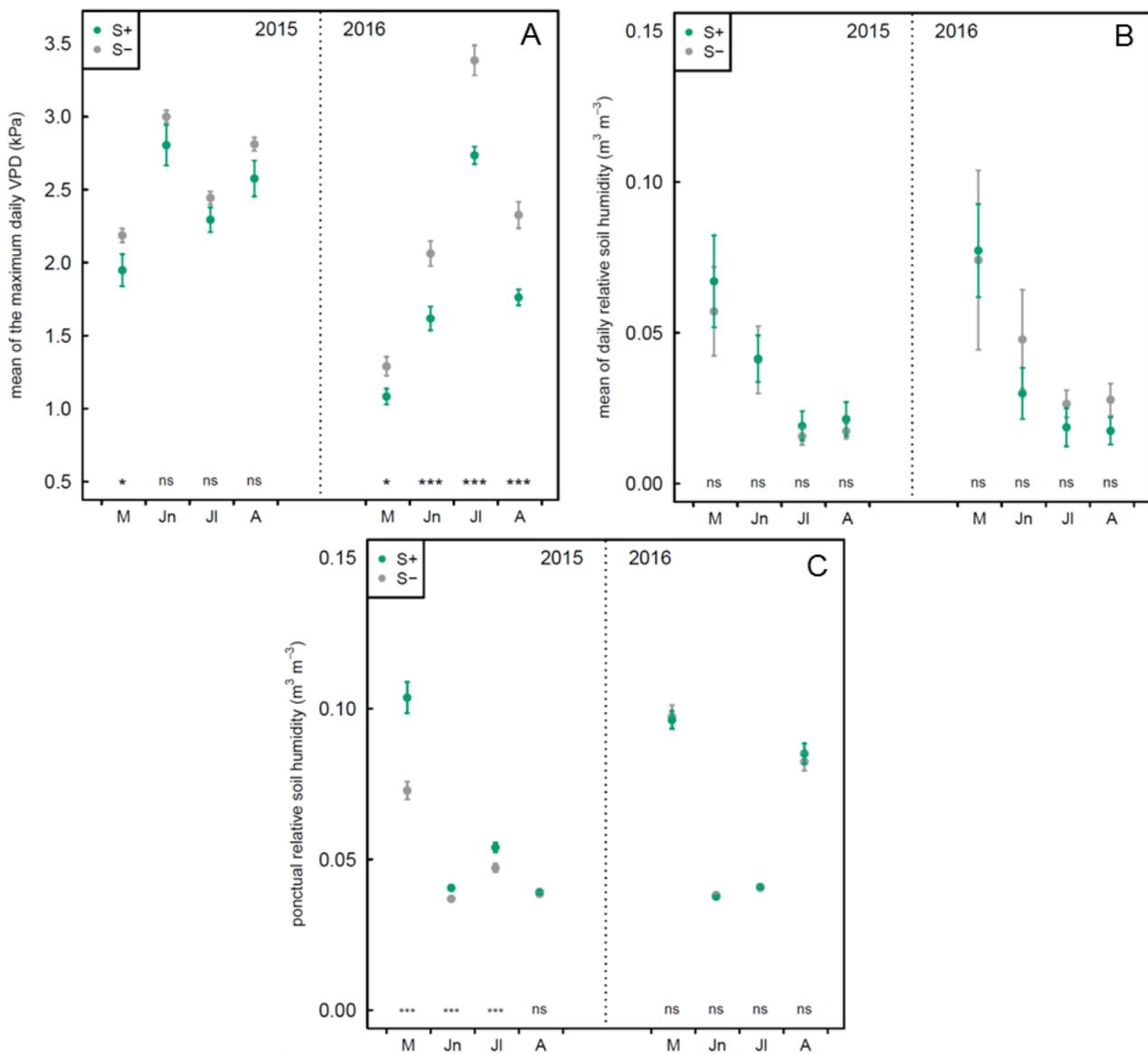


Figure 30 : Mean of the maximum daily vapour pressure deficit (A), mean of daily relative soil humidity from permanent weather stations (B, values from weather stations set up on the site) and mean soil humidity at each monitoring day using a TDR portable probe (C) from mid-May to mid-September for the two years of the study according to presence (S+) or absence (S-) of shrub. Each value are means (\pm SE) of 7 to 9 probes for VPD, 3 probes for soil humidity, and between 30 and 286 values for punctual measurement (only humidity around alive seedling was measured). Asterisks indicate significant differences between shrub treatment (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns = non-significant).

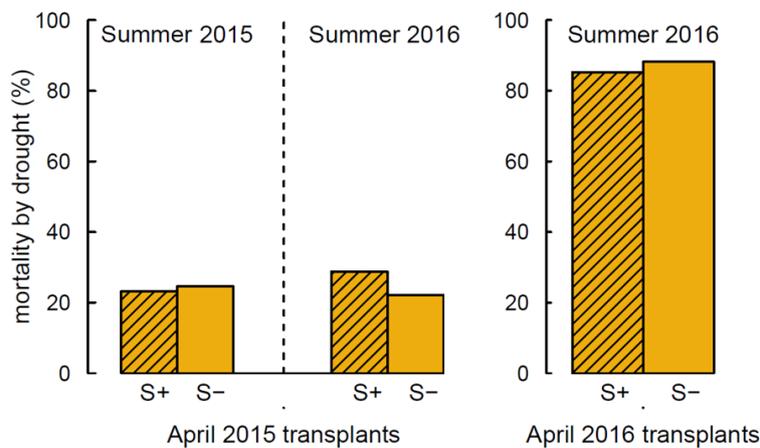


Figure 31 : Percentage of seedling mortality by desiccation in presence (S+) or absence (S-) of shrub for the two summer period of the study (from mid-May to mid-September).

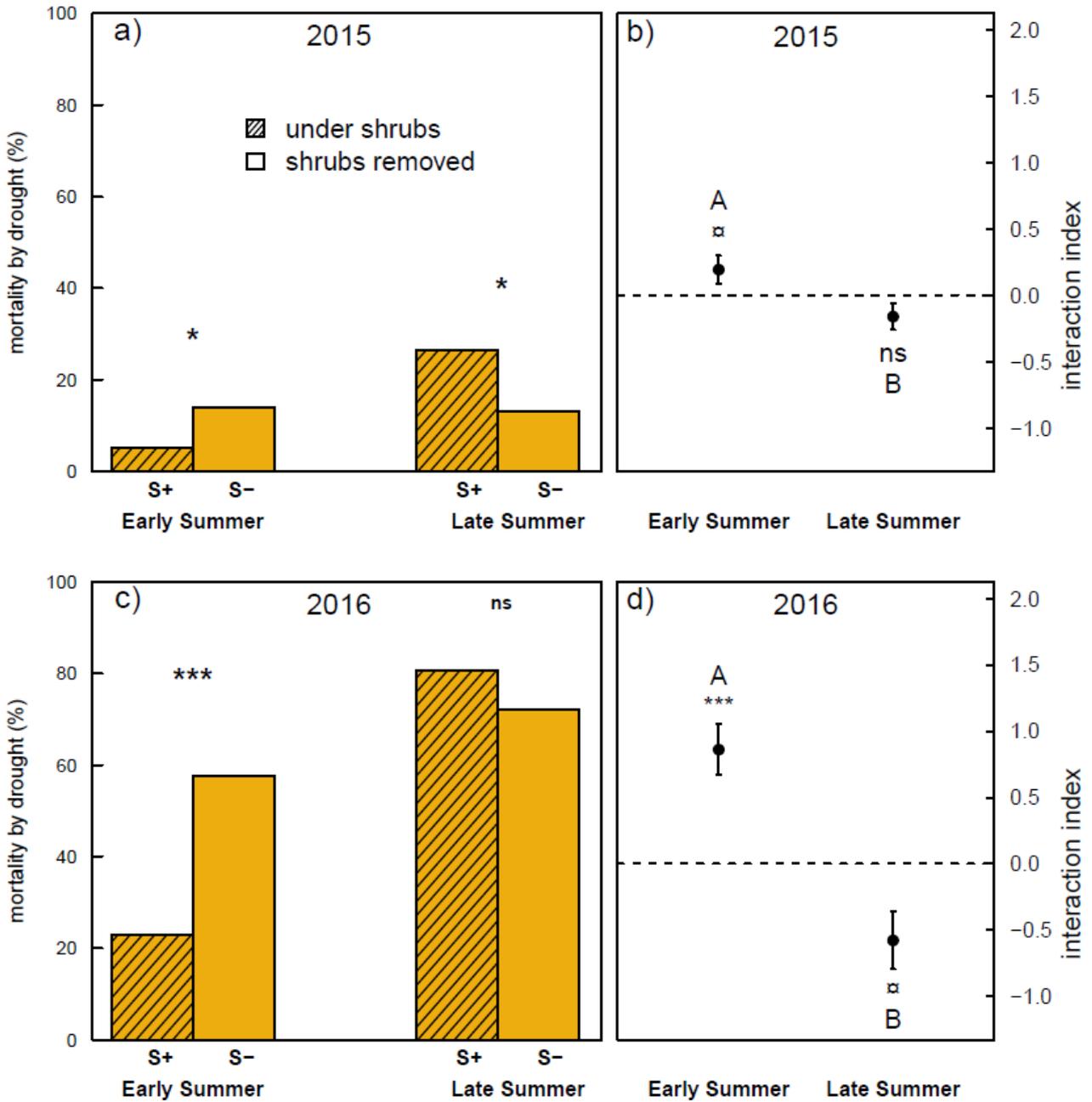


Figure 32 : A & C: Percentage of seedling mortality by desiccation in presence (S+) or absence (S-) of shrub, after splitting each summer in two, early summer (from mid-May to mid-July) and late summer (from mid-July to mid-September). Asterisks indicate significant differences between shrub treatment for the period (* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; ns=non-significant). B & D: interaction index. Each point represents an average of $12 \pm SE$ values. Asterisks indicate significant differences from 0 (α $P < 0.1$; *** $P < 0.001$). Positive values of the index indicate facilitation, and negative competition. Uppercase letters indicate significant differences between early and late summer ($P = 0.055$ for 2015; $P = 0.027$ for 2016)

3.4. Shrub associational effects on herbivory

Shrubs had a significant effect on both types of herbivory damages. Shrub cover leads to a large increase of rodent predation rates ($p < 0.001$, Figure 33 A), with 30.5% of mortality under shrubs and only 3.5% in shrubs removed areas. On the contrary, shrubs decreased mortality by large mammals in unfenced areas ($p = 0.012$, Figure 33 C), with 19% of mortality under shrubs and 41.5% without shrubs. In both kinds of herbivory, the interaction index was significantly different from 0 (Figure 33 B-D), meaning that shrubs had both a positive and a negative associational effect regarding herbivory pressure depending on the type of herbivore at stake.

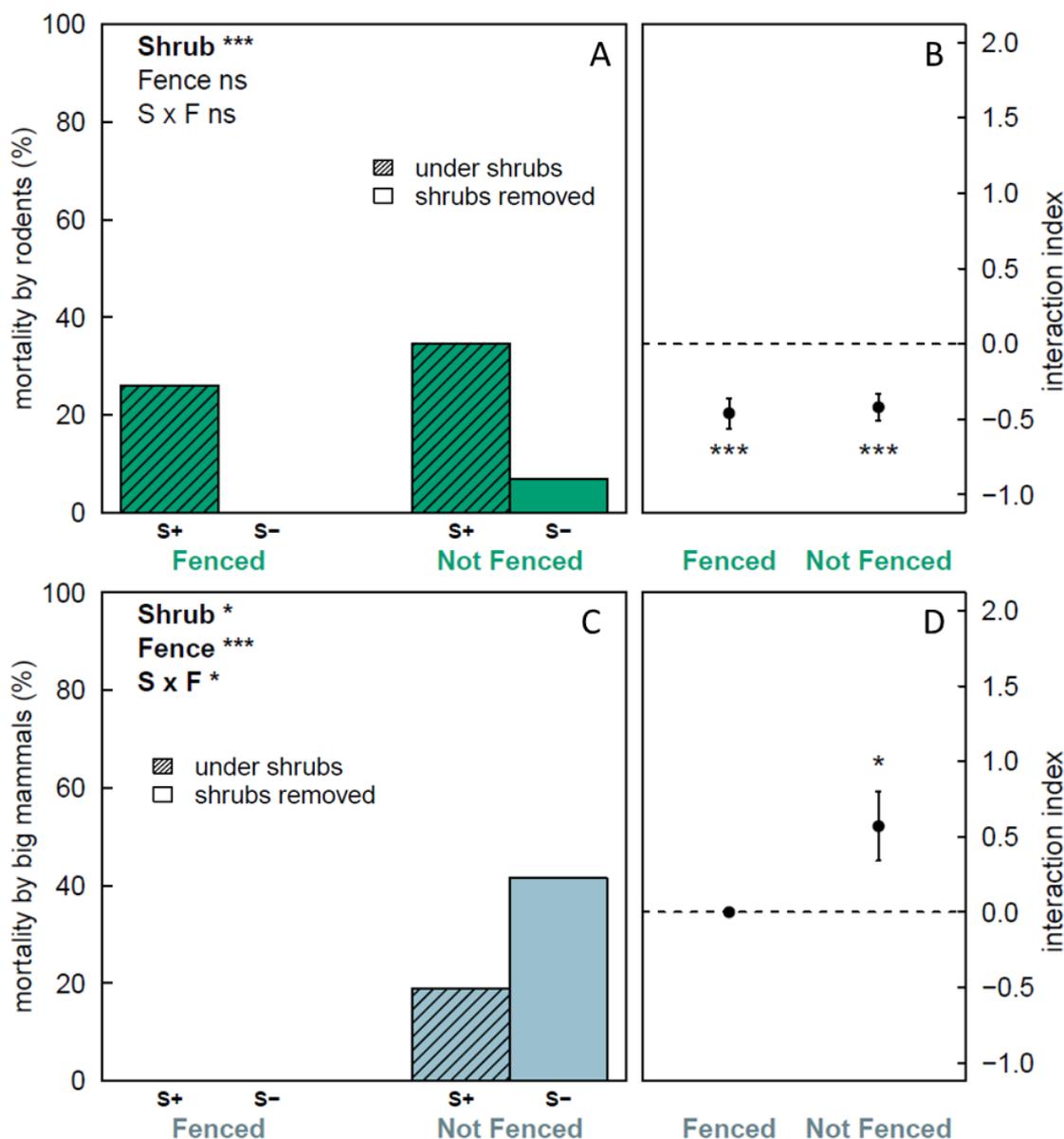


Figure 33 : **A & C**: Percentage of seedling mortality by the two kinds of herbivores in presence (S+) or absence (S-) of shrub. Asterisks indicate significant differences between shrub treatment (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns = non-significant). **B & D**: interaction index. Each point represents an average of $12 \pm$ SE values. Asterisks indicate significant differences from 0 (* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$). Positive values of the index indicate facilitation, and negative competition

4. Discussion

Our results confirmed that the first growing year is an important step for the survival of pine seedlings in these sand dune forests, with 49.7% and 88.8% mortality for the first and second cohorts respectively during the course of the study. The presence of shrubs has a significant effect both years, negative for the first cohort and positive for the second, resulting from changing and transient interactions with seedlings environment and herbivores, while the topography had no impact during our experimentation.

4.1. Drought and facilitation by shrub cover

Summer drought, responsible for 44.1% and 98.9% of the seedlings dead respectively in summer 2015 and 2016, was the main cause of mortality in our system as already highlighted in previous studies on maritime pine seedlings in the context of Mediterranean forests (Rodríguez-García et al., 2011a, 2011b; Ruano et al., 2009). The two summers during our study differed by their amount of rainfall, with a regular drought in summer in 2015 and the driest summer of the last decade in 2016. This intense drought episode in 2016 likely explain the very high mortality in the second cohort (253 out of 288 seedlings)

In this kind of harsh environment where drought constraints tree seedling establishment we expected the presence of a shrub cover to have a positive impact on seedling survival. This has already been demonstrated for several pine species in xeric ecosystems (Boulant et al., 2008; Castro et al., 2004; Gómez-Aparicio et al., 2008, 2004; Keyes and Maguire, 2005; Rodríguez-García et al., 2011a) and oak seedlings in our coastal forests (Muhamed et al., 2015, 2013). In our study, this facilitative effect is better seen when we split the summer in two periods. We found that the shrub presence facilitate pine survival at the beginning of the summer period. It can be noted that the facilitating effect was more intense in 2016 (stronger drought) than in 2015 in agreement with the SGH and the increasing importance of facilitation with abiotic stress as with former studies (Boulant et al., 2008; Gómez-Aparicio et al., 2004). Conversely, this relationship tends to reverse or to disappear in the second part of the summer. It confirms that the direction of plant-plant interactions can change within a same season according to the evolution of the stress intensity (Holzapfel and Mahall, 1999; Kikvidze et al., 2006; Sthultz et al., 2007). Although mainly studies about the SGH focused on spatial gradient to test plant interactions with variations in abiotic stress (Brooker et al., 2008; He et al., 2013; Michalet, 2007), temporal variations for a given habitat could also be used to test the SGH theory (Bulleri et al., 2014).

Variations in abiotic stress could operate in a short period of time, especially in ecosystems where rainfall is absent during several months, especially if the water holding capacity of soil is low, as in our sandy soil. Then water stress can show important peaks during short periods of time, the non-significant interaction index in late summer both years suggests a collapse of biotic interactions (see the interaction index not different from zero, Figure 32 B-D) when the summer drought period last longer.

In case of moderate drought (2015) both VPD and soil moisture was improved by the shrub presence. In case of strong drought (2016) soil moisture appeared more homogeneous in all condition, while VPD was strongly decreased under shrubs. Thus the facilitative effect of shrubs on seedling survival, higher in 2016, appeared to be predominant through a reduction in VPD, but also a slightly periodic higher soil moisture at the beginning of summer. An increased in VPD values could lead to a greater transpiration and fastest mortality in tree seedlings (Will et al., 2013), and is known to be an important parameter characterising the facilitation process (Muhammed et al., 2013; Saccone et al., 2009). The attenuation of solar radiation by the shrub canopy can also be an important factor governing successful establishment of maritime pine seedlings the first summer by reducing photoinhibition (Rodríguez-García et al., 2011a).

4.2. Shrub associational effects on herbivory

Shrubs presence also exerted strong herbivore-mediated indirect effects on seedling survival, which are related to the types of herbivores involved and the season of the year. Looking at the impact of rodents on pine survival, we found a strong associational susceptibility effect. These results are in agreement with several studies on tree seedling establishment, where rodent damage is higher under shrub cover (Caccia et al., 2009; Gill and Marks, 1991; Royo and Carson, 2008). The percentage of shrub cover have been shown as a main driver governing the abundance of small mammals, providing a shelter against predators and an access to food resources (Carrilho et al., 2017; Nageleisen et al., 2002; Orrock et al., 2010; Rosalino et al., 2011).

Conversely, browsed seedlings by ungulates were mainly observed in open areas during autumn-winter, showing indirect facilitation by shrubs. This phenomenon was shown many times, when seedlings are associated with thorny, unpalatable or dense shrubs (Boulant et al., 2008; Gómez-Aparicio et al., 2008; Tálamo et al., 2015; Torres and Renison, 2015). Since *Arbutus unedo* is a thornless species and rather palatable (Maillard and Casanova, 1994), this facilitation mechanism observed in our study is likely the result of the

concealment of pine seedlings through shrub cover, where seedlings are more difficult to detect for herbivores (Jensen et al., 2012; Torres and Renison, 2015).

The impact of herbivores on seedlings showed large temporal differences between the two years, with damages observed quasi-exclusively the first year after disturbance, with rodent damages during spring/summer and ungulates damages during autumn-winter. These fluctuations might be the result of several factors linked to disturbance, food availability, and population dynamics of the herbivores in interaction with meteorological conditions. Both small mammals and ungulates are more abundant just after a disturbance such as a clear-cut, in relation to the higher presence of coarse woody debris as shelter for rodents and the availability of food on the stand (Fisher and Wilkinson, 2005; Simon et al., 2002; Tremblay et al., 2007).

In case of rodents, their populations fluctuate very rapidly between years and seasons (Díaz et al., 2010; Merritt et al., 2001; Nopp-Mayr et al., 2015), especially in relation to the amount of rainfall. Díaz et al., (2010) showed that in a semi-arid environment, rainfall, as a determinant of food availability, increased the abundance of rodents. Conversely, Carrilho et al., (2017) found a higher population in autumn and lower populations in spring, suggesting that important rainfall in winter induces high mortality and movement of rodent populations. In our case, the 2015-16 winter was rainier (507 mm) than winter 2014-15 (390 mm) or the average of the last 10 years (316 mm), and can be an explanation of this absence of rodents the second year.

Concerning ungulates, pine seedlings are not a preferred food, and thus they feed on pine seedlings according to the other food resource availability. When food resources are rare, i.e. in autumn and winter, they consume pine seedlings. This may explain our seasonal pattern of seedlings consumption. The second year, herbaceous and shrub vegetation increased on the stand. Large herbivores may have preferred this vegetation leading to very few damages on pine seedlings. Additionally, the density of pines was lower the second year because of the very high 2016 summer mortality, and may be harder to detect for herbivores.

4.3. Sum of the effects: the complexity of the shrub-seedling interaction

The SGH predicts that positive interactions occur when the stress is high (habitat amelioration) or when herbivory pressure is high (associational defence). In the early formulation of the SGH (Bertness and Callaway, 1994), these two types of positive interactions are not expected to be found in the same ecosystem because they are related to the site productivity: low in abiotic stressed environments, and high where herbivores tend to

be more abundant (Bertness and Callaway, 1994). However herbivores pressure can be important in many harsh environments, and indirect facilitation reducing herbivory impact has been demonstrated in arid environments (Graff and Aguiar, 2011; Louthan et al., 2014). Indeed most studies in Mediterranean or other dry forests agreed with the SGH and suggest that facilitation occurred both through habitat amelioration (Gómez-Aparicio et al., 2008, 2004) or associational defence (Táalamo et al., 2015; Torres and Renison, 2015).

The SGH have been extensively studied considering abiotic stress outcomes. However, the simultaneous consideration of consumer pressure is rarely done, while it can deeply change the net result of the plant-plant interactions at stake (Smit et al., 2009). Indeed in our system, facilitation of abiotic stress occurred for the two cohorts potentially improving seedling survival both years. However, the strong associational susceptibility that occurred regarding rodents the first year cancel or even reverse this positive effect of shrubs. To our knowledge, few empirical studies showed that these two mechanisms occurred in the same environment. Interestingly, Boulant et al., (2008), showed that two pine species seedlings survived better under shrubs in a Mediterranean grassland with high density of domestic livestock, through both direct and indirect facilitation. Xie et al., (2017) also showed that the survival of *Fabaceae* seedlings is much more facilitated by shrubs in a context of drought when grazing intensity increased.

In sum, shrub-pine seedlings interactions described in our study shed light on the subtle interplay of direct and indirect biotic and abiotic effects potentially involved in plant-plant interactions. This given pair of interacting species is engaged in transient facilitation (early summer), collapse of interaction (end of summer), *associational susceptibility* for rodents and *associational resistance* for large mammals. Complementary data regarding seedlings growth (unpublished data) also show competitive effect of the shrub presence. This advocate for further efforts to delineate the respective ecological importance of all these effects in future studies and in other contexts to keep on exploring all the possible refinements of the largely accepted SGH.

Partie 2 : Résultats complémentaires : Effet compétiteur de l'arbousier sur la croissance

1. Méthodes

Lors de notre expérimentation, nous avons également mesuré la hauteur des pins durant les deux années, selon les mêmes dates de suivis que la survie (tous les mois au printemps/été, toutes les 6/8 semaines en automne/hiver). Nous avons également récolté les pins de la première cohorte (pins plantés en avril 2015) en avril 2017, pour mesurer la biomasse (poids sec après passage à l'étude à 60°C) et le diamètre de la tige. La deuxième cohorte (plantée en avril 2016) a été suivie durant un an seulement et non récoltée pour la biomasse.

Nous avons par ailleurs quantifié la lumière et l'humidité du sol en fonction de la présence de l'arbousier, deux facteurs environnementaux très hétérogènes pouvant fortement influencer la croissance des plantules (Canham et al., 1996; Chen and Klinka, 1998; Roberts et al., 2005; Valladares and Niinemets, 2008).

La lumière disponible pour les plantules sous arbousier a été calculée en utilisant la méthode du « ciel couvert » (Gendron et al., 1998) permettant d'obtenir le pourcentage saisonnier du rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) à l'aide d'une mesure ponctuelle. Cette méthode est basée sur l'inter-comparaison simultanée de deux capteurs de PAR : un capteur est placé au niveau de l'apex de la plantule de pin sous l'arbousier, et le second est placé à quelques mètres de l'arbousier en dehors de tout couvert végétal. La lumière disponible sous l'arbousier est ensuite obtenue par le rapport entre les deux mesures effectuées simultanément : $(\text{PAR sous arbousier} / \text{PAR hors arbousier}) \times 100$.

La caractérisation de l'humidité du sol se fait de deux façons : en continu à l'aide de sondes permanentes (une mesure toute les minutes puis moyennées à la demi-heure) ; et ponctuellement lors de chaque suivi de juin à septembre (3 mesures par plantule) à l'aide d'une sonde TDR (expliqué en détail au §2.3.1. de la partie précédente sur la survie)

La croissance et la survie sont deux phénomènes dépendants. Une faible croissance peut aboutir à la mortalité des jeunes plants. Les effets sur la survie ayant déjà été analysés auparavant, et une partie des pins étant morte au cours de l'expérience, les résultats sur la croissance ont été obtenus en ne prenant en compte que les plantules encore en vie à la fin des deux années de suivi (i.e. avril 2017). Aussi les plantules abruties n'ont pas été considérées dans l'analyse, l'herbivorie modifiant la croissance. Ici ce sont uniquement les effets directs liés à l'arbousier et la topographie qui sont étudiés. L'effectif est ainsi de 72

plantules pour la cohorte 1, réparties en 33 et 39 plantules pour respectivement avec et sans arbousiers, et 22, 23 et 27 plantules pour respectivement le bas, milieu et haut de pente. L'effectif pour la cohorte 2 est de 29 plantules, 17 avec arbousiers et 12 sans arbousiers, et 5, 13 et 11 plantules pour respectivement le bas, milieu et haut de pente.

2. Analyses statistiques

La croissance en hauteur des pins (en cm, suivie sur deux ans pour la cohorte 1, et suivie sur 1 an pour la cohorte 2) a été analysée à l'aide de modèle linéaire mixte, avec les traitements « arbousier », « topographie » et leur interaction en tant que facteurs explicatifs, et un effet aléatoire continu afin de prendre en compte les mesures de hauteur répétées pour un même individu. Ce type d'analyse a été effectué pour la cohorte 1 sur l'ensemble du suivi (0 à 2 ans), mais également sur les deux années séparément pour tester si l'effet est similaire entre la 1^{ère} et la 2^{ème} année de croissance. La croissance en hauteur de la cohorte 2 a été analysée pour l'année 2016.

Les mêmes facteurs explicatifs (arbousiers et topographie) ont été testés (Anova à 2 facteurs) pour observer leurs effets sur la biomasse, le diamètre de la tige ainsi que le ratio hauteur/diamètre (caractérisant l'étiollement de la plantule).

Afin d'observer la relation entre la quantité de lumière disponible sous arbousier et les différentes réponses du pin (i.e. hauteur, diamètre, biomasse, hauteur/diamètre), des régressions linéaires ont été effectuées.

Enfin pour préciser l'effet lié aux arbousiers, des Anova à un facteur ont été réalisées pour tester des potentielles différences d'humidité du sol au sein du traitement arbousier et du traitement topographie.

3. Résultats

Sur l'ensemble des deux années du suivi, on observe un effet négatif de l'arbousier sur la croissance en hauteur ($p=0.010$; Figure 34), mais pas d'effet de la topographie ($p=0.051$; Figure 34) ni de l'interaction ($p=0.424$). Lorsque les années sont étudiées une à une, on observe que l'effet de l'arbousier n'est pas significatif la première année ($p=0.108$) mais uniquement la deuxième ($p=0.009$). Considérant les deux années séparément, la topographie ($p=0.105$ puis $p=0.058$) et l'interaction ($p=0.925$ puis $p=0.968$) n'ont toujours pas d'effet sur la croissance en hauteur. L'analyse de la deuxième cohorte, d'un an seulement,

confirme ces résultats, avec aucun effet significatif de l'arbousier en première année de croissance ($p=0.699$), de la topographie ($p=0.961$) ou de l'interaction ($p=0.924$).

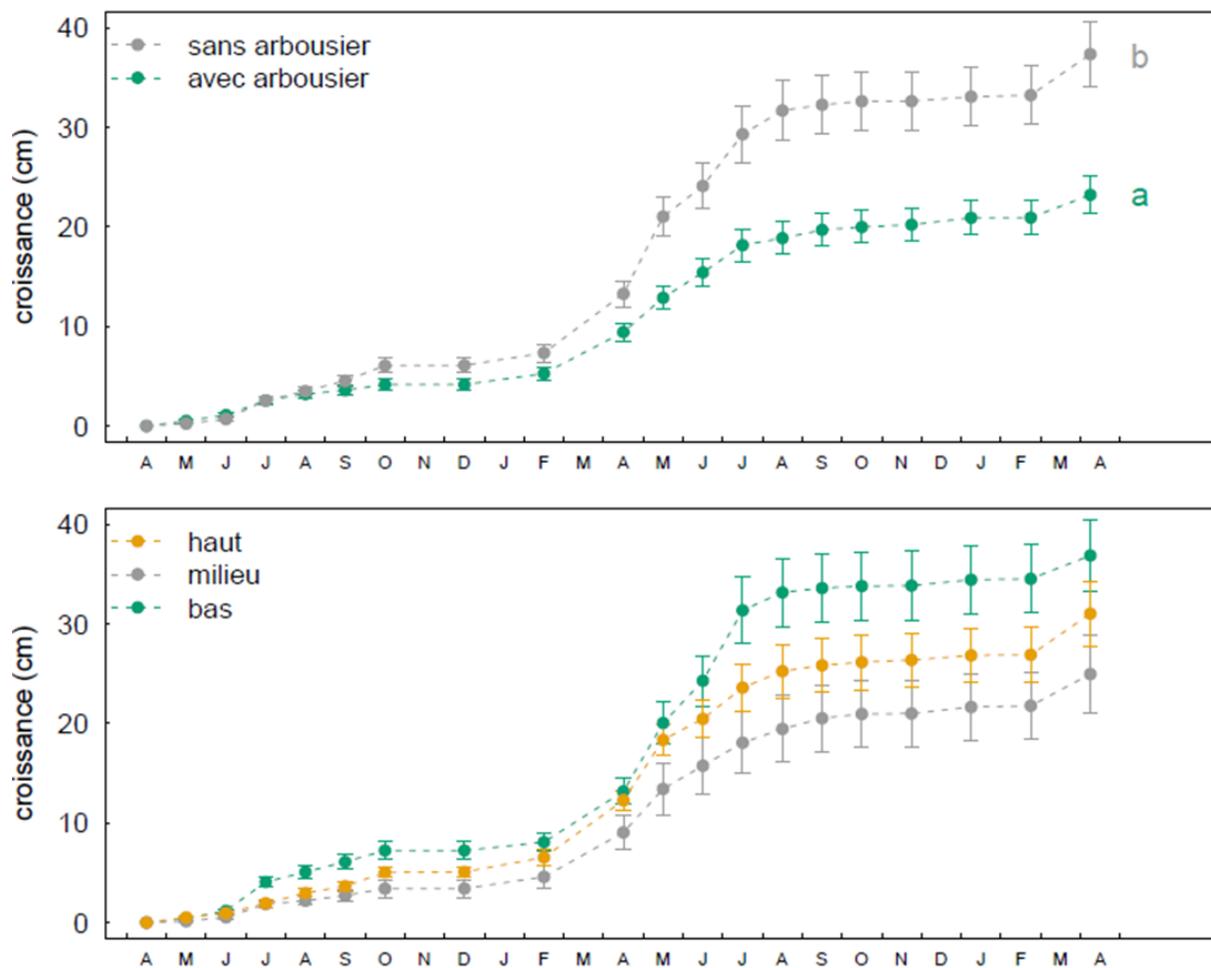


Figure 34 : Croissance en hauteur des plantules selon la présence d'arbousier (en haut) et la position topographique (en bas). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement ($p < 0.05$; test de Tukey).

Les résultats concernant les autres réponses du pin montrent un fort effet significatif de l'arbousier ($p < 0.001$ pour les trois variables ; Figure 35). Les pins sous arbousier ont moins de biomasse (Figure 35 A), un diamètre de tige plus faible (Figure 35 B) et sont plus étiolés (Figure 35 C). Concernant la topographie, seul le ratio hauteur/diamètre est significatif ($p < 0.001$; Figure 35 F), avec un étiolement plus faible au milieu de pente comparé au haut et bas de pente. Aucune interaction n'est significative.

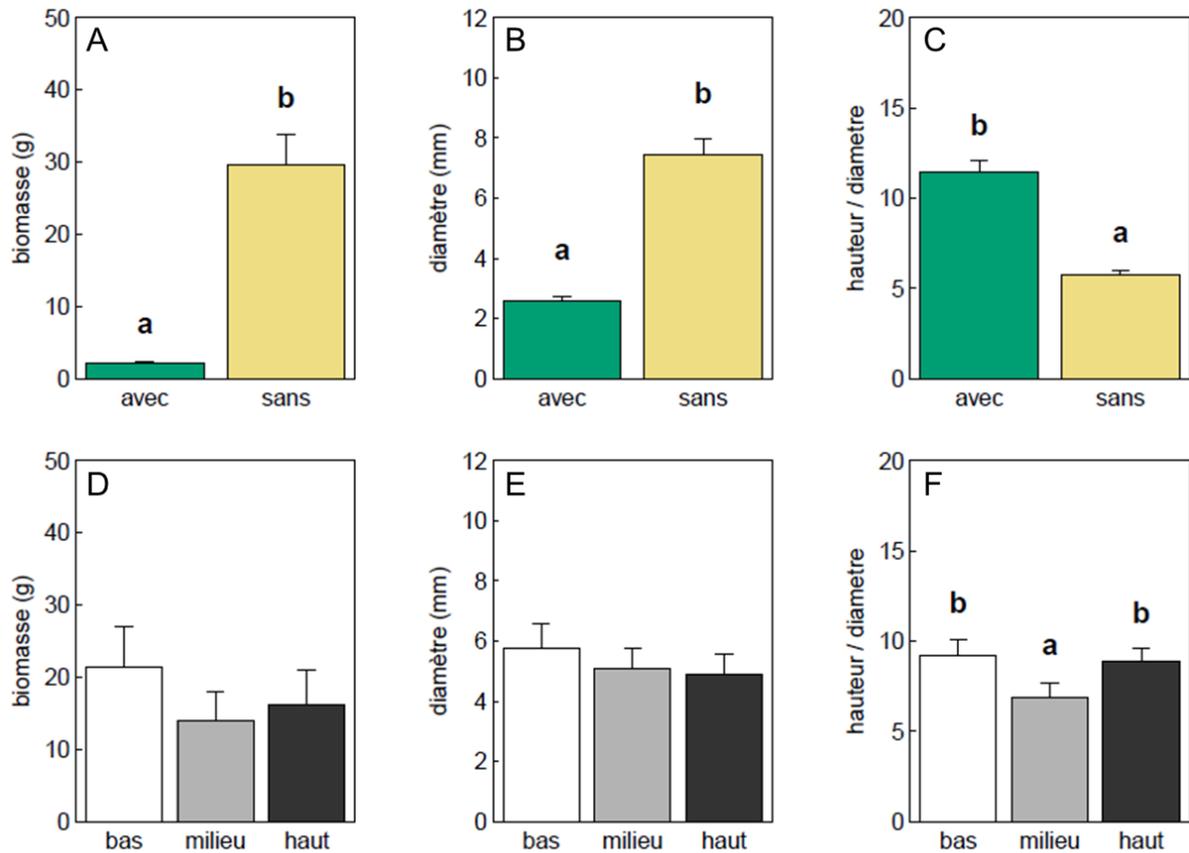


Figure 35: Biomasse (A-D), diamètre de la tige (B-E) et ratio hauteur/diamètre (C-F) des plantules de pins 2 ans après la plantation, selon la présence d'arbousier (panels du haut) et de la topographie (panels du bas). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement ($p < 0.05$; test de Tukey).

Les mesures de lumière montrent un impact certain de l'interception de la lumière par la canopée des arbousiers : en moyenne, la quantité de lumière atteignant les plantules sous arbousiers est de $33 \pm 1.2\%$ (contre, par définition, 100% pour les plantules sans arbousier). Les relations entre performance du pin et la lumière disponible montrent une influence significative de la lumière sur la hauteur et l'étiollement (Figure 36 C-D), mais aucun effet sur les variables de biomasse et de diamètre de la tige (Figure 36 A-B).

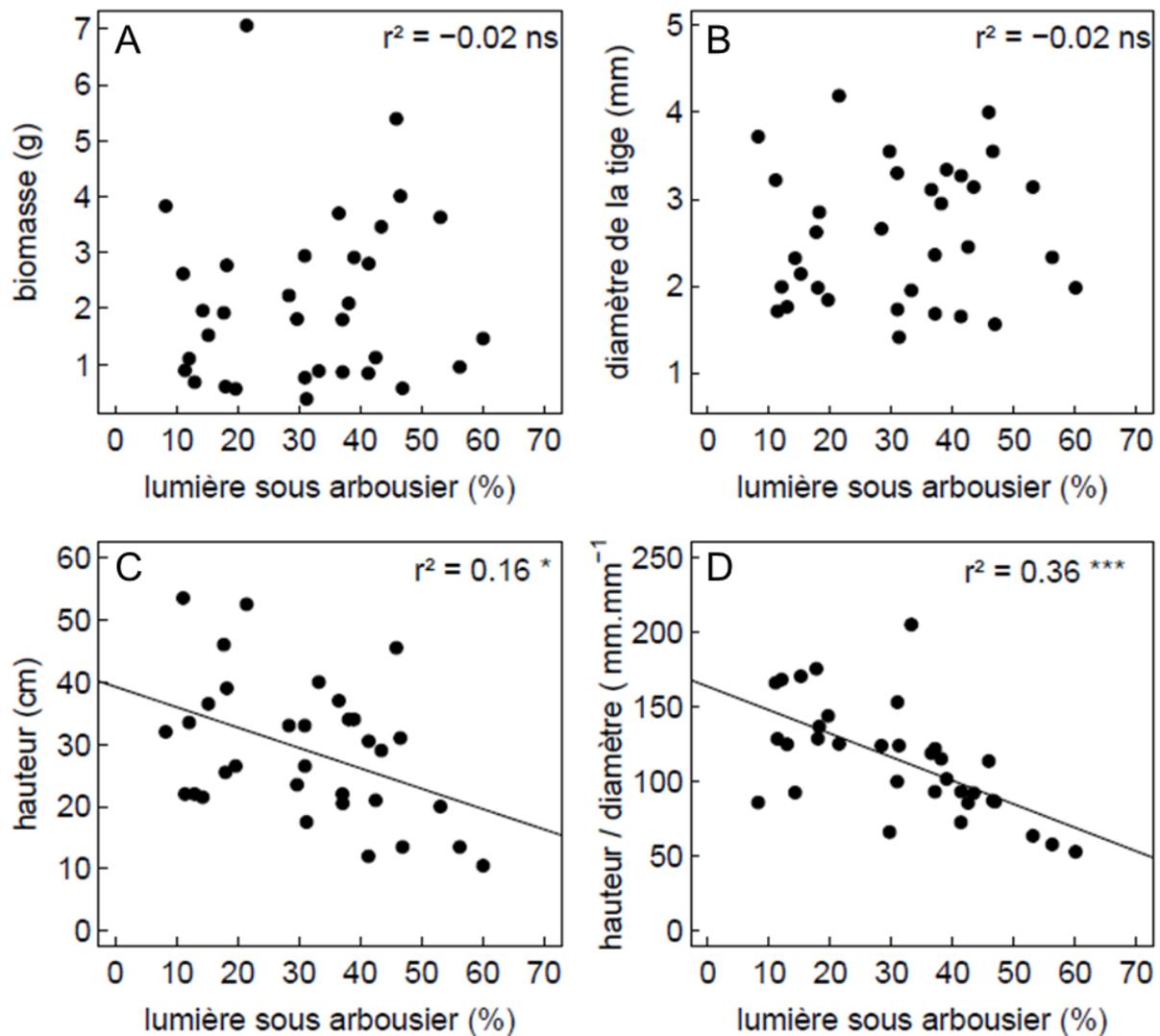


Figure 36: Relations entre la lumière disponible sous les arbousiers et la performance du pin associé (A: biomasse; B: diamètre de la tige; C: hauteur du pin; D: ratio hauteur/diamètre, i.e. étiolement). Le coefficient de détermination et la significativité de la relation sont donnés en haut à droite de chaque panel (***: $p < 0.001$; *: $p < 0.05$; ns : non significatif).

En ce qui concerne l'humidité du sol, les arbousiers n'ont eu aucun effet pendant les deux années si l'on considère les sondes permanentes (Figure 30 B, §3.3.1. de la partie 1 sur la survie). Il semble cependant améliorer ponctuellement l'humidité du sol la première année lors d'un été moins sec (figure 30 C). En 2016, où l'été était particulièrement sec, l'humidité du sol était similaire dans toutes les conditions. On ne détecte également que très peu d'effets de la topographie sur l'humidité du sol, une différence étant seulement observée lors de deux mesures ponctuelles (Figure 37).

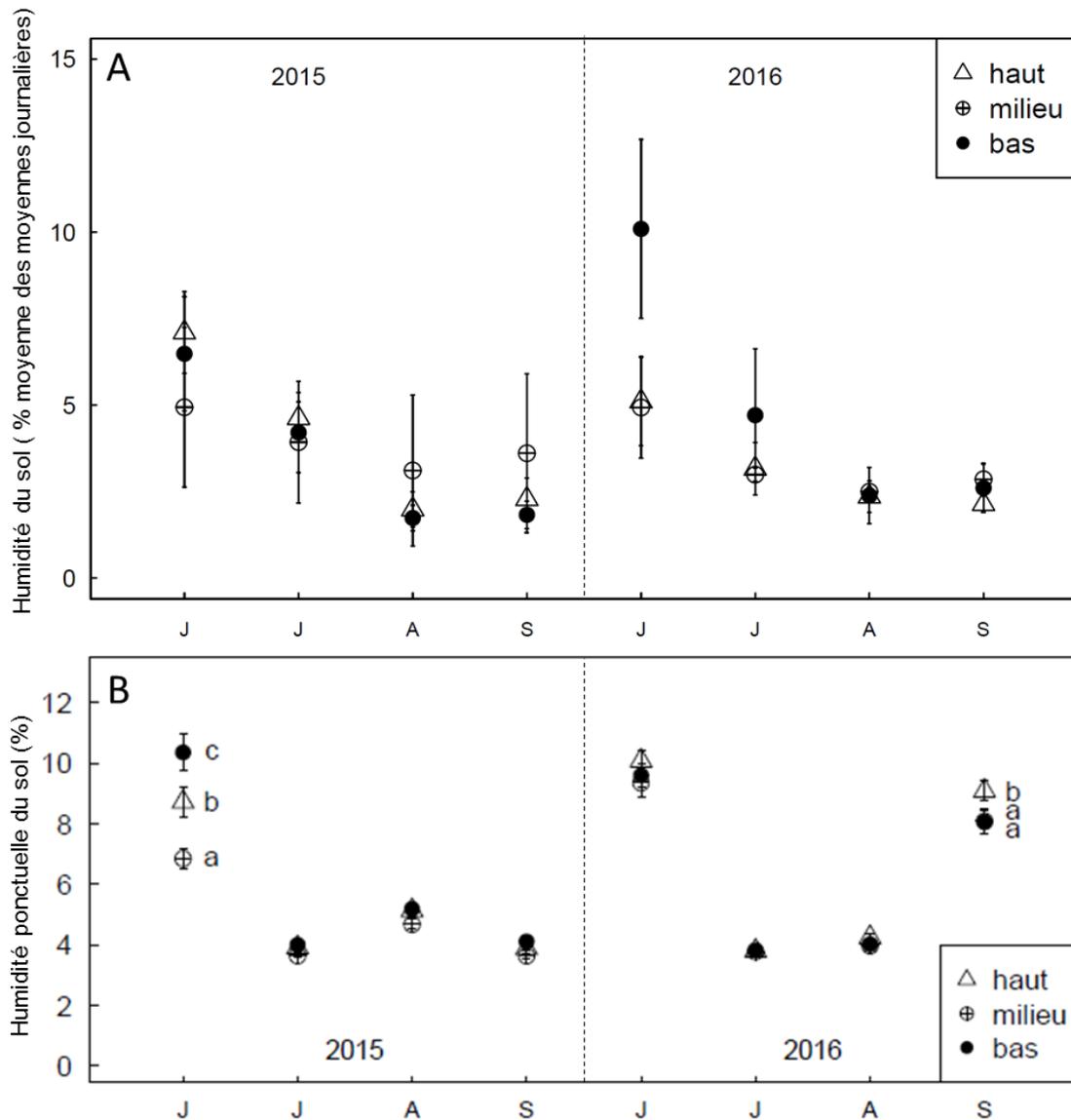


Figure 37: Effets de la topographie sur l'humidité du sol, mesurée en continue (A, moyennes mensuelles) ou ponctuellement lors de chaque suivi (B). Des lettres différentes indiquent une différence entre modalités du traitement ($p < 0.05$; test de Tukey).

4. Discussion

Nos résultats montre que le facteur principal influençant les variables liées à la croissance est la présence ou non d'arbousier, alors que la topographie n'a que très peu d'influence. L'humidité du sol est peu impactée par l'arbousier ou la topographie. Cela peut expliquer le peu d'impact de la position topographique, principal facteur lié à l'humidité de par les différences potentielles de distance à la nappe phréatique, sur les variables morphologiques mesurées. L'humidité du sol est cependant ponctuellement plus élevée sous arbousier (suivi de mai à aout 2015), période qui correspond à une croissance très faible des plantules. Cela suggère ainsi que la lumière, à travers la canopée de l'arbousier, est la ressource limitante pour le développement des plantules.

Nos observations concernant la croissance sont en adéquation avec le caractère héliophile du pin maritime, avec des pins plus grands et avec plus de biomasse sans arbousier, suggérant une forte compétition de l'arbousier pour l'accès à la ressource en lumière. En effet, l'assimilation de carbone via la photosynthèse induit une production de biomasse plus élevée en pleine lumière qu'en zone ombragée (Chen and Klinka, 1998; Robakowski et al., 2004; Rodríguez-García and Bravo, 2013). L'augmentation du ratio hauteur:diamètre sous arbousier peut être considérée comme étant une réponse d'évitement de l'ombre en favorisant d'abord la croissance en hauteur avant la production de biomasse, et est en accord avec d'autres études sur des espèces de pins (Rodríguez-García and Bravo, 2013; Zavala et al., 2011). Concernant uniquement la hauteur, la hauteur des pins plus faibles sous couvert diffère des résultats de Rodríguez-García and Bravo (2013) mais sont en accord avec ceux de Ruano et al. (2009), suggérant une forte variabilité de ce trait selon les conditions du site et la provenance de la plantule.

La grande différence entre la lumière disponible au niveau du pin avec arbousier (33% de la lumière en moyenne) et sans arbousier (100%) semble être l'explication principale de ces différences de morphologie. Cependant, en regardant uniquement les pins sous arbousier selon la lumière disponible, on observe un effet significatif de cette disponibilité en lumière sur les variables liées à la hauteur mais pas sur la biomasse. Le ratio diamètre/hauteur, caractéristique de l'étiollement de la plantule, est fortement significatif montrant ainsi le rôle de la lumière sur l'étiollement des pins en cas de couverture arbustive.

Cet étiollement pourrait expliquer l'absence d'écart en hauteur la première année, la réduction de lumière ayant stimulé une réponse en hauteur des pins sous arbousier. Cependant, cette compensation pourrait être coûteuse en énergie et se répercuter en deuxième année, où la croissance des pins sous arbousier serait considérablement réduite comparé à ceux hors arbousier qui se développe rapidement grâce à la lumière.

Nous pouvons également noter une croissance globale des plantules plus faible la première année de croissance que la deuxième. Cela nous laisse suggérer que le pin pourrait se focaliser la première année sur la survie, se traduisant par un investissement précoce dans le système racinaire (Hamberg et al., 2018). Cela permettrait notamment d'augmenter le nombre de racines fines absorbantes afin d'atteindre plus facilement les nutriments et l'eau dans le sol, mais aussi d'améliorer les défenses des plantules contre les stress biotiques et abiotiques (Zadworny and Eisenstat, 2011). Cette stratégie a par exemple été observée sur les phénotypes à croissance rapide d'épicéa, où l'investissement précoce dans les racines leur permet d'accumuler plus de ressources pour leur croissance future à moyen et long termes, effet cependant non visible sur la partie aérienne la première année (Hamberg et al., 2018).

III. D. Effets des pratiques de gestion et de la topographie sur les ectomycorhizes du pin maritime pendant le recrutement des semis

Cette partie des résultats est présentée sous la forme de l'article tel que publié dans le journal *Forests* en 2018 (cf. Annexe 1), à l'exception du nom des sites : afin d'uniformiser avec le reste du manuscrit, les 5 sites d'étude ont été nommés selon le gradient Nord-Sud (S1 à S5), avec un « + » (réussite) ou un « - » (échec) indiquant le statut de régénération de la zone concernée. Dans la version pdf de l'article (Annexe 1), les sites sont uniquement notés selon le statut de régénération (success : S1, S2 et S3 ; failure : F1 et F2)

Guignabert, A., Delerue, F., Gonzalez, M., Augusto, L., Bakker, M., 2018. Effects of Management Practices and Topography on Ectomycorrhizal Fungi of Maritime Pine during Seedling Recruitment. *Forests* 9, 245. <https://doi.org/10.3390/f9050245>

Effects of Management Practices and Topography on Ectomycorrhizal Fungi of Maritime Pine during Seedling Recruitment.

Arthur Guignabert^{1,*}, Florian Delerue^{2,3}, Maya Gonzalez¹, Laurent Augusto¹, Mark R. Bakker¹

¹ UMR 1391 ISPA, Bordeaux Sciences Agro, INRA, Villenave d'Ornon, France.

² Bordeaux INP, G&E, EA 4592, F-33600, Pessac, France.

³ Univ. Bordeaux Montaigne, G&E, EA 4592, F-33600, Pessac, France.

1. Abstract

Symbiosis with ectomycorrhizal (ECM) fungi can be important for regeneration success. In a context of increasing regeneration failures in the coastal forest of maritime pine in SW France, we tried to identify whether differences in ECM communities could partly explain the variation of regeneration success and how they are influenced by forest practices and stand characteristics. In particular, we focused on the effects of harvesting methods (comparing mature forest with seed-tree regeneration and clear-cuts) and topography (bottom-, mid- and top positions). Five field trials (2 in regeneration failure areas and 3 in successful areas) were used to sample 450 one-year-old seedlings. Assessments of ECM based on exploration types, of seedling nutrient concentrations and of seedling growth were made. ECM root colonisation was similar in all harvesting treatments, suggesting that enough inoculum remained alive after logging. Harvesting-induced effects modifying soil properties and light availability respectively impacted ECM composition and seedling growth. Topography-induced variations in water and nutrient availability led to changes in ECM composition, but had little impact on seedling growth. Contact, short-distance and long-distance exploration types improved the nutritional status of seedlings (Ca, K and N), showing that mycorrhization could play an important role in seedling vitality. However, neither ECM root colonisation nor exploration types could be related to regeneration failures.

Keywords: Ectomycorrhizal fungi; *Pinus pinaster*; seedlings; natural regeneration; harvesting practices; topography; precipitation.

2. Introduction

Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait in Soland) is the dominant forestry tree species in south-western France covering almost one million ha (IFN, 2017). Most of the forest range in the interior land plains is renewed by planting, whereas natural regeneration is used in the coastal area, which represents 10% of this forest (IFN, 2017). In addition to wood production, these coastal forests have a multifunctional role including soil erosion protection, preservation of biodiversity and tourism/public usage (Sardin, 2009). To accommodate these multiple objectives, the use of natural regeneration to renew forest stands limits soil disturbance (no soil ploughing, such as before plantations) and it improves the conservation of genetic diversity and the capacity of forests to adapt to global change. However, in recent years, regeneration failures have increased in some areas, leading to significant economic losses (Ouallet, 2012; Sardin, 2009). The regeneration status is estimated by counting the number of seedlings 2/3 years after clearcutting: regeneration is considered successful if the number of seedlings per hectare is higher than 3000; failed if there are less than 1500 seedlings/ha; and semi-successful (i.e. it could be sufficient, but the stand should remain under surveillance) if the number of seedlings is between these two thresholds (Sardin, 2009).

The period between germination and seedling establishment is often a crucial step in the process of natural regeneration (Clark et al., 1998; Kitajima and Fenner, 2000), and is well-known to depend on soil, climate and biotic factors (Harmer, 2001; Harvey et al., 1987; Rodríguez-García et al., 2011b). This is particularly the case for forests that have soil seed banks with a short life lifespan (such as maritime pine) where regeneration occurs from the soil seed bank after clear-cutting. In areas where regeneration failures are observed, a “security sowing” is generally applied to ensure regeneration (Sardin, 2009). One of the most important biotic factors involved in natural regeneration, but which is often overlooked, is the association between plants and ectomycorrhizae (ECM) fungi (Barker et al., 2013; Miller et al., 1998; Perry et al., 1987). Throughout their extramatrical mycelial network, ECM fungi can represent up to 75% of the absorptive area and over 99% of the absorptive length (Rousseau et al., 1994). This symbiotic relationship, obligate for almost all conifer species, provides water and nutrients to the seedling in exchange for carbohydrates, thus improving seedling growth, nutrient concentrations and success of seedling recruitment (Smith and Read, 2008; Teste et al., 2009). They also improve seedling resistance against drought, pathogens and heavy metals (Lehto and Zwiazek, 2011; Perrin and Garbaye, 1983; Van Tichelen et al., 2001). Considering the importance of ECM for plant nutrition and water acquisition in oligotrophic and dry systems (Lehto and Zwiazek, 2011; Mousain, 1975; Read et al., 2004)

like the sandy-soil system of the coastal dune forest, this particular biotic interaction could be involved in the differences of natural regeneration observed in the region.

Hence, this study examined the ectomycorrhizal composition of pine seedlings one year after logging by using five field trials with contrasting natural regeneration success which are located throughout this region. It corresponds to an initial examination of the subject to determine whether this biotic interaction should be studied in more depth. ECM fungi were classified according to the typology of Agerer (2001), which classified ECM into different exploration types (i.e. their ability to explore the soil) based on the extent of mycelium and the presence and differentiation of rhizomorphs. Shorter exploration types represent a lower carbon cost to the plant and are more prevalent in wet and/or nutrient-rich areas, whereas longer exploration types (i.e. fungi with rhizomorphs) are more prevalent in dry and/or nutrient-poor areas where seedlings need to increase their absorptive area. (Bakker et al., 2006; Hobbie and Agerer, 2010; Lilleskov et al., 2011).

ECM communities can be influenced by a large number of factors including soil properties such as pH, soil temperature, nutrient availability, soil moisture, and climatic factors (Cox et al., 2010; Miyamoto et al., 2015; Slankis, 1974). Soil moisture is an important driver of fungal composition. In dry soils, a decrease of ECM colonisation can occur (Kilpeläinen et al., 2017) as well as a shift in ECM species, leading to the appearance of ECM which are well-adapted to dry soils and less expensive in carbon for the host plant or which develop highly differentiated rhizomorphs (Bakker et al., 2006; Fernandez et al., 2017). Studies at regional scales have shown that ECM fungal composition could vary with precipitation and temperature (de Witte et al., 2017; Jarvis et al., 2013; Miyamoto et al., 2015).

ECM communities are also highly sensitive to forestry practices in relation to tree harvesting, which can strongly affect the development of new seedlings during the next forest rotation. Briefly, tree harvesting practices could: i) represent a potential disturbance of topsoil layers where ECM fungi are abundant (Harvey et al., 1986), ii) improve the colonisation of seedling roots by ECM fungi in the case of seed-tree cuts relative to clear-cut systems and iii) modify the overall aforementioned soil properties. More precisely, effects of clear-cutting, reviewed by Jones et al. (2003), are closely associated with the level of soil disturbance. When the forest floor is little disturbed during harvesting, clear cutting results in a decrease in ECM species richness and a change in species composition rather than a reduction in root colonization. Mycorrhizal inoculum can remain active in the soil for 1-2 years after harvesting (Perry et al., 1987) and does not appear to be limiting for seedling colonisation (Jones et al., 2003). When soil is heavily disturbed (forest floor removal and/or soil compaction), harvesting also impacts ECM colonisation, reducing the available inoculum by breaking

mycelial networks and modifying soil properties (Barker et al., 2013; Kranabetter et al., 2017; Lazaruk et al., 2008; Page-Dumroese et al., 1998). Secondly, the preservation of seed-trees in the stand after harvest, either by leaving individual trees (Lazaruk et al., 2005) or by leaving patches of trees (Jones et al., 2008), can improve fungal root colonization of seedlings and could enhance natural regeneration, especially under drought conditions (Bingham and Simard, 2012; Rodríguez-García et al., 2011a). Indeed, the pre-existing mycelial network established by the roots of surrounding adult trees permits the seedlings to connect to this network at low carbon cost and this can improve seedling regeneration (Jonsson et al., 1999; Teste et al., 2009; Warren et al., 2008). Partial cutting can promote the maintenance of active root tips, and seed-tree cuts can maintain an intermediate level of ECM colonisation between clear-cuts and forests (Dahlberg et al., 2001; Lazaruk et al., 2005). Thirdly, the impacts of clear-cuts or seed-tree cuts on ECM communities are also due to the associated modifications of soil properties relative to hydric conditions, soil temperature or nutrient availability (Jones et al., 2003).

In face of the observed regeneration failure, the more specific context of coastal dune forests was considered and regeneration practice other than standard clearcutting is currently being tested by preserving seed-trees in the stand. In addition, the topography induced by the dune ecosystem is a major characteristic of these coastal forests, and strongly impacts the distance to the water table which varies from 1-3m at the bottom to 17m at the top of the dunes (Pitaud, 1967). Consequently, harvest practices (clear-cuts and seed-tree cuts vs mature stands) and topographical positions (bottom-, mid- and top positions) were tested in this experiment as factors potentially affecting ECM communities and their relationship with seedling nutrition.

More precisely, we examined the variations in ECM colonization between sites in relation to regeneration status, harvesting practices, and environmental conditions (i.e. topography, meteorological conditions, and soil properties). We hypothesized that: i) seedlings from the sites with regeneration failures could have a lower ectomycorrhizal colonisation and a lower diversity of ectomycorrhizal exploration types; ii) ectomycorrhizal colonisation could be lower in clear-cuts than forests due to loss of inoculum; iii) ECM fungi could modify root development, and could lead to a better needle nutrient concentrations.

3. Materials and Methods

3.1. Study area description

To test our hypotheses, we established trials in five forests along the coast in SW France (Figure 38 a). Two of the sites are within the area of chronic of stand regeneration failure (hereafter referenced to as sites S3- and S4-), while the three other sites are in areas with high values of regeneration success (S1+, S2+ and S3-). Since regeneration failures are very heterogeneous within the same forest, germination and survival were monitored during the 3 years following the clear-cut to confirm the regeneration status of the sites (Table 8).

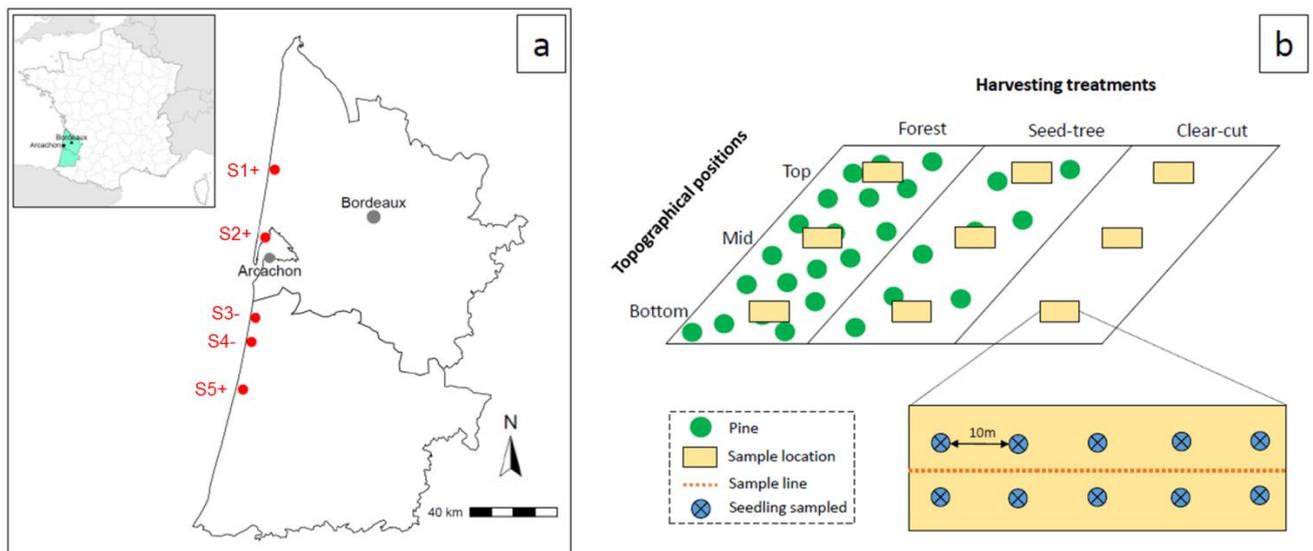


Figure 38 : Location of the five study sites (a) and the seedling sampling design (b).

The climate in the region is temperate oceanic. Annual average precipitations varied from 840 mm to 1007 mm and annual average temperature was around 14°C for all sites (2006–2016, Météo-France data; Table 8). The year of germination and early growth of seedlings (i.e. 2015) was the driest year of the decade, with precipitations between 608 mm and 880 mm, and average annual temperatures around 14°C (Météo-France data; Table 8). All sites are near monospecific forest of *Pinus pinaster* (Ait in Soland) with some small individuals of oak (*Quercus robur* L., *Q. ilex* L. and *Q. suber* L.) within the stands or in the margins. Understorey was mainly composed of *Arbutus unedo* L., as well as small amounts of other shrubs (*Ulex Europaeus* L., *Cytisus scoparius* (L.) Link), grasses (*Holcus lanatus* L., *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin.) and ericaceous plants (*Erica cinerea* L., *Erica scoparia* L.). All sites were chosen on westerly facing slopes at about 2.5 km from the ocean, with an

average slope of 10°. Soils were young sandy soils (WRB classification: arenosols; USDA classification: entisols), developed from Aeolian deposits that occurred during the Holocene period (Augusto et al., 2010). These soils are mainly composed of coarse sands (96–97%), are slightly acidic (topsoil values of pH = 4.5–5.0; base saturation = 32–54%), have a low water holding capacity, and are extremely poor in nutrients (Augusto et al., 2010). Forest floor organic layers thickness varies between 0.5 and 4 cm (unpublished data ; Augusto et al., 2010).

3.2. Tree harvesting and stand regeneration management methods

Because tree harvesting and regeneration methods may impact ECM communities, the three following treatments were tested at each site (Figure 38 b): (1) control (i.e. no tree harvest and stand disturbance; hereafter referred to as “Forest” treatment), (2) seed-tree regeneration method (i.e. natural regeneration with seed-trees (70 trees ha⁻¹ ; “Seed-tree” treatment), (3) clear-cut which corresponds to the dominant harvesting and regeneration method in coastal dune forest (“Clear-cut” treatment). Logging was carried out mechanically between December 2014 and March 2015 in the seed-tree and clear-cut treatments. Other current practices were carried out before logging in these two treatments: understorey vegetation was mechanically removed to limit post-logging competition, and was combined with mechanical tillage to increase soil aeration and the availability of nutrients. This tillage mixed the forest floor organic layers with the mineral topsoil layer.

Light availability for each harvesting treatment was calculated from the diameter, age and density of the trees, following equations of Porté et al. (2000) and Berbigier and Bonnefond (1995). It was significantly different between harvesting treatments (Kruskal–Wallis rank sum test, P=0.002) with lowest values in forests (80% ± 2.2), intermediate values in seed-trees (92% ± 0.7) and maximal values in clear-cuts (100%) (Tukey test: a, b and c, respectively).

Tableau 8 : Characteristics of the five study sites.

	S1+	S2+	S3-	S4-	S5+
<i>Regeneration status</i> [△]					
Survival (%)	59,8	31	15,8	25,7	66,2
Seedlings / ha	3062 (2656)	3875 (3775)	1000 (765)	1188 (707)	8438 (8257)
<i>Location</i>					
Forest	Lacanau	Lège-Cap-Ferret	Biscarrosse	Sainte-Eulalie-en-Born	Saint-Julien-en-Born
Latitude	45°1'43.2"N	44°44'9.4" N	44°24'37.1" N	44°18'14" N	44°6'8" N
Longitude	1°10'44.1" W	1°12'35.6" W	1°14'3.4" W	1°15'8.2" W	1°17'27" W
<i>Meteo</i>					
Annual P (mm)	709 (879)	608 (840)	659 (894)	718 (936)	880 (1007)
Summer P (mm)	191 (155)	139 (141)	127 (151)	147 (157)	174 (165)
Annual T (°C)	13.8 (13.7)	14.4 (14.1)	14.4 (14.1)	14.4 (14.1)	14.2 (14.0)
Summer T (°C)	19.5 (19.7)	20.2 (20.3)	20.2 (20.2)	20.2 (20.2)	19.9 (20.1)
Annual ETP (mm)	759 (756)	780 (773)	778 (770)	778 (771)	774 (769)
<i>Soil</i>					
pH (H ₂ O) ± SE	4.46 ± 0.14 a	4.82 ± 0.21 c	4.57 ± 0.13 ab	4.68 ± 0.19 bc	4.44 ± 0.14 a
OM (%) ± SE	42.5 ± 13.7 d	24.8 ± 13.9 ab	28.2 ± 10.9 bc	36.8 ± 15.7 cd	14.3 ± 8.5 a

[△]Values in March 2018 (i.e. 3 years after logging), resulting from a 3-year monitoring of germination and seedling survival under standard practice (i.e. clear-cut) on these 5 sites. Values for precipitations (P), temperature (T) and ETP represent values for the year 2015, with the average of the 2006–2016 period in brackets. Summer T and P correspond to values from July to September 2015. Meteorological data were calculated for each site, by linear interpolation of the three closest Météo-France weather stations. Organic matter (OM) and pH are means of 20 soil samples per site (10 in seed-trees and 10 in clear-cuts). Each sample was taken of an area of 0.125 m² and 5 cm deep, and represents a mixture of forest floor and upper mineral horizon. Different letters after mean values indicate significant differences between sites at p < 0.05 determined by ANOVA and Tukey test.

3.3. Sampling of seedlings

In this study, we chose to sample seedlings that had regenerated naturally rather than planting nursery grown seedlings, in order to remain as close as possible to natural regeneration conditions. Indeed, ECM communities between seedlings planted under nursery conditions and those that had regenerated naturally in the stand are different (Teste et al., 2009). The nursery fungi suppress the initial colonization by native fungi, and do not reflect a difference in local inoculum (Jones et al., 2003). Seedlings were selected and sampled from all five sites between the end of November 2015 and early February 2016. Seedlings almost only germinate in spring (between the end of March and the beginning of June), and were 8 to 10 months old when sampled. At each site, for each harvesting treatment and for each topographical position, a central area of about 50m x 8m was identified for seedling sampling (= 9 areas per site; Figure 38 b). Within each area, two seedlings were selected every 10 m as close as possible to the line splitting the area in half, one on each side of the line (Figure 38 b). Non-browsed seedlings were selected (between 5 and 20 cm in height). Areas too close to other tree species (especially oaks) were avoided. Seedlings with their entire root system and a small amount of soil were gently removed using a shovel and then stored in plastic bags at 4°C. In total, 450 seedlings were sampled (450 = 5 sites × 3 harvest treatments × 3 topographical positions × 10 seedlings).

3.4. Assessment of seedling dimensions and ectomycorrhizal status

Seedlings were cut at the root collar. Shoot stem diameter and total height were measured. Roots were then washed carefully over a plastic tray to remove soil adhering to the roots without disrupting the ECM material. Tap root length was recorded. Then, roots were divided into coarse roots (CR, diameter > 2mm) and fine roots (FR, diameter < 2mm). CR Lengths were measured with a caliper. For FR, we calculated mycorrhizal and non-mycorrhizal root length based on the line intersect method (Tennant, 1975). Roots tips were observed using a binocular microscope, and ECM fungi were classified into the four main morphotypes reported by Agerer (2001), depending on the exploration type of fungi. Contact exploration types have a smooth mantle, sometimes with a few hyphae. Short-distance exploration types correspond to ECM with many hyphae and no rhizomorphs. Medium-distance exploration types are represented by fungae with hyphae and rhizomorphs, which ramify and interconnect repeatedly. Long-distance exploration types include smooth ECM with few but highly differentiated rhizomorphs (Agerer, 2001). Non-mycorrhizal root tips were also counted. Shoots, CR and FR samples were dried at 60°C

to obtain biomass values. ECM root colonization (%), specific root length (SRL, m g^{-1}), total seedling biomass (g), root:shoot (R:S, g g^{-1}) and height:diameter (H:D, mm mm^{-1}) ratios were calculated from these measurements. Measurements from the ten seedlings from each sample location (same harvest treatment and same topographical position) were averaged for statistical analyses.

3.5. Needle nutrient concentrations

Needles from the ten seedlings of each sample location were grouped into a composite sample (n=45 composite samples) for mineral analysis (N, P, K, Mg, Ca). Nutrient concentrations were analysed after digestion in sulphuric acid and hydrogen peroxide. Nitrogen and phosphorus were determined colorimetrically with a Technicon auto analyser II. Potassium, calcium and magnesium were determined with a Varian SpectrAA-20 flame atomic absorption spectrophotometer.

Nutrient concentration values were compared to two sufficiency thresholds (i.e. where growth is medium to good) from a literature compilation by van den Burg (van den Burg, 1985). These thresholds correspond to the mean values of several pine species, discerning values obtained from studies in sand culture from those in pot trials (Supplementary, Table 11).

3.6. Data treatments and statistics

All statistical analyses were realised with R software version 3.4.1 (R Core Team, 2017).

3.6.1. ECM status

ECM root colonization, expressed as a percentage, was logit-transformed following Warton and Hui (2011) and total ECM root tips and number of root tips for each exploration type were expressed as number per meter of fine root length.

First we scrutinized potential differences of ECM status between sites and according to meteorological differences between the sites. Analysis of variance was used to compare ECM status between sites, using data for all seedlings from all treatments within each site. Correlations between ECM variables and site characteristics (pH, OM, and precipitation variables) were prospected with Bravais-Pearson correlation tests.

To investigate variations of ECM status within the different sites according to harvesting treatments and topography, we used linear mixed modelling with harvesting treatment and topography as fixed effects, and site as a random effect. Posthoc Tukey pairwise multiple comparisons were performed for significant treatments.

3.6.2. Seedling growth and nutrient concentrations

To analyse how seedling growth and nutrient concentrations were affected by harvesting treatment and topography, we carried out linear mixed models with harvesting treatment and topography as fixed effects, and site as a random effect. Biomass values and fine root length were log-transformed to reach linear modelling assumptions. The date of emergence of seedlings, which may have varied by a few weeks, could lead to differences in terms of seedling size and the allocation of carbon and nutrients are both known to vary with plant size and ontogeny (McConnaughay and Coleman, 1999). Thus many seedling characteristics (root:shoot, height:diameter, specific root length and plant nutrient concentrations) were expected to vary with seedling size (Achat et al., 2015; Augusto et al., 2000; Ritson and Sochacki, 2003). Consequently, to take this effect due to seedling size into account when performing our analyses, we first carried out linear regressions between aboveground biomass and these variables. In a second step, when regressions were significant ($P < 0.001$ for R:S, H:D, N, P, K and Ca, $P = 0.97$ for Mg, $P = 0.72$ for SRL), effects of harvesting treatment and topography were prospectively tested on regression residuals and residual variance. Posthoc Tukey pairwise multiple comparisons were performed for significant factors.

3.6.3. Relationship between ECM and seedling response after filtering out effects of harvesting treatments and topographical positions

As ECM can improve access to soil resources for seedlings, analyses were only performed for the following variables related to soil resource availability and plant nutrition: root:shoot ratio (R:S), specific root length (SRL) and nutrient concentrations. The investigation of relationships between ECM and seedling characteristics cannot be carried out directly because seedling response can be influenced either as result of mycorrhizal colonisation, or the impact of environmental variations on both seedlings and mycorrhizae. Our previous statistical models performed in 3.6.2. had taken the effects related to seedling size and local environment (harvest treatments and topography) into account. Therefore, using the residual variance of these models enabled us to focus on the potential remaining relationship between ECM and seedling properties alone, having filtered out the other aforementioned effects before.

4. Results

4.1. Sites

The four exploration types were observed at all sites, and throughout most of the individual root systems examined; 73% and 25% of the seedlings had respectively 4 and 3 exploration types on their root system. ECM root colonization (%), numbers of root tips of each exploration type (nb m⁻¹) and total root tips differed in the five study sites (Figure 39; all P-values < 0.01). Root colonization was higher in S4-. Contact exploration type was higher in S1+ and S5+, whereas short-distance exploration types were more prevalent in S3- and S4-. The largest numbers of medium- and long-distance exploration types were found respectively in S2+ and S3-. The greatest number of root tips occurred in S3-, followed by S4-/S2+ and S1+/S5+ (decreasing order; Figure 39 f). Contact exploration types and total number of root tips were respectively positively and negatively linked to summer 2015 precipitations (Figure 40), but no effects of annual or decennial rainfall were observed. Medium-distance exploration types were positively correlated with soil pH ($r=0.978$, $P=0.004$).

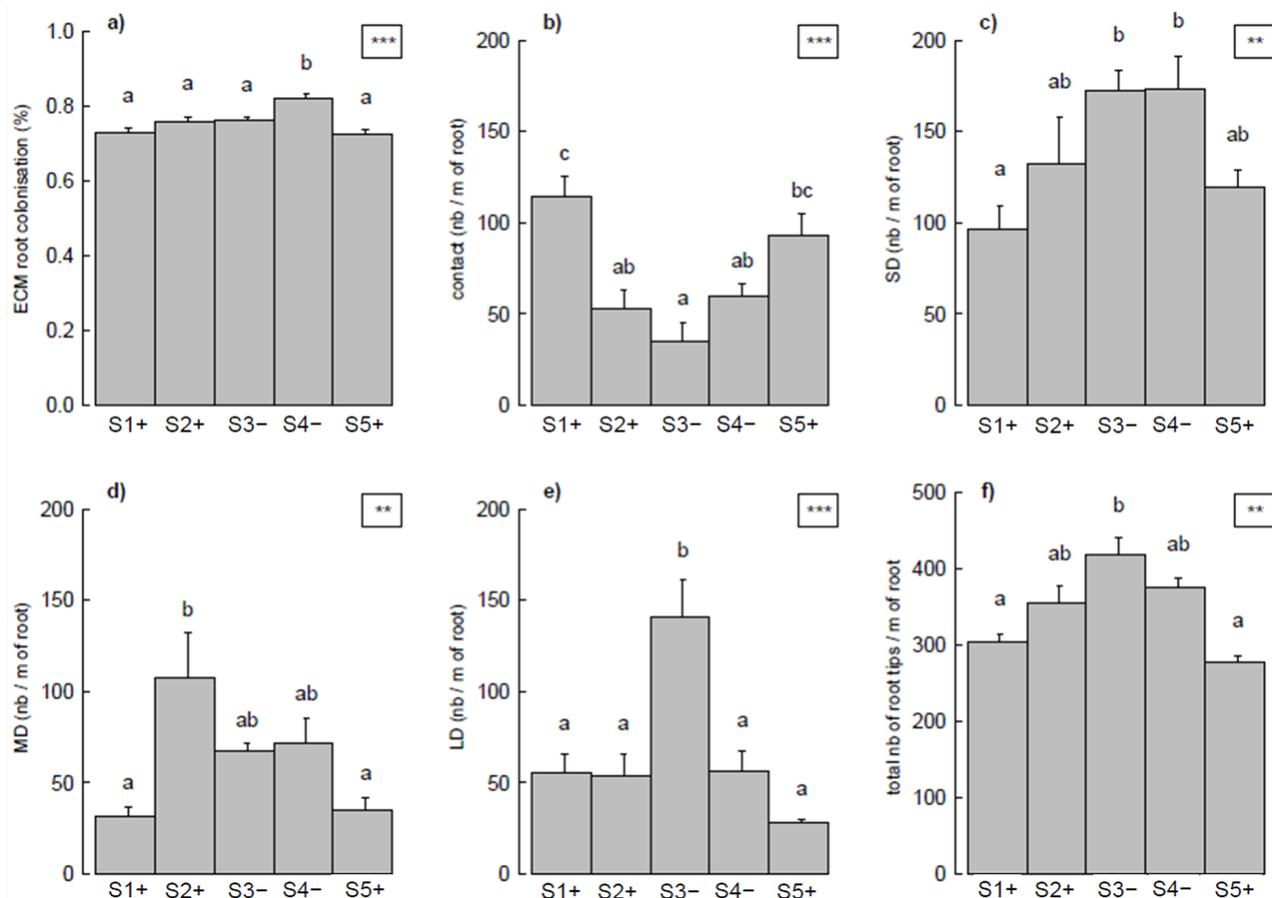


Figure 39 : Differences in ECM root colonization (a), the four ECM exploration types (b, c, d and e; expressed as the number of root tips per meter of root length) and total root tips (f) in the five study sites. Each bar represents mean ± SE of 9 values per site (harvesting treatments and topographical positions combined). Statistical significance is shown in the top right corner of each plot (***, P<0.001; **, P<0.01). Different lower case letters indicates significant differences between sites (p < 0.05, Tukey test). SD, MD and LD are for short-distance, medium-distance and long-distance exploration types respectively.

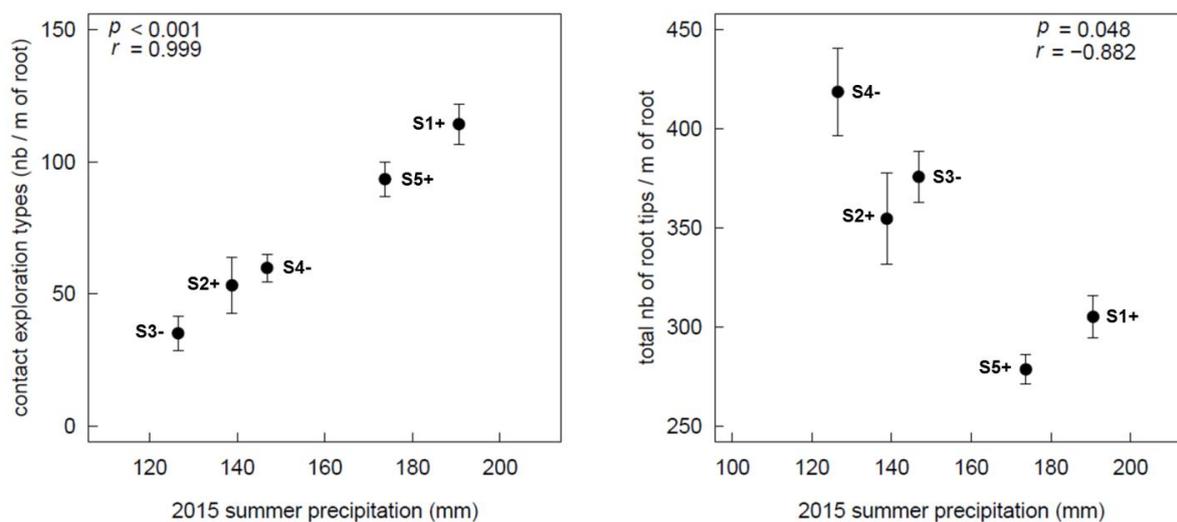


Figure 40 : Significant (P<0.05) Pearson correlations between ECM variables and summer precipitation (precipitation from July to September)

4.2. ECM status related to harvesting treatments and topographical positions

ECM root colonization ranged from 64.8 % to 87.3 % (mean 75.8 ± 0.7 %) and was not impacted by harvesting treatment ($P=0.288$) or by topography ($P=0.619$). No significant relationship was observed between total number of root tips and harvesting treatments ($P=0.131$) or topography ($P=0.514$) either. Harvesting treatment and topography had a significant effect on ECM status (Figure 41). Contact ($P = 0.008$), short-distance ($P = 0.052$) and medium-distance ($P=0.011$) exploration types were significantly affected by harvesting treatment, but not long-distance exploration types ($P = 0.506$). Numbers of short- and medium-distance root tips were higher on seedlings in forests and smaller on those in clear-cuts (Figure 41 b-c). Seedlings in seed-trees had a greater number of contact exploration than those in forests (Figure 41 a). Topography significantly affected number of contact ($P=0.021$) and medium-distance ($P=0.063$) exploration types (Figure 41 a-c). Contact exploration decreased from bottom positions to top positions, whereas medium-distance exploration was higher in the bottom position than in the mid position.

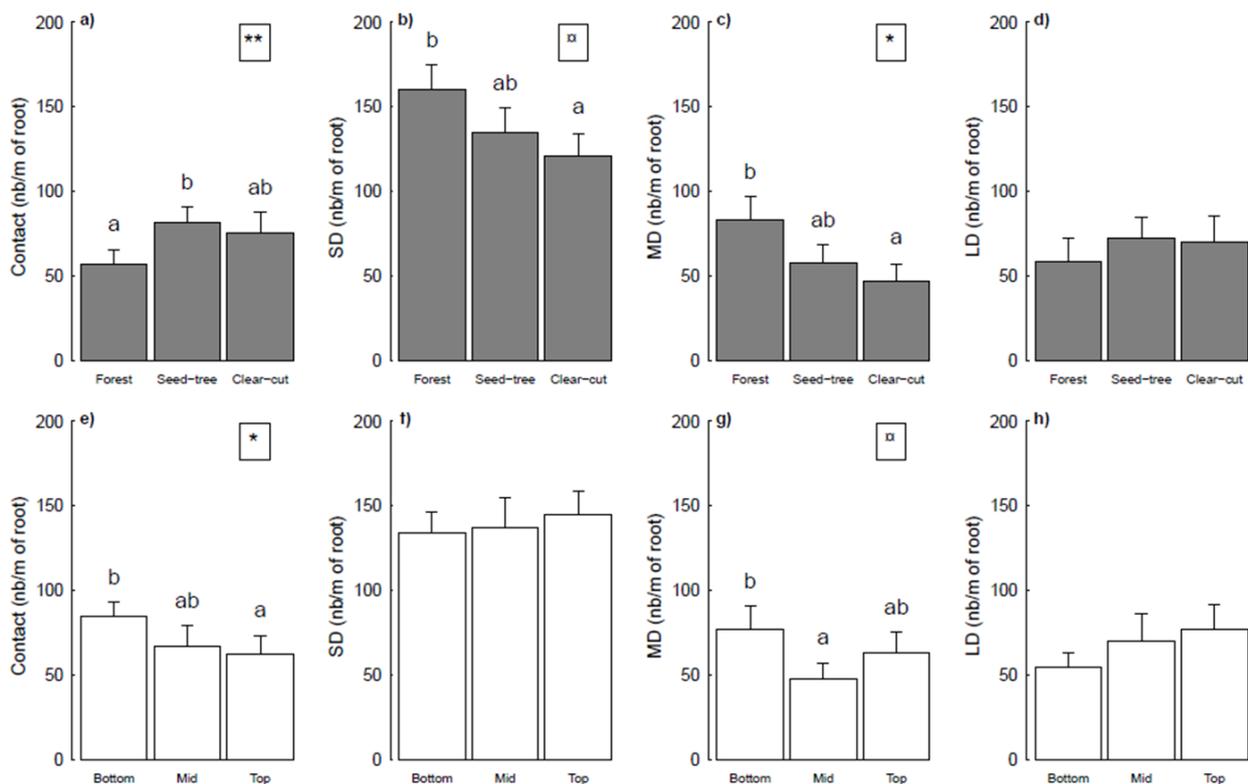


Figure 41 : Number of root tips per meter of root length for the four ectomycorrhizal exploration types, under a) three harvesting treatments and b) three topographical positions. Each bar represents an average of $15 \pm SE$ values. Significance of harvesting treatments or topographical positions is shown in the top right corner of each plot (**, $P<0.01$; *, $P<0.05$; α , $P<0.1$). Different lower case letters indicate significant differences for the same ECM exploration type between harvesting treatments (a-d) or topographical positions (e-h) at $p < 0.05$, Tukey test. SD, MD and LD are for short-distance, medium-distance and long-distance exploration types respectively.

4.3. Seedling growth and needle nutrient concentrations

All parameters except specific root length (SRL) and Mg-needle concentration were significantly affected by harvesting treatment ($P=0.430$ for SRL, $P=0.712$ for Mg, $P<0.001$ for all others; Table 9).

Total seedling biomass and shoot biomass, stem diameter and tap root length increased with decreasing intensity of harvesting, from the forest to the clear-cut. Root biomass and fine root length were lowest in forests, but no differences were found between seed-trees and clear-cuts. Seedling height was greater for seedlings growing in forests. Regarding needle nutrient concentrations, N and P were higher in seedlings in clear-cuts than in seed-trees, which were in turn higher than those in forests. K concentration was lower in forests than in seed-trees and clear-cuts. Ca concentration was higher in needles from seed-tree seedlings than in clear-cuts and forests. Topography only affected SRL ($P=0.017$), seedling height ($P=0.038$) and height:diameter ratio ($P=0.007$) which were all greater at the mid position than the top position (Table 9). Regarding thresholds of sand culture studies, N and P concentrations in forest seedlings were under the threshold, while none of the other nutrients were considered as deficient in seed-trees or clear-cuts regardless of their topographical positions (Table 9). Using threshold values derived from pot trial studies, K and Ca concentrations were also deficient in the forest, whereas Ca was below the threshold for both seed-cuts and clear-cuts for all topographical positions.

Tableau 9 : Effects of harvesting treatments and topographical positions on growth variables and needle nutrient concentrations

	Harvest treatments			Topographical positions		
	Forest	Seed-tree	Clear-cut	Bottom	Mid	Top
Stem diameter (mm)	1.55 (0.05) a	1.69 (0.06) b	1.92 (0.06) c	1.77 (0.07)	1.71 (0.08)	1.68 (0.06)
Height (mm)	125.2 (4.7) b	109.4 (3.2) a	110.9 (2.7) a	115.6 (3.4) ab	120.2 (4.2) b	109.8 (4.2) a
Shoot biomass (g)	0.29 (0.02) a	0.43 (0.03) b	0.56 (0.05) c	0.44 (0.05)	0.44 (0.05)	0.41 (0.05)
Root biomass (g)	0.12 (0.01) a	0.20 (0.02) b	0.20 (0.02) b	0.17 (0.02)	0.17 (0.02)	0.18 (0.02)
Seedling biomass (g)	0.41 (0.03) a	0.63 (0.05) b	0.76 (0.06) c	0.60 (0.06)	0.61 (0.07)	0.59 (0.06)
Fine root length (cm)	99.4 (13.5) a	187.7 (30.0) b	163.5 (23.7) b	148.1 (25.2)	168.6 (26.8)	133.9 (23.4)
Tap root length (cm)	18.5 (0.71) a	21.7 (0.82) b	23.1 (0.56) b	21.1 (0.84)	21.4 (0.80)	20.8 (0.95)
Height:diameter (mm mm ⁻¹) ▪	82.2 (2.2) c	67.0 (2.3) b	59.8 (1.8) a	67.6 (2.6) a	74.0 (3.8) b	67.3 (3.0) a
Root:shoot (g g ⁻¹) ▪	0.42 (0.03) a	0.50 (0.03) b	0.39 (0.02) a	0.42 (0.03)	0.42 (0.03)	0.47 (0.04)
SRL (m g ⁻¹)	9.04 (0.86)	9.76 (1.04)	8.94 (0.92)	9.68 (1.03) b	9.98 (0.73) b	8.08 (0.97) a
N-needle (mg g ⁻¹) ▪ †	11.5 (0.3) a	18.8 (0.6) b	24.6 (0.6) c	18.3 (1.5)	18.7 (1.4)	17.9 (1.6)
P-needle (mg g ⁻¹) ▪ †	1.26 (0.05) a	2.36 (0.09) b	3.12 (0.18) c	2.20 (0.23)	2.38 (0.24)	2.16 (0.23)
K-needle (mg g ⁻¹) ▪ †	5.82 (0.31) a	9.47 (0.34) b	10.12 (0.31) b	8.37 (0.60)	8.90 (0.60)	8.14 (0.57)
Ca-needle (mg g ⁻¹) ▪ †	1.93 (0.05) a	2.65 (0.11) b	2.43 (0.08) a	2.32 (0.10)	2.41 (0.15)	2.27 (0.09)
Mg-needle (mg g ⁻¹) †	1.58 (0.07)	1.59 (0.09)	1.65 (0.04)	1.60 (0.07)	1.57 (0.07)	1.65 (0.07)

▪ indicate that analyses took effect of seedling size into consideration and focused on residuals of the regression between the variable and the aboveground biomass. Each value is a mean (\pm SE) of 15 values. Different lower case letters indicate significant differences between harvesting treatments or topographical positions ($p < 0.05$, Tukey test). ‡ indicate values below the deficiency threshold in both sand culture and pot trials; † indicate values below the deficiency threshold only in pot trials ((van den Burg, 1985); details in Table 11).

4.4. Effects of ECM on seedling root properties and nutrient concentrations

SRL was highly affected by ECM composition but not root:shoot ratio (Table 10). The contact exploration type showed a positive effect on SRL, whereas other exploration types (short-, medium- and long-distances) and total number of root tips were related to a decrease in SRL values. With regards to plant nutrient concentrations, several relationships were significant (Table 10), most of them showing an improvement in nutritive status of seedlings. Ca, K and N needle concentrations significantly increased respectively with number of contacts, short- and long-distance exploration types, whereas a higher number of the medium-distance exploration type corresponded to a decrease in Ca concentration. Total number of root tips was linked positively to higher N, K and Mg concentrations.

Tableau 10 : Results of linear regression between ECM colonization, root properties and needle nutrient concentrations after removing effects due to harvesting treatments, topographical positions and seedling size.

	ECM colonization (%)	root Contact (nb/m of root)	SD (nb/m of root)	MD (nb/m of root)	LD (nb/m of root)	total nb of root tips / m of root
Root:shoot (g g ⁻¹)		0.05 \square				
Specific root length (m g ⁻¹)		0.32 ***	-(0.06) \square	-(0.31) ***	-(0.21) ***	-(0.24) ***
N-needle (mg g ⁻¹)					0.17 **	0.07 *
P-needle (mg g ⁻¹)						
K-needle (mg g ⁻¹)			0.17 **			0.21 **
Ca-needle (mg g ⁻¹)		0.12 *		-(0.11) *		
Mg-needle (mg g ⁻¹)						0.07 *

Values represent r² of regressions (n=45). Symbols next to these values indicate the significance of regressions (***, P<0.001; **, P<0.01; *, P<0.05; \square , P<0.1). Only significant regressions are shown. SD, MD and LD are for short-distance, medium-distance and long-distance exploration types respectively.

5. Discussion

5.1. Role of abiotic factors in ECM composition

Two results confirmed the influence of soil moisture and hence water availability on ECM composition: i) the influence of summer rainfall at the site and ii) the influence of topography. Significant differences in all ECM characteristics were observed among sites, suggesting that local environment plays an important role in shaping ECM communities. Correlation between

site environmental variables and ECM exploration types showed the positive influence of the summer rainfall during the first growing year on the number of contact exploration and a negative effect on the total number of root tips (Figure 40). These results suggest that meteorological conditions during the first months of establishment are more important than the historical climatic conditions at the sites. Contact exploration types, which are less carbon costly for the seedling, take up water more efficiently during rainfall events thanks to their hydrophilic mantle (Agerer, 2001). Conversely, seedlings develop more root tips in drier areas (Pena et al., 2013), which may increase mycorrhizal associations. Rainfall and soil water availability have been shown to be an important factor governing fungal communities (Bahram et al., 2012; Miyamoto et al., 2015; Shi et al., 2002; Tedersoo et al., 2012), but mainly by studying ECM species composition instead of exploration types. Jarvis et al. (2013), who looked at both species and exploration types in *Pinus sylvestris* across Scotland, found that soil moisture and precipitation were the main drivers of ECM species composition while temperature had an influence on exploration types. In our study, we could not test a link with temperature because of the small variation between our sites (less than 0.7°C differences for all temperature variables). Conversely, we found that summer precipitation had a strong influence on ECM composition with higher contact exploration types at the wettest sites.

Regarding topography, a greater number of contact exploration types were shown at the bottom position than the top position. These results could be explained by higher water (Pitaud, 1967) and nutrient availabilities in the lower topographical positions (Sewerniak and Jankowski, 2017), where the contact exploration types are more suitable because of their hydrophilic mantle, which allows them to be in closer contact with resources (Agerer, 2001). We expected the opposite pattern for long-distance exploration types which develop over a larger area and have greater mycelial expansion (Agerer, 2001). They are more likely to develop in stressful areas, but in our case, even though they tend to be more abundant at the top positions, the relationship was not significant. These results can be related to those observed by Bakker et al. (2006) from two mature stands of maritime pines varying in distance from the water table and nutrient availability. They found a greater proportion of contact exploration at the wet nutrient rich site and higher proportion of long-distance types at the dry nutrient poor site.

Another positive significant correlation was found between pH and medium-distance explorations. A shift in ECM composition, from species developing high extramatrical mycelium instead of smooth types, when pH increased has already been reported in field survey studies (e.g. Bahr et al., 2013) or liming experiments (e.g. Bakker et al., 2000).

5.2. Impact of forest management on ECM composition

In contradiction with our second hypothesis, we did not find any decrease of fungal root colonization with harvesting treatment, suggesting that the amount of fungal inoculum is still sufficient for the establishment of new seedlings the year after logging. It has been shown that forest practices similar to those used in our study may have a positive influence on ECM colonisation, and this may explain our results. More precisely: i) mechanical soil disturbance leaving organic matter in the topsoil layers may have less impact than those that remove or bury the organic layer (Lazaruk et al., 2008), ii) letting stumps in the forest stand during harvesting can have a positive impact on the maintenance of higher levels of fungal inoculum (Page-Dumroese et al., 1998) and iii) tree harvesting occurring in late autumn or winter also allows mycorrhizae to remain active longer in the soil (Jones et al., 2003).

We expected a potential gradient of soil moisture which decreases from forests to clear-cuts due to the microenvironment created by the canopies of the trees, and that this soil moisture could impact ECM composition (leading to a greater number of contact exploration types in forests and long-distance exploration types in clear-cuts). Instead, differences found between forests and seed-trees/clear-cuts in ECM composition indicated that logging and site preparation influenced ECM composition in a different way. During our binocular observations, we often found patches of contact exploration types encrusted in small pieces of decaying wood. Contact exploration types are known to develop more in soil with high organic matter content, being able to degrade lignin directly from dead wood or rotting leaves to increase access to nutrients (Agerer, 2001). The mechanical tillage used in the study sites probably incorporated a supply of dead wood into the topsoil layers, which could explain the greater number of contact exploration types in seed-trees and clear-cuts. Another explanation for this increase in contact exploration is the higher resilience of these exploration types to disturbance, because they can easily regenerate their reduced system of extramatrical hyphae (Tedersoo and Smith, 2013). Conversely, short- and medium-distance exploration types with a lot of hyphae and some rhizomorphs decreased, due to increasing the harvesting intensity. In addition to the lower resilience of these ECM, the growth of nearby mature trees could influence ECM colonization for new seedlings. Trees may maintain greater mycelial networks from which fungi could vegetatively colonize new hosts due to the close vicinity of their roots (Cline et al., 2005; Jonsson et al., 1999; Teste et al., 2009). This could be potentially more effective for exploration types with emanating hyphae. It has also been shown that ECM fungal propagules decreased sharply when isolated from a potential source, leading to a decrease in fungal colonization and diversity (Peay et al., 2012).

5.3. Impact of forest management on seedling characteristics

Morphological traits of seedlings were strongly impacted by harvesting treatment (15 out of the 17 variables studied showed significant differences; Table 9). As we had assumed, our results confirmed the light demanding characteristics of *Pinus pinaster* seedlings, which had higher above and below ground tissues, a greater stem diameter and higher needle nutrient concentrations in clear-cuts than in forests. As shown by Robakowski et al. (2004), seedlings growing under a higher level of light show greater net CO₂ assimilation rates and higher daily maximal photosynthetic rates, leading to a higher shoot biomass when light increases (Chen and Klinka, 1998; Elliott and White, 1994; Ingleby et al., 1998; Rodríguez-García and Bravo, 2013; Ruano et al., 2009). The observed increase of stem height and stem height:diameter ratio can also be interpreted as a shade avoidance response and are in agreement with previous results regarding these seedling traits (Chen and Klinka, 1998; Rodríguez-García and Bravo, 2013; Wang et al., 1994; Zavala et al., 2011).

Root biomass is also known to be improved in high light environments, but results regarding root:shoot ratio variations were heterogeneous, especially in the early stages. In *Pinus pinaster* seedlings, Rodríguez-García and Bravo (2013) showed a higher allocation to roots when light increased in a garden experiment, whereas Ruano et al. (2009) found no variations in root:shoot ratios in a field study with four harvesting intensities. These discrepancies may be due to differences in seedling size which affect root:shoot ratios (McConnaughay and Coleman, 1999). The increase of tap root length from forests to clear-cuts is probably due to soil moisture differences between harvesting treatments; seedlings in dry areas improve their water foraging capacity by having long and deep roots (Brunner et al., 2015; Markesteijn and Poorter, 2009).

Seedlings growing in forests had lower needle nutrient concentrations. Higher N and P concentrations in clear-cuts than in seed-trees could also be related to better nitrogen and phosphorus efficiency use in full light than in low light, as reported by Elliott and White (1994). In addition, the mechanical effect of logging and soil preparation carried out in clear-cuts and seed-trees could explain our results, as these can lead to an increase of mineralisation, thus causing a substantial release of mineral elements into the soil.

Overall, the sufficient level of nutrients observed in needles of our seedlings suggests that mycorrhizae may enable seedlings to overcome the nutritional stress of the local environment (Supplementary, Table 11).

5.4. Effects of ECM on seedling root development and nutritive status

ECM colonisation is associated with a modification in fine root morphology according to the different exploration types rather than a greater investment to the roots (Table 10). Mycorrhizal colonisation usually increases both shoot and root biomass, but the root:shoot ratios could be lower or higher in conifer seedlings depending on the amount of fungal tissue present (Alexander, 1981; Smith and Read, 2008). Indeed, the ECM fungal identity is the main factor determining fine root morphology (Ostonen et al., 2009) and aboveground biomass variations (Nara, 2006). ECM colonisation increased fine root diameter and decreased SRL, especially due to the mycelial mantle surrounding fine roots (Rousseau et al., 1994; Smith and Read, 2008). High SRL values suggest fast growth and intensive soil exploration. Thus, seedlings with lower SRL values will need more root tips and exploration types with a lot of hyphae or rhizomorphs to compensate the lower soil exploration area.

Plant nutrient concentration is greater with more root tips, and each exploration type is significantly associated to a single nutrient (Table 10). These results are consistent with our third hypothesis, and suggest that different functional types appear to be complementary for access to different nutrient sources. Several studies looking at functional diversity showed relationships with soil properties and nutrient availability, especially N (de Witte et al., 2017; Hobbie and Agerer, 2010; Jarvis et al., 2013; Lilleskov et al., 2011). Long-distance exploration types are able to prevent resources from leaching during transport with their hydrophobic rhizomorphs and would have a strong ability to acquire organic N (Hobbie and Agerer, 2010). However, this strategy is expensive in energy for the plant and thus such a strategy is competitively dominant only in lower nutrient environments where resources are rare and patchy, as in our sites. Our findings can be related to those of de Witte et al. (2017), who investigated ECM exploration types in several beech forests and found many correlations between exploration types and foliar concentrations or soil properties. Similarly to our results, they showed a positive relationship between contact exploration types and soil Ca (soil and foliar Ca were positively correlated in the study), together with a negative relationship between medium-distance exploration types and soil Ca. Furthermore, they found that a higher abundance of medium- and long-distance types was negatively associated to foliar N, and suggested that this might be due to the non N-limited environment in their study.

5.5. Can ECM explain failures of forest regeneration?

In the case where mycorrhization could be a factor involved in regeneration failures, we would expect that sites in failure areas (S3- and S4-) would have insufficient mycorrhization (in terms of root colonization or number of root tips), or would have a clearly different composition of ECM communities. However, failure sites have higher numbers of root tips and higher or equivalent root colonization, which is contrary to our first hypothesis. The four exploration types were found on seedlings at all sites and only the short-distance ones discriminated failure areas from successful areas in terms of exploration type composition (Figure 39 c). However, this exploration type was not specific of failure sites because it corresponded to the more prevalent exploration type on 4 of the 5 sites (and the second highest in S1+). The prevalence of the short-distance exploration type could be explained by the fungal identity which is the most representative of this exploration type, *Cenococcum geophilum*, and by the summer drought conditions occurring in our region. This species is known to be drought-tolerant and extremely resilient after drought (Pigott, 1982), allowing an early uptake of water and nutrients in the post-drought period (Kreuzwieser and Gessler, 2010). In addition, fast colonization of new seedlings could also be the result of frequent disturbances within these forests (fires, storms), which led to an early-seral ECM community (of which *Cenococcum* is a part) necessary to promote seedling establishment (Kranabetter et al., 2017).

A high diversity of exploration types was observed at all sites and throughout most of the individual root systems. This diversity may promote higher resilience of ECM communities to environmental changes, and suggests that fungal association is essential for the survival of young seedlings in the region even though it does not explain failure of regeneration in some specific areas. However, we should consider that by harvesting the seedlings during their first winter, we only have seedlings that have survived the dry summer conditions, which is probably the main cause of mortality in early establishment of maritime pine seedlings (Rodríguez-García et al., 2011a). Seedlings with lower mycorrhizal associations in both quantity and/or exploration type diversity (and *Cenococcum geophilum* in particular) may have died during the summer season and are thus missing from our sample, and this may be the main limit of our study.

6. Conclusions

Our results showed that ECM composition was affected by both harvesting and topography. In turn, mycorrhization appeared to be essential for early seedling establishment by improving the nutritive status of seedlings. However, in our context, ECM colonisation one year after logging does not seem to be linked to regeneration failures that occur in some specific areas. Other kinds of biotic interactions such as facilitation/competition with other plants, or herbivory should also be explored to understand such regeneration failures.

Supplementary Materials

Tableau 11 : nutrient threshold for pine seedlings A) in sand culture or B) in pot trial, from van der Burg (van den Burg, 1985).

A) Seedlings in sand culture	N (mg g ⁻¹)	P (mg g ⁻¹)	K (mg g ⁻¹)	Ca (mg g ⁻¹)	Mg (mg g ⁻¹)
<i>Pinus banksiana</i> Lamb.	13.5	1.60	3.00	1.00	1.40
<i>Pinus contorta</i> Dgl.	14.5	1.30	4.50	0.80	0.80
<i>Pinus elliotii</i> Engelm.	17.5	2.70	4.00	-	-
<i>Pinus taeda</i> L.	14.5	1.20	9.50	1.70	-
<i>Pinus resinosa</i> Ait.	15.5	1.35	3.75	0.35	0.60
<i>Pinus virginiana</i> Mill.	14.5	1.40	8.30	2.05	1.80
mean threshold	15.0	1.59	5.51	1.18	1.15

B) Seedlings in pot trial	N (mg g ⁻¹)	P (mg g ⁻¹)	K (mg g ⁻¹)	Ca (mg g ⁻¹)	Mg (mg g ⁻¹)
<i>Pinus pinaster</i> Ait.	14.1	1.20	21.00	-	-
<i>Pinus banksiana</i> Lamb.	23.5	2.30	7.55	1.60	2.00
<i>Pinus contorta</i> Dgl.	17.5	2.30	5.15	5.75	1.85
<i>Pinus elliotii</i> Engelm.	12.7	1.10	3.15	2.80	1.50
<i>Pinus nigra</i> Arnold	12.1	1.55	10.70	4.80	1.65
<i>Pinus taeda</i> L.	21.5	1.60	7.40	2.25	1.40
<i>Pinus resinosa</i> Ait.	23.5	1.70	3.90	2.20	1.50
<i>Pinus sylvestris</i> L.	18.1	1.65	5.00	4.70	0.95
mean threshold	17.9	1.68	7.98	3.44	1.55

Acknowledgements: We thank Nathalie Gallegos and Cathy Lambrot for soil and nutrient concentration analyses, Météo-France and Benoît Persyn for meteorological data acquisition, Aldyth Nys for revising the English, and three anonymous reviewers for constructive comments to the manuscript. We are very grateful to the “Office National des Forêts” (ONF), in particular Didier Canteloup, Francis Maugard and all staff working in the management of the study sites for the valuable help provided. The ONF staff were in charge of the implementation of seed-tree and clear-cut harvesting treatments. A. Guignabert was funded by a PhD grant by the Région Nouvelle-Aquitaine and Bordeaux Sciences Agro.

Chapitre IV : Synthèse des travaux et perspectives

1. Implication des résultats dans le cycle de régénération du pin maritime

1.1. Production et dispersion des graines

Le succès d'une régénération naturelle dépend tout d'abord du cycle de fructification, qui va déterminer la disponibilité en semences atteignant le sol. Nous avons observé une variation de la quantité de graines dispersées selon les années, selon les sites, mais également des variations annuelles propres à chaque site, suggérant le fort impact des conditions locales (caractéristiques du peuplement et conditions microclimatiques) impliquées dans cette phase. **La quantité de graines dispersée ne semble a priori pas un facteur limitant pour la régénération dans les forêts dunaires.** En effet, les quantités de graines retrouvées dans les pièges sont comparables aux peuplements espagnols, pour lesquels cette étape n'est pas considérée comme cruciale dans les échecs (Calama et al., 2017; Juez et al., 2014). De plus, notre site avec le moins de graines produites (S5+, 4 fois moins que le S2+) est également celui avec la plus forte densité de semis au bout de trois ans. Néanmoins, comme la quantité de graines très variable d'une année à l'autre, (la formation et la maturation des cônes étant en partie sous l'influence des conditions climatiques), elle pourrait devenir problématique dans les années à venir dans le contexte de réchauffement climatique (Mutke et al., 2005), surtout dans le cas d'utilisation de coupe rase (Ruano et al., 2015b). Par ailleurs, les deux sites situés au sein de la zone à forts problèmes de régénération ne diffèrent pas des autres en termes de quantité de graines dispersées, indiquant que ce facteur n'est pas discriminant pour expliquer les échecs récurrents de régénération au sein de la zone centrale de la forêt dunaire. Il existe encore cependant un manque de connaissances sur des sujets spécifiques tels que la quantité totale de graines produites annuellement, les facteurs climatiques affectant la production de fruits et de graines ou encore l'âge initial pour la fructification (Calama et al., 2017), et bien que cette étape ne semble pas limitante, elle reste une étape clé du cycle de régénération sur laquelle il est facile d'influer. En effet, l'ensemble du processus de régénération étant très complexe, il est plus « confortable » d'avoir une quantité de graines abondante au départ, étant donné

les nombreux facteurs de mortalité pesant sur les phases suivantes. **La coupe d'ensemencement et le semis de sécurité sont ainsi deux pratiques très efficaces pour augmenter ce stock de graines atteignant le sol.** La coupe d'ensemencement moins coûteuse, a un effet dans la durée alors que le semis a un effet ponctuel sur la régénération. **Le choix des semenciers à conserver devra se porter plutôt sur des arbres à forts diamètres et houppiers développés,** indicateurs de productions de cônes plus élevées (Bravo et al., 2017).

1.2. Banque de graines et germination

Une fois la graine arrivée au sol durant l'été, elle s'intègre à la banque du sol pour germer au printemps suivant. La persistance des graines dans le sol est réputée comme étant très faible chez la majorité des espèces de pins méditerranéens (Calama et al., 2017). Cependant, aucune étude n'a précisément évalué la longévité maximale des graines de pins dans le sol, bien que leur rôle dans le processus de régénération semble être mineur car elles sont probablement non-viables au-delà de deux ans (Martínez-Sánchez et al., 1995). Nos résultats sont en accord avec cette hypothèse de rôle minime, et semblent même montrer **une longévité rarement supérieure à un an.** Les suivis *in situ* concordent également, avec des germinations très faibles en 2^{ème} année et quasiment nulles en 3^{ème} année, pouvant venir à la fois de la banque de graines mais également de la pluie de graines des peuplements voisins en cas de forts épisodes venteux. Ainsi, **la quantité de graines apportées par la pluie de graines est primordiale, car c'est le seul approvisionnement de graines viables pour des germinations futures.** Cependant, les variations observées entre les sites (2 à 8% des graines issues de la pluie de graines donnent une plantule) laissent penser que cette étape peut être problématique dans certains sites.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces faibles taux de germinations et être impliqués dans les échecs de régénération : la viabilité des graines issues des semenciers, leur prédation post-dispersion, puis la disponibilité en microsites favorables.

La viabilité des graines peut aussi être impliquée dans des échecs de régénération naturelle. Notre expérimentation en serre a montré un pouvoir germinatif des graines d'environ 30% sur l'ensemble des sites. Ce pouvoir germinatif maximal est similaire à ceux observés sur un test en serre dans une étude sur la régénération du pin pignon en climat méditerranéen, avec des pourcentages de 24 à 38% selon les sites (Adili, 2012). Sur une base potentielle de 30 % de graines viables, seulement 2 à 8 % arrivent effectivement à germer *in situ*. **La prédation post-dispersion et/ou la disponibilité en microsites favorables sont donc fortement impliquées dans les faibles taux de germinations observés.**

La prédation post-dispersion est l'un des deux facteurs (avec la survie des plantules) étant identifié comme *bottleneck* sur les peuplements espagnols de pins maritimes, avec des taux de prédation s'élevant jusqu'à quasiment 100% (Calama et al., 2017; Ruano et al., 2015a), principalement par les rongeurs, mais également par les oiseaux et les fourmis. Ce facteur, déjà montré comme pouvant avoir un impact non négligeable dans les forêts dunaires d'Aquitaine une trentaine d'années auparavant (GEREA, 1990), n'a malheureusement pas pu être étudié dans le cadre de cette thèse. L'étude dédiée à cette étape n'a pas fonctionné de façon satisfaisante et il n'est pas possible d'en tirer des conclusions définitives. Cependant, les échantillons issus du dispositif mis en place (n=96, cf. §2.1. chapitre II) ont été récoltés et les graines comptabilisées. Bien que ce résultat soit à prendre avec précaution, cette expérience suggère un taux substantiel de prédation dans cette expérience, estimé à 37%. De plus, la présence de rongeurs sur le site est avérée, ce par les dégâts occasionnés aux plantules transplantées et leur observation récurrente grâce aux pièges photographiques.

Les graines prêtes à germer nécessitent aussi des conditions favorables dans le microsite où elles se retrouvent après dispersion: moins d'un tiers des graines parviennent ainsi à germer. Nos résultats ont mis en évidence **le rôle primordial de la disponibilité en eau au printemps pour la germination. Les microsites les plus humides, se situant dans les zones de creux en lien avec le microrelief, sont des sites favorables à la germination.** La litière, en cas de sécheresse (ce qui n'a pas été le cas durant notre étude) pourrait également favoriser la germination en conservant l'humidité (Liu et al., 2018). En pratique, bien que l'humidité du sol pourrait être supérieure sous la coupe d'ensemencement (Aussenac, 2000; Rodríguez-García et al., 2011a), il est difficile de relier nos résultats de germination du réseau de sites d'observations à la disponibilité en eau puisque ceux-ci n'étaient pas instrumentés et que de nombreux autres facteurs peuvent entrer en jeu, notamment la lumière (Ruano et al., 2009). Cependant, le site ayant une pluviométrie nettement supérieure (S5+), il est également celui avec le taux de germination le plus élevé (8%), suggérant que **les précipitations jouent un rôle notable dans notre étude dans l'étape de germination.**

La coupe d'ensemencement a un impact positif sur la germination dès la première année, de par les modifications du microclimat sous la canopée des arbres, et encore plus important les années suivantes par l'apport supplémentaire de graines, arguant ainsi pour l'évolution des pratiques locales vers ce type de coupe. Limiter l'aplanissement des sols (néfaste à la présence de micro-relief) par les engins sylvicoles et disperser les rémanents sur la parcelle peuvent aussi favoriser la germination (Castro et al., 2011; Valtera and

Schaetzl, 2017), mais également réduire la prédation des graines par les rongeurs (Nilson and Hjältén, 2003).

Par ailleurs, un paramètre pouvant également avoir son importance, mais non abordé dans cette étude, concerne l'allélopathie, interaction chimique négative pouvant fortement impacter la germination des espèces forestières (Fernandez et al., 2008) et notamment en présence d'*Ericacées* (Mallik, 2003). Une étude en laboratoire de Corcket et al. (2013) a montré l'impact négatif des feuilles fraîches d'arbousier sur la germination du pin maritime. Ainsi, les travaux préparatoires incorporant l'arbousier au sein de la litière pourraient être un facteur explicatif dans les faibles taux de germination étant donné le temps de résidence important des composés allélopathiques de l'arbousier dans le sol (Castaldi et al., 2009).

1.3. Installation des plantules (survie et croissance)

Nous avons testé et observer plusieurs facteurs pouvant réguler l'installation des plantules de pin maritime, les principaux étant l'effet des conditions climatiques et des interactions biotiques avec la végétation du sous-bois et les herbivores. Une étude complémentaire sur les mycorhizes a montré leur rôle dans la nutrition des jeunes pins mais ne nous permet pas d'établir un lien avec la survie et les échecs potentiels. Le facteur pathogène ne semble également pas impliqué dans l'installation des semis, aucun pin ne présentant des symptômes de potentielle maladie n'ayant été observé lors des campagnes de terrain dédiées à son étude (collaboration avec C. Robin, INRA BioGeCo) ou lors des suivis mensuels.

A l'inverse, nos résultats ont mis en évidence que la sécheresse estivale est la cause principale de mortalité dans notre écosystème forestier dunaire. L'impact de la sécheresse estivale varie selon sa sévérité, avec une mortalité pouvant aller jusqu'à 90% des plantules (été 2016). Bien que la première année, et notamment les semaines suivant l'émergence soient les plus sensibles (Keyes and Maguire, 2005; Rodríguez-García et al., 2011a), on observe que les pins dans leur deuxième année de croissance ne sont pas à l'abri de sécheresse intense. Les interactions de facilitation entre plantes à travers la présence d'un couvert végétal (végétation de sous-bois ou arbre mature) améliorant les conditions microclimatiques (réduction du déficit hydrique de l'air (VPD), augmentation de l'humidité) ont été montrées comme essentielles dans les milieux xériques (Barbeito et al., 2011; Gómez-Aparicio et al., 2008, 2004; Keyes and Maguire, 2005; Muhamed et al., 2013; Rodríguez-García et al., 2011b, 2011a). C'est en partie le cas dans notre étude. En effet, l'arbousier facilite la survie du pin au début de l'été. Mais cet effet se transforme en compétition quand la sécheresse continue, **résultant en un effet de l'interaction**

globalement nul sur l'ensemble de la saison estivale. La coupe d'ensemencement a, quant à elle, elle **un impact positif sur trois des cinq sites en réduisant la mortalité par sécheresse, dont les deux sites en échec.** L'impact d'un couvert sur la survie se caractérise principalement par une augmentation de l'humidité de l'air, résultats également observés sur la régénération des chênes dans les forêts atlantiques dunaires (Muhammed et al., 2013). Nous n'avons cependant pas étudié la relation à trois niveaux (plantules – arbousiers – pins), la canopée arborée pouvant modifier l'intensité des interactions. L'étude de Rodríguez-García et al. (2011a) suggère en effet que les semis d'espèces intolérantes à l'ombre peuvent être incapables de s'installer en pleine lumière, et que les interactions positives entre plantes observées en milieu ouvert peuvent être encore plus importantes dans les conditions plus modérées fournies par la présence d'un couvert forestier.

L'amélioration des conditions microclimatiques pour la survie peut également s'observer au niveau des bois morts ou sous les houppiers laissés sur le site, favorisant la survie des plantule (Castro et al., 2011). La potentielle compétition avec les espèces herbacées, connues pour leur capacité compétitrice pour l'eau et les nutriments, n'a pas été étudiée ici mais est généralement associée à des densités de pins plus réduites les années suivant la mise en régénération (González-Alday et al., 2009). Cependant, une étude locale n'a pas permis de distinguer des cortèges floristiques pionniers durant les trois années après coupe comme pouvant être caractéristiques de parcelles en échec ou en réussite de régénération (Romeyer and Lafon, 2015).

Nous avons aussi observé **un impact non négligeable des herbivores mais cependant très inégal entre nos deux types d'approches** : une faible mortalité due aux herbivores a été relevée sur l'ensemble des sites d'observation, avec **une absence de différence entre coupe rase et coupe d'ensemencement.** A l'inverse, des dommages importants sur le site expérimental ont été observés, notamment par les micromammifères. **L'effet très négatif de l'arbousier, en attirant les micromammifères,** est une possible explication. En effet les arbousiers ont été supprimés sur les sites d'observations.

A l'inverse, la présence de **l'arbousier devient positive lorsque l'on regarde la relation avec les cervidés, en protégeant le pin sous sa canopée.** De même, la présence d'arbres semenciers, bien que n'ayant pas d'impact sur la mortalité liée aux herbivores, a **un effet positif sur les abrouissements, moins nombreux en coupe d'ensemencement.**

En ce qui concerne la survie, l'impact des deux types de couvert est donc inverse. Maintenir des arbres semenciers semble être favorable majoritairement sur les deux sites en échec, en diminuant la mortalité due à la sécheresse, tout en réduisant les pourcentages de

pins abrutis. L'impact est neutre sur les deux sites aux extrémités nord et sud. Cet impact n'a pu être étudié qu'une année à cause du faible nombre de germinations en coupe rase les 2^{ème} et 3^{ème} années, et devrait être étudié lors d'épisodes de sécheresse plus intenses. **Cela n'empêche pas de diffuser plus largement la pratique de coupe d'ensemencement dès à présent.** L'arbousier a lui un impact global plus négatif. En effet, il ne permet pas d'atténuer suffisamment l'impact des mortalités estivales et au contraire il augmente la mortalité par effet attracteur des micromammifères.

Aussi, alors que la survie est favorisée par un couvert forestier, nos résultats montrent un effet inverse concernant la croissance. En effet, que ce soit **sous arbousier ou sous la canopée d'un peuplement, les pins sont plus étiolés à l'ombre**, produisent moins de biomasse, et ont moins de nutriments dans leurs aiguilles (Guignabert et al., 2018). Cette différence entre survie et croissance est un phénomène connu chez les conifères (Ricklefs and Miller, 2000) et les espèces de pins notamment, chez qui les semis recrutés sous des semenciers ont une survie plus élevée, mais dont les survivants ont un potentiel de croissance réduit (Keyes and Maguire, 2005; Rodríguez-García et al., 2011c, 2011a).

1.4. Conclusion

Nos résultats confirment que la régénération naturelle est un processus complexe, influencé par de nombreux facteurs environnementaux et d'autres liés à la gestion, pouvant être eux-mêmes en interaction. L'étude de la régénération d'une espèce et l'identification des facteurs potentiellement limitants reste donc compliquée, car l'installation d'une espèce passe par le franchissement de plusieurs étapes successives pouvant chacune engendrer des échecs. L'étude de chaque processus est important car les sites optimaux pour la survie des graines, puis l'émergence, puis la survie, peuvent être totalement différents et impacter fortement le recrutement d'un individu (Schupp, 1995). Dans notre contexte d'étude, les dernières étapes semblent les plus problématiques, avec seulement 2 à 8% des graines issues de la pluie de graines qui vont germer, puis une mortalité le premier été pouvant atteindre 90%. Ces deux étapes potentiellement critiques peuvent aboutir à des densités de plantules extrêmement faibles.

Plus précisément concernant la zone centrale de la forêt dunaire, il n'est également pas évident de mettre en avant un facteur principal expliquant les échecs de régénération. Nos résultats indiquent au contraire que c'est la conjonction de deux éléments qui peuvent expliquer le taux élevé d'échec de régénération dans la zone centrale ; les seuls paramètres discriminants étant **la survie plus faible et un taux d'abrutissement plus élevé.** Par ailleurs, bien que la topographie soit un aspect caractéristique de ces forêts et ait

un impact sur l'humidité du sol, nous n'avons pas observé de relation entre la position le long de la pente et les étapes clés du cycle de régénération (germination, survie, croissance), indiquant que ce facteur n'est pas responsable des échecs de régénération. L'effet de la coupe d'ensemencement positif à la fois pour la germination et la survie uniquement sur les deux sites de la zone centrale suggère qu'un facteur local puisse être en jeu. **La disponibilité en eau et la sécheresse sont les deux éléments principaux fortement impliqués respectivement dans la germination et la survie, suggérant que ce facteur local pourrait être d'ordre climatique.** Dans le contexte actuel de changement climatique, avec des sécheresses à venir de plus en plus longues et intenses, ce résultat est important et confirme le besoin d'adapter les pratiques sylvicoles dans ce contexte global afin d'éviter une augmentation des échecs de régénération. Le second paramètre discriminant la zone centrale du reste des forêts dunaires est le taux d'abrouissement, supérieur pour la zone en échec. Cette différence pourrait être due à la présence du vaste camp militaire du CELM (https://fr.wikipedia.org/wiki/DGA_Essais_de_missiles), dans lequel se situent notre site expérimental et nos deux sites d'observation S3- et S4-. En effet, bien que des plans de chasse existent pour le camp, la densité de cervidés semble y être plus élevée que dans le reste du cordon dunaire (ONF, 2006).

2. Limites et perspectives

2.1. Applications sylvicoles

A partir de l'ensemble de nos résultats, plusieurs recommandations peuvent être émises afin d'augmenter les chances de réussite de régénération, avec une application à adapter selon le niveau de réussite du secteur.

2.1.1. Coupe d'ensemencement et semis de sécurité

Les taux de germination étant faibles sur l'ensemble des sites, la coupe d'ensemencement est à privilégier sur l'ensemble des secteurs. Cependant, on peut distinguer les effets de la coupe d'ensemencement selon deux aspects : l'approvisionnement en graines, et l'atténuation des stress abiotiques sous la canopée des semenciers. Ces deux effets permettraient d'adapter l'intensité de coupe aux différents secteurs (secteurs en échec vs secteurs en réussite). Ainsi, sur les sites en réussite, une simple coupe d'ensemencement avec une densité d'arbres semenciers assez faible ($n = 25-30$; Rodríguez-García et al., 2010) serait suffisante, sans l'ajout d'un semis de sécurité. Sur les zones en échec, où l'objectif de la coupe d'ensemencement est également d'atténuer les stress abiotiques en

plus de l'apport en graines, la récolte lors de la coupe d'ensemencement pourrait être plus faible (prélèvement de la moitié seulement du peuplement initial ; Ruano et al., 2015b), et combinée à un semis de sécurité. La quantité de semis pourrait également être supérieure aux 3 kg/ha habituels grâce aux économies de graines réalisées via l'absence de semis sur les zones en réussite. Ce semis pourrait également être effectué sur sol humide dans la mesure du possible.

Dans les deux cas, la sélection de semenciers ayant un fort diamètre est à privilégier (Bravo et al., 2017; Juez et al., 2014).

2.1.2. Gestion de l'herbivorie

Nous avons montré que l'herbivorie était un facteur affectant négativement la régénération et principalement sur la zone à forts échec. Cela reste cependant un paramètre peu évident à intégrer dans la gestion sylvicole. Concernant les grands mammifères, deux actions peuvent être envisagées. La première consiste en la mise en place d'enclos. Mais cela reste une solution très coûteuse à mettre en place sur de grandes surfaces, et donc essentiellement utilisée actuellement pour illustrer les impacts des herbivores sur la régénération. La deuxième action possible consiste en l'augmentation des plans de chasses au sein de la zone en échec. Les efforts de chasses doivent être hiérarchiser spatialement, en les concentrant à proximité des zones mises en régénération (Beguin et al., 2016), mais doivent être également effectués dans la durée (Anouk Simard et al., 2008). Concernant les micromammifères, il est encore plus compliqué de réduire leurs dégâts, de par leur dynamique de population très variable (Merritt et al., 2001). On peut cependant proposer la mise en place de nichoirs pour les rapaces (faucons, chouettes) à proximité des zones en régénération, prédateurs dont la présence est avérée au sein des forêts dunaires. Réduire la pression de chasse sur les renards, autre prédateur des micromammifères, serait également bénéfique pour la régénération des peuplements.

2.1.3. Actions complémentaires

On peut enfin proposer des actions de gestions pour l'ensemble des sites indépendamment des statuts de régénération.

- Limiter l'aplanissement des sols pour favoriser la présence de micro-relief favorable à la germination, en réduisant notamment les passages des machines lourdes.
- Répartir les rémanents après la coupe plutôt que les laisser en tas pourrait également être envisagé pour favoriser la germination en conservant l'humidité du sol, mais cette solution

reste cependant à approfondir (interaction avec la disponibilité en lumière, lien avec la prédation des graines).

- Éliminer la végétation au moment de l'exploitation, puis une nouvelle fois deux à trois ans après la coupe par dégagement manuel (pour ne pas détruire les semis déjà présents) afin de favoriser la croissance des plantules de pin.

2.2. Processus écologiques à approfondir

Cette première étude de plusieurs étapes clés du cycle de régénération a montré le caractère complexe et multifactoriel du processus de régénération, avec une variabilité spatiale et temporelle importante des effets de ces multiples facteurs. L'étude des autres facteurs potentiellement impliqués, ainsi que l'approfondissement de ceux déjà étudiés dans cette étude restent donc nécessaires afin de sécuriser la régénération dans les forêts dunaires.

Dans notre étude, nous avons uniquement estimé la quantité de graines arrivant au sol, dernière partie de cette étape de production de graines. Des pertes potentielles de fructification et de graines peuvent également survenir pendant la durée du cycle de production, par avortement des cônes ou prédation des graines directement au sein des cônes sur les houppiers (punaise du pin par exemple). La fructification (i.e. nombre de cônes par arbre) semblant diminuer ces dernières années (observations ONF), évaluer les paramètres d'influence tels que le climat, la surface terrière ou la densité du peuplement sur la production de graines devrait être envisagé.

La prédation des graines de la banque du sol, facteur négatif important pouvant conduire à des échecs de régénération (Ruano et al., 2015a) et dont nous avons essayé de quantifier l'impact et la dynamique, devra de nouveau être étudiée.

L'étape concernant la germination est sans doute celle dont l'approfondissement est prioritaire, de par les très faibles taux de germination observés dans certains cas. Les nombreux facteurs potentiellement en jeu, conduisent à des résultats difficilement explicables (i.e. grosse différence de germination entre coupe rase et ensemencement uniquement sur les sites en échec). Nous avons confirmé l'influence primordiale de l'humidité du sol, à travers les précipitations (Dovčiak et al., 2003). La lumière pourrait avoir un rôle majeur également dans la germination (Ruano et al., 2009). Il serait donc intéressant d'étudier ce facteur *lumière*, à travers différentes intensités de coupe d'ensemencement, tout en complétant avec un traitement *irrigation* (par arrosage et/ou par exclusion de pluie) pour

étudier l'interaction avec l'humidité du sol. Instrumenter plusieurs sites en échec avec différents niveaux d'éclaircies pourrait également être envisagé.

Il serait aussi intéressant de tester *in situ* l'effet des composés allélopathiques des feuilles d'arbousiers, car l'interaction avec les conditions environnementales peut modifier l'effet des substances chimiques. De plus l'effet de la dose est important et les résultats obtenus par Corcket et al. (2013) ne reflètent probablement pas les concentrations observées *in situ*.

Contrairement à ce qui a été observé pour la germination, les facteurs étudiés et les résultats obtenus concernant la survie semblent plutôt clairs. Néanmoins, on pourrait envisager de : i) mieux comprendre les patrons temporels des attaques liées aux herbivores et le lien avec la gestion (fluctuations saisonnières, influence du type et de la période de coupe) ; ii) étudier et quantifier le rôle et l'impact des sangliers. En effet, le sanglier affecte la végétation forestière en se nourrissant à la fois des parties végétales aériennes et souterraines, mais aussi en perturbant et modifiant le fonctionnement du sol. Cela peut causer la mortalité des graines et/ou des plantules et influencer fortement le recrutement des espèces forestières (Bongi et al., 2017 ; Gómez and Hódar, 2008 ; Vallée et al., 2016). Bien que peu de mortalités ont été imputées au sanglier sans notre étude, l'espèce est très présente dans les forêts dunaires (affouillements régulièrement observés) et mériterait donc un examen spécifique ; iii) approfondir le rôle des mycorhizes en évaluant leur influence sur la survie, mais cela nécessite la production de plantules avec ou sans mycorhizes, puis une transplantation *in situ* avec un suivi régulier des mortalités. Cela ne semble cependant pas prioritaire au vu des résultats de notre étude préliminaire sur le sujet.

Références bibliographiques

- Achat, D.L., Deleuze, C., Landmann, G., Pousse, N., Ranger, J., Augusto, L., 2015. Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth – A meta-analysis. *For. Ecol. Manage.* 348, 124–141. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.03.042>
- Adili, B., 2012. Croissance , fructification et régénération naturelle des peuplements artificiels de Pin pignon (*Pinus pinea* L .) au nord de la Tunisie. Thèse de Doctorat - Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II.
- Adili, B., El Aouni, M.H., Balandier, P., 2013. Unravelling the influence of light, litter and understorey vegetation on *Pinus pinea* natural regeneration. *Forestry* 86, 297–304. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpt005>
- Agerer, R., 2001. Exploration types of ectomycorrhizae: A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza*. <https://doi.org/10.1007/s005720100108>
- Alexander, I.J., 1981. The *Picea sitchensis* + *Lactarius rufus* mycorrhizal association and its effects on seedling growth and development. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 76, 417–423. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(81\)80068-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80068-X)
- Alía, R., Martín, S., 2003. EUFORGEN: Technical guidelines for genetic conservation and use for Maritime pine (*Pinus pinaster*). *Int. Plant Genet. Resour. Inst.* 6.
- Allen, C.D., Macalady, A.K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D.D., Hogg, E.H. (Ted., Gonzalez, P., Fensham, R., Zhang, Z., Castro, J., Demidova, N., Lim, J.H., Allard, G., Running, S.W., Semerci, A., Cobb, N., 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For. Ecol. Manage.* 259, 660–684. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.001>
- Andivia, E., Madrigal-González, J., Villar-Salvador, P., Zavala, M.A., 2018. Do adult trees increase conspecific juvenile resilience to recurrent droughts? Implications for forest regeneration. *Ecosphere* 9, e02282. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2282>
- Anouk Simard, M., Côté, S.D., Weladji, R.B., Huot, J., 2008. Feedback effects of chronic browsing on life-history traits of a large herbivore. *J. Anim. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01374.x>
- Armas, C., Pugnaire, F.I., 2005. Plant interactions govern population dynamics in a semi-arid plant community. *J. Ecol.* 93, 978–989. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

2745.2005.01033.x

- Augusto, L., Bakker, M.R., Morel, C., Meredieu, C., Trichet, P., Badeau, V., Arrouays, D., Plassard, C., Achat, D.L., Gallet-Budynek, A., Merzeau, D., Canteloup, D., Najar, M., Ranger, J., 2010. Is 'grey literature' a reliable source of data to characterize soils at the scale of a region? A case study in a maritime pine forest in southwestern France. *Eur. J. Soil Sci.* 61, 807–822. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01286.x>
- Augusto, L., Meredieu, C., Bert, D., Trichet, P., Porté, A., Bosc, A., Lagane, F., Loustau, D., Pellerin, S., Danjon, F., Ranger, J., Gelpe, J., 2008. Improving models of forest nutrient export with equations that predict the nutrient concentration of tree compartments. *Ann. For. Sci.* 65, 808–808. <https://doi.org/10.1051/forest:2008059>
- Augusto, L., Ranger, J., Ponette, Q., Rapp, M., 2000. Relationships between forest tree species, stand production and stand nutrient amount. *Ann. For. Sci.* 57, 313–324. <https://doi.org/10.1051/forest:2000122>
- Aussenac, G., 2000. Interactions between forest stands and microclimate: Ecophysiological aspects and consequences for silviculture. *Ann. For. Sci.* 57, 287–301. <https://doi.org/10.1051/forest:2000119>
- Bahr, A., Ellström, M., Akselsson, C., Ekblad, A., Mikusinska, A., Wallander, H., 2013. Growth of ectomycorrhizal fungal mycelium along a Norway spruce forest nitrogen deposition gradient and its effect on nitrogen leakage. *Soil Biol. Biochem.* 59, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.004>
- Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Zarre, S., Tedersoo, L., 2012. Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. *New Phytol.* 193, 465–473. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03927.x>
- Bakker, M., Garbaye, J., Nys, C., 2000. Effect of liming on the ectomycorrhizal status of oak. *For. Ecol. Manage.* 126, 121–131. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00097-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00097-3)
- Bakker, M.R., Augusto, L., Achat, D.L., 2006. Fine root distribution of trees and understory in mature stands of maritime pine (*Pinus pinaster*) on dry and humid sites. *Plant Soil* 286, 37–51. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9024-4>
- Balandier, P., Collet, C., Miller, J.H., Reynolds, P.E., Zedaker, S.M., 2006. Designing forest vegetation management strategies based on the mechanisms and dynamics of crop tree competition by neighbouring vegetation. *Forestry* 79, 3–27. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpi056>
- Barbeito, I., LeMay, V., Calama, R., Cañellas, I., 2011. Regeneration of Mediterranean *Pinus sylvestris* under two alternative shelterwood systems within a multiscale framework. *Can. J. For. Res.* 41, 341–351. <https://doi.org/10.1139/X10-214>
- Barbosa, P., Hines, J., Kaplan, I., Martinson, H., Szczepaniec, A., Szendrei, Z., 2009.

- Associational Resistance and Associational Susceptibility: Having Right or Wrong Neighbors. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40, 1–20. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120242>
- Barker, J.S., Simard, S.W., Jones, M.D., Durall, D.M., 2013. Ectomycorrhizal fungal community assembly on regenerating Douglas-fir after wildfire and clearcut harvesting. *Oecologia* 172, 1179–1189. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2562-y>
- Beckage, B., Clark, J.S., 2003. Seedling survival and growth of three forest tree species: the role of spatial heterogeneity. *Ecology* 84, 1849–1861.
- Beguin, J., Pothier, D., Prévost, M., 2009. Can the impact of deer browsing on tree regeneration be mitigated by shelterwood cutting and strip clearcutting? *For. Ecol. Manage.* 257, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.013>
- Beguin, J., Tremblay, J.P., Thiffault, N., Pothier, D., Côté, S.D., 2016. Management of forest regeneration in boreal and temperate deer-forest systems: Challenges, guidelines, and research gaps. *Ecosphere* 7. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1488>
- Berbigier, P., Bonnefond, J., 1995. Measurement and modelling of radiation transmission within a stand of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *Ann. des Sci. For.* 52, 23–42. <https://doi.org/10.1051/forest:19950103>
- Bertness, M.D., Callaway, R., 1994. Positive interactions in communities. *Trends Ecol. Evol.* 9, 187–191. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90087-6)
- Bingham, M.A., Simard, S., 2012. Ectomycorrhizal Networks of *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* Trees Facilitate Establishment of Conspecific Seedlings Under Drought. *Ecosystems* 15, 188–199. <https://doi.org/10.1007/s10021-011-9502-2>
- Bochet, E., García-Fayos, P., Alborch, B., Tormo, J., 2007. Soil water availability effects on seed germination account for species segregation in semiarid roadslopes. *Plant Soil* 295, 179–191. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9274-9>
- Bongi, P., Tomaselli, A., Petraglia, A., Tintori, D., Carbognani, M., 2017. Wild boar impact on forest regeneration in the northern Apennines (Italy). *For. Ecol. Manage.* 391, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.028>
- Bonnet-Masimbert, M., 1975. La germination des graines de *Pinus Pinaster*: Mise en évidence du rôle de la lumière. *Ann. des Sci. For.* 32, 93–112.
- Boulant, N., Navas, M.-L., Corcket, E., Lepar, J., 2008. Habitat amelioration and associational defence as main facilitative mechanisms in Mediterranean grasslands grazed by domestic livestock. *Écoscience* 15, 407–415. <https://doi.org/10.2980/15-3-3126>
- Bravo, F., Maguire, D.A., González-Martínez, S.C., 2017. Factors affecting cone production in *Pinus pinaster* Ait.: lack of growth-reproduction trade-offs but significant effects of climate and tree and stand characteristics. *For. Syst.* 26, e07S.

<https://doi.org/10.5424/fs/2017262-11200>

- Brooker, R.W., Maestre, F.T., Callaway, R.M., Lortie, C.L., Cavieres, L.A., Kunstler, G., Liancourt, P., Tielbörger, K., Travis, J.M.J., Anthelme, F., Armas, C., Coll, L., Corcket, E., Delzon, S., Forey, E., Kikvidze, Z., Olofsson, J., Pugnaire, F., Quiroz, C.L., Saccone, P., Schiffrers, K., Seifan, M., Touzard, B., Michalet, R., 2008. Facilitation in plant communities: The past, the present, and the future. *J. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01295.x>
- Brunner, I., Herzog, C., Dawes, M.A., Arend, M., Sperisen, C., 2015. How tree roots respond to drought. *Front. Plant Sci.* 6, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00547>
- Bulleri, F., Xiao, S., Maggi, E., Benedetti-Cecchi, L., 2014. Intensity and temporal variability as components of stress gradients: implications for the balance between competition and facilitation. *Oikos* 123, 47–55. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2013.00604.x>
- Caccia, F.D., Chanton, E.J., Kitzberger, T., 2009. Direct and indirect effects of understory bamboo shape tree regeneration niches in a mixed temperate forest. *Oecologia* 161, 771–780. <https://doi.org/10.1007/s00442-009-1412-z>
- Calama, R., Manso, R., Lucas-Borja, M.E., Espelta, J.M., Piqué, M., Bravo, F., Del Peso, C., Pardos, M., 2017. Natural regeneration in Iberian pines: A review of dynamic processes and proposals for management. *For. Syst.* 26, eR02S. <https://doi.org/10.5424/fs/2017262-11255>
- Callaway, R.M., Walker, L.R., 1997. Competition and Facilitation: A Synthetic Approach to Interactions in Plant Communities. *Ecology* 78, 1958. <https://doi.org/10.2307/2265936>
- Canham, C.D., Berkowitz, A.R., Kelly, V.R., Lovett, G.M., Ollinger, S.V., Schnurr, J., 1996. Biomass allocation and multiple resource limitation in tree seedlings. *Can. J. For. Res.* 26, 1521–1530. https://doi.org/10.1007/978-3-540-87656-4_20
- Canham, C.D., McAninch, J.B., Wood, D.M., 1994. Effects of the frequency, timing, and intensity of simulated browsing on growth and mortality of tree seedlings. *Can. J. For. Res.* 24, 817–825. <https://doi.org/10.1139/x94-107>
- Carrilho, M., Teixeira, D., Santos-Reis, M., Rosalino, L.M., 2017. Small mammal abundance in Mediterranean Eucalyptus plantations: how shrub cover can really make a difference. *For. Ecol. Manage.* 391, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.01.032>
- Carson, W.P., Peterson, C.J., 1990. The role of litter in an old-field community: impact of litter quantity in different seasons on plant species richness and abundance. *Oecologia* 85, 8–13. <https://doi.org/10.1007/BF00317337>
- Castaldi, S., Carfora, A., Fiorentino, A., Natale, A., Messere, A., Miglietta, F., Cotrufo, M.F., 2009. Inhibition of net nitrification activity in a Mediterranean woodland: Possible role of chemicals produced by *Arbutus unedo*. *Plant Soil* 315, 273–283. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9750-x>

- Castro, J., Allen, C.D., Molina-Morales, M., Marañón-Jiménez, S., Sánchez-Miranda, Á., Zamora, R., 2011. Salvage Logging Versus the Use of Burnt Wood as a Nurse Object to Promote Post-Fire Tree Seedling Establishment. *Restor. Ecol.* 19, 537–544. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2009.00619.x>
- Castro, J., Zamora, R., Hódar, J.A., Gómez, J.M., 2005. Alleviation of summer drought boosts establishment success of *Pinus sylvestris* in a Mediterranean mountain: An experimental approach. *Plant Ecol.* 181, 191–202. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-6626-5>
- Castro, J., Zamora, R., Hódar, J.A., Gómez, J.M., Gómez-Aparicio, L., 2004. Benefits of Using Shrubs as Nurse Plants for Reforestation in Mediterranean Mountains: A 4-Year Study. *Restor. Ecol.* 12, 352–358. <https://doi.org/10.1111/j.1061-2971.2004.0316.x>
- Catovsky, S., Bazzaz, F.A., 2002. Feedbacks between canopy composition and seedling regeneration in mixed conifer broad-leaved forests. *Oikos* 98, 403–420. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980305.x>
- Cavieres, L.A., Vivas, M., Mihoc, M.A.K., Osses, D.A., Ortiz-Gutiérrez, J.M., Saéz, P.L., Bravo, L.A., 2018. The importance of facilitative interactions on the performance of *Colobanthus quitensis* in an Antarctic tundra. *J. Veg. Sci.* 29, 236–244. <https://doi.org/10.1111/jvs.12616>
- Chaneton, E.J., Noemi Mazía, C., Kitzberger, T., 2010. Facilitation vs. apparent competition: insect herbivory alters tree seedling recruitment under nurse shrubs in a steppe-woodland ecotone. *J. Ecol.* 98, 488–497. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01631.x>
- Charco, J., Perea, R., Gil, L., Nanos, N., 2016. Impact of deer rubbing on pine forests: implications for conservation and management of *Pinus pinaster* populations. *Eur. J. For. Res.* 135, 719–729. <https://doi.org/10.1007/s10342-016-0967-6>
- Chen, H.Y., Klinka, K., 1998. Survival, growth, and allometry of planted *Larix occidentalis* seedlings in relation to light availability. *For. Ecol. Manage.* 106, 169–179. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(97\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00309-5)
- Clark, J., Beckage, B., Camill, P., Cleveland, B., Hillerislambers, J., Lichter, J., 1999. Interpretation Recruitment Limitation in Forests. *Am. J. Bot.* 86, 1–16.
- Clark, J.S., Macklin, E., Wood, L., 1998. Stages and Spatial Scales of Recruitment Limitation in Southern Apalachians forests. *Ecol. Monogr.* 68, 213–235.
- Cline, E.T., Ammirati, J.F., Edmonds, R.L., 2005. Does proximity to mature trees influence ectomycorrhizal fungus communities of Douglas-fir seedlings? *New Phytol.* 166, 993–1009. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01387.x>
- Coll, L., Balandier, P., Picon-Cochard, C., Prévosto, B., Curt, T., 2003. Competition for water between beech seedlings and surrounding vegetation in different light and vegetation

- composition conditions. *Ann. For. Sci.* 60, 593–600.
<https://doi.org/10.1051/forest:2003051>
- Corcket, E., Bristiel, P., Fernandez, C., 2013. Processus d'allélopathie et régénération forestière dans les dunes littorales de Gascogne : premières études sur la germination et la persistance précoce des espèces forestières des dunes littorales.
- Cornett, M.W., Puettmann, K.J., Reich, P.B., 1998. Canopy type, forest floor, predation, and competition influence conifer seedling emergence and early survival in two Minnesota conifer-deciduous forests. *Can. J. For. Res.* 28, 196–205. <https://doi.org/10.1139/x97-196>
- Cornett, M.W., Reich, P.B., Puettmann, K.J., Frelich, L.E., 2000. Seedbed and moisture availability determine safe sites for early *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) regeneration. *Am. J. Bot.* 87, 1807–1814. <https://doi.org/10.2307/2656833>
- Cox, F., Barsoum, N., Lilleskov, E.A., Bidartondo, M.I., 2010. Nitrogen availability is a primary determinant of conifer mycorrhizas across complex environmental gradients. *Ecol. Lett.* 13, 1103–1113. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01494.x>
- Cuesta, B., Villar-Salvador, P., Puértolas, J., Rey Benayas, J.M., Michalet, R., 2010. Facilitation of *Quercus ilex* in Mediterranean shrubland is explained by both direct and indirect interactions mediated by herbs. *J. Ecol.* 98, 687–696. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01655.x>
- Curt, T., Coll, L., Prévosto, B., Balandier, P., Kunstler, G., 2005. Plasticity in growth, biomass allocation and root morphology in beech seedlings as induced by irradiance and herbaceous competition. *Ann. For. Sci.* 62, 51–60. <https://doi.org/10.1051/forest:2004092>
- Dahlberg, A., Schimmel, J., Taylor, A.F.S., Johannesson, H., 2001. Post-fire legacy of ectomycorrhizal fungal communities in the Swedish boreal forest in relation to fire severity and logging intensity. *Biol. Conserv.* 100, 151–161. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00230-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00230-5)
- Dale, V.H., Joyce, L.A., McNulty, S., Neilson, R.P., Ayres, M.P., Flannigan, M.D., Hanson, P.J., Irland, L.C., Lugo, A.E., Peterson, C.J., Simberloff, D., Swanson, F.J., Stocks, B.J., Wotton, B.M., 2001. Climate Change and Forest Disturbances : Climate change can affect forests by altering the frequency, intensity, duration, and timing of fire, drought, introduced species, insect and pathogen outbreaks, hurricanes, windstorms, ice storms, or landslides. *Bioscience* 51, 723–734. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0723:CCAFD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0723:CCAFD]2.0.CO;2)
- de la Cruz, M., Romao, R.L., Escudero, A., Maestre, F.T., 2008. Where do seedlings go? A spatio-temporal analysis of seedling mortality in a semi-arid gypsophyte. *Ecography (Cop.)*. 31, 720–730. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.05299.x>

- de Witte, L.C., Rosenstock, N.P., van der Linde, S., Braun, S., 2017. Nitrogen deposition changes ectomycorrhizal communities in Swiss beech forests. *Sci. Total Environ.* 605–606, 1083–1096. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.142>
- Defossez, E., 2012. Effets des interactions biotiques sur la régénération des forêts le long de gradients climatiques. Thèse de Doctorat - Université de Grenoble.
- Delerue, F., Gonzalez, M., Michalet, R., Pellerin, S., Augusto, L., 2015. Weak Evidence of Regeneration Habitat but Strong Evidence of Regeneration Niche for a Leguminous Shrub. *PLoS One* 10, e0130886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130886>
- den Herder, M., Kouki, J., Ruusila, V., 2009. The effects of timber harvest, forest fire, and herbivores on regeneration of deciduous trees in boreal pine-dominated forests. *Can. J. For. Res.* 39, 712–722. <https://doi.org/10.1139/X08-208>
- Díaz-Sierra, R., Verwijmeren, M., Rietkerk, M., de Dios, V.R., Baudena, M., 2017. A new family of standardized and symmetric indices for measuring the intensity and importance of plant neighbour effects. *Methods Ecol. Evol.* 8, 580–591. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12706>
- Díaz, M., Torre, I., Arrizabalaga, A., 2010. Relative roles of density and rainfall on the short-term regulation of Mediterranean wood mouse *Apodemus sylvaticus* populations. *Acta Theriol. (Warsz)*. 55, 251–260. <https://doi.org/10.4098/j.at.0001-7051.046.2009>
- Donath, T.W., Eckstein, R.L., 2010. Effects of bryophytes and grass litter on seedling emergence vary by vertical seed position and seed size. *Plant Ecol.* 207, 257–268. <https://doi.org/10.1007/s11258-009-9670-8>
- Dovčiak, M., Reich, P.B., Frelich, L.E., 2003. Seed rain, safe sites, competing vegetation, and soil resources spatially structure white pine regeneration and recruitment. *Can. J. For. Res.* <https://doi.org/10.1139/x03-115>
- Elliott, K.J., White, A.S., 1994. Effects of light, nitrogen, and phosphorus on red pine seedling growth and nutrient use efficiency. *For. Sci.* 40, 47–58.
- Facelli, J.M., Pickett, S.T.A., 1991. Plant litter: Its dynamics and effects on plant community structure. *Bot. Rev.* 57, 1–32. <https://doi.org/10.1007/BF02858763>
- FAO, 2015. Global Forest Resources Assessment 2015 - How are the world's forests changing? Rome.
- Fernandez, C., Voiriot, S., Mévy, J.P., Vila, B., Ormeño, E., Dupouyet, S., Bousquet-Mélou, A., 2008. Regeneration failure of *Pinus halepensis* Mill.: The role of autotoxicity and some abiotic environmental parameters. *For. Ecol. Manage.* <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.072>
- Fernandez, C.W., Nguyen, N.H., Stefanski, A., Han, Y., Hobbie, S.E., Montgomery, R.A., Reich, P.B., Kennedy, P.G., 2017. Ectomycorrhizal fungal response to warming is linked to poor host performance at the boreal-temperate ecotone. *Glob. Chang. Biol.* 23,

- 1598–1609. <https://doi.org/10.1111/gcb.13510>
- Fisher, J.T., Wilkinson, L., 2005. The response of mammals to forest fire and timber harvest in the North American boreal forest. *Mamm. Rev.* 35, 51–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2005.00053.x>
- Flores, J., Briones, O., 2001. Plant life-form and germination in a Mexican inter-tropical desert: Effects of soil water potential and temperature. *J. Arid Environ.* 47, 485–497. <https://doi.org/10.1006/jare.2000.0728>
- Forey, E., Chapelet, B., Vitasse, Y., Tilquin, M., Touzard, B., Michalet, R., 2008. The relative importance of disturbance and environmental stress at local and regional scales in French coastal sand dunes. *J. Veg. Sci.* 19, 493–502. <https://doi.org/10.3170/2008-8-18392>
- Gausсен, H., 1952. Les résineux d’Afrique du Nord. *Ecologie, reboisements. Rev. Int. Bot. appliquée d’agriculture Trop.* 32, 505–532. <https://doi.org/10.3406/jatba.1952.6543>
- Gendron, F., Messier, C., Comeau, P.G., 1998. Comparison of various methods for estimating the mean growing season percent photosynthetic photon flux density in forests. *Agric. For. Meteorol.* [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(98\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(98)00082-3)
- George, L.O., Bazzaz, F.A., 1999. the Fern Understory As an Ecological Filter: Emergence and Establishment of Canopy-Tree Seedlings. *Ecology* 80, 833–845. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[0833:TFUAAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[0833:TFUAAE]2.0.CO;2)
- GEREA, 1990. Etude de la prédation exercée par les vertébrés sur les graines de pin maritime dans les forêts dunaires. ONF, Université de Bordeaux I.
- Gill, D.S., Marks, P.L., 1991. Tree and Shrub Seedling Colonization of Old Fields in Central New York. *Ecol. Monogr.* 61, 183–205. <https://doi.org/10.2307/1943007>
- Gill, R.M.A., 1992. A review of damage by mammals in north temperate forests:3. Impact on trees and forests. *Forestry* 65, 363–388. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/forestry/65.4.363-a>
- Gómez, J.M., Hódar, J.A., 2008. Wild boars (*Sus scrofa*) affect the recruitment rate and spatial distribution of holm oak (*Quercus ilex*). *For. Ecol. Manage.* 256, 1384–1389. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.06.045>
- Gómez-Aparicio, L., 2008. Spatial patterns of recruitment in Mediterranean plant species: linking the fate of seeds, seedlings and saplings in heterogeneous landscapes at different scales. *J. Ecol.* 96, 1128–1140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01431.x>
- Gómez-Aparicio, L., Zamora, R., Castro, J., Hódar, J. a, 2008. Facilitation of tree saplings by nurse plants: Microhabitat amelioration or protection against herbivores? *J. Veg. Sci.* 19, 161–172. <https://doi.org/10.3170/2007-8-18347>
- Gómez-Aparicio, L., Zamora, R., Gómez, J.M., Hódar, J.A, Castro, J., Baraza, E., 2004.

- Applying plant facilitation to forest restoration: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecol. Appl.* 14, 1128–1138. <https://doi.org/10.1890/03-5084>
- González-Alday, J., Martínez-Ruiz, C., Bravo, F., 2009. Evaluating different harvest intensities over understory plant diversity and pine seedlings, in a *Pinus pinaster* Ait. natural stand of Spain. *Plant Ecol.* 201, 211–220. <https://doi.org/10.1007/s11258-008-9490-2>
- Graff, P., Aguiar, M.R., 2011. Testing the role of biotic stress in the stress gradient hypothesis. Processes and patterns in arid rangelands. *Oikos* 120, 1023–1030. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19059.x>
- Graff, P., Aguiar, M.R., Chaneton, E.J., 2007. Shifts in positive and negative plant interactions along a grazing intensity gradient. *Ecology* 88, 188–99. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2007\)88\[188:SIPANP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2007)88[188:SIPANP]2.0.CO;2)
- Gray, A., Spies, T., 1997. Microsite controls on tree seedling establishment in conifer forest canopy gaps. *Ecology* 78, 2458–2473.
- Greene, D.F., Johnson, E.A., 2003. Modelling the temporal variation in the seed production of North American trees. <https://doi.org/10.1139/X03-188>
- Greene, D.F., Johnson, E.A., 1999. Modelling recruitment of *Populus tremuloides*, *Pinus banksiana*, and *Picea mariana* following fire in the mixedwood boreal forest. *Can. J. For. Res.* <https://doi.org/10.1139/x98-211>
- Greene, D.F., Johnson, E.A., 1994. Estimating the Mean Annual Seed Production of Trees. *Ecology* 75, 642–647. <https://doi.org/10.2307/1941722>
- Grime, J.P., 1979. Plant strategies and vegetation processes 222.
- Grubb, P.J., 1977. The Maintenance of Species-Richness in Plant Communities: the Importance of the Regeneration Niche. *Biol. Rev.* 52, 107–145. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1977.tb01347.x>
- Guignabert, A., Delerue, F., Gonzalez, M., Augusto, L., Bakker, M., 2018. Effects of Management Practices and Topography on Ectomycorrhizal Fungi of Maritime Pine during Seedling Recruitment. *Forests* 9, 245. <https://doi.org/10.3390/f9050245>
- Guinaudeau, J., 1954. Germination du pin maritime. Résultats des expériences réalisées par l'annexe de la Station de Recherches à Bordeaux. *Rev. For. Française* 320–330.
- Guinaudeau, J., 1952. Germination du pin maritime. Premiers résultats d'expérience. *Rev. For. Française* 306–311.
- Guinaudeau, J., Castaing, G., 1963. Le Reboisement Des Dunes Maritimes. *Rev. For. Française* 387–400.
- Hamberg, L., Velmala, S.M., Sievänen, R., Kalliokoski, T., Pennanen, T., 2018. Early root growth and architecture of fast- and slow-growing Norway spruce (*Picea abies*) families differ—potential for functional adaptation. *Tree Physiol.* 38, 853–864.

<https://doi.org/10.1093/treephys/tpx159>

- Harmer, R., 2001. The effect of plant competition and simulated summer browsing by deer on tree regeneration. *J. Appl. Ecol.* 38, 1094–1103. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2001.00664.x>
- Harper, J.L., 1977. Population biology of plants.
- Harvey, a E., Jurgensen, M.F., Larsen, M.J., Schlieter, J. a, 1986. Distribution of active ectomycorrhizal short roots of the Inland Northwest: effects of site and disturbance. *Distrib. Act. ectomycorrhizal short roots Inl. Northwest Eff. site Disturb.* INT-374, 8.
- Harvey, A.E., Jurgensen, M.F., Larsen, M.J., Graham, R.T., 1987. Relationships among soil microsite, ectomycorrhizae, and natural conifer regeneration of old-growth forests in western Montana. *Can. J. For. Res.* 17, 58–62. <https://doi.org/10.1139/x87-011>
- He, Q., Bertness, M.D., Altieri, A.H., 2013. Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecol. Lett.* 16, 695–706. <https://doi.org/10.1111/ele.12080>
- Heithecker, T.D., Halpern, C.B., 2006. Variation in microclimate associated with dispersed-retention harvests in coniferous forests of western Washington. *For. Ecol. Manage.* 226, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.01.024>
- Herrera, C.M., Jordano, P., Guitián, J., Traveset, A., 1998. Annual variability in seed production by woody plants and the masting concept: reassessment of principles and relationship to pollination and seed dispersal. *Am. Nat.* 152, 576–594. <https://doi.org/10.1086/286191>
- Hjalten, J., Danell, K., Lundberg, P., 1993. Herbivore avoidance by association: Vole and hare utilization of woody plants. *Oikos* 68, 125–131. <https://doi.org/10.2307/3545317>
- Hobbie, E.A., Agerer, R., 2010. Nitrogen isotopes in ectomycorrhizal sporocarps correspond to belowground exploration types. *Plant Soil* 327, 71–83. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0032-z>
- Holzappel, C., Mahall, B.E., 1999. Bidirectional Facilitation and Interference between Shrubs and Annuals in the Mojave Desert. *Ecology* 80, 1747. <https://doi.org/10.2307/176564>
- Howison, R.A., Olf, H., Steever, R., Smit, C., 2015. Large herbivores change the direction of interactions within plant communities along a salt marsh stress gradient. *J. Veg. Sci.* 26, 1159–1170. <https://doi.org/10.1111/jvs.12317>
- Ibáñez, I., Schupp, E.W., 2001. Positive and negative interactions between environmental conditions affecting *Cercocarpus ledifolius* seedling survival. *Oecologia* 129, 543–550. <https://doi.org/10.1007/s004420100757>
- IFN, 2017. Inventaire Forestier National [WWW Document]. URL <https://inventaire-forestier.ign.fr/> (accessed 12.18.17).
- Ingleby, K., Munro, R.C., Noor, M., Mason, P.A., Clearwater, M.J., 1998. Ectomycorrhizal

- populations and growth of *Shorea parvifolia* (Dipterocarpaceae) seedlings regenerating under three different forest canopies following logging. *For. Ecol. Manage.* 111, 171–179. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00324-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00324-7)
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014, Climate Change 2014: Synthesis Report.* <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324>
- Jarvis, S., Woodward, S., Alexander, I.J., Taylor, A.F.S., 2013. Regional scale gradients of climate and nitrogen deposition drive variation in ectomycorrhizal fungal communities associated with native *Scots pine*. *Glob. Chang. Biol.* 19, 1688–1696. <https://doi.org/10.1111/gcb.12178>
- Jensen, A.M., Götmark, F., Löf, M., 2012. Shrubs protect oak seedlings against ungulate browsing in temperate broadleaved forests of conservation interest: A field experiment. *For. Ecol. Manage.* 266, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.11.022>
- Jones, M.D., Durall, D.M., Cairney, J.W.G., 2003. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00698.x>
- Jones, M.D., Twieg, B.D., Durall, D.M., Berch, S.M., 2008. Location relative to a retention patch affects the ECM fungal community more than patch size in the first season after timber harvesting on Vancouver Island, British Columbia. *For. Ecol. Manage.* 255, 1342–1352. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.10.042>
- Jonsson, L., Dahlberg, A., Nilsson, M.C., Kårén, O., Zackrisson, O., 1999. Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees. *New Phytol.* 142, 151–162. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00383.x>
- Juez, L., González-Martínez, S.C., Nanos, N., De-Lucas, A.I., Ordóñez, C., del Peso, C., Bravo, F., 2014. Can seed production and restricted dispersal limit recruitment in *Pinus pinaster* Aiton from the Spanish Northern Plateau? *For. Ecol. Manage.* 313, 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.033>
- Keeton, W.S., Franklin, J.F., 2005. Do remnant old-growth trees accelerate rates of succession in mature Douglas-fir forests? *Ecol. Monogr.* 75(1) 103-118.
- Keyes, C., Maguire, D., 2005. Positive seedling-shrub relationships in natural regeneration of ponderosa pine, *Ponderosa Pine: Issues, Trends and Management*, October 18-21, 2004, Klamath Falls, Oregon.
- Kikvidze, Z., Khetsuriani, L., Kikodze, D., Callaway, R.M., 2006. Seasonal shifts in competition and facilitation in subalpine plant communities of the central Caucasus. *J. Veg. Sci.* 17, 77–82. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2006.tb02425.x>
- Kilpeläinen, J., Barbero-López, A., Vestberg, M., Heiskanen, J., Lehto, T., 2017. Does severe soil drought have after-effects on arbuscular and ectomycorrhizal root colonisation and

- plant nutrition? *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3308-8>
- Kitajima, K., Fenner, M., 2000. Ecology of seedling regeneration., in: *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI, Wallingford, pp. 331–359. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0331>
- Koenig, W.D., Knops, J.M.H., 2000. Patterns of Annual Seed Production by Northern Hemisphere Trees: A Global Perspective. *Am. Nat.* 155, 59–69. <https://doi.org/10.1086/303302>
- Kozlowski, T.T., 2002. Physiological ecology of natural regeneration of harvested and disturbed forest stands: Implications for forest management. *For. Ecol. Manage.* 158, 195–221. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00712-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00712-X)
- Kranabetter, J.M., Haeussler, S., Wood, C., 2017. Vulnerability of boreal indicators (ground-dwelling beetles, understory plants and ectomycorrhizal fungi) to severe forest soil disturbance. *For. Ecol. Manage.* 402, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.07.008>
- Kreuzwieser, J., Gessler, A., 2010. Global climate change and tree nutrition: influence of water availability. *Tree Physiol.* 30, 1221–1234. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq055>
- Kuuluvainen, T., Juntunen, P., 1998. Seedling establishment in relation to microhabitat variation in a windthrow gap in a boreal *Pinus sylvestris* forest. *J. Veg. Sci.* 9, 551–562. <https://doi.org/10.2307/3237271>
- Lambert, J., Ameztegui, A., Delagrange, S., Messier, C., 2016. Birch and conifer deadwood favour early establishment and shade tolerance in yellow birch juveniles growing in sugar maple dominated stands. *Can. J. For. Res.* 46, 114–121. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0315>
- Lazaruk, L.W., Kernaghan, G., Macdonald, S.E., Khasa, D., 2005. Effects of partial cutting on the ectomycorrhizae of *Picea glauca* forests in northwestern Alberta. *Can. J. For. Res.* 35, 1442–1454. <https://doi.org/10.1139/x05-062>
- Lazaruk, L.W., Macdonald, S.E., Kernaghan, G., 2008. The effect of mechanical site preparation on ectomycorrhizae of planted white spruce seedlings in conifer-dominated boreal mixedwood forest. *Can. J. For. Res.* 38, 2072–2079. <https://doi.org/10.1139/X08-035>
- Ledo, A., Cañellas, I., Barbeito, I., Gordo, F.J., Calama, R.A., Gea-Izquierdo, G., 2014. Species coexistence in a mixed Mediterranean pine forest: Spatio-temporal variability in trade-offs between facilitation and competition. *For. Ecol. Manage.* 322, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.02.038>
- Lehto, T., Zwiazek, J.J., 2011. Ectomycorrhizas and water relations of trees: A review. *Mycorrhiza*. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0348-9>
- Lilleskov, E.A., Hobbie, E.A., Horton, T.R., 2011. Conservation of ectomycorrhizal fungi:

- exploring the linkages between functional and taxonomic responses to anthropogenic N deposition. *Fungal Ecol.* 4, 174–183. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.09.008>
- Liu, B., Liu, Q., Daryanto, S., Ma, X., Guo, S., Wang, L., Wang, Z., 2018. Seedling emergence and early growth of Chinese fir under different light levels and seed positions : implications for natural regeneration 8, 1–8.
- Löf, M., 2000. Establishment and growth in seedlings of *Fagus sylvatica* and *Quercus robur*: influence of interference from herbaceous vegetation. *Can. J. For. Res.* 30, 855–864. <https://doi.org/10.1139/cjfr-30-6-855>
- Löf, M., Dey, D.C., Navarro, R.M., Jacobs, D.F., 2012. Mechanical site preparation for forest restoration. *New For.* 43, 825–848. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9332-x>
- Louthan, A.M., Doak, D.F., Goheen, J.R., Palmer, T.M., Pringle, R.M., 2014. Mechanisms of plant-plant interactions: concealment from herbivores is more important than abiotic-stress mediation in an African savannah. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 281, 20132647–20132647. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2647>
- Lowe, S., Brown, M., Boudjelas, S., De Poorter, M., 2007. 100 Espèces Exotiques Envahissantes parmi les plus néfastes au monde. 12.
- Lucas-Borja, M.E., Silva-Santos, P., Fonseca, T.F., Tiscar Oliver, P.A., Lopez Serrano, F.R., Andres Abellan, M., Martinez Garcia, E., del Cerro Barja, A., 2010. Modelling Spanish black pine postdispersal seed predation in Central-eastern Spain. *For. Syst.* 19, 393–403. <https://doi.org/10.5424/fs/2010193-9104>
- Luis-Calabuig, E., Torres, O., Valbuena, L., Calvo, L., Marcos, E., 2002. Impact of large fires on a community of *Pinus pinaster*. *Fire Biol. Process.*
- Lyly, M., Klemola, T., Koivisto, E., Huitu, O., Oksanen, L., Korpimäki, E., 2014. Varying impacts of cervid, hare and vole browsing on growth and survival of boreal tree seedlings. *Oecologia* 174, 271–281. <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2761-1>
- Maestre, F.T., Cortina, J., 2004. Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 271, S331–S333. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2004.0181>
- Maillard, D., Casanova, J.B., 1994. Appétence du cerf de Corse (*Cervus elaphus corsicanus*) pour des arbres, arbustes et arbrisseaux méditerranéens. *Mammalia* 58, 371–381. <https://doi.org/10.1515/mamm.1994.58.3.371>
- Mallik, A.U., 2003. Conifer Regeneration Problems in Boreal and Temperate Forests with Ericaceous Understory: Role of Disturbance, Seedbed Limitation, and Keytone Species Change. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 22, 341–366. <https://doi.org/10.1080/713610860>
- Markestijn, L., Poorter, L., 2009. Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought- and shade-tolerance. *J. Ecol.* 97, 311–325.

- <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01466.x>
- Martínez-Sánchez, J.J., Marín, A., Herranz, J.M., Ferrandis, P., De las Heras, J., 1995. Effects of high temperatures on germination of *Pinus halepensis* Mill. and *P. pinaster* Aiton subsp. *pinaster* seeds in southeast Spain. *Vegetatio* 116, 69–72. <https://doi.org/10.1007/BF00045279>
- McConnaughay, K.D.M., Coleman, J.S., 1999. Biomass Allocation in Plants: Ontogeny or Optimality? A Test along Three Resource Gradients. *Ecology* 80, 2581. <https://doi.org/10.2307/177242>
- Merritt, J.F., Lima, M., Bozinovic, F., 2001. Seasonal regulation in fluctuating small mammal populations: feedback structure and climate. *Oikos* 94, 505–514. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.940312.x>
- Michalet, R., 2007. Highlighting the multiple drivers of change in interactions along stress gradients. *New Phytol.* 173, 3–6. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01949.x>
- Michalet, R., 2006. Is facilitation in arid environments the result of direct or complex interactions? *New Phytol.* 169, 3–6. <https://doi.org/10.1111/j.1468-8137.2006.01617.x>
- Michalet, R., Le Bagousse-Pinguet, Y., Maalouf, J.P., Lortie, C.J., 2014. Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: The collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. *J. Veg. Sci.* 25, 609–613. <https://doi.org/10.1111/jvs.12123>
- Miller, S.L., McClean, T.M., Stanton, N.L., Williams, S.E., 1998. Mycorrhization, physiognomy, and first-year survivability of conifer seedlings following natural fire in Grand Teton National Park. *Can. J. For. Res.* 28, 115–122. <https://doi.org/10.1139/x97-195>
- Miyamoto, Y., Sakai, A., Hattori, M., Nara, K., 2015. Strong effect of climate on ectomycorrhizal fungal composition: evidence from range overlap between two mountains. *ISME J.* 9, 1870–1879. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.8>
- Montoro Girona, M., Lussier, J.-M., Morin, H., Thiffault, N., 2018. Conifer Regeneration After Experimental Shelterwood and Seed-Tree Treatments in Boreal Forests: Finding Silvicultural Alternatives. *Front. Plant Sci.* 9, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01145>
- Moreno-Fernández, D., Montes, F., Sánchez-González, M., Gordo, F.J., Cañellas, I., 2018. Regeneration dynamics of mixed stands of *Pinus pinaster* Ait. and *Pinus pinea* L. in Central Spain. *Eur. J. For. Res.* 137, 17–27. <https://doi.org/10.1007/s10342-017-1086-8>
- Mousain, D., 1975. Effets de deux facteurs edaphiques (teneur en phosphore et qualité de la matière organique des sols) sur l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne du pin maritime (*Pinus pinaster* Soland. in Ait.). *Rev Ecol Biol Sol.*
- Muhamed, H., Lingua, E., Maalouf, J.-P., Michalet, R., 2015. Shrub-oak seedling spatial associations change in response to the functional composition of neighbouring shrubs in

- coastal dune forest communities. *Ann. For. Sci.* 72, 231–241.
<https://doi.org/10.1007/s13595-014-0419-8>
- Muhamed, H., Touzard, B., Le Bagousse-Pinguet, Y., Michalet, R., 2013. The role of biotic interactions for the early establishment of oak seedlings in coastal dune forest communities. *For. Ecol. Manage.* 297, 67–74.
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.02.023>
- Mutke, S., Gordo, J., Gil, L., 2005. Variability of Mediterranean Stone pine cone production: Yield loss as response to climate change. *Agric. For. Meteorol.* 132, 263–272.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2005.08.002>
- Nageleisen, L.-M., Pinon, J., Frey, P., Marçais, B., Frochet, H., Ningre, F., Wehrlen, L., Renaud, J.-P., 2002. Végétation accompagnatrice et agresseurs biotiques. *Rev. For. Française* 577. <https://doi.org/10.4267/2042/4945>
- Nara, K., 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol.* 169, 169–178. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01545.x>
- Nilson, M.E., Hjältén, J., 2003. Covering pine-seeds immediately after seeding: Effects on seedling emergence and on mortality through seed-predation. *For. Ecol. Manage.* 176, 449–457. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00308-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00308-0)
- Niollet, S., Gonzalez, M., Augusto, L., 2014. Conception d'un préleveur destiné à quantifier les banques de graines des sols. *Le Cah. des Tech. l'INRA* 81.
- Nopp-Mayr, U., Kempter, I., Mural, G., Gratzner, G., 2015. Herbivory on young tree seedlings in old-growth and managed mountain forests. *Ecol. Res.* 30, 479–491.
<https://doi.org/10.1007/s11284-015-1247-5>
- O'Brien, M.J., Pugnaire, F.I., Armas, C., Rodríguez-Echeverría, S., Schöb, C., 2017. The shift from plant-plant facilitation to competition under severe water deficit is spatially explicit. *Ecol. Evol.* 7, 2441–2448. <https://doi.org/10.1002/ece3.2875>
- Oleskog, G., Sahlén, K., 2000a. Determination of moisture conditions using *Pinus sylvestris* seeds as biosensors. *Scand. J. For. Research* 15, 68–74.
- Oleskog, G., Sahlén, K., 2000b. Effects of Seedbed Substrate on Moisture Conditions and Germination of *Pinus sylvestris* Seeds in a Clearcut. *Scand. J. For. Res.* 15, 225–236.
<https://doi.org/10.1080/028275800750015046>
- ONF, 2006. Directive régionale d'aménagement des dunes littorales de Gascogne 114.
- Orrock, J.L., Holt, R.D., Baskett, M.L., 2010. Refuge-mediated apparent competition in plant-consumer interactions. *Ecol. Lett.* 13, 11–20. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01412.x>
- Ostonen, I., Tedersoo, L., Suvi, T., Lõhmus, K., 2009. Does a fungal species drive ectomycorrhizal root traits in *Alnus* spp.? *Can. J. For. Res.* 39, 1787–1796.

<https://doi.org/10.1139/X09-093>

- Ouallet, P., 2012. Quels peuvent-être les facteurs écologiques responsables des échecs de régénération naturelle du pin maritime sur les dunes littorales des forêts domaniales de Biscarrosse et de Sainte-Eulalie? Mémoire - Bordeaux Sciences Agro et ONF.
- Page-Dumroese, D.S., Harvey, A.E., Jurgensen, M.F., Amaranthus, M.P., 1998. Impacts of soil compaction and tree stump removal on soil properties and outplanted seedlings in northern Idaho, USA. *Can. J. Soil Sci.* 78, 29–34. <https://doi.org/10.4141/S97-022>
- Peay, K.G., Schubert, M.G., Nguyen, N.H., Bruns, T.D., 2012. Measuring ectomycorrhizal fungal dispersal: macroecological patterns driven by microscopic propagules. *Mol. Ecol.* 21, 4122–4136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05666.x>
- Pena, R., Simon, J., Rennenberg, H., Polle, A., 2013. Ectomycorrhiza affect architecture and nitrogen partitioning of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings under shade and drought. *Environ. Exp. Bot.* 87, 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.11.005>
- Perea, R., Gil, L., 2014. Tree regeneration under high levels of wild ungulates: The use of chemically vs. physically-defended shrubs. *For. Ecol. Manage.* 312, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.022>
- Perrin, R., Garbaye, J., 1983. Influence of ectomycorrhizae on infectivity of *Pythium*-infested soils and substrates. *Plant Soil* 71, 345–351. <https://doi.org/10.1007/BF02182674>
- Perry, D.A., Molina, R., Amaranthus, M.P., 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. *Can. J. For. Res.* 17, 929–940. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Pigott, C.D., 1982. Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils. *New Phytol.* 92, 513–517. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03409.x>
- Pitaud, G., 1967. L'hydrogéologie et la végétation dans les dunes du littoral aquitain. PhD Thesis, Univ. Bordeaux.
- Pons, T.L., 2000. Seed responses to light, in: *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. <https://doi.org/10.1007/s10533-015-0092-5>
- Poorter, L., 2007. Are Species Adapted to Their Regeneration Niche, Adult Niche, or Both? *Am. Nat.* 169, 433–442. <https://doi.org/10.1086/512045>
- Porté, A., Bosc, A., Champion, I., Loustau, D., 2000. Estimating the foliage area of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Ann. For. Sci.* 57, 73–86. <https://doi.org/10.1051/forest:2000110>
- Potter, R.L., Ueckert, D.N., Petersen, J.L., McFarland, M.L., 1986. Germination of Fourwing Saltbush Seeds: Interaction of Temperature, Osmotic Potential, and pH. *J. Range Manag.* 39, 43. <https://doi.org/10.2307/3899685>
- Prévosto, B., Monnier, Y., Ripert, C., Fernandez, C., 2012. To what extent do time, species

- identity and selected plant response variables influence woody plant interactions? *J. Appl. Ecol.* 49, 1344–1355. <https://doi.org/10.1111/jpe.12000>
- Price, D.T., Zimmermann, N.E., van der Meer, P.J., Lexer, M.J., Leadley, P., Jorritsma, I.T.M., Schaber, J., Clark, D.F., Lasch, P., McNulty, S., Wu, J., Smith, B., 2001. Regeneration in gap models: priority issues for studying forest responses to climate change. *Clim. Change* 51, 475–508. <https://doi.org/10.1023/A:1012579107129>
- Probert, R.J., 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination., in: *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI, Wallingford, pp. 261–292. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0261>
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rameau, J.-C., Mansion, D., Dumé, G., 1989. *Flore Forestière Française: Plaines et collines*. Institut pour le développement forestier.
- Read, D.J., Leake, J.R., Perez-Moreno, J., 2004. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Can. J. Bot.* 82, 1243–1263. <https://doi.org/10.1139/b05-912>
- Reimoser, F., Gossow, H., 1996. Impact of ungulates on forest vegetation and its dependence on the silvicultural system. *For. Ecol. Manage.* 88, 107–119. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(96\)03816-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(96)03816-9)
- Rey, P.J., Alcántara, J.M., 2000. Recruitment dynamics of a fleshy-fruited plant (*Olea europaea*): connecting patterns of seed dispersal to seedling establishment. *J. Ecol.* 88, 622–633. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00472.x>
- Rice, E.L., 1984. *Allelopathy*. Elsevier Science.
- Ricklefs, R., Miller, G.L., 2000. *Ecology*, fourth ed. ed.
- Ritson, P., Sochacki, S., 2003. Measurement and prediction of biomass and carbon content of *Pinus pinaster* trees in farm forestry plantations, south-western Australia. *For. Ecol. Manage.* 175, 103–117. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00121-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00121-4)
- Robakowski, P., Wyka, T., Samardakiewicz, S., Kierzkowski, D., 2004. Growth, photosynthesis, and needle structure of silver fir (*Abies alba* Mill.) seedlings under different canopies. *For. Ecol. Manage.* 201, 211–227. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.06.029>
- Roberts, S.D., Harrington, C.A., Terry, T.A., 2005. Harvest residue and competing vegetation affect soil moisture, soil temperature, N availability, and Douglas-fir seedling growth. *For. Ecol. Manage.* 205, 333–350. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.10.036>
- Rodríguez-García, E., Bravo, F., 2013. Plasticity in *Pinus pinaster* populations of diverse origins: Comparative seedling responses to light and Nitrogen availability. *For. Ecol. Manage.* 307, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.06.046>

- Rodríguez-García, E., Bravo, F., Spies, T.A., 2011a. Effects of overstorey canopy, plant–plant interactions and soil properties on Mediterranean maritime pine seedling dynamics. *For. Ecol. Manage.* 262, 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.03.029>
- Rodríguez-García, E., Gratzer, G., Bravo, F., 2011b. Climatic variability and other site factor influences on natural regeneration of *Pinus pinaster* Ait. in Mediterranean forests. *Ann. For. Sci.* 68, 811–823. <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0078-y>
- Rodríguez-García, E., Juez, L., Bravo, F., 2010. Environmental influences on post-harvest natural regeneration of *Pinus pinaster* Ait. in Mediterranean forest stands submitted to the seed-tree selection method. *Eur. J. For. Res.* 129, 1119–1128. <https://doi.org/10.1007/s10342-010-0399-7>
- Rodríguez-García, E., Ordóñez, C., Bravo, F., 2011c. Effects of shrub and canopy cover on the relative growth rate of *Pinus pinaster* Ait. seedlings of different sizes. *Ann. For. Sci.* 68, 337–346. <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0039-5>
- Romeyer, K., Lafon, P., 2015. Etude des végétations de coupes forestières des dunes littorales d'Aquitaine: typologie phytosociologique, dynamique et lien avec la problématique de régénération de *Pinus pinaster* Aiton, 1789.
- Rosalino, L.M., Ferreira, D., Leitão, I., Santos-Reis, M., 2011. Usage patterns of Mediterranean agro-forest habitat components by wood mice *Apodemus sylvaticus*. *Mamm. Biol. - Zeitschrift für Säugetierkd.* 76, 268–273. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2010.08.004>
- Rotundo, J.L., Aguiar, M.R., 2005. Litter effects on plant regeneration in arid lands: A complex balance between seed retention, seed longevity and soil-seed contact. *J. Ecol.* 93, 829–838. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01022.x>
- Rousseau, J. V.D., Sylvia, D.M., Fox, A.J., 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. *New Phytol.* 128, 639–644. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04028.x>
- Royo, A.A., Carson, W.P., 2008. Direct and indirect effects of a dense understory on tree seedling recruitment in temperate forests: habitat-mediated predation versus competition. *Can. J. For. Res.* 38 1634-1645. 38, 1634–1645. <https://doi.org/10.1139>
- Ruano, I., del Peso, C., Bravo, F., 2015a. Post-dispersal predation of *Pinus pinaster* Aiton seeds: key factors and effects on belowground seed bank. *Eur. J. For. Res.* 134, 309–318. <https://doi.org/10.1007/s10342-014-0853-z>
- Ruano, I., Manso, R., Fortin, M., Bravo, F., 2015b. Extreme climate conditions limit seed availability to successfully attain natural regeneration of *Pinus pinaster* in sandy areas of central Spain. *Can. J. For. Res.* 45, 1795–1802. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2015-0257>
- Ruano, I., Pando, V., Bravo, F., 2009. How do light and water influence *Pinus pinaster* Ait. germination and early seedling development? *For. Ecol. Manage.* 258, 2647–2653.

<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.027>

- Saccone, P., Delzon, S., Pagès, J.-P., Brun, J.-J., Michalet, R., 2009. The role of biotic interactions in altering tree seedling responses to an extreme climatic event. *J. Veg. Sci.* 20, 403–414. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2009.01012.x>
- Sardin, T., 2009. Guide des sylvicultures Forêts littorales atlantiques dunaires. ONF ed. p.175.
- Savoie, J.-M., 1990. Catalogue des types de station forestière des dunes littorales aquitaines et du Marensin. Office National des Forêts, Bordeaux.
- Savoie, J.-M., 1989. Pré-étude pour une typologie des stations forestières des dunes littorales aquitaines et du Marensin (Gironde et Landes). Office National des Forêts, Bordeaux.
- Schupp, E.W., 1995. Seed-Seedling Conflicts, Habitat Choice, and Patterns of Plant Recruitment. *Am. J. Bot.* 82, 399. <https://doi.org/10.2307/2445586>
- Sewerniak, P., Jankowski, M., 2017. Topographically-controlled site conditions drive vegetation pattern on inland dunes in Poland. *Acta Oecologica* 82, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2017.06.003>
- Shi, L., Guttenberger, M., Kottke, I., Hampp, R., 2002. The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* 12, 303–311. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0197-2>
- Simon, N.P., Stratton, C., Forbes, G., Schwab, F., 2002. Similarity of small mammal abundance in post-fire and clearcut forests. *For. Ecol. Manage.* 165, 163–172. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00613-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00613-2)
- Slankis, V., 1974. Soil Factors Influencing Formation of Mycorrhizae. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12, 437–457. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.12.090174.002253>
- Smit, C., Rietkerk, M., Wassen, M.J., 2009. Inclusion of biotic stress (consumer pressure) alters predictions from the stress gradient hypothesis. *J. Ecol.* 97, 1215–1219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01555.x>
- Smith, S.E., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition), Academic Press.
- Soliveres, S., García-Palacios, P., Castillo-Monroy, A.P., Maestre, F.T., Escudero, A., Valladares, F., 2011. Temporal dynamics of herbivory and water availability interactively modulate the outcome of a grass-shrub interaction in a semi-arid ecosystem. *Oikos* 120, 710–719. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18993.x>
- Sthultz, C.M., Gehring, C.A., Whitham, T.G., 2007. Shifts from competition to facilitation between a foundation tree and a pioneer shrub across spatial and temporal scales in a semiarid woodland. *New Phytol.* 173, 135–145. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01915.x>

- Suding, K.N., Goldberg, D.E., 1999. Variation in the effects of vegetation and litter on recruitment across productivity gradients. *J. Ecol.* 87, 436–449. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00367.x>
- Táلامo, A., Barchuk, A.H., Garibaldi, L.A., Trucco, C.E., Cardozo, S., Mohr, F., 2015. Disentangling the effects of shrubs and herbivores on tree regeneration in a dry Chaco forest (Argentina). *Oecologia* 178, 847–854. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3269-7>
- Tedersoo, L., Bahram, M., Toots, M., Diédhiou, A.G., Henkel, T.W., Kjøller, R., Morris, M.H., Nara, K., Nouhra, E., Peay, K.G., Pölme, S., Ryberg, M., Smith, M.E., Kõljalg, U., 2012. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Mol. Ecol.* 21, 4160–70. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05602.x>
- Tedersoo, L., Smith, M.E., 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biol. Rev.* 27, 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2013.09.001>
- Tennant, D., 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* 63, 995–1001.
- Teste, F.P., Simard, S.W., Durall, D.M., Guy, R.D., Jones, M.D., Schoonmaker, A.L., 2009. Access to mycorrhizal networks and roots of trees: importance for seedling survival and resource transfer. *Ecology* 90, 2808–2822. <https://doi.org/10.1890/08-1884.1>
- Thivolle-Cazat, A., 2013. Disponibilité en bois en Aquitaine de 2012 à 2025 - Rapport final.
- Tielborger, K., Kadmon, R., 2000. Temporal Environmental Variation Tips the Balance between Facilitation and Interference in Desert Plants. *Ecology* 81, 1544. <https://doi.org/10.2307/177305>
- Tielborger, K., Kadmon, R., 1995. Effect of shrubs on emergence, survival and fecundity of four coexisting annual species in a sandy desert ecosystem. *Ecoscience* 2, 141–147. <https://doi.org/10.1080/11956860.1995.11682278>
- Torres, R.C., Renison, D., 2016. Indirect facilitation becomes stronger with seedling age in a degraded seasonally dry forest. *Acta Oecologica* 70, 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2015.12.006>
- Torres, R.C., Renison, D., 2015. Effects of vegetation and herbivores on regeneration of two tree species in a seasonally dry forest. *J. Arid Environ.* 121, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.05.002>
- Tremblay, J.P., Huot, J., Potvin, F., 2007. Density-related effects of deer browsing on the regeneration dynamics of boreal forests. *J. Appl. Ecol.* 44, 552–562. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2007.01290.x>
- Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J., Wardle, D.A., 2008. Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01250.x>

- Valladares, F., Niinemets, Ü., 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39, 237–257. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506>
- Vallée, M., Lebourgeois, F., Baudet, E., Saïd, S., Klein, F., 2016. Le sanglier en Europe : une menace pour la biodiversité? *Rev. For. Française.* LXVIII. 6. 505–518
- Valtera, M., Schaetzl, R.J., 2017. Pit-mound microrelief in forest soils: Review of implications for water retention and hydrologic modelling. *For. Ecol. Manage.* 393, 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.048>
- van den Burg, J., 1985. Foliar Analysis for Determination of Tree Nutrient Status: A Compilation of Literature Data. De Dorschkamp.
- Van Tichelen, K.K., Colpaert, J. V., Vangronsveld, J., 2001. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytol.* 150, 203–213. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00081.x>
- Velamazán, M., Miguel, A.S., Escribano, R., Perea, R., 2018. Compatibility of regeneration silviculture and wild ungulates in a Mediterranean pine forest : implications for tree recruitment and woody plant diversity 2.
- Verwijmeren, M., Rietkerk, M., Wassen, M.J., Smit, C., 2013. Interspecific facilitation and critical transitions in arid ecosystems. *Oikos* 122, 341–347. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.00111.x>
- Viglas, J.N., Brown, C.D., Johnstone, J.F., 2013. Age and size effects on seed productivity of northern black spruce. *Can. J. For. Res.* 43, 534–543. <https://doi.org/10.1139/cjfr-2013-0022>
- von Arx, G., Graf Pannatier, E., Thimonier, A., Rebetez, M., 2013. Microclimate in forests with varying leaf area index and soil moisture: potential implications for seedling establishment in a changing climate. *J. Ecol.* 101, 1201–1213. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12121>
- Wagner, S., Fischer, H., Huth, F., 2011. Canopy effects on vegetation caused by harvesting and regeneration treatments. *Eur. J. For. Res.* 130, 17–40. <https://doi.org/10.1007/s10342-010-0378-z>
- Wahid, N., Bounoua, L., 2013. The relationship between seed weight, germination and biochemical reserves of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Morocco. *New For.* 44, 385–397. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9348-2>
- Wang, B., Qiu, Y.-L., 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16, 299–363. <https://doi.org/10.1007/s00572-005-0033-6>
- Wang, G.G., Qian, H., Klinka, K., 1994. Growth of *Thuja plicata* seedlings along a light gradient. *Can. J. Bot.* 72, 1749–1757. <https://doi.org/10.1139/b94-215>
- Warren, J.M., Brooks, J.R., Meinzer, F.C., Eberhart, J.L., 2008. Hydraulic redistribution of

- water from *Pinus ponderosa* trees to seedlings: evidence for an ectomycorrhizal pathway. *New Phytol.* 178, 382–394. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02377.x>
- Warton, D.I., Hui, F.K.C., 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92, 3–10. <https://doi.org/10.1890/10-0340.1>
- Will, R.E., Wilson, S.M., Zou, C.B., Hennessey, T.C., 2013. Increased vapor pressure deficit due to higher temperature leads to greater transpiration and faster mortality during drought for tree seedlings common to the forest-grassland ecotone. *New Phytol.* 200, 366–374. <https://doi.org/10.1111/nph.12321>
- Xie, L.-N., Guo, H.-Y., Liu, Z., Gabler, C.A., Chen, W.-Z., Gu, S., Ma, C.-C., 2017. Shrubs facilitate recruitment of *Caragana stenophylla* Pojark: microhabitat amelioration and protection against herbivory. *Ann. For. Sci.* 74, 70. <https://doi.org/10.1007/s13595-017-0668-4>
- Xiong, S., Nilsson, C., 1999. The effects of plant litter on vegetation: a meta-analysis. *J. Ecol.* 87, 984–994. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00414.x>
- Zadworny, M., Eissenstat, D.M., 2011. Contrasting the morphology, anatomy and fungal colonization of new pioneer and fibrous roots. *New Phytol.* 190, 213–221. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03598.x>
- Zamora, R., Gómez, J.M., Hódar, J. a., Castro, J., García, D., 2001. Effect of browsing by ungulates on sapling growth of Scots pine in a mediterranean environment: Consequences for forest regeneration. *For. Ecol. Manage.* 144, 33–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(00\)00362-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(00)00362-5)
- Zamorano, J.G., Hokkanen, T., Lehtikoinen, A., 2018. Climate-driven synchrony in seed production of masting deciduous and conifer tree species. *J. Plant Ecol.* 11, 180–188. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtw117>
- Zanoni, T.A., Farjon, A., 1999. World Checklist and Bibliography of Conifers. *Brittonia* 51, 76. <https://doi.org/10.2307/2666560>
- Zavala, M.A., Espelta, J.M., Caspersen, J., Retana, J., 2011. Interspecific differences in sapling performance with respect to light and aridity gradients in Mediterranean pine–oak forests: implications for species coexistence. *Can. J. For. Res.* 41, 1432–1444. <https://doi.org/10.1139/x11-050>
- Zhang, G., Zhao, W., Zhou, H., Yang, Q., Wang, X., 2018. Extreme drought stress shifts net facilitation to neutral interactions between shrubs and sub-canopy plants in an arid desert. *Oikos* 127, 381–391. <https://doi.org/10.1111/oik.04630>
- Zhang, R., Hu, X., Baskin, J.M., Baskin, C.C., Wang, Y., 2017. Effects of Litter on Seedling Emergence and Seed Persistence of Three Common Species on the Loess Plateau in Northwestern China. *Front. Plant Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00103>

Annexe : Article publié

Article

Effects of Management Practices and Topography on Ectomycorrhizal Fungi of Maritime Pine during Seedling Recruitment

Arthur Guignabert ^{1,*} , Florian Delerue ^{2,3}, Maya Gonzalez ¹, Laurent Augusto ¹ and Mark R. Bakker ¹ 

¹ UMR 1391 ISPA (Atmosphere Plant Soil Interactions), Bordeaux Sciences Agro, INRA, 33140 Villenave d'Ornon, France; maya.gonzalez@agro-bordeaux.fr (M.G.); laurent.augusto@inra.fr (L.A.); mark.bakker@inra.fr (M.R.B.)

² Bordeaux INP, G&E, EA 4592, F-33600 Pessac, France; florian.delerue@bordeaux-inp.fr

³ Georesources & Environment, Bordeaux Montaigne University, EA 4592, F-33600 Pessac, France

* Correspondence: arthur.guignabert@inra.fr; Tel.: +33-5-5712-2523

Received: 13 April 2018; Accepted: 2 May 2018; Published: 3 May 2018



Abstract: Symbiosis with ectomycorrhizal (ECM) fungi can be important for regeneration success. In a context of increasing regeneration failures in the coastal forest of maritime pine in Southwest France, we tried to identify whether differences in ECM communities could partly explain the variation of regeneration success and how they are influenced by forest practices and stand characteristics. In particular, we focused on the effects of harvesting methods (comparing mature forest with seed-tree regeneration and clear-cuts) and topography (bottom-, mid-, and top positions). Five field trials (two in regeneration failure areas and three in successful areas) were used to sample 450 one-year-old seedlings. Assessments of ECM of seedling nutrient concentrations and of seedling growth based on exploration types were made. ECM root colonisation was similar in all harvesting treatments, suggesting that enough inoculum remained alive after logging. Harvesting-induced effects modifying soil properties and light availability respectively impacted ECM composition and seedling growth. Topography-induced variations in water and nutrient availability led to changes in ECM composition, but had little impact on seedling growth. Contact, short-distance, and long-distance exploration types improved the nutritional status of seedlings (Ca, K, and N), showing that mycorrhization could play an important role in seedling vitality. However, neither ECM root colonisation nor exploration types could be related to regeneration failures.

Keywords: Ectomycorrhizal fungi; *Pinus pinaster*; seedlings; natural regeneration; harvesting practices; topography; precipitation

1. Introduction

Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait in Soland) is the dominant forestry tree species in south-western France, covering almost one million ha [1]. Most of the forest range in the interior land plains is renewed by planting, whereas natural regeneration is used in the coastal area, which represents 10% of this forest [1]. In addition to wood production, these coastal forests have a multifunctional role, including soil erosion protection, preservation of biodiversity, and tourism/public usage [2]. To accommodate these multiple objectives, the use of natural regeneration to renew forest stands limits soil disturbance (no soil ploughing, such as before plantations) and improves the conservation of genetic diversity and the capacity of forests to adapt to global change. However, in recent years, regeneration failures have increased in some areas, leading to significant economic losses [2,3]. The regeneration status is

estimated by counting the number of seedlings two to three years after clearcutting: regeneration is considered successful if the number of seedlings per hectare is higher than 3000; failed if there are less than 1500 seedlings/ha; and semi-successful (i.e., it could be sufficient, but the stand should remain under surveillance) if the number of seedlings is between these two thresholds [2].

The period between germination and seedling establishment is often a crucial step in the process of natural regeneration [4,5], and is well-known to depend on soil, climate, and biotic factors [6–8]. This is particularly the case for forests that have soil seed banks with a short life lifespan (such as maritime pine) where regeneration occurs from the soil seed bank after clear-cutting. In areas where regeneration failures are observed, “security sowing” is generally applied to ensure regeneration [2]. One of the most important biotic factors involved in natural regeneration, but which is often overlooked, is the association between plants and ectomycorrhizae (ECM) fungi [9–11]. Throughout their extramatrical mycelial network, ECM fungi can represent up to 75% of the absorptive area and over 99% of the absorptive length [12]. This symbiotic relationship, obligatory for almost all conifer species, provides water and nutrients to the seedling in exchange for carbohydrates, thus improving seedling growth, nutrient concentrations, and the success of seedling recruitment [13,14]. It also improves seedling resistance against drought, pathogens, and heavy metals [15–17]. Considering the importance of ECM for plant nutrition and water acquisition in oligotrophic and dry systems [17–19], like the sandy-soil system of the coastal dune forest, this particular biotic interaction could be involved in the differences of natural regeneration observed in the region.

Hence, this study examined the ectomycorrhizal composition of pine seedlings one year after logging by using five field trials with contrasting natural regeneration success which are located throughout this region. It corresponds to an initial examination of the subject to determine whether this biotic interaction should be studied in more depth. ECM fungi were classified according to the typology of Agerer [20], which classified ECM into different exploration types (i.e., their ability to explore the soil) based on the extent of mycelium and the presence and differentiation of rhizomorphs. Shorter exploration types represent a lower carbon cost to the plant and are more prevalent in wet and/or nutrient-rich areas, whereas longer exploration types (i.e., fungi with rhizomorphs) are more prevalent in dry and/or nutrient-poor areas where seedlings need to increase their absorptive area [21–23].

ECM communities can be influenced by a large number of factors including soil properties such as pH, soil temperature, nutrient availability, soil moisture, and climatic factors [24–26]. Soil moisture is an important driver of fungal composition. In dry soils, a decrease of ECM colonisation can occur [27], as well as a shift in ECM species, leading to the appearance of ECM which are well-adapted to dry soils and less expensive in carbon for the host plant or which develop highly differentiated rhizomorphs [22,28]. Studies at regional scales have shown that ECM fungal composition could vary with precipitation and temperature [25,29,30].

ECM communities are also highly sensitive to forestry practices in relation to tree harvesting, which can strongly affect the development of new seedlings during the next forest rotation. Briefly, tree harvesting practices could: (i) represent a potential disturbance of topsoil layers where ECM fungi are abundant [31]; (ii) improve the colonisation of seedling roots by ECM fungi in the case of seed-tree cuts relative to clear-cut systems; and (iii) modify the overall aforementioned soil properties. More precisely, the effects of clear-cutting, reviewed by Jones et al. [32], are closely associated with the level of soil disturbance. When the forest floor is little disturbed during harvesting, clear cutting results in a decrease in ECM species richness and a change in species composition rather than a reduction in root colonization. Mycorrhizal inoculum can remain active in the soil for one to two years after harvesting [9] and does not appear to be limiting for seedling colonisation [32]. When soil is heavily disturbed (forest floor removal and/or soil compaction), harvesting also impacts ECM colonisation, reducing the available inoculum by breaking mycelial networks and modifying soil properties [11,33–35]. Secondly, the preservation of seed-trees in the stand after harvest, either by leaving individual trees [36] or by leaving patches of trees [37], can improve the fungal root colonization of seedlings and could enhance natural regeneration, especially under drought

conditions [38,39]. Indeed, the pre-existing mycelial network established by the roots of surrounding adult trees permits the seedlings to connect to this network at a low carbon cost and this can improve seedling regeneration [14,40,41]. Partial cutting can promote the maintenance of active root tips, and seed-tree cuts can maintain an intermediate level of ECM colonisation between clear-cuts and forests [36,42]. Thirdly, the impacts of clear-cuts or seed-tree cuts on ECM communities are also due to the associated modifications of soil properties relative to hydric conditions, soil temperature, or nutrient availability [32].

In the face of observed regeneration failure, the more specific context of coastal dune forests was considered and regeneration practice other than standard clearcutting is currently being tested by preserving seed-trees in the stand. In addition, the topography induced by the dune ecosystem is a major characteristic of these coastal forests, and strongly impacts the distance to the water table which varies from 1–3 m at the bottom to 17 m at the top of the dunes [43]. Consequently, harvest practices (clear-cuts and seed-tree cuts vs mature stands) and topographical positions (bottom-, mid-, and top positions) were tested in this experiment as factors potentially affecting ECM communities and their relationship with seedling nutrition.

More precisely, we examined the variations in ECM colonization between sites in relation to regeneration status, harvesting practices, and environmental conditions (i.e., topography, meteorological conditions, and soil properties). We hypothesized that: (i) seedlings from the sites with regeneration failures could have a lower ectomycorrhizal colonisation and a lower diversity of ectomycorrhizal exploration types; (ii) ectomycorrhizal colonisation could be lower in clear-cuts than forests due to the loss of inoculum; and (iii) ECM fungi could modify root development, and could lead to better needle nutrient concentrations.

2. Materials and Methods

2.1. Study Area Description

To test our hypotheses, we established trials in five forests along the coast in SW France (Figure 1a). Two of the sites are within the area of chronic stand regeneration failure (hereafter referenced to as sites F1 and F2), while the three other sites are in areas with high values of regeneration success (S1, S2, and S3). Since regeneration failures are very heterogeneous within the same forest, germination and survival were monitored during the three years following the clear-cut to confirm the regeneration status of the sites (Table 1).

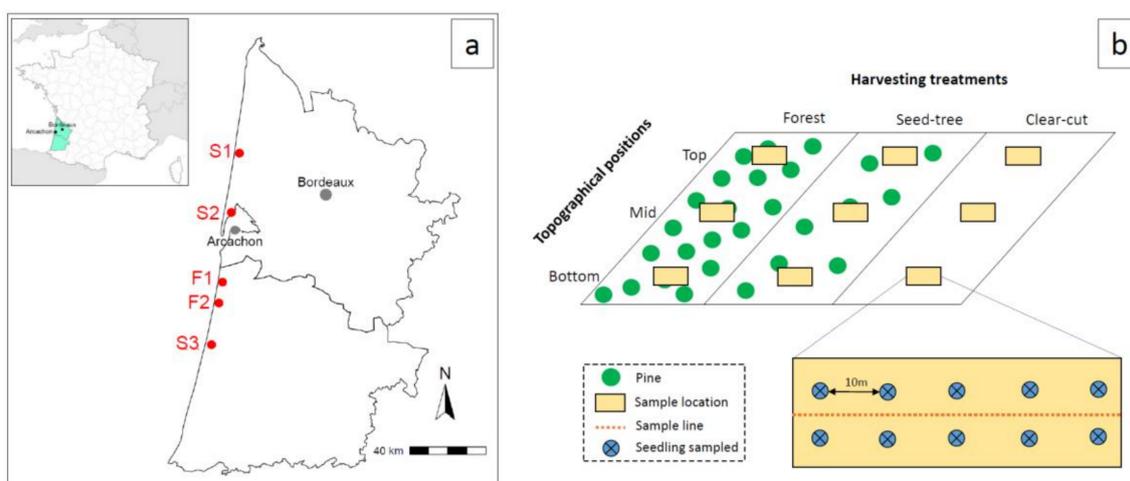


Figure 1. Location of the five study sites (a) and the seedling sampling design (b).

Table 1. Characteristics of the five study sites.

	S1	S2	F1	F2	S3
<i>Regeneration status</i> [◊]					
Survival (%)	59.8	31.0	15.8	25.7	66.2
Seedlings/ha	3062	3875	1000	1188	8438
<i>Location</i>					
Forest	Lacatau	Lège-Cap-Ferret	Biscarrosse	Sainte-Eulalie-en-Born	Saint-Julien-en-Born
Latitude	45°1'43.2" N	44°44'9.4" N	44°24'37.1" N	44°18'14" N	44°6'8" N
Longitude	1°10'44.1" W	1°12'35.6" W	1°14'3.4" W	1°15'8.2" W	1°17'27" W
<i>Meteo</i>					
Annual P (mm)	709 (879)	608 (840)	659 (894)	718 (936)	880 (1007)
Summer P (mm)	191 (155)	139 (141)	127 (151)	147 (157)	174 (165)
Annual T (°C)	13.8 (13.7)	14.4 (14.1)	14.4 (14.1)	14.4 (14.1)	14.2 (14.0)
Summer T (°C)	19.5 (19.7)	20.2 (20.3)	20.2 (20.2)	20.2 (20.2)	19.9 (20.1)
Annual PET (mm)	759 (756)	780 (773)	778 (770)	778 (771)	774 (769)
<i>Soil</i>					
pH (H ₂ O) ± SE	4.46 ± 0.14 ^a	4.82 ± 0.21 ^c	4.57 ± 0.13 ^{ab}	4.68 ± 0.19 ^{bc}	4.44 ± 0.14 ^a
OM (%) ± SE	42.5 ± 13.7 ^d	24.8 ± 13.9 ^{ab}	28.2 ± 10.9 ^{bc}	36.8 ± 15.7 ^{cd}	14.3 ± 8.5 ^a

[◊] Values in March 2018 (i.e., three years after logging), resulting from a three-year monitoring of germination and seedling survival under standard practice (i.e., clear-cut) on these five sites. Values for precipitations (P), temperature (T), and potential evapotranspiration (PET) represent values for the year 2015, with the average of the 2006–2016 period in brackets. Summer T and P correspond to values from July to September 2015. Meteorological data were calculated for each site, by linear interpolation of the three closest Météo-France weather stations. Organic matter (OM) and pH are means of 20 soil samples per site (10 in seed-trees and 10 in clear-cuts). Each sample was taken from an area of 0.125 m² and 5 cm deep, and represents a mixture of forest floor and upper mineral horizon. Different letters after mean values indicate significant differences between sites at $p < 0.05$ determined by ANOVA and a Tukey test.

The climate in the region is temperate oceanic. Annual average precipitations varied from 840 mm to 1007 mm and annual average temperature was around 14 °C for all sites (2006–2016, Météo-France data; Table 1). The year of germination and early growth of seedlings (i.e., 2015) was the driest year of the decade, with precipitations between 608 mm and 880 mm, and average annual temperatures around 14 °C (Météo-France data; Table 1). All sites are near a monospecific forest of *Pinus pinaster* (Ait in Soland), with some small individuals of oak (*Quercus robur* L., *Q. ilex* L., and *Q. suber* L.) within the stands or in the margins. Understorey was mainly composed of *Arbutus unedo* L., as well as small amounts of other shrubs (*Ulex Europaeus* L., *Cytisus scoparius* (L.) Link), grasses (*Holcus lanatus* L., *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin.), and ericaceous plants (*Erica cinerea* L., *Erica scoparia* L.). All sites were chosen on westerly facing slopes at about 2.5 km from the ocean, with an average slope of 10°. Soils were young sandy soils (WRB (World Reference Base) classification: arenosols; USDA (United States Department of Agriculture) classification: entisols), developed from Aeolian deposits that occurred during the Holocene period [44]. These soils are mainly composed of coarse sands (96–97%), are slightly acidic (topsoil values of pH = 4.5–5.0; base saturation = 32–54%), have a low water holding capacity, and are extremely poor in nutrients [44]. Forest floor organic layer thickness varies between 0.5 and 4 cm (unpublished data [44]).

2.2. Tree Harvesting and Stand Regeneration Management Methods

Because tree harvesting and regeneration methods may impact ECM communities, the three following treatments were tested at each site: (1) control (i.e., no tree harvest and stand disturbance; hereafter referred to as “Forest” treatment); (2) seed-tree regeneration method (i.e., natural regeneration with seed-trees (70 trees ha⁻¹; “Seed-tree” treatment); and (3) clear-cut, which corresponds to the dominant harvesting and regeneration method in coastal dune forest (“Clear-cut” treatment). Logging was carried out mechanically between December 2014 and March 2015 in the seed-tree and clear-cut treatments. Other current practices were carried out before logging in these two treatments: understorey vegetation was mechanically removed to limit post-logging competition,

and was combined with mechanical tillage to increase soil aeration and the availability of nutrients. This tillage mixed the forest floor organic layers with the mineral topsoil layer.

Light availability for each harvesting treatment was calculated from the diameter, age, and density of the trees, following equations of Porté et al. [45] and Berbigier and Bonnefond [46]. It was significantly different between harvesting treatments (Kruskal–Wallis rank sum test, $p = 0.002$), with the lowest values in forests (mean: $80 \pm 2.2\%$), intermediate values in seed-trees (mean: $92 \pm 0.7\%$), and maximal values in clear-cuts (mean: 100%) (Tukey test: a, b, and c, respectively).

2.3. Sampling of Seedlings

In this study, we chose to sample seedlings that had regenerated naturally rather than planting nursery grown seedlings, in order to remain as close as possible to natural regeneration conditions. Indeed, ECM communities between seedlings planted under nursery conditions and those that had regenerated naturally in the stand are different [14]. The nursery fungi suppress the initial colonization by native fungi, and do not reflect a difference in local inoculum [32]. Seedlings were selected and sampled from all five sites between the end of November 2015 and early February 2016. Seedlings almost only germinate in spring (between the end of March and the beginning of June), and were eight to 10 months old when sampled. At each site, for each harvesting treatment and for each topographical position, a central area of about $50 \text{ m} \times 8 \text{ m}$ was identified for seedling sampling (=9 areas per site; Figure 1b). Within each area, two seedlings were selected every 10 m as close as possible to the line splitting the area in half, with one on each side of the line (Figure 1b). Non-browsed seedlings were selected (between 5 and 20 cm in height). Areas too close to other tree species (especially oaks) were avoided. Seedlings with their entire root system and a small amount of soil were gently removed using a shovel and then stored in plastic bags at $4 \text{ }^\circ\text{C}$. In total, 450 seedlings were sampled ($450 = 5 \text{ sites} \times 3 \text{ harvest treatments} \times 3 \text{ topographical positions} \times 10 \text{ seedlings}$).

2.4. Assessment of Seedling Dimensions and Ectomycorrhizal Status

Seedlings were cut at the root collar. Shoot stem diameter and total height were measured. Roots were then washed carefully over a plastic tray to remove soil adhering to the roots without disrupting the ECM material. Tap root length was recorded. Then, roots were divided into coarse roots (CR, diameter $> 2 \text{ mm}$) and fine roots (FR, diameter $< 2 \text{ mm}$). CR Lengths were measured with a caliper. For FR, we calculated mycorrhizal and non-mycorrhizal root length based on the line intersect method [47]. Root tips were observed using a binocular microscope, and ECM fungi were classified into the four main morphotypes reported by Agerer [20], depending on the exploration type of fungi. Contact exploration types have a smooth mantle, sometimes with a few hyphae. Short-distance exploration types correspond to ECM with many hyphae and no rhizomorphs. Medium-distance exploration types are represented by fungae with hyphae and rhizomorphs, which ramify and interconnect repeatedly. Long-distance exploration types include smooth ECM with few but highly differentiated rhizomorphs [20]. Non-mycorrhizal root tips were also counted. Shoots, CR, and FR samples were dried at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ to obtain biomass values. ECM root colonization (%), specific root length (SRL, m g^{-1}), total seedling biomass (g), root:shoot (R:S, g g^{-1}), and height:diameter (H:D, mm mm^{-1}) ratios were calculated from these measurements. Measurements from the ten seedlings from each sample location (same harvest treatment and same topographical position) were averaged for statistical analyses.

2.5. Needle Nutrient Concentrations

Needles from the ten seedlings of each sample location were grouped into a composite sample ($n = 45$ composite samples) for mineral analysis (N, P, K, Mg, Ca). Nutrient concentrations were analysed after digestion in sulphuric acid and hydrogen peroxide. Nitrogen and phosphorus were determined colorimetrically with a Technicon auto analyser II. Potassium, calcium, and magnesium were determined with a Varian SpectraAA-20 flame atomic absorption spectrophotometer (Varian, Mulgrave, Australia).

Nutrient concentration values were compared to two sufficiency thresholds (i.e., where growth is medium to good) from a literature compilation by van den Burg [48]. These thresholds correspond to the mean values of several pine species, discerning values obtained from studies in sand culture from those in pot trials (Supplementary Materials, Table S1).

2.6. Data Treatments and Statistics

All statistical analyses were realised with R software version 3.4.1. [49].

2.6.1. ECM Status

ECM root colonization, expressed as a percentage, was logit-transformed following Warton and Hui [50] and total ECM root tips and number of root tips for each exploration type were expressed as number per meter of fine root length.

First, we scrutinized potential differences of ECM status between sites and according to meteorological differences between the sites. Analysis of variance was used to compare ECM status between sites, using data for all seedlings from all treatments within each site. Correlations between ECM variables and site characteristics (pH, OM, and precipitation variables) were prospected with Bravais-Pearson correlation tests.

To investigate variations of ECM status within the different sites according to harvesting treatments and topography, we used linear mixed modelling with harvesting treatment and topography as fixed effects, and the site as a random effect. Posthoc Tukey pairwise multiple comparisons were performed for significant treatments.

2.6.2. Seedling Growth and Nutrient Concentrations

To analyse how seedling growth and nutrient concentrations were affected by harvesting treatment and topography, we carried out linear mixed models with harvesting treatment and topography as fixed effects, and the site as a random effect. Biomass values and fine root length were log-transformed to reach linear modelling assumptions. The date of emergence of the seedlings, which may have varied by a few weeks, could lead to differences in terms of seedling size and the allocation of carbon and nutrients are both known to vary with plant size and ontogeny [51]. Thus many seedling characteristics (root:shoot, height:diameter, specific root length, and plant nutrient concentrations) were expected to vary with seedling size [52–54]. Consequently, to take this effect due to seedling size into account when performing our analyses, we first carried out linear regressions between aboveground biomass and these variables. In a second step, when regressions were significant ($p < 0.001$ for R:S, H:D, N, P, K and Ca, $p = 0.97$ for Mg, $p = 0.72$ for SRL), the effects of harvesting treatment and topography were prospected on regression residuals and residual variance. Posthoc Tukey pairwise multiple comparisons were performed for significant factors.

2.6.3. Relationship between ECM and Seedling Response after Filtering out Effects of Harvesting Treatments and Topographical Positions

As ECM can improve access to soil resources for seedlings, analyses were only performed for the following variables related to soil resource availability and plant nutrition: root:shoot ratio (R:S), specific root length (SRL), and nutrient concentrations. The investigation of relationships between ECM and seedling characteristics cannot be carried out directly because seedling response can be influenced either as the result of mycorrhizal colonisation, or the impact of environmental variations on both seedlings and mycorrhizae. Our previous statistical models performed in 2.6.2 had taken the effects related to seedling size and local environment (harvest treatments and topography) into account. Therefore, using the residual variance of these models enabled us to focus on the potential remaining relationship between ECM and seedling properties alone, having filtered out the other aforementioned effects.

3. Results

3.1. Sites

The four exploration types were observed at all sites, and throughout most of the individual root systems examined; 73% and 25% of the seedlings had respectively four and three exploration types on their root system. ECM root colonization (%), number of root tips of each exploration type (nb m⁻¹), and total root tips differed in the five study sites (Figure 2; all *p*-values < 0.01). Root colonization was higher in F2. Contact exploration type was higher in S1 and S3, whereas short-distance exploration types were more prevalent in F1 and F2. The largest numbers of medium- and long-distance exploration types were found respectively in S2 and F1. The greatest number of root tips occurred in F1, followed by F2/S2 and S1/S3 (decreasing order; Figure 2f). Contact exploration types and total number of root tips were respectively positively and negatively linked to summer 2015 precipitations (Figure 3), but no effects of annual or decennial rainfall were observed. Medium-distance exploration types were positively correlated with soil pH ($r = 0.978$, $p = 0.004$).

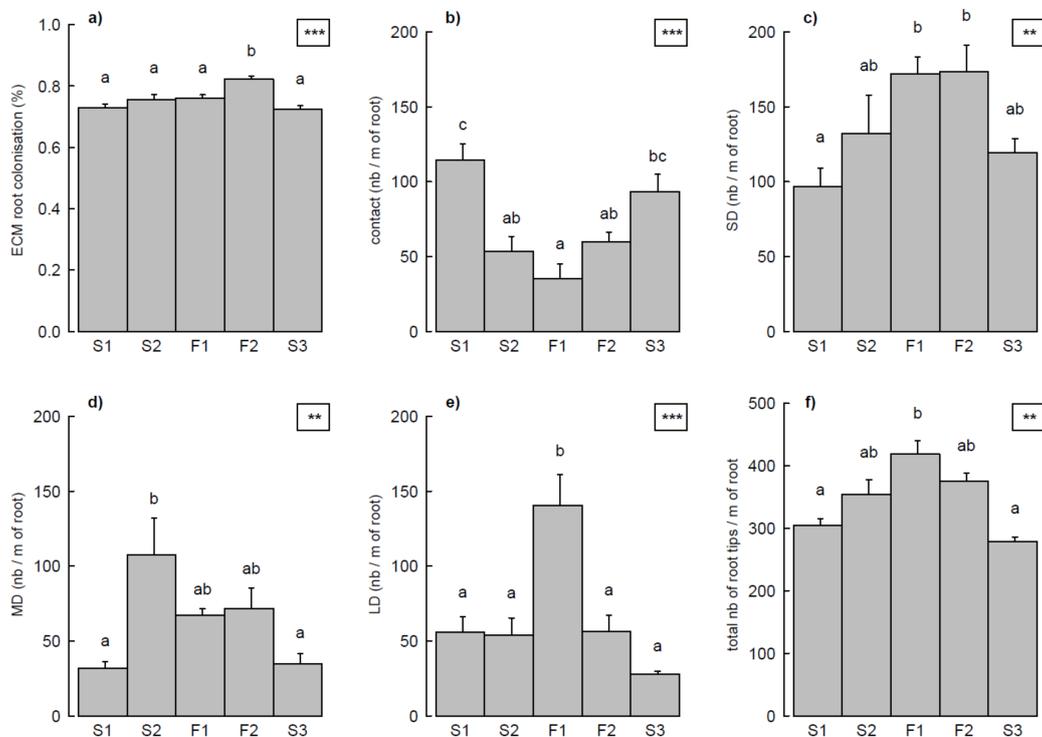


Figure 2. Differences in ectomycorrhizal (ECM) root colonization (a), the four ECM exploration types (b–e; expressed as the number of root tips per meter of root length), and total root tips (f) in the five study sites. Each bar represents mean ± SE (standard error) of nine values per site (harvesting treatments and topographical positions combined). Statistical significance is shown in the top right corner of each plot (***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$). Different lower-case letters indicate significant differences between sites ($p < 0.05$, Tukey test). SD, MD, and LD stand for short-distance, medium-distance, and long-distance exploration types, respectively.

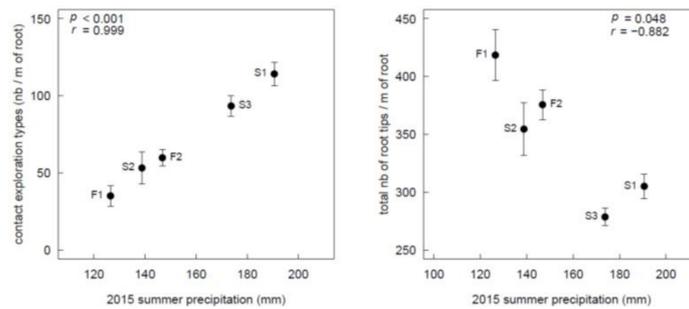


Figure 3. Significant ($p < 0.05$) Pearson correlations between ECM variables and summer precipitation (precipitation from July to September).

3.2. ECM Status Related to Harvesting Treatments and Topographical Positions

ECM root colonization ranged from 64.8% to 87.3% (mean $75.8 \pm 0.7\%$) and was not impacted by harvesting treatment ($p = 0.288$) or by topography ($p = 0.619$). No significant relationship was observed between total number of root tips and harvesting treatments ($p = 0.131$) or topography ($p = 0.514$) either. Harvesting treatment (Figure 4a) and topography (Figure 4b) had a significant effect on ECM status. Contact ($p = 0.008$), short-distance ($p = 0.052$), and medium-distance ($p = 0.011$) exploration types were significantly affected by harvesting treatment (Figure 4a), but not long-distance exploration types ($p = 0.506$). Numbers of short- and medium-distance root tips were higher on seedlings in forests and smaller on those in clear-cuts. Seedlings in seed-trees had a greater number of contact exploration than those in forests. Topography significantly affected the number of contact ($p = 0.021$) and medium-distance ($p = 0.063$) exploration types (Figure 4b). Contact exploration decreased from bottom positions to top positions, whereas medium-distance exploration was higher in the bottom position than in the mid position.

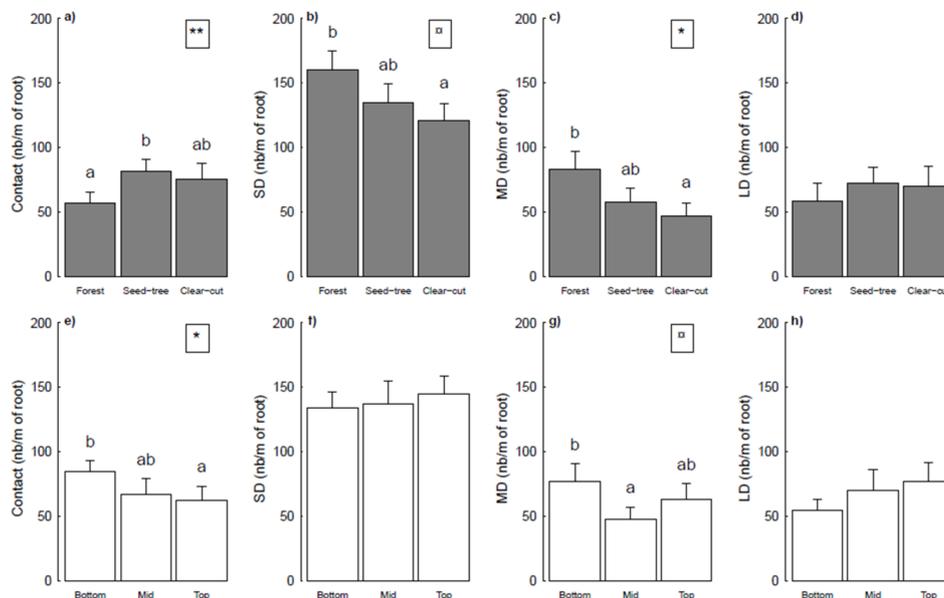


Figure 4. Number of root tips per meter of root length for the four ectomycorrhizal exploration types, under (a) three harvesting treatments and (b) three topographical positions. Each bar represents an average of $15 \pm \text{SE}$ values. Significance of harvesting treatments or topographical positions is shown in the top right corner of each plot (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; □, $p < 0.1$). Different lower-case letters indicate significant differences for the same ECM exploration type between harvesting treatments (a–d) or topographical positions (e–h) at $p < 0.05$, Tukey test. SD, MD, and LD stand for short-distance, medium-distance, and long-distance exploration types, respectively.

3.3. Seedling Growth and Needle Nutrient Concentrations

All parameters except specific root length (SRL) and Mg-needle concentration were significantly affected by harvesting treatment ($p = 0.430$ for SRL, $p = 0.712$ for Mg, $p < 0.001$ for all others; Table 2).

Total seedling biomass and shoot biomass, stem diameter, and tap root length increased with a decreasing intensity of harvesting, from the forest to the clear-cut. Root biomass and fine root length were the lowest in forests, but no differences were found between seed-trees and clear-cuts. Seedling height was greater for seedlings growing in forests. Regarding needle nutrient concentrations, N and P were higher in seedlings in clear-cuts than in seed-trees, which were in turn higher than those in forests. K concentration was lower in forests than in seed-trees and clear-cuts. Ca concentration was higher in needles from seed-tree seedlings than in clear-cuts and forests. Topography only affected SRL ($p = 0.017$), seedling height ($p = 0.038$), and height:diameter ratio ($p = 0.007$), which were all greater at the mid position than the top position (Table 2). Regarding thresholds of sand culture studies, N and P concentrations in forest seedlings were under the threshold, while none of the other nutrients were considered as deficient in seed-trees or clear-cuts regardless of their topographical positions (Table 2). Using threshold values derived from pot trial studies, K and Ca concentrations were also deficient in the forest, whereas Ca was below the threshold for both seed-cuts and clear-cuts for all topographical positions.

Table 2. Effects of harvesting treatments and topographical positions on growth variables and needle nutrient concentrations.

	Harvesting Treatments						Topographical Positions					
	Forest	Seed-Tree	Clear-Cut	Bottom	Mid	Top						
Stem diameter (mm)	1.55 (0.05)	a	1.69 (0.06)	b	1.92 (0.06)	c	1.77 (0.07)		1.71 (0.08)		1.68 (0.06)	
Height (mm)	125.2 (4.7)	b	109.4 (3.2)	a	110.9 (2.7)	a	115.6 (3.4)	ab	120.2 (4.2)	b	109.8 (4.2)	a
Shoot biomass (g)	0.29 (0.02)	a	0.43 (0.03)	b	0.56 (0.05)	c	0.44 (0.05)		0.44 (0.05)		0.41 (0.05)	
Root biomass (g)	0.12 (0.01)	a	0.20 (0.02)	b	0.20 (0.02)	b	0.17 (0.02)		0.17 (0.02)		0.18 (0.02)	
Seedling biomass (g)	0.41 (0.03)	a	0.63 (0.05)	b	0.76 (0.06)	c	0.60 (0.06)		0.61 (0.07)		0.59 (0.06)	
Fine root length (cm)	99.4 (13.5)	a	187.7 (30.0)	b	163.5 (23.7)	b	148.1 (25.2)		168.6 (26.8)		133.9 (23.4)	
Tap root length (cm)	18.5 (0.71)	a	21.7 (0.82)	b	23.1 (0.56)	b	21.1 (0.84)		21.4 (0.80)		20.8 (0.95)	
Height:diameter (mm mm ⁻¹) ·	82.2 (2.2)	c	67.0 (2.3)	b	59.8 (1.8)	a	67.6 (2.6)	a	74.0 (3.8)	b	67.3 (3.0)	a
Root:shoot (g g ⁻¹) ·	0.42 (0.03)	a	0.50 (0.03)	b	0.39 (0.02)	a	0.42 (0.03)		0.42 (0.03)		0.47 (0.04)	
Specific root length (m g ⁻¹)	9.04 (0.86)		9.76 (1.04)		8.94 (0.92)		9.68 (1.03)	b	9.98 (0.73)	b	8.08 (0.97)	a
N-needle (mg g ⁻¹) ·	11.5 (0.3) ‡	a	18.8 (0.6)	b	24.6 (0.6)	c	18.3 (1.5)		18.7 (1.4)		17.9 (1.6)	
P-needle (mg g ⁻¹) ·	1.26 (0.05) ‡	a	2.36 (0.09)	b	3.12 (0.18)	c	2.20 (0.23)		2.38 (0.24)		2.16 (0.23)	
K-needle (mg g ⁻¹) ·	5.82 (0.31) †	a	9.47 (0.34)	b	10.12 (0.31)	b	8.37 (0.60)		8.90 (0.60)		8.14 (0.57)	
Ca-needle (mg g ⁻¹) ·	1.93 (0.05) †	a	2.65 (0.11) †	b	2.43 (0.08) †	a	2.32 (0.10) †		2.41 (0.15) †		2.27 (0.09) †	
Mg-needle (mg g ⁻¹)	1.58 (0.07)		1.59 (0.09)		1.65 (0.04)		1.60 (0.07)		1.57 (0.07)		1.65 (0.07)	

· indicates that analyses took effect of seedling size into consideration and focused on residuals of the regression between the variable and the aboveground biomass. Each value is a mean (\pm SE) of 15 values. Different lower-case letters indicate significant differences between harvesting treatments or topographical positions ($p < 0.05$, Tukey test). ‡ indicates values below the deficiency threshold in both sand culture and pot trials; † indicates values below the deficiency threshold only in pot trials ([48]; details in Table S1).

3.4. Effects of ECM on Seedling Root Properties and Nutrient Concentrations

SRL was highly affected by ECM composition but not root:shoot ratio (Table 3). The contact exploration type showed a positive effect on SRL, whereas other exploration types (short-, medium-, and long-distances) and total number of root tips were related to a decrease in SRL values. With regards to plant nutrient concentrations, several relationships were significant (Table 3), most of them showing an improvement in nutritive status of seedlings. Ca, K, and N needle concentrations significantly increased respectively with number of contacts, and short- and long-distance exploration types, whereas a higher number of the medium-distance exploration type corresponded to a decrease in Ca concentration. Total number of root tips was positively linked to higher N, K, and Mg concentrations.

Table 3. Results of linear regression between ECM colonization, root properties, and needle nutrient concentrations after removing effects due to harvesting treatments, topographical positions, and seedling size.

	ECM Root Colonization (%)	Contact (nb/m of Root)	SD (nb/m of Root)	MD (nb/m of Root)	LD (nb/m of Root)	Total nb of Root Tips/m of Root
Root:shoot (g g^{-1})		0.05 \square				
Specific root length (m g^{-1})		0.32 ***	−0.06 \square	−0.31 ***	−0.21 ***	−0.24 ***
N-needle (mg g^{-1})					0.17 **	0.07 *
P-needle (mg g^{-1})						
K-needle (mg g^{-1})			0.17 **			0.21 **
Ca-needle (mg g^{-1})		0.12 *		−0.11 *		
Mg-needle (mg g^{-1})						0.07 *

Values represent r^2 of regressions ($n = 45$). Symbols next to these values indicate the significance of regressions (***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$; \square , $p < 0.1$). Only significant regressions are shown. SD, MD, and LD stand for short-distance, medium-distance, and long-distance exploration types, respectively.

4. Discussion

4.1. Role of Abiotic Factors in ECM Composition

Two results confirmed the influence of soil moisture and hence water availability on ECM composition: (i) the influence of summer rainfall at the site and (ii) the influence of topography.

Significant differences in all ECM characteristics were observed among sites, suggesting that the local environment plays an important role in shaping ECM communities. Correlation between site environmental variables and ECM exploration types showed the positive influence of the summer rainfall during the first growing year on the number of contact exploration types and a negative effect on the total number of root tips (Figure 3). These results suggest that meteorological conditions during the first months of establishment are more important than the historical climatic conditions at the sites. Contact exploration types, which are less carbon costly for the seedling, take up water more efficiently during rainfall events thanks to their hydrophilic mantle [20]. Conversely, seedlings develop more root tips in drier areas [55], which may increase mycorrhizal associations. Rainfall and soil water availability have been shown to be an important factor governing fungal communities [25,56–58], but mainly by studying ECM species composition instead of exploration types. Jarvis et al. [29], who looked at both species and exploration types in *Pinus sylvestris* across Scotland, found that soil moisture and precipitation were the main drivers of ECM species composition, while temperature had an influence on exploration types. In our study, we could not test a link with temperature because of the small variation between our sites (less than 0.7 °C differences for all temperature variables). Conversely, we found that summer precipitation had a strong influence on ECM composition with higher contact exploration types at the wettest sites.

Regarding topography, a greater number of contact exploration types were shown at the bottom position than the top position. These results could be explained by higher water [43] and nutrient availabilities in the lower topographical positions [59], where the contact exploration types are more suitable because of their hydrophilic mantle, which allows them to be in closer contact with

resources [20]. We expected the opposite pattern for long-distance exploration types which develop over a larger area and have greater mycelial expansion [20]. They are more likely to develop in stressful areas, but in our case, even though they tend to be more abundant at the top positions, the relationship was not significant. These results can be related to those observed by Bakker et al. [22] from two mature stands of maritime pines varying in distance from the water table and nutrient availability. They found a greater proportion of contact exploration types at the wet nutrient rich site and a higher proportion of long-distance types at the dry nutrient poor site.

Another positive significant correlation was found between pH and medium-distance explorations. A shift in ECM composition, from species developing high extramatrical mycelium instead of smooth types when pH increased, has already been reported in field survey studies (e.g., [60]) or liming experiments (e.g., [61]).

4.2. Impact of Forest Management on ECM Composition

In contradiction with our second hypothesis, we did not find any decrease of fungal root colonization with harvesting treatment, suggesting that the amount of fungal inoculum is still sufficient for the establishment of new seedlings the year after logging. It has been shown that forest practices similar to those used in our study may have a positive influence on ECM colonisation, and this may explain our results. More precisely: (i) mechanical soil disturbance leaving organic matter in the topsoil layers may have less impact than those that remove or bury the organic layer [33]; (ii) letting stumps in the forest stand during harvesting can have a positive impact on the maintenance of higher levels of fungal inoculum [34]; and (iii) tree harvesting occurring in late autumn or winter also allows mycorrhizae to remain active longer in the soil [32].

We expected a potential gradient of soil moisture which decreases from forests to clear-cuts due to the microenvironment created by the canopies of the trees, and that this soil moisture could impact ECM composition (leading to a greater number of contact exploration types in forests and long-distance exploration types in clear-cuts). Instead, differences found between forests and seed-trees/clear-cuts in ECM composition indicated that logging and site preparation influenced ECM composition in a different way. During our binocular observations, we often found patches of contact exploration types encrusted in small pieces of decaying wood. Contact exploration types are known to develop more in soil with high organic matter content, being able to degrade lignin directly from dead wood or rotting leaves to increase access to nutrients [20]. The mechanical tillage used in the study sites probably incorporated a supply of dead wood into the topsoil layers, which could explain the greater number of contact exploration types in seed-trees and clear-cuts. Another explanation for this increase in contact exploration is the higher resilience of these exploration types to disturbance, because they can easily regenerate their reduced system of extramatrical hyphae [62]. Conversely, short- and medium-distance exploration types with a lot of hyphae and some rhizomorphs decreased, due to the increasing harvesting intensity. In addition to the lower resilience of these ECM, the growth of nearby mature trees could influence ECM colonization for new seedlings. Trees may maintain greater mycelial networks from which fungi could vegetatively colonize new hosts due to the close vicinity of their roots [14,41,63]. This could be potentially more effective for exploration types with emanating hyphae. It has also been shown that ECM fungal propagules decreased sharply when isolated from a potential source, leading to a decrease in fungal colonization and diversity [64].

4.3. Impact of Forest Management on Seedling Characteristics

Morphological traits of seedlings were strongly impacted by harvesting treatment (15 out of the 17 variables studied showed significant differences; Table 2). As we had assumed, our results confirmed the light demanding characteristics of *Pinus pinaster* seedlings, which had higher above and below ground tissues, a greater stem diameter, and higher needle nutrient concentrations in clear-cuts than in forests. As shown by Robakowski et al. [65], seedlings growing under a higher level of light show greater net CO₂ assimilation rates and higher daily maximal photosynthetic rates, leading to a

higher shoot biomass when light increases [66–70]. The observed increase of stem height and stem height:diameter ratio can also be interpreted as a shade avoidance response and are in agreement with previous results regarding these seedling traits [66,68,71,72].

Root biomass is also known to be improved in high light environments, but results regarding root:shoot ratio variations were heterogeneous, especially in the early stages. In *Pinus pinaster* seedlings, Rodríguez-García and Bravo [68] showed a higher allocation to roots when light increased in a garden experiment, whereas Ruano et al. [69] found no variations in root:shoot ratios in a field study with four harvesting intensities. These discrepancies may be due to differences in seedling size which affect root:shoot ratios [51]. The increase of tap root length from forests to clear-cuts is probably due to soil moisture differences between harvesting treatments; seedlings in dry areas improve their water foraging capacity by having long and deep roots [73,74].

Seedlings growing in forests had lower needle nutrient concentrations. Higher N and P concentrations in clear-cuts than in seed-trees could also be related to better nitrogen and phosphorus efficiency use in full light than in low light, as reported by Elliott and White [67]. In addition, the mechanical effect of logging and soil preparation carried out in clear-cuts and seed-trees could explain our results, as these can lead to an increase of mineralisation, thus causing a substantial release of mineral elements into the soil.

Overall, the sufficient level of nutrients observed in needles of our seedlings suggests that mycorrhizae may enable seedlings to overcome the nutritional stress of the local environment (Table S1).

4.4. Effects of ECM on Seedling Root Development and Nutritive Status

ECM colonisation is associated with a modification in fine root morphology according to the different exploration types rather than a greater investment to the roots (Table 3). Mycorrhizal colonisation usually increases both shoot and root biomass, but the root:shoot ratios could be lower or higher in conifer seedlings depending on the amount of fungal tissue present [13,75]. Indeed, the ECM fungal identity is the main factor determining fine root morphology [76] and aboveground biomass variations [77]. ECM colonisation increased fine root diameter and decreased SRL, especially due to the mycelial mantle surrounding fine roots [12,13]. High SRL values suggest fast growth and intensive soil exploration. Thus, seedlings with lower SRL values will need more root tips and exploration types with a lot of hyphae or rhizomorphs to compensate for the lower soil exploration area.

Plant nutrient concentration is greater with more root tips, and each exploration type is significantly associated with a single nutrient (Table 3). These results are consistent with our third hypothesis, and suggest that different functional types appear to be complementary for access to different nutrient sources. Several studies looking at functional diversity showed relationships with soil properties and nutrient availability, especially N [21,23,29,30]. Long-distance exploration types are able to prevent resources from leaching during transport with their hydrophobic rhizomorphs and would have a strong ability to acquire organic N [23]. However, this strategy is expensive in energy for the plant and thus such a strategy is competitively dominant only in lower nutrient environments where resources are rare and patchy, as in our sites. Our findings can be related to those of de Witte et al. [30], who investigated ECM exploration types in several beech forests and found many correlations between exploration types and foliar concentrations or soil properties. Similar to our results, they showed a positive relationship between contact exploration types and soil Ca (soil and foliar Ca were positively correlated in the study), together with a negative relationship between medium-distance exploration types and soil Ca. Furthermore, they found that a higher abundance of medium- and long-distance types was negatively associated with foliar N, and suggested that this might be due to the non N-limited environment in their study.

4.5. Can ECM Explain Failures of Forest Regeneration?

In the case where mycorrhization could be a factor involved in regeneration failures, we would expect that sites in failure areas (F1 and F2) would have insufficient mycorrhization (in terms of

root colonization or number of root tips), or would have a clearly different composition of ECM communities. However, failure sites have higher numbers of root tips and higher or equivalent root colonization, which is contrary to our first hypothesis. The four exploration types were found on seedlings at all sites and only the short-distance ones discriminated failure areas from successful areas in terms of exploration type composition (Figure 2c). However, this exploration type was not specific of failure sites because it corresponded to the more prevalent exploration type at four of the five sites (and the second highest in S1). The prevalence of the short-distance exploration type could be explained by the fungal identity which is the most representative of this exploration type, *Cenococcum geophilum*, and by the summer drought conditions occurring in our region. This species is known to be drought-tolerant and extremely resilient after drought [78], allowing an early uptake of water and nutrients in the post-drought period [79]. In addition, fast colonization of new seedlings could also be the result of frequent disturbances within these forests (fires, storms), which has been shown to lead to an early-seral ECM community (of which *Cenococcum* is a part) necessary to promote seedling establishment [35].

A high diversity of exploration types was observed at all sites and throughout most of the individual root systems. This diversity may promote a higher resilience of ECM communities to environmental changes, and suggests that fungal association is essential for the survival of young seedlings in the region even though it does not explain the failure of regeneration in some specific areas. However, we should consider that by harvesting the seedlings during their first winter, we only have seedlings that have survived the dry summer conditions, which is probably the main cause of mortality in the early establishment of maritime pine seedlings [38]. Seedlings with lower mycorrhizal associations in both quantity and/or exploration type diversity (and *Cenococcum geophilum* in particular) may have died during the summer season and are thus missing from our sample, and this may be the main limit of our study.

5. Conclusions

Our results showed that ECM composition was affected by both harvesting and topography. In turn, mycorrhization appeared to be essential for early seedling establishment by improving the nutritive status of seedlings. However, in our context, ECM colonisation one year after logging does not seem to be linked to regeneration failures that occur in some specific areas. Other kinds of biotic interactions such as facilitation/competition with other plants or herbivory should also be explored to understand such regeneration failures.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/1999-4907/9/5/245/s1>. Table S1: nutrient threshold for pine seedlings (A) in sand culture or (B) in pot trial, from van der Burg [48].

Author Contributions: A.G. and M.R.B. designed and performed the experiments; A.G. and F.D. analyzed the data; A.G., F.D., M.G., L.A., and M.R.B. wrote the paper.

Acknowledgments: We thank Nathalie Gallegos and Cathy Lambrot for soil and nutrient concentration analyses, Météo-France and Benoît Persyn for meteorological data acquisition, Aldyth Nys for revising the English, and three anonymous reviewers for constructive comments on the manuscript. We are very grateful to the “Office National des Forêts” (ONF), in particular Didier Canteloup, Francis Maugard, and all staff working on the management of the study sites for the valuable help provided. The ONF staff were in charge of the implementation of seed-tree and clear-cut harvesting treatments. A. Guignabert was funded by a PhD grant by the Région Nouvelle-Aquitaine and Bordeaux Sciences Agro.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. IFN Inventaire Forestier National. Available online: <https://inventaire-forestier.ign.fr/> (accessed on 18 December 2017).
2. Sardin, T. *Guide des Sylvicultures Forêts Littorales Atlantiques Dunaires*, ONF ed.; Office National des Forêts: Paris, France, 2009; p. 175, ISBN 9782842073374.

3. Ouallet, P. Quels Peuvent-être les Facteurs Écologiques Responsables des Échecs de Régénération Naturelle du pin Maritime sur les Dunes Littorales des Forêts Domaniales de Biscarrosse et de Sainte-Eulalie? Master's Thesis, Bordeaux Sciences Agro et ONF, Gradignan, France, 2012.
4. Clark, J.S.; Macklin, E.; Wood, L. Stages and Spatial Scales of Recruitment Limitation in Southern Apalachians forests. *Ecol. Monogr.* **1998**, *68*, 213–235. [[CrossRef](#)]
5. Kitajima, K.; Fenner, M. Ecology of seedling regeneration. In *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*; CABI: Wallingford, UK, 2000; pp. 331–359, ISBN 0851994326.
6. Harvey, A.E.; Jurgensen, M.F.; Larsen, M.J.; Graham, R.T. Relationships among soil microsite, ectomycorrhizae, and natural conifer regeneration of old-growth forests in western Montana. *Can. J. For. Res.* **1987**, *17*, 58–62. [[CrossRef](#)]
7. Harmer, R. The effect of plant competition and simulated summer browsing by deer on tree regeneration. *J. Appl. Ecol.* **2001**, *38*, 1094–1103. [[CrossRef](#)]
8. Rodríguez-García, E.; Gratzner, G.; Bravo, F. Climatic variability and other site factor influences on natural regeneration of *Pinus pinaster* Ait. in Mediterranean forests. *Ann. For. Sci.* **2011**, *68*, 811–823. [[CrossRef](#)]
9. Perry, D.A.; Molina, R.; Amaranthus, M.P. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: Current knowledge and research needs. *Can. J. For. Res.* **1987**, *17*, 929–940. [[CrossRef](#)]
10. Miller, S.L.; McClean, T.M.; Stanton, N.L.; Williams, S.E. Mycorrhization, physiognomy, and first-year survivability of conifer seedlings following natural fire in Grand Teton National Park. *Can. J. For. Res.* **1998**, *28*, 115–122. [[CrossRef](#)]
11. Barker, J.S.; Simard, S.W.; Jones, M.D.; Durall, D.M. Ectomycorrhizal fungal community assembly on regenerating Douglas-fir after wildfire and clearcut harvesting. *Oecologia* **2013**, *172*, 1179–1189. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Rousseau, J.V.D.; Sylvia, D.M.; Fox, A.J. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. *New Phytol.* **1994**, *128*, 639–644. [[CrossRef](#)]
13. Smith, S.E.; Read, D. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2008; ISBN 9780123705266.
14. Teste, F.P.; Simard, S.W.; Durall, D.M.; Guy, R.D.; Jones, M.D.; Schoonmaker, A.L. Access to mycorrhizal networks and roots of trees: Importance for seedling survival and resource transfer. *Ecology* **2009**, *90*, 2808–2822. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Perrin, R.; Garbaye, J. Influence of ectomycorrhizae on infectivity of *Pythium*-infested soils and substrates. *Plant Soil* **1983**, *71*, 345–351. [[CrossRef](#)]
16. Van Tichelen, K.K.; Colpaert, J.V.; Vangronsveld, J. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytol.* **2001**, *150*, 203–213. [[CrossRef](#)]
17. Lehto, T.; Zwiazek, J.J. Ectomycorrhizas and water relations of trees: A review. *Mycorrhiza* **2011**, *21*, 71–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Mousain, D. Effets de deux facteurs edaphiques (teneur en phosphore et qualite de la matiere organique des sols) sur l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne du pin maritime (*Pinus pinaster* Soland. in Ait.). *Rev. Ecol. Biol. Sol* **1975**, *12*, 239–259.
19. Read, D.J.; Leake, J.R.; Perez-Moreno, J. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Can. J. Bot.* **2004**, *82*, 1243–1263. [[CrossRef](#)]
20. Agerer, R. Exploration types of ectomycorrhizae: A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza* **2001**. [[CrossRef](#)]
21. Lilleskov, E.A.; Hobbie, E.A.; Horton, T.R. Conservation of ectomycorrhizal fungi: Exploring the linkages between functional and taxonomic responses to anthropogenic N deposition. *Fungal Ecol.* **2011**, *4*, 174–183. [[CrossRef](#)]
22. Bakker, M.R.; Augusto, L.; Achat, D.L. Fine root distribution of trees and understory in mature stands of maritime pine (*Pinus pinaster*) on dry and humid sites. *Plant Soil* **2006**, *286*, 37–51. [[CrossRef](#)]
23. Hobbie, E.A.; Agerer, R. Nitrogen isotopes in ectomycorrhizal sporocarps correspond to belowground exploration types. *Plant Soil* **2010**, *327*, 71–83. [[CrossRef](#)]
24. Slankis, V. Soil Factors Influencing Formation of Mycorrhizae. *Annu. Rev. Phytopathol.* **1974**, *12*, 437–457. [[CrossRef](#)]
25. Miyamoto, Y.; Sakai, A.; Hattori, M.; Nara, K. Strong effect of climate on ectomycorrhizal fungal composition: Evidence from range overlap between two mountains. *ISME J.* **2015**, *9*, 1870–1879. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

26. Cox, F.; Barsoum, N.; Lilleskov, E.A.; Bidartondo, M.I. Nitrogen availability is a primary determinant of conifer mycorrhizas across complex environmental gradients. *Ecol. Lett.* **2010**, *13*, 1103–1113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Kilpeläinen, J.; Barbero-López, A.; Vestberg, M.; Heiskanen, J.; Lehto, T. Does severe soil drought have after-effects on arbuscular and ectomycorrhizal root colonisation and plant nutrition? *Plant Soil* **2017**. [[CrossRef](#)]
28. Fernandez, C.W.; Nguyen, N.H.; Stefanski, A.; Han, Y.; Hobbie, S.E.; Montgomery, R.A.; Reich, P.B.; Kennedy, P.G. Ectomycorrhizal fungal response to warming is linked to poor host performance at the boreal-temperate ecotone. *Glob. Chang. Biol.* **2017**, *23*, 1598–1609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Jarvis, S.; Woodward, S.; Alexander, I.J.; Taylor, A.F.S. Regional scale gradients of climate and nitrogen deposition drive variation in ectomycorrhizal fungal communities associated with native *Scots pine*. *Glob. Chang. Biol.* **2013**, *19*, 1688–1696. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. De Witte, L.C.; Rosenstock, N.P.; van der Linde, S.; Braun, S. Nitrogen deposition changes ectomycorrhizal communities in Swiss beech forests. *Sci. Total Environ.* **2017**, *605–606*, 1083–1096. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Harvey, A.E.; Jurgensen, M.F.; Larsen, M.J.; Schlieter, J.A. *Distribution of Active Ectomycorrhizal Short Roots of the Inland Northwest: Effects of Site and Disturbance*; INT-374; Intermountain Research Station: Ogden, UT, USA, 1986; p. 8.
32. Jones, M.D.; Durall, D.M.; Cairney, J.W.G. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytol.* **2003**, *157*, 399–422. [[CrossRef](#)]
33. Lazaruk, L.W.; Macdonald, S.E.; Kernaghan, G. The effect of mechanical site preparation on ectomycorrhizae of planted white spruce seedlings in conifer-dominated boreal mixedwood forest. *Can. J. For. Res.* **2008**, *38*, 2072–2079. [[CrossRef](#)]
34. Page-Dumroese, D.S.; Harvey, A.E.; Jurgensen, M.F.; Amaranthus, M.P. Impacts of soil compaction and tree stump removal on soil properties and outplanted seedlings in northern Idaho, USA. *Can. J. Soil Sci.* **1998**, *78*, 29–34. [[CrossRef](#)]
35. Kranabetter, J.M.; Haeussler, S.; Wood, C. Vulnerability of boreal indicators (ground-dwelling beetles, understory plants and ectomycorrhizal fungi) to severe forest soil disturbance. *For. Ecol. Manag.* **2017**, *402*, 213–222. [[CrossRef](#)]
36. Lazaruk, L.W.; Kernaghan, G.; Macdonald, S.E.; Khasa, D. Effects of partial cutting on the ectomycorrhizae of *Picea glauca* forests in northwestern Alberta. *Can. J. For. Res.* **2005**, *35*, 1442–1454. [[CrossRef](#)]
37. Jones, M.D.; Twieg, B.D.; Durall, D.M.; Berch, S.M. Location relative to a retention patch affects the ECM fungal community more than patch size in the first season after timber harvesting on Vancouver Island, British Columbia. *For. Ecol. Manag.* **2008**, *255*, 1342–1352. [[CrossRef](#)]
38. Rodríguez-García, E.; Bravo, F.; Spies, T.A. Effects of overstorey canopy, plant–plant interactions and soil properties on Mediterranean maritime pine seedling dynamics. *For. Ecol. Manag.* **2011**, *262*, 244–251. [[CrossRef](#)]
39. Bingham, M.A.; Simard, S. Ectomycorrhizal Networks of *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca* Trees Facilitate Establishment of Conspecific Seedlings under Drought. *Ecosystems* **2012**, *15*, 188–199. [[CrossRef](#)]
40. Warren, J.M.; Brooks, J.R.; Meinzer, F.C.; Eberhart, J.L. Hydraulic redistribution of water from *Pinus ponderosa* trees to seedlings: Evidence for an ectomycorrhizal pathway. *New Phytol.* **2008**, *178*, 382–394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Jonsson, L.; Dahlberg, A.; Nilsson, M.C.; Kårén, O.; Zackrisson, O. Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees. *New Phytol.* **1999**, *142*, 151–162. [[CrossRef](#)]
42. Dahlberg, A.; Schimmel, J.; Taylor, A.F.S.; Johannesson, H. Post-fire legacy of ectomycorrhizal fungal communities in the Swedish boreal forest in relation to fire severity and logging intensity. *Biol. Conserv.* **2001**, *100*, 151–161. [[CrossRef](#)]
43. Pitaud, G. *L'hydrogéologie et la Végétation dans les Dunes du Littoral Aquitain*. Ph.D. Thesis, University Bordeaux, Nouvelle-Aquitaine, France, 1967.
44. Augusto, L.; Bakker, M.R.; Morel, C.; Meredieu, C.; Trichet, P.; Badeau, V.; Arrouays, D.; Plassard, C.; Achat, D.L.; Gallet-Budynek, A.; et al. Is “grey literature” a reliable source of data to characterize soils at the scale of a region? A case study in a maritime pine forest in southwestern France. *Eur. J. Soil Sci.* **2010**, *61*, 807–822. [[CrossRef](#)]

45. Porté, A.; Bosc, A.; Champion, I.; Loustau, D. Estimating the foliage area of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Ann. For. Sci.* **2000**, *57*, 73–86. [[CrossRef](#)]
46. Berbigier, P.; Bonnefond, J. Measurement and modelling of radiation transmission within a stand of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *Ann. Sci. For.* **1995**, *52*, 23–42. [[CrossRef](#)]
47. Tennant, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *J. Ecol.* **1975**, *63*, 995–1001. [[CrossRef](#)]
48. Van den Burg, J. *Foliar Analysis for Determination of Tree Nutrient Status: A Compilation of Literature Data*; Rijksinstituut voor Onderzoek in de Bos-en Landschapsbouw de Dorschkamp: Wageningen, The Netherlands, 1985.
49. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2017; Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 3 July 2017).
50. Warton, D.I.; Hui, F.K.C. The arcsine is asinine: The analysis of proportions in ecology. *Ecology* **2011**, *92*, 3–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. McConnaughay, K.D.M.; Coleman, J.S. Biomass Allocation in Plants: Ontogeny or Optimality? A Test along Three Resource Gradients. *Ecology* **1999**, *80*, 2581–2593. [[CrossRef](#)]
52. Achat, D.L.; Deleuze, C.; Landmann, G.; Pousse, N.; Ranger, J.; Augusto, L. Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth—A meta-analysis. *For. Ecol. Manag.* **2015**, *348*, 124–141. [[CrossRef](#)]
53. Augusto, L.; Ranger, J.; Ponette, Q.; Rapp, M. Relationships between forest tree species, stand production and stand nutrient amount. *Ann. For. Sci.* **2000**, *57*, 313–324. [[CrossRef](#)]
54. Ritson, P.; Sochacki, S. Measurement and prediction of biomass and carbon content of *Pinus pinaster* trees in farm forestry plantations, south-western Australia. *For. Ecol. Manag.* **2003**, *175*, 103–117. [[CrossRef](#)]
55. Pena, R.; Simon, J.; Rennenberg, H.; Polle, A. Ectomycorrhiza affect architecture and nitrogen partitioning of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings under shade and drought. *Environ. Exp. Bot.* **2013**, *87*, 207–217. [[CrossRef](#)]
56. Tedersoo, L.; Bahram, M.; Toots, M.; Diédhiou, A.G.; Henkel, T.W.; Kjoller, R.; Morris, M.H.; Nara, K.; Nouhra, E.; Peay, K.G.; et al. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Mol. Ecol.* **2012**, *21*, 4160–4170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Bahram, M.; Pölme, S.; Kõljalg, U.; Zarre, S.; Tedersoo, L. Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. *New Phytol.* **2012**, *193*, 465–473. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Shi, L.; Guttenberger, M.; Kottke, I.; Hampp, R. The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): Changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* **2002**, *12*, 303–311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Sewerniak, P.; Jankowski, M. Topographically-controlled site conditions drive vegetation pattern on inland dunes in Poland. *Acta Oecol.* **2017**, *82*, 52–60. [[CrossRef](#)]
60. Bahr, A.; Ellström, M.; Akselsson, C.; Ekblad, A.; Mikusinska, A.; Wallander, H. Growth of ectomycorrhizal fungal mycelium along a Norway spruce forest nitrogen deposition gradient and its effect on nitrogen leakage. *Soil Biol. Biochem.* **2013**, *59*, 38–48. [[CrossRef](#)]
61. Bakker, M.; Garbaye, J.; Nys, C. Effect of liming on the ectomycorrhizal status of oak. *For. Ecol. Manag.* **2000**, *126*, 121–131. [[CrossRef](#)]
62. Tedersoo, L.; Smith, M.E. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biol. Rev.* **2013**, *27*, 83–99. [[CrossRef](#)]
63. Cline, E.T.; Ammirati, J.F.; Edmonds, R.L. Does proximity to mature trees influence ectomycorrhizal fungus communities of Douglas-fir seedlings? *New Phytol.* **2005**, *166*, 993–1009. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Peay, K.G.; Schubert, M.G.; Nguyen, N.H.; Bruns, T.D. Measuring ectomycorrhizal fungal dispersal: Macroecological patterns driven by microscopic propagules. *Mol. Ecol.* **2012**, *21*, 4122–4136. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Robakowski, P.; Wyka, T.; Samardakiewicz, S.; Kierzkowski, D. Growth, photosynthesis, and needle structure of silver fir (*Abies alba* Mill.) seedlings under different canopies. *For. Ecol. Manag.* **2004**, *201*, 211–227. [[CrossRef](#)]
66. Chen, H.Y.; Klinka, K. Survival, growth, and allometry of planted *Larix occidentalis* seedlings in relation to light availability. *For. Ecol. Manag.* **1998**, *106*, 169–179. [[CrossRef](#)]

67. Elliott, K.J.; White, A.S. Effects of light, nitrogen, and phosphorus on red pine seedling growth and nutrient use efficiency. *For. Sci.* **1994**, *40*, 47–58.
68. Rodríguez-García, E.; Bravo, F. Plasticity in *Pinus pinaster* populations of diverse origins: Comparative seedling responses to light and Nitrogen availability. *For. Ecol. Manag.* **2013**, *307*, 196–205. [[CrossRef](#)]
69. Ruano, I.; Pando, V.; Bravo, F. How do light and water influence *Pinus pinaster* Ait. germination and early seedling development? *For. Ecol. Manag.* **2009**, *258*, 2647–2653. [[CrossRef](#)]
70. Ingleby, K.; Munro, R.C.; Noor, M.; Mason, P.A.; Clearwater, M.J. Ectomycorrhizal populations and growth of *Shorea parvifolia* (Dipterocarpaceae) seedlings regenerating under three different forest canopies following logging. *For. Ecol. Manag.* **1998**, *111*, 171–179. [[CrossRef](#)]
71. Zavala, M.A.; Espelta, J.M.; Caspersen, J.; Retana, J. Interspecific differences in sapling performance with respect to light and aridity gradients in Mediterranean pine–oak forests: Implications for species coexistence. *Can. J. For. Res.* **2011**, *41*, 1432–1444. [[CrossRef](#)]
72. Wang, G.G.; Qian, H.; Klinka, K. Growth of *Thuja plicata* seedlings along a light gradient. *Can. J. Bot.* **1994**, *72*, 1749–1757. [[CrossRef](#)]
73. Markesteijn, L.; Poorter, L. Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought- and shade-tolerance. *J. Ecol.* **2009**, *97*, 311–325. [[CrossRef](#)]
74. Brunner, I.; Herzog, C.; Dawes, M.A.; Arend, M.; Sperisen, C. How tree roots respond to drought. *Front. Plant Sci.* **2015**, *6*, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Alexander, I.J. The *Picea sitchensis* + *Lactarius rufus* mycorrhizal association and its effects on seedling growth and development. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **1981**, *76*, 417–423. [[CrossRef](#)]
76. Ostonen, I.; Tedersoo, L.; Suvi, T.; Lõhmus, K. Does a fungal species drive ectomycorrhizal root traits in *Alnus* spp.? *Can. J. For. Res.* **2009**, *39*, 1787–1796. [[CrossRef](#)]
77. Nara, K. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytol.* **2006**, *169*, 169–178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Pigott, C.D. Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils. *New Phytol.* **1982**, *92*, 513–517. [[CrossRef](#)]
79. Kreuzwieser, J.; Gessler, A. Global climate change and tree nutrition: Influence of water availability. *Tree Physiol.* **2010**, *30*, 1221–1234. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).