

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR des sciences fondamentales et appliquées
Unité de recherche pluridisciplinaire prairies et plantes fourragères - URP3F
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

École doctorale : Sciences pour l'environnement - Gay Lussac (La Rochelle)
Secteur de recherche : Agronomie, écologie et environnement

Présentée par :
Julien Meilhac

Impact de la diversité génétique des communautés prairiales sur la production et la biodiversité du sol : Implications pour l'amélioration des plantes

Directeur(s) de Thèse :
Isabelle Litrico

Soutenue le 06 décembre 2018 devant le jury

Jury :

Président	Rossitza Atanassova	Professeur, EBI, Université de Poitiers
Rapporteur	Jacques David	Professeur, SupAgro, Montpellier
Rapporteur	Fabrice Roux	Directeur de recherche CNRS, INRA, Toulouse
Membre	Isabelle Litrico	Directeur de recherche, INRA, Lusignan
Membre	Nicolas Gross	Chargé de recherche, CEBC, INRA, Chizé
Membre	Hervé Sanguin	Cadre de Recherche, CIRAD, Montpellier

Pour citer cette thèse :

Julien Meilhac. *Impact de la diversité génétique des communautés prairiales sur la production et la biodiversité du sol : Implications pour l'amélioration des plantes* [En ligne]. Thèse Agronomie, écologie et environnement. Poitiers : Université de Poitiers, 2018. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

THESE

Pour l'obtention du Grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)
Ecole Doctorale : Gay Lussac

Secteur de Recherche : Agronomie, écologie et environnement

Présentée par :
Julien Meilhac

Impact de la diversité génétique des communautés prairiales sur la production et la biodiversité du sol: Implications pour l'amélioration des plantes

Directeur de Thèse : **Isabelle Litrico**

Soutenue le 6 décembre 2018
devant la Commission d'Examen

JURY

Jacques DAVID , Professeur, Montpellier SupAgro	Rapporteur
Fabrice ROUX , DR, CNRS-Toulouse	Rapporteur
Hervé SANGUIN , Cadre, CIRAD-Montpellier	Examineur
Rossitza ATANASSOVA , Professeur, Université de Poitiers	Examineur
Nicolas GROSS , Chargé de recherche, CNRS-Chizé	Examineur
Isabelle Litrico , DR, INRA-Lusignan	Directrice de thèse

Impact de la diversité génétique des communautés
prairiales sur la production et la biodiversité du sol:
implications pour l'amélioration des plantes

Remerciement

Cette thèse est le fruit de trois années de recherche et de travail, qui n'aurait pas été possible sans l'aide de nombreuses personnes que je tiens à remercier en préambule de ce rapport.

En premier lieu, je tiens vivement à remercier Isabelle Litrico de m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse, de m'avoir encadré durant ces trois années et soutenu dans les moments difficiles que tous thésards traversent lors de cette « aventure ». Je la remercie également pour sa participation dans la rédaction de ce rapport et pour ses corrections minutieuses. Je la remercie également pour sa grande gentillesse, son dévouement au bon déroulement de cette thèse. Mais je la remercie surtout de m'avoir aidé à me surpasser sur bien des aspects.

Je remercie également Dominique Denoue pour son appui technique, il a été une pièce maitresse dans cette thèse par sa rigueur, son dévouement, et son efficacité dans la mise en place des dispositifs et de leurs suivis. Je le remercie d'avoir coordonné les différentes campagnes de mesures m'épargnant bon nombre de problèmes logistiques. Mais je le remercie surtout pour sa bonne humeur et son soutien indéfectible au quotidien qui m'ont été précieux, pour ses conseils avisés et le partage de ses expériences dans le domaine de l'expérimentation. Je remercie également Brigitte Bonneau pour sa participation aux différentes campagnes de mesures sur le terrain, mais surtout pour son soutien et sa prévenance qui, avec ceux de Dominique Denoue, ont participé à rendre cette thèse conviviale.

Je tiens à remercier toute l'équipe de terrain génétique qui a participé aux campagnes de mesures sur le terrain. Je remercie Jean-François Bourcier, Maryline Vandier, Magalie Caillaux, Frank Gelin, Rodrigue Veron et Fabien Surault pour leur participation. Je remercie également Rémi Dupuis pour les carottages de sol et sa très grande efficacité. Je remercie également l'équipe administrative pour leur aide dans les multiples démarches administratives. Je remercie l'équipe biologie moléculaire, et particulièrement Philippe Cormenier, Sébastien Blugeon et Sandrine Flajoulot pour l'immense travail qu'ils ont abattu pour la construction d'un outil moléculaire qui leur a nécessité temps et patience.

Je remercie également les différents chercheurs qui ont participé activement aux résultats développés dans cette thèse, tout particulièrement Jean louis Durand qui m'a permis d'analyser mes données sous un angle éco-physiologique pertinent, Vincent Maire et Lucas Deschamps pour leur expertise dans l'écologie fonctionnelle et tout particulièrement Vincent Maire qui m'a permis de réaliser un séjour d'un mois au Canada au sein de son laboratoire de recherche, je le remercie pour son extrême gentillesse, sa bonne humeur, son bon accueil, et son dévouement dans notre collaboration. Je remercie Hervé sanguin qui m'a beaucoup aidé pour mes analyses sur la biodiversité associé du sol, domaine pour lequel je suis novice. Je remercie également Jean-Paul Sampoux, Philippe Barre, Marc Ghesquière et Bernadette Julier pour leurs aides en statistiques. Je remercie Thierry Bourgouin pour le partage de son expérience dans le domaine de la sélection des plantes avec qui j'ai beaucoup appris.

Enfin je tiens à remercier l'entreprise Jouffray-Drillaud et Vincent Béguier pour avoir rendu possible un partenariat avec l'INRA de Lusignan. Je remercie également toute l'équipe technique de la station de recherche Jouffray-Drillaud pour la gestion du dispositif microparcelles.

Préambule

La question environnementale est devenue une préoccupation majeure dans nos sociétés d'aujourd'hui marquées par les images de déforestation de la forêt amazonienne, des oiseaux englués par des marées noires, ou encore de la dislocation d'immenses icebergs de la banquise. Cette sensibilisation par les médias et portée par le monde scientifique fait suite à une prise de conscience, débutée il y a maintenant plusieurs décennies, sur le constat que l'Homme peut impacter durablement les écosystèmes sur des échelles spatiales très vastes. Cependant leur dégradation n'est pas sans conséquences pour la diversité du vivant qu'ils abritent. De nombreuses espèces voient leurs populations en déclin conduisant dans les cas les plus extrêmes à l'extinction de l'espèce. La dégradation des habitats trouve son origine en grande partie dans l'artificialisation des sols qui perturbe les habitats des espèces. On pourrait citer l'extension des villes et l'urbanisation toujours croissante, la déforestation de milieux naturels pour leur mise en culture, ou encore la pollution des eaux liées à l'activité anthropique. L'International Union for Conservation of Nature (IUCN) estime en France à 739 le nombre d'espèces qui voit leur population en déclin en 2017 dont 371 sont des espèces animales (statistique IUCN 2017) parmi lesquelles on trouve les chauves-souris, l'outarde canepetière ou encore les abeilles. Le règne végétal n'est pas non plus épargné, moins médiatisé car plus discret, mais non moins représenté, on estime aujourd'hui à 368 le nombre d'espèces végétales menacées, essentiellement des fleurs sauvages. La France n'est pas un cas isolé et le même constat est fait à l'échelle du monde avec au total près de 27 000 espèces menacées, poussant même les scientifiques à parlé d'une sixième extinction. Pourtant cette diversité est utile au bon fonctionnement des écosystèmes bien que l'on connaisse peu les mécanismes et les interactions qui interviennent. Seule certitude, ces écosystèmes nous fournissent un certain nombre de services indispensables comme l'épuration des eaux, le maintien de la fertilité des sols, ou encore la pollinisation des cultures. Cette diversité du vivant menacée a été largement médiatisée sous la désignation de biodiversité qui est issu de la contraction anglaise de « biological diversity ». Ce terme a connu un véritable essor dans les années 1980 et a été officialisé sur la scène internationale à l'occasion du sommet de la Terre à Rio en 1992. La biodiversité se définit comme étant l'ensemble des êtres vivants et leur interaction entre eux et leur milieu. Cette définition large recouvre en réalité plusieurs

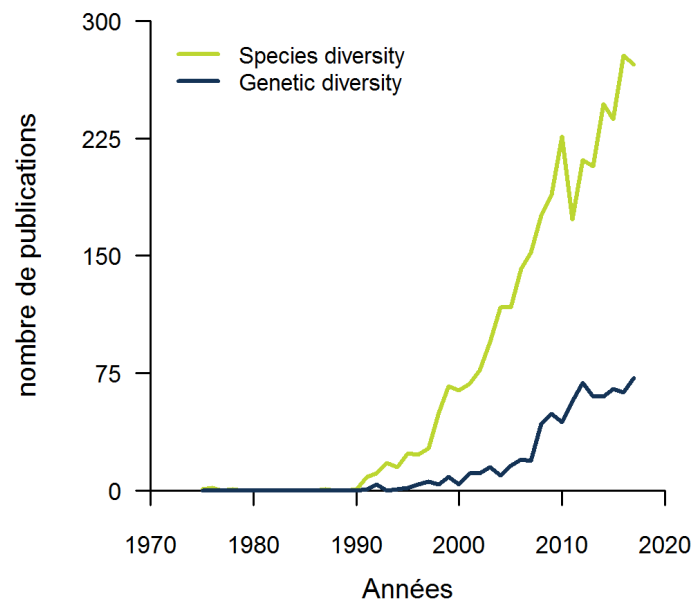


Figure P.1 Evolution du nombre de publications annuelles depuis 1970 pour la diversité spécifique (species diversity) et génétique (genetic diversity). Les données sont issues de la base de données « ISI web of knowledge » (seuls les publications référencées dans le domaine écologie faisant mention des mots clés dans la rubrique topic ont été prises en compte).

niveaux de diversité, dont la diversité génétique (intraspécifique) et la diversité des espèces (spécifique) bien qu'elle a été souvent réduite à la simple diversité spécifique tant sur le plan médiatique que scientifique. Ceci pour une simple raison car la diversité spécifique est un niveau d'organisations très intuitif et facilement compréhensible par un large public pour des campagnes de sensibilisation médiatique et plus facilement manipulable pour la recherche. La biodiversité a fait l'objet de nombreuses études et comprendre les interactions entre les organismes composant un écosystème est un préalable nécessaire à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes. Bien qu'elle ait longtemps été étudiée avec des figures emblématiques telles que Charles Darwin et son célèbre ouvrage « *The origin of species* », ce n'est que dans les années 1990, et en particulier après le sommet de la Terre de Rio en 1992, que la recherche s'empare véritablement de la préservation de la biodiversité. Dès lors le nombre de publication portant sur la diversité génétique et spécifique augmente significativement (Figure P.1) et des disciplines scientifiques à caractère fondamental gagnent en importance vis-à-vis de ces enjeux sociétaux, notamment avec l'écologie des communautés¹ qui vise à comprendre comment à l'échelle d'une communauté s'assemblent et se structurent les espèces ainsi que leur impact dans le fonctionnement des écosystèmes, ou encore la génétique des populations qui investit la diversité génétique (intraspécifique) et son évolution au sein des populations. L'articulation de ces deux disciplines pour la compréhension du fonctionnement des communautés et des écosystèmes ouvre des perspectives pour répondre à de nombreux enjeux sociétaux en particulier dans le domaine de l'agriculture et de l'amélioration des plantes.

¹ La communauté au sens écologique du terme désigne un ensemble d'individus appartenant à des espèces différentes en opposition au peuplement monospécifique.

Sommaire

CHAPITRE 1 -	INTRODUCTION	1
1.	<i>Diversité des espèces et production de biomasse par les communautés végétales.....</i>	1
2.	<i>Diversité des espèces végétales et communautés microbiennes du sol.....</i>	7
3.	<i>Les mécanismes sous-jacents à l'effet de la diversité spécifique, le «sampling effect» et la complémentarité</i>	9
4.	<i>Effet de la diversité génétique.....</i>	15
5.	<i>Relation entre diversité génétique et spécifique dans les communautés</i>	19
6.	<i>Agroécologie, Amélioration des plantes et prairies semées.....</i>	27
7.	<i>Objectifs de la thèse et hypothèses de travail.....</i>	35
CHAPITRE 2 -	MATERIEL ET METHODES	39
1.	<i>Les prairies semées.....</i>	39
2.	<i>Choix des espèces.....</i>	43
3.	<i>Démarche générale</i>	49
4.	<i>Les dispositifs</i>	49
4.1	Dispositif en microparcelles	49
4.2	Dispositif pépinière	53
4.3	Effet de la diversité génétique : les meures.....	53
5.	<i>Dynamique de la diversité phénotypique et génétique dans les mélanges.....</i>	63
5.1	Dynamique de la diversité génétique	63
5.2	Dynamique de la diversité phénotypique	67
5.3	Analyses statistiques	69
6.	<i>Caractérisation physique et diversité microbienne du sol des microparcelles</i>	73
6.1	Echantillonnage sol des microparcelles	73
6.2	Mesures chimiques	73
6.3	Estimation de la diversité microbienne.....	73
6.4	Analyses statistiques	79
7.	<i>Mesures phénotypiques sur plantes en pépinière</i>	85
CHAPITRE 3 -	CARACTERISATION DU MATERIEL VEGETAL ET DU MILIEU	87
1.	<i>Données phénotypiques de la pépinière et caractérisation des variétés et espèces utilisées</i>	87
2.	<i>Diversité phénotypique de la hauteur au cours du temps dans le dispositif microparcelles</i>	89
3.	<i>Vérification d'installation des variétés dans les mélanges.....</i>	91
4.	<i>Caractérisation des conditions climatiques de la période d'expérimentation</i>	93
CHAPITRE 4 -	EFFET DE LA DIVERSITE GENETIQUE SUR LA PRODUCTION DES COMMUNAUTES MULTISPECIFIQUES PRAIRIALES ..	95
CHAPITRE 5 -	DIVERSITE GENETIQUE ET MECANISMES SOUS-JACENTS A LA DIFFERENCIATION DE NICHES DES ESPECES	131
CHAPITRE 6 -	EFFET DE LA DIVERSITE GENETIQUE SUR LA BIODIVERSITE ASSOCIEE DU SOL	167

1.	<i>Introduction.....</i>	171
2.	<i>Résultats.....</i>	175
3.	<i>Discussion.....</i>	181
4.	<i>Conclusion</i>	187
CHAPITRE 7 -	DISCUSSION GENERALE	195
1.	<i>Diversité génétique et production de biomasse des communautés multispécifiques.....</i>	197
2.	<i>Diversité génétique et stabilité de la production</i>	199
3.	<i>Les mécanismes sous-jacents aux effets de la diversité génétique</i>	203
4.	<i>Effet de la diversité génétique sur la biodiversité associée du sol.....</i>	209
5.	<i>Diversité génétique et améliorations des plantes.....</i>	213
CHAPITRE 8 -	CONCLUSION GENERALE	219
CHAPITRE 9 -	BIBLIOGRAPHIE	221
ANNEXE.....		235

Chapitre 1 - Introduction

La diversité peut être définie à différents niveaux d'organisation au sein d'une communauté végétale, d'un niveau intraspécifique à un niveau interspécifique. La diversité spécifique est au cœur de nombreuses études visant à comprendre la structuration et le fonctionnement des communautés et des écosystèmes.

1. Diversité des espèces et production de biomasse par les communautés végétales

Le fonctionnement des communautés végétales est sous la dépendance des espèces qui composent ces communautés (Hooper *et al.* 2005). La plupart des expérimentations ont manipulé la diversité spécifique à travers le nombre d'espèces et une abondante littérature met en évidence un effet de la diversité spécifique sur le fonctionnement des communautés et des écosystèmes (Tilman, Wedin & Knops 1996; Naeem 1998; Hector *et al.* 1999; Tilman *et al.* 2001; Gross *et al.* 2009; Crawford & Rudgers 2012; Pontes *et al.* 2012; van Rooijen *et al.* 2015). L'une des premières études est celle de Naeem *et al.* (1994) qui teste 14 types de microcosmes terrestres cultivés en écotron avec des niveaux de diversité spécifique variables (faible diversité avec neuf espèces, diversité moyenne avec 15 espèces et haut niveau de diversité avec 31 espèces). La productivité des plantes a été suivie (6 mesures sur un an) et met en évidence un accroissement de la production de biomasse avec le nombre d'espèces quel que soit le point de mesure considéré. L'étude de Tilman, Wedin and Knops (1996) est quant à elle l'une des premières à démontrer un effet de cette diversité à partir d'une expérimentation type parcellaire. Un ensemble de 147 communautés a été installé (3 x 3m) avec un nombre d'espèces variable par communauté (1 à 24 espèces randomisées) et la productivité des communautés a été suivie en termes de biomasse totale produite. Là encore, les résultats obtenus montrent que la production de biomasse augmente significativement avec le nombre d'espèces de plante. Dans une seconde étude, Tilman, Lehman and Thomson (1997) met en évidence que la relation qui lie productivité des écosystèmes et richesse spécifique est une relation de type log linéaire. De nombreuses études ont par la suite étayé cela en démontrant de façon empirique cette relation positive entre diversité spécifique et productivité (Naeem *et al.* 1996; van Ruijven & Berendse 2003; Flombaum & Sala 2008).

La relation diversité-productivité n'est pas systématique au sein des expérimentations. En effet, l'impact positif de la diversité spécifique sur la production n'est pas toujours vérifié bien que cela soit souvent le cas. La corrélation entre diversité spécifique et production peut être inexistante (Grace *et al.* 2007) et des communautés monospécifiques peuvent être aussi productives que des communautés multispécifiques (Hector *et al.* 1999; Finn *et al.* 2013; Day *et al.* 2014). L'étude de Grace *et al.* (2007) regroupait des données mesurées sur 1339 parcelles individuelles correspondant à deux types d'écosystème naturels: les prairies et les zones humides. Ces parcelles étaient réparties en 12 sites dans quatre pays différents (Etats-Unis, Tanzanie, Inde et Finlande). Les résultats indiquent une relation positive seulement pour deux sites, alors qu'une relation négative ou nulle a été trouvée pour les sites restants. De l'analyse globale des sites, il en ressort une absence d'effet de la richesse spécifique sur les niveaux de production de biomasse des écosystèmes naturels, niveaux davantage expliqués par des variables environnementales.

Des études expérimentales accentuent la généralité de cette relation diversité-productivité en la testant sur des dispositifs multi-site et en manipulant cette fois-ci la diversité spécifique des parcelles. L'un des premiers dispositifs est celui de BIODDEPTH (Hector *et al.* 1999) dans lequel ont été implantées près de 500 parcelles avec 200 communautés prairiales qui diffèrent par leur composition et leur niveau de richesse spécifique suivant 5 niveaux (1 à 16 espèces). La production de biomasse végétale a été suivie à travers huit sites en Europe au climat contrasté et met en évidence une relation positive diversité-productivité sur la plupart des sites étudiés. D'autres études utilisent également une approche multi-sites, en particulier celle de (Guo, Shaffer & Buhl 2006) qui reprend un dispositif similaire avec un essai réparti sur 4 sites contrastés en termes de précipitation ou encore celle de Finn *et al.* (2013) qui utilise 31 sites différents. Guo, Shaffer and Buhl (2006) met en évidence une relation positive pour la plupart des communautés semées mais certaines faisaient exception. Quant à Finn *et al.* (2013), un fort effet positif de la diversité a été trouvé, et cela, malgré les variations d'abondances des espèces au sein des communautés diversifiées. Ainsi dans la littérature écologique, un effet positif de la diversité spécifique sur la production de biomasse est fréquemment mis en avant mais une partie des études controversent cette affirmation. Gross *et al.* (2014) a conduit une métaanalyse sur des résultats issus de 27 dispositifs expérimentaux composés de 16 dispositifs basés sur des communautés prairiales et 11 dispositifs basés sur des microcosmes d'algues

(eau douce). Cette étude conclue à un effet positif de la diversité des espèces sur la productivité des communautés végétales.

La mesure de la diversité des communautés peut se définir autrement que sur le simple nombre d'espèces d'une communauté. Si l'on s'intéresse aux fonctions des espèces dans la communauté, la notion de diversité fonctionnelle peut être utilisée (Hooper 1998; Gross *et al.* 2007). Plusieurs espèces au sein d'une communauté peuvent remplir la même fonction, c'est-à-dire qui peuvent avoir des effets semblables sur le fonctionnement de l'écosystème (Diaz & Cabido 2001). La distinction des espèces par rapport à leur stratégie d'acquisition de l'azote paraît assez intuitif (variable catégorielle : espèces fixatrice ou non de l'azote atmosphérique) mais peut être plus complexe quand plusieurs traits sont considérés. Un certain nombre d'études avancent qu'au-delà du simple nombre d'espèces c'est davantage la diversité fonctionnelle, c'est à dire la diversité de groupes fonctionnels, qui explique mieux la relation positive diversité-productivité (Tilman *et al.* 1997; Hector *et al.* 1999; Cadotte, Carscadden & Mirotchnick 2011) ce qui pourrait ainsi expliquer une certaine hétérogénéité des résultats de l'effet de la diversité spécifique sur la production. Cependant dans de nombreuses expérimentations, le bénéfice de la diversité fonctionnelle pourrait être attribué à la présence de légumineuses qui, dans les communautés de type herbacé, permet d'accroître la disponibilité d'azote pour les graminées (Huston *et al.* 2000). Pour lever le doute sur un éventuel biais introduit par la présence de légumineuses, van Ruijven and Berendse (2003) met en place un dispositif classique faisant varier le nombre d'espèces sans aucune légumineuse et montre néanmoins une relation diversité des espèces et productivité positive. Il est ainsi aujourd'hui, clairement admis que la diversité spécifique et la diversité fonctionnelle ont un impact positif sur la production de la communauté végétale. Cet impact positif passe aussi par la stabilité de la production de biomasse de la communauté végétale, la diversité spécifique améliore la stabilité temporelle de cette production (Isbell, Polley & Wilsey 2009; Jiang & Pu 2009; Chen & Liu 2011; Gross *et al.* 2014; van Rooijen *et al.* 2015) mais cette stabilité peut être le résultat d'un déséquilibre au niveau de l'abondance des espèces (Gross *et al.* 2014) dans la communauté à travers des interactions compensatoires. En effet, lorsqu'une espèce produit moins de biomasse, une ou plusieurs autres espèces peuvent produire davantage lié à une diminution de la compétition, de sorte que la production de biomasse à l'échelle de la communauté reste stable.

L'effet de la diversité spécifique sur la productivité des communautés végétales a été donc largement démontré et cet effet positif semble augmenter avec le temps (Mulder *et al.* 2002; Tilman, Reich & Knops 2006; Reich *et al.* 2012). Cette augmentation de la plus-value de la diversité spécifique avec le temps pourrait trouver son explication dans les mécanismes sous-jacents à cet effet de la diversité. L'augmentation de la diversité spécifique favorise la redondance des espèces susceptibles d'accroître les interactions compétitives au sein de la communauté végétale, mais il a été montré que cette redondance s'estompe au cours du temps au bénéfice d'espèces plus complémentaires (Reich *et al.* 2012). De plus, l'accroissement des effets de la diversité spécifique pourrait être lié également à la mise en place de rétroactions des écosystèmes, en particulier celles liées aux communautés microbiennes du sol (Strecker *et al.* 2016) qui sont à la base de la disponibilité des nutriments.

2. Diversité des espèces végétales et communautés microbiennes du sol

Alors que la diversité spécifique et fonctionnelle influence la productivité des communautés, d'autres effets de cette diversité au niveau écosystémique peuvent être relevés avec une rétroaction potentielle sur la productivité des communautés végétales. C'est notamment le cas de la diversité microbienne du sol associée aux plantes. Cette diversité microbienne est importante car elle impacte les cycles carbone/azote du sol et donc indirectement le maintien de la fertilité des sols qui est un facteur important de la production de la communauté végétale. La diversité spécifique végétale favorise la réduction de la concentration en nitrates des sols suggérant une plus grande efficacité dans l'utilisation des ressources azotées disponibles (Tilman, Wedin & Knops 1996). Parallèlement, une augmentation de la teneur en azote et en carbone du sol sous forme non assimilable par les plantes est observée (Tilman, Isbell & Cowles 2014) avec la diversité des espèces d'une part mais également et plus largement par l'identité des espèces d'autre part, c'est-à-dire la composition fonctionnelle des communautés (De Deyn *et al.* 2009; Dawud *et al.* 2016) et en particulier en présence de légumineuses. La diversité spécifique végétale influence la dynamique et la diversité des communautés microbiennes du sol à travers son impact sur les cycles du carbone et de l'azote (Reich *et al.* 2012). La production de biomasse liée à la diversité spécifique favorise la teneur en matière organique du sol, notamment par la formation d'une litière plus abondante, favorisée par la présence de graminées qui ont une densité racinaire plus importante que

d'autres espèces herbacées (Roscher *et al.* 2012), mais aussi par la sécrétion d'exsudats racinaires (Grayston *et al.* 1998; Baudoin, Benizri & Guckert 2003). La diversité des espèces végétales génère une diversité des composés exsudés et/ou décomposés à partir de la litière (Badri & Vivanco 2009), ce qui peut entraîner une hétérogénéité de ressources favorisant alors la diversité des communautés microbiennes. La composition des tissus des végétaux et la dynamique de croissance aérienne et racinaire des plantes sont des caractéristiques influençant la diversité des communautés microbiennes du sol (Grosso, Baath & De Nicola 2016). La diversité fonctionnelle influence la dynamique des communautés microbiennes (Spehn *et al.* 2000a), notamment à travers la présence de légumineuses, qui génèrent plus d'azote et une plus grande richesse des exsudats, associées avec des graminées capables de produire une biomasse racinaire plus importante qui, une fois sénescente, devient une source carbone pour ces communautés microbiennes. Mais cet impact de la diversité végétale sur la diversité microbienne est un processus qui s'inscrit dans la durée. Il a été démontré que l'effet sur les propriétés microbiennes augmente avec le temps (Strecker *et al.* 2016) après une période de structuration des communautés microbiennes liée à l'installation des communautés végétales. Ainsi, la mise en évidence de l'influence de la diversité spécifique et fonctionnelle sur les communautés microbiennes nécessite des dispositifs installés sur du long terme.

3. Les mécanismes sous-jacents à l'effet de la diversité spécifique, le «sampling effect» et la complémentarité

Comme énoncé précédemment, l'effet positif de la diversité spécifique sur la production de biomasse des communautés végétales est un effet fréquemment observé. Les mécanismes à l'origine de cet effet ont fait l'objet d'un certain nombre d'études (Spehn *et al.* 2000b; Fridley 2001; Hector *et al.* 2002; Cardinale *et al.* 2006; Loreau & de Mazancourt 2013). Le « sampling effect » et la complémentarité des espèces sont les deux principaux mécanismes, non exclusifs, avancés en écologie des communautés pour expliquer l'effet positif de la diversité spécifique sur le fonctionnement des écosystèmes (Tilman, Lehman & Thomson 1997; Loreau & Hector 2001).

Le « sampling effect » (Mulder *et al.* 2002) suggère que l'amélioration de la productivité des communautés avec l'augmentation de la diversité spécifique pourrait être liée à une augmentation de la probabilité d'être en présence d'espèces plus productives. Très tôt des

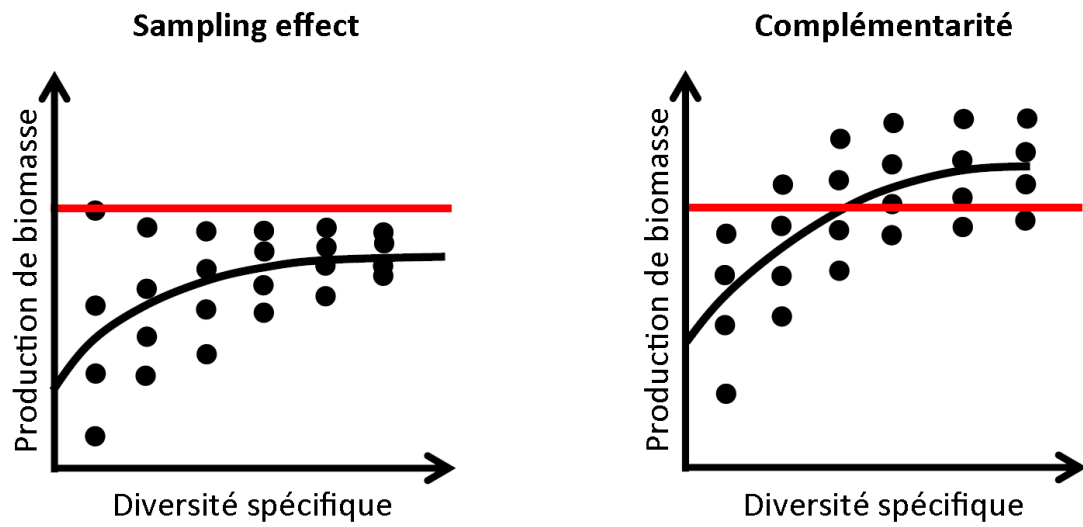


Figure 1.1 Effet du sampling effect et de la complémentarité des espèces sur la production de biomasse totale des communautés végétales (adaptée à partir de Barot *et al*, 2017). La ligne rouge représente la production de l'espèce la plus productive en peuplement monospécifique.

écologistes alarment sur l'introduction de biais dans les expérimentations visant à tester la plus-value de la diversité spécifique, biais causé par un « traitement caché » (Huston 1997) qui se confondrait avec la diversité spécifique. En effet, les espèces n'ont pas toutes les mêmes niveaux de productivité et la probabilité d'avoir une espèce plus productive dans des communautés multispécifiques augmente avec un niveau croissant de diversité spécifique (Aarssen 1997). L'effet sélectif, qui désigne l'exclusion d'espèces au sein des communautés sous l'effet des interactions biotiques (pressions compétitives) et abiotiques (pressions environnementales), favorise la représentativité dans les communautés des espèces dominantes en termes de biomasse (Loreau 2000). Mais ce raisonnement peut être étendu sous le terme de « sampling effect » qui généralise à d'autres fonctions (Hector *et al.* 2002) et désigne une plus forte probabilité pour une communauté multispécifique plus diversifiée de contenir une espèce adaptée susceptible de conduire certains processus de l'écosystème si elle devient dominante. La conséquence d'un tel mécanisme dans une expérimentation manipulant le nombre d'espèces sur la production de biomasse est une augmentation asymptotique de la production de biomasse avec une diversité spécifique croissante (Figure 1.1), l'asymptote étant déterminée par l'espèce la plus productive (Loreau 2000). Des études ont mis clairement en évidence ce mécanisme (Hector *et al.* 2002; Cardinale *et al.* 2006; Frankow-Lindberg 2012).

Un autre mécanisme, non exclusif, pouvant expliquer la plus-value de la diversité spécifique sur la production de biomasse est celui de la complémentarité entre espèces (Gross *et al.* 2007; Finn *et al.* 2013; Loreau & de Mazancourt 2013; Roscher *et al.* 2016; Van de Peer *et al.* 2018). Ce mécanisme est basé sur la théorie du « Limiting similarity » qui stipule que deux espèces au sein d'une même communauté ont plus de chance de coexister si leurs niches écologiques sont différentes (Macarthur & Levins 1967) en raison d'un partitionnement de l'utilisation des ressources dans le temps et/ou dans l'espace. Cette différence de niche des espèces permet une réduction des interactions compétitives favorisant leur coexistence et pouvant améliorer l'équilibre d'abondance des espèces, améliorant la production de biomasse à l'échelle de la communauté (Figure 1.1). On fait alors l'hypothèse que plus les différences de traits (variances et moyennes) des espèces sont importantes, plus les espèces sont supposées avoir des niches différentes, et donc des façons différentes d'utiliser des ressources. Cette hypothèse de « limiting similarity » est utilisée en écologie végétale pour estimer la

complémentarité d'utilisation des ressources entre espèces (McGill *et al.* 2006; Weiher *et al.* 2011) via la mesure de divers traits (par exemple la hauteur des plantes ou leur surface foliaire). Les traits étudiés sont dits fonctionnels car ils rendent compte de la performance des plantes et des niveaux de ressources auxquels ces plantes sont soumises (McGill *et al.* 2006; Violle *et al.* 2007). La différence de valeurs de trait renseigne sur le niveau de compétition des espèces, ainsi les communautés avec les traits les plus diverses sont associées à une plus grande complémentarité des espèces (Wagg *et al.* 2017). Cette diversité de traits traduit ainsi une différence de niche des espèces ce qui pourrait être à la base des effets positifs de la diversité (Jiang, Zhang & Wang 2007; Cadotte 2017). Les traits à l'origine de la complémentarité, sont des traits impliqués dans l'acquisition/utilisation des ressources et peuvent s'illustrer avec des valeurs contrastées entre espèces en termes de profondeur de racines (exploration différentes des horizons du sol), de port, de hauteur végétative (stratégies d'acquisition de la lumière différentes), ou encore de phénologie (cycle de croissance décalé). La complémentarité des espèces ne se résume pas qu'à un partitionnement « spatial » de l'utilisation des ressources des espèces, le partitionnement peut également être temporel. Des espèces seront davantage complémentaires si leur croissance ne se fait pas de façon synchrone dans la communauté, c'est-à-dire si leurs pics de biomasse sont décalés. Ce décalage déplace dans le temps les besoins entre les espèces favorisant ainsi leur complémentarité cette fois-ci temporelle (Loreau & de Mazancourt 2008; Isbell, Polley & Wilsey 2009; Rodriguez & Bertiller 2014; Aussenac *et al.* 2017). De plus, une asynchronie des pics de biomasses des espèces peut maximiser la stabilité de production de biomasse en la répartissant la réponse des espèces dans le temps. Au contraire la synchronie des espèces contribue à réduire la stabilité des processus au sein des communautés en concentrant les réponses des espèces sur une même échelle de temps. Cette complémentarité spatio-temporelle est largement discutée dans la littérature mais les preuves expérimentales de sa mise en place restent encore rares. La littérature compte un grand nombre d'études sur ces effets de la diversité et les mécanismes d'action associés mais la majorité d'entre elles traitent de la diversité à l'échelle interspécifique. Or, la diversité peut aussi être définie à une échelle intraspécifique en incluant les variations génétiques et les interactions G x E associées.

4. Effet de la diversité génétique

La diversité génétique a longtemps été négligée pour expliquer les variables mesurées à l'échelle de la communauté. La génétique des populations et l'écologie des communautés ont longtemps œuvré sur des niveaux d'organisation du vivant artificiellement séparés, respectivement la population et la communauté.

Alors que la diversité génétique confère des capacités adaptatives aux espèces (Vellend 2006; Schob *et al.* 2015), la plus-value de la diversité génétique a été étudiée plus largement dans les peuplements monospécifiques (Knott & Mundt 1990; Kotowska, Cahill & Keddie 2010; Cook-Patton *et al.* 2011), que multispécifiques (Booth & Grime 2003; Prieto *et al.* 2015). Dans un contexte agronomique, les mélanges variétaux sont reconnus pour avoir plusieurs avantages sur les cultures composées d'une seule variété (Barot *et al.* 2017), en particulier leur avantage en termes de résistance aux maladies (Zhu *et al.* 2000) qui n'est plus à démontrer. L'effet de la diversité génétique sur la production de biomasse a été testé dans plusieurs études dont celle de Cook-Patton *et al.* (2011) qui repose sur un dispositif de 230 parcelles où le nombre de génotypes en peuplement monospécifique a été manipulé selon deux niveaux de diversité : faible diversité génétique avec un génotype et forte diversité avec huit génotypes. Pour ces peuplements monospécifiques, une plus grande production de biomasse est obtenue dans les communautés avec une forte diversité avec un gain de près de 17%. Une expérience similaire était menée par Kotowska, Cahill and Keddie (2010) avec *Arabidopsis thaliana* dans laquelle des peuplements monospécifiques avec des niveaux variables de diversité génétique (monogénotype et multigénotype) et de densité de plantes (faible et forte densité). De la même façon ils mettent en évidence une meilleure production de biomasse dans les peuplements multigénotypiques aussi bien en condition de faible que de forte densité de plantes. Plus récemment, Scheepens *et al.* (2018) a également montré une meilleure productivité des peuplements monospécifiques (*Arabidopsis thaliana*) avec un niveau croissant de diversité génétique.

A l'échelle des mélanges multispécifiques, les études manipulant ce niveau de diversité mettent en avant des effets positifs de la diversité génétique sur la stabilité de production de biomasse (Booth & Grime 2003; Vellend 2006). En revanche, les études mettant en évidence un effet positif sur la production de biomasse, i.e. une surproduction, sont plus rares

(Crawford & Rudgers 2012; Zeng, Durka & Fischer 2017). Crawford and Rudgers (2012) a établi deux traitements à partir d'espèces de dune, un premier où la diversité génétique de l'espèce dominante de la communauté a été manipulée et un deuxième où c'est la diversité spécifique qui a été manipulée. Les résultats obtenus indiquent un effet positif de la diversité génétique parallèlement à celui de la diversité spécifique sur la production de biomasse. Au sein de micro-communautés prairiales, un effet positif de la diversité génétique a été montré sur la production de biomasse en conditions hydriques limitantes et non limitantes (Prieto *et al.* 2015). Dans cette étude, 124 micro-peuplements ont été installés, certains en monospécifiques et d'autres en multispécifiques avec un niveau variable de diversité génétique (de un à dix génotypes par espèce). Ces micro-peuplements ont été conduits en condition irriguée et de stress hydrique. Les résultats obtenus montrent qu'il n'y pas d'effet de la diversité génétique sur la production de biomasse sur les 18 mois de suivi, mais a un effet positif sur la stabilité de cette production et cela en conditions hydriques limitantes et non limitantes.

Outre l'effet de la diversité génétique sur la biomasse et la stabilité de production totale de la communauté, l'effet de la diversité génétique sur la coexistence des espèces est une question majeure puisqu'elle relie la diversité génétique des espèces et la structuration de ces espèces à l'échelle de la communauté. Quelques rares études (Booth & Grime 2003; Lankau 2009; Fridley & Grime 2010) ont mis en évidence de façon significative, ou sous forme de tendance, une plus-value de la diversité génétique sur la coexistence des espèces dans la communauté. Booth and Grime (2003) ont manipulé la diversité génétique de 36 communautés prairiales multispécifiques (microcosmes avec 11 espèces) suivant trois niveaux de diversité : un premier niveau de faible diversité avec 16 individus génétiquement identiques par espèce, un niveau intermédiaire avec 4 génotypes différents par espèce, et un dernier niveau à forte diversité avec 16 génotypes différents par espèce. Les résultats issus de cette expérimentation ne mettent pas en évidence une meilleure production de biomasse totale mais les espèces étaient représentées plus équitablement dans les communautés abritant le plus haut niveau de diversité génotypique. Le même résultat a été montré avec l'étude de Fridley and Grime (2010) sur une expérimentation similaire basée sur des microcosmes composés d'espèces prairiales.

5. Relation entre diversité génétique et spécifique dans les communautés

La diversité génétique pourrait favoriser la coexistence des espèces dans les communautés végétales et impacterait donc indirectement la diversité spécifique de ces communautés en maintenant un plus grand nombre d'espèces et/ou en modifiant les proportions d'abondances de ces espèces. Des relations étroites peuvent exister entre les niveaux de diversité au sein d'une communauté, mais la majorité des études visant à comprendre le fonctionnement et la structuration des communautés végétales se limitent à un niveau de diversité pour en mesurer les effets sans intégrer les différents niveaux composant la diversité (diversité génétique, diversité spécifique et diversité fonctionnelle). Alors que des corrélations empiriques entre la diversité génétique et la diversité spécifique des communautés animales et végétales sont détectées *in natura* (Vellend & Geber 2005), les relations causales dont elles peuvent résulter sont peu investies. Vellend and Geber (2005) fournissent des explications théoriques de ces corrélations entre diversité génétique et spécifique dans les communautés. Elles pourraient résulter de deux sortes d'effets, (i) des effets parallèles, dus aux caractéristiques de l'habitat, qui sont les effets de la migration, la sélection et la dérive, agissant de concert sur les deux niveaux de diversité et générant des corrélations positives. (ii) des effets directs (causaux) qui sont traduits par les interactions, comme la compétition ou la facilitation, entre individus au sein des communautés. Ces interactions génèrent des pressions de sélection locales qui structurent les différents niveaux de diversité dans la communauté. Même si dans la littérature récente, des études (Violle *et al.* 2009; Albert *et al.* 2011) commencent à s'intéresser de façon empirique à ces relations directes entre les niveaux de diversité, l'influence de la diversité génétique sur la composition des communautés (Booth & Grime 2003; Ehlers, Damgaard & Laroche 2016; Hart, Schreiber & Levine 2016) et les mécanismes sous-jacents (Zuppinge-Dingley *et al.* 2014) à cette influence restent expérimentalement peu documentés.

Ces effets directs des niveaux de diversité sont basés sur les pressions de sélection agissant au sein des communautés. Les espèces ayant des niches contrastées sont supposées être complémentaires dans l'acquisition et/ou l'utilisation des ressources, à l'inverse le chevauchement de niches est supposé augmenter les interactions compétitives. Les études testant l'effet de la diversité avec des expérimentations sur le long terme (plusieurs années) montrent une augmentation de l'effet de complémentarité des espèces dans le temps

(Naeem *et al.* 1994; Cardinale *et al.* 2007; Marquard *et al.* 2009; Allan *et al.* 2011). Des espèces qui pourraient sembler redondantes dans une communauté végétale à court terme peuvent devenir fonctionnellement différentes au cours du temps (Reich *et al.* 2012) en lien avec l'augmentation de la différence de niches. La différenciation de niches est un processus majeur en écologie qui permet aux espèces de réduire les interactions de compétition dans la communauté. Cette différenciation de niches, sur la base du « limiting similarity » peut être mise en évidence par un déplacement de caractères (Dayan & Simberloff 2005; Grant & Grant 2006; Ellis *et al.* 2015). Ce déplacement de caractère, induit par les interactions compétitives, aboutit à un changement de la distribution des valeurs de traits des espèces via des modifications phénotypiques au sein des espèces. Par exemple, la hauteur végétative est un trait majeur impliqué dans l'acquisition de la lumière (Westoby 1998) qui sous l'effet de la plasticité peut fréquemment varier.

La plasticité est un élément majeur dans la capacité adaptative des espèces aux facteurs biotiques et abiotiques (Lipowsky *et al.* 2015; Grenier, Barre & Litrico 2016) en permettant aux génotypes d'une espèce de modifier leur phénotype afin de répondre aux conditions de l'environnement (Matesanz, Horgan-Kobelski & Sultan 2012). La plasticité peut conduire les espèces à restreindre ou étendre leur niche (Berg & Ellers 2010) y compris dans des niches encore inexploitées par la communauté. Mais selon les pressions sélectives opérant, la plasticité peut également réduire la différence de niches entre les espèces et aboutir à une convergence pour un ou plusieurs traits impliqués dans la réponse à un ou plusieurs facteurs environnementaux (Roscher *et al.* 2015). Mais la convergence de certains traits n'est pas un obstacle à la divergence d'autres traits, la niche des espèces est souvent décrite de façon multidimensionnelle (Blonder *et al.* 2014). Ainsi le chevauchement de niches pour une ressource donnée ne présage pas nécessairement de la compétition sur l'ensemble des ressources car la niche écologique des espèces est par définition multi-traits.

L'adaptation à l'environnement peut faire appel à la plasticité mais n'est pas indépendant de la sélection qui est le mécanisme évolutif majeur en génétique des populations. La sélection de génotypes complémentaires maximise la différence de niches des espèces en compétition (Grenier, Barre & Litrico 2016) et peut également favoriser un déplacement des niches. Ces considérations théoriques n'ont pas de pendants expérimentaux dans la littérature sur les

communautés végétales, seule l'étude de Zupinger-Dingley *et al.* (2014) démontre, dans des communautés multispécifiques, que la sélection favorise la différenciation de niches des espèces. Dans cette étude, des peuplements multispécifiques et monospécifiques ont été installés et les semences ont été récoltées après huit années d'évolution pour chaque peuplement. A partir de ces semences, qui sont soit issues des peuplements monospécifique ou multispécifique, de nouvelles communautés identiques en termes de composition spécifique sont installées. La complémentarité des espèces est alors plus forte pour les communautés dont les semences sont issues de communautés multispécifiques. Dans cette étude, l'effet de la diversité génétique sur le processus de différenciation de niches n'a pas été étudié et les traits qui permettraient de relier l'évolution (sélection génétique) et la complémentarité des espèces dans l'utilisation des ressources n'ont pas été suivis. Pourtant, La diversité génétique pourrait jouer un rôle majeur dans les processus de sélection visant à maximiser la différence de niches entre espèces (Vellend & Geber 2005).

La diversité génétique, via sa composante génétique et la plasticité, favorise la diversité phénotypique (Hart, Schreiber & Levine 2016) au sein d'une espèce, ce qui est un élément majeur dans le processus de différenciation de niches des espèces puisque la cible de la sélection, imposée par la pression compétitive des espèces de la communauté (Vellend 2006), est le phénotype. De prime abord, la relation diversité génétique et différenciation de niches des espèces peut-nous amener à penser qu'une augmentation de la diversité phénotypique pourrait augmenter le chevauchement des espèces au sein d'une communauté. Ce chevauchement peut conduire à une réduction de la coexistence des espèces à court terme (en termes d'abondance spécifique) par la dominance des compétiteurs au sein de la communauté (Crawford & Rudgers 2012; Hart, Schreiber & Levine 2016). Cependant l'effet positif de cette diversité génétique, qui permettrait à l'espèce d'occuper des niches encore disponibles, s'inscrit dans le temps car la variabilité augmente la probabilité d'avoir un génotype adapté à l'environnement local variable, et l'effet sélectif conduira à l'exclusion compétitive des génotypes les plus inadaptés : c'est le sampling effect à l'échelle intraspécifique. Il apparaît clairement, que le lien entre la diversité génétique et la diversité spécifique au sein des communautés végétales pourrait être le résultat d'une action concomitante entre des mécanismes génétiques de sélection agissant à l'échelle intraspécifique et des mécanismes écologiques de complémentarité d'acquisition et d'utilisation des ressources s'observant à

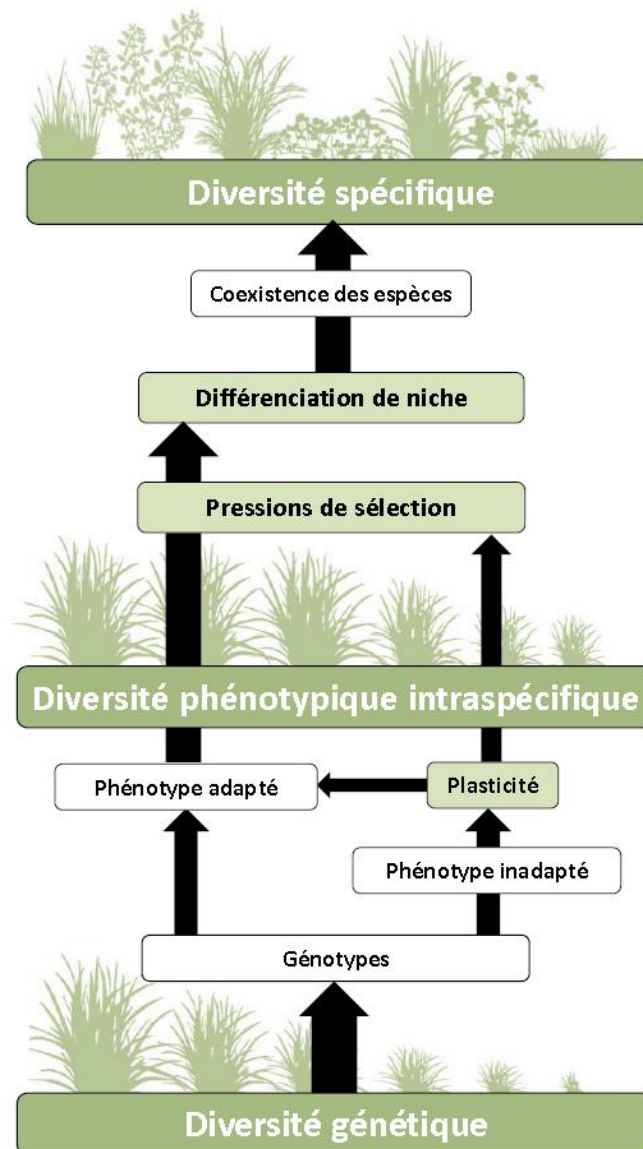


Figure 1.2 Mécanismes génétiques sous-jacent à la différenciation de niche. La diversité des phénotypes au sein des espèces est une composante majeure de la réponse des espèces à la compétition en sélectionnant des phénotypes adaptés au sein de chaque espèce, c'est-à-dire des phénotypes qui tendent vers un phénotype optimal adapté aux conditions abiotiques et minimisent le chevauchement des niches avec d'autres espèces. La diversité génétique est à la base de la diversité phénotypique. Cependant, la plasticité permet aux individus d'adapter leur phénotype aux pressions environnementales (biotiques et abiotiques) en modulant cette diversité phénotypique. La sélection existe lorsque la plasticité n'est pas suffisante pour atteindre un phénotype approprié (suffisamment proche d'un phénotype optimal de l'espèce). Par conséquent, la sélection et la plasticité favorise la différence de niche entre les espèces et promeut leur coexistence en réduisant les interactions compétitives pour l'acquisition des ressources grâce à la complémentarité des espèces.

l'échelle interspécifique (figure 1.2). Mais les études apportant des éléments expérimentaux pour appuyer cette hypothèse sont rares voire inexistantes dans la littérature.

Au-delà des relations causales entre diversité spécifique et génétique au sein de la communauté végétale, les autres compartiments de l'écosystème pourraient aussi apporter des éléments de compréhension des relations entre les différents niveaux de diversité. Alors que nous avons fait état dans les paragraphes précédents de l'effet de la diversité spécifique sur les communautés microbiennes du sol et des rétroactions de ces communautés sur la production de la communauté végétale, la question de l'influence de la diversité génétique des espèces végétales émerge. Au-delà de l'aspect quantitatif de la production de biomasse des plantes composant la communauté, la nature et la diversité de ces plantes peuvent influencer les communautés microbiennes du sol. En effet, l'identité des espèces et/ou des groupes fonctionnels, notamment la présence de légumineuses, impacte considérablement les communautés microbiennes (Spehn *et al.* 2000a) ainsi que leur diversité via la nature des composés relâchés dans le sol. Mais ces effets, conduits par la concentration, la nature et la diversité des composés, pourraient aussi être sous la dépendance de la diversité génétique des espèces composant la communauté végétale. En effet, la diversité génétique peut engendrer une plus grande diversité des composés des plantes (Hooper *et al.* 2000; Badri & Vivanco 2009), objet d'interaction avec les microorganismes, et donc générer une plus grande hétérogénéité de ressources pour les microbes, favorisant ainsi la diversité de ces communautés microbiennes. Il est donc possible d'envisager là encore (i) un effet direct de la diversité génétique de la communauté végétale sur les communautés microbiennes du sol et (ii) un effet indirect via l'effet de la diversité génétique des espèces sur la production de la communauté végétale. Les relations entre la diversité spécifique et génétique des communautés végétales et les microorganismes du sol restent aujourd'hui très anecdotiques dans la littérature (Johnson *et al.* 2010), mais dans le contexte actuel de l'agroécologie, où l'approche holistique est mise en avant, la mise en évidence des relations entre les différents niveaux d'organisation du vivant et les différents taxons dans les écosystèmes, devient une priorité pour comprendre leur fonctionnement et leur production. De plus, la compréhension de l'influence de la diversité génétique des espèces, moteur de la création variétale, sur la structuration des espèces de la communauté végétale et sur la diversité des microorganismes du sol dans les agroécosystèmes ouvrent des perspectives pour l'amélioration de la production

et de la fourniture de services écosystémiques des communautés végétales semées dans un contexte d'amélioration des plantes.

6. Agroécologie, Amélioration des plantes et prairies semées

Le modèle majoritaire de l'agriculture depuis plusieurs décennies est basé sur la productivité des espèces dans des conditions de forts intrants et de faible diversité. Le sol est considéré comme une simple matrice inerte, support d'une culture auquel est apporté les éléments dont les plantes ont besoin par des intrants (ensemble des produits apportés à une culture visant à améliorer son rendement), ceci afin de maximiser la productivité. Ces intrants se déclinent en plusieurs catégories parmi lesquelles on distingue les engrais minéraux (apport de l'azote, phosphore, potassium qui sont des éléments nécessaires au développement des plantes) et les pesticides qui visent à réguler les populations de ravageurs. Dans ces conditions de forts intrants, la meilleure stratégie est de semer le meilleur génotype de l'espèce la plus adaptée au service de production que l'on attend. Cette agriculture intensive, qui a permis de nourrir des millions de personnes dans les années après-guerre et encore aujourd'hui, a conduit à une réduction de la diversité spécifique et génétique semée dans les agroécosystèmes générant une réduction globale de la biodiversité spontanée, y compris du sol (Gardestrom *et al.* 2016), via l'homogénéisation des paysages et l'apport des intrants. Face à ce constat et dans un contexte d'intrants réduits et d'aléas climatiques, les défis que doit aujourd'hui relever l'agriculture est de maintenir une production suffisante, de qualité et stable, avec des externalités environnementales positives.

Pour répondre à ces enjeux, l'agroécologie apparaît depuis plusieurs années une des solutions envisageables. L'agroécologie qui s'appuie sur des concepts d'écologie et qui promeut la diversité dans les agroécosystèmes, peut être une solution pour améliorer la durabilité et la multifonctionnalité des agrosystèmes. Cette solution agroécologique s'appuie sur l'hypothèse de base de l'agroécologie qui dit que l'on peut produire de façon stable, lutter contre les ravageurs des cultures et améliorer l'impact sur l'environnement, si l'on augmente la diversité et optimise les interactions au sein des agroécosystèmes. L'augmentation de la diversité dans les agroécosystèmes se traduit par la diversification des cultures. Cette diversification peut se faire à l'échelle temporelle, avec par exemple l'introduction de prairies dans les rotations

d'espèces de grandes cultures, ou spatiale avec par exemple une augmentation de la diversité dans le couvert à l'échelle parcellaire.

A l'échelle parcellaire, la majorité des assolements actuels ne montre qu'une seule espèce avec une diversité génétique dans l'espèce semée réduite, voire nulle s'il s'agit d'une variété qui est une lignée pure. L'amélioration génétique qui conduit à la création variétale a principalement œuvrée pour l'amélioration d'espèces destinées à être utilisées en peuplements monospécifiques et conduits en conditions de ressources contrôlées par l'apport d'engrais et d'eau. L'amélioration des plantes vise, par un processus de sélection, à améliorer la productivité et la stabilité des espèces agronomiques. Cette amélioration se déroule en plusieurs étapes. Une première étape de sélection qui consiste à choisir des génotypes portant des caractères (valeur de traits) et des performances agronomiques intéressants. Une seconde étape consiste à fixer, par autofécondation ou croisement d'un nombre limité d'individus selon le système de reproduction de l'espèce, ces caractéristiques au sein des nouvelles générations créées. Enfin, une dernière étape d'évaluation consiste à mesurer le gain obtenu par le nouveau pool d'individus et de procéder, si le gain relatif est avéré, à l'inscription de la variété au catalogue officiel.

Le processus de création variétale se déroule dans un contexte de culture installée et évaluée en monospécifique, hors diversification, et les critères de sélection actuels ne sont pas orientés pour les variétés destinées à être semées en mélanges d'espèces (communautés). Aussi, la mise en évidence et la compréhension des effets de la composition génétique et en particulier la diversité génétique des espèces composant le mélange sur la production du mélange d'espèces est un élément important pour fournir à l'amélioration des plantes des pistes d'amélioration des espèces dans un contexte de diversification.

Actuellement les variétés sélectionnées et utilisées de façon majoritaire abritent peu ou pas de diversité génétique, ce sont des lignées pures ou hybrides comme respectivement chez le blé ou le maïs. Mais, les espèces prairiales, utilisées dans les prairies semées, font exception à cette règle d'absence de diversité, et cela à deux titres : la composition de la structure génétique des variétés d'espèces prairiales semées et la composition souvent plurispécifique

des parcelles semées en prairies. L'amélioration des espèces prairiales conduit à produire des variétés dite synthétiques. En effet, les espèces prairiales les plus utilisées en agriculture aujourd'hui (Chapitre 2) sont allogames, c'est-à-dire qu'elles se reproduisent par fécondation croisée (fécondation par des gamètes étrangers à la plante). La fécondation croisée peut être liée à un décalage de développement entre les étamines et le pistil d'une même plante qui *de facto* empêche l'autofécondation (protandrie ou protogynie) ou encore par un système d'incompatibilité au sein d'un génotype qui ne permet pas le développement viable d'un embryon (Campbell & He 1997). La fixation des caractères d'intérêt agronomique s'approche alors par la reproduction sexuée d'un pool restreints de génotypes (polycross) choisis pour leur valeur agronomique et la sélection de leurs descendants pendant un nombre déterminé de générations.

Les variétés synthétiques obtenues correspondent à des populations artificielles qui maintiennent des niveaux de diversité génétique « résiduels » plus élevés que d'autres variétés comme les lignées pures ou les variétés hybrides. Les prairies ont longtemps été semées en mélange d'espèces (des écrits d'agronomes sur le sujet datent du 18^{ème} siècle) pouvant atteindre plus d'une dizaine d'espèces (Capitaine, Pelletier & Hubert 2008). Les agronomes suggéraient dans leurs écrits que les prairies semées devaient être des prairies naturelles améliorées, maximisant la diversité avec des espèces productives et adaptées aux types de sols. Ce raisonnement a été valable jusqu'aux années 60 puis la culture multispécifique a été perçue comme archaïque et peu productive au moment de la révolution verte. Cette révolution s'est caractérisée par une forte mécanisation, l'emploi de variétés élites et un recours massif aux intrants, ce qui a jeté les bases de notre agriculture moderne. Les cultures fourragères n'ont pas été épargnées, parlant même de révolution fourragère qui prône la culture monospécifique abondamment fertilisée même si les variétés des espèces prairiales restent des variétés synthétiques. Mais à l'heure de l'agroécologie, les prairies multispécifiques retrouvent un regain d'intérêt par leur utilisation croissante par les agriculteurs et la publication de nombreuses études mettant en évidence un effet positif de la diversité spécifique sur la production de biomasse et la qualité des fourrages. Cette utilisation s'est d'ailleurs vue favorisée par l'autorisation de commercialiser des mélanges prairiaux depuis 2004 (Encadré 1). Le caractère multispécifique des prairies semées et la diversité génétique abritée par leurs variétés en font un modèle de choix pour les questions qui émergent quant à

l'effet de la diversité génétique sur la production du mélange d'espèces et dans un contexte de diversification des cultures. De plus, l'introduction des prairies semées dans les rotations de grandes cultures, favorise la biodiversité associée (Ockinger & Smith 2007), participe au stockage de carbone, prévient l'érosion des sols (maintien voire améliore la structuration des sols) (Chisci & Zanchi 1981) et participe à l'enrichissement en matière organique du sol qui est un élément clé dans la fertilité des sols (Soussana, Tallec & Blanfort 2010). Le rôle majeur de la prairie dans les agroécosystèmes est même intégré dans les politiques publiques avec la dernière réforme (2014) de la PAC qui comptabilise les prairies comme des surfaces d'intérêts écologiques (obligation des agriculteurs de maintenir 10% de l'exploitation en surface d'intérêt écologique).

Encadré 1. Evolution de la législation sur la commercialisation des mélanges prairiaux

Jusqu'en 2004, la commercialisation en France des semences fourragères se faisait exclusivement en variétés pures monospécifiques (une seule espèce composée d'une seule variété) et la vente de semence fourragère sous forme de mélange était interdite. Ce conditionnement en pur a permis entre autre de valoriser le progrès génétique auprès des agriculteurs et d'avoir un contrôle sur la diffusion des variétés (Straëbler & De Goyon 2008). Au niveau européen, la commercialisation des mélanges était régie jusqu'alors par une directive qui laissait la liberté aux états membres de légiférer sur leur marché intérieur. Cependant, cette directive prit fin avec l'application d'une nouvelle en 1998 (98/95) qui autorisait la vente de mélanges pour les espèces fourragères et leur libre circulation dans l'espace Schengen. La France mis alors à jour sa législation et autorisa à partir d'Aout 2004 la vente des mélanges, ceci après une période de négociation entre partenaires européens aboutissant à la décision de la commission européenne sur les modalités des contrôles des mélanges. L'une des modalités majeures fixe à 20 le nombre de composant constituant les mélanges avec une représentation minimum de 5% et contraint à n'utiliser que des espèces à certification obligatoire avec des variétés inscrites au catalogue officiel européen (Straëbler & De Goyon 2008).

Ce rôle écologique des prairies, à travers les services écosystémiques² qu'elles fournissent, semble être fortement dépendant du caractère plurispécifique des prairies semées (Isbell *et al.* 2011). Or comme l'ensemble des espèces pour lesquelles il existe de la création variétale, la

² Les services écosystémiques désignent l'ensemble des biens et services rendus par les écosystèmes pour le bien être de l'homme

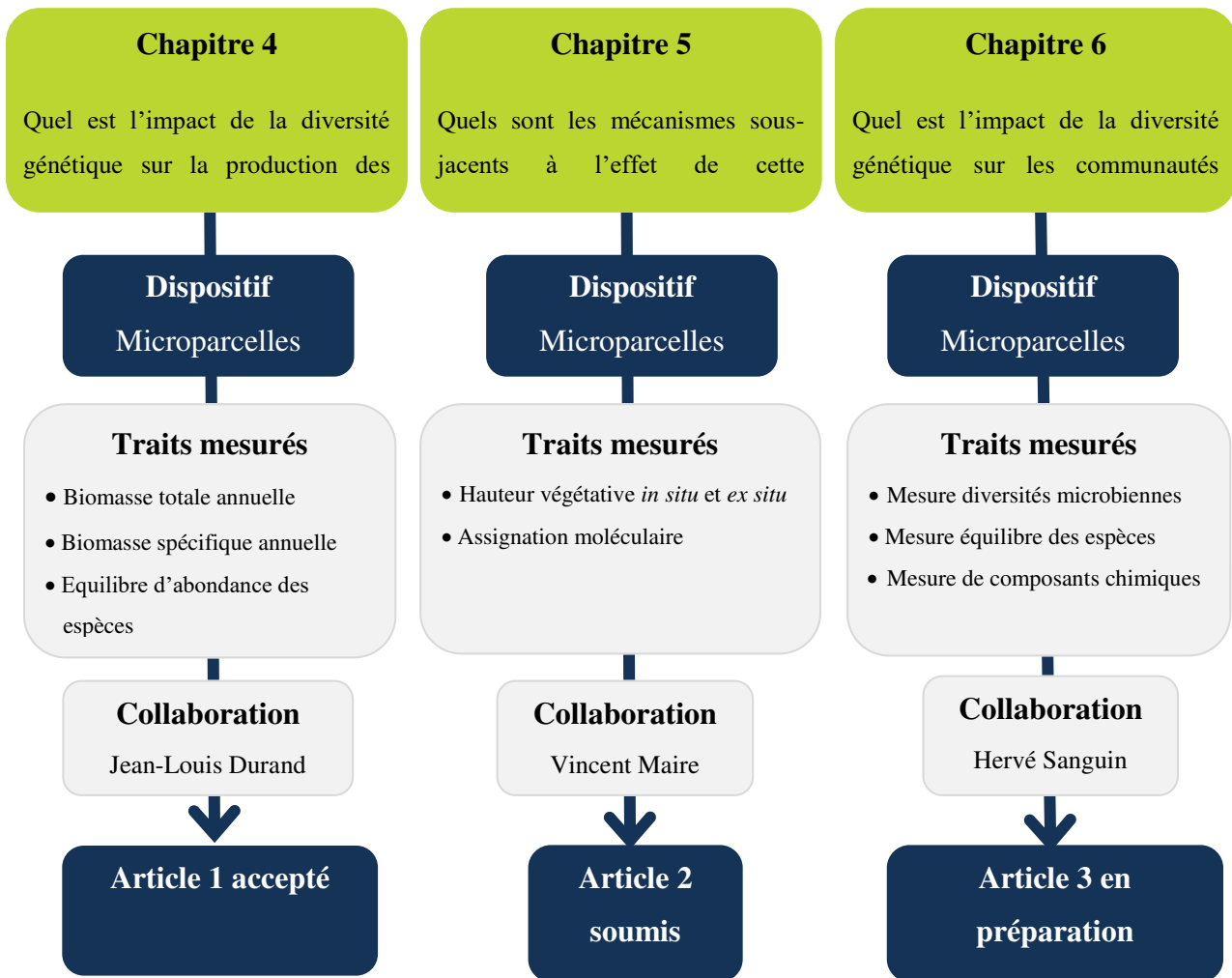
sélection et l'évaluation des variétés des espèces prairiales sont conduites en culture pure (peuplement monospécifique), à l'exception du trèfle blanc (*Trifolium repens*) qui est évalué en mélange avec le ray-grass (*Lolium perenne*). En pratique, le choix des variétés des espèces prairiales pour composer les espèces du mélange à semer se fait de manière totalement empirique. Les préconisations de l'AFPF³ est d'utiliser la variété la plus productive de chaque espèce et ce choix peut être affiné par les préconisations de la conception de mélanges prairiaux suisses (AGROSCOPE) qui sont basées sur un savoir empirique.

Actuellement aucune variété n'est donc sélectionnée et évaluée en mélanges d'espèces. Or la valeur des variétés en multispécifique n'est pas nécessairement corrélée à leur valeur en mélange. En effet, les pressions de sélection au sein des mélanges d'espèces diffèrent de celles ayant lieu au sein de couverts monospécifiques puisque les interactions locales et le voisinage des plantes sont plus hétérogènes dans le cas de mélanges d'espèces. Les schémas de sélection actuels ne prennent pas en compte la valeur en mélange des génotypes à sélectionner. Actuellement, aucun critère de sélection (trait) n'est clairement connu et utilisé pour sélectionner les variétés pour une utilisation en mélange. De plus, bien que la littérature agronomique contiennent un certain nombre d'études montrant les effets positifs de la diversité génétique (principalement mélanges variétaux) dans les peuplements monospécifiques (Knott & Mundt 1990; Finckh & Mundt 1992; Sarandon & Sarandon 1995; Tooker & Frank 2012) , l'effet de la diversité génétique, l'identité des traits et le niveau efficace de cette diversité restent encore peu investi. Ainsi, afin d'améliorer les espèces et créer des variétés destinées aux mélanges d'espèces semées, il est important de mettre en évidence et de comprendre les effets de la diversité génétique sur la production des mélanges d'espèces tout en identifiant les traits impliqués dans les interactions plante-plante pour optimiser les mécanismes de complémentarité des espèces permettant de réduire l'intensité de compétition et favoriser ainsi leur coexistence et leur production.

7. Objectifs de la thèse et hypothèses de travail

L'objectif général de cette thèse est, à partir d'une étude de cas, de générer des connaissances permettant de définir et de comprendre l'influence de la diversité génétique sur la production des mélanges d'espèces, et de positionner les résultats dans un contexte de diversification des

³ Association Française pour la Production Fourragère (AFPF)



cultures et en particulier d'amélioration des espèces destinées à être installées en mélanges d'espèces. Il s'agira de comprendre comment la diversité génétique et spécifique s'articulent pour le fonctionnement des communautés végétales, en investissant également l'influence de la diversité génétique des espèces du mélange sur les communautés microbiennes du sol dont l'action conditionne en partie la production de la communauté végétale via la minéralisation/déminéralisation.

Nos hypothèses de travail sont les suivantes :

(H1) L'augmentation de la diversité génétique augmente la capacité adaptative des espèces améliorant ainsi leur adaptation aux pressions sélectives hétérogènes au sein du mélange, ce qui se traduit par une meilleure stabilité de la production du mélange au cours du temps et une meilleure survie des espèces au sein du mélange d'espèces.

(H2) la diversité génétique permet d'élargir la gamme de phénotypes pour la réponse à la sélection permettant ainsi de générer des phénomènes de complémentarité entre espèces, ce qui définit une relation causale entre diversité génétique et spécifique. La diversité génétique conduit ainsi à une coexistence des espèces dans le mélange et une meilleure production du mélange d'espèces.

(H3) La diversité génétique, à travers son impact sur la diversité des espèces, mais aussi via un effet direct, impacte la biodiversité microbienne du sol associée, via la diversification des ressources pour les microorganismes.

Ces hypothèses seront testées et développées dans trois chapitres présentés sous forme d'articles.

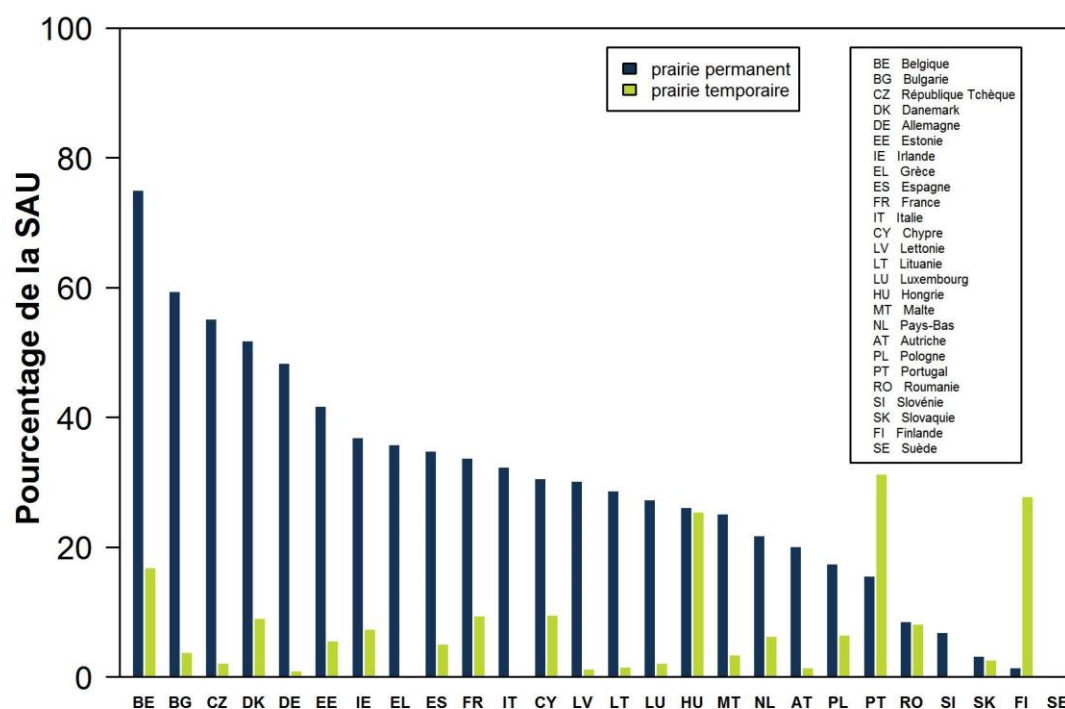


Figure 2.1 Part des prairies temporaires et permanentes dans la surface agricole utile (SAU) des pays de l'union européenne (Source EUROSTAT 2009).

Chapitre 2 - Matériel et Méthodes

1. Les prairies semées

Les prairies occupent une place majeure dans l'agriculture européenne et française puisqu'elles représentent respectivement près de 40% et 45% de la surface agricole utile (SAU). Les prairies se distinguent en deux catégories : les prairies temporaires (installation inférieur à cinq ans) et les prairies permanentes (installation supérieur à cinq ans) occupant respectivement 10% et 35% de la SAU en France auxquels s'ajoutent les surfaces en cultures de légumineuses, notamment la luzerne avec 1,4% de la SAU (Peyraud, Peeters & De Vliegheer 2012). La part des prairies temporaires dans la SAU varie selon les régions en France (La région pays de Loire représente près de 18,4% de la superficie en prairie temporaire en 2017 contre seulement 0,1% en ile de France, hors DOM-TOM-Agrete-2018), cela est également le cas entre les pays de l'Union Européenne (Figure 2.1), dans de nombreux pays d'Europe de l'Est, la part des prairies temporaires est relativement faible contrairement aux pays du Nord de l'Europe où la part des prairies dans la SAU est plus importante (par exemple en Finlande elles représentent 33% de la SAU en 2009). Alors que les prairies permanentes abritent de nombreuses espèces (plusieurs dizaines d'espèces), les prairies temporaires semées quant à elles sont mono ou plurispécifiques mais avec des richesses spécifiques beaucoup plus faibles (généralement inférieur à 10 espèces) que les prairies permanentes. Outre leur fonction prépondérante dans l'alimentation pour l'élevage en composant en moyenne 64 % de la ration annuelle des bovins (Devun 2012), les prairies possèdent un rôle multifonctionnel reconnu au sein de l'agrosystème. Plus qu'une simple culture, les prairies semées sont à la base d'écosystèmes qui abritent une riche diversité spontanée⁴ (Hooper *et al.* 2005). Elles produisent un certains nombres de services écosystémiques en contribuant au maintien, (i) de la biodiversité (Ockinger & Smith 2007), (ii) de la diversité paysagère dans les systèmes céréaliers intensifs (limite l'uniformisation des territoires), (iii) de la structuration du sol par le développement racinaire, prévenant l'érosion et la compaction du sol (Chisci & Zanchi 1981), (iv) de la fertilité des sols, notamment via leur influence sur les cycles carbone/azote grâce à l'activité photosynthétique des plantes et les

⁴ Biodiversité associée aux prairies sans qu'elle ne soit introduite au préalable.

interactions microbiennes (Soussana, Tallec & Blanfort 2010; Lemaire *et al.* 2014). Des études récentes montrent que les systèmes d'agriculture-élevages favorisant la part de l'herbe dans l'alimentation du bétail réduisent les pertes azotées par lixiviation et de phosphore par ruissèlement (Peyraud, Le Gall & Luscher 2009) et améliorent ainsi la qualité de l'eau. La prairie semée permet d'accroître l'autonomie alimentaire des élevages. L'alimentation à base d'herbe revêt une bonne valeur alimentaire en particulier lorsque la prairie est représentée par un mélange d'espèces. En effet, dans les mélanges d'espèces prairiales, c'est dire les prairies semées multispécifiques, la présence de graminées garantie un apport énergétique (sucre) et celle des légumineuses un apport protéique (Deak *et al.* 2007).

Les prairies temporaires sont fréquemment semées en associant des graminées et des légumineuses prairiales. Les légumineuses sont aussi très prisées pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. Cette fixation est rendue possible par une symbiose entre les légumineuses et des groupes particuliers de bactéries, notamment celui des rhizobiaceae. Celles-ci ont la capacité de fixer le diazote atmosphérique et de le convertir en forme assimilable par les plantes. En retour, la plante apporte l'énergie nécessaire au développement de ces bactéries. Cette interaction entre les plantes et les bactéries est internalisée dans des structures spécifiques localisées au niveau des racines : les nodosités. La symbiose n'est par un processus obligatoire mais il est très largement favorisé en cas de carence des légumineuses en azote (Voisin *et al.* 2002), en revanche une disponibilité en azote accrue dans le sol réduit considérablement le processus de fixation (Naudin *et al.* 2011). Les légumineuses présentent donc un intérêt certain en culture associée car elle améliore la disponibilité en azote dans le sol pour les espèces non fixatrices par leurs exsudats racinaires et/ou la décomposition de leurs parties sénescentes. L'association graminées-légumineuses permet également d'assurer une plus grande stabilité de production au cours de l'année. Les graminées sont des espèces qui tolèrent des faibles températures et assurent une production de biomasse tôt au printemps, production qui diminue au moment de la période estivale (caractérisée sous nos latitudes par une température plus élevée et un épisode sec). Les légumineuses sont plus tardives dans leur production de biomasse par rapport aux graminées car elles ont besoin de températures plus élevées. Mais ces dynamiques de croissances présentent au sein de chacune des espèces une variabilité génétique. Les prairies constituent

un modèle biologique très étudié en écologie, en particulier en raison de leur forte représentation dans les milieux naturels mais aussi de la facile manipulation des espèces prairiales. La prairie semée possède des avantages supplémentaires à être étudiée. Outre son rôle multifonctionnel dans les agroécosystèmes, le faible nombre d'espèces composant la prairie semée (moins de 10 versus plus d'une cinquantaine en prairies permanentes) en fait un modèle intéressant pour comprendre le fonctionnement des communautés végétales, en particulier lorsque l'on veut définir l'impact de la diversité génétique des espèces sur la production et la structuration spécifique d'un mélange d'espèces, ainsi que l'action de ces niveaux de diversité sur les microorganismes du sol. Aussi pour répondre aux questions posées dans cette thèse, la prairie semée est un modèle biologique adapté et la commercialisation aujourd'hui possible des mélanges fourragers en fait un vrai objet d'étude pour l'amélioration des espèces destinées à être utilisées en mélanges. Certains sélectionneurs s'attachent à améliorer leur mélanges fourragers et nous avons fait le choix de travailler sur un dispositif installé chez et par un sélectionneur, entreprise Jouffray Drillaud. Ce choix, qui comporte certains inconvénients, comporte l'immense avantage d'obtenir des résultats à partir d'une situation réelle destinée à l'acquisition de données pour l'amélioration génétique de peuplements plurispécifiques.

2. Choix des espèces

Dans le cadre du dispositif sur lequel s'appuie cette thèse, sept espèces prairiales ont été installées dans les microparcelles chez le sélectionneur. Ces espèces sont des espèces choisies par le sélectionneur en raison de leur utilisation courante en agriculture (Tableau 2.1), de l'amélioration génétique dont elles bénéficient et qui permet la disponibilité de variétés. Parmi ces espèces, il y a trois graminées (Poacées) : *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* et *Lolium perenne* ainsi que quatre légumineuses (Fabacées) : *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Lotus corniculatus* et *Medicago sativa* (Tableau 2.2). *D. glomerata* est une espèce fourragère qui se caractérise par une très bonne tolérance aux faibles températures qui lui permet d'être plus précoce que de nombreuses espèces prairiales. De la même façon que pour *D. glomerata*, *L. perenne* tolère très bien les faibles températures mais se distingue par une installation relativement rapide dans un couvert multispécifique lui permettant d'être compétitif dans de jeunes communautés végétales. Cependant, il est peu tolérant au stress

Tableau 2.1 Pourcentage de semences (poids) vendues en 2017 et de semences utilisées pour la composition des mélanges (GNIS 2018)

Espèce	pourcentage des ventes en 2017	pourcentage des semences utilisé pour la composition des mélanges
<i>Dactylis glomerata</i>	3,9	8,1
<i>Festuca arundinacea</i>	9,4	8,8
<i>Lolium perenne</i>	22,0	25,4
<i>Trifolium pratense</i>	2,3	7,2
<i>Trifolium repens</i>	5,3	6,8
<i>Lotus corniculatus</i>	0,3	0,6
<i>Medicago sativa</i>	9,4	2,5
Totale	52,6	59,4

Tableau 2.2 Caractéristiques des sept espèces utilisées dans ces dispositifs

Famille	Espèce	Résistance stress hydrique	Tolérance aux faibles températures	Rapidité d'installation	précocité
Poacée	<i>D. glomerata</i>	■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■ ■
	<i>F. arundinacea</i>	■ ■ ■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■
	<i>L. perenne</i>	■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■ ■
Fabacée	<i>T. repens</i>	■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■ ■ ■	■ ■ ■
	<i>T. pratense</i>	■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■ ■	■ ■ ■
	<i>L. corniculatus</i>	■ ■ ■ ■	■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■
	<i>M. sativa</i>	■ ■ ■ ■ ■	■ ■	■ ■ ■	■ ■ ■



Dactylis glomerata

Famille : Poaceae

Pérennité : Longue

Caractéristiques :

- Gainés comprimées
- Port dressé
- Feuille verte-bleuâtre large

Etat reproducteur : Panicule spiciforme dense

Vitesse d'installation : Lente

Intérêt agronomique :

- Forte productivité
- Graminée la plus riche en protéine

Limite agronomique : sensible aux excès d'eau



Festuca arundinacea

Famille : Poaceae

Pérennité : Très longue

Caractéristiques :

- Ligule courte, réduite à 2 oreillettes latérales port
- Très dressé
- Feuille longue et rugueuse (présence de silice)

Etat reproducteur : Panicule grande

Vitesse d'installation : Très lente

Intérêt agronomique :

- Forte productivité
- S'adapte à de nombreux types de sols et climats

Limite agronomique : Faible valeur alimentaire



Lolium perenne

Famille : Poaceae

Pérennité : Variable

Caractéristiques :

- Hauteur <60cm
- port dressé
- Feuille lisse avec une nervure centrale marquée

Etat reproducteur : Epillets contre l'axe d'épiaison

Vitesse d'installation : Rapide

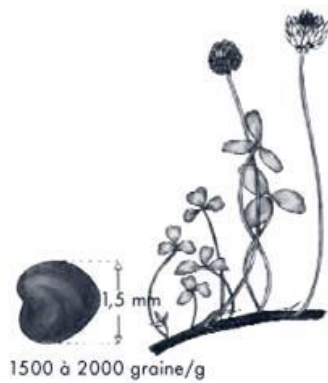
Intérêt agronomique :

- Implantation facile
- Bonne tolérance aux excès d'eau

Limite agronomique : Production stoppée à partir de 25°C

Source :

- Groupement national interprofessionnel des semences et plants (GNIS). Les graminées fourragères [en ligne]. Disponible sur : www.gnis-pedagogie.org/fourragere-espece-graminee.html. (Consulté le 10 octobre 2018)
- Groupement national interprofessionnel des semences et plants (GNIS). Les légumineuses fourragères [en ligne]. Disponible sur : www.gnis-pedagogie.org/fourragere-espece-legumineuse.html. (Consulté le 10 octobre 2018)



Trifolium repens

Famille : Fabaceae

Pérennité : Variable

Caractéristiques :

- Hauteur <40cm
- feuilles longuement pétiolées, à folioles larges
- port rampant stolonifère

Etat reproducteur : fleurs blanches pédicellées

Vitesse d'installation : Rapide

Intérêt agronomique :

- riche en protéines
- Très appétent

Limite agronomique : Besoin de lumière



Trifolium pratense

Famille : Fabaceae

Pérennité : Faible

Caractéristiques :

- Hauteur <50cm
- feuilles longuement pétiolées, à folioles larges
- port dressé

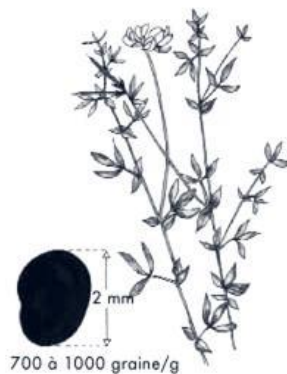
Etat reproducteur : fleurs violettes pédicellées

Vitesse d'installation : Rapide

Intérêt agronomique :

- riche en protéines
- Résistant au froid

Limite agronomique : Sensible à la sécheresse



Lotus corniculatus

Famille : Fabaceae

Pérennité : Faible

Caractéristiques :

- Hauteur <40cm
- folioles obovales ou oblongues
- port dressé

Etat reproducteur : 3-6 fleurs par pédoncules

Vitesse d'installation : Lente

Intérêt agronomique :

- Résiste au froid
- Bonne repousse estivale

Limite agronomique : Productivité moyenne



Medicago sativa

Famille : Fabaceae

Pérennité : Faible

Caractéristiques :

- Hauteur <80cm
- folioles obovales ou oblongues avec mucron
- port dressé

Etat reproducteur : fleurs violacées en grappes oblongues

Vitesse d'installation : Moyenne

Intérêt agronomique :

- Rendement élevé
- Bonne pousse estivale

Limite agronomique : Sensible aux excès d'eau

hydrique mais a, en contrepartie, une installation plus longue que la plupart des espèces prairiales.

Au sein des légumineuses, *T. repens* a une bonne rapidité d'installation dans les couverts multispécifiques et a une bonne tolérance aux faibles températures au même titre que *L. perenne*. A l'inverse *L. corniculatus* et *M. sativa* sont des espèces avec une installation plutôt lente et une faible tolérance aux faibles températures mais compensent par une résistance au stress hydrique lors des périodes estivales. L'espèce *T. pratense* présente quant à elle des valeurs intermédiaires entre *T. repens* et *M. sativa*.

Chacune des espèces utilisées dans cet essai possède des variétés inscrites au catalogue français⁵. Les variétés inscrites au catalogue couvrent une certaine gamme de variabilité génétique pour chacune des espèces. Dans l'essai installé par le sélectionneur, les variétés utilisées sont pour la plupart inscrites au catalogue français et sont donc commercialisées. Seulement trois variétés, une pour *D. glomerata*, une pour *F. arundinacea* et une pour *L. perenne* sont en cours de développement pour dépôt à l'inscription. Le sélectionneur avait pour objectif via cet essai d'identifier le meilleur mélange d'espèces, qu'il pourra ensuite commercialiser dans la mesure où toutes les variétés des espèces dans le mélange seront inscrites au catalogue. Hormis une variété de *L. perenne* (ray-grass) qui est adaptée au climat méditerranéen, les variétés utilisées sont adaptées à un climat tempéré. Comme pour toutes les espèces fourragères prairiales possédant un catalogue ouvert, toutes les variétés utilisées renferment, en raison de leur caractère synthétique, une gamme de variabilité non négligeable sur les traits phénotypiques. Le choix des variétés par le sélectionneur pour composer chaque espèce dans le mélange a été basé sur des caractéristiques soit contrastées, soit redondantes (Tableau 2.3) entre variétés, ce qui a constitué pour nous une opportunité de tester nos hypothèses dans des conditions réelles d'exploitation des prairies.

⁵Le catalogue officiel est une liste de l'ensemble des variétés d'espèces cultivées issues de la création variétale et dont les semences sont autorisées à la vente.

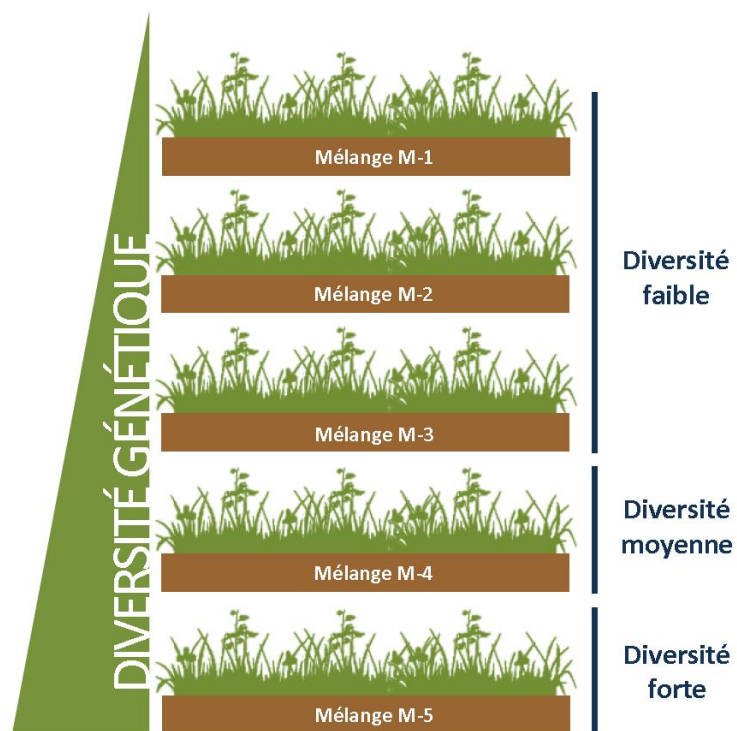


Figure 2.2. Variation du niveau de diversité génétique entre mélange approché par le nombre de variétés suivant trois niveaux : diversité faible (une variété par espèce), intermédiaire (jusqu'à trois variétés par espèce), et forte (jusqu'à six variétés par espèce).

3. Démarche générale

Nous avons conduit une approche expérimentale à partir du dispositif, mis en place par le sélectionneur de plantes fourragères Jouffray-Drillaud (station de recherche– Saint Sauvant) et composé de communautés (mélanges multispécifiques) d'espèces prairiales installées en microparcelles. Ces mélanges, tous composés de sept espèces, diffèrent entre eux par un niveau variable de diversité génétique des espèces qui les composent (Figure 2.3). Cette diversité génétique est approchée par le nombre de variétés par espèce. Chaque mélange contient le même nombre et la même identité des espèces et ils ne diffèrent entre eux que par la diversité génétique intraspécifique (nombre de variétés) des espèces composant le mélange. Ce dispositif est donc adapté au test des hypothèses énoncées au chapitre introductif (Chapitre 1). De plus, toutes les variétés utilisées dans ce dispositif ont été caractérisées phénotypiquement afin d'évaluer leur degré de différenciation. Ce phénotypage s'est fait au sein d'un second dispositif en plantes isolées (pépinière) installé à l'INRA de Lusignan. Afin de suivre l'évolution de la diversité génétique (diversité variétale) dans les microparcelles au cours du temps, nous avons mis au point un outil d'assignation moléculaire (Chapitre 2). Le suivi de la diversité variétale nous permet de vérifier d'une part l'installation à de chaque variété après le semis et d'autre part de mettre en évidence des variations de proportions variétales au cours du temps dans les espèces au sein de chaque mélange sous l'effet de la dérive génétique et de la sélection.

Les travaux de cette thèse reposent donc sur deux dispositifs distincts, un dispositif composé de microparcelles qui vise à évaluer l'effet de la diversité génétique sur la production de la communauté totale et de chacune des espèces qui la composent, et un second dispositif de plantes isolées en « commun garden » composé de toutes les variétés utilisées dans le dispositif microparcelles afin de les caractériser génétiquement et phénotypiquement et de comprendre par une approche trait les mécanismes sous-jacents à l'effet de la diversité génétique dans les communautés végétales.

4. Les dispositifs

4.1 Dispositif en microparcelles

Le dispositif microparcelles est un essai comportant cinq mélanges d'espèces prairiales installés en septembre 2011 à la station de recherche Jouffray Drillaud, Saint Sauvant, France

Tableau 2.3 Proportion des espèces et des variétés par mélange. La proportion est indiquée en terme de masse de graines. Les proportions entre espèces sont différentes mais restent identiques entre les mélanges contrairement aux proportions variétales qui diffèrent. Chaque variété est décrite phénotypiquement en termes de biomasse, hauteur végétative, surface foliaire, et de précocité à travers la date d'épiaison/floraison (mesures issues du dispositif pépinière).

Espèce	Variété	Designation	Proportions (masse de graines)					Description des variétés			
			M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Biomasse	Hauteur	Surface foliaire	Précocité
<i>Dactylis glomerata</i>			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Vaillant	V4	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	+
	Lucullus	V3	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	++	++
	Accord	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	+
	Otop	V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	++	+++	++
	E1V5	V1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	+	+	+	+++
	President	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	++
<i>Festuca arundinacea</i>			0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	Soni	V2	1.000	0.000	0.000	0.500	0.125	++	++	++	+++
	Elodie	V4	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+++	++	++	+++
	Noria	V5	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+	++	++	++
	Gardian	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.250	+++	+++	+++	+
	E3V5	V1	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	+	+	+	++
	Mariellendo	V3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	++	++	++	+++
<i>Lolium perenne</i>			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Gagny	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	++
	Aberstar	V4	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	++	+	++
	Juras	V1	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+	++	+++
	Tonnus	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	+
	E6V5	V3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	++	++	++
	Rgmaroc	V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	+	+
<i>Trifolium repens</i>			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Abervantage	V1	1.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	+	+	++
	Aran	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	++	++	++
	Giga	V3	0.000	1.000	1.000	0.333	0.333	++	+++	+++	+++
<i>Trifolium pratense</i>			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Diplo	V2	1.000	1.000	0.000	0.666	0.666	++	++	++	++
	Formica	V1	0.000	0.000	1.000	0.333	0.333	++	+	+	++
<i>Lotus corniculatus</i>			0.078	0.078	0.078	0.078	0.078				
	Leo	V1	1.000	0.000	0.000	0.500	0.500	++	+	+	++
	Altus	V3	0.000	1.000	0.000	0.500	0.250	++	+++	+++	+
	PX-ete	V2	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	++	+	+++	++
<i>Medicago sativa</i>			0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	timbale	V5	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	+++	++
	Galaxie	V3	0.000	1.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	++	++
	Kali	V4	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	++
	Meldor	V6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Rafia	V2	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Luzelle	V1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+	+	++

(46° 21' 37" Nord, 0° 03' 25" Est). Les microparcelles ont été exposées au climat local type océanique (température moyenne de 14°C pendant la période d'expérimentation avec des hivers caractérisés par une forte humidité et l'été par des périodes sèches. Le sol se caractérise par une texture limoneuse en surface (Figure 2.3) et davantage argileuse en profondeur (Hubert 2008). Les microparcelles (1,3 x 5m) ont été conduites sans irrigation ni fertilisation. Les mélanges sont tous composés de sept espèces couramment utilisées en prairies semées et qui associent trois graminées (*D. glomerata*, *F. festuca*, et *L. perenne*) et quatre légumineuses (*T. repense*, *T. pratense*, *L. corniculatus* et *M. sativa*). La proportion des espèces en termes de masse de graines est différente entre les espèces au sein d'un mélange en raison d'une part du poids spécifique des graines qui diffère (Figure 2.4) et d'autre part d'un choix du sélectionneur basé sur des proportions fréquemment installées et commercialisées. En revanche, ces proportions sont strictement identiques entre les cinq mélanges (Tableau 2.3). Les mélanges diffèrent par leur niveau de diversité génétique approché par le nombre de variétés par espèce selon trois niveaux de diversité génétique (figure 2.2 et Tableau 2.3), trois mélanges (M-1, M-2, et M-3) avec un niveau de diversité faible (une variété par espèce), un mélange (M-4) avec un niveau intermédiaire (jusqu'à trois variétés par espèce) et un mélange (M-5) à forte diversité génétique (jusqu'à six variétés par espèce). Les variétés ont été choisies par le sélectionneur pour être contrastées sur la hauteur végétative, la phénologie, et le port des plantes (port dressé ou étalé) (Tableau 2.3). Dans les mélanges à diversité génétique intermédiaire et à diversité génétique forte (M-4 et M-5), les proportions des variétés au sein des espèces ne sont pas équivalentes entre elles (Tableau 2.3) et résulte du choix du sélectionneur de conserver un bon équilibre entre variétés non pas en termes de masse de graines mais en termes de caractéristiques et en particulier de précocité. Ceci afin qu'il y est au sein de l'espèce considérée autant de variétés précoces que tardives. Toutes les semences utilisées dans ce dispositif pour la constitution des cinq mélanges et leurs réplicas proviennent des mêmes lots de semence initiaux. La constitution des mélanges répond à une logique du sélectionneur de créer des mélanges avec certaines spécificités : Le mélange M-1 (diversité génétique faible) est un mélange commercialisé par l'entreprise qui offre un niveau de production satisfaisant et est utilisé comme témoin dans son expérimentation. Le mélange M-2 (diversité génétique faible) regroupe des variétés élites pour chaque espèce qui se caractérisent chacune par une forte production de biomasse. Le mélange M-3 (diversité génétique faible) regroupe des variétés adaptées à des climats assimilés type méditerranéen

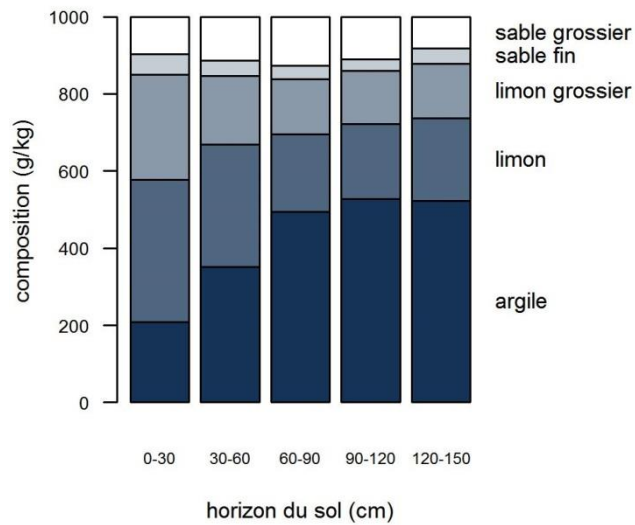


Figure 2.3 texture du sol en fonction de la profondeur. La composition du sol en sable, limon, et argile est donnée par horizon du sol. La concentration en argile augmente avec la profondeur (approximativement 20% dans les horizons supérieur et 51% dans les horizons inférieurs)

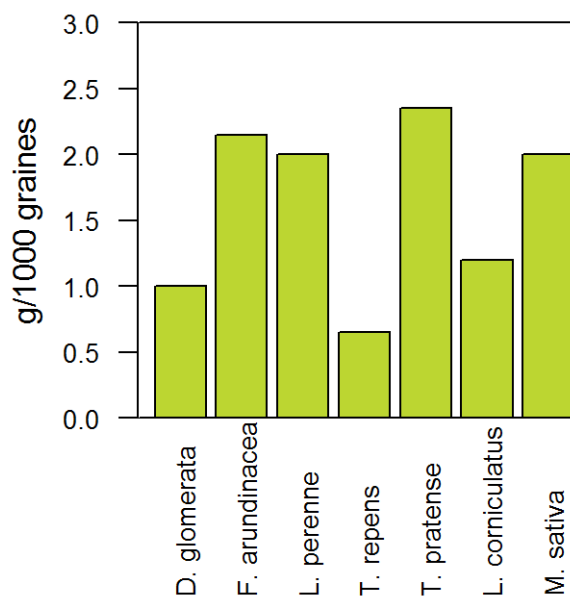


Figure 2.4 Poids spécifique pour chaque espèce exprimé en g/1000 graines (source : *Chambre d'agriculture de la Loire*). La différence de poids spécifique entre espèces implique un nombre d'individu différent pour une même masse de graines.

c'est-à-dire des variétés plus adaptées à des périodes estivales marquées. Le mélange M-4 (diversité génétique intermédiaire) regroupe jusqu'à trois variétés par espèce mais ces variétés sont peu contrastées phénotypiquement et phénologiquement. Enfin le mélange M-5 (diversité génétique forte) regroupe toutes les variétés utilisées dans les autres mélanges avec des variétés contrastées et des variétés redondantes au sein des espèces. Le choix de mettre des variétés redondantes phénotypiquement, notamment pour le mélange M-4, est un souhait du sélectionneur pour tester l'effet de la redondance phénotypique des variétés. Chaque mélange a été répliqué trois fois et réparti aléatoirement dans trois blocs. Il y a donc 15 microparcelles au total.

4.2 Dispositif pépinière

En parallèle au dispositif microparcelles, une pépinière de plantes isolées a été installée à l'INRA de Lusignan en septembre 2013 (Figure 2.5) contenant toutes les variétés utilisées dans le dispositif microparcelles, soit au total sept espèces avec 32 variétés. Chaque variété est représentée par 30 individus aléatoirement échantillonnés et chaque individu a été cloné trois fois afin d'installer trois individus génétiquement identiques qui ont été répartis en trois blocs dans la pépinière de plantes isolées. Les individus étaient espacés de 70 cm afin d'éviter toutes interactions entre plantes. Un espace plus conséquent (140 cm) a été appliqué pour *T. repens* du fait de sa particularité à développer des stolons sur de longues distances.

4.3 Effet de la diversité génétique : les meures

4.3.1 Mesure des conditions climatiques

Caractériser les conditions climatiques lors de la période d'expérimentation est important car elles peuvent impacter la production de biomasse, aussi bien à l'échelle de la communauté végétale qu'au niveau des espèces, et des effets de la diversité génétique peuvent être attendus sur la réponse de la communauté, particulièrement en cas de fort déficit hydrique au regard des résultats obtenus par Prieto *et al.* (2015). Pour quantifier l'évolution de l'intensité des déficits hydriques entre saisons et les années, deux indices ont été calculés. Un simple bilan quotidien de la teneur en eau du sol (considéré comme un réservoir de sol unique de 150 mm



Figure 2.5 Pépinière de plantes isolées contenant 32 variétés appartenant à sept espèces utilisées dans le dispositif microparcelles.

de profondeur) a été calculé par rapport à la disponibilité maximale en eau du sol (SMWA) simplifié d'après Kunrath *et al.* (2015) selon la formule suivante :

$$SMWA_i = SMWA_{i-1} - ET_i \times \min \left(1; \frac{SMWA_{i-1}}{1 - \frac{RFU}{RU}} \right)$$

Où $SMWA_i$ est la teneur en eau du sol du jour i (rapport entre la hauteur d'eau contenu dans la réserve utile et la hauteur maximale de hauteur d'eau), $SMWA_{i-1}$ la teneur en eau du jour précédent (la première valeur est fixé arbitrairement à 50), ET_i correspond à l'évapotranspiration estimée avec l'équation de Penman, RU désigne la capacité maximale de la réserve utile (fixé à 160 dans notre expérimentation, d'après Kunrath *et al.* (2015), RFU correspond à la capacité de drainage du sol évaluée selon la formule :

$$RFU = \varphi \times RU$$

Où φ est défini comme une constante caractéristique du sol correspondant à la réserve journalière d'eau dans le sol fixé dans notre expérimentation à $\varphi = 0.6$ d'après Kunrath *et al.* (2015).

Tous les mélanges étaient considérés comme ayant le même SMWA et le même taux d'évapotranspiration quotidien. Le premier indice était la fraction de la teneur en eau du sol (FSWC) moyennée sur toute la période de repousse. Le deuxième indice a été calculé sur la base de l'estimation faite par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) des valeurs seuils pour les espèces prairiales = 40% (seuil en dessous duquel une plante fourragère est considérée en stress hydrique) et correspond à la proportion de jours entre deux coupes avec FSWC inférieure à 40%. De plus, les précipitations, l'irradiance solaire globale, la température et l'humidité de l'air et le vent à deux mètres de hauteur ont été enregistrés quotidiennement sur une station météorologique automatique appartenant au réseau INRA situé à deux kilomètres du dispositif microparcelles. La base de données CLIMATIK a fourni les données certifiées et l'évapotranspiration potentielle a été calculée à l'aide de l'équation de Penman calibrée pour un gazon de fétuque élevé irrigué.

4.3.2 Estimation de la biomasse totale et de la biomasse spécifique dans chaque mélange (microparcelles)

La biomasse totale de chaque mélange a été mesurée trois fois par an (correspondant à une coupe de printemps, d'été et d'automne) pendant cinq années consécutives (de 2012 à 2016) par une fauche complète de la microparcelle à 5 cm au-dessus du sol. La masse fraîche totale de chaque microparcelle a été pesée. Un échantillon par microparcelle a été prélevé puis mis à l'étuve à 60 °C pendant 72h et la masse sèche a été pesée. A partir du ratio entre masse fraîche et masse sèche de l'échantillon, la masse sèche de la totalité de la microparcelle a pu être estimée.

Au préalable de chaque fauche, quatre quadrats (0,33 x 0,15m) ont été placés de façon aléatoire dans chaque microparcelle et la biomasse de chaque espèce au sein de ces quadrats a été récoltée, triée, séchée à l'étuve à 60 °C pendant 72h et la masse sèche a été pesée. A partir du ratio entre masse fraîche et masse sèche, nous avons estimé la biomasse de chaque espèce pour chaque microparcelle et donc les proportions des espèces par microparcelle. En raison de la lourdeur de la tâche, la biomasse de chaque espèce a été estimée sur l'ensemble des microparcelles de deux blocs sur les trois premières années, puis afin de gagner en précision à un moment clé dans la dynamique des mélanges d'espèces (pérennité de *T. repense* limitée à trois ans), l'estimation des biomasses de chaque espèce a été conduite sur l'intégralité des blocs à partir de la quatrième année. Pour chaque parcelle et chaque année, la biomasse totale annuelle, c'est-à-dire la biomasse annuelle de toutes les espèces confondues, et la biomasse annuelle des espèces, c'est-à-dire la biomasse annuelle de chacune des espèces, ont été calculées en additionnant les trois mesures (printemps, été et automne). Les coefficients de variation interannuels pour la biomasse totale annuelle ont été calculés comme suit:

$$CV_{inter - annual} = \frac{\sigma'}{\mu'}$$

Où σ' est l'écart type de la biomasse annuelle entre les années et μ' la biomasse annuelle moyenne sur cinq ans. Les coefficients de variation ont été calculés pour chaque microparcelle.

4.3.3 Estimation de l'équilibre d'abondance des espèces

Pour définir l'équilibre d'abondance des espèces dans chaque mélange, nous avons adapté l'indice d'équilibre de Pielou (Pielou 1966), basé sur l'indice de Shannon (Shannon & Weaver 1963). Contrairement aux indices de Pielou et de Shannon-Weaver qui sont basés sur le nombre d'individus de chaque espèce, la proportion d'espèces dans notre indice d'équilibre (J') est basée sur la biomasse sèche de chaque espèce dans la microparcelle. Tout d'abord, l'indice de diversité (H) a été calculé comme dans l'équation de Pielou (1966).

$$H = - \sum_{i=1}^S b_i * \log b_i$$

où b_i représente la proportion de biomasse des espèces i . Dans cette équation, la valeur maximale prise par H est atteinte lorsque la distribution entre les espèces est parfaitement uniforme, c'est-à-dire parfait équilibre d'abondance. Dans ces conditions, $H_{\max} = \log(S)$, où S représente le nombre d'espèces. La valeur 0 a été attribuée aux espèces disparues. L'indice d'équilibre (J') est alors défini comme suit:

$$J' = H/H_{\max}$$

Avec des valeurs de J' variant de 0 à 1. Dans notre cas, S est le nombre total d'espèces mis initialement, S est donc fixe dans notre équation (sept espèces). Indépendamment, deux séries de mesures de la biomasse spécifiques ont été réalisées la sixième année et un indice d'équilibre d'abondance entre graminée et légumineuse a été calculé sur la base de la même formule que pour l'équilibre d'abondance des espèces mais cette fois-ci à partir des proportions entre graminées et légumineuses.

Le coefficient de variation interannuel de l'indice d'équilibre d'abondance des espèces (J') a été calculé pour chaque microparcelle comme suit:

$$CV_p = \frac{\sigma_p}{\mu_p}$$

où σ_p est l'écart type de l'indice d'équilibre d'abondance des espèces entre les années et μ_p la moyenne de l'indice sur cinq ans.

4.3.4 Estimation du niveau de synchronie des espèces

L'indice de synchronie des espèces (Loreau & de Mazancourt 2008) a été calculé pour chaque parcelle chaque année. L'indice de synchronie des espèces mesure le niveau de synchronie des pics annuels de biomasse des espèces et est fréquemment utilisé en écologie. L'indice de synchronie (Ψ_j) du mélange j a été calculé comme suit:

$$\psi_j = \frac{\sigma_j^2}{(\sum_{i=1}^S \sigma_{ij})^2}$$

où σ_j^2 est la variance de la biomasse totale dans la microparcelle j des mesures saisonnières (mesure de printemps, été et automne) et σ_{ij} est l'écart type de la biomasse de l'espèce i dans le mélange j entre les mesures. La valeur $\Psi = 1$ indique que les espèces du mélange sont parfaitement synchrones dans leur pic de biomasse annuel dans la parcelle. La valeur $\Psi = 0$, le pic annuel de biomasse des espèces dans la parcelle est totalement asynchrone (décalage maximal dans le temps).

4.3.5 Analyses Statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (v. 3.2.4, R Development Core Team, 2016). L'indice Shannon Weaver a été calculé avec le package Vegan (Oksanen *et al.* 2016). L'effet mélange a été testé, via une ANOVA, sur la biomasse totale annuelle, la biomasse annuelle des espèces, l'indice d'équilibre, l'indice de synchronie, les coefficients de variation interannuels de la biomasse totale et des coefficients de variation interannuels.

L'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée avec la fonction « aov » dans R. Notre plan d'expérience était équilibré, avec mélanges et blocs comme facteurs fixes selon le modèle suivant:

$$Y = \mu + \alpha_k + \beta_l + \varepsilon_{klm}$$

où Y est la variable expliquée, α_k l'effet fixe du mélange, β_l l'effet fixe du bloc et ε_{klm} est l'erreur du modèle. Les tests de Tukey (comparaisons multiples) ont été effectués lorsque l'effet mélange était significatif au seuil de 5 %, pour une comparaison des mélanges deux par deux (fonction « TuKeyHSD »). Ce modèle a été utilisé systématiquement pour tester l'effet

du mélange sur toutes les variables expliquées. La corrélation a été estimée et testée entre l'indice d'équilibre des espèces et l'indice de synchronie d'une part et entre l'indice d'équilibre et la biomasse annuelle totale d'autre part, à l'aide de test de régression (fonction « lm »). La normalité et l'homoscédasticité des résidus ont été vérifiées en utilisant Shapiro.test et Bartlett.test. Les données climatiques mettent en évidence une sécheresse plus forte les deux dernières années (Fig. 1), aussi afin de ne pas confondre l'effet de l'âge des mélanges avec l'effet de la sécheresse, sur la biomasse annuelle totale, nous avons réalisé une analyse de la variance à l'aide de la fonction « aov » dans R. Notre plan d'expérience était équilibré, le mélange, le bloc, la sécheresse et l'âge étant des facteurs fixes et les individus (identité des microparcelles) constituant un facteur aléatoire selon le modèle suivant:

$$Y_{jklm} = \mu + \alpha_k + \beta_l + \tau_m + \gamma_m + (\alpha\tau)_{km} + (\alpha\gamma)_{km} + (\tau\gamma)_m + u_j + \varepsilon_{jklm}$$

où Y_{jklm} est la variable expliquée, α_k l'effet fixe du mélange, β_l l'effet fixe du bloc. τ_m (sécheresse : correspondant au nombre de jours en jour Julien par an que FSWC était <40%) et γ_m (âge : le nombre d'années depuis le semis) sont les covariables introduites dans le modèle. u_j l'effet intrasujet (terme d'erreur) et ε_{jklm} est l'erreur du modèle. $(\alpha\tau)_{km}$ est l'interaction entre le facteur mélange et la covariable sécheresse, $(\alpha\gamma)_{km}$ est l'interaction entre le facteur mélange et la covariable âge, et $(\tau\gamma)_m$ est l'interaction entre les covariables sécheresse et âge. Le pourcentage expliqué par chaque facteur a été calculé comme suit:

$$\theta_h = \frac{SC_h}{SC_t} \times 100$$

Où θ_h est le pourcentage expliqué par le facteur h , SC_h est la somme des carrés du facteur h et SC_t est la somme totale des carrés du modèle.

5. Dynamique de la diversité phénotypique et génétique dans les mélanges

5.1 Dynamique de la diversité génétique

Afin de vérifier la bonne installation des variétés à T_0 et de suivre la dynamique de la diversité génétique approchée par la diversité variétale au cours du temps, des prélèvements d'individus de chaque espèce dans chaque microparcelle dans lesquels les espèces contenaient

Tableau 2.4 Nombre d'individus échantillonnés pour la mesure des abondances variétales via l'assignation moléculaire. Un nombre d'individus échantillonnés inférieur au nombre requis s'explique par une abondance insuffisante de l'espèce dans la microparcelle.

Espèce	Bloc	Mélange M-4				Mélange M-5			
		Nombre d'individus à échantillonner	Année 1	Année 3	Année 5	Nombre d'individus à échantillonner	Année 1	Année 3	Année 5
<i>Dactylis glomerata</i>	I	48	43	43	45	96	84	80	81
	II	48	45	39	37	96	93	76	78
<i>Festuca arundinacea</i>	I	48	34	46	46	96	33	31	82
	II	48	39	44	42	96	84	38	69
<i>Lolium perenne</i>	I	48	47	14	33	96	96	17	8
	II	48	46	14	21	96	93	13	17
<i>Trifolium repens</i>	I	48	43	31	21	48	43	29	31
	II	48	44	31	13	48	46	42	20
<i>Trifolium pratense</i>	I	32	30	14	-	32	32	20	-
	II	32	32	18	-	32	31	29	-
<i>Lotus corniculatus</i>	I	32	31	5	3	48	42	7	4
	II	32	31	3	4	48	46	8	6
<i>Medicago sativa</i>	I	48	39	11	8	96	83	32	30
	II	48	34	5	8	96	77	27	23

Tableau 2.5 Combinaisons d'amorces pour microsatellites (SSR) à partir d'une PCR pour *Lolium Perenne*

SSR markers	5' Primer sequence	3' primer sequence
LpSSR066	GCCAGTGCCCATTCGATAA	CCCCACTCCAACCAAAGCAA
LpSSR058	CGATGAACTCAAGGGGGATT	GCACCGGTCTAGGGACAGAA
rv0641	TGCATAACTTCACTGCAGCATA	AGAAACTCGGTAGAAGGACCTC
M15185	GGTCTGGTAGACATGCCTAC	TACCAGCACAGGCAGGTTC
B4D7op	CTGGCSTGTGCTCCGYG	TCGCCGTCCACCTACCAC
LmgSSR01-08H	ATGGAActCTGGCACACCAG	GCATGGCTACATCCTTCCAG

plusieurs variétés semées (M-4 et M-5) ont été effectués sur deux blocs l'année 1, 3 et 5 de l'expérimentation. Le nombre d'individus prélevés pour une espèce est calculé en fonction du nombre de variétés composant cette espèce (Tableau 2.4), l'optimum calculé étant de 16 individus par variété. C'est ce que nous avons prélevé à chaque fois que cela était possible en respectant une distance de 20 à 40 cm (selon l'espèce) entre individus à échantillonner pour éviter de prélever plusieurs fois le même individu.

L'ADN des individus prélevés dans les microparcelles a été extrait en utilisant le kit de purification CTAB et Chloroforme (CYMMIT, 2005) et l'assignation de ces individus à une variété a été faite par assignation moléculaire à l'aide d'un référentiel que nous avons construit (Figure 2.6). La qualité des ADN et leur concentration ont été vérifiées par électrophorèse avec des gels d'agarose 1%. Le référentiel a été construit à partir d'un échantillon de génotypes issus des lots de semences initiaux de chaque variété. Ces génotypes (16 par variété pour chaque espèce) ont été installés, à partir de graines issues des mêmes lots de semence initiaux utilisés pour les microparcelles. L'ADN de ces génotypes a été extrait avec la même méthodologie de kit de purification CTAB et Chloroforme (CYMMIT 2005). Des marqueurs microsatellites ont été utilisés pour *L. perenne* du fait de sa diploïdie et des marqueurs AFLP ont été utilisés pour les autres espèces (toutes polyploïdes). Pour les marqueurs microsatellites, les ADN ont été amplifiés par réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour six loci (Tableau 2.5).

Cette PCR a été effectuée dans un volume final de réaction de 10µl contenant 1X polymérase buffer, 0.325 U de MP polymérase Biomedicals, 0.2 mM de dNTP (Invitro-gen), 0.1µM d'amorce avec une queue M13, 0.2µM d'amorce inversé, 0.1µM de queue M13 IRD700 ou IRD800 amorce marquée et 20ng d'ADN. Les PCR ont été effectuées avec un thermocycleur «Tetrad2 » (Biorad). Une dénaturation de 4 minutes à 94°C suivi de 35 cycles de 30 s à 94 °C, 1 min à température d'hybridation (65°C – 1°C/cycle), 1 min à 72°C et puis 10 min à 72°C pour la phase finale.

Pour les marqueurs AFLP, le protocole décrit par Vos *et al.* (1995) a été utilisé. Les amplifications sélectives ont été effectuées avec des paires d'amorces générant un maximum de polymorphisme. Le nombre de couples d'amorces utilisées varie d'une espèce à l'autre de

Tableau 2.6 Combinaisons d'amorces par espèce utilisée pour les marqueurs AFLP.

Espèce	Amorce AFLP selective	Nombre de marqueurs polymorphes
<i>Dactylis glomerata</i>		162
	E-ATT/M-CCG	60
	E-ACA/M-CGG	102
<i>Festuca arundinacea</i>		96
	E-ACA/M-CTCG	38
	E-AAG/M-CCTA	21
	E-ACC/M-CAG	37
<i>Trifolium repens</i>		116
	E-ACA/M-CCT	65
	E-AAC/M-CCA	51
<i>Trifolium pratense</i>		78
	E-ACA/M-CTT	56
	E-ATC/M-CCT	22
<i>Lotus corniculatus</i>		161
	E-AAG/M-CTG	42
	E-AAA/M-CAC	51
	E-ACT/M-CTA	39
	E-ATC/M-CAT	29
<i>Medicago sativa</i>		381
	E-ACA/M-CTG	82
	E-ACC /M-CAA	41
	E-ACA /M-CGT	53
	E-AAA /M-CGC	40
	E-ATG/M-CCG	37
	E-AGC /M-CCC	26
	E-ACA/M-CTGG	20
	E-AAA/M-CTCG	23
	E-ATG/M-CGC	24
	E-ATA/M-CGG	35

deux à dix paires d'amorces (Tableau 2.6) selon le polymorphisme et donc l'information apportée par le couple d'amorce. Un séquenceur Li-Cor IR2 a été utilisé pour séparer les fragments d'ADN amplifiés sur un gel d'acrylamide à 6,5%. La séparation des marqueurs a été codée avec SAGA Generation 2 par deux personnes et les résultats obtenus comparés. Le nombre de bandes codées pour fournir une assignation variétale avec un taux d'erreur inférieur à 5% était variable selon les espèces (entre 78 et 380 bandes codées).

Le même protocole d'amplification d'ADN a été suivi pour les individus prélevés *in situ* dans les microparcelles au cours du temps. Pour *L. perenne*, les individus prélevés *in situ* ont été assignés à une variété en utilisant le « logiciel GeneClass2 » à partir du référentiel. Le logiciel structure basé sur la méthode marqueur dominant (Version 2.3.4) a été utilisé pour analyser les données AFLP avec des paramètres spécifiques aux espèces (2.10^4 itérations et 5.10^4 méthode de Monte-Carlo par chaînes de Markov-MCMC pour toutes les espèces excepté pour *F. festuca* et *M. sativa* avec respectivement 10^4 et 2.10^4 itérations). Ces paramètres ont été obtenus de façon empirique en augmentant progressivement les paramètres lors de la construction du référentiel. L'assignation des individus prélevés *in situ* à des variétés a permis de calculer les proportions variétales *in situ* (Figure 2.6) au cours du temps.

5.2 Dynamique de la diversité phénotypique

Comme pour les prélèvements d'individus *in situ* pour le suivi de la dynamique de la diversité génétique, le phénotypage *in situ* dans les microparcelles a été fait sur les deux mêmes blocs. La hauteur végétative a été mesurée *in situ* sur 20 individus par espèce quand cela était possible, soit près de 1400 plantes. La hauteur végétative est un trait clé largement utilisé en écologie pour caractériser la stratégie d'acquisition de la lumière, la capacité compétitive des espèces avec les espèces voisines, et expliquer la capacité des espèces à produire dans une communauté prairiale (Weiner & Thomas 1986; Westoby 1998; Falster & Westoby 2003; Pontes *et al.* 2012). Cette opération a été effectuée les années 1, 2, 3 et 5 de l'expérimentation afin d'obtenir la dynamique de la diversité phénotypique pour ce trait majeur au sein de chaque microparcelle des blocs 1 et 2.

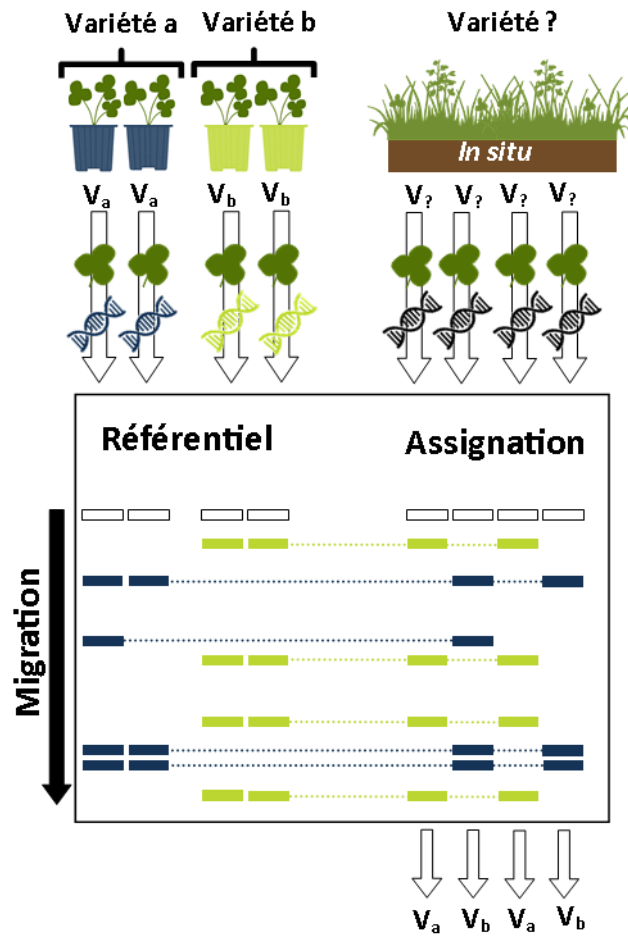


Figure 2.6 Protocole d'assignation variétale pour des marqueurs AFLP. Des prélèvements ont été effectués sur des individus cultivés en pot dont l'appartenance variétale est connue (Référentiel) et sur des individus prélevés *in situ* en microparcelles mais dont l'appartenance variétale est inconnue. A partir des ADN extraits et amplifiés avec des amorces spécifiques, l'assignation des individus prélevés *in situ* à une variété a été réalisée en comparant les profils obtenus par migration (électrophorèse) des ADN amplifiés des individus dont l'appartenance à la variété est connue (Référentiel) aux profils des individus *in situ*. Le même principe a été effectué pour les marqueurs microsatellites.

5.3 Analyses statistiques

Les distributions des hauteurs des espèces ont été modélisées en utilisant un cadre de modélisation distributionnelle (similaire à l'approche GAMLSS). Cette approche a permis de modéliser tous les paramètres d'une distribution paramétrique à la suite d'une équation contenant des paramètres hiérarchiques et des fonctions de lissage. La complexité de tels modèles pouvant difficilement être capturée par les méthodes classiques à maximum de vraisemblance, les paramètres ont été estimés dans un cadre bayésien utilisant le hamiltonien Monte-Carlo, tel que mis en œuvre dans l'échantillonneur No-U-Turn du logiciel Stan. Plusieurs modèles ont été testés (Table 2.6.) en introduisant successivement des paramètres ou des facteurs. La comparaison des modèles a été effectuée à l'aide de Watanabe-Akaike-Information-Criterion (WAIC) (voir ci-dessous) afin d'identifier les caractéristiques des niches et l'implication des facteurs dans leur évolution.

La distribution des hauteurs des espèces a été décrite en utilisant la distribution gamma paramétrée en fonction de deux paramètres indépendants décrivant la moyenne (μ) et la dispersion (ϕ). La distribution gamma a l'avantage de pouvoir décrire une distribution asymétrique, ce qui peut souvent se produire dans le cas de variables aléatoires strictement positives proches de 0. La distribution gamma à partir de laquelle la valeur de hauteur de l'individu i est échantillonnée suit la formulation générale :

$$\begin{aligned} y_i &\sim \text{Gamma}(\mu_i^2 \phi_i, \mu_i \phi_i) \\ \log(\mu_i) &= \beta_f X_i + \beta_r X_i + f_1(t_i) \\ \log(\phi_i) &= \gamma_f X_i + \gamma_r X_i + f_2(t_i) \end{aligned}$$

X_i étant une matrice de conception de covariables décrivant l'environnement d'observation i , alors que β_f et γ_f sont des paramètres fixes, tels que des interceptions pour les identités des blocs (tous les modèles – voir Tableau 2.6) pour la moyenne et la dispersion respectivement. β_r et γ_r représentent les paramètres de populations hiérarchiques décrits par une distribution normale avec un écart type estimé, respectivement pour la moyenne et la dispersion. Dans notre cas, les paramètres hiérarchiques décrivaient une interception variable des mélanges (tous modèles – voir Tableau 2.6), des espèces (tous modèles sauf Mod4 - voir Tableau 2.6) ou des espèces à différents niveaux de diversité génétique (Mod4), mais aussi des pentes

Tableau 2.6 Modèles décrivant la dynamique des niches des espèces à travers le temps et la sélection génétique

Modèle	Description
Model selection - niches	
Mod ₀	Modèle estimant les interceptions pour les blocs, les mélanges et les espèces, tant pour la moyenne que pour la dispersion
Mod ₁	Modèle contenant des interceptions et des splines communes à chaque espèce, décrivant l'évolution de la moyenne et de la dispersion de la niche dans le temps
Mod ₂	Modèle contenant des interceptions pour la moyenne et la précision, mais avec une spline décrivant indépendamment l'évolution de la hauteur moyenne de chaque espèce dans le temps
Mod ₃	Modèle complet avec interceptions et splines pour chaque espèce décrivant indépendamment l'évolution de la hauteur moyenne et de la dispersion des niches dans le temps
Modèle selection - genetic selection	
Mod _{0'}	Modèle estimant les interceptions pour les blocs, les mélanges et les espèces, tant pour la moyenne que pour la dispersion
Mod _{1'}	Modèle estimant les intersections successives et la déformation de niche de chaque espèce dans le temps en utilisant des splines cubiques
Mod _{2'}	Modèle estimant les intersections successives, les splines liant le temps à la moyenne et à la dispersion et l'effet des modifications de l'abondance des cultivars sur ces paramètres

variables entre les proportions de variétés dans chaque mélange et la distribution des hauteurs (Mod2' - Tableau 2.6). f_{1s} et f_{2s} ont décrit des splines cubiques liant les années à la moyenne et à la dispersion de chaque distribution des hauteurs des espèces. Mod₁ a estimé une spline commune pour toutes les espèces à la fois pour la moyenne et la dispersion, tandis que Mod₂ a estimé une spline par espèce pour la moyenne seulement. Mod₃, Mod_{1'} et Mod_{2'} ont estimé une spline par espèce pour la moyenne et la dispersion. Mod₄ a estimé une spline par espèce pour chaque niveau de diversité génétique au sein des espèces (1 variété par espèce, jusqu'à 3 variétés par espèce ou jusqu'à 6 variétés par espèce). Nous avons utilisé la régularisation *a priori* pour optimiser l'estimation et limiter le sur-ajustement, sur la base de distributions t-student avec 3 degrés de liberté et moyenne et échelle ajustées.

Le *posteriori* de chaque modèle a été échantillonné à l'aide de l'algorithme NUTS via le paquetage brms R (version 2.2.3), ce qui permet de calculer facilement les prédictions et de fournir des liens vers le package de comparaison de modèles loo (version 2.0.0). Le logiciel Bayésien Stan fournit des diagnostics de comportement anormal d'échantillonnage et de mélange de chaînes. Nous avons pris soin d'éviter les transitions divergentes et de garantir la convergence en vérifiant que le facteur de réduction d'échelle de chaque paramètre, indiquant la convergence des chaînes, ne dépassait pas 1,1.

La comparaison des modèles a été effectuée à l'aide de Watanabe-Akaike-Information-Criterion (WAIC) implémenté dans le package loo. Ce critère peut être interprété comme le critère Akaike-Information-Criterion, les meilleurs modèles présentant le critère le plus bas. Cependant, WAIC incorpore l'incertitude sur la densité log-prédictive du modèle et est donc décrit par une distribution approximativement normale avec une erreur-type estimée. Nous avons interprété l'ampleur de la différence de la méthode WAIC des différents modèles (Δ WAIC), mais aussi l'incertitude quant à cette différence. Un Δ WAIC inférieur au double de son erreur-type (approximativement équivalent à l'intervalle crédible à 95%) a été considéré comme fournissant peu de support au meilleur modèle. Tous les calculs ont été effectués en utilisant la version R 3.4.4.

6. Caractérisation physique et diversité microbienne du sol des microparcelles

6.1 Echantillonnage sol des microparcelles

La diversité microbienne a été mesurée sur chaque microparcelle. Pour ce faire, cinq carottes de sols ont été prélevées sur chaque microparcelle. Les carottages ont été réalisés avec une tarière de 10 cm de diamètre sur 15 cm de profondeur. Les carottes prélevées ont été ensachées individuellement puis stockées au froid (4°C) jusqu'à la préparation des échantillons. Chaque carotte de sol a été tamisée (tamis 2mm) et toutes les carottes de sol provenant d'une même microparcelle ont été poolées et homogénéisées dans des proportions strictement identiques (20 g par carotte). Deux séries d'échantillonnage ont été effectuées, une première au printemps (mai 2017) et une seconde fin d'été (septembre 2017) sur chaque microparcelle dans les trois blocs. Au total, 30 échantillons ont été obtenus (5 mélanges x 3 blocs x 2 séries d'échantillonnage). Sur chaque pool de carotte par microparcelle, des mesures de composants chimiques et de microbiologie ont été effectuées.

6.2 Mesures chimiques

Six variables chimiques ont été mesurées. Le pH a été mesuré avec un pHmètre après une mise en suspension dans l'eau de l'échantillon de sol séché à l'air dans un rapport 1/5 (v/v). L'azote total, le carbone total, le potassium total, le phosphore total, et la matière organique ont été estimés par combustion sèche qui après séparation chromatographique des gaz formés a permis de quantifier les différents éléments à l'aide d'un catharomètre (variables mesurées par l'INRA d'Arras). A partir des variables chimiques mesurées, le rapport C/N a été calculé car il est un facteur important dans la dynamique des communautés bactériennes et fongiques (Grosso, Baath & De Nicola 2016).

6.3 Estimation de la diversité microbienne

La diversité et la structure des communautés microbiennes du sol ont été estimée par séquençage haut-débit de gènes cibles préalablement amplifiés à partir d'ADNs extraits d'échantillons de sol.

6.3.1 Extraction d'ADN, l'amplification par PCR et le séquençage d'Illumina Miseq

L'ADN a été extrait de 500 mg de sol à l'aide d'un homogénéisateur FastPrep-24 (MP Biomedicals Europe, Illkirch, France) et du kit FastDNA SPIN pour sol (MP Biomedicals Santa Ana, Californie, États-Unis) selon les recommandations du fabricant. Après les étapes d'homogénéisation et de lyse, la pureté des extraits d'ADN a été améliorée par une étape de lavage à la guanidine telle que décrite par Tournier *et al.* (2015). L'ADN a été dilué dans 100 µl de DES (Tampon de dilution du kit) et soumis à une étape de purification finale en utilisant le kit de nettoyage DNeasy PowerClean Pro (QIAGEN, Courtaboeuf, France). Pour chaque mélange expérimental, cinq carottes de sol ont été extraits individuellement, lyophilisées et stockées à -20°C avant analyse. Les ADN ont été amplifiés par PCR (Polymerase Chain Reaction) pour caractériser les communautés bactériennes et fongiques du sol. Pour les bactéries, une partie du gène codant l'ARNr 16S a été ciblée en utilisant les amorces V3F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3') (Wilson, Blitchington & Greene 1990) et V4R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') (Lane 1991). Pour les champignons, l'espaceur ITS2 des ARNr des opérons ribosomiques a été ciblé en utilisant les amorces ITS86F (5'-GTGAATCATCGAATCTTTGAA-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (De Beeck *et al.* 2014). Les amorces sens et non-sens ont été modifiées avant l'amplification en ajoutant respectivement les séquences adaptatrices

5'-CTTTCCTACACGACGCTCTTCCGATCT-3'

5'-GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT-3'

pour le multiplexage des produits de la PCR avant le séquençage. Les réactions d'amplification ont été réalisées dans un volume final de 25 µl avec les amorces modifiées (0,6 µM chacune), 2 µl d'extrait d'ADN, 200 µM de chaque dNTP, 200 ng / ml de BSA, ADN polymérase GoTaq® (2 unités) et 1X Tampon réactionnel vert GoTaq® (Promega, Charbonnières, France) à 94 °C pendant 3 min, 20 cycles à 94 °C pendant 45 s, 55 °C pendant 45 s, 72 °C pendant 45 s avec une étape finale d'allongement à 72 °C pendant 10 min. Pour chaque microparcelle, les cinq réplicats de PCR correspondant aux cinq échantillons d'ADN ont été rassemblés et évaporés en utilisant un concentrateur sous vide et remis en suspension dans 50 µl d'eau stérile. Tous les produits d'amplicon ont été analysés en utilisant le

séquençage Illumina MiSeq (2 x 250 pb) par Get-PlaGe (Genotoul, Castanet-Tolosan, France) avec un multiplexage unique en utilisant un index maison de 6 pb, qui a été ajouté aux amorces inverses pour une deuxième PCR à 12 cycles, en utilisant l'amorce sens suivante :

(AATGATACGGCGACCAACGAGATCTACACTCTTCCCTACACAGAC)

et l'amorce non-sens suivante :

(CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT-index-GTGACTGGAGTTCAGA-CGTGT)

Les produits de PCR résultants ont été purifiés et chargés sur la cartouche Illumina MiSeq selon les instructions du fabricant. La qualité de l'analyse a été vérifiée à l'aide de PhiX (20%), puis chaque séquence a été assignée aux échantillons à l'aide de l'indice « maison » de 6 pb.

6.3.2 Traitement de l'information

Le séquençage, la prédiction de base et le démultiplexage ont été effectués à l'aide de RTA v1.18.54, MCS 2.6 et bcl2fastq2.17. Les lectures d'Illumina MiSeq ont été assemblées avec vsearch v2.3.0 (Rognes *et al.* 2016) en utilisant la commande fastq_mergepairs et l'option fastq_allowmergestagger. Le démultiplexage et le découpage de l'amorce ont été effectués avec cutadapt v1.9 (Martin 2011), forçant une correspondance complète pour les étiquettes d'échantillons et permettant une correspondance partielle de 2/3 de longueur pour les amorces sens et non-sens. Seules les lectures contenant les deux amorces ont été retenues. Pour chaque lecture tronquée, l'erreur attendue a été estimée à l'aide de la commande vsq de fastq_filter et de l'option eeout. Chaque échantillon a ensuite été dérépliqué, c'est-à-dire que des lectures strictement identiques ont été fusionnées, en utilisant la commande derep_fulllength de vsearch et converties au format FASTA.

Pour préparer le regroupement en unités taxonomiques opérationnelles (OTUs), les échantillons ont été groupés et traités par un autre cycle de déréplication avec vsearch. Les fichiers contenant des estimations d'erreur attendues ont également été dérépliqués pour ne conserver que l'erreur la plus faible attendue pour chaque séquence unique. Le regroupement a été effectué avec Swarm v2.1.9 (Mahe *et al.* 2014), en utilisant un seuil local d'une différence et l'option fastidious. Des séquences représentatives des OTUs ont ensuite été analysées pour la présence de chimères avec la commande uchime_denovo de la commande

vsearch (Edgar *et al.* 2011). En parallèle, l'assignation taxonomique des séquences représentatives ont été effectuée à l'aide du pipeline stampa (<https://github.com/frederic-mahe/stampa/>) et de la base de données 16S de référence SILVA v132 (<https://www.arb-silva.de/>) (Glockner *et al.* 2017) pour les séquences bactériennes ou de la base de données ITS de référence UNITE v7 (<https://unite.ut.ee/>) (Koljalg *et al.* 2013) pour les champignons. Les résultats de regroupement, les valeurs d'erreur attendues, les assignations taxonomiques et les résultats de la détection des chimères ont été utilisés pour créer un tableau brut OTU (Unité taxonomique opérationnelle). Jusque-là, les lectures qui ne pouvaient pas être fusionnées, les lectures sans étiquettes ni les amorces, les lectures inférieures à 32 nucléotides et les lectures avec des bases non appelées («N») avaient été éliminées. Pour créer le tableau OTU «nettoyé», des filtres supplémentaires ont été appliqués pour ne garder que les OTU non chimériques, les OTU avec une erreur attendue par nucléotide inférieure à 0,0002, les OTU contenant plus de 3 lectures ou observés dans 2 échantillons et les OTUs attribués aux taxons bactériens ou fongiques avec au plus de 80% de similarité.

6.3.3 Diversité microbienne

La diversité microbienne a été estimée avec de l'indice de Shannon-Weaver calculé séparément pour la diversité bactérienne et la diversité fongique à partir des proportions de chaque OTUs selon la formule suivante :

$$H = - \sum_{i=1}^s b_i * \log b_i$$

où b_i représente la proportion de l'OTUs i .

6.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel R (v. 3.5.0, R Development Core Team, 2018). L'effet mélange a été testé sur l'équilibre d'abondance entre graminées/légumineuses (indice de Pielou) et la diversité microbienne (indice de Shannon), les mesures chimiques du sol (pH, matière organique et le rapport C/N) et la biomasse végétale. La normalité et l'homoscédasticité des données ont été vérifiés avec les fonctions Shapiro.test and Bartlett.test. L'analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées a été

conduite avec la fonction aov dans R avec le terme Error. Notre plan d'expérience était équilibré avec les facteurs mélange, bloc, et saison comme facteurs fixes et le facteur sujet déclaré en aléatoire selon le modèle Mod5 suivant :

$$Y_{ijkm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik} + u_m + \varepsilon_{ijjkm}$$

Où Y_{ijkm} est la variable expliquée, α_i est le facteur mélange (fixe), β_j est le facteur bloc (fixe), τ_k est le facteur saison correspond aux séries de mesures, $(\alpha\tau)_{ik}$ est l'interaction entre le facteur mélange et saison, u_m est le facteur sujet (identité parcellaire correspondant à la variabilité intra-sujet), et ε_{ijjkm} est l'erreur du modèle. Un test de contraste a été conduit pour chaque variable en contrastant les mélanges à faible et à moyenne diversité génétique (M-1, M-2, M-3, et M-4) *versus* le mélange à forte diversité génétique (M-5) afin de tester l'effet de la diversité génétique végétale (le mélange M-4 a été exclue en raison de sa forte redondance variétale choisie par le sélectionneur – voir chapitre 2 section 4.1).

Afin de distinguer dans l'effet mélange, l'effet lié à la composition génétique de celui lié à la diversité végétale (équilibre entre graminées et légumineuses), la diversité végétale a été introduite en covariable emboîté dans le facteur mélange selon le modèle Mod6 :

$$Y_{ijkm} = \mu + \beta_j + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik} + u_m + \varepsilon_{ijjkm}$$

Où Y_{ijkm} est la variable expliquée, α_i est le facteur mélange (fixe), β_j est le facteur bloc (fixe), τ_k est l'équilibre d'abondance graminées/légumineuses, $(\alpha\tau)_{ik}$ correspond à l'effet emboîté du facteur mélange, u_m est le facteur sujet (identité parcellaire correspondant à la variabilité intra-sujet), et ε_{ijjkm} est l'erreur du modèle.

L'effet mélange sur la structure des communautés microbiennes a été testé avec une analyse de variance basée sur une matrice de dissimilarité (Bray-Curtis) pour partitionner les distances parmi les sources de variation. Cette analyse de variance, analogue à une analyse de variance mutli-variée (MANOVA), a été conduite à partir des données d'abondance de trois champs taxonomiques : OTUs, ordre et phylum afin de déterminer sur quel champ taxonomique il existe un potentiel effet mélange. Cette analyse a été conduite avec la fonction adonis (package vegan) sur R selon le même modèle Mod5. En complément, une analyse d'ordination à échelle multidimensionnelle non-paramétrique (NMDS) a été calculée à partir des données d'abondance de trois niveaux taxonomiques (OTUs, ordre, et phylum) afin

d'identifier les mélanges qui diffèrent pour les communautés bactériennes et fongiques. NMDS a été réalisé avec la fonction metaMDS sur R du package vegan. L'ordination permet de représenter les mélanges sur un plan à faible dimension de façon à ce que les mélanges dissemblables soient plus éloignés les uns des autres.

Les Modèles d'équations structurelles (sem) ont été utilisés pour évaluer les relations directes et indirectes entre les différents niveaux de diversités (diversité végétale et microbienne) et les variables mesurées (biomasse végétale, pH, teneur en matière organique, et rapport C/N). La première étape des sem a été d'établir un schéma a priori basé sur les connaissances et hypothèses de relations entre les variables du modèle. Une matrice de corrélation a été calculée pour la construction a priori du modèle visant à identifier les corrélations existantes entre variables. Le modèle sem vise à tester l'effet de la diversité génétique végétale sur la diversité microbienne via l'équilibre d'abondance graminées/légumineuses et ses relations sur la production de biomasse des plantes. Le modèle a été testé séparément pour la diversité bactérienne et la diversité fongique. Les relations entre les variables ont été estimées à partir des coefficients de trajectoires chacun associé à une valeur (P). Ce coefficient est analogue au coefficient de corrélation et indique l'intensité et le signe de la relation liant les variables entre elles (Grace 2006). La normalité des variables a été vérifiée avec la fonction shapiro.test sur R. La qualité des modèles a été estimée au regard du test χ^2 (validité globale du sem est jugé bon lorsque la valeur p du test χ^2 est supérieure 0,05) et l'indice d'ajustement comparative (CFI) qui est un indice qui estime dans quelle mesure le modèle testé est meilleur que le modèle d'indépendance (modèle accepté lorsque CFI>0.95).

Enfin, afin de dissocier l'effet de la diversité bactérienne de la présence certains taxons clé dans la fixation symbiotique de l'azote sur la production de biomasse (Rhizobiaceae et Frankiales). Une analyse de variance à mesures répétées avec effet niché a été conduite avec la fonction aov sur R avec le terme Error selon le modèle Mod7 suivant

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \alpha_j + (\alpha\beta)_{jk} + u_l + \varepsilon_{ijkl}$$

Où Y_{ijk} est la biomasse végétale, τ_i est le facteur block (fixe), α_j correspond à la diversité bactérienne (indice de Shannon) (variable continue fixe), $(\alpha\beta)_{jk}$ correspondant la proportion d'espèce fixatrice niché dans la variable diversité bactérienne (variable continue fixe), u_l est

Table 2.6. Variable mesurée en pépinière

variable	description	Indicateur de fonction	Nombre de mesures
Hauteur	hauteur de la plante du niveau du sol jusqu'à l'extrémité du feuillage	Compétition pour la lumière	Cinq séries de mesures (avril 2015 et 2016, septembre 2014, 2015 et 2016)
Surface foliaire	Variable estimée à partir des mesures de la largeur et de longueur des limbes ou des folioles	Surface photosynthétique et relation avec la compétition pour la lumière	Trois séries de mesures (septembre 2015 et 2016, et en avril 2016)
Biomasse	Masse sèche pesée après 72h de mise à l'étude à 60°C	biomasse aérienne accumulée pendant la période de pousse	Quatre séries de mesures (septembre 2014 et 2016, et en avril 2015 et 2016)
Précocité	précocité a été estimée en mesurant les dates d'épiaison (graminées) ou de floraison (légumineuses) de chaque individu Les dates ont été converties en nombre de jours juliens.	Cycle de développement des plantes et dynamique de croissance	Une mesure faite en avril 2015
C/N	Rapport C/N a été mesuré à partir d'échantillons de feuilles éclairées prélevées sur chaque individu	Nutrition azotée des plantes	Une mesure faite en septembre 2015
dC13	le rapport entre le carbone isotopique 13 et le carbone isotopique 12 naturellement plus abondant	Tolérance des plantes face à une contrainte hydrique	Une mesure faite en septembre 2015

le facteur sujet (identité parcellaire correspondant à la variabilité intra-sujet), et ε_{ijkl} est l'erreur du modèle.

7. Mesures phénotypiques sur plantes en pépinière

Afin de caractériser les variétés et ainsi la gamme de variabilité des espèces utilisées dans les microparcelles, des mesures phénotypiques sur chaque individu de la pépinière en plantes isolées ont été effectuées. Des hauteurs végétatives ont été mesurées deux fois par an, une mesure effectuée au printemps (avril) et une faite après la période estivale (septembre), sur trois années consécutives (2014 à 2016). Des mesures de traits morphologiques (surface foliaire et hauteur), de biomasse, de phénologie (data épiaison) et de caractéristiques chimiques (rapport C/N et dC13) ont aussi été conduites (Table 2.6). La mesure du carbone, de l'azote et dC13 a été mesurée par spectre d'émission atomique des éléments après excitation des atomes au plasma d'argon (flamme à 6 000 à 10 000°C-opération effectué par l'INRA de Nancy).

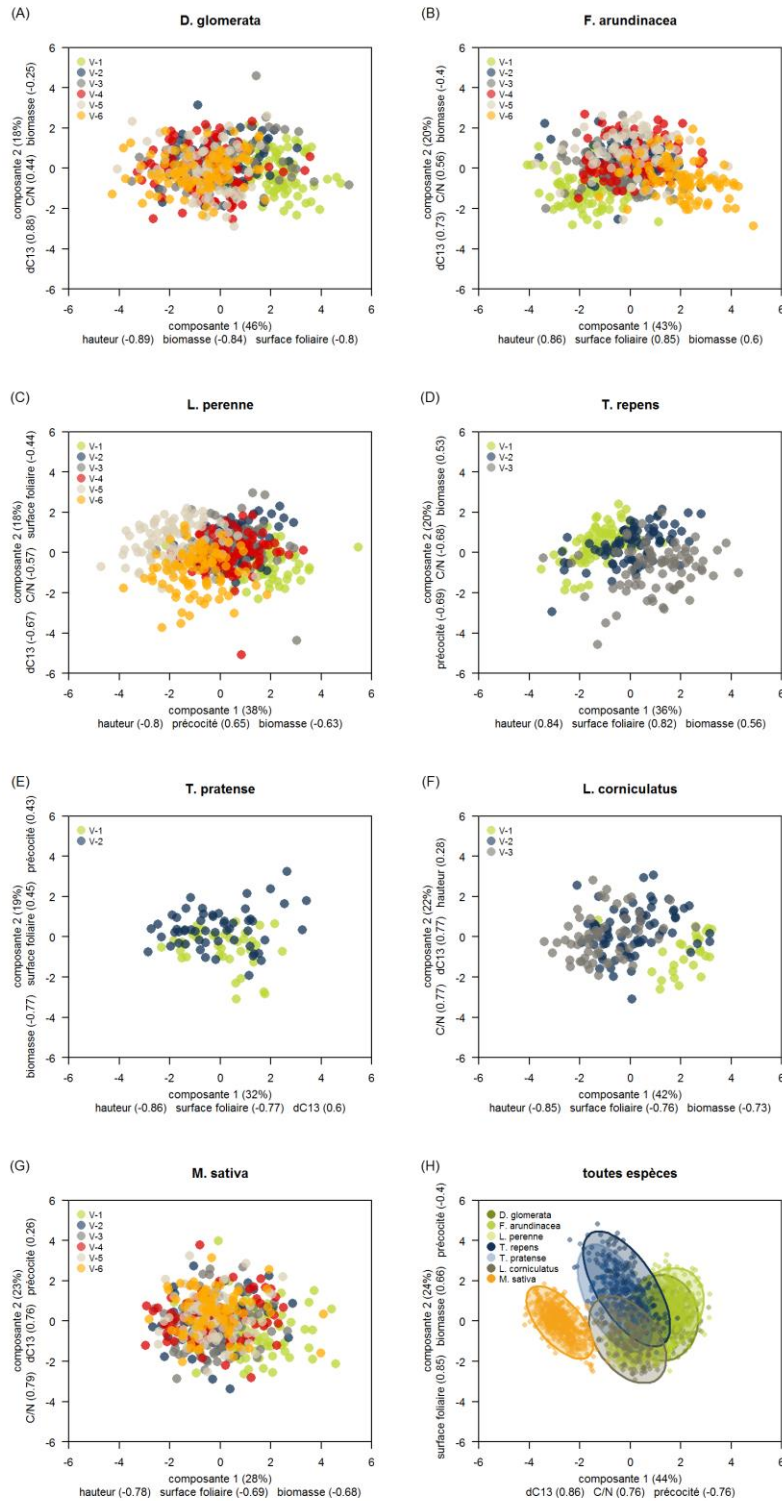


Figure 3.1 Analyse en Composante principale par espèce et toutes espèces. Chaque composante est représentée par les trois premières variables en termes de contribution relative.

Chapitre 3 - Caractérisation du matériel végétal et du milieu

1. Données phénotypiques de la pépinière et caractérisation des variétés et espèces utilisées

A partir de données phénotypiques effectuées sur les plantes en pépinière, la moyenne des séries de mesures pour chaque individu a été calculée pour chaque trait et une analyse en composante principale (ACP effectuée avec le logiciel R et la fonction « dudi.pca » du package « ade4 ») a été conduite pour discriminer les variétés entre-elles et identifier les variétés contrastées et les traits sur lesquels elles se distinguent. Un bon préalable est de vérifier que l'ACP permet dans un premier temps de discriminer les espèces entre-elles et les répartissent de façon cohérente par rapport à leur physiologie. Les résultats obtenus (Figure 3.1) montrent que les espèces se répartissent principalement le long de la composante 1 (44% de l'inertie du nuage de points) avec les légumineuses qui tendent à se positionner avec de faibles valeurs sur cette composante contrairement aux graminées qui tendent vers des valeurs plus élevées. Ces faibles valeurs issues de la composante 1 pour les légumineuses indiquent de faibles dC13 (approximation de la tolérance à la sécheresse) et une précocité plus tardive, ce qui est cohérent avec leur physiologie connue. A l'inverse, les graminées se caractérisent par une plus grande précocité et sensibilité au stress hydrique. La composante 2 sépare les espèces principalement par leur biomasse et leur surface foliaire, *L. perenne* et *L. corniculatus* tendent à se différencier des autres espèces sur ces traits. A noter que la hauteur intervient peu dans la discrimination des espèces pouvant traduire une proximité des espèces pour ce trait en conditions de plantes isolées.

Enfin une ACP a été conduite par espèce afin d'identifier la dispersion entre individus de la même espèce. Un premier résultat à noter est le fort chevauchement pour de nombreuses variétés dans la plupart des espèces, ceci est lié au fait qu'il s'agit de variétés synthétiques abritant une gamme de variabilité des traits non négligeable. Les variétés de *M. sativa* (Figure 3.1.G) sont extrêmement redondantes sans possibilité d'identifier une variété contrastée. Cependant pour les autres espèces, et ce malgré une forte redondance, des variétés contrastées peuvent être identifiées. Ainsi pour *D. glomerata*, la variété V-1 semble se distinguer des autres (voir la correspondance des noms des variétés dans le tableau 2.3) et les variétés V-1 et V-6 pour *F. festuca* se distinguent sur la composante 1. Pour *L. perenne* se sont les variétés V-

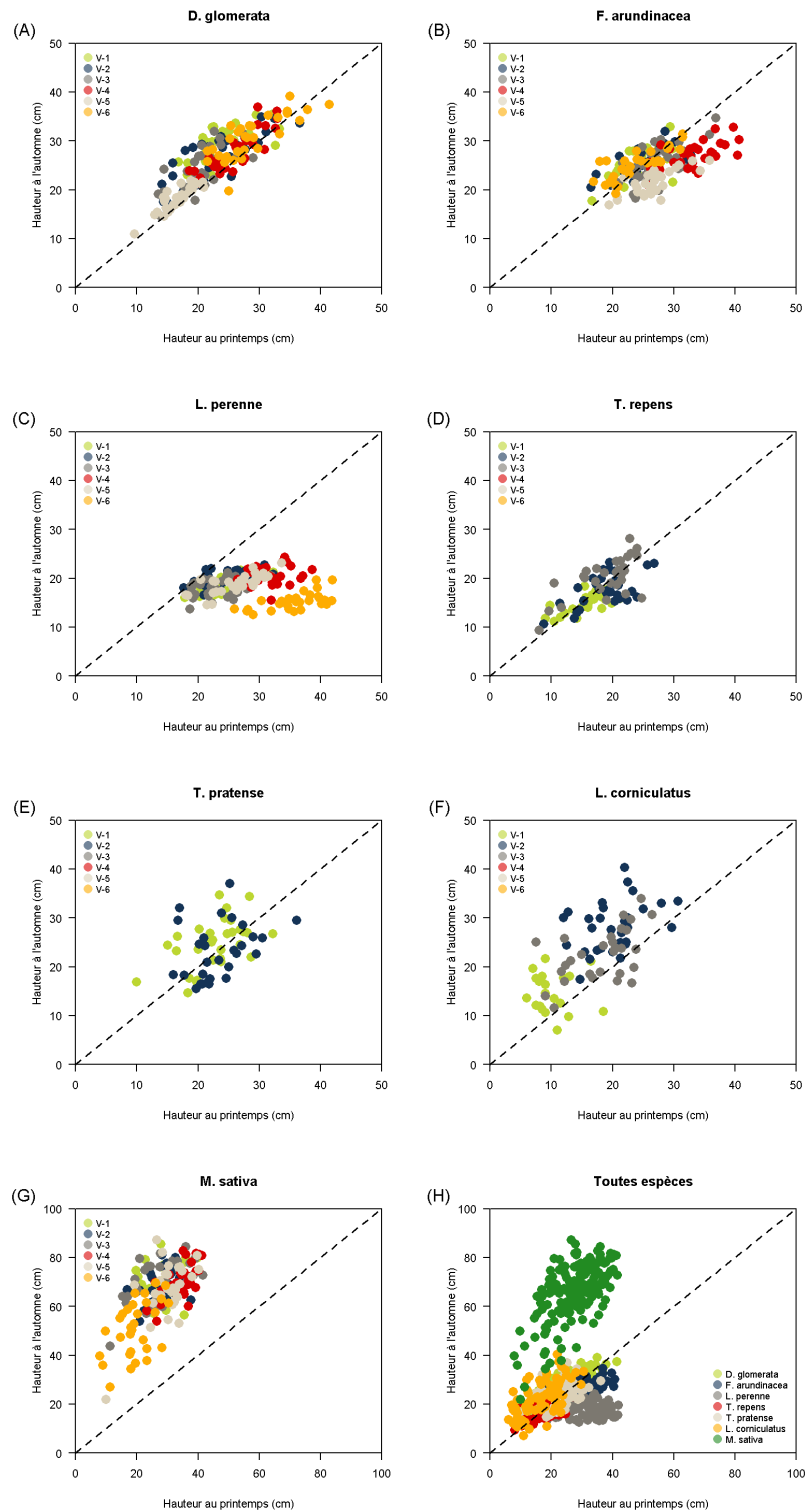


Figure 3.2 Régression par espèce et par variété entre la hauteur mesurée au printemps et celle mesurée à l'automne sur le dispositif pépinière. La ligne en pointillé représente la régression $y=x$. La répartition des points par rapport à cette droite indique le degré de plasticité entre les deux saisons.

5 et V-6 qui se distinguent mais également entre elles sur la composante 2. Pour *T. repens* et *L. corniculatus* les variétés se structurent entre elles également sur les deux composantes. A travers ces ACP, il a été possible de vérifier le degré de redondance des variétés mais également de vérifier que pour toutes les espèces : au minimum une variété contrastée était présente à l'exception de *M. sativa*. Autre résultat intéressant, la hauteur est le trait qui explique le plus la dispersion des variétés sur la composante 1 pour l'ensemble des espèces.

La corrélation entre la hauteur mesurée au printemps et la hauteur mesurée à l'automne (moyenne par saison et par bloc de chaque individu pour chaque génotype) a été effectuée (figure 3.2). Au niveau des espèces, il existe des différences de hauteur entre saison. *M. sativa* prend des valeurs plus élevées à l'automne (pousse lors de la période estivale) par rapport au printemps, cela suggère une forte variation du trait liée à la plasticité (en relation avec dynamique de croissance). Pour l'ensemble des autres espèces, elles semblent se répartir le long de l'axe de régression $y=x$. *D. glomerata* et *T. pratense* ne montrent pas de variations significatives entre leur valeur de hauteur au printemps et leur valeur à l'automne contrairement aux autres espèces pour lesquelles il existe des variétés qui se distinguent. La variété V-4 pour *F. arundinacea* prend des valeurs plus grandes au printemps que à l'automne, comme la variété V-6 et V-4 pour *L. perenne*. A l'inverse les variétés V-3 pour *T. repens* et prennent des valeurs plus importantes à l'automne. Ces résultats indiquent pour ce trait, qui a été utilisé pour le suivi de la diversité phénotypique *in situ* en microparcelles, une forte plasticité entre saisons correspondant à des dynamiques de croissance différentes des espèces.

2. Diversité phénotypique de la hauteur au cours du temps dans le dispositif microparcelles

La hauteur végétative des espèces est le trait majeur dans la compétition, son augmentation permet d'éviter l'ombre du voisinage et donc la compétition pour la lumière (Gommers *et al.* 2013). La ressource lumineuse est une ressource dans l'effet est d'ordre 1 dans la compétition en condition dense (Westoby 1998). Aussi, suivre la hauteur des plantes au sein d'un couvert permet d'identifier l'effet des interactions compétitives et une différenciation de niches des espèces pourrait être visible au cours du temps. Nous avons suivi la hauteur des plantes *in situ* dans le dispositif microparcelle. La hauteur végétative est l'un des traits mesurés en pépinière

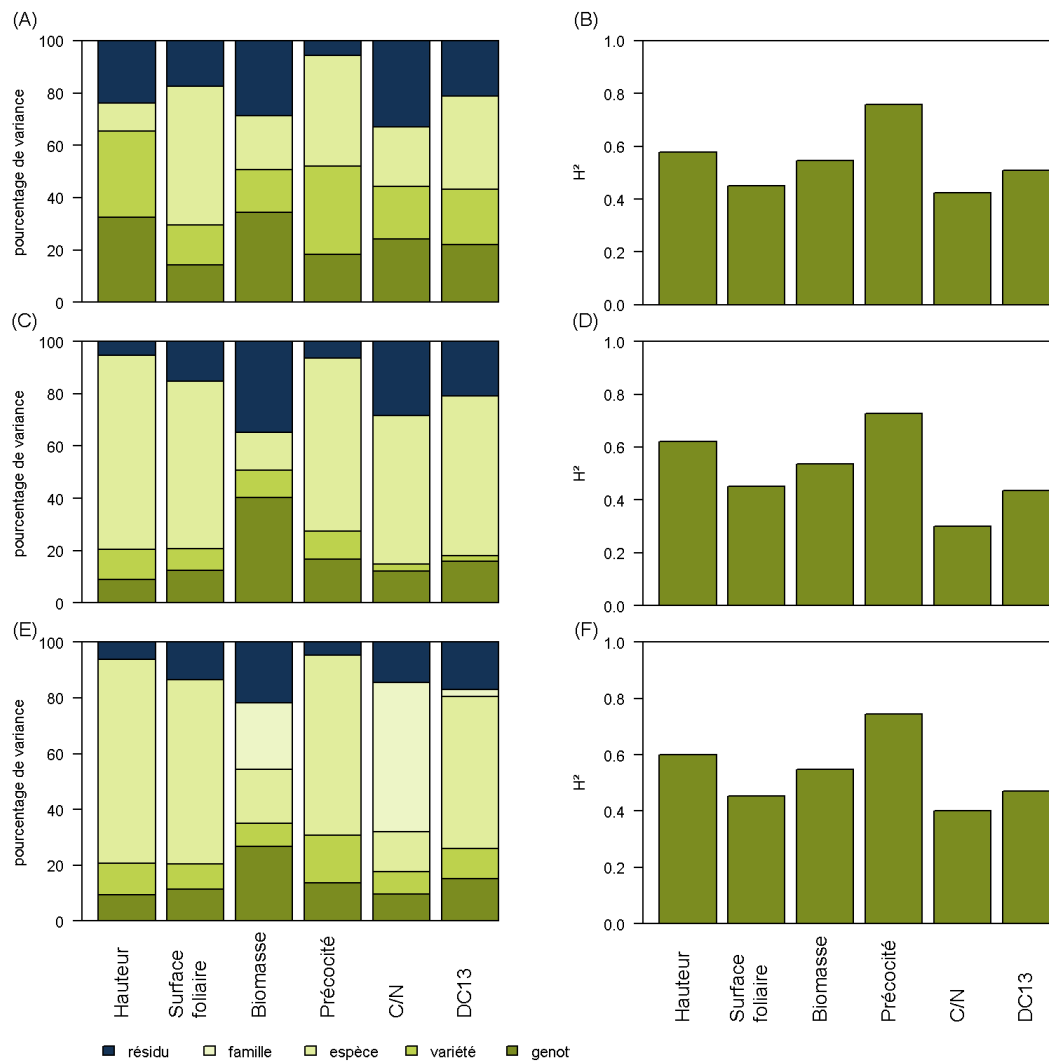


Figure 3.3 Décomposition de la variance (A, C, et E) et héritabilité (B, D, F) pour les six variables mesurées dans le dispositif pépinière. Cette décomposition de variance et le calcul de l'héritabilité a été conduite par famille d'espèces avec les graminées (A et B), par légumineuses (C et D) ou toutes espèce confondus (E et F).

qui a une héritabilité au sens large la plus importante après la précocité (Figure 3.3.B, D, et F). De plus, c'est l'un des seuls traits, avec la précocité, qui a une proportion importante de la variance génétique liée au facteur variété, en particulier pour les graminées, ce qui est un critère important dans la mesure où la diversité génétique est suivie et approchée dans notre dispositif par la diversité variétale.

3. Vérification d'installation des variétés dans les mélanges

Pour le mélange à diversité intermédiaire (M-4), six espèces montrent des différences entre les proportions attendues (semées) et réellement installées (Figure 3.4). Toutefois, les écarts de proportions ne sont pas très importants, exceptés pour *L. corniculatus* pour la variété « Leo ». Pour le mélange à forte diversité génétique (M-5), quatre espèces montrent des différences entre les proportions attendues et observées (Figure 3.4). Mais sur les 32 variétés semées pour ce mélange (toutes espèces confondues), seulement les variétés « Dac05G » pour *D. glomerata*, « PIS08 » pour *F. festuca*, et « Leo » pour *L. corniculatus* ne se sont pas correctement installées. La mauvaise installation de ces variétés pourrait être due à une faible capacité germinative ou bien d'une plus faible capacité compétitive à l'installation en présence d'un voisinage diversifié.

La vérification de l'installation des variétés dans les mélanges abritant de la variabilité génétique intraspécifique (M-4 et M-5) permet de mettre en évidence une certaine différence entre les proportions variétales semées et les proportions variétales installée. Mais cette différence ne biaise pas nos traitements puisque en termes de niveau de diversité génétique avec 18 variétés correctement installées sur les 19 pour le mélange à diversité intermédiaire (M-4) et 29 variétés installées sur 32 pour le mélange à forte diversité (M-5), le gradient de diversité génétique intraspécifique dont nous désirons tester les effets est maintenu et exploitable. Pour les mélanges dont les espèces contenaient une seule variété (M-1, M-2 et M-3) le contrôle de l'installation a été faite par simple vérification de la présence de l'espèce lors des mesures de biomasse.

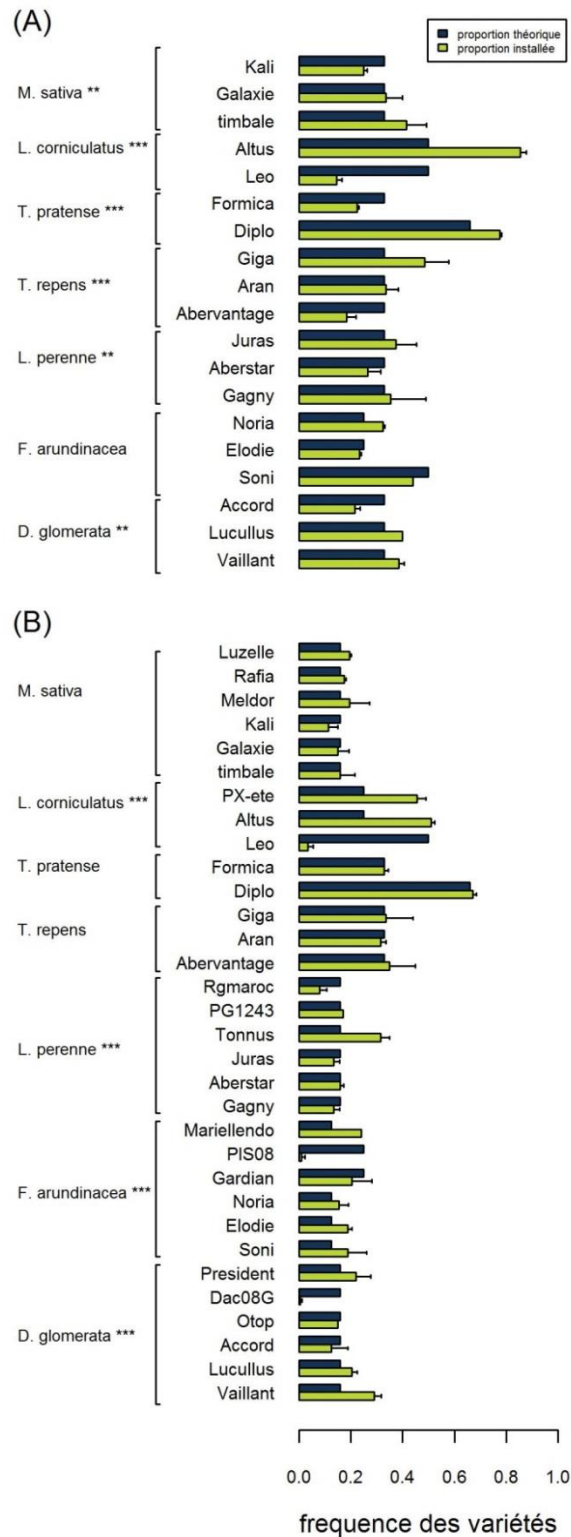


Figure 3.4 Proportion variétale théorique et installée pour chaque espèce et pour le mélange M-4 à diversité intermédiaire (A) et à forte diversité M-5 (B). Les étoiles en exposant des noms des espèces indiquent la significativité du test Z réalisé par espèces et par mélange, "*" indique une significativité avec $P < 0,05$, "***" $P < 0,01$ et "****" $P < 0,001$.

4. Caractérisation des conditions climatiques de la période d'expérimentation

L'intensité des déficits hydriques au cours de l'expérimentation a été estimée avec l'indice FSWC (chapitre 2) et la proportion de jours par an avec un indice inférieur à quatre seuils (de 10, 20, 30 et 40% correspondant respectivement à $P_{FSWC-10}$, $P_{FSWC-20}$, $P_{FSWC-30}$, et $P_{FSWC-40}$) a été calculé (40% est le seuil en dessous duquel les plantes est estimé en stress hydrique selon la FAO) (Figure 3.5). Sur la base des mesures faite sur la période d'expérimentation, il est possible de classer les années les unes par rapport aux autres. Les années 2 et 3 ont les valeurs $P_{FSWC-40}$ les moins élevées (Figure 3.5) et sont donc moins sèches que les années 1, 4 et 5. Afin de définir si un fort $P_{FSWC-40}$ indique nécessairement une année sèche sur cette période, il est nécessaire de calculer cet indice sur une échelle de temps plus large. Sur la figure 3.5, l'évolution de l'indice $P_{FSWC-40}$ se distribue de part et d'autre de la valeur moyenne calculée sur une période de 22 années (base de données CLIMATIK – INRA), indiquant des années plus sèches lorsque l'indice est supérieur à cette normale et des années plus humides lorsqu'il est inférieur. Au regard de cette moyenne, les années d'expérimentations 2 et 3 sont donc des années humides. La dernière année (année 5) $P_{FSWC-40}$ est au-dessus de la moyenne mettant en évidence une année sèche. Cependant il est important de vérifier comment se distribuent les niveaux d'intensité de déficit hydrique en regardant la valeur de l'indice par tranche de 10%. On peut voir que les années 4 et 5 ont des valeurs $P_{FSWC-10}$ les plus élevées sur cette période ce qui traduit clairement des épisodes de sécheresses plus intenses liés à une durée de stress hydrique plus longue. A noter le caractère non exceptionnel de ces années 4 et 5 qui semble être commun sur ce site sur les 22 années, contrairement aux années 2 et 3 avec un faible $P_{FSWC-10}$ et qui semblent être davantage exceptionnelles.

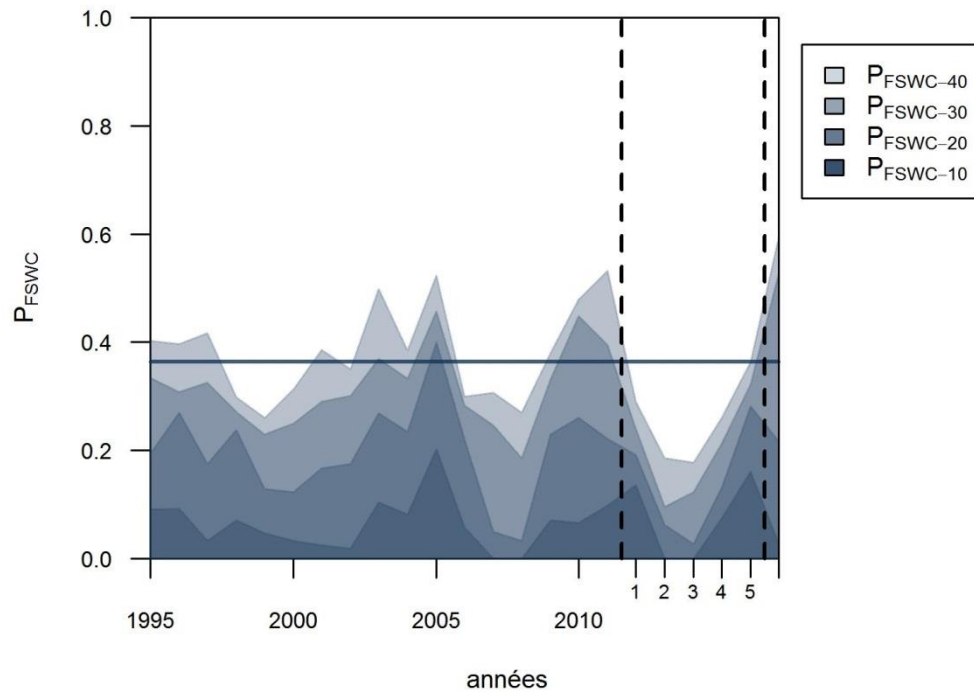


Figure 3.5 Proportion de jours avec un indice FSWC inférieur à quatre seuils différents (de 10, 20, 30 et 40% correspondant respectivement à $P_{\text{FSWC-10}}$, $P_{\text{FSWC-20}}$, $P_{\text{FSWC-30}}$, et $P_{\text{FSWC-40}}$), indiquant des intensités de déficit hydrique différent. La ligne bleu indique la moyenne de $P_{\text{FSWC-40}}$ (nombre de jours avec $\text{FSWC} < 40\%$) entre 1995 et 2017. Les lignes en pointillées délimites la période d'expérimentations, et les chiffre numérotée de 1 à 5 correspondent aux années d'expérimentation (de 2012 pour l'année 1 à 2016 pour l'année 5).

Chapitre 4 - Effet de la diversité génétique sur la production des communautés multispécifiques prairiales

Ce chapitre investit l'effet de la diversité génétique sur la production de 15 communautés multispécifiques prairiales installées par et chez un sélectionneur de plantes fourragères (dispositif microparcelles). Il examine entre autre la dynamique de la production de la biomasse totale et spécifique pendant cinq années d'expérimentation au regard des conditions climatiques, mais examine aussi la dynamique de l'équilibre d'abondance des espèces et sa relation potentielle avec les mécanismes de complémentarité. Ce chapitre rédigé sous forme d'article fait écho à notre hypothèse de travail H1 : L'augmentation de la diversité génétique augmente la capacité adaptative des espèces améliorant ainsi leur adaptation aux pressions sélectives hétérogènes au sein du mélange, ce qui se traduit par une meilleure stabilité de la production du mélange au cours du temps et une meilleure survie des espèces au sein du mélange d'espèces. Cet article est publié dans la revue *Annals of Botany*. L'article publié au format de la revue est présenté dans la section « Annexe ».

Increases of the benefits of species diversity in multi-species temporary grasslands using within-species diversity

Augmentation des bénéfices de la diversité des espèces dans les prairies temporaires multispécifiques avec la diversité intraspécifique

Julien Meilhac, Jean-Louis Durand, Vincent Beguier and Isabelle Litrico

RESUME

Les effets positifs de la diversité des espèces sur le fonctionnement et la production des écosystèmes ont été largement discutés dans la littérature. En agriculture, ces effets sont de plus en plus appliqués dans les cultures mixtes et en particulier dans les prairies temporaires. Bien que largement étudiés au niveau des espèces, les effets de l'augmentation de la diversité génétique au sein d'une espèce (c'est-à-dire la diversité intraspécifique) sur la productivité de cultures plurispécifiques ont été beaucoup moins investis. Néanmoins, la diversité génétique pourrait avoir des effets positifs importants sur les écosystèmes agricoles et influencer positivement la production et l'abondance des espèces dans les couvertures multispécifiques. Nous examinons ici les effets de la diversité génétique sur les prairies temporaires multi-espèces. A partir d'un contexte d'amélioration des plantes et d'une situation réelle, une étude de cas basée sur un dispositif mis en place par et chez un sélectionneur de plantes fourragères nous a permis d'analyser cinq mélanges semés ayant trois niveaux de diversité génétique (obtenus avec différents nombres de cultivars). Ceux-ci correspondaient à des niveaux faibles, moyens et élevés de diversité au sein d'une espèce. La production de biomasse annuelle totale et spécifique a été mesurée sur une période de cinq ans. Nous montrons un effet positif de la diversité génétique sur la production, sur la stabilité de la production et sur l'équilibre de l'abondance des espèces dans les mélanges au cours de la période de cinq ans. Les proportions légumineuses/graminées étaient mieux équilibrées avec la plus grande diversité intraspécifique. Ces résultats clés semblent trouver leur explication en termes dans le décalage des pics de production de biomasse des espèces au cours de la saison, ces changements conduisant à une complémentarité temporelle des espèces. Notre étude de cas démontre pour la première fois, dans des conditions réelles, un rôle majeur de la diversité génétique au sein d'une espèce sur la production, la stabilité et la composition en espèces des prairies temporaires. Ces résultats suggèrent que des avantages majeurs pourraient découler d'une augmentation de la diversité génétique dans les cultures multi-espèces. La diversité génétique peut être utile pour aider à relever les nouveaux défis de la diversification des cultures, en particulier dans les prairies plurispécifiques. La diversité génétique et la diversité des espèces pourraient constituer des leviers supplémentaires pour améliorer les cultures futures dans des systèmes diversifiés.

ABSTRACT

Background and Aims: The positive effects of species diversity on the functioning and production of ecosystems has been discussed widely in the literature. In agriculture, these effects are now being applied increasingly in mixed-species crops and particularly in temporary grasslands. Although extensively studied at species level, the effects of increased within-species genetic diversity (i.e. intra-specific diversity) on productivity in multispecies crops have been studied much less. Nevertheless, genetic diversity could have strong positive effects on agricultural ecosystems and positively influence production and species abundances in multispecies covers. We examine here the effects of genetic diversity on temporary multispecies grasslands.

Methods: From the perspective of plant breeders and in a real situation, study case with experiment at the breeder's site, we analyse five mixtures that were sown having three levels of genetic diversity (achieved using different numbers of cultivars). These corresponded to low, medium and high levels of within-species diversity. Total and species annual biomass production were measured over a five-year period.

Key results: We show a positive effect of genetic diversity on production, on production stability, and on the equilibrium of species abundances in the mixtures over the five-year period. The legume/grasses proportions were best balanced with the highest intra-specific diversity. These key results seem find their explanation in terms of shifts in the peaks of species biomass production during the season, these shifts leading to temporal species complementarity.

Conclusions: Our case study demonstrates for the first time in the real conditions, a major role of within-species genetic diversity on the production, stability and species composition of temporary grasslands. These results suggest that major benefits may arise from increases in genetic diversity in multi-species crops. Genetic diversity may be useful to help meeting new crop-diversification challenges and particularly within multispecies grasslands. Genetic and species diversity could represent additional levers for improving future crops in diversified systems.

Key words: cultivar and species mixtures, genetic diversity, production stability, species equilibrium, grass species, legume species

INTRODUCTION

Many ecological studies show positive effects of species diversity on ecosystem functioning (Loreau 1998; Gamfeldt, Hillebrand & Jonsson 2008). It is now well recognised that species diversity affects biomass production functions (Tilman, Wedin & Knops 1996; Hector *et al.* 1999; Tilman *et al.* 2001), ecosystem services (Hooper *et al.* 2005; Isbell *et al.* 2011; Finn *et al.* 2013) and the stability of ecosystem processes (Tilman, Reich & Knops 2006; Isbell, Polley & Wilsey 2009; Jiang & Pu 2009; Gross *et al.* 2014). In community ecology, the principal mechanism used to explain the positive effects of species diversity is the complementarity. It contributes to a diminution of competitive intensity between species promoting species niche difference and thus favours the abundance of each and their coexistence. Such complementarity may operate at a temporal level, for instance if the growths of two species are not in synchrony. Although widely described at species level, the effects of diversity at intra-specific level, i.e. genetic level, have scarcely been investigated in the multispecies crops. Notwithstanding, some studies have shown the importance of diversity at genetic level on plant multispecies cover (i.e. plant community) functioning (Whitlock *et al.* 2007; Prieto *et al.* 2015). Despite the high potential importance of this diversity level in multispecies crops (Prieto *et al.* 2015) and its significance in the breeding of plant species used in mixtures (Litrico & Violle 2015) in diversified agro-ecosystems, study of the effects of genetic diversity in multispecies crops is rather limited unlike those on the effects of genetic diversity in monospecies crops as noticed in Barot *et al.* (2017).

In temporary grasslands the complementarity concepts have been used for choosing the relevant species in multispecies grasslands, as using grasses and legumes. However, there is very little report to date of the experiments bringing knowledge to help with the choice of genetic diversity of each species within the species mixture. The goal of this paper is to provide, from a case study, information on the effect of genetic diversity on community functioning, particularly on biomass production and species abundance, and to link this effect with values for species growth synchrony.

Plant ecology contribution to crop science has increased in recent years. One of the challenges for agriculture in the future will be to couple the production aspects and the environmental aspects of agro-ecosystems (Dooley 2005) and to minimise conflict between these objectives

(Nemecek & Erzinger 2005). The use of multispecific crops, in particular with the use of legumes, is increasingly seen as a way of making productive systems sustainable. An increasing number of studies have emphasised the positive effects of species diversity in agro-ecosystems (Tilman *et al.* 2001; Hooper *et al.* 2005; Cardinale *et al.* 2012) and these favour diversification in agriculture. In the context of diversification of crops to increase the environmental sustainability of agriculture, sown multispecies grasslands are a major component (O'Mara 2012). These crops can play a number of positive roles in promoting ecosystem services in cropping systems. Thus they can affect: nitrogen economy (Weigelt *et al.* 2009; Gross *et al.* 2010), limit weed populations (Hector *et al.* 2001; Frankow-Lindberg 2012) and thus increase soil fertility (Garbeva *et al.* 2006) and so reduce the need for pesticides. An increasing proportion of temporary grasslands in cash-crop rotations could help secure forage production and hence livestock farming autonomy, especially with projected changes in climate with expected increases in incidence and severity of water deficit. Lastly, temporary grasslands could also have positive environmental outcomes (Soussana & Lemaire 2014; Kunrath *et al.* 2015) with their multispecies composition being important in assuring this multifunctional role (Weigelt *et al.* 2009). Temporary grasslands are frequently sown as species mixtures, and the inclusion of high intra-species diversity is possible. Their genetic diversity could influence the functioning of these crops (Prieto *et al.* 2015) to extents and in ways that have yet to be assessed. A better understanding of the effects of genetic diversity on community functioning could be useful for dealing with new challenges faced by agronomy associated with diversification. In particular, breeders need to provide farmers with forage plants cultivars designed for mixtures and taking the plant interactions into account.

Rare plant-breeders have undertaken trials to test the genetic variability of species used within mixtures in sown grasslands on mixture production over time. Here, we take advantage on such real situation from breeder's experiment to examine the effects of genetic diversity on temporary multispecies grasslands in the particular case of a trial set up by a plant breeder to determine the best mixture which could be proposed to farmers. First, we analyse the effects of genetic diversity on biomass production of the communities and species abundances in grassland communities monitored over five years, then we examine whether there has been a genetic-diversity effect on species growth synchrony and any link with biomass production and species abundances.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

In September 2011, Jouffray Drillaud's plant breeder sown (in real conditions) a total of 15 mixtures (i.e. multispecies grasslands) in micro plots (5×1.3 m) at the Jouffray Drillaud station, Saint Sauvant, France (46° 21' 37" North, 0° 03' 25" East). This area is an oceanic temperate zone (mean annual temperature was 14°C during experiment period) with wet winters and medium-dry summers. Micro plots were exposed to the local climate – temperate with an average annual rainfall of 730 mm. No irrigation was added during the experimental period. The soil is a Cambisol with a silty-loamy texture in the surface horizon and clay in the subsoil horizon (Hubert 2008) (Supplementary Data Fig. S1). The organic matter concentration varied from 1.9 %, approximately in the 0 to 30 cm soil layer down to 0.4 %, approximately at 135 cm depth, approximately with only traces of free CaCO₃. The field capacity of the site was close to 150 mm (Kunrath *et al.* 2015). To quantify the variation between seasons and between years of the water deficit intensity during regrowth, two indices were computed. A simple daily soil-water balance was computed which considered a single soil reservoir of 150 mm depth at maximum soil-water availability (SMWA) simplified from Kunrath *et al.* (2015). All mixtures were considered to have the same SMWA and the same daily evapotranspiration rate. The first index was the fraction of soil water content (FSWC) averaged over the whole regrowth period. The second index was computed following the FAO estimate of threshold values for grassland species and computing the proportion of days between two cuts when the FSWC was lower than 40%. Rainfall, global solar irradiance, air temperature and humidity and wind at two meters height were recorded daily at an automatic weather station belonging to the INRA network that is located two kilometres from the experimental site. The related database CLIMATIK provided the certified data and the potential evapotranspiration was calculated using the Penman equation calibrated for an irrigated tall fescue turf.

Each micro plot contained a single seed mixture sown in eight, 5-m-long rows. Each seed mixture contained seven species; all species are in common use in temporary grasslands. The mixtures contained three grass species (*Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*) and four legume species (*Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus* and *Medicago sativa*). The seed mixture sown in each micro plot had the same total weight of

Table 1. Proportions of species and cultivars sown for mixtures. The proportion is given as a percentage of seed mass. Each cultivars used is described according to five agronomic traits. Each trait is described according to three levels: low (+), medium (++), high (+++). A cultivar code was assigned for cultivars no registered (*D. glomerata*, *F. arundinacea*, and *L. perenne*).

Species	Cutlivar	Proportions (seed mass)					Description of cultivars			
		M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Yield	height	Leaf area	phenology
<i>Dactylis glomerata</i>		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Vaillant	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	+
	Lucullus	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	++	++
	Accord	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	+
	Otop	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	++	+++	++
	E1V5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	+	+	+	+++
	President	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	++
<i>Festuca arundinacea</i>		0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	Soni	1.000	0.000	0.000	0.500	0.125	++	++	++	+++
	Elodie	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+++	++	++	+++
	Noria	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+	++	++	++
	Gardian	0.000	1.000	0.000	0.000	0.250	+++	+++	+++	+
	E3V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	+	+	+	++
	Mariellen do	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	++	++	++	+++
<i>Lolium perenne</i>		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Gagny	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	++
	Aberstar	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	++	+	++
	Juras	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+	++	+++
	Tonnus	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	+
	E6V5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	++	++	++
	Rgmaroc	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	+	+
<i>Trifolium repens</i>		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Abervant age	1.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	+	+	++
	Aran	0.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	++	++	++
	Giga	0.000	1.000	0.000	0.333	0.333	++	+++	+++	+++
<i>Trifolium pratense</i>		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Diplo	1.000	1.000	0.000	0.666	0.666	++	++	++	++
	Formica	0.000	0.000	1.000	0.333	0.333	++	+	+	++
<i>Lotus corniculatus</i>		0.078	0.078	0.078	0.078	0.078				
	Leo	1.000	0.000	0.000	0.500	0.500	++	+	+	++
	Altus	0.000	1.000	0.000	0.500	0.250	++	+++	+++	+
	PX-ete	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	++	+	+++	++
<i>Medicago sativa</i>		0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	timbale	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	+++	++
	Galaxie	0.000	1.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	++	++
	Kali	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	++
	Meldor	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Rafia	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Luzelle	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+	+	++

seed and the same species proportions (Table 1). The genetic diversity of each species (controlled by cultivar number) varied between the seed mixtures. The cultivars of each species were chosen by breeder to be commonly used in agriculture, available in French catalogue, and to be contrasted for phenologies, aerial architectures and biomass productions (Table 1). This situation could provide a good opportunity for the expression of complementarity mechanism between species and cultivars. For each species up to six cultivars were used, except for *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* and *Lotus corniculatus* which have little available cultivars; Three of the seed mixtures contained only one cultivar per species (M-1, M-2 and M-3), one mixture contained two to three cultivars per species (M-4) and one mixture contained two to six cultivars per species (M-5) (Table 1). The five seed mixtures were replicated three times (from the same seed lots) and were randomly distributed in three blocks. There were a total of 15 plots (3×5). No nitrogen fertiliser was applied throughout the experimental period. This limited the N resources to soil mineralisation of organic N and to fixation of atmospheric N by legumes.

Total and species biomass

For the five years of the experiment (2012 to 2016) the whole canopy of each plot was harvested three times each year (spring, summer and autumn). All plots were cut at the same time at 5 cm above ground level. Harvest date was decided based on a visual assessment of the aboveground standing biomass. Fresh mass was weighed for each harvest from each plot. From a sample, fresh mass was weighed and dried to constant weight at 60°C for 72 h. The dry mass of each harvest from each plot was estimated from the ratio between fresh and dry mass of sample. At each harvest, four quadrats (0.33 x 0.15 m) were placed randomly in each plot and the species biomasses were separated. These samples were dried and weighed to measure the proportion of each species in the total dry biomass. This estimation of species biomass, that was an arduous task, was conducted on two of the three blocks for the years one to three and on all blocks for years four and five, which were the moment when the difference between species abundances begin important. For each plot and each year, the annual total biomass (for all species) and annual species biomass (for each species) were calculated by summation of the three biomass measurements (spring, summer and autumn). The inter-annual coefficients of variation for annual total biomass were calculated as:

$$CV_{inter - annual} = \frac{\sigma'}{\mu'}$$

Where σ' is standard deviation of annual biomass between years and μ' is the mean annual biomass over five years. The coefficients of variation were calculated for each plot.

Evenness index

To define the species abundance equilibrium in each mixture, we adapted the Pielou evenness index (Pielou 1966), which is based on the Shannon index (Shannon & Weaver 1963). Unlike the indices of both Pielou and Shannon-Weaver which are based on the *numbers* of individuals in each species, the proportion of species in our evenness index (J') is based on the biomass of each species in the plot. First, the diversity index (H) was computed as in Pielou (1966) but with species biomass proportions that corresponds to species abundance

$$H = - \sum_{i=1}^S b_i * \log b_i$$

where b_i represents the biomass proportion of species i . In this equation, the maximum value taken by H is when the distribution between species abundance is perfect. Under these conditions, $H_{max} = \log S$, where S represents the number of species. The value 0 was assigned to extinct species. Evenness index (J') is then defined as:

$$J' = H/H_{max}$$

With values of J' varying from 0 to 1. For this study, S was always the total number of species involved and this was fixed in our experiment - seven species. The inter-annual coefficient of variation of evenness index (J') was calculated for each plot as:

$$CV_p = \frac{\sigma_p}{\mu_p}$$

where σ_p is the standard deviation of evenness index between years and μ_p the index mean over five years.

Species synchrony

Table 2. Analysis of variance from model 2 to explain annual total biomass.

Effect	D.f	F value	P-value	percentage explained*
Mixture	4	6.14	0.01	4
Block	2	16.86	<0.01	5.5
Drought	1	210.54	<0.001	23.9
Age	1	355.104	<0.001	40.4
Mixture : drought	4	2.87	0.03	1.3
Mixture : age	4	2.87	0.03	1.3
Drought :age	1	147.05	<0.001	16.7

* Explained percentage from each factor effect

The species synchrony index (Loreau & de Mazancourt 2008) was calculated for each year and for each plot. The species synchrony index measures the level of synchrony in the aboveground growth (biomass) peak of species, and is used frequently in ecology as a mechanism to explain plant community stability. Synchrony index (ψ_j) of plot j was calculated as:

$$\psi_j = \frac{\sigma_j^2}{(\sum_{i=1}^S \sigma_{ij})^2}$$

where σ_j^2 is the variance of total biomass in plot j over subsequent seasonal measurements (three measures per year, in spring, summer and autumn) and σ_{ij} is the standard deviation of the biomass of species i in mixture j over subsequent seasonal measurements. The value $\psi = 1$ indicates that the species in the community are perfectly synchronous in their growth in the plot. For the value $\psi = 0$ the growths of the species in the plot are totally asynchronous.

Statistical analyses

Index calculation and statistical analyses were carried out each year using R software (v. 3.2.4, R Development Core Team, 2016). The Shannon Weaver index was calculated with the Vegan package (Oksanen *et al.* 2016).

The mixture effect was tested on means of annual total biomass, annual species biomass, evenness index, synchrony index, inter-annual coefficients of variation of total biomass and inter-annual coefficients of variation of evenness index. The normality and the homoscedasticity of residuals were checked using Shapiro and Bartlett tests. Analysis of variance (ANOVA) was conducted with the AOV function in R. Our design was balanced, with mixture and block as fixed factors according to the following model (model 1):

$$Y_{klm} = \mu + \alpha_k + \beta_l + \varepsilon_{klm}$$

where Y_{klm} is the variable explained, α_k the fixed mixture effect, β_l the fixed block effect and ε_{klm} is the model error. Tukey tests (multiple comparisons) were carried out when mixture effect was significant, for two-by-two comparison of mixtures (TuKeyHSD function). Correlation was assessed between the evenness index and the synchrony index, between the

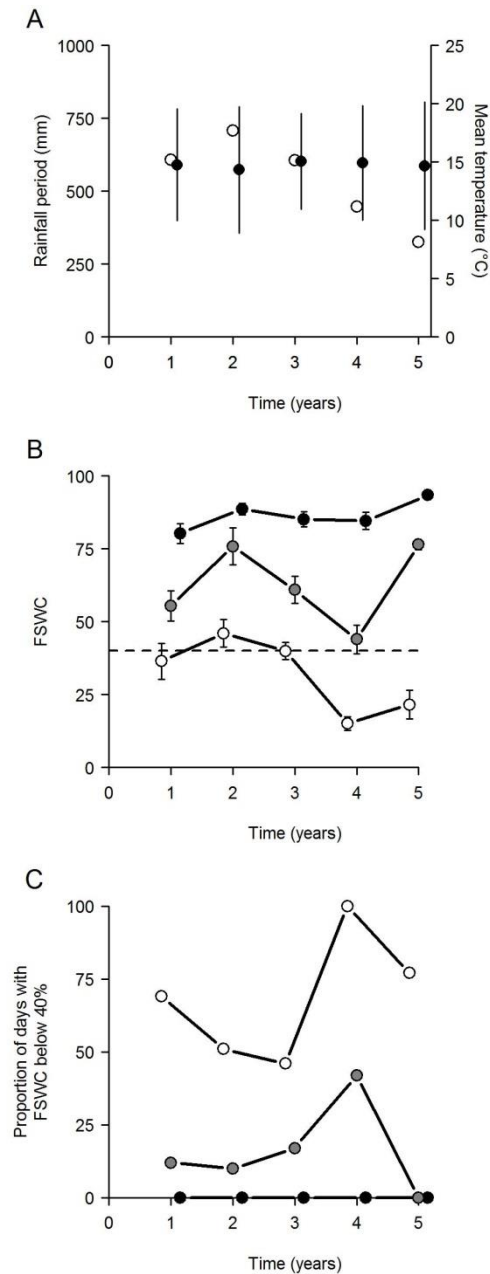


Fig. 1. Climatic data. (A) Rainfall during the March to October measurement periods and mean temperature per year (values are means $\pm$ standard deviation) from the ‘climatik’ database (Lusignan INRA station). (B) Fraction of soil water content averaged (FSWC) during regrowth for each year, black points represent the value of useful reserve for the first cut, grey points the second cut and the white points the third cut. The dotted line represents a threshold of 40% below which grassland species are considered to be under water stress (FAO estimate of threshold values for grasslands). Values are means $\pm$ confidence interval. (C) Proportion of days during regrowth where FSWC index was lower than 40% for each year. Black points represent the value of FSWC for the first cut, grey points the second cut and the white points the third cut.

evenness index and total annual biomass and between the synchrony index and total annual biomass with a regression test (lm function). From the climatic data, we observed (Fig. 1) a stronger drought on the two last years, then in order to disentangle the effects of the age of the grassland and the drought, that be expected on total annual biomass, we conducted the repeated measures analysis of variance with the AOV function in R with error term. Our design was balanced, with mixture, block, drought and age as fixed factors and individuals was random factor according to the following model (Model 2):

$$Y_{jklm} = \mu + \alpha_{ik} + \beta_l + \tau_m + \gamma_{lm} + (\alpha\tau)_{km} + (\alpha\gamma)_{km} + (\tau\gamma)_m + u_j + \varepsilon_{jklm}$$

where j , k , l and m have the same meaning as in the previous equations, Y_{jklm} is the variable explained, α_k the fixed mixture effect, β_l the fixed block effect, [corresponding to number of days (Julian day) per year that FSWC was <40 %] τ_m , γ_m (the number of years since sowing) is the covariable introduced in the model, u_j is the within subject variability (error term in the aov function) linked to plot j (plot identity) and ε_{jklm} is the model error. $(\alpha\tau)_{km}$ is the interaction between mixture factor and the drought covariable, $(\alpha\gamma)_{km}$ is the interaction between mixture effect and the age covariable, and $(\tau\gamma)_m$ is the interaction between drought and age. Percentage explained by each factor was computed as following:

$$\theta_h = \frac{SC_h}{SC_t} \times 100$$

Where θ_h is the percentage explained by the factor h , SC_h is the sum of squares of factor h and SC_t is the total sum of squares of the model.

RESULTS

Total and species annual biomass

Annual total biomass production (all species) changed over the five-year period of the experiment (Fig. 2A). Values lay in the range 600 to 1600 g.m⁻², with an increase between year 1 and year 2, and then a decline to year 5. This trend was much the same for all mixtures. The rainfall events during the growth period and the soil relative water content (FSWC) followed much the same pattern during the five years (Fig. 1A and 1B). Total biomass was affected by both drought intensity (day number per year where FSWC was lower than 40%) and mixture age (Table 2). Drought affected significantly total biomass change over years

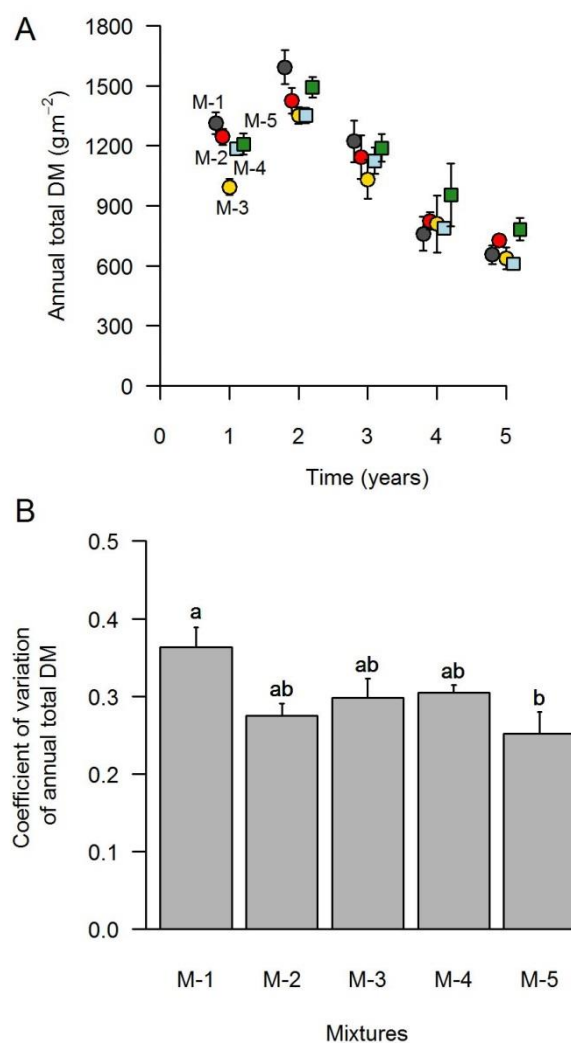


Fig. 2. Production and variation of total biomass. (A) Annual total biomass of five mixtures (M-1 to M-5). M-1 (black points), M-2 (red points), M-3 (yellow points), M-4 (blue squares) and M-5 (green squares). Values are means $\pm$ standard errors. (B) Mean inter-annual coefficients of variation of annual total biomass per mixture. Values are means $\pm$ standard errors. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

(representing 24% of variation) with cumulative effect of mixture age (representing 40% of variation). In the first, second and fifth years, the annual total biomass (all species) showed significant differences between mixtures (Table 3; Fig. 2A). The mixture M-5, with highest genetic diversity, was among the most productive (1200 to 1600 g.m⁻²) in the two first years and exhibited the highest productivity in the final year (around 800 g.m⁻²; Fig. 2A). Furthermore, its inter-annual coefficient of variation of total biomass ($F_{4,2}=4.26$, $P<0.05$) (Fig. 2B) was lower than the more productive of low diversity mixtures (M-1) and tend to be the lowest measured amongst all mixtures.

The species composition of the mixtures showed a significant change for several species and over several years (Table 3). Within all mixtures, the abundance of *F. arundinaceae* and *D. glomerata* initially exhibited a lower proportion in the biomass than *L. perenne* and *Trifolium sp.* while that situation was fully reversed in year 5 (Fig. 3A and B). Until year 4, the differences between mixtures were not explained by their genetic diversities. However the mixture with greatest genetic diversity (M-5) had a significantly higher species abundance representation (Fig. 3B, Table 3). Our results show that genetic diversity of species can influence the contribution of species to the biomass in the mixture over time. This was also obvious for the grass-legume biomass (Figs 3A and B) and was confirmed by the species evenness result (see next section).

Species evenness and species synchrony indexes

Among the more productive mixture, only in M-5 the evenness index remained almost unchanged, with highest values, throughout the five-year experiment (Fig. 4A). Hence, the inter-annual CV of the evenness index for the mixture M-5 was among the lowest (Fig. 4B). The species evenness in M-5 was significantly higher (near 0.8) than any other in the final year of measurement (Fig. 4A and Table 3). These results emphasise the influence of species genetic diversity on equilibrium of species abundances in a mixture in the field over time. Finally, when drought effect was removed (residuals of models with the number of days where FSWC index was lower than 40% as fixed factor), a correlation was maintained ($R^2=0.20$, $P<0.001$) between evenness index and total annual biomass (Fig. 4C).

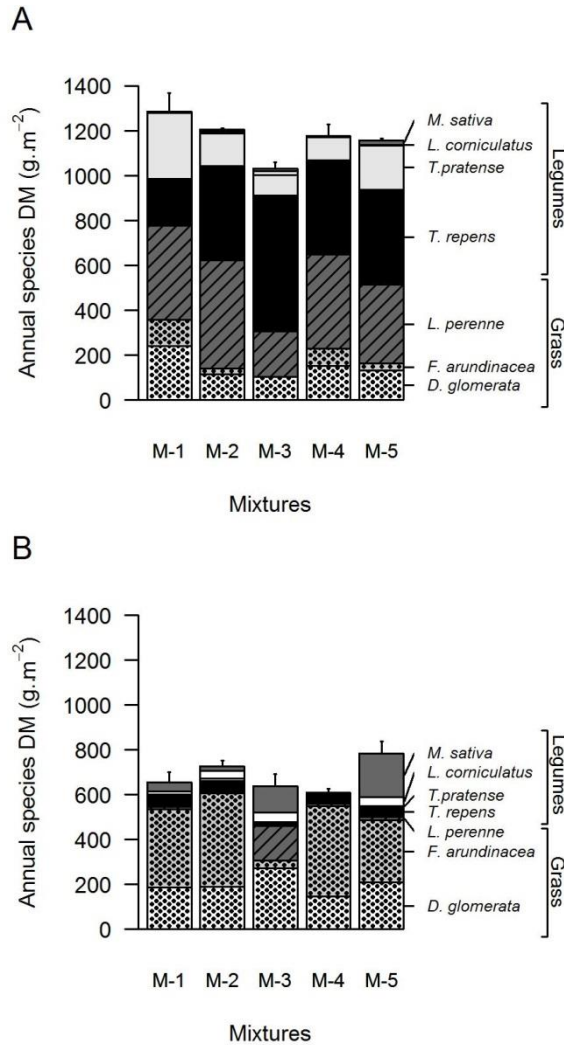


Fig. 3. Annual species biomass. (A) Mean of annual species biomass of each mixture for the first year of the experiment with *Dactylis glomerata* (white with black dots), *Festuca arundinacea* (light grey with black dots), *Lolium perenne* (dark grey hatched), *Trifolium repens* (black), *Trifolium pratense* (light grey), *Lotus corniculatus* (white) and *Medicago sativa* (dark grey). Values are means $\pm$ standard errors. (B) Mean of annual species biomass of each mixture for the fifth year of the experiment with *Dactylis glomerata* (white with black dots), *Festuca arundinacea* (light grey with black dots), *Lolium perenne* (dark grey hatched), *Trifolium repens* (black), *Trifolium pratense* (light grey), *Lotus corniculatus* (white) and *Medicago sativa* (dark grey). Values are means $\pm$ standard errors. (C) Mean of annual grass and legume biomass of each mixture for the first year of the experiment with grass species in light grey and legume species in dark grey. Values are means $\pm$ standard errors. (D) Mean of annual grass and legume biomass of each mixture for the fifth year of the experiment with grass species in light grey and legume species in dark grey. Values are means $\pm$ standard errors.

The synchrony index varied between approximately 0.2 and 0.75 in year 4 and between 0.35 and 0.75 in year 5. The mixture effect on synchrony index was significant in year 4 (Table 3), while the synchrony value for M-5 was the weakest. A similar but non-significant trend was found in year 5. Finally, there was a negative correlation ($R^2=0.38$, $P<0.001$) between the evenness index and the synchrony index in year 4 and year 5 (Fig. 4D).

DISCUSSION

As expected, the dynamics of biomass production over the years changed with increasing grassland age (Hopkins *et al.* 1995). Drought intensity affected total biomass over years with cumulative effect of mixture age. Although the water deficit intensity may have differed slightly between mixtures, the mixture with the highest species genetic diversity shown the highest productivities the last years after the cumulative effects of the grassland age and drought, and with the lowest coefficients of variation. Our results show not only an effect of genetic diversity on the biomass production of mixture but also demonstrate that the stability of biomass production tends to increase with high genetic diversity. This finding is consistent with that from a recent study using grassland micro-plots in boxes of artificial soil exposed to drought (Prieto *et al.* 2015). It also supports ecological hypothesis that is diversity is a source of community stability (Gross *et al.* 2014). One novel result of our study is the positive effect of genetic diversity on the balance of species abundance over time in crops. The genetic diversity of the various species constituting a community affects the species proportions. The results, on both stability of biomass production and on species evenness, for the mixture M-4 which had intermediate genetic diversity were not intermediate as might have been expected. This may be explained by it having a too-low species genetic diversity to obtain a significant genetic-diversity effect. A minimum value of genetic diversity may be required to significantly raise the potential for adapted/ better genotypes, i.e. to significantly raise the likelihood that the adapted/better cultivar is present. Indeed, the effects of the identity of the cultivars might be entangled with the effects of the increasing genetic diversity and the results of medium diversity mixture may be explained by the absence of some cultivars. But, one of our key results shows the negative relationship between the evenness index and the synchronicity, that suggests temporal complementarity between species driven by high genetic diversity. This result is in according with study of Prieto *et al.* (2015).

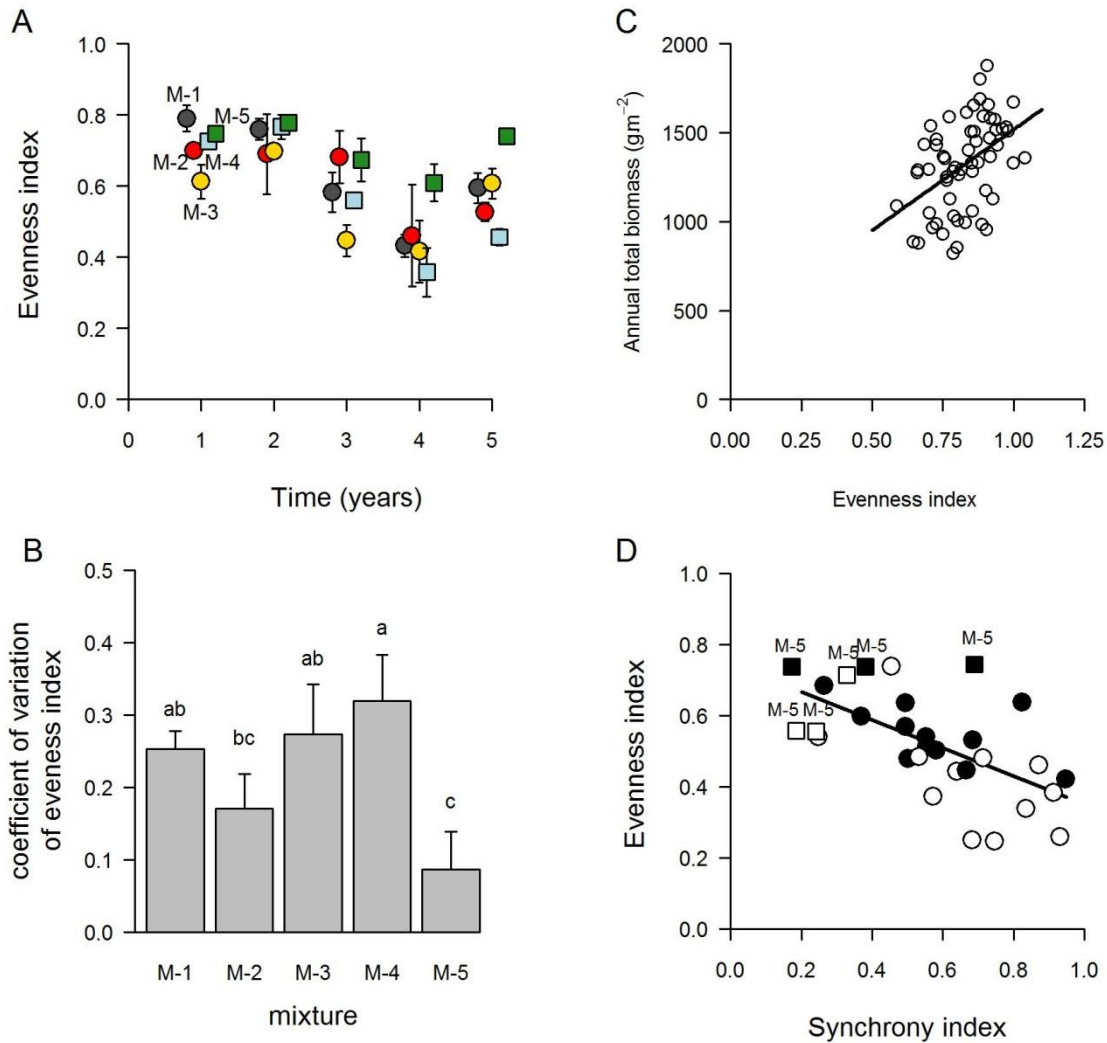


Fig. 4. Equilibrium and synchrony level of species. (A) Equilibrium species abundances estimated from yearly evenness index for the five mixtures (M-1 to M-5). M-1 (black points), M-2 (red points), M-3 (yellow points), M-4 (blue squares) and M-5 (green squares). (B) Inter-annual coefficient of variation of the evenness index. Values are means $\pm$ standard errors. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$). (C) Annual total biomass as a function evenness index of for the five years of the experiment with drought effect removed (residuals of models with the number of days where FSWC index was lower than 40% as fixed factor). The regression through both sets of points is significant ($P < 0.001$) with $R^2 = 0.20$. (D) Synchrony index as a function of evenness index for the fourth year (white points) and fifth year (black points). The square points correspond to the mixture M-5 and the round points correspond to the other mixtures. The regression through both sets of points is significant ($P < 0.001$) with $R^2 = 0.38$.

For more sustainable, productive and persistent sown grasslands in crop rotations, it is important to determine the most effective level of genetic diversity of species. It is also important to identify the genetic traits that should be most diverse. In particular these traits should be those most involved in species complementarity (Litraco & Violle 2015; Wagg *et al.* 2017). In our experiment, the trait differences that breeder selected in the cultivars focused on their phenologies and their leaf traits (Table 1). In further studies it would be interesting to test the effects of diversity in a number of other traits and other species. In a plant community, differentiation of species ecological niches (Macarthur & Levins 1967) through differentiation of traits, should allow species to reduce the negative effects of plant interaction (i.e. competition) by promoting species complementarity. The variations in evenness and species abundance suggest traits linked to growth seasonality (the timing of biomass peaks during the year) and therefore phenology could be important considerations. At least a certain level of diversification within species is recommended. Asynchrony of peak biomass between species leads to temporal niche differentiation of growth (Prieto *et al.* 2015). This contributes to the species diversity effect on production stability and ecosystem functioning. The relation between genetic diversity and asynchrony of peak biomass between species under artificial conditions was recently highlighted by Prieto *et al.* (2015). Our results support the potential effect of genetic diversity, and demonstrate it for the first time in the field. Selected genotypes within species, could be complementary for growth relative to genotypes within other species, and thus reduce competition and increase complementarity between species by shifting the timing of biomass peaks. Species genetic diversity may increase the likelihood of genotypes being present that are adapted to the conditions generated by other species and their associated selection pressures. Genotype-level selection could lead to species-level complementarity effects. Our study displays a negative correlation between peak biomass synchrony among species, and equilibrium species abundance. This fosters the growth of asynchronous species, decreases competition between species, and favours the growth of each species. The equilibrium of species abundance seems to improve total biomass production over the year, probably through species competition equilibrium.

Many studies to date have focused on species diversity effects within crops. However, the genetic diversity effect on the production, stability and species composition of multispecies crops, has been largely overlooked. Genetic diversity could have a nested effect along with species diversity on the performance of species mixtures (Litraco and Huyghe, 2018). Our

Table 3. Analysis of variance from model M1 to explain (a) annual total biomass, (b to h) annual species biomass for each species, indices of (i) evenness and (j) synchrony.

	effect	Year 1			Year 2			Year 3			Year 4			Year 5		
		D.f	F value	P-value	D.f	F value	P-value	D.f	F value	P-value	D.f	F value	P-value	D.f	F value	P-value
(a) Annual total biomass	mixture	4	7.01	0.01	4	14.11	<0.01	4	1.28	0.36	4	1.08	0.43	4	4.16	0.04
	block	2	0.95	0.43	2	19.02	<0.001	2	6.15	0.02	2	6.52	0.02	2	3.64	0.08
(b) <i>Dactylis glomerata</i> biomass	mixture	4	5.53	0.06	4	0.08	0.98	4	2.05	0.25	4	1.71	0.24	4	3.14	0.08
	block	1	0.35	0.59	1	1.34	0.31	1	1.04	0.37	2	8.05	0.01	2	13.25	<0.01
(c) <i>Festuca arundinacea</i> biomass	mixture	4	6.80	<0.05	4	47.46	<0.01	4	1.95	0.27	4	5.58	0.02	4	23.87	<0.01
	block	1	2.79	0.17	1	0.30	0.61	1	0.50	0.52	2	0.60	0.57	2	0.17	0.85
(d) <i>Lolium perenne</i> biomass	mixture	4	10.81	0.02	4	4.44	0.09	4	6.93	0.04	4	1.59	0.27	4	2.74	0.10
	block	1	4.48	0.10	1	6.09	0.07	1	0.69	0.45	2	1.33	0.32	2	0.62	0.56
(e) <i>Trifolium repens</i> biomass	mixture	4	81.77	<0.01	4	4.26	0.09	4	0.69	0.63	4	0.67	0.63	4	2.02	0.18
	block	1	21.88	0.01	1	1.80	0.25	1	3.49	0.14	2	4.68	0.05	2	16.26	<0.01
(f) <i>Trifolium pratense</i> biomass	mixture	4	8.12	0.03	4	2.25	0.23	4	1.08	0.47	4	0.90	0.51	4	0.35	0.84
	block	1	0.78	0.43	1	0.94	0.39	1	1.74	0.26	2	1.37	0.31	2	0.49	0.63
(g) <i>Lotus corniculatus</i> biomass	mixture	4	4.69	0.08	4	3.23	0.14	4	1.07	0.48	4	4.99	0.03	4	0.98	0.47
	block	1	1.92	0.24	1	3.62	0.13	1	0.72	0.44	2	2.54	0.14	2	0.16	0.86
(h) <i>Medicago sativa</i> biomass	mixture	4	14.90	0.01	4	1.06	0.48	4	1.33	0.40	4	5.31	0.02	4	2.27	0.15
	block	1	7.98	0.05	1	3.70	0.13	1	1.97	0.23	2	1.36	0.31	2	1.49	0.28
(i) Evenness index	mixture	4	4.61	0.08	4	0.74	0.61	4	3.81	0.11	4	2.43	0.13	4	22.97	<0.001
	block	1	0.01	0.93	1	2.45	0.19	1	1.83	0.25	2	6.11	0.03	2	5.92	0.03
(j) synchronous index	mixture	4	1.43	0.36	4	0.66	0.65	4	2.35	0.21	4	4.08	0.04	4	1.59	0.27
	block	1	0.42	0.55	1	0.77	0.43	1	0.01	0.92	2	3.42	0.08	2	0.38	0.70

results are based on a particular set of species, of cultivars and of environmental conditions. It remains for our findings to be confirmed for other plant materials and environments through similarly structured experiments. Nevertheless, our results are in broad agreement with the few studies that have investigated the effects of species genetic diversity on plant communities (Whitlock *et al.* 2007; Prieto *et al.* 2015). Here, we increase our knowledge of the mechanisms underlying observed ecological effects and we suggest the hypothesis that ecological mechanisms, such as complementarity, could depend on selection at the genetic level. Over time, the genetic diversity of a species in a mixture should ensure the presence of genotypes adapted to the selection pressures from the other species in the mixture. In this way, genetic diversity should lead to essential complementarity between species, improving biomass production and species equilibrium stabilities in multispecies crops.

CONCLUSION

This study has significance to areas of agriculture and agroecology where crop diversification is required. The high genetic diversity of the individual species in a multispecies mixture should raise the biomass production and the stability of species mixtures. Such stabilities are important in agriculture to ensure enduring production and quality (Sturludottir *et al.* 2014). The quality of forage is influenced by species composition especially when legumes are included (Deak *et al.* 2007). This study shows for the first time, the importance of genetic diversity obtained through mixing of cultivars, in improving the effects of species mixtures in temporary grasslands. Our results suggest temporal complementarity may be a very good way to optimise grassland functioning, as well as suggesting a target for the composition of seed mixtures for breeders. This study also contributes to the discussion of the need to include genetic diversity in breeding programs of cultivars intended for multispecies crops and suggests ways in which this may help us meet the challenges faced by modern agriculture (Litrice & Violle 2015).

SUPPLEMENTARY DATA

Figure S1. Soil texture as a function of soil depth

Figure S2. Cumulative annual total biomass

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the URP3F technical team and particularly Dominique Dénoue and Brigitte Bonneau who provided important experimental assistance. We also thank the Jouffray Drillaud technical team that conducted the experiment. Finally we thank two anonymous referees for their relevant comments on our work. The Agence Nationale de la Recherche, France (PRAISE, ANR-13- ADAP-0015) co-funded this work. The PhD grant of Julien Meilhac was supported by the Region Poitou-Charente and INRA (BAP department and EcoServ Metaprogram).

CITED

Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.C., Le Roux, X., Niboyet, A. & Porcher, E. (2017) Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, 20.

Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S. & Naeem, S. (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486, 59-67.

Deak, A., Hall, M.H., Sanderson, M.A. & Archibald, D.D. (2007) Production and nutritive value of grazed simple and complex forage mixtures. *Agronomy Journal*, 99, 814-821.

Dooley, E.E. (2005) Millennium ecosystem assessment. *Environmental Health Perspectives*, 113, A591-A591.

Finn, J.A., Kirwan, L., Connolly, J., Sebastia, M.T., Helgadottir, A., Baadshaug, O.H., Belanger, G., Black, A., Brophy, C., Collins, R.P., Cop, J., Dalmanndottir, S., Delgado, I., Elgersma, A., Fothergill, M., Frankow-Lindberg, B.E., Ghesquiere, A., Golinska, B., Golinski, P., Grieu, P., Gustavsson, A.M., Hoglind, M., Huguenin-Elie, O., Jorgensen, M., Kadziulienė, Z., Kurki, P., Llurba, R., Lunnan, T., Porqueddu, C., Suter, M., Thumm, U. & Luscher, A. (2013) Ecosystem function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: a 3-year continental-scale field experiment. *Journal of Applied Ecology*, 50, 365-375.

Frankow-Lindberg, B.E. (2012) Grassland plant species diversity decreases invasion by increasing resource use. *Oecologia*, 169, 793-802.

Gamfeldt, L., Hillebrand, H. & Jonsson, P.R. (2008) Multiple functions increase the importance of biodiversity for overall ecosystem functioning. *Ecology*, 89, 1223-1231.

Garbeva, P., Postma, J., van Veen, J.A. & van Elsas, J.D. (2006) Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology*, 8, 233-246.

Gross, K., Cardinale, B.J., Fox, J.W., Gonzalez, A., Loreau, M., Polley, H.W., Reich, P.B. & van Ruijven, J. (2014) Species Richness and the Temporal Stability of Biomass Production: A New Analysis of Recent Biodiversity Experiments. *American Naturalist*, 183, 1-12.

Gross, N., Liancourt, P., Choler, P., Suding, K.N. & Lavorel, S. (2010) Strain and vegetation effects on local limiting resources explain the outcomes of biotic interactions. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, 12, 9-19.

Hector, A., Dobson, K., Minns, A., Bazeley-White, E. & Lawton, J.H. (2001) Community diversity and invasion resistance: An experimental test in a grassland ecosystem and a review of comparable studies. *Ecological Research*, 16, 819-831.

Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Hogberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Korner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.D., Siamantziouras, A.S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S. & Lawton, J.H. (1999) Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science*, 286, 1123-1127.

Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J. & Wardle, D.A. (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3-35.

Hopkins, A., Murray, P.J., Bowling, P.J., Rook, A.J. & Johnson, J. (1995) Productivity and nitrogen uptake of aging and newly sown swards of perennial ryegrass (*Lolium-perenne* L) at different sites and with different nitrogen-fertilizer treatments. *European Journal of Agronomy*, 4, 65-75.

Hubert, F. (2008) Clay mineral assemblage characterisation of two temperate soils using direct profile fitting of diffractograms. mineralogical and pedological outputs. Université de Poitiers.

Isbell, F., Calcagno, V., Hector, A., Connolly, J., Harpole, W.S., Reich, P.B., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Tilman, D., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B.J., Zavaleta, E.S. & Loreau, M. (2011) High plant diversity is needed to maintain ecosystem services. *Nature*, 477, 199-U196.

Isbell, F.I., Polley, H.W. & Wilsey, B.J. (2009) Biodiversity, productivity and the temporal stability of productivity: patterns and processes. *Ecology Letters*, 12, 443-451.

Jiang, L. & Pu, Z.C. (2009) Different Effects of Species Diversity on Temporal Stability in Single-Trophic and Multitrophic Communities. *American Naturalist*, 174, 651-659.

Kunrath, T.R., de Berranger, C., Charrier, X., Gastal, F., Carvalho, P.C.D., Lemaire, G., Emile, J.C. & Durand, J.L. (2015) How much do sod-based rotations reduce nitrate leaching in a cereal cropping system? *Agricultural Water Management*, 150, 46-56.

Litrico, I. & Violle, C. (2015) Diversity in Plant Breeding A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science*, 20, 604-613.

Loreau, M. (1998) Biodiversity and ecosystem functioning: A mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 5632-5636.

Loreau, M. & de Mazancourt, C. (2008) Species synchrony and its drivers: Neutral and nonneutral community dynamics in fluctuating environments. *American Naturalist*, 172, E48-E66.

Macarthur, R. & Levins, R. (1967) Limiting similarity convergence and divergence of coexisting species. *American Naturalist*, 101, 377-+.

Nemecek, T. & Erzinger, S. (2005) Modelling representative life cycle inventories for Swiss arable crops. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 10, 68-76.

O'Mara, F.P. (2012) The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of Botany*, 110, 1263-1270.

Oksanen, j., Blanchet, G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Peter, R., Minchin, R.B., O'Hara, Gavin, L., Simpson, Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E. & Wagner, H. (2016) Community Ecology Package. R package Version 2.4-1.

Pielou, E.C. (1966) Species-Diversity and Pattern-Diversity in the Study of Ecological Succession. *J. Theoret. Biol.*, 10, 370-383.

Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.L., Ghesquiere, M. & Litrico, I. (2015) Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, 1, 5.

Shannon, C.E. & Weaver, W. (1963) The mathematical theory of communication. *University Illinois Press*, 14, 47.

Soussana, J.F. & Lemaire, G. (2014) Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 190, 9-17.

Sturludottir, E., Brophy, C., Belanger, G., Gustavsson, A.M., Jorgensen, M., Lunnan, T. & Helgadottir, A. (2014) Benefits of mixing grasses and legumes for herbage yield and nutritive value in Northern Europe and Canada. *Grass and Forage Science*, 69, 229-240.

Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T. & Lehman, C. (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, 294, 843-845.

Tilman, D., Reich, P.B. & Knops, J.M.H. (2006) Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, 441, 629-632.

Tilman, D., Wedin, D. & Knops, J. (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379, 718-720.

Wagg, C., Ebeling, A., Roscher, C., Ravenek, J., Bachmann, D., Eisenhauer, N., Mommer, L., Buchmann, N., Hillebrand, H., Schmid, B. & Weisser, W.W. (2017) Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. *Functional Ecology*, 31, 2320-2329.

Weigelt, A., Weisser, W.W., Buchmann, N. & Scherer-Lorenzen, M. (2009) Biodiversity for multifunctional grasslands: equal productivity in high-diversity low-input and low-diversity high-input systems. *Biogeosciences*, 6, 1695-1706.

Whitlock, R., Grime, J.P., Booth, R. & Burke, T. (2007) The role of genotypic diversity in determining grassland community structure under constant environmental conditions. *Journal of Ecology*, 95, 895-907.

Chapitre 5 - Diversité génétique et mécanismes sous-jacents à la différenciation de niches des espèces

Ce chapitre investit le processus de différenciation de niches qui est à la base de la complémentarité des espèces en écologie. Il examine la dynamique du processus de différenciation de niches des espèces de communautés multispécifiques pendant cinq années d'expérimentation (dispositif microparcelles). Ce chapitre est rédigé sous forme d'article et part de l'hypothèse de travail H2 : La diversité génétique permet d'élargir la gamme de phénotypes pour la réponse à la sélection permettant ainsi de générer des phénomènes de complémentarité entre espèces, ce qui définit une relation causale entre diversité génétique et spécifique. La diversité génétique conduit ainsi à une coexistence des espèces dans le mélange et une meilleure production du mélange d'espèces. Cet article est soumis à la revue Nature (review).

Species differentiation in a grassland canopy is mediated by selection and plasticity

La différenciation des espèces dans un couvert prairial dépend de la sélection et de la plasticité

Julien Meilhac, Vincent Maire, Lucas Deschamps, Sandrine Flajoulot, and Isabelle Litrico

RESUME

La différenciation de niche (ND) fait référence à la dynamique des espèces d'une communauté à répondre à l'environnement et à ses ressources en évitant la compétition et en favorisant la coexistence (Chesson, 2000; Levine et HilleRisLambers, 2009). Pour maximiser les différences entre les niches, les espèces peuvent réduire le chevauchement et/ou trouver des niches inexploitées. Cela se produit par l'exclusion des génotypes qui se chevauchent (Mayfield et Levine, 2010) et/ou par l'utilisation de la plasticité phénotypique (Roscher et al., 2015). Cependant, la dynamique de la différenciation de niche (DN) a été rarement observée dans la nature et l'importance relative de la sélection du génotype et de la plasticité du phénotype dans la DN n'a pas été quantifiée. Nous montrons ici que la dynamique de la hauteur végétative - un trait essentiel pour la capture de la lumière (Westoby 1998) - a conduit à la DN entre espèces au sein de communautés. La dynamique différencie les espèces qui tendent à être avec des hauteurs plus petites dans la communauté, en restreignant leur niche par l'exclusion des plus grands individus, aux espèces qui tendent vers une niche avec des hauteurs plus grande auparavant non atteinte, par l'exclusion des plus petits individus mais en élargissant leur niche vers les valeurs de hauteur les plus élevées. Alors que la plasticité était le principal facteur de la DN, la sélection de génotypes adaptés a largement contribué à façonner les niches des espèces. Les résultats démontrent la dynamique à court terme de la ND qui est un processus clé dans les assemblages de communautés végétales.

Table 1 | Models describing the dynamics of species niches trough time and genetic selection

Model	Description	WAIC ($\pm$ s.e.)	Δ WAIC ($\pm$ s.e.)
Model selection - niches			
Mod0	Model estimating intercepts for blocks, mixtures and species, for both mean and dispersion	27452 ($\pm$ 84)	3392 ($\pm$ 96)
Mod1	Model containing intercepts and splines common to all species, describing the evolution of niche mean and dispersion through time	26142 ($\pm$ 105)	2081 ($\pm$ 80)
Mod2	Model containing intercepts for mean and precision, but with a spline describing independently the evolution of each species' mean height through time	24290 ($\pm$ 108)	230 ($\pm$ 33)
Mod3	Complete model with intercepts and splines for each species describing independently the evolution of mean height and niche dispersion through time	24061 ($\pm$ 101)	0
Model selection - genetic selection			
Mod0'	Model estimating intercepts for blocks, mixture and species, for both mean and dispersion	42178 ($\pm$ 100)	5871 ($\pm$ 119)
Mod1'	Model estimating successive intercepts and the niche deformation of each species with time using cubic splines	36389 ($\pm$ 133)	82 ($\pm$ 21)
Mod2'	Model estimating successive intercepts, splines linking time to mean and dispersion and the effect of changes in cultivar abundance on these parameters	36306 ($\pm$ 133)	0

Niche differentiation (ND) refers to the dynamic ways in which the species in a community respond to the environment and its resources by avoiding competition and favouring coexistence (Chesson 2000; Levine & HilleRisLambers 2009). To maximise niche differences, species can reduce the overlap between niches and/or find unexploited niches. This occurs through exclusion of overlapping genotypes (Mayfield & Levine 2010) and/or through use of phenotypic plasticity (Roscher *et al.* 2015). However, the dynamics of ND have rarely been observed in nature, and the relative importance of genotype selection and phenotype plasticity in ND have not been quantified. Here, we show that the dynamics of vegetative height - a key trait for light capture (Westoby 1998) - led to ND between species within communities. The dynamics differentiated species that tend to be of shortest stature in the community, by narrowing their niche through exclusion of the tallest individuals, to species that tend to a previously unreached high-stature niche, through exclusion of the smallest individuals but enlarging their niche towards the highest height values. While plasticity was the main contributor to ND, the selection of adapted genotypes made a significant contribution to shaping species niches. The results demonstrate the short time-scale dynamics of ND, a key process in plant community assemblages.

Many studies in community ecology assume a key role for niche differentiation (ND) in explaining species coexistence (Chesson 2000; Levine & HilleRisLambers 2009). Niche differentiation occupies a central place in ecosystem ecology, explaining the maintenance of biodiversity (Turnbull *et al.* 2013) and its positive effects on ecosystem functioning, through complementary of resource use (Loreau & Hector 2001; Cardinale *et al.* 2007; Tilman, Isbell & Cowles 2014). However, the basic mechanisms of ND dynamics remain unclear, particularly those explaining how each species shapes its niche through community structuring. A species' niche, can be described by traits that indicate how resources are acquired from the environment (Navas & Violle 2009; D'Andrea & Ostling 2016). Niche differentiation is then expected when the dispersion of trait values selected for each species do not overlap (Loreau & de Mazancourt 2013; Hart, Schreiber & Levine 2016) either, in the case of a fixed community trait range, by containing the average dispersion of trait values expressed by each species (Scheele *et al.* 2017), or by modifying the trait values outside the dispersion of community trait values to discover a previously unexploited niche (Berg & Ellers 2010). As different species within a given community can follow either route, the study

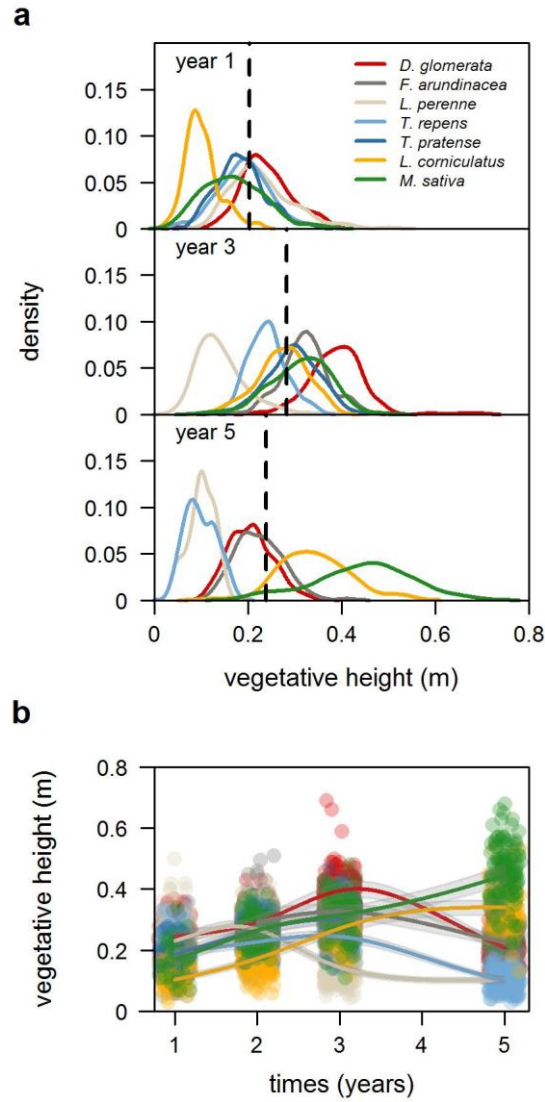


Figure 1 | Niche differentiation. **a**, Density distribution of vegetative heights between species at respectively one, three, and five years after sowing the mixtures with *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus* and *Medicago sativa*. Dotted line represents average height of mixtures giving the approximate canopy height (average height of all species combined). One species (*Festuca arundinacea*) is missing at the beginning as its establishment took more time and *Trifolium pratense* had disappeared by the fifth year. **b**, Modelled mean height of each species, with shaded area representing 95% confidence interval around the median after accounting for variability between mixtures.

of ND dynamics requires consideration of both the trajectory and the deformation of the niche. To our knowledge, this has not previously been done experimentally. Niche differentiation dynamics may result first from the competitive exclusion of phenotypes located in the overlapping part of the niche. This is expected when plasticity is not sufficient to avoid species overlap (Grenier, Barre & Litrico 2016). Niche differentiation may also result from the selection of phenotypes that plant plasticity placed in unexploited niches. Although genetic mechanisms play key roles in the process of ND, studies that focus on it are rare (Zupping-Dingley *et al.* 2014; van Moorsel *et al.* 2018). The time scale at which the process occurs remains particularly unclear, ranging from a single growing season and stretching out to evolutionary time. Time scale likely reflects a gradient between the ecological and the genetic shaping of the niche.

Our objective was to display ND dynamics by monitoring species trait variation over five years in multispecies sown grasslands. Using seven species commonly used in sown grasslands, five mixtures of the seven-species were assembled and sown in field trials. The five mixtures (M-1 to M-5) varied only in within-species genetic diversity (i.e. the numbers of cultivars represented per species). There were three genetic structure levels: simple structure (M-1 to M-3), intermediate structure (M-4) and complex structure (M-5). Species were chosen to be of contrasting strategies in relation to light capture: (i) a classical vertical-elongation strategy to maximise access to the above-canopy light (*Lotus corniculatus*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium pratense* and *Medicago sativa*) and (ii) a horizontal-spreading strategy to maximise access to the light penetrating vegetation gaps (Gautier, Varlet-Grancher & Baudry 1998; Roscher, Kutsch & Schulze 2011) (*Lolium perenne* and *Trifolium repens*). To create a measurable selection opportunity, the within-species phenotypic variability of competitive traits was similar between mixtures but the within-species genetic structure was dissimilar (see Table S1, Fig. S1 and S2 in supplementary information). Using molecular tools, we followed the dynamics of cultivar abundance of each species during community structuring by a molecular method of cultivar fingerprinting (see Methods section). In this experiment, the effects of cultivar frequency change (selection estimation) on ND were tested. In parallel, the heights of each cultivar (see Methods section) was characterised without competition in a common garden.

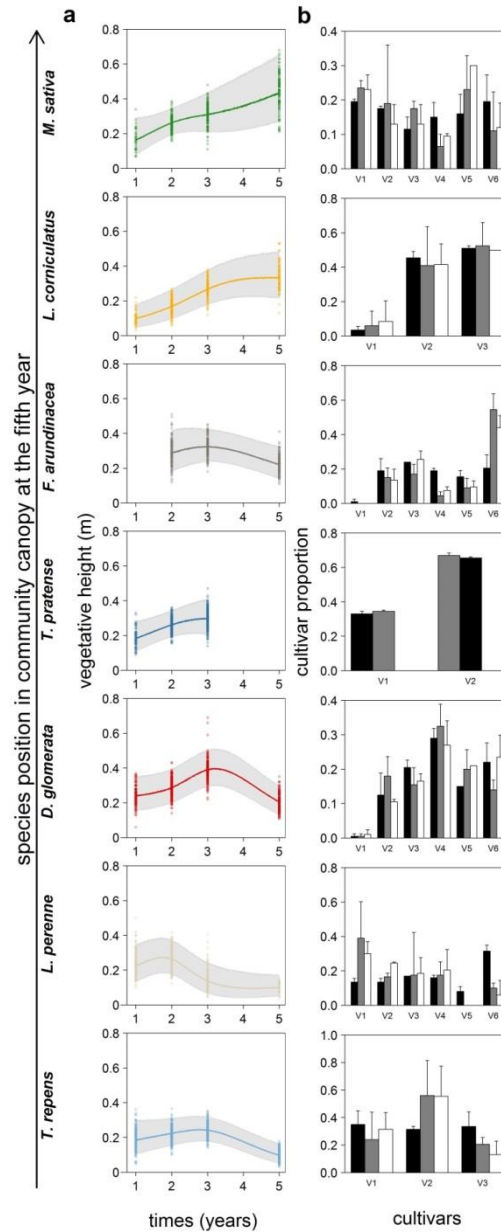


Figure 2 | Phenotypic and genotypic dynamics over the five years of experimentation. a, Evolution of species trait distribution over time. Solid line represents the mean of each species trait distribution and the shaded area the 95% predictive interval, after accounting for variability between mixtures. **b,** Cultivar proportions for each species at years one, three and five after sowing (black, grey and white bars, respectively) for the mixture with high complexity of genetic structure (M-5 see supplementary method). Species are sorted by their height at the fifth year and cultivars are ranked along the height values of isolated plants (from shortest to tallest). *Trifolium pratense* disappeared by the fifth year but was still present in the third year. *Festuca arundinacea* was missing in the first year because its establishment took longer than the other species. Cultivar proportion was computed from individual samples which taken several weeks after phenotypic measurements (*F. arundinacea* was present). Values are mean $\pm$ s.e.

Species distribution of vegetative height was monitored over time within each mixture to characterise the shaping of the species niche. Vegetative height is a key plant feature widely used in the literature to characterise the light-acquisition strategy, to express the plant competitive ability over neighbours and to explain a species ability to perform in a grassland community (Weiner & Thomas 1986; Westoby 1998; Schippers & Kropff 2001; Falster & Westoby 2003; Pontes *et al.* 2012). Hence, we assume plant height is the key candidate trait characterising the niche of a species. We modelled the temporal dynamics of height niches of all species using Bayesian Generalised Additive Distributional Models (GAM). We determined by WAIC based model selection if the niche dynamics differed for each species - in terms of both mean trajectory and of niche deformation (dilatation or contraction).

From an overlapped distribution of species height (Fig. 1a - year 1), for all mixtures studied, three distinct trajectories appeared over time. These were linked with known strategies of light capture (Fig. 1b). Our results show that the partitioning of vegetative height distribution was strongly species-specific, the model describing a trajectory for each species providing a far higher predictive power than the one estimating a common trajectory for all species (Fig. 1b, Table 1, $\Delta\text{WAIC}_{\text{Mod2-Mod1}} = 1851 \pm 80$). *L. corniculatus* and *M. sativa* rose above the canopy between years one and five. Conversely, *T. repens* and *L. perenne* clearly adopted a different strategy, spreading at a low canopy level seeking for skylights. Meanwhile, *F. arundinacea* and *D. glomerata* remained at canopy level during the five-year experiment, correctly exploiting the light by their position relative to the canopy. It is worth noting that *T. pratense* stayed at canopy level but was excluded by year five in line with its weaker perennating character.

Niche trajectories were tightly linked with niche deformation. The best model describing the distribution of plant height was the one where both mean and dispersion of each species depended upon a smooth time-function (Fig. 1, Table 1, $\Delta\text{WAIC}_{\text{Mod3-Mod2}} = 230 \pm 33$). Species niche deformation through time, clearly reduced the general overlap of height distribution and structured the exploitation of light through the canopy. The species that climbed above the canopy (*L. corniculatus* and *M. sativa*), exhibited loss of small individuals and a clear increase in dispersion of height values with time (Fig. 2a). This niche dilatation showed a relaxation of competition intensity for the species able to dominate others and bypass light reduction by other species. Conversely, the diversity of height values of the species spreading

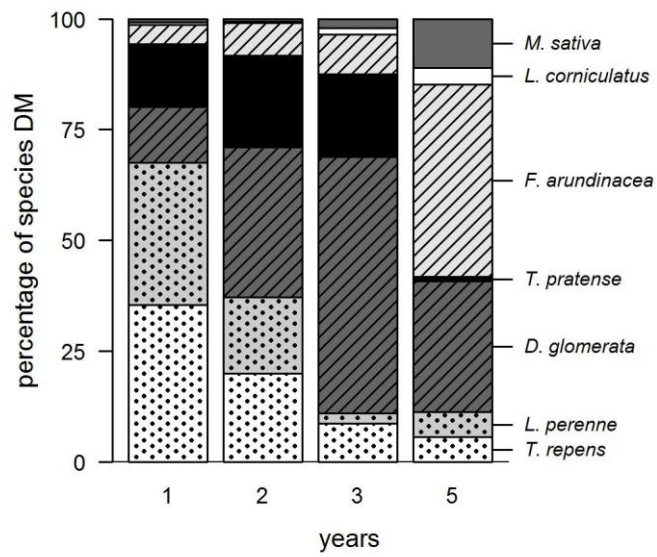


Figure 3 | Species abundance. Percentage of species dry mass per year with *Trifolium repens* (white with black dots), *Lolium perenne* (light grey with black dots), *Dactylis glomerata* (dark grey hatched), *Trifolium pratense* (black), *Festuca arundinacea* (light grey hatched), *Lotus corniculatus* (white) and *Medicago sativa* (dark grey). Species are ranked by their position in the canopy in the fifth year.

at ground levels for skylights (*T. repens* and *L. perenne*), drastically decreased with time, indicating a contraction of their niche for species known to be poor competitors for light in the presence of other species (Roscher, Kutsch & Schulze 2011). Competitive pressures of species could generate a displacement of niches either by plasticity and/or by selection in order to reduce light competition by a displacement towards tallest values for species with vertical elongation strategies and conversely towards small values for species with horizontal spreading strategies, potentially linked to a resource allocation strategy. For instance, *T. repense* favours stolon extension when under light competition with grass species (Marriott, Bolton & Duff 1997).

From both the trajectory and the deformation of species height niches, we conclude that ND has occurred between species during the assemblage of our temporary grassland communities (Fig 1). Niche contraction occurred for some species while niche dilation occurred for others along a unique resource dimension of species niches. Interestingly, the dynamics of species niche, paralleled their dynamics in abundance in the community (Fig. 3), suggesting the important role of ND during the community assemblage, as observed in other studies (Zupping-Dingley *et al.* 2014). Unlike what is often expected when ND is increased between species, we did not observe a general reduction of trait dispersion within species, explained by increases in total community variance that strongly separate species niches without requiring their contraction. Moreover, the overlap between species having similar (previously-known) light strategies was almost total.

Plasticity and selection are major adaptive mechanisms that contribute to niche shaping (Lipowsky *et al.* 2015; Turcotte & Levine 2016; McPeck 2017) but their identification and relative importance in ND is unclear. Using a Bayesian GAM approach, we tested if the addition of cultivar relative frequencies into our previous best model describing the distribution of plant height (Table 1 - model Mod3) improved the dynamics of species niche shaping. In the same way, we tested if the initial cultivar diversity (genetic structure) per species of the mixture contributed significantly to niche modelling and if cultivar selection had been modulated in relation to the light capture strategies of the species.

Over the five-year period, cultivar dynamics within a grassland community contributed significantly to the shaping of species niches. When changes in cultivar abundances were included in the GAM model to modulate the mean and dispersion of plant height distribution,

the performance of the model was significantly improved (Table 1 $\Delta\text{WAIC}_{\text{M2}'-\text{M1}'} = 82 \pm 21$). Interestingly, we observed the changes in cultivar frequencies and the disappearance of height values of the initial niche of species were related to the light strategies of the species. The cultivar frequencies showed significant evolution (Fig. 2) for most species over the five-year period. Species with a horizontal spreading strategies and showing niche contraction towards lower height values were characterised by decreases in the abundance of the highest stature cultivars (V3 for *T. repens* and V5 and V6 for *L. perenne*) and increases in the lowest stature cultivars (V2 for *T. repens* and V1-V2 for *L. perenne*). Conversely, *M. sativa*, which has an elongation strategy, showed niche dilatation towards greater height values and was characterised by the opposite response. Similar results were obtained with the mixture characterised by medium genetic-complexity (see Fig. S3 in Supplementary Information). This result suggests selection exists at cultivar level for most species and this contributed to ND, although no change was observed for *D. glomerata* or *T. pratense*. However, it could be that our selection estimation was not fine enough, as selection within a cultivar may well exist.

While ND was mainly the result of phenotypic plasticity, we show here that selection also acted to shape the species niches along the light-capture dimension. Selection was observed over the five years of experimentation. This is a very short period in relation to evolutionary time and it would be interesting to study the impacts of this selection over longer time scales. Other dimensions of the niche also need to be investigated to better understand the cultivar selection of these species. For instance, plant precocity and root preference for nitrate vs ammonium as the nitrogen resource has previously been shown to structure grassland communities (Maire *et al.* 2012).

To our knowledge, such a demonstration of the short time-scale dynamics of ND resulting from the concomitant action of genetic selection and phenotypic plasticity is unique in the plant literature. Overall, such results offer a highly promising avenue for community ecology where few studies have demonstrated species niche differentiation experimentally over such a short time scale. These results could be important in agro-ecology, especially to assemblages in communities in the context of species diversification of agro-systems. If the limiting resources and plant traits linked to the capture of this resource are known, the species and genetic composition of sown grassland can be thought of as favouring niche differences

between species. As ND is linked with the productivity of ecosystems, having a good understanding of these processes is key to improving the management of these. Lastly, our results are likely of importance to ecology and population genetics as they illustrate the interplay between genetic mechanisms (selection) and ecological mechanisms (ND).

Methods

Experimental design. Five (x2 replication) different multispecies-grassland seed mixtures were established in the field in September 2011. Seeds were sown in plots (5×1.3 m) with two replicates (five seed mixtures x two replicates = 10 plots). The soil was a clay-limestone, located at the Jouffray Drillaud Station, Saint Sauvant, France (46° 21' 37" North, 0° 03' 25" East). Plots were exposed to the local temperate climate with an average annual rainfall of 730 mm. No irrigation or nitrogen were added during the five-year experimental period. A plot comprised eight 5-m-long rows, each containing the same seed mixture. Each mixture contained seven species, all of them in common use in temporary grasslands - *Lotus corniculatus*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium pratense*, *Medicago sativa*, *Lolium perenne* and *Trifolium repens*. The five mixtures differed in within-species genetic diversity. This was achieved by varying the number of cultivars per species (see Table S1, supplementary information). The range of variability of phenotypic traits was similar between mixtures but the genetic structure was different. Three mixtures (M-1, M-2 and M-3) were of simple genetic structure within each species (just one cultivar per species), one mixture (M-4) had an intermediate genetic structure within each species (just two or three cultivars per species) and one mixture (M-5) had a more complex genetic structure within each species (up to six cultivars per species and containing all the cultivars used in this experiment). Each seed mixture was sown with the same total seed weight and species proportions in each plot (Table S1, supplementary information). Each mixture plot was replicated twice from the same seed lots and plots were distributed randomly within two blocks of five plots each. Plots were maintained over five years and harvested three times each year. Species were chosen to have contrasting response strategies to light competition and space occupation. The first group contained species having an elongation strategy - *Lotus corniculatus*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium pratense* and *Medicago sativa* – these all seek light by extending their leaves or stems upwards to reach the top of the canopy. The second group

contained species having a spreading strategy i.e. they seek skylights in the community by spreading horizontally - *Trifolium repens* (stolons) and *Lolium perenne* (tillers). The vegetative height mean and variance of each cultivar was measured without competition in a common garden at the INRA station in Lusignan (near Saint Sauvant), France (see cultivar characterisation section).

Phenotypic diversity in the mixture. Vegetative height was measured *in situ* on 20 individuals (maximum) per species in each plot and each block. These measurements were carried out several times – during the first, second, third and fifth years after sowing to quantify changes in phenotypic diversity over time.

Species biomass in a mixture. For the five years of the experiment (2012 to 2016) the whole canopy of each plot was harvested three times each year (spring, summer and autumn). All plots were cut at the same time at 5 cm above ground level. Harvest date was decided based on a visual assessment of the aboveground standing biomass. Each harvest from each plot was weighed fresh and a sample of each was dried to constant weight at 60°C for 72 h. At each harvest, four quadrats (0.33 x 0.15 m) were placed randomly in each plot and the species biomasses were separated. These samples were dried and weighed to measure the proportion each species in the total dry biomass. For each plot and each year, the annual total biomass (for all species) and annual species biomass (for each species) were calculated by summation of the three biomass measurements (spring, summer and autumn).

Cultivar characterisation. Simultaneously, each cultivar used in the mixtures was planted in an isolated-plants nursery at INRA (2014 September). The seed was taken from the same lot as used in the mixtures. Each cultivar was represented by 30 individuals and each individual was cloned twice to realise three genetically-identical replicates. A total of 32 cultivars of the seven species were planted. Vegetative height was measured twice a year over three years for each plant to characterise each cultivar (mean height and variance) under conditions of no competition.

Selection estimation by cultivar fingerprinting. Individuals within each species were sampled three times during the experiment in the mixtures (M-4 and M-5) containing within-species genetic diversity - at six months, and at three and five years after sowing. The maximum number of individuals sampled per species varied according to genetic structure

(the number of cultivars per species in the mixture at sowing). A total of 16 individuals were collected per cultivar used (i.e. 32 individuals for the species with two cultivars per species and 96 individuals for species with six cultivars per species (Table S2, supplementary information). Individuals were assigned to cultivars by genome fingerprinting using a reference source (as far as we are aware, this procedure has not previously been used in this context). This reference database was constructed from 96 individuals per cultivar taken from the initial batches of cultivars taken from the same seed lots as used in the plots. Extraction of DNA employed CTAB and chloroform purification (CYMMIT, 2005). The quality and concentration of each DNA sample was checked by 1% agarose gel electrophoresis. SSR markers were used only for *Lolium perenne* (diploid) and AFLP markers for the other six species (tetraploid). For SSR markers, DNA samples were amplified by polymerase chain reaction (PCR) for the six loci used to discriminate the six *Lolium perenne* cultivars used in the mixture (Table S3, supplementary information). PCR was carried out in a final reaction volume of 10 µl containing 1X polymerase buffer, 0.325 U of MP Biomedicals polymerase, 0.2 mM of dNTP (Invitro-gen), 0.1 µM of forward primer with a M13 tail, 0.2 µM of reverse primer, 0.1 µM of M13 tail IRD700 or IRD800 labelled primer and 20 ng of DNA. The PCR reactions were carried out in a DNA Engine Tetrad2 thermocycler (Biorad). A denaturation period of 4 min at 94°C was followed by 35 cycles of 30 s at 94°C, 1 min at T_m and 1 min at 72°C and then 10 min at 72°C for final extension. For AFLP markers, the protocol described by Vos *et al.* (1995) was used. The selective amplification was carried out on the basis of the primer pair generating maximum polymorphism between cultivars. The number of specific primer pairs used varied between species from 2 to 10 pairs (Table S4, supplementary information). A Li-Cor IR2 (Li-Cor Inc) sequencer was used to separate the labelled, amplified DNA fragments on a 6.5% acrylamide gel. Marker segregation was scored using SAGA Generation 2 software (Li-Cor Inc) by two different persons and the results were compared. The number of bands scored to provide a cultivar assignment with an error rate of less than 5%, varied with species from 78 to 380 scored bands (Table S4, supplementary information). The same protocol (SSR or AFLP according to species) was carried out on individuals sampled *in situ* (multi-cultivar mixture). For *Lolium perenne*, individuals sampled *in situ* were attributed to cultivars with GeneClass2 software (Piry *et al.* 2004) from reference source. Structure software based on methods for ambiguous genotype data such as dominant markers (Falush, Stephens & Pritchard 2007) (Version 2.3.4) was used to analyse AFLP data

with specific parameters according to species, the length of burn-in period was $2 \cdot 10^4$ iterations and the number of MCMC after burn-in was $5 \cdot 10^4$ iterations for all species except *Festuca arundinacea* (10^4 iterations) and *Medicago sativa* ($2 \cdot 10^4$ iterations). The cultivar proportion was then calculated for each species in each block for the high-diversity mixture (M-5).

Statistical analyses

Species trait distributions were modelled explicitly using a distributional modelling framework (similar to the GAMLSS approach). This allowed modelling of each parameter of a parametric distribution as the result of an equation containing hierarchical parameters and smoothing functions. Because the complexity of such models can hardly be captured by classical maximum-likelihood methods, parameters were estimated in a Bayesian framework using Hamiltonian Monte-Carlo, as implemented in the *No-U-Turn* sampler (NUTS) of the *Stan* software.

Species trait distributions were described using gamma distributions parameterised in terms of two independent parameters describing mean (μ) and dispersion (ϕ). Gamma distributions have the advantage of being able to describe a skewed distribution, which often arise in the case of strictly positive random variables close to 0. The gamma distribution from which the height value y of individual i is sampled followed the general formulation

$$\begin{aligned} y_i &\sim \text{Gamma}(\mu_i^2 \phi_i, \mu_i \phi_i) \\ \log(\mu_i) &= \beta_f X_i + \beta_r X_i + f_1(t_i) \\ \log(\phi_i) &= \gamma_f X_i + \gamma_r X_i + f_2(t_i) \end{aligned}$$

With X_i being a design matrix of covariates describing the environment of observation i , while β_f and γ_f are fixed parameters, such as intercepts for block identities (all models) for mean (β_f) and dispersion (γ_f). Similarly, β_r and γ_r represent hierarchical population parameters described by a normal distribution with estimated standard deviation, for mean (β_r) and dispersion (γ_r). In our case, the hierarchical parameters describe varying intercepts of mixture (all models), species (all models except Mod4) or species at different levels of genetic diversity (M-4), but also varying slopes between cultivar proportion in each mixture and height distribution (Mod2'). f_{1s} and f_{2s} , describe cubic splines linking years to mean and dispersion of each species trait distribution. Mod1 estimates a common spline for all species for both mean and

dispersion, while Mod2 estimates a spline per species for mean only. Mod3, Mod1' and Mod2' estimate a spline per species for both mean and dispersion. Mod4 estimates a spline per species for each level of within species genetic diversity (one cultivar per species, up to three cultivars per species or up to six cultivars per species). We used regularising priors to optimise estimation and limit overfitting, based on student-t distributions with three degrees of freedom and adjusted mean and scale.

The posterior of each model was sampled using the NUTS algorithm through the *brms* R package (version 2.2.3), which allows easily computed predictions and provides links to the model comparison package *loo* (version 2.0.0). The Stan Bayesian software provides diagnostics for sampling abnormal behaviour and chain mixing. We took care to avoid divergent transitions. We ensured convergence, by verifying that the scale reduction factor of each parameter (indicating chain convergence), did not exceed 1.1. Posterior predictive checks were carried out to ensure the model captured the key features of the data satisfactorily.

Model comparisons were carried out using Watanabe-Akaike-Information-Criterion (WAIC) implemented in the *loo* package. This criterion can be interpreted as the Akaike-Information-Criterion, with the best models exhibiting the lowest criterion. However, WAIC incorporates uncertainty about model log-predictive density, and is thus described by an approximately normal distribution with estimated standard-error. We interpreted the magnitude of the difference of the WAIC of different models (Δ WAIC), but also the uncertainty about this difference. A Δ WAIC lower than twice its standard-error (approximately equivalent to the 95% confidence interval) was considered to provide little support to the best model. All computations were carried out using *R* version 3.4.4.

References

- Berg, M.P. & Ellers, J. (2010) Trait plasticity in species interactions: a driving force of community dynamics. *Evolutionary Ecology*, 24, 617-629.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., Loreau, M. & Weis, J.J. (2007) Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 18123-18128.
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 343-366.
- D'Andrea, R. & Ostling, A. (2016) Challenges in linking trait patterns to niche differentiation. *Oikos*, 125, 1369-1385.
- Falster, D.S. & Westoby, M. (2003) Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 337-343.
- Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, 7, 574-578.
- Gautier, H., Varlet-Grancher, C. & Baudry, N. (1998) Comparison of horizontal spread of white clover (*Trifolium repens* L.) grown under two artificial light sources differing in their content of blue light. *Annals of Botany*, 82, 41-48.
- Grenier, S., Barre, P. & Litrico, I. (2016) Phenotypic Plasticity and Selection: Nonexclusive Mechanisms of Adaptation. *Scientifica*, 9.
- Hart, S.P., Schreiber, S.J. & Levine, J.M. (2016) How variation between individuals affects species coexistence. *Ecology Letters*, 19, 825-838.
- Levine, J.M. & HilleRisLambers, J. (2009) The importance of niches for the maintenance of species diversity. *Nature*, 461, 254-U130.

- Lipowsky, A., Roscher, C., Schumacher, J., Michalski, S.G., Gubsch, M., Buchmann, N., Schulze, E.D. & Schmid, B. (2015) Plasticity of functional traits of forb species in response to biodiversity. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, 17, 66-77.
- Loreau, M. & de Mazancourt, C. (2013) Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecology Letters*, 16, 106-115.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412, 72-76.
- Maire, V., Gross, N., Borger, L., Proulx, R., Wirth, C., Pontes, L.D., Soussana, J.F. & Louault, F. (2012) Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist*, 196, 497-509.
- Marriott, C.A., Bolton, G.R. & Duff, E.I. (1997) Factors affecting the stolon growth of white clover in ryegrass/clover patches. *Grass and Forage Science*, 52, 147-155.
- Mayfield, M.M. & Levine, J.M. (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters*, 13, 1085-1093.
- McPeck, M.A. (2017) The Ecological Dynamics of Natural Selection: Traits and the Coevolution of Community Structure. *American Naturalist*, 189, E91-E117.
- Navas, M.L. & Violle, C. (2009) Plant traits related to competition: how do they shape the functional diversity of communities? *Community Ecology*, 10, 131-137.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.M., Paetkau, D., Baudouin, L. & Estoup, A. (2004) GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity*, 95, 536-539.
- Pontes, L.D., Maire, V., Louault, F., Soussana, J.F. & Carrere, P. (2012) Impacts of species interactions on grass community productivity under contrasting management regimes. *Oecologia*, 168, 761-771.

- Roscher, C., Kutsch, W.L. & Schulze, E.D. (2011) Light and nitrogen competition limit *Lolium perenne* in experimental grasslands of increasing plant diversity. *Plant Biology*, 13, 134-144.
- Roscher, C., Schumacher, J., Schmid, B. & Schulze, E.D. (2015) Contrasting Effects of Intraspecific Trait Variation on Trait-Based Niches and Performance of Legumes in Plant Mixtures. *Plos One*, 10, 18.
- Scheele, B.C., Foster, C.N., Banks, S.C. & Lindenmayer, D.B. (2017) Niche Contractions in Declining Species: Mechanisms and Consequences. *Trends in Ecology & Evolution*, 32, 346-355.
- Schippers, P. & Kropff, M.J. (2001) Competition for light and nitrogen among grassland species: a simulation analysis. *Functional Ecology*, 15, 155-164.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M. (2014) Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Vol 45 (ed. D.J. Futuyma), pp. 471-493. Annual Reviews, Palo Alto.
- Turcotte, M.M. & Levine, J.M. (2016) Phenotypic Plasticity and Species Coexistence. *Trends in Ecology & Evolution*, 31, 803-813.
- Turnbull, L.A., Levine, J.M., Loreau, M. & Hector, A. (2013) Coexistence, niches and biodiversity effects on ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 16, 116-127.
- van Moorsel, S.J., Hahl, T., Wagg, C., De Deyn, G.B., Flynn, D.F.B., Zuppinger-Dingley, D. & Schmid, B. (2018) Community evolution increases plant productivity at low diversity. *Ecology Letters*, 21, 128-137.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandelee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995) AFLP - A NEW TECHNIQUE FOR DNA-FINGERPRINTING. *Nucleic Acids Research*, 23, 4407-4414.
- Weiner, J. & Thomas, S.C. (1986) Size variability and competition in plant monocultures. *Oikos*, 47, 211-222.

Westoby, M. (1998) A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil*, 199, 213-227.

Zuppinger-Dingley, D., Schmid, B., Petermann, J.S., Yadav, V., De Deyn, G.B. & Flynn, D.F.B. (2014) Selection for niche differentiation in plant communities increases biodiversity effects. *Nature*, 515, 108-+.

Supplementary informations

Table S1. Proportions of species and cultivars sown for mixtures

Species	Cultivar	designation	Proportions (seed-mass basis)					Height cultivars (cm)	
			M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Mean $\pm$ s.e.	Tukey test
<i>Dactylis glomerata</i>			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115		
	E1V5	V1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	17.4 $\pm$ 0.5	■ a
	Accord	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	22.8 $\pm$ 0.4	■ b
	Lucullus	V3	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	24.4 $\pm$ 0.5	■ bc
	Vaillant	V4	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	26.3 $\pm$ 0.9	■ c
	Otop	V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	26.9 $\pm$ 0.7	■ c
<i>Festuca arundinacea</i>	President	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	29.8 $\pm$ 0.5	■ d
			0.231	0.231	0.231	0.231	0.231		
	E3V5	V1	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	24.0 $\pm$ 0.4	■ a
	Soni	V2	1.000	0.000	0.000	0.500	0.125	24.4 $\pm$ 0.8	■ a
	Mariellendo	V3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	24.5 $\pm$ 0.4	■ a
	Elodie	V4	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	25.4 $\pm$ 0.4	■ ab
<i>Lolium perenne</i>	Noria	V5	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	26.2 $\pm$ 0.4	■ b
	Gardian	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.250	30.3 $\pm$ 0.7	■ c
			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115		
	Juras	V1	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	19.9 $\pm$ 0.7	■ a
	Gagny	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	20.4 $\pm$ 0.7	■ a
	E6V5	V3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	21.8 $\pm$ 0.8	■ b
<i>Trifolium repens</i>	Aberstar	V4	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	21.9 $\pm$ 0.4	■ b
	Rgmaroc	V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	23.7 $\pm$ 0.4	■ c
	Tonnus	V6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	24.9 $\pm$ 0.1	■ d
			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115		
	Abervantage	V1	1.000	0.000	0.000	0.333	0.333	15.7 $\pm$ 0.4	■ a
	Aran	V2	0.000	0.000	0.000	0.333	0.333	18.0 $\pm$ 0.5	■ b
<i>Trifolium pratense</i>	Giga	V3	0.000	1.000	1.000	0.333	0.333	19.7 $\pm$ 0.2	■ c
			0.115	0.115	0.115	0.115	0.115		
	Formica	V1	0.000	0.000	1.000	0.333	0.333	23.1 $\pm$ 1.1	■ -
	Diplo	V2	1.000	1.000	0.000	0.666	0.666	23.8 $\pm$ 0.8	■ -
<i>Lotus corniculatus</i>			0.078	0.078	0.078	0.078	0.078		
	Leo	V1	1.000	0.000	0.000	0.500	0.500	15.3 $\pm$ 0.5	■ a
	PX-ete	V2	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	20.2 $\pm$ 0.9	■ b
	Altus	V3	0.000	1.000	0.000	0.500	0.250	24.2 $\pm$ 1.3	■ c
<i>Medicago sativa</i>			0.231	0.231	0.231	0.231	0.231		
	Luzelle	V1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	38.0 $\pm$ 0.7	■ a
	Rafia	V2	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	52.4 $\pm$ 1.7	■ b
	Galaxie	V3	0.000	1.000	0.000	0.333	0.166	53.3 $\pm$ 1.3	■ b
	Kali	V4	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	53.6 $\pm$ 1.2	■ b
	timbale	V5	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	54.0 $\pm$ 1.7	■ b
<i>Medicago sativa</i>	Meldor	V6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	55.0 $\pm$ 0.7	■ b

The proportion is given as a fraction of seed mass. Each cultivar used is described by a height value (cm) from measurements of plants in a nursery of isolated plants (mean $\pm$ s.e.). Different letters indicate significant differences between cultivars of a species ($P < 0.05$). A cultivar code is assigned for cultivars not registered in an official catalogue. "Designation" refers to the cultivar code used in article.

Table S2. Number of individuals sampled for the cultivar abundance measure by fingerprinting

Species	Block	Mixture M-4				Mixture M-5			
		Maximum number sampled	Years 1	Year 3	Year 5	Maximum number sampled	Years 1	Year 3	Year 5
<i>Dactylis glomerata</i>	I	48	43	43	45	96	84	80	81
	II	48	45	39	37	96	93	76	78
<i>Festuca arundinacea</i>	I	48	34	46	46	96	33	31	82
	II	48	39	44	42	96	84	38	69
<i>Lolium perenne</i>	I	48	47	14	33	96	96	17	8
	II	48	46	14	21	96	93	13	17
<i>Trifolium repens</i>	I	48	43	31	21	48	43	29	31
	II	48	44	31	13	48	46	42	20
<i>Trifolium pratense</i>	I	32	30	14	-	32	32	20	-
	II	32	32	18	-	32	31	29	-
<i>Lotus corniculatus</i>	I	32	31	5	3	48	42	7	4
	II	32	31	3	4	48	46	8	6
<i>Medicago sativa</i>	I	48	39	11	8	96	83	32	30
	II	48	34	5	8	96	77	27	23

The number varies according to the species in function to the number of cultivars established, 16 individuals (maximum) per cultivar within species. *Trifolium pratense* had disappeared by the fifth year.

Table S3. Primer combinations (SSR) from Polymerization of Chain Reaction for *Lolium Perenne*

SSR markers	5' Primer sequence	3' primer sequence
LpSSR066	GCCAGTGCCCATTCGATAA	CCCCACTCCAACCAAAGCAA
LpSSR058	CGATGAACCTCAAGGGGGATT	GCACCGGTCTAGGGACAGAA
rv0641	TGCATAACTTCACTGCAGCATA	AGAAACTCGGTAGAAGGACCTC
M15185	GGTCTGGTAGACATGCCTAC	TACCAGCACAGGCAGGTTC
B4D7op	CTGGCSTGTGCTCCGYG	TCGCCGTCCACCTACCAC
LmgSSR01-08H	ATGGAACCTTGGCACACCAG	GCATGGCTACATCCTTCCAG

Table S4. Primer combinations per species for Amplified Fragment Length Polymorphism

Species	AFLP selective primer	Number of markers
<i>Dactylis glomerata</i>		162
	E-ATT/M-CCG	60
	E-ACA/M-CGG	102
<i>Festuca arundinacea</i>		96
	E-ACA/M-CTCG	38
	E-AAG/M-CCTA	21
	E-ACC/M-CAG	37
<i>Trifolium repens</i>		116
	E-ACA/M-CCT	65
	E-AAC/M-CCA	51
<i>Trifolium pratense</i>		78
	E-ACA/M-CTT	56
	E-ATC/M-CCT	22
<i>Lotus corniculatus</i>		161
	E-AAG/M-CTG	42
	E-AAA/M-CAC	51
	E-ACT/M-CTA	39
	E-ATC/M-CAT	29
<i>Medicago sativa</i>		381
	E-ACA/M-CTG	82
	E-ACC /M-CAA	41
	E-ACA /M-CGT	53
	E-AAA /M-CGC	40
	E-ATG/M-CCG	37
	E-AGC /M-CCC	26
	E-ACA/M-CTGG	20
	E-AAA/M-CTCG	23
	E-ATG/M-CGC	24
	E-ATA/M-CGG	35

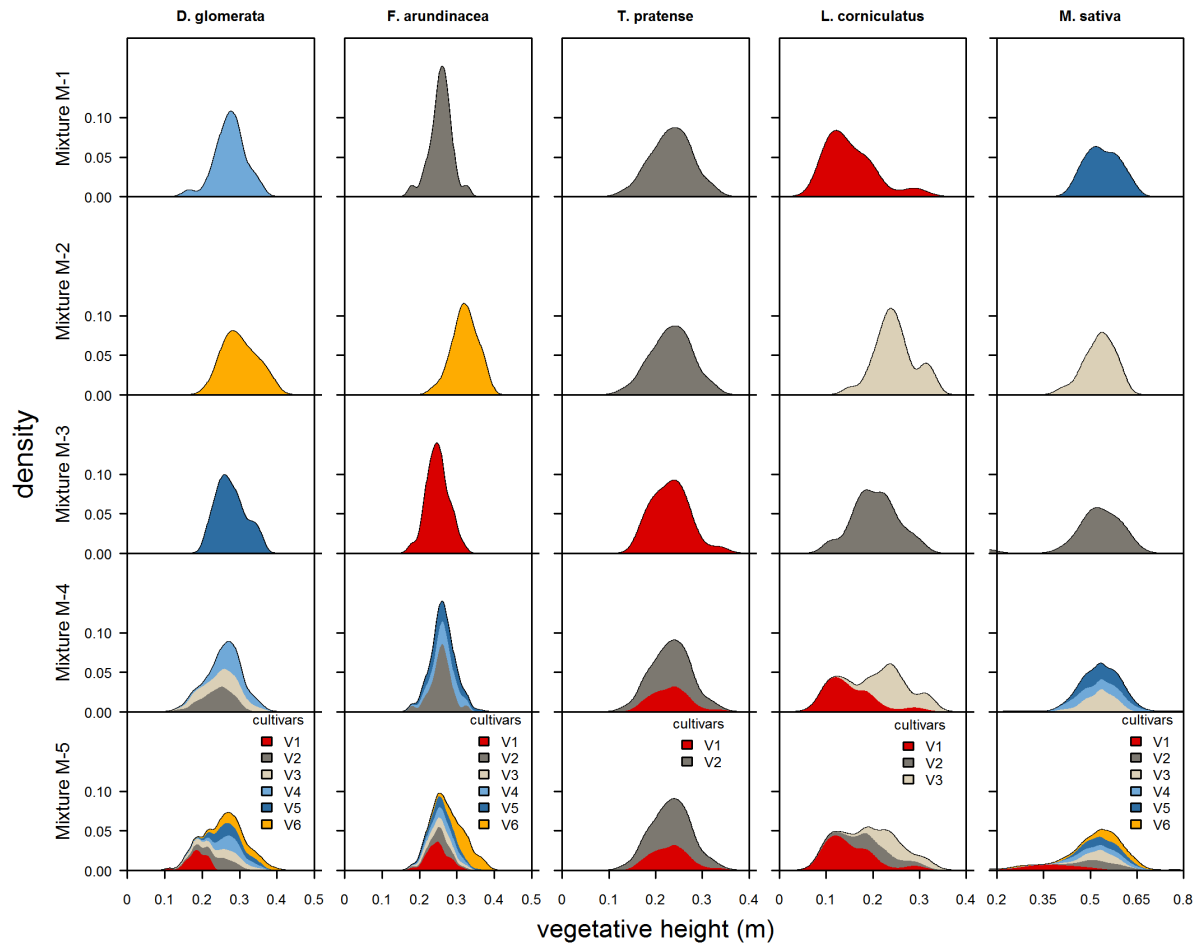


Figure S1 | Range of phenotypic variability of mixtures for species with an elongation strategy in relation to light competition. Each cultivar of each species used in the mixtures was established in a nursery as isolated plants with 30 individuals per cultivar. Vegetative height was measured on all individuals to estimate the phenotypic variability of each cultivar with the value distributions estimated from the nursery. For multi-cultivar mixtures, the distributions were estimated using a bootstrap method with respect to the different cultivar proportions within species and the distribution of values of each cultivar estimated from the nursery.

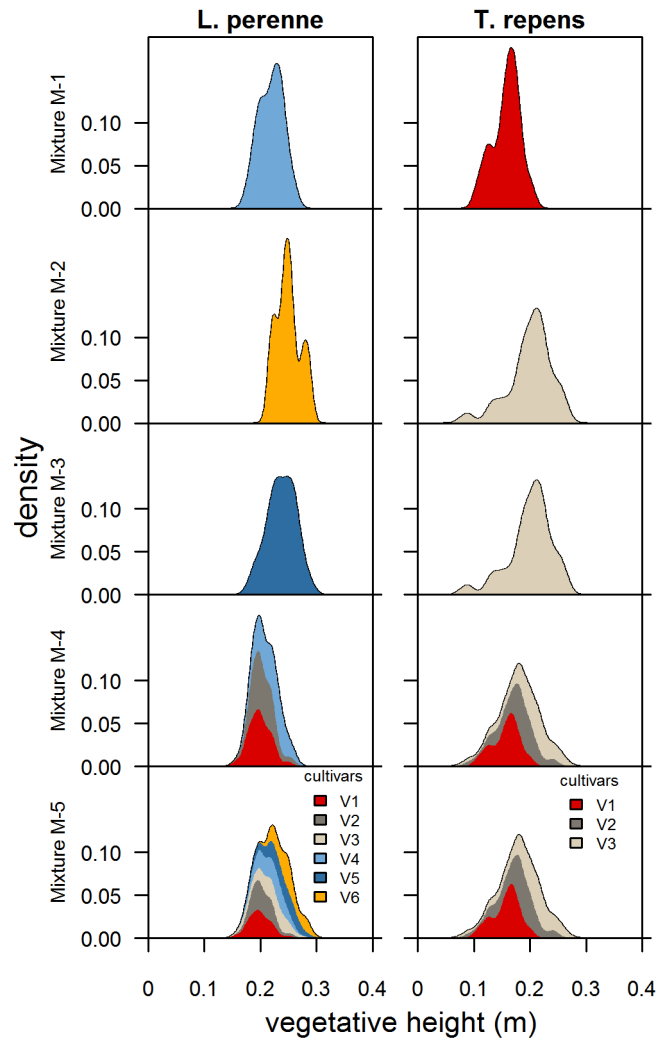


Figure S2 | Range of phenotypic variability of mixtures for species with horizontal spreading strategy in relation to light competition. Each cultivar of each species used in the mixtures was established in a nursery of isolated plant with 30 individuals per cultivar. Vegetative height was measured in all individuals to estimate phenotypic variability of cultivars with the distribution values estimated from the nursery. For multi-cultivar mixtures, distribution was estimated using a bootstrap method with respect to the different cultivar proportions within species and the distribution of values of each cultivar estimated from the nursery.

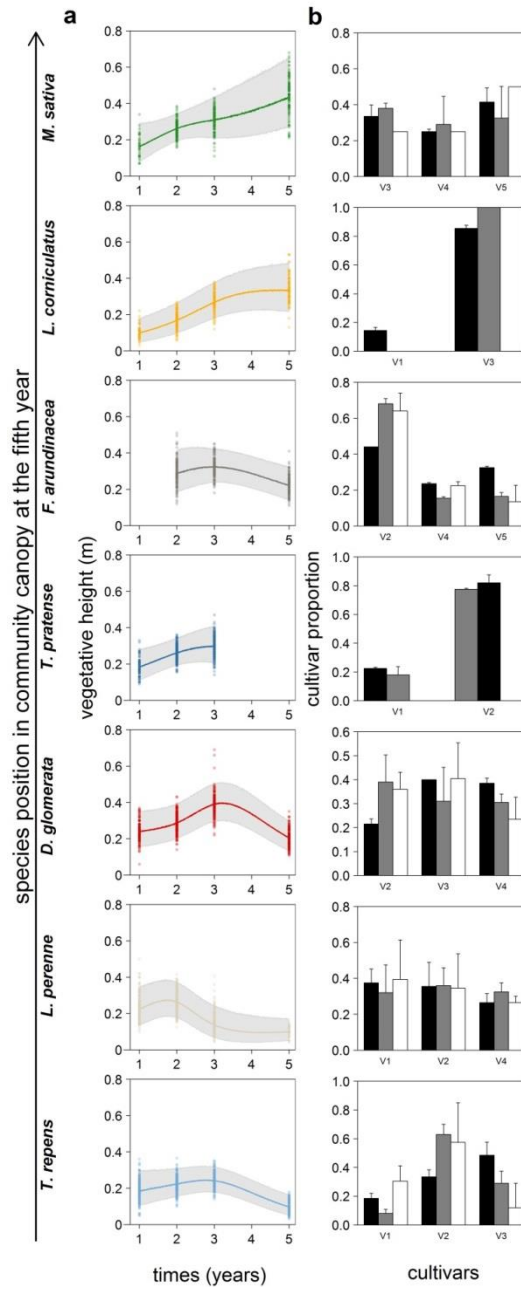


Figure S3 | Phenotypic (all mixtures) and genotypic dynamics (Mixture M-4) throughout the five years of the experiment. a, Evolution of species trait distribution over time. Solid lines represent the mean of each species trait distribution and the shaded areas represent the 95% predicted interval, after accounting for the variability between mixtures. **b,** Cultivar proportions for each species at years one, three and five after establishment (respectively black, grey and white bars) for the mixture with intermediate complex structure (M-4). Species are sorted by their heights at the fifth year and cultivars are ranked along their height values in the nursery for isolated plants (from shortest to tallest). *Trifolium pratense* had disappeared the fifth year, but was still present in the third year. *Festuca arundinacea* was missing in the first year because its establishment took longer than other species. Cultivar proportions were computed from individual samples which were taken several weeks after phenotypic measurements (when *Festuca arundinacea* was present). Values are means $\pm$ s.e.

Chapitre 6 - Effet de la diversité génétique sur la biodiversité associée du sol

Ce chapitre investit l'effet de la diversité génétique des espèces sur la structure et la diversité des communautés bactériennes et fongiques du sol. Il examine l'effet direct que pourrait avoir la diversité génétique mais aussi son effet indirect via son impact sur l'équilibre d'abondance et la structuration des espèces végétales dans des communautés multispécifiques après six ans d'installation (dispositif microparcelles). Ce chapitre s'appuie sur l'hypothèse de travail H3 : La diversité génétique, à travers son impact sur la diversité des espèces, mais aussi via un effet direct, impacte la biodiversité microbienne du sol associée, via la diversification des ressources pour les microorganismes.

Effet de la diversité génétique sur la biodiversité associée du sol dans des communautés prairiales

Julien Meilhac, Hervé Sanguin, et Isabelle Litrico

1. Introduction

La diversité spécifique des plantes impacte positivement la productivité et la stabilité des communautés végétale (Tilman, Wedin & Knops 1996; Hector *et al.* 1999; Prieto *et al.* 2015). Une plus grande production de biomasse est obtenue avec un nombre croissant d'espèces et favorise la concentration en carbone du sol par la sénescence des parties aériennes ou racinaires des plantes qui forment une litière à l'origine de la matière organique du sol. Cette dernière est la principale source de carbone pour les communautés microbiennes du sol qui sont généralement C-limitant (Farrell *et al.* 2014). La variation de la concentration en carbone a d'ailleurs été décrite comme un facteur important impactant les communautés microbiennes (Entry *et al.* 2004). Ainsi la diversité spécifique des plantes conditionne fortement les communautés microbiennes impactant leur biomasse (Zak *et al.* 2003; Eisenhauer *et al.* 2010; Lange *et al.* 2015; Zhalnina *et al.* 2015) et leur activité (Lange *et al.* 2015; Strecker *et al.* 2016). Cependant, la matière organique issue des parties sénescentes des plantes n'est pas la seule source de carbone, et une part non négligeable provient des exsudats racinaires qui favorise la biomasse microbienne (Grayston *et al.* 1998; Baudoin, Benizri & Guckert 2003). La diversité spécifique des plantes génère une variété des substrats carbonés liés à la diversité des composés chimiques des parties sénescentes et des exsudats végétaux (Hooper *et al.* 2000; Badri & Vivanco 2009) et les communautés microbiennes sont connues pour répondre à l'identité et à la diversité des substrats carbonés (Johnson, Phoenix & Grime 2008). Ainsi, de nombreuses études mettent en évidence une relation positive entre la diversité spécifique des plantes et la diversité microbienne (Finn *et al.* 2013; Weidner *et al.* 2015; Li *et al.* 2018) par le biais des cycles du carbone et de l'azote (Zak *et al.* 2003). Cette diversité microbienne influence positivement la multifonctionnalité des écosystèmes (Delgado-Baquerizo *et al.* 2017) en favorisant la disponibilité en azote et en phosphore dans le sol et conditionne la croissance et la biomasse des plantes (van der Heijden, Bardgett & van Straalen 2008) qui sont généralement limitante pour ces deux éléments (LeBauer & Treseder 2008). La disponibilité en azote est liée d'une part à une minéralisation accrue de la matière organique (Reich *et al.* 2012) en transformant des éléments organiques en éléments minéraux tel que les nitrates, et d'autre part à la fixation de l'azote atmosphérique réalisée par certains groupes bactériens contribuant à enrichir le sol en azote (van der Heijden, Bardgett & van Straalen 2008). Outre la diversité spécifique végétale, des études montrent que l'identité des espèces impacte fortement les communautés microbiennes (Niklaus, Wardle & Tate 2006), et

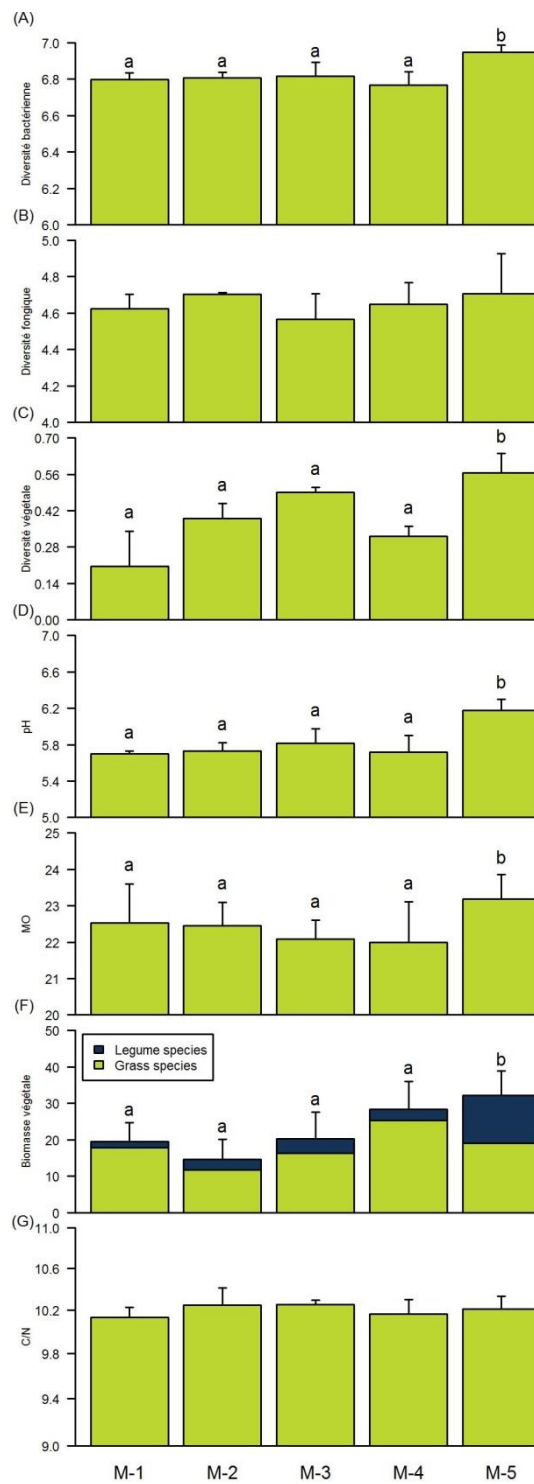


Figure 6.1. Effet mélange testé pour (A) la diversité microbienne bactérienne et (B) fongique à travers l'indice de Shannon, (C) la diversité végétale (Indice de Pielou), (D) le pH, (E) la matière organique du sol (MO) (F) la biomasse végétale et (G) le rapport C / N. Les lettres indiquent les groupes de mélanges significativement ($P < 0,05$) différents (test de contraste).

en particulier la présence de certains groupes fonctionnels (Milcu *et al.* 2008). Par exemple, la présence de légumineuses est reconnue pour être un élément majeur sélectionnant spécifiquement certains membres de la communauté microbienne en établissant des interactions symbiotiques avec certaines bactéries *rhizobia* qui ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique (Spehn *et al.* 2000a).

L'effet positif de la diversité spécifique des plantes sur la diversité microbienne peut être un levier intéressant dans le cadre de l'agroécologie pour améliorer la productivité des agroécosystèmes et la fertilité des sols (Vukicevich *et al.* 2016). Dans un contexte de diversification des cultures, les prairies temporaires semées, si elles sont multispécifiques, pourraient jouer un rôle majeur pour améliorer la durabilité des agrosystèmes et leur multifonctionnalité (Hector & Bagchi 2007). Les prairies temporaires sont fréquemment semées en multispécifique et favorisent la diversité microbienne du sol (Garbeva *et al.* 2006). L'introduction de prairies multispécifiques dans les rotations de cultures pourrait ainsi avoir des effets positifs durables sur les communautés microbiennes des agrosystèmes (Zhou *et al.* 2017b). La question de l'effet de la diversité des plantes sur les communautés microbiennes a été largement étudiée à l'échelle des espèces (Niklaus, Wardle & Tate 2006; Zhalnina *et al.* 2015; Strecker *et al.* 2016; Li *et al.* 2018) tandis que l'effet de la diversité génétique végétale sur les communautés microbiennes est peu investi. Bien que des effets directs de ce niveau de diversité pourraient être attendus, tels que des effets de la variabilité de composés des parties sénescentes et/ou des exsudats racinaires, des effets indirects par le biais de la diversité spécifique végétale (Johnson *et al.* 2010) pourraient avoir une action majeure. En effet si la diversité génétique favorise la coexistence et l'équilibre des espèces végétales (Whitlock *et al.* 2007) (chapitre 4) alors un effet indirect sur les communautés microbiennes est aussi attendu. Dans notre dispositif composé de microparcelles, nous avons testé l'effet de la diversité génétique sur la diversité microbienne en tenant compte de l'abondance des espèces après 6 ans d'installation des communautés prairiales multispécifiques. L'effet de la diversité génétique sur la composition et la diversité de la communauté microbienne a été analysé, puis les différents niveaux d'organisations (diversité génétique et spécifique végétale ainsi que la diversité microbienne) ont été reliés à la productivité des communautés végétales.

Tableau 6.1 Analyse de variance avec test de contraste selon le modèle Mod5 sur la diversité végétale (indice de Pielou entre groupes fonctionnels) et microbienne (indice de Shannon), le pH, la matière organique du sol (MO), la biomasse végétale et le rapport C / N. Le contraste entre groupes de mélanges g_1 (M-1, M-2, M-3, et M-4) *versus* g_2 (M-5) a été testé. « * » indique $P < 0,05$, « ** » $P < 0,01$ et « *** » $P < 0,001$. La décomposition de variance intra-sujet n'est pas montré. DDL correspond aux degrés de liberté, F au test de Fisher, et P la valeur de significativité au seuil $\alpha=0,05$.

Facteurs	Diversité									Variables											
	Diversité bactérienne			Diversité fongique			Diversité végétale			pH			MO			Biomasse végétale			Rapport C / N		
	DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P
Bloc	2	0,74	0,507	2	1,56	0,268	2	5,08	0,038	2	1,23	0,342	2	25,80	0,000	2	4,25	0,055	2	1,30	0,325
Mélange	4	2,36	0,140	4	0,31	0,862	4	9,18	<0,01 **	4	3,91	<0,05 *	4	2,82	0,099	4	2,93	0,092	4	0,30	0,873
g_1 vs g_2	1	8,81	<0,05 *	1	0,37	0,560	1	16,73	<0,01 **	1	14,82	<0,01 **	1	8,60	<0,05 *	1	6,15	<0,05 *	1	0,01	0,935
Saison	1	19,47	<0,01 **	1	5,89	<0,05 *	1	0,11	0,742	1	47,63	<0,001 ***	1	1,36	0,270	1	9,66	<0,05 *	1	4,83	0,053
Mélange : saison	4	1,57	0,256	4	0,16	0,953	4	0,77	0,568	4	0,59	0,675	4	0,23	0,916	4	0,95	0,473	4	0,52	0,721

2. Résultats

La diversité microbienne a été estimée à travers l'indice de Shannon de façon distincte entre les communautés bactériennes et fongiques. Aussi bien la diversité bactérienne que fongique est impactée par l'effet de la saison. C'est un résultat attendu car les épisodes de sécheresse liés à la période estivale affectent la teneur en eau du sol et la disponibilité de certains nutriments pouvant modifier le développement microbien du sol (Habekost *et al.* 2008). Alors que la fin de la période estivale est marquée par une diminution de la diversité bactérienne par rapport aux printemps, elle favorise au contraire la diversité fongique (Figure S6.1 en informations supplémentaires), et est un résultat connu (Matei *et al.* 2017). Aucun effet de la composition des mélanges (effet mélange) n'impacte la diversité microbienne (diversité bactérienne et fongique) (Tableau 6.1). Cependant, un test de contraste (effet diversité génétique) a été conduit pour tester les différences entre deux groupes de mélanges, un premier groupe g_1 avec les mélanges à faible diversité (M-1, M-2 et M-3) et à diversité moyenne (M-4) et un second groupe g_2 constitué exclusivement du mélange M-5 (forte diversité génétique). Le test de contraste (Tableau 6.1) montre une différence significative entre groupes de mélange pour la diversité bactérienne ($P < 0.05$) mais aucune différence pour la diversité fongique n'est significative, suggérant une plus grande sensibilité des communautés bactériennes aux variations d'équilibre d'abondance graminées/légumineuses (diversité végétale). Le mélange M-5 (forte diversité génétique) a une diversité bactérienne plus importante que les autres mélanges (Figure 6.1.A) équivalent entre eux. Afin de distinguer dans l'effet mélange la part attribuable à la composition génétique et celle à la diversité végétale (équilibre graminées/légumineuses), une analyse de variance à effet emboîté a été calculé (Tableau 6.2) et indique que la composition génétique des mélanges n'a pas d'effet significatif mais explique cependant une part non négligeable de la diversité bactérienne (17% respectivement). Aucun ou peu d'effet a été observé pour les communautés fongiques. Cependant, la composition génétique impacte directement la variation de la diversité bactérienne entre saison (Figure S2 en informations supplémentaires – mélange M-5 et M-2 les plus stables).

L'effet mélange a été testé sur la structure des communautés microbiennes sur trois niveaux taxonomiques de l'OTU au phylum en passant par l'ordre, afin d'identifier le niveau taxonomique le plus pertinent impacté par la composition des mélanges. Pour les

Tableau 6.2 Analyse de variance selon le modèle Mod6 sur la diversité microbienne (indice de Shannon bactérien et fongique). « * » indique $P < 0,05$, « ** » $P < 0,01$ et « *** » $P < 0,001$. R^2 indique le pourcentage expliqué par les facteurs. DDL correspond aux degrés de liberté, F au test de Fisher, et P la valeur de significativité au seuil $\alpha=0,05$.

		DDL	F	P	R^2
Communautés bactériennes					
inter-sujet					
	bloc	2	0,59	0,583	5,6
	Diversité végétale	1	4,135	0,088	19,5
	Diversité: mélange	4	0,899	0,519	17,0
	Diversité végétale: saison	1	0,197	0,672	0,9
intra-sujet					
	Diversité végétale	1	0,384	0,553	0,2
	Saison	1	28,574	<0,001 **	15,5
	Diversité végétale: mélange	1	3,928	<0,05 *	8,5
	Diversité végétale: saison	1	0,48	0,507	0,3
Communautés fongiques					
inter-sujet					
	bloc	2	1,283	0,344	8,4
	Diversité végétale	1	0,266	0,625	0,9
	Diversité: mélange	4	0,322	0,854	4,2
	Diversité végétale: saison	1	0,061	0,813	0,2
intra-sujet					
	Diversité végétale	1	0,094	0,767	0,3
	Saison	1	7,029	0,029 *	23,5
	Diversité végétale: mélange	1	1,063	0,434	14,2
	Diversité végétale: saison	1	0,615	0,455	2,1

Tableau 6.3 Analyse de variance multivariée par permutation (basé sur la dissimilarité de Bray-Curtis) sur la structure des communautés microbiennes (bactérienne et fongique) selon le modèle Mod5 à partir des abondances des taxons. « * » indique $P < 0,05$, « ** » $P < 0,01$ et « *** » $P < 0,001$.

Règne	Facteur	OTUs			Ordre			Phylum		
		DDL	F	P	DDL	F	P	DDL	F	P
Bactérie										
	Bloc	2	1,837	0,007 **	2	2,101	0,05 *	2	1,898	0,14
	Mélange	4	1,660	0,002 **	4	2,843	0,004 **	4	3,261	0,013 *
	Saison	1	2,969	0,001 **	1	10,281	0,001 **	1	10,811	0,002 **
	Mélange:saison	4	0,759	0,986	4	0,319	0,999	4	0,285	0,972
Champignon										
	Bloc	2	1,843	0,002 **	2	1,174	0,28	2	1,090	0,364
	Mélange	4	1,364	0,024 *	4	1,191	0,256	4	1,324	0,259
	Saison	1	4,905	0,001 **	1	10,634	0,001 **	1	19,099	0,001 **
	Mélange:saison	4	0,742	0,972	4	0,833	0,704	4	1,451	0,194

communautés bactériennes (tableau 6.3), il y a un fort effet mélange sur l'ensemble des trois niveaux taxonomiques (OTU, ordre et phylum) traduisant un fort effet mélanges sur la structure des communautés. A l'inverse, les communautés fongiques sont beaucoup moins sensibles. L'effet mélange sur les communautés fongiques est significatif uniquement au niveau des OTUs, traduisant un effet à une échelle fine des communautés mais qui ne se répercute pas à des niveaux taxonomiques plus élevés contrairement aux bactéries. La figure 6.2 permet de visualiser la variabilité de la structure des communautés bactériennes suivant le type de mélange selon une méthode d'ordination type NMDS. L'impact le plus important est observé pour le mélange dont la diversité génétique est la plus élevée (M-5) notamment si on considère le niveau taxonomique des OTUs (Figure 6.2.A), les différences entre mélanges s'estompant si on considère les niveaux taxonomiques plus élevés (Figure 6.2.B et C). Ces résultats confirment l'impact de la diversité génétique sur les communautés microbiennes préalablement observé au niveau de leur diversité (tableau 6.3).

L'effet mélange a ensuite été testé sur l'abondance de chaque taxon au niveau phylum et au niveau de l'ordre pour les communautés bactériennes (Figure 6.3). Au niveau phylum, des différences sont significatives ($P < 0.05$) seulement pour les protéobactéries. Dans la mesure où le mélange M-5 semble se différencier suivant les trois niveaux taxonomiques étudiés (Figure 6.2), des tests de contrastes ont été calculés entre un premier groupe g_1 composé des mélanges à diversité génétique faible et moyenne (M-1, M-2, M-3, M-4) et un second groupe g_2 composé des mélanges à forte diversité génétique (M-5). L'abondance de cinq taxons diffère significativement entre les deux groupes de mélange au niveau phylum, notamment pour les Acidobactéries, les Bactéroidetes, les Chloroflexi et les Lastecsibactéries (Figure 6.3). Les mêmes tests de contrastes ont été calculés au niveau de l'ordre. L'abondance de 31 taxons diffère entre les deux groupes de mélanges sur les 141 taxons identifiés dont les dix plus abondants correspondent à Rhizobiales, Acidobacterales, Frankiales, Chitinophagales, Mycropepsales, corynebacterales, Flavobacterales, Pseudomonadales, et Steroidobacterales (voir tableau S6.2 en informations supplémentaires pour les taxons bactériens non représentés). Le groupe de mélanges g_1 (faible et moyenne diversité génétique) a une plus forte abondance pour les acidobacterales, frankiales, et micropepsales qui sont les groupes les plus abondants en moyenne dans les communautés bactériennes tandis que le groupe g_2 favorise les taxons les moins représentés, à l'exception de rhizobiales. Malgré une structure des communautés fongiques qui n'était pas significativement différente entre mélanges au

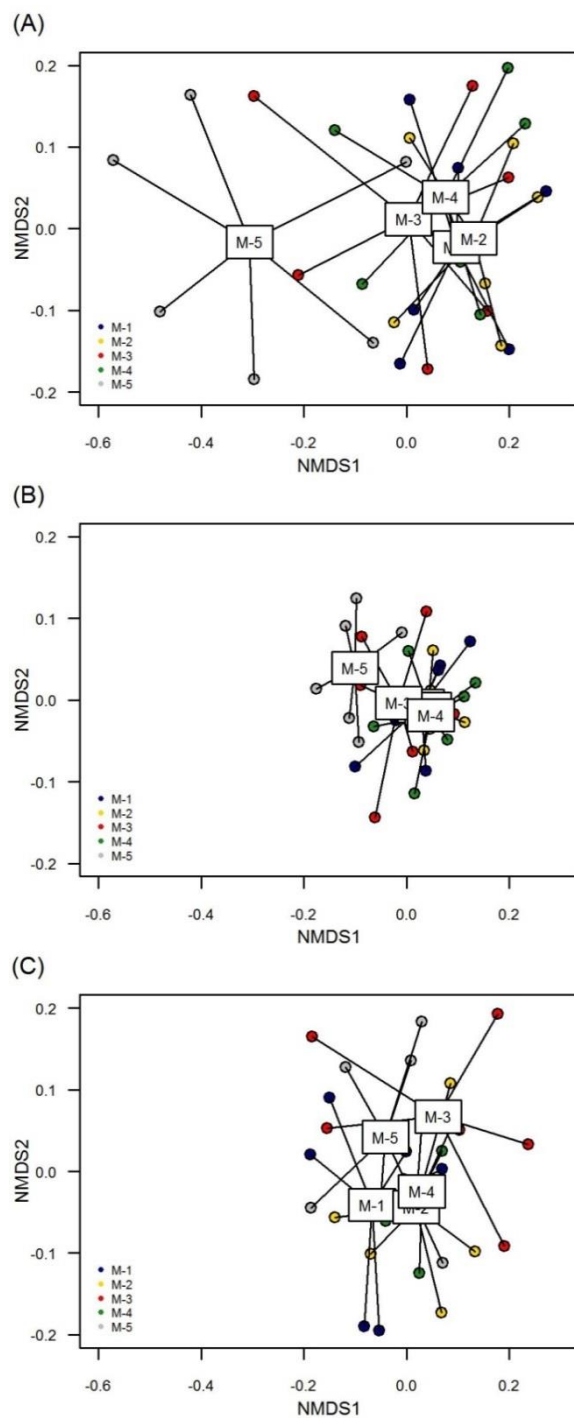


Figure 6.2. Ordination (NMDS) des mélanges par niveau taxonomique pour les communautés bactériennes (A) OTU, (B) ordre et (C) phylum. Chaque point représente un mélange, les carrés indiquent l'identité du mélange et correspondent à la moyenne de chaque mélange sur les trois blocs. Les données regroupent les deux saisons.

niveau de l'ordre, l'effet mélange avec contraste a été testé sur les taxons. Cet effet mélange était significatif ($P < 0.05$) pour sept taxons fongiques sur les 117 au total (table S3 en informations supplémentaires).

Pour d'identifier l'origine de l'effet mélange sur la diversité microbienne et particulièrement bactérienne, une analyse de variance a été conduite sur plusieurs variables (diversité végétale, pH, MO, biomasse végétale et le rapport C/N) avec des tests de contraste entre groupes de mélanges g_1 et g_2 (Tableau 6.1). Les mélanges diffèrent significativement ($P < 0,05$) au niveau de la diversité végétale et du pH. Le mélange M-5 (forte diversité génétique) a la plus forte diversité végétale (équilibre d'abondance graminées/légumineuses) avec le mélange M-4 (Figure 6.1) ainsi que des valeurs de pH les plus élevées traduisant un sol moins acide que les quatre autres mélanges. Pour MO et la biomasse végétale, les groupes de mélanges sont significativement différents ($P < 0.05$) avec des valeurs de MO et de biomasse végétale les plus élevées pour le mélange M-5 (Figure 6.1). Le rapport C / N n'était pas différent ni entre les mélanges ni entre les groupes. L'effet de la composition génétique (effet mélange emboîté dans la covariable diversité végétale (équilibre graminées/légumineuses) a été testé sur l'ensemble des variables (résultats non montrés). Aucun effet direct n'a été significatif (au seuil de 0,05).

La corrélation entre l'ensemble des variables (matrice de corrélation) a été testée afin d'identifier les variables corrélées entre elles. La diversité bactérienne (Figure 6.4) est positivement corrélée au pH et à la biomasse végétale, et dans une moindre mesure à la MO et à la diversité végétale. Elle est par contre négativement corrélée au rapport C / N. A noter que C et N sont fortement corrélés à MO et donc indirectement à la diversité bactérienne. La diversité fongique quant à elle est positivement corrélée au rapport C/N, au pH et à la MO. Afin de pouvoir quantifier l'intensité des relations liant les différentes variables pour expliquer la production de biomasse sans introduire de biais (lié l'autocorrélation des variables), un modèle d'équations structurelles (sem) a été calculé séparément pour la diversité bactérienne et fongique. Une plus grande diversité végétale se traduit par une meilleure représentativité des légumineuses (Figure S6.3 en informations supplémentaires). Cette diversité est positivement corrélée à la MO qui influence le pH. Le rapport C / N ne semble pas significativement impacté par la MO (Figure 6.5.A et B). La diversité bactérienne est positivement et fortement impactée par le pH (0,58) du sol et négativement par le rapport

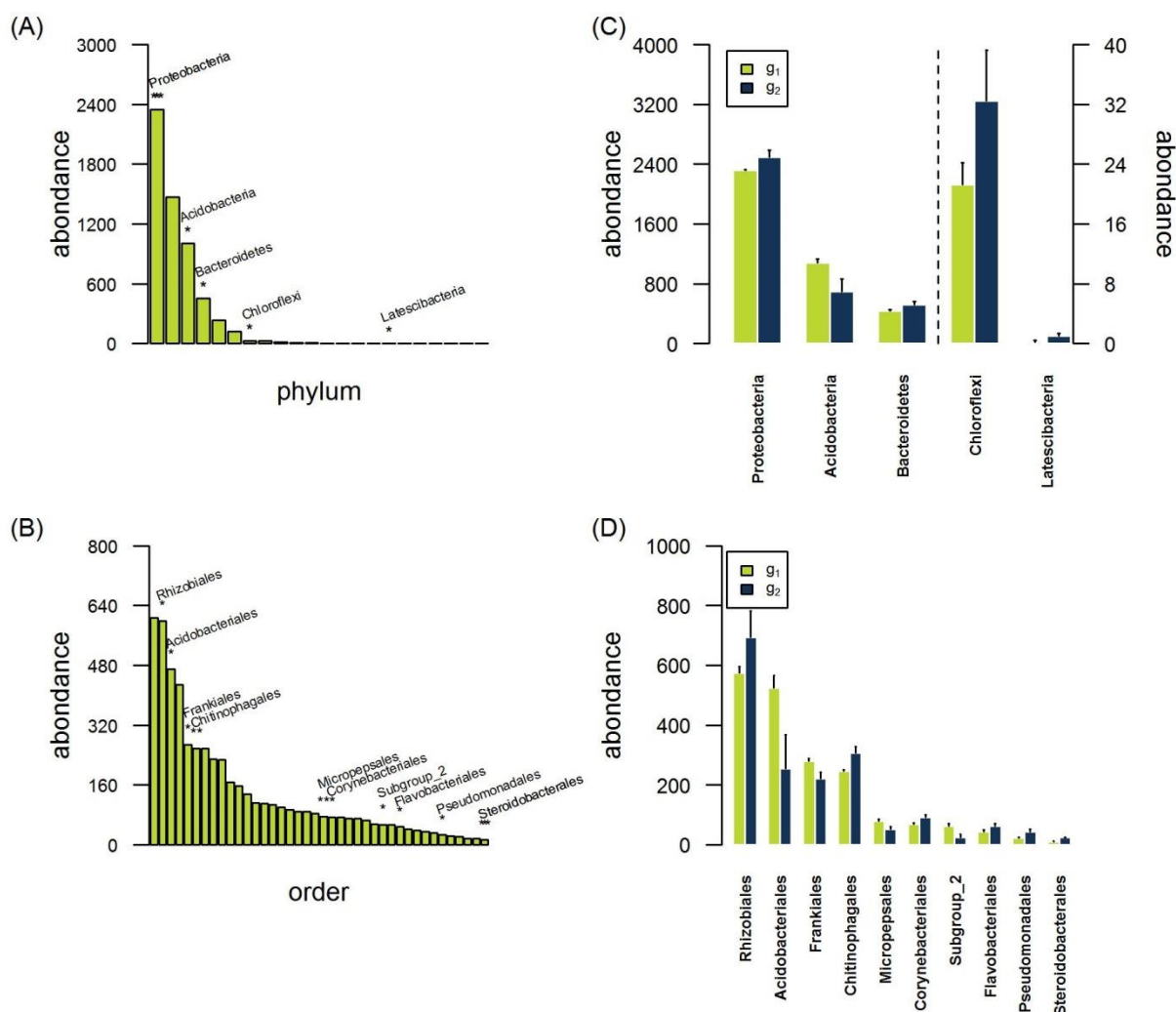


Figure 6.3. Abondance des taxons au niveau du phylum et de l'ordre. (A et B) Moyenne des abondances des taxons (tous mélanges confondus), les noms des taxons au-dessus des barres indiquent un effet significatif du facteur mélange issu du test de contraste entre deux groupes de mélanges g_1 composé des mélanges à faible et moyenne diversité génétique (M-1, M-2, M-3, M-4) et g_2 avec les mélanges à forte diversité génétique (M-5). (B) Pour l'ordre, seul les 40 taxons les plus abondants sont représentés sur la figure. (C et D) Seule l'abondance par groupe de mélanges (g_1 et g_2) des taxons avec des différences significatives ($P < 0.05$) entre groupes ont été représenté. (B et D) Le taxon Subgroup_2 est un taxon bactérien non cultivable appartenant au phylum des acidobactéries.

C / N (-0,28). La MO n'a pas d'influence sur la diversité bactérienne (Figure 6.5.A). Cette dernière impacte fortement la biomasse végétale (0,61). La diversité fongique (Figure 6.5.B) est positivement impactée par le rapport C / N (0,46) contrairement à la diversité bactérienne et par le pH. MO influence davantage la diversité fongique (0,16) que bactérienne (0,02). Cependant la diversité fongique influence moins la biomasse végétale (0,16). Enfin, La décomposition de la variance (tableau 6.4) révèle que la diversité bactérienne impacte de façon équivalente que la proportion de bactéries fixatrices d'azote (approximation) dans la production de biomasse végétale (respectivement 15,4 % et 11,3%), montrant un effet dissocié de ces deux facteurs (diversité au sens large et présence de certains taxons clés).

3. Discussion

La diversité génétique végétale influence la structure des communautés bactériennes et favorise l'abondance des taxons les plus rares. A l'inverse la diversité génétique végétale semble très peu impacter les communautés fongiques, à l'exception de quelques taxons qui semblent mieux représentés avec une forte diversité génétique des plantes comme Paraglomerales et Diversisporales. Ces ordres sont des champignons mycorrhiziens donc l'augmentation de leur abondance avec la diversité génétique pourrait impacter la capacité des plantes à exploiter les ressources du sol. La meilleure représentativité des taxons bactériens les plus rares aboutit à une meilleure diversité bactérienne pour le mélange M-5 (forte diversité génétique) alors que la diversité fongique reste équivalente quel que soit les mélanges. L'effet de la composition génétique des mélanges a été testé mais ne semble pas intervenir dans les variations de la diversité microbienne ou celles des covariables (biomasse végétale, pH, MO, ou C / N), ce qui suggère que l'effet de la diversité génétique pourrait agir davantage de façon indirecte via un meilleur équilibre d'abondance entre graminées et légumineuses. Cependant elle a effet sur la variation saisonnière de la diversité microbienne et suggère un effet sur la stabilité temporelle de la diversité bactérienne.

La diversité génétique améliore la représentativité des légumineuses dans les mélanges (Figure 6.1.F). Cette meilleure représentativité pourrait être à l'origine de l'effet de la diversité génétique végétale sur la diversité microbienne (Johnson *et al.* 2010) et particulièrement bactérienne. La diversité végétale semble impacter principalement la diversité microbienne en favorisant la concentration en matière organique (MO), confirmant de précédentes observations (van der Heijden *et al.* 1998; Wardle *et al.* 2004), et contribue à

Table 6.4. Analyse de variance de la biomasse végétale selon le modèle Mod6. La diversité bactérienne (indice de Shannon) et la proportion de bactérie fixatrice (proportion des ordres rhizobiales et frankiales) a été testé comme facteur explicatif de la biomasse. « * » indique $P < 0,05$, « ** » $P < 0,01$ et « *** » $P < 0,001$. R^2 indique le pourcentage expliqué pour chaque facteur entre les sources de variabilité lié aux variations entre sujets et au sein des sujets. Le sujet fait référence à l'identité parcellaire.

		DDL	F	P	R^2
Inter-sujet					
	bloc	2	3,485	0,071	30,1
	Diversité bactérienne	1,0	3,556	0,089	15,4
	Proportion bactéries fixatrice d'azote	1	2,625	0,136	11,3
Intra-sujet					
	Diversité bactérienne	1	5,081	0,0421 *	24,8
	Proportion bactéries fixatrices	1	2,404	0,145	11,7
Totale					
	bloc	2			
	Diversité bactérienne	1			19,3
	Proportion bactéries fixatrices	1			11,5

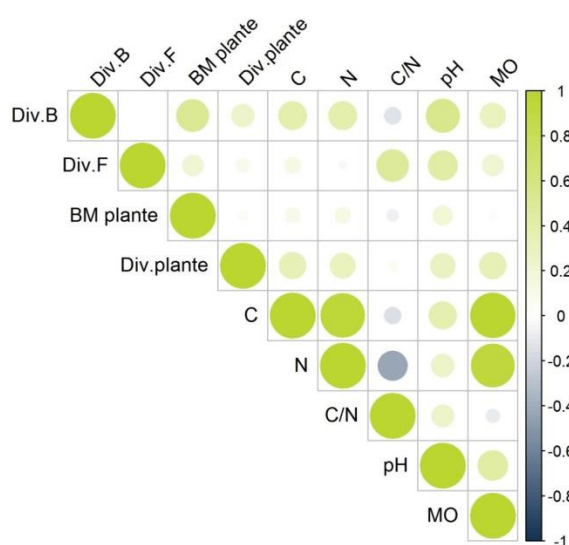


Figure 6.4. Matrice de corrélation entre les indices de diversités végétales (Div .plante correspondant à l'indice de Pielou pour les plantes) et microbiennes (Div.B et Div.F correspondant respectivement à l'indice de Shannon pour les bactéries et champignon), la biomasse végétale (BM plante), teneur en carbone totale (C), teneur en azote totale (N), le rapport carbone sur azote (C / N), pH, et la matière organique (MO). La taille des points indique l'intensité de la corrélation entre les variables et la couleur indique le signe de la corrélation.

augmenter le pH du sol. Ce dernier peut être modifié selon la nature des espèces végétales présentes. Par exemple les graminées affectent différemment le pH que les légumineuses (Zhou *et al.* 2017a) qui tendent à le diminuer. Or le pH est un des facteurs majeurs expliquant la diversité bactérienne dans notre expérimentation. C'est un résultat en adéquation avec de très nombreuses études qui placent le pH du sol comme le premier paramètre affectant les communautés bactériennes (Osborne *et al.* 2011; DeForest *et al.* 2012; Zhalnina *et al.* 2015; Zhou *et al.* 2017a). En effet, le pH influence l'abondance de certains taxons notamment les bactéries acidophiles appartenant aux acidobactéries. Par conséquent, la plus faible abondance de ce taxon dans le mélange M-5 peut être expliquée par un pH plus élevé que dans les autres mélanges dans lesquels il est plus abondant. Bien que dans ce mélange (M-5), la plus forte abondance des légumineuses ne semblent pas diminuer le pH du sol. De plus, ces légumineuses réalisent des interactions symbiotiques avec des groupes particuliers appartenant aux Rhizobiales, à travers notamment le genre *Rhizobium*, pour la fixation de l'azote atmosphérique (Musarrat, Zaidi & Khan 2010) Or une meilleure représentativité des légumineuses a été observée pour le mélange M-5 pouvant expliquer l'abondance plus élevée de ce taxon pour ce mélange. Enfin, la MO ne semble pas avoir d'influence directe sur la diversité bactérienne mais intervient indirectement via son impact sur le pH. Il a été montré que la MO du sol peut modifier positivement ou négativement le pH (Wang *et al.* 2013) en fonction de la nature des résidus et de leur alcalinité (Butterly *et al.* 2010). La présence de légumineuses dans les résidus végétaux augmente le pH du sol (Tang *et al.* 1999), corroborée par nos résultats.

Des valeurs C / N faibles semblent favoriser la diversité bactérienne (relation négative). Les communautés bactériennes ont un besoin en azote plus importants que les champignons pour la composition de leur tissu. Les tissus bactériens sont caractérisés par un rapport C / N plus faible que les tissus des communautés fongiques (Bakken 1985; Wallander *et al.* 2003), traduisant une exigence en azote plus importante pour les communautés bactériennes. Par conséquent, de faible rapport C / N favorise le développement bactérien alors que de fortes valeurs favorisent un développement fongique (Grosso, Baath & De Nicola 2016). Ces communautés fongiques répondent différemment des communautés bactériennes (plus forte relation avec le rapport C / N en valeur absolue). Le pH semble être un facteur de moindre importance pour les communautés fongiques. La MO impacte davantage la diversité fongique que la diversité bactérienne ce qui pourrait être lié au fait que les champignons tolèrent des

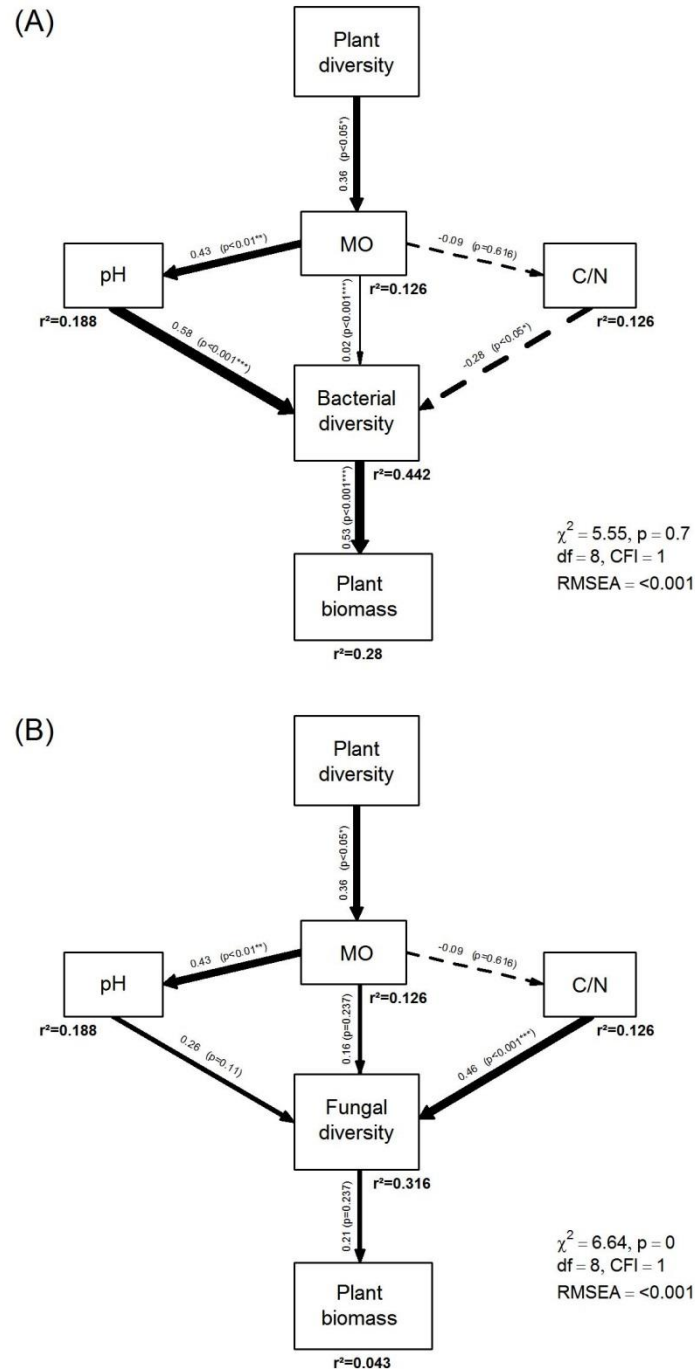


Figure 6.5. Modélisation d'équations structurelles (sem) décrivant les effets de plusieurs drivers (diversité végétale, MO, pH, et le rapport C / N) sur la réponse de la diversité des communautés bactériennes (A) et fongique (B). La biomasse végétale a été testée comme réponse à la diversité des communautés microbiennes (A et B). Les lignes continues et en pointillées indiquent respectivement des relations positives et négative. L'épaisseur des lignes et les nombres adjacents (standardized path coefficients) indiquent l'intensité de la relation avec la valeur p associée. R^2 indique la proportion de variance expliquée des variables. Chi-carré (χ^2), Degrés de liberté (df), niveau de probabilité (p), comparative fit index (CFI) et Root Mean Square Error of Approximation (RMSEA).

conditions en azote plus limitantes vis-à-vis du carbone organique d'où un rapport C/N positivement corrélé avec la diversité fongique dans notre expérimentation.

Ainsi, nos résultats semblent appuyer le fait que la diversité végétale impacte directement la teneur en MO et influence indirectement le pH du sol. Cependant, aucune relation significative entre diversité végétale et rapport C/N n'a pu être mise en évidence alors qu'une relation positive aurait pu être attendue liée à la présence d'espèces fixatrices d'azote. Ce résultat pourrait suggérer que la diversité génétique des plantes influence davantage la quantité de MO que sa composition via une plus forte production de biomasse. L'augmentation de la diversité bactérienne semble affecter plus fortement et positivement la production de biomasse végétale que la diversité fongique. Cette relation entre diversité bactérienne et biomasse végétale peut être expliquée par une plus grande représentativité des légumineuses (figure S6.3) qui à travers la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique pourrait augmenter la disponibilité en azote du sol pour les espèces végétales associées non fixatrices. Cependant, l'effet de cette diversité bactérienne sur la biomasse végétale n'est pas exclusivement lié à la présence de taxon fixateur d'azote mais bien à la diversité bactérienne dans son ensemble. Or cette diversité bactérienne est reconnue pour avoir un effet sur la multifonctionnalité des écosystèmes (Delgado-Baquerizo *et al.* 2017), notamment en influant sur les cycles de carbone et azote (Louis *et al.* 2016) par la décomposition de MO et donc indirectement sur la disponibilité de certains nutriments indispensables pour la croissance des plantes. Cependant, la définition du groupe bactérien fixateur d'azote tel qu'il a été défini dans cette thèse présente un biais car elle est qu'une grossière approximation de ce groupe. En effet la présence de taxon connu pour fixer l'azote atmosphérique ou ayant des gènes impliqués dans cette fixation ne signifie pas nécessairement une fixation effective. Ainsi, une prise en compte plus large au sein des protéobactéries et actinobactéries en ciblant l'ensemble des genres bactériens connus pour fixer l'azote permettrait une estimation plus fine de ce groupe. Par ailleurs, la mesure de l'activité de fixation d'azote au niveau des sols par estimation du taux de réduction de l'acétylène (méthode ARA) ou la caractérisation de l'abondance et diversité de gènes impliqués dans la fixation d'azote comme le gène *nifH* (Collavino *et al.* 2014; Bouffaud *et al.* 2016) permettrait une meilleure estimation.

4. Conclusion

La diversité génétique semble donc impacter la diversité microbienne, notamment par une meilleure représentativité de certains groupes fonctionnels (bactéries fixatrices d'azote et mycorhizes), sa stabilité. Bien que ces résultats restent à confirmer sur d'autres matériels végétaux, ils apportent des arguments sur l'importance de considérer la diversité génétique des plantes pour la diversité microbienne qu'elle favorise et ses potentielles rétroactions positives. Ces résultats permettent de mieux appréhender le fonctionnement des niveaux d'organisation dans un écosystème. Cette étude a une portée importante pour le domaine de l'agroécologie dans un contexte de diversification des cultures. La diversité génétique favorise la productivité des communautés multispécifiques prairiales via principalement une meilleure coexistence des espèces et des groupes fonctionnels. La diversité spécifique des plantes est une composante majeure dans la stabilité de production et la qualité lorsque des légumineuses sont incluses (Deak *et al.* 2007). Nos résultats suggèrent donc un lien entre communautés végétales et microbiennes pouvant être à l'origine d'externalité positive en particulier en termes de biomasse. Cette étude ouvre le débat sur l'intérêt de considérer la diversité génétique comme complémentaire à la diversité spécifique dans le domaine agronomique car elle peut-être un des leviers d'action efficace pour améliorer la durabilité de nos agrosystèmes et leurs externalités positives pour répondre aux enjeux de demain.

Informations supplémentaires

Table S6.1. Proportion d'espèces et de variétés semées pour des mélanges. La proportion est exprimée en pourcentage de masse de semences. Chaque variété utilisée est décrite selon cinq traits agronomiques selon trois niveaux de diversité: faible (+), moyen (++), élevé (+++). Un code de variété a été attribué aux variétés non inscrites au catalogue officiel (*D. glomerata*, *F. arundinacea* et *L. perenne*).

Espèces	variétés	Proportions (masse de graine)					Description des variétés			
		M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Biomasse	Hauteur	Surface foliaire	phénologie
<i>Dactylis glomerata</i>		0,115	0,115	0,115	0,115	0,115				
	Vaillant	1,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	+++	++	+
	Lucullus	0,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	++	++	++
	Accord	0,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	++	+	+
	Otop	0,000	0,000	1,000	0,000	0,166	++	++	+++	++
	E1V5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,166	+	+	+	+++
	President	0,000	1,000	0,000	0,000	0,166	+++	+++	+++	++
<i>Festuca arundinacea</i>		0,231	0,231	0,231	0,231	0,231				
	Soni	1,000	0,000	0,000	0,500	0,125	++	++	++	+++
	Elodie	0,000	0,000	0,000	0,250	0,125	+++	++	++	+++
	Noria	0,000	0,000	0,000	0,250	0,125	+	++	++	++
	Gardian	0,000	1,000	0,000	0,000	0,250	+++	+++	+++	+
	E3V5	0,000	0,000	1,000	0,000	0,250	+	+	+	++
	Mariellendo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	++	++	++	+++
<i>Lolium perenne</i>		0,115	0,115	0,115	0,115	0,115				
	Gagny	0,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	++	+	++
	Aberstar	1,000	0,000	0,000	0,333	0,166	+++	++	+	++
	Juras	0,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	+	++	+++
	Tonnus	0,000	1,000	0,000	0,000	0,166	+++	+++	+++	+
	E6V5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,166	++	++	++	++
	Rgmaroc	0,000	0,000	1,000	0,000	0,166	++	+++	+	+
<i>Trifolium repens</i>		0,115	0,115	0,115	0,115	0,115				
	Abervantage	1,000	0,000	0,000	0,333	0,333	++	+	+	++
	Aran	0,000	0,000	0,000	0,333	0,333	++	++	++	++
	Giga	0,000	1,000	1,000	0,333	0,333	++	+++	+++	+++
<i>Trifolium pratense</i>		0,115	0,115	0,115	0,115	0,115				
	Diplo	1,000	1,000	0,000	0,666	0,666	++	++	++	++
<i>Lotus corniculatus</i>	Formica	0,000	0,000	1,000	0,333	0,333	++	+	+	++
		0,078	0,078	0,078	0,078	0,078				
	Leo	1,000	0,000	0,000	0,500	0,500	++	+	+	++
	Altus	0,000	1,000	0,000	0,500	0,250	++	+++	+++	+
<i>Medicago sativa</i>	PX-été	0,000	0,000	1,000	0,000	0,250	++	+	+++	++
		0,231	0,231	0,231	0,231	0,231				
	Timbale	1,000	0,000	0,000	0,333	0,166	+++	+++	+++	++
	Galaxie	0,000	1,000	0,000	0,333	0,166	+++	+++	++	++
	Kali	0,000	0,000	0,000	0,333	0,166	++	+++	++	++
	Meldor	0,000	0,000	0,000	0,000	0,166	++	+++	++	++
	Rafia	0,000	0,000	1,000	0,000	0,166	++	+++	++	++
	Luzelle	0,000	0,000	0,000	0,000	0,166	++	+	+	++

Table S6.2. Abondance moyenne des taxons bactériens pour chaque groupe de mélanges g₁ et g₂ pour lesquels le test de contraste était significatif ($P < 0.05$). $\Delta(g_2-g_1)$ indique la différence d'abondance moyenne du taxon entre le groupe g₂ et g₁. « es » désigne l'erreur standard.

Ordre	g ₁	g ₂	$\Delta(g_2-g_1)$
	Moyenne $\pm$ es	Moyenne $\pm$ es	
<i>Rhizobiales</i>	575,33 $\pm$ 20,97	694,17 $\pm$ 88,40	118,83
<i>Acidobacteriales</i>	523,92 $\pm$ 42,59	254,67 $\pm$ 112,27	-269,25
<i>Frankiales</i>	279,83 $\pm$ 8,45	221,17 $\pm$ 19,99	-58,67
<i>Chitinophagales</i>	245,46 $\pm$ 5,96	306,33 $\pm$ 20,57	60,88
<i>Micropepsales</i>	79,88 $\pm$ 6,33	52,50 $\pm$ 7,87	-27,38
<i>Corynebacteriales</i>	69,13 $\pm$ 3,70	91,67 $\pm$ 8,49	22,54
<i>Subgroup_2</i>	61,17 $\pm$ 9,21	23,50 $\pm$ 12,27	-37,67
<i>Flavobacteriales</i>	43,63 $\pm$ 5,20	61,83 $\pm$ 9,38	18,21
<i>Pseudomonadales</i>	21,75 $\pm$ 1,77	42,83 $\pm$ 8,10	21,08
<i>Steroidobacterales</i>	10,13 $\pm$ 1,64	23,67 $\pm$ 1,74	13,54
<i>JG36.TzT.191</i>	9,96 $\pm$ 1,54	16,50 $\pm$ 1,87	6,54
<i>Catenulisporales</i>	13,17 $\pm$ 0,84	3,17 $\pm$ 0,82	-10,00
<i>Chloroflexales</i>	7,79 $\pm$ 1,87	17,67 $\pm$ 6,25	9,88
<i>Desulfarculales</i>	4,17 $\pm$ 1,50	13,50 $\pm$ 4,08	9,33
<i>Rhodobacterales</i>	4,00 $\pm$ 0,41	5,67 $\pm$ 0,89	1,67
<i>S085</i>	3,54 $\pm$ 0,45	5,83 $\pm$ 1,47	2,29
<i>Pyrinomonadales</i>	1,96 $\pm$ 0,49	5,17 $\pm$ 2,01	3,21
<i>Thermomicrobiales</i>	1,92 $\pm$ 0,42	4,00 $\pm$ 0,61	2,08
<i>MBNT15</i>	1,67 $\pm$ 0,44	4,33 $\pm$ 1,43	2,67
<i>RCP2.54</i>	1,63 $\pm$ 0,46	4,50 $\pm$ 1,06	2,88
<i>CCD24</i>	0,88 $\pm$ 0,15	4,50 $\pm$ 1,87	3,63
<i>Desulfuromonadales</i>	1,04 $\pm$ 0,27	2,83 $\pm$ 1,43	1,79
<i>Subgroup_13</i>	1,17 $\pm$ 0,59	0,17 $\pm$ 0,20	-1,00
<i>PLTA13</i>	0,00 $\pm$ 0,00	2,33 $\pm$ 1,14	2,33
<i>Latescibacteriales</i>	0,21 $\pm$ 0,26	1,00 $\pm$ 0,35	0,79
<i>Parvibaculales</i>	0,21 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,20	0,46
<i>Coxiellales</i>	0,08 $\pm$ 0,05	0,83 $\pm$ 0,54	0,75
<i>Bacteroidetes_VC2.1_Bac22</i>	0,04 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,54	0,63
<i>SJA.28</i>	0,04 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,00	0,46
<i>Thalassobaculales</i>	0,04 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,20	0,29
<i>DS.100</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,33 $\pm$ 0,20	0,33

Table S6.3. Abondance moyenne des taxons fongiques pour chaque groupe de mélanges g₁ et g₂ pour lesquels le test de contraste était significatif ($P < 0.05$). $\Delta(g_2-g_1)$ indique la différence d'abondance du taxon entre le groupe g₂ et g₁. « es » désigne l'erreur standard.

Ordre	g ₁	g ₂	$\Delta(g_2-g_1)$
	Moyenne $\pm$ es	Moyenne $\pm$ es	
<i>Pleosporales</i>	728,96 $\pm$ 52,96	927,33 $\pm$ 92,94	198,38
<i>Microascales</i>	45,92 $\pm$ 6,11	159,83 $\pm$ 100,44	113,92
<i>Paraglomerales</i>	72,75 $\pm$ 1,90	49,17 $\pm$ 13,26	-23,58
<i>Xylariales</i>	68,29 $\pm$ 5,96	22,83 $\pm$ 10,61	-45,46
<i>Rhizophlyctidales</i>	43,42 $\pm$ 4,96	70,17 $\pm$ 7,62	26,75
<i>Diversisporales</i>	8,33 $\pm$ 1,72	17,50 $\pm$ 8,58	9,17
<i>Thelephorales</i>	3,83 $\pm$ 0,62	16,50 $\pm$ 11,49	12,67

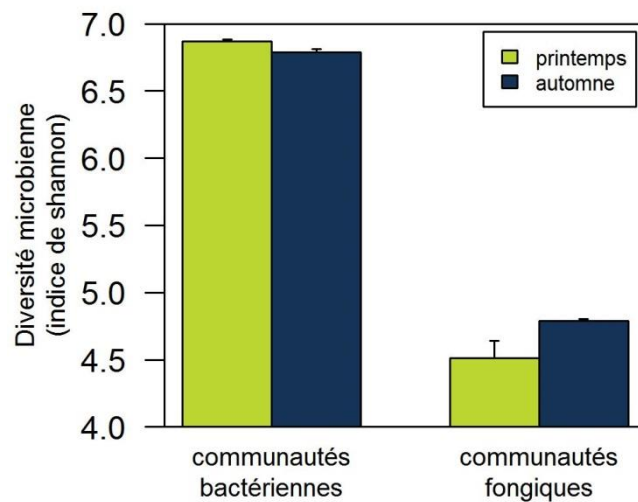


Fig S6.1. Diversité des communautés microbiennes et fongiques (indice de Shannon) par saison. Moyenne $\pm$ erreur standard.

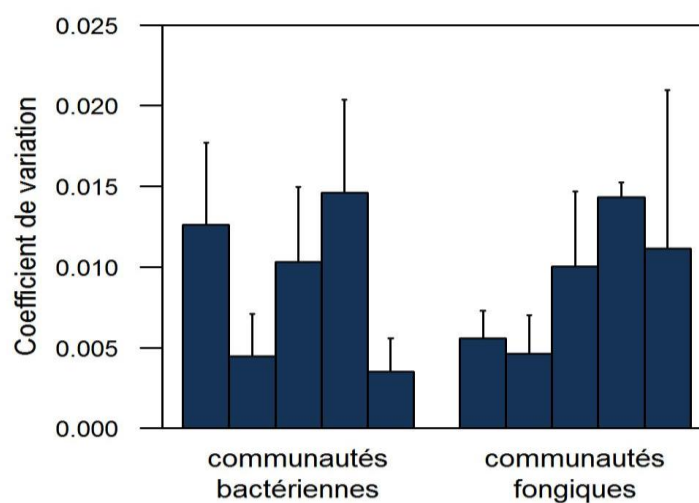


Fig S6.2. Coefficient de variation de la diversité microbienne (indice de Shannon) entre les deux séries de mesures (variation liée aux saisons). Moyenne $\pm$ erreur standard. Chaque barre représente un mélange correspondant de gauche à droite à M-1, M-2, M-3, M-4, et M-5 (que ce soit pour les communautés bactériennes ou fongiques).

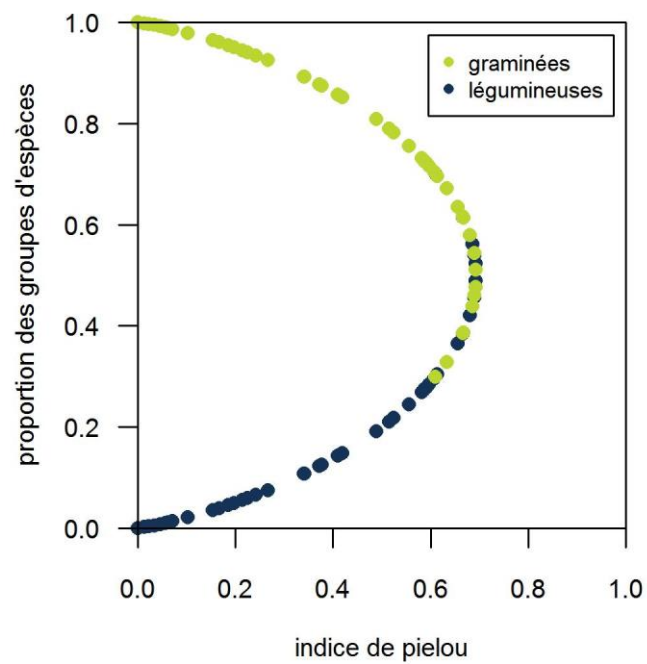
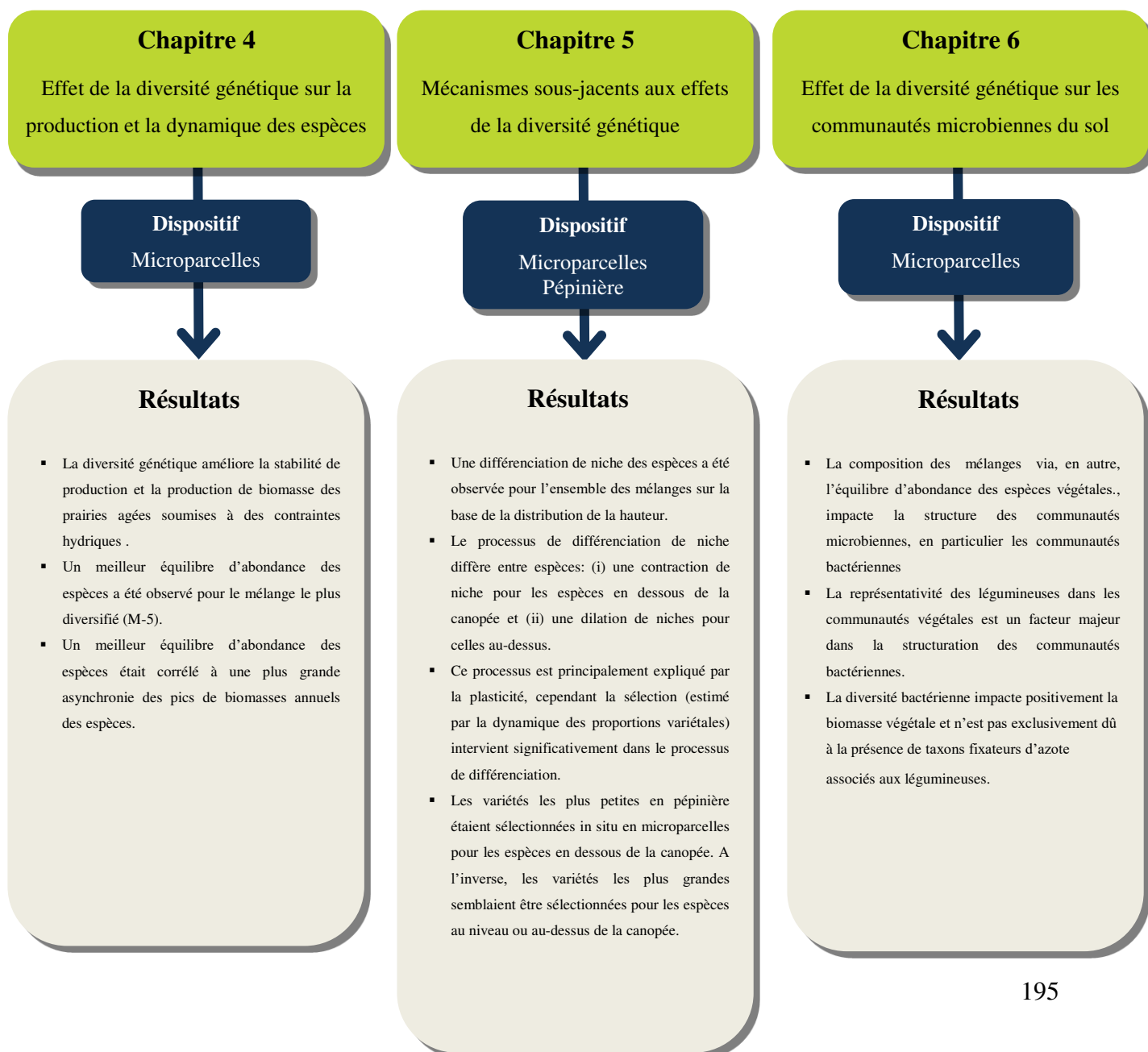


Figure S6.3. Corrélation entre l'indice de Pielou (diversité végétale) avec la proportion des légumineuses et des graminées. Une augmentation de la diversité végétale est associée à une plus forte proportion des légumineuses traduisant une meilleure représentativité de ce groupe d'espèces dans le couvert contrairement aux graminées.

Chapitre 7 - Discussion générale

Cette thèse vise à répondre à deux principaux objectifs, d'une part, la mise en évidence de l'effet de la diversité génétique sur la production de communautés prairiales multispécifiques et sur la biodiversité associée du sol, et d'autre part, l'identification des mécanismes sous-jacents à ces effets. Pour répondre à ces objectifs, cette thèse repose sur une situation réelle via un dispositif d'évaluation de mélanges prairiaux installé chez et par un sélectionneur de plantes fourragères. Les résultats obtenus seront discutés autour des hypothèses formulées dans le chapitre introductif puis la question de la valorisation de la diversité génétique en amélioration des plantes sera explorée.



1. Diversité génétique et production de biomasse des communautés multispécifiques

Nos résultats ont conforté l'hypothèse d'un effet positif de la diversité génétique des espèces sur la production de biomasse (H1). En effet, nous avons observé des différences significatives de production de biomasse annuelle entre mélanges, et en particulier lors des dernières années. Alors que l'année suivant l'installation n'est pas marquée par de grandes différences de production de biomasse des différents mélanges, à l'exception de M-3 (type méditerranéen) probablement en raison de sa faible performance attendue en climat tempéré, dès la deuxième année le mélange génétiquement le plus diversifié se situe parmi les mélanges les plus productifs. En effet, la faible performance du mélange typé Sud (M-3) est un résultat attendu car les variétés ont été choisies par le sélectionneur pour être adaptées au climat type méditerranéen et donc peu adaptées sous nos latitudes (climat tempéré). La plus faible production de ce mélange typé Sud durant les trois premières années, caractérisées par des conditions climatiques extrêmement favorables (faible stress hydrique), n'a pas été plus performant en termes de production de biomasse lors des dernières années plus sèches. En revanche, le bon comportement du mélange le plus diversifié génétiquement s'est amplifié au cours du temps. A partir de la quatrième année le mélange M-5 (diversifié) tendait à être plus productif et se distinguait significativement des autres mélanges la cinquième année ($P < 0,05$). Les deux dernières années du suivi ont été caractérisées par une sécheresse qui semble renforcer la plus-value de la diversité génétique sur la production de biomasse de la communauté. Cette meilleure réponse du mélange M-5 conduit à une plus grande stabilité de la production de biomasse interannuelle. Ces résultats corroborent parfaitement ceux obtenus par Prieto *et al.* (2015) mettant en évidence de façon similaire, sur des micro-communautés prairiales, une meilleure production de biomasse associée à une plus grande stabilité en condition de stress hydrique avec une diversité génétique croissante. L'étude de Fridley and Grime (2010) montre également que la diversité génétique pourrait occuper une place centrale dans la capacité de résilience de la production de biomasse de communautés multispécifiques en condition de stress (profondeur du sol) via une plus grande capacité adaptative des espèces (Hooper *et al.* 2005; Vellend 2006; Grenier, Barre & Litrico 2016). Mais cet effet positif de la diversité génétique ne semble pas opérer uniquement en condition de stress, puisque le mélange le plus diversifié génétiquement se situe à des niveaux équivalents aux mélanges les

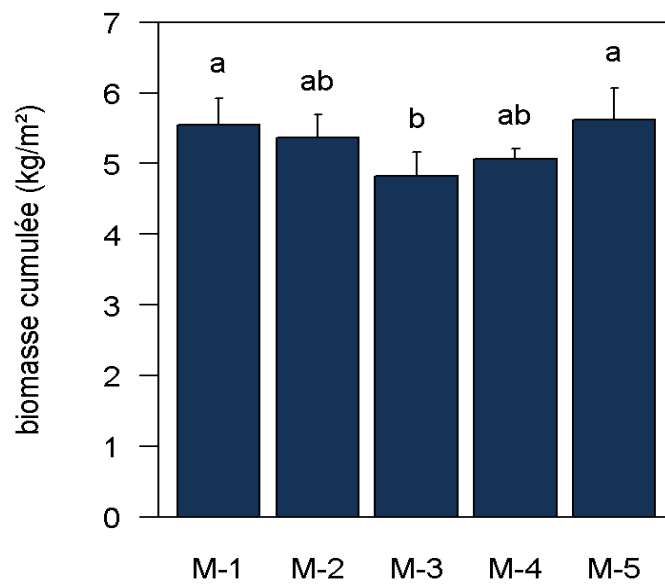


Figure 7.1 Biomasse totale cumulée sur les cinq années d'expérimentation (2012 à 2016). Moyenne $\pm$ erreur standard. Les lettres indiquent les différences significatives ($P < 0.05$) entre les mélanges.

plus productifs en début d'expérimentation. De plus, la plus grande production du mélange diversifié en fin de d'expérimentation permet de mettre en évidence une plus-value de la diversité génétique des espèces du mélange sur la biomasse totale du mélange avec l'âge de la prairie. Ce résultat est important, dans le sens où la pérennité des prairies est un objectif parfois recherché. Bien que nous obtenions pas de différences sur la biomasse cumulée sur les cinq ans entre mélange (Figure 7.1 ; $P < 0,05$; $F = 6.141$, $DF = 4$) à l'exception du mélange typé sud, dans notre étude la diversité génétique a permis d'atteindre rapidement de bons niveaux de production de biomasse et d'améliorer cette production avec le temps et en conditions non optimales. Bien que la généralisation d'un tel résultat nécessite de tester d'autres espèces sous d'autres conditions de stress, la plus-value de la diversité génétique sur la production de biomasse et sa stabilité est attendue si l'on considère que cette diversité génétique au sein des espèces permet la mise en place de mécanismes de complémentarité spatio-temporelle.

2. Diversité génétique et stabilité de la production

Certaines études (Isbell, Polley & Wilsey 2009; Prieto *et al.* 2015; Aussenac *et al.* 2017) montrent une stabilité de production, en conditions hydriques limitantes et non limitantes et corrélient cette stabilité au niveau d'asynchronie des pics de biomasse des espèces. La diversité génétique semble favoriser le décalage de la dynamique de croissance des espèces au sein des communautés aboutissant à une différenciation temporelle des niches. Cette asynchronie des espèces permet de maximiser la stabilité de production de biomasse (Loreau & de Mazancourt 2008) en répartissant les réponses des espèces dans le temps et favorisant ainsi leur complémentarité temporelle (Morin *et al.* 2014; Rodriguez & Bertiller 2014). En cas de stress hydrique cet effet de l'asynchronie pourrait être renforcé car c'est en conditions limitantes que la compétition entre individus est la plus forte. Dans notre expérience, le niveau de synchronie des espèces semble identique entre mélanges les trois premières années, c'est à partir de l'année 4 que le mélange M-5 (diversifié) se distingue significativement par une plus forte asynchronie des espèces et c'est à compter de la 4^{ème} année que les pressions de compétition pourraient être les plus fortes, notamment en raison de la ressource hydrique limitante. L'asynchronie des pics de biomasse annuels semble réduire la compétition entre espèces. D'ailleurs, nous avons mis en évidence une très forte corrélation entre le niveau de synchronie des espèces et leur équilibre d'abondance, par ailleurs cette relation est

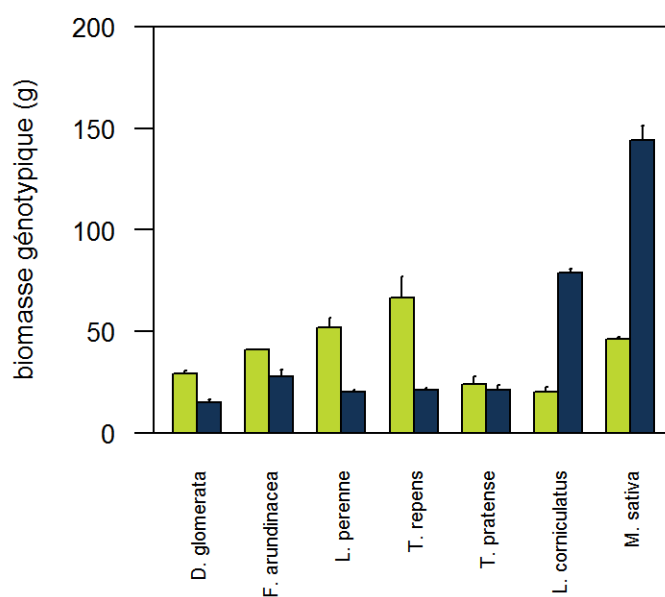


Figure 7.2 Biomasse génotypique au printemps et en fin d'été mesuré en pépinière de plantes isolées (mesures effectuées en 2016 – deuxième année d'exploitation de la pépinière). Moyenne $\pm$ erreur standard.

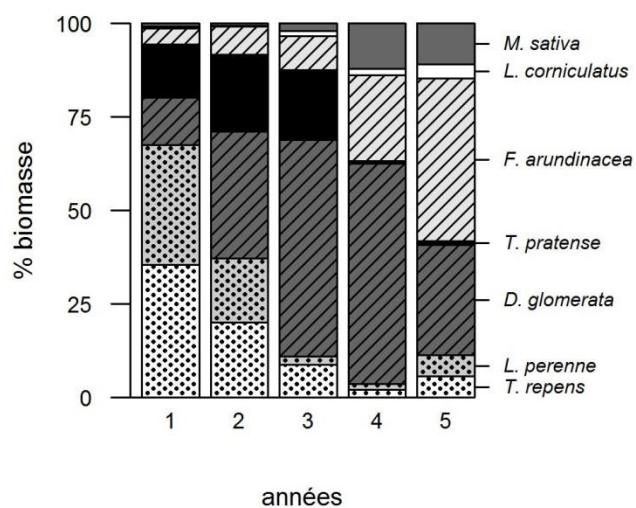


Figure 7.3 Pourcentage des espèces dans les mélanges par année. Le pourcentage correspond à la moyenne des mélanges.

documentée dans la littérature (Loreau & de Mazancourt 2008; Gross *et al.* 2014; Aussenac *et al.* 2017). Le mélange M-5 (diversifié) semble maintenir un meilleur équilibre d'abondance des espèces qui pourrait être à l'origine de sa plus forte productivité en condition de stress hydrique. Il a été montré que la diversité spécifique améliore la stabilité temporelle de la production de biomasse au niveau de l'ensemble de la communauté (Chen & Liu 2011; Gross *et al.* 2014; van Rooijen *et al.* 2015). Cet effet de la diversité spécifique peut être expliqué par une meilleure exploitation des ressources sous l'impact de la complémentarité spatio-temporelles, comme suggéré dans notre étude mais aussi par le mécanisme du « sampling effect » qui permet d'avoir une production d'une ou plusieurs espèces mieux adaptées à un moment donné. Ces deux mécanismes non-exclusifs peuvent aussi être avancés dans notre cas puisque dans cet essai, la biomasse de *M. sativa* était plus abondante dans le mélange le plus diversifié par rapport aux autres mélanges (voir figure 3 – chapitre 4). Or cette espèce est particulièrement adaptée aux conditions de stress hydrique de par sa physiologie et produit la grande partie de sa biomasse l'été (Figure 7.2). Ainsi une meilleure coexistence des espèces, via leur complémentarité, pourrait permettre par « sampling effect » une meilleure productivité et stabilité de productivité du mélange en augmentant la probabilité d'avoir une espèce qui soit adaptée et qui soit mieux représentée dans le mélange à un moment donnée. La contribution de chaque espèce dans la production de biomasse totale des mélanges évolue considérablement entre le début et la fin de l'expérimentation. La première année, *L. perenne* et *T. repens* assurent plus des deux tiers de la biomasse totale pour l'ensemble des mélanges contre moins de 10% la cinquième année (Figure 7.3). Parallèlement, *F. arundinacea* voit sa proportion dans la biomasse totale augmenter considérablement. De la même façon que pour *M. sativa*, *F. arundinacea* est une espèce qui résiste davantage au stress hydrique que *D. glomerata* largement dominant l'année 3, ce qui pourrait expliquer sa meilleur représentativité au cours du temps en plus de sa faible rapidité d'installation. Par ailleurs, une production nettement supérieure de *L. perenne* a été observée l'année 5 dans le mélange M-3 par rapport aux autres mélanges (Fig 3. –chapitre 4). Or cette espèce pour ce mélange (M-3) est composée exclusivement d'une population d'écotypes originaire du Maroc, donc très bien adaptée au climat type méditerranéen, ce qui pourrait expliquer sa bonne performance pour ce mélange, suggérant encore une fois l'importance du « sampling effect ».

3. Les mécanismes sous-jacents aux effets de la diversité génétique

Un meilleur équilibre d'abondance des espèces avec une diversité génétique croissante est un résultat rarement démontré dans la littérature (Whitlock *et al.* 2007). Cet effet de la diversité génétique pourrait être relié à une meilleure capacité adaptative des espèces lorsqu'elles sont génétiquement diversifiées (Vellend 2006; Huyghe & Litrico 2008) mais les mécanismes à l'origine n'ont pas été clairement démontrés. Dans notre expérience, nous avons montré que la complémentarité temporelle (via l'asynchronie des pics de biomasse) des espèces pouvait être un mécanisme important pour expliquer leur équilibre d'abondance. Or l'asynchronie des espèces est favorisée par la diversité génétique après trois années d'installations des mélanges. Cette différenciation temporelle des espèces peut être liée d'une part à la plasticité des génotypes au sein de chaque espèce en condition de stress hydrique et d'autre part pourrait être due à de la sélection favorisant des génotypes davantage asynchrones entre espèces. Les pics de biomasses des espèces sont généralement corrélés à la date d'épiaison ou de floraison pour les espèces prairiales (Duparc *et al.* 2013) et la gamme de variation de cette date est relativement restreinte et fortement héritable au sein des variétés (Tahernezhad *et al.* 2018) (héritabilité au sens large proche de 0,8 dans notre expérimentation – chapitre 3). La distribution des dates d'épiaison/floraison (en nombre de jours juliens) des variétés au sein et entre les espèces peut-être une bonne estimation du niveau de synchronie des pics de biomasse des variétés. Par ailleurs la date d'épiaison/floraison est classiquement utilisée en amélioration des plantes pour estimer les niveaux de précocité variétale. Nos résultats sur l'assignation moléculaire ont mis en évidence des évolutions des proportions variétales installées en cinq années d'expérimentation et la date d'épiaison des variétés a été mesurée dans notre pépinière de plantes isolées. La figure 7.4 montre la distribution des précocités (en nombre de jours juliens) pour chaque variété installée en pépinière. Pour la plupart des espèces, des différences variétales peuvent être observées à l'exception de *M. sativa* pour laquelle toutes les variétés ont des distributions de précocité rigoureusement proches. Or l'outil moléculaire a pu mettre en évidence une sélection à l'échelle variétale pour certaines espèces dans le mélange génétiquement diversifié M-5. La proportion de la variété V-5 pour *D. glomerata* a augmenté l'année 5 (Fig 2. – chapitre 5), or cette variété tend à être plus précoce parmi celles utilisées dans ce dispositif. De même pour *T. repens* où la variété V-2 la plus précoce semble avoir été sectionnée. A l'inverse les variétés V-1 et V-2 ont été sélectionnées pour *L. perenne* et la variété V-6 pour *F. arundinacea* correspondant à des

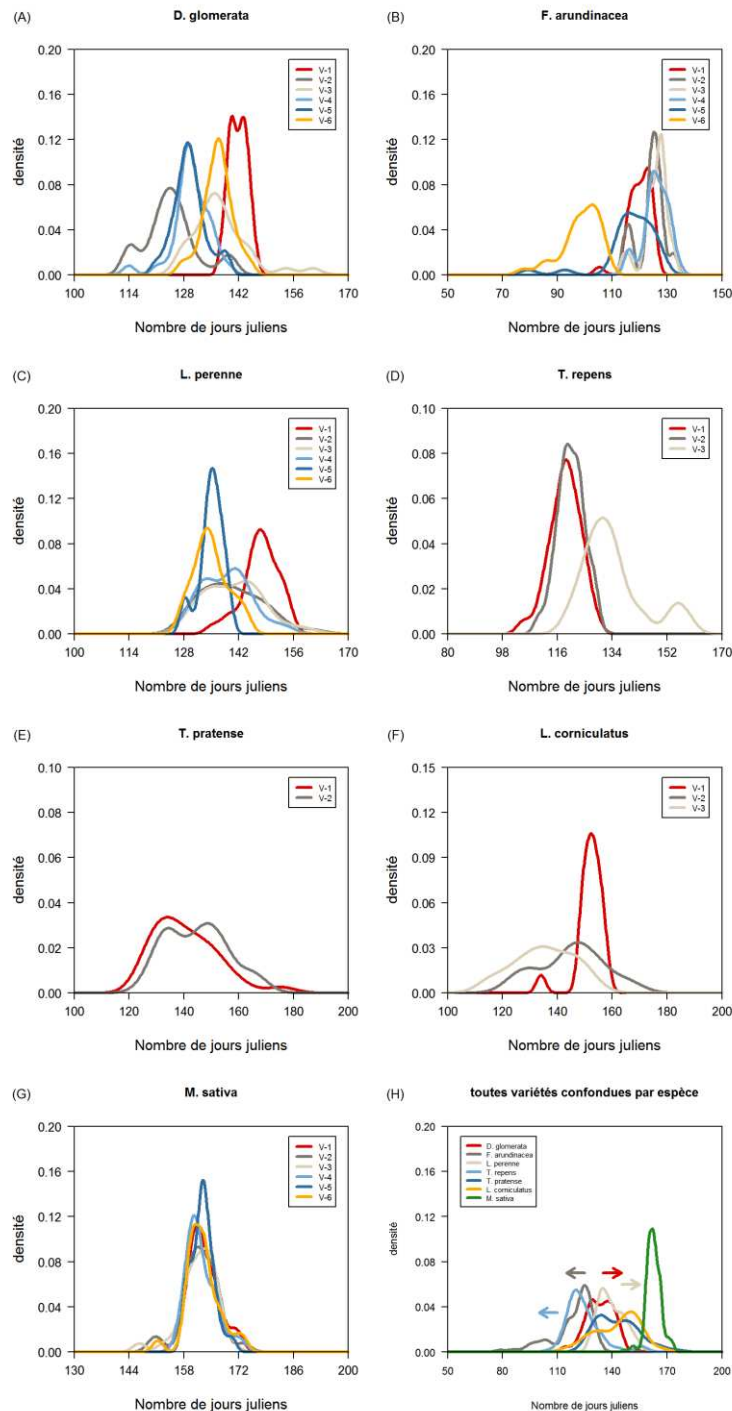


Figure 7.4 Distribution des précocités par espèces mesurées en pépinières de plantes isolées. La précocité a été estimée en fonction du nombre de jours juliens pour arriver à l'épiaison/floraison des individus. (H) Distribution de la précocité des espèces toutes variétés confondues. Les flèches indiquent la direction de sélection opérée in situ dans les mélanges par rapport aux variétés sélectionnées et à leur valeur de précocité en pépinière.

variétés tardives. Par conséquent, la sélection de variétés plus précoces pour certaines espèces et plus tardives pour d'autres par rapport à leur valeur en pépinière devrait maximiser la différenciation temporelle des espèces (Figure 7.7.H). Une sélection impactant la précocité des espèces est rendue possible par une variabilité inter-variétale, appuyant ainsi l'hypothèse H2 selon laquelle la diversité génétique permet d'élargir la gamme de phénotypes pour la réponse à la sélection à l'origine des phénomènes de complémentarité entre espèces. Les résultats que nous avons obtenus sur la dynamique des distributions de la hauteur renforcent cette hypothèse.

La hauteur végétative est un trait majeur en écologie, il est impliqué dans l'acquisition de la lumière (Westoby 1998) et dans les interactions compétitives entre espèces (Falster & Westoby 2003; Pontes *et al.* 2012), et les stratégies d'acquisition de la lumière contrastées se traduisent par des valeurs contrastées de hauteur, ce qui fait de la hauteur un candidat idéal pour suivre une différenciation de niche entre espèces. Le suivi de la hauteur végétative *in situ* dans les mélanges a mis en évidence une différenciation de niche au cours du temps. Les deux premières années sont caractérisées par une forte redondance des espèces dans leur distribution pour ce trait, c'est à partir de la troisième année que les espèces se distinguent. L'évolution des niches était dépendante des espèces considérées et liée à leur stratégie pour l'acquisition de la lumière. Certaines de nos espèces avaient clairement des stratégies contrastées. *L. perenne* et *T. repens* avait une stratégie qualifiée d'horizontale car ces espèces évitent la compétition dans l'espace vertical en recherchant dans l'espace horizontal des puits de lumière (Gautier, Varlet-Grancher & Baudry 1998; Roscher, Kutsch & Schulze 2011). *T. repens* a la capacité de développer des stolons alors que *L. perenne* se propage par diffusion dans le couvert à la recherche de ces puits de lumière. A l'inverse les cinq autres espèces avaient une stratégie qualifiée de verticale car l'acquisition de la lumière pour ces espèces passent par la compétition dans l'espace verticale à travers l'élongation de leurs organes (élongation des limbes/gaines pour les graminées et élongation des tiges pour les légumineuses). Les espèces à stratégies horizontales tendaient clairement vers des valeurs de hauteurs plus faible associées à une contraction de leur niche (variance plus faible autour de la moyenne). Ainsi, la position relative de ces espèces par rapport à la canopée les place dans des conditions de fortes pressions compétitives liées à la faible luminosité en dessous de la canopée. La contraction des niches pour les espèces subissant de fortes pressions environnementales a déjà été observé (Scheele *et al.* 2017). A l'opposé, les espèces avec une

stratégie verticale tendaient vers des valeurs plus hautes associées à un relâchement de la niche pour les espèces situées au-dessus de la canopée (*L. corniculatus* et *M. sativa*). Alors qu'une large part de la différenciation de niche était attribuable à la plasticité des génotypes des espèces, appuyé par l'absence de sélection des variétés, une autre part non négligeable était liée à la sélection opérée au niveau variétal. La mise en évidence de la différenciation de niche sur une part de temps relativement court et l'implication des mécanismes adaptatifs, plasticité et sélection, dans la mise en place de cette différenciation de niche est extrêmement rare dans la littérature (Zuppinge-Dingley *et al.* 2014). C'est un des résultats majeurs de notre étude. La sélection opère de façon cohérente avec la stratégie des espèces. Ainsi pour les espèces à stratégie horizontale, les variétés les plus petites auront tendance à être sélectionnées *in situ* et inversement pour les espèces à stratégie verticale où les variétés les plus grandes sont sélectionnées, maximisant la différence de niches entre ces deux groupes d'espèces. Autre fait marquant, une meilleure représentativité en termes d'abondance de biomasse a été associée aux espèces au-dessus de la canopée (*M. sativa* et *L. corniculatus*) suggérant un relâchement des pressions compétitives pour ces espèces pouvant leur permettre une meilleure production de biomasse. Il convient également de souligner l'extrême rapidité du mécanisme de sélection, alors que Lipowsky, Schmid and Roscher (2011), montre que cinq saisons de croissance peuvent être nécessaires pour démontrer une sélection de génotypes spécifiquement adaptés aux mélanges d'espèces prairiales. Dans notre étude, les changements majeurs dans les proportions variétales opèrent rapidement et trois ans semblent suffisants pour observer cette sélection. Or Après la troisième année, les changements dans les proportions variétales sont faibles et pourraient indiquer un équilibre entre les interactions compétitives des espèces et leur complémentarité. Cadotte *et al.* (2017) montre que les communautés avec une plus faible dissimilarité, notamment en termes de hauteur végétative, avaient des effets sélectifs plus forts que dans les communautés à forte dissimilarité où le mécanisme de complémentarité prévalait. De la même façon dans notre expérimentation, la faible différence de hauteur entre espèces les premières années favoriserait les mécanismes de sélection et qui, avec la plasticité, permet une différenciation des niches dans l'espace verticale où la complémentarité prévaudrait *in fine*. Cette absence de sélection observée les dernières années pourrait aussi être liée à la sécheresse des deux dernières années qui, en diminuant la production de biomasse des espèces, diminuerait les interactions compétitives liées à une plus faible densité des mélanges.

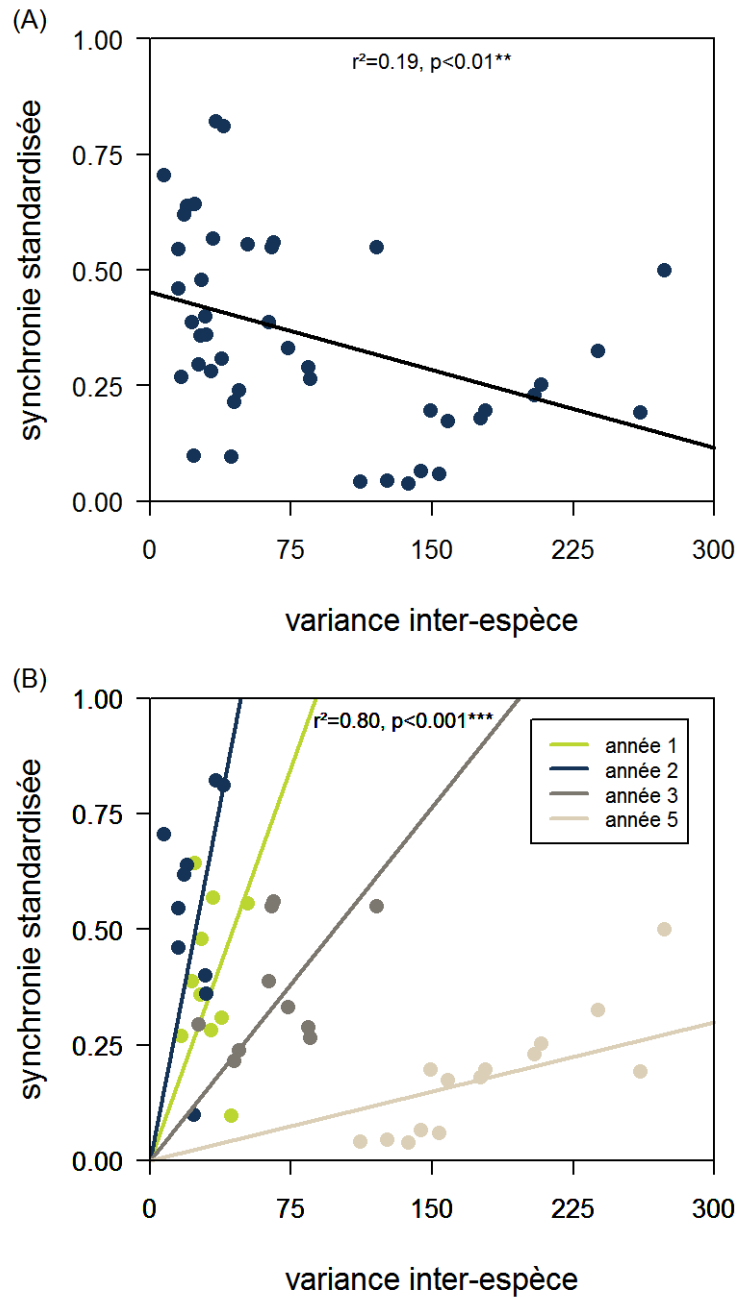


Figure 7.5 Corrélation entre le niveau de synchronie standardisée et la variance inter-espèce pour la hauteur végétative. La régression était significativement négative ($F=10,1839$, $Df=1$, $P<0,001$) sur l'ensemble des années (A), la régression était significativement positive ($F=41,589$, $Df=4$, $P<0,001$) lorsque la régression était testée par année sans intercepte (B). La synchronie des espèces est calculée sur la base de la formule présentée au chapitre 2 et adaptée en utilisant la biomasse des espèces standardisées par leur biomasse produite sur l'année selon la formule $\rho_{ij} = \frac{b_{ij}}{\sum_i^s b_{ij}}$ où b_{ij} est la biomasse de l'espèce j au temps i . La biomasse totale de la communauté a été calculée à partir de cette biomasse spécifique standardisée.

La rapidité de mise en place de mécanisme de sélection et du processus de différenciation est à mettre en lien avec les nombreuses études qui montrent une augmentation de la complémentarité des espèces au cours du temps (Naeem *et al.* 1994; Cardinale *et al.* 2007; Marquard *et al.* 2009; Allan *et al.* 2011). L'importance du mécanisme de sélection dans le processus de différenciation de niche a déjà été suggérée dans d'autres études (Zupping-Dingley *et al.* 2016; Schob *et al.* 2017), mais, aucune étude n'avait jusqu'alors mis en évidence de façon concomitante une sélection et une différenciation des espèces associées à des stratégies d'acquisition d'une ressource au cours du temps. De plus les études qui montrent simultanément et de façon expérimentale une contraction de niche pour certaines espèces et une dilation pour les autres restent rares en écologie.

Ainsi il a été montré que la sélection variétale favorise la différenciation de niches des espèces dans l'espace vertical et pourrait favoriser la différenciation temporelle des espèces estimée via leur asynchronie, via la sélection de variétés de précocités différentes et de hauteurs différentes particulièrement. La figure 7.5 montre une relation négative entre la différenciation temporelle et la différenciation dans l'espace vertical suggérant une covariation positive au cours du temps. Autre fait intéressant, bien que cette relation était négative sur l'ensemble des années, cette relation devenait significativement positive lorsque la relation était testée au sein de chaque année, suggérant qu'une forte différenciation temporelle des espèces ne rend pas nécessaire une forte différenciation dans l'espace vertical pour une année considérée. Autrement dit, les communautés avec des espèces davantage synchrones, avec de fortes interactions compétitives, se différencient davantage dans l'espace vertical que des communautés avec des espèces plus asynchrones.

4. Effet de la diversité génétique sur la biodiversité associée du sol

Nous avons vu comment la diversité génétique pouvait impacter la structuration des espèces au sein d'une communauté végétale ainsi que sa biomasse. Il est clair que la communauté végétale est incluse dans un écosystème et que cette diversité génétique et spécifique végétale peut répondre et impacter les organismes associés occupant le même écosystème, en particulier les organismes du sol. Nous avons montré (chapitre 6) que la diversité génétique pouvait positivement impacter la diversité microbienne, et en particulier la diversité bactérienne, par une meilleure représentation des taxons les plus rares en termes d'abondance. L'effet de la diversité génétique était davantage lié à des effets indirects que directs via un

meilleur équilibre d'abondance graminées/légumineuses. Or la diversité de ces espèces et leur abondance peuvent impacter la quantité et la nature des exsudats racinaires (Grayston *et al.* 1998). Lamb, Kennedy and Siciliano (2011) montre dans son étude que l'abondance des espèces végétales peut intervenir dans la structuration des communautés microbiennes via une complémentarité des profils d'exsudats de racines ou dans la nutrition des plantes par les racines. Mais les études investissant le rôle de l'équilibre des espèces végétales dans cette structuration des communautés microbiennes restent relativement rares tandis que la relation positive entre diversité spécifique végétale et microbienne est bien étudiée (Zak *et al.* 2003; Loranger-Merciris *et al.* 2006; Niklaus, Wardle & Tate 2006; De Groote *et al.* 2018; Li *et al.* 2018). L'étude Johnson *et al.* (2010) est l'une des rares études investissant le rôle de la diversité génétique des plantes sur la diversité fongique, mais aucun effet positif direct de la diversité génétique n'a pu être mis en évidence et il suggère un effet davantage indirect via l'équilibre des espèces végétales. Dans notre étude, un effet positif direct de la diversité génétique végétale sur la stabilité de la diversité microbienne a pu être observé. Une explication possible pourrait être la plus grande asynchronie des espèces mise en évidence dans le mélange diversifié (M-5) qui permettrait une disponibilité plus stable des sources carbonées dans le temps. Les résultats de notre étude sont aussi en accord avec les faits établis que la diversité bactérienne était très sensible aux variations du pH et au rapport C/N du sol, en revanche la quantité de matière organique du sol avait peu d'influence sur la diversité bactérienne contrairement à celle fongique. Cette différence de sensibilité aux facteurs du sol entre communauté fongique et bactérienne est bien démontrée dans la littérature (Zhalnina *et al.* 2015; Zhou *et al.* 2017b; Xiao *et al.* 2018).

Il est assez évident dans notre étude que la diversité végétale influence la diversité microbienne, mais il est aussi possible que cette diversité microbienne, notamment la diversité bactérienne ait un effet « rétroactif positif » sur la production de la biomasse végétale. Cet effet « rétroactif » pourrait ne pas être exclusivement dû à la présence de taxons fixateurs d'azote impliqués dans des interactions symbiotiques avec les légumineuses car, dans notre étude, une part équivalente de la variance de la biomasse végétale était liée à la diversité bactérienne dans son ensemble. Ce résultat suggère qu'une meilleure disponibilité de nutriments pourrait être à l'origine des effets positifs sur la biomasse végétale via une activité bactérienne accrue. Lange *et al.* (2015) montre que l'augmentation du carbone dans le sol par une meilleure production de biomasse des plantes augmente l'activité microbienne du sol elle-

même susceptible d'améliorer la disponibilité de certains nutriments par la décomposition de la matière organique du sol. Nos résultats concernant l'influence de la diversité génétique sur la diversité microbienne du sol pourront être approfondis à l'issue de cette thèse, mais d'ores et déjà il nous permettent de valider notre hypothèse H3 concernant l'impact de la diversité génétique des espèces végétales sur la biodiversité microbienne associée du sol et ouvrent des perspectives quant à l'intérêt de la diversité génétique végétale pour favoriser cette diversité microbienne du sol et ses potentielles rétroactions positives, perspectives particulièrement intéressantes dans un contexte agroécologique ou l'optimisation des interactions devrait permettre d'améliorer la production.

5. Diversité génétique et améliorations des plantes

Au-delà d'apporter de nouveaux éléments de compréhension pour l'assemblage et la structuration des communautés végétales dans le domaine de l'écologie et de la génétique des communautés, les résultats présentés dans cette thèse confirment l'intérêt de la diversité génétique pour l'amélioration des communautés multispécifiques. La diversité génétique, matière première de l'amélioration des plantes, pourrait ainsi être un levier majeur à l'amélioration de la production des cultures plurispécifiques et sa stabilité. De façon évidente la production et la stabilité sont des objectifs majeurs de la sélection pour la création variétale, en particulier sous les conditions de faibles intrants et face aux aléas climatiques (Sturludottir *et al.* 2014). Mais la meilleure représentativité des espèces, en particulier des légumineuses, liée à une plus grande diversité génétique n'en est pas moins un objectif intéressant pour les agriculteurs qui est actuellement difficile à atteindre avec les associations prairiales actuellement utilisées. Le caractère multispécifique des prairies, et en particulier les mélanges de graminées et de légumineuses, est à la base de leur qualité fourragère (Deak *et al.* 2007; Elgersma & Soegaard 2016; Ergon *et al.* 2017). Mais l'équilibre d'abondance et la coexistence des espèces permet également d'améliorer les services écosystémiques associés à la prairie, notamment les services liés à la biodiversité associée du sol comme montré précédemment avec tous les atouts que la production peut trouver sur un sol vivant de bonne qualité.

Depuis toujours, et avec efficacité (Sampoux *et al.* 2011), la création variétale continue à être conduite à partir de critères de sélection définis pour la production de peuplements monospécifiques. Or les critères de sélection et la valeur des variétés installées en pur ne sont

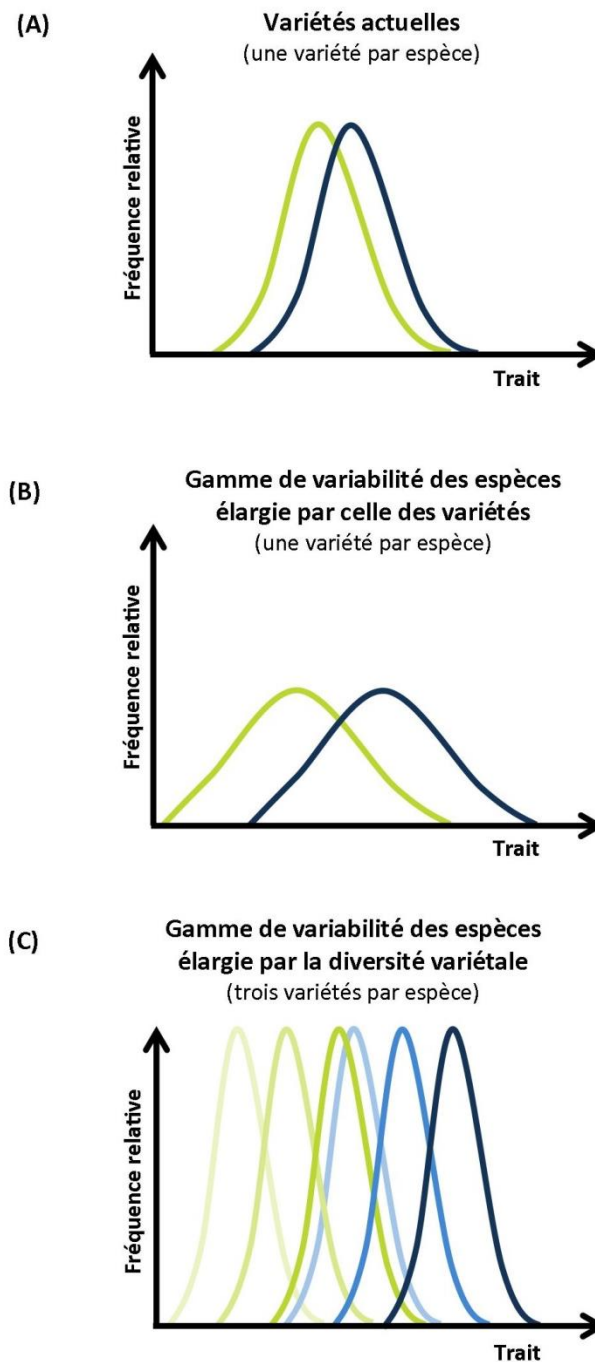


Figure 7.6 Stratégie de sélection pour l'introduction de la variabilité phénotypique intraspécifique. (A) Exemple de distribution chevauchante de deux espèces agronomiques (vert et bleu) composées chacune d'une variété actuelles. (B) Sélection de variétés avec des traits d'intérêts diversifiés (une variété par espèce) afin d'élargir la gamme de variabilité de l'espèce et améliorer leur capacité adaptative. (C) Sélection de variétés avec des traits d'intérêts choisis et peu diversifiés afin d'élargir la gamme de variabilité de l'espèce par la diversité variétale (trois variétés par espèce) et améliorer leur capacité adaptative.

pas nécessairement corrélés à leur valeur en mélange. En effet les génotypes subissent des pressions sélectives, liés à leur milieu dont les caractéristiques sont différentes selon les interactions compétitives qui sont conditionnées par le voisinage et ce voisinage diffère selon que les espèces voisines soient identiques ou non. Nos résultats permettent d'appuyer le fait que la variabilité intraspécifique des espèces composant le mélange semble être un élément majeur pour une meilleure réponse des espèces dans le mélange multispécifique et les performances du mélange. Mais il est important de réfléchir d'une part sur l'identité des traits pour lesquelles une gamme de variabilité est requise pour favoriser le processus de différenciation de niches des espèces, et d'autre part identifier les traits qui devraient être plutôt homogène au sein des espèces pour optimiser leur valeur agronomique (Litrice & Violle 2015). Nous avons vu que les traits permettant une certaine complémentarité temporelle, comme la précocité, mais aussi spatiale, comme la hauteur, étaient des traits candidats à la variabilité intraspécifique. Ceci étant, il est aussi impératif de définir le niveau de variabilité à introduire concernant ces traits pour optimiser la dynamique de la différenciation de niches sans limiter la production des premières années, et cela d'autant plus si le trait d'intérêt est également impliqué dans la valeur agronomique.

Une gamme de variabilité minimale pourrait être requise pour garantir une capacité adaptative des espèces, mais le niveau maximal de cette variabilité est à mettre en relation avec la moyenne du trait de l'espèce vis-à-vis de celles des autres espèces qui composent le mélange. Plus les espèces auront des différences niches importantes, plus la gamme de variabilité pourra être large sans générer des interactions compétitives excessives qui pourraient conduire à l'exclusion d'espèces par un chevauchement trop important des niches. Au-delà de l'acquisition de connaissances qu'il est nécessaire de poursuivre afin de bénéficier de la complémentarité des espèces pour différentes ressources, il s'agira de réfléchir à la composition des variétés. En effet, faut-il sélectionner des variétés homogènes et à base génétique étroite sur les traits d'intérêt pour les associer ensuite afin d'obtenir la gamme de variabilité intraspécifique recherchée ? (Figure 7.6) ou bien faut-il sélectionner des variétés à gamme de variabilité large ? Ce dernier cas pose deux questions, une d'ordre méthodologique, comment maintenir une variabilité de certains traits lors du processus de sélection ? Et une d'ordre réglementaire, comment inscrire une variété variable au catalogue français et européen ? L'inscription des nouvelles variétés au catalogue officiel est soumise à des critères DHS (Distinction – Homogénéité – Stabilité). Une nouvelle variété doit se

distinguer de celles déjà inscrites par une meilleure performance agronomique (productivité, résistance à un pathogène, etc...), être stable et homogène. Or ce dernier critère d'homogénéité ne permet pas d'introduire une variabilité des traits qui pourrait être pourtant requise pour l'utilisation des variétés en mélange d'espèces. Il y a donc un verrou réglementaire qui limite aujourd'hui l'introduction de la variabilité dans le processus de création variétale. Mais la recherche et la production des connaissances sont le moteur des innovations et des changements sociétaux.

Chapitre 8 - Conclusion générale

Ce travail de thèse a pu mettre en évidence un effet positif de la diversité génétique sur la production de biomasse de communautés multispécifiques ainsi qu'une plus grande stabilité de cette production y compris en condition de stress hydrique. Il semblerait que cette stabilité soit liée à un meilleur équilibre d'abondance des espèces, cet équilibre impactant quant à lui positivement la biodiversité du sol associée avec potentiellement des effets de rétroaction positifs sur la biomasse végétale.

La diversité génétique végétale semble permettre, via des mécanismes de sélection et de plasticité, une différenciation de niches des espèces, différenciation qui est, en écologie, à la base de la complémentarité d'acquisition et d'utilisation des ressources des espèces dans une communauté. Cette complémentarité, dans notre étude, s'avère être temporelle (asynchronie des dynamiques de croissance des espèces) et spatiale (stratégie d'acquisition de la lumière). Les effets de la diversité génétique que nous avons mis en évidence et expliqués dans ce travail ouvrent des perspectives quant à la place de la diversité génétique des espèces en amélioration des plantes. Le paradigme de l'introduction d'une plus large gamme de variabilité sur des traits d'intérêt est confronté à des verrous méthodologiques et réglementaires. Cependant, les études publiques en partenariat avec les acteurs pourraient permettre d'ouvrir la voie au transfert de connaissances pour des actions non conventionnelles au service de l'innovation.

Chapitre 9 - Bibliographie

- Aarssen, L.W. (1997) High productivity in grassland ecosystems: effected by species diversity or productive species? *Oikos*, **80**, 183-184.
- Albert, C.H., Grassein, F., Schurr, F.M., Vieilledent, G. & Violle, C. (2011) When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **13**, 217-225.
- Allan, E., Weisser, W., Weigelt, A., Roscher, C., Fischer, M. & Hillebrand, H. (2011) More diverse plant communities have higher functioning over time due to turnover in complementary dominant species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 17034-17039.
- Aussenac, R., Bergeron, Y., Mekontchou, C.G., Gravel, D., Pilch, K. & Drobyshev, I. (2017) Intraspecific variability in growth response to environmental fluctuations modulates the stabilizing effect of species diversity on forest growth. *Journal of Ecology*, **105**, 1010-1020.
- Badri, D.V. & Vivanco, J.M. (2009) Regulation and function of root exudates. *Plant Cell and Environment*, **32**, 666-681.
- Bakken, L.R. (1985) SEPARATION AND PURIFICATION OF BACTERIA FROM SOIL. *Applied and Environmental Microbiology*, **49**, 1482-1487.
- Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.C., Le Roux, X., Niboyet, A. & Porcher, E. (2017) Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **37**, 20.
- Baudoin, E., Benizri, E. & Guckert, A. (2003) Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, **35**, 1183-1192.
- Berg, M.P. & Ellers, J. (2010) Trait plasticity in species interactions: a driving force of community dynamics. *Evolutionary Ecology*, **24**, 617-629.
- Blonder, B., Lamanna, C., Violle, C. & Enquist, B.J. (2014) The n-dimensional hypervolume. *Global Ecology and Biogeography*, **23**, 595-609.
- Booth, R.E. & Grime, J.P. (2003) Effects of genetic impoverishment on plant community diversity. *Journal of Ecology*, **91**, 721-730.
- Bouffaud, M.L., Renoud, S., Moenne-Loccoz, Y. & Muller, D. (2016) Is plant evolutionary history impacting recruitment of diazotrophs and nifH expression in the rhizosphere? *Scientific Reports*, **6**, 9.
- Butterly, C.R., Baldock, J.A., Xu, J.M. & Tang, C.X. (2010) *Is the Alkalinity within Agricultural Residues Soluble*. Springer-Verlag Berlin, Berlin.
- Cadotte, M.W. (2017) Functional traits explain ecosystem function through opposing mechanisms. *Ecology Letters*, **20**, 989-996.
- Cadotte, M.W., Carscadden, K. & Mirotchnick, N. (2011) Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology*, **48**, 1079-1087.
- Cadotte, M.W., Livingstone, S.W., Yasui, S.L.E., Dinnage, R., Li, J.T., Marushia, R., Santangelo, J. & Shu, W.S. (2017) Explaining ecosystem multifunction with evolutionary models. *Ecology*, **98**, 3175-3187.
- Campbell, T.A. & He, Y. (1997) Factorial analysis of self-incompatibility in alfalfa. *Canadian Journal of Plant Science*, **77**, 69-73.

- Capitaine, M., Pelletier, P. & Hubert, F. (2008) Multi-specific pastures in France: history, realities and expectations. *Fourrages*, 123-136.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S. & Naeem, S. (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, **486**, 59-67.
- Cardinale, B.J., Srivastava, D.S., Duffy, J.E., Wright, J.P., Downing, A.L., Sankaran, M. & Jouseau, C. (2006) Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature*, **443**, 989-992.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., Loreau, M. & Weis, J.J. (2007) Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 18123-18128.
- Chen, B.Z. & Liu, H.B. (2011) Temporal stability of marine phytoplankton in a subtropical coastal environment. *Aquatic Ecology*, **45**, 427-438.
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **31**, 343-366.
- Chisci & Zanchi (1981) The influence of different tillage systems and different crops on soil loss on hilly silt-clayey soil. *Soil conservation: problems and prospects*, pp. 211-217. R.P.C. Morgan (Ed.).
- Collavino, M.M., Tripp, H.J., Frank, I.E., Vidoz, M.L., Calderoli, P.A., Donato, M., Zehr, J.P. & Aguilar, O.M. (2014) nifH pyrosequencing reveals the potential for location-specific soil chemistry to influence N-2-fixing community dynamics. *Environmental Microbiology*, **16**, 3211-3223.
- Cook-Patton, S.C., McArt, S.H., Parachnowitsch, A.L., Thaler, J.S. & Agrawal, A.A. (2011) A direct comparison of the consequences of plant genotypic and species diversity on communities and ecosystem function. *Ecology*, **92**, 915-923.
- Crawford, K.M. & Rudgers, J.A. (2012) Plant species diversity and genetic diversity within a dominant species interactively affect plant community biomass. *Journal of Ecology*, **100**, 1512-1521.
- D'Andrea, R. & Ostling, A. (2016) Challenges in linking trait patterns to niche differentiation. *Oikos*, **125**, 1369-1385.
- Dawud, S.M., Raulund-Rasmussen, K., Domisch, T., Finer, L., Jaroszewicz, B. & Vesterdal, L. (2016) Is Tree Species Diversity or Species Identity the More Important Driver of Soil Carbon Stocks, C/N Ratio, and pH? *Ecosystems*, **19**, 645-660.
- Day, M., Baldauf, C., Rutishauser, E. & Sunderland, T.C.H. (2014) Relationships between tree species diversity and above-ground biomass in Central African rainforests: implications for REDD. *Environmental Conservation*, **41**, 64-72.
- Dayan, T. & Simberloff, D. (2005) Ecological and community-wide character displacement: the next generation. *Ecology Letters*, **8**, 875-894.
- De Beeck, M.O., Lievens, B., Busschaert, P., Declerck, S., Vangronsveld, J. & Colpaert, J.V. (2014) Comparison and Validation of Some ITS Primer Pairs Useful for Fungal Metabarcoding Studies. *Plos One*, **9**, 11.
- De Deyn, G.B., Quirk, H., Yi, Z., Oakley, S., Ostle, N.J. & Bardgett, R.D. (2009) Vegetation composition promotes carbon and nitrogen storage in model grassland communities of contrasting soil fertility. *Journal of Ecology*, **97**, 864-875.
- De Groote, S.R.E., Vanhellemont, M., Baeten, L., De Schrijver, A., Martel, A., Bonte, D., Lens, L. & Verheyen, K. (2018) Tree species diversity indirectly affects nutrient

- cycling through the shrub layer and its high-quality litter. *Plant and Soil*, **427**, 335-350.
- Deak, A., Hall, M.H., Sanderson, M.A. & Archibald, D.D. (2007) Production and nutritive value of grazed simple and complex forage mixtures. *Agronomy Journal*, **99**, 814-821.
- DeForest, J.L., Smemo, K.A., Burke, D.J., Elliott, H.L. & Becker, J.C. (2012) Soil microbial responses to elevated phosphorus and pH in acidic temperate deciduous forests. *Biogeochemistry*, **109**, 189-202.
- Delgado-Baquerizo, M., Trivedi, P., Trivedi, C., Eldridge, D.J., Reich, P.B., Jeffries, T.C. & Singh, B.K. (2017) Microbial richness and composition independently drive soil multifunctionality. *Functional Ecology*, **31**, 2330-2343.
- Devun, J. (2012) *Alimentation des bovins: Rations moyennes et autonomie alimentaire*. Institut de l'élevage.
- Diaz, S. & Cabido, M. (2001) Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 646-655.
- Dooley, E.E. (2005) Millennium ecosystem assessment. *Environmental Health Perspectives*, **113**, A591-A591.
- Duparc, A., Redjadj, C., Viard-Cretat, F., Lavorel, S., Austrheim, G. & Loison, A. (2013) Co-variation between plant above-ground biomass and phenology in sub-alpine grasslands. *Applied Vegetation Science*, **16**, 305-316.
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C. & Knight, R. (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, **27**, 2194-2200.
- Ehlers, B.K., Damgaard, C.F. & Laroche, F. (2016) Intraspecific genetic variation and species coexistence in plant communities. *Biology Letters*, **12**, 7.
- Eisenhauer, N., Bessler, H., Engels, C., Gleixner, G., Habekost, M., Milcu, A., Partsch, S., Sabais, A.C.W., Scherber, C., Steinbeiss, S., Weigelt, A., Weisser, W.W. & Scheu, S. (2010) Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology*, **91**, 485-496.
- Elgersma, A. & Soegaard, K. (2016) Effects of species diversity on seasonal variation in herbage yield and nutritive value of seven binary grass-legume mixtures and pure grass under cutting. *European Journal of Agronomy*, **78**, 73-83.
- Ellis, C.N., Traverse, C.C., Mayo-Smith, L., Buskirk, S.W. & Cooper, V.S. (2015) Character displacement and the evolution of niche complementarity in a model biofilm community. *Evolution*, **69**, 283-293.
- Entry, J.A., Fuhrmann, J.J., Sojka, R.E. & Shewmaker, G.E. (2004) Influence of irrigated agriculture on soil carbon and microbial community structure. *Environmental Management*, **33**, S363-S373.
- Ergon, A., Kirwan, L., Fystro, G., Bleken, M.A., Collins, R.P. & Rognli, O.A. (2017) Species interactions in a grassland mixture under low nitrogen fertilization and two cutting frequencies. II. Nutritional quality. *Grass and Forage Science*, **72**, 333-342.
- Falster, D.S. & Westoby, M. (2003) Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 337-343.
- Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*, **7**, 574-578.
- Farrell, M., Prendergast-Miller, M., Jones, D.L., Hill, P.W. & Condron, L.M. (2014) Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biology & Biochemistry*, **77**, 261-267.

- Finckh, M.R. & Mundt, C.C. (1992) Stripe rust, yield, and plant competition in wheat cultivar mixtures. *Phytopathology*, **82**, 905-913.
- Finn, J.A., Kirwan, L., Connolly, J., Sebastia, M.T., Helgadottir, A., Baadshaug, O.H., Belanger, G., Black, A., Brophy, C., Collins, R.P., Cop, J., Dalmannsdottir, S., Delgado, I., Elgersma, A., Fothergill, M., Frankow-Lindberg, B.E., Ghesquiere, A., Golinska, B., Golinski, P., Grieu, P., Gustavsson, A.M., Hoglind, M., Huguenin-Elie, O., Jorgensen, M., Kadziulienė, Z., Kurki, P., Llurba, R., Lunnan, T., Porqueddu, C., Suter, M., Thumm, U. & Luscher, A. (2013) Ecosystem function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: a 3-year continental-scale field experiment. *Journal of Applied Ecology*, **50**, 365-375.
- Flombaum, P. & Sala, O.E. (2008) Higher effect of plant species diversity on productivity in natural than artificial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **105**, 6087-6090.
- Frankow-Lindberg, B.E. (2012) Grassland plant species diversity decreases invasion by increasing resource use. *Oecologia*, **169**, 793-802.
- Fridley, J.D. (2001) The influence of species diversity on ecosystem productivity: how, where, and why? *Oikos*, **93**, 514-526.
- Fridley, J.D. & Grime, J.P. (2010) Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, **91**, 2272-2283.
- Gamfeldt, L., Hillebrand, H. & Jonsson, P.R. (2008) Multiple functions increase the importance of biodiversity for overall ecosystem functioning. *Ecology*, **89**, 1223-1231.
- Garbeva, P., Postma, J., van Veen, J.A. & van Elsas, J.D. (2006) Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology*, **8**, 233-246.
- Gardestrom, J., Ermold, M., Goedkoop, W. & McKie, B.G. (2016) Disturbance history influences stressor impacts: effects of a fungicide and nutrients on microbial diversity and litter decomposition. *Freshwater Biology*, **61**, 2171-2184.
- Gautier, H., Varlet-Grancher, C. & Baudry, N. (1998) Comparison of horizontal spread of white clover (*Trifolium repens* L.) grown under two artificial light sources differing in their content of blue light. *Annals of Botany*, **82**, 41-48.
- Glockner, F.O., Yilmaz, P., Quast, C., Gerken, J., Beccati, A., Ciuprina, A., Bruns, G., Yarza, P., Peplies, J., Westram, R. & Ludwig, W. (2017) 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. *Journal of Biotechnology*, **261**, 169-176.
- Gommers, C.M.M., Visser, E.J.W., St Onge, K.R., Voesenek, L. & Pierik, R. (2013) Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends in Plant Science*, **18**, 65-71.
- Grace, J.B. (2006) *Structural Equation Modeling and Natural Systems*. Cambridge
- Grace, J.B., Anderson, T.M., Smith, M.D., Seabloom, E., Andelman, S.J., Meche, G., Weiher, E., Allain, L.K., Jutila, H., Sankaran, M., Knops, J., Ritchie, M. & Willig, M.R. (2007) Does species diversity limit productivity in natural grassland communities? *Ecology Letters*, **10**, 680-689.
- Grant, P.R. & Grant, B.R. (2006) Evolution of character displacement in Darwin's finches. *Science*, **313**, 224-226.
- Grayston, S.J., Wang, S.Q., Campbell, C.D. & Edwards, A.C. (1998) Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, **30**, 369-378.

- Grenier, S., Barre, P. & Litrico, I. (2016) Phenotypic Plasticity and Selection: Nonexclusive Mechanisms of Adaptation. *Scientifica*, **9**.
- Gross, K., Cardinale, B.J., Fox, J.W., Gonzalez, A., Loreau, M., Polley, H.W., Reich, P.B. & van Ruijven, J. (2014) Species Richness and the Temporal Stability of Biomass Production: A New Analysis of Recent Biodiversity Experiments. *American Naturalist*, **183**, 1-12.
- Gross, N., Bloor, J.M.G., Louault, F., Maire, V. & Soussana, J.F. (2009) Effects of land-use change on productivity depend on small-scale plant species diversity. *Basic and Applied Ecology*, **10**, 687-696.
- Gross, N., Liancourt, P., Choler, P., Suding, K.N. & Lavorel, S. (2010) Strain and vegetation effects on local limiting resources explain the outcomes of biotic interactions. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **12**, 9-19.
- Gross, N., Suding, K.N., Lavorel, S. & Roumet, C. (2007) Complementarity as a mechanism of coexistence between functional groups of grasses. *Journal of Ecology*, **95**, 1296-1305.
- Grosso, F., Baath, E. & De Nicola, F. (2016) Bacterial and fungal growth on different plant litter in Mediterranean soils: Effects of C/N ratio and soil pH. *Applied Soil Ecology*, **108**, 1-7.
- Guo, Q.F., Shaffer, T. & Buhl, T. (2006) Community maturity, species saturation and the variant diversity-productivity relationships in grasslands. *Ecology Letters*, **9**, 1284-1292.
- Habekost, M., Eisenhauer, N., Scheu, S., Steinbeiss, S., Weigelt, A. & Gleixner, G. (2008) Seasonal changes in the soil microbial community in a grassland plant diversity gradient four years after establishment. *Soil Biology & Biochemistry*, **40**, 2588-2595.
- Hart, S.P., Schreiber, S.J. & Levine, J.M. (2016) How variation between individuals affects species coexistence. *Ecology Letters*, **19**, 825-838.
- Hector, A. & Bagchi, R. (2007) Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, **448**, 188-U186.
- Hector, A., Bazeley-White, E., Loreau, M., Otway, S. & Schmid, B. (2002) Overyielding in grassland communities: testing the sampling effect hypothesis with replicated biodiversity experiments. *Ecology Letters*, **5**, 502-511.
- Hector, A., Dobson, K., Minns, A., Bazeley-White, E. & Lawton, J.H. (2001) Community diversity and invasion resistance: An experimental test in a grassland ecosystem and a review of comparable studies. *Ecological Research*, **16**, 819-831.
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Hogberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Korner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.D., Siamantziouras, A.S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S. & Lawton, J.H. (1999) Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science*, **286**, 1123-1127.
- Hooper, D.U. (1998) The role of complementarity and competition in ecosystem responses to variation in plant diversity. *Ecology*, **79**, 704-719.
- Hooper, D.U., Bignell, D.E., Brown, V.K., Brussaard, L., Dangerfield, J.M., Wall, D.H., Wardle, D.A., Coleman, D.C., Giller, K.E., Lavelle, P., Van der Putten, W.H., De Ruiter, P.C., Rusek, J., Silver, W.L., Tiedje, J.M. & Wolters, V. (2000) Interactions

- between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks. *Bioscience*, **50**, 1049-1061.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J. & Wardle, D.A. (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, **75**, 3-35.
- Hopkins, A., Murray, P.J., Bowling, P.J., Rook, A.J. & Johnson, J. (1995) Productivity and nitrogen uptake of aging and newly sown swards of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) at different sites and with different nitrogen-fertilizer treatments. *European Journal of Agronomy*, **4**, 65-75.
- Hubert, F. (2008) Clay mineral assemblage characterisation of two temperate soils using direct profile fitting of diffractograms. mineralogical and pedological outputs. Université de Poitiers.
- Huston, M.A. (1997) Hidden treatments in ecological experiments: Re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia*, **110**, 449-460.
- Huston, M.A., Aarssen, L.W., Austin, M.P., Cade, B.S., Fridley, J.D., Garnier, E., Grime, J.P., Hodgson, J., Lauenroth, W.K., Thompson, K., Vandermeer, J.H. & Wardle, D.A. (2000) No Consistent Effect of Plant Diversity on Productivity. *Science*, **289**, 1255.
- Huyghe, C. & Litrico, I. (2008) Analysis of the relationship between the specific diversity and the agricultural value of pastures (study of the literature). *Fourrages*, 147-160.
- Isbell, F., Calcagno, V., Hector, A., Connolly, J., Harpole, W.S., Reich, P.B., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Tilman, D., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B.J., Zavaleta, E.S. & Loreau, M. (2011) High plant diversity is needed to maintain ecosystem services. *Nature*, **477**, 199-U196.
- Isbell, F.I., Polley, H.W. & Wilsey, B.J. (2009) Biodiversity, productivity and the temporal stability of productivity: patterns and processes. *Ecology Letters*, **12**, 443-451.
- Jiang, L. & Pu, Z.C. (2009) Different Effects of Species Diversity on Temporal Stability in Single-Trophic and Multitrophic Communities. *American Naturalist*, **174**, 651-659.
- Jiang, X.L., Zhang, W.G. & Wang, G. (2007) Effects of different components of diversity on productivity in artificial plant communities. *Ecological Research*, **22**, 629-634.
- Johnson, D., Anderson, I.C., Williams, A., Whitlock, R. & Grime, J.P. (2010) Plant genotypic diversity does not beget root-fungal species diversity. *Plant and Soil*, **336**, 107-111.
- Johnson, D., Phoenix, G.K. & Grime, J.P. (2008) Plant community composition, not diversity, regulates soil respiration in grasslands. *Biology Letters*, **4**, 345-348.
- Knott, E.A. & Mundt, C.C. (1990) MIXING ABILITY ANALYSIS OF WHEAT CULTIVAR MIXTURES UNDER DISEASED AND NONDISEASED CONDITIONS. *Theoretical and Applied Genetics*, **80**, 313-320.
- Koljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F.S., Bahram, M., Bates, S.T., Bruns, T.D., Bengtsson-Palme, J., Callaghan, T.M., Douglas, B., Drenkhan, T., Eberhardt, U., Duenas, M., Grebenc, T., Griffith, G.W., Hartmann, M., Kirk, P.M., Kohout, P., Larsson, E., Lindahl, B.D., Luecking, R., Martin, M.P., Matheny, P.B., Nguyen, N.H., Niskanen, T., Oja, J., Peay, K.G., Peintner, U., Peterson, M., Poldmaa, K., Saag, L., Saar, I., Schuessler, A., Scott, J.A., Senes, C., Smith, M.E., Suija, A., Taylor, D.L., Telleria, M.T., Weiss, M. & Larsson, K.H. (2013) Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, **22**, 5271-5277.
- Kotowska, A.M., Cahill, J.F. & Keddie, B.A. (2010) Plant genetic diversity yields increased plant productivity and herbivore performance. *Journal of Ecology*, **98**, 237-245.

- Kunrath, T.R., de Berranger, C., Charrier, X., Gastal, F., Carvalho, P.C.D., Lemaire, G., Emile, J.C. & Durand, J.L. (2015) How much do sod-based rotations reduce nitrate leaching in a cereal cropping system? *Agricultural Water Management*, **150**, 46-56.
- Lamb, E.G., Kennedy, N. & Siciliano, S.D. (2011) Effects of plant species richness and evenness on soil microbial community diversity and function. *Plant and Soil*, **338**, 483-495.
- Lane, D. (1991) *16S/23S rRNA sequencing*. In: *Stackebrandt*. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt.
- Lange, M., Eisenhauer, N., Sierra, C.A., Bessler, H., Engels, C., Griffiths, R.I., Mellado-Vazquez, P.G., Malik, A.A., Roy, J., Scheu, S., Steinbeiss, S., Thomson, B.C., Trumbore, S.E. & Gleixner, G. (2015) Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. *Nature Communications*, **6**, 8.
- Lankau, R.A. (2009) Genetic Variation Promotes Long-Term Coexistence of *Brassica nigra* and Its Competitors. *American Naturalist*, **174**, E40-E53.
- LeBauer, D.S. & Treseder, K.K. (2008) Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, **89**, 371-379.
- Lemaire, G., Franzluebbers, A., Carvalho, P.C.D. & Dedieu, B. (2014) Integrated crop-livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **190**, 4-8.
- Levine, J.M. & HilleRisLambers, J. (2009) The importance of niches for the maintenance of species diversity. *Nature*, **461**, 254-U130.
- Li, H., Xu, Z.W., Yan, Q.Y., Yang, S., Van Nostrand, J.D., Wang, Z.R., He, Z.L., Zhou, J.Z., Jiang, Y. & Deng, Y. (2018) Soil microbial beta-diversity is linked with compositional variation in aboveground plant biomass in a semi-arid grassland. *Plant and Soil*, **423**, 465-480.
- Lipowsky, A., Roscher, C., Schumacher, J., Michalski, S.G., Gubsch, M., Buchmann, N., Schulze, E.D. & Schmid, B. (2015) Plasticity of functional traits of forb species in response to biodiversity. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **17**, 66-77.
- Lipowsky, A., Schmid, B. & Roscher, C. (2011) Selection for monoculture and mixture genotypes in a biodiversity experiment. *Basic and Applied Ecology*, **12**, 360-371.
- Litrico, I. & Violle, C. (2015) Diversity in Plant Breeding A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science*, **20**, 604-613.
- Loranger-Merciris, G., Barthes, L., Gastine, A. & Leadley, P. (2006) Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, **38**, 2336-2343.
- Loreau, M. (1998) Biodiversity and ecosystem functioning: A mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 5632-5636.
- Loreau, M. (2000) Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, **91**, 3-17.
- Loreau, M. & de Mazancourt, C. (2008) Species synchrony and its drivers: Neutral and nonneutral community dynamics in fluctuating environments. *American Naturalist*, **172**, E48-E66.
- Loreau, M. & de Mazancourt, C. (2013) Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecology Letters*, **16**, 106-115.
- Loreau, M. & Hector, A. (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, **412**, 72-76.

- Louis, B.P., Maron, P.A., Viaud, V., Leterme, P. & Menasseri-Aubry, S. (2016) Soil C and N models that integrate microbial diversity. *Environmental Chemistry Letters*, **14**, 331-344.
- Macarthur, R. & Levins, R. (1967) Limiting similarity convergence and divergence of coexisting species. *American Naturalist*, **101**, 377-+.
- Mahe, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C. & Dunthorn, M. (2014) Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *Peerj*, **2**, 13.
- Maire, V., Gross, N., Borger, L., Proulx, R., Wirth, C., Pontes, L.D., Soussana, J.F. & Louault, F. (2012) Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist*, **196**, 497-509.
- Marquard, E., Weigelt, A., Temperton, V.M., Roscher, C., Schumacher, J., Buchmann, N., Fischer, M., Weisser, W.W. & Schmid, B. (2009) Plant species richness and functional composition drive overyielding in a six-year grassland experiment. *Ecology*, **90**, 3290-3302.
- Marriott, C.A., Bolton, G.R. & Duff, E.I. (1997) Factors affecting the stolon growth of white clover in ryegrass/clover patches. *Grass and Forage Science*, **52**, 147-155.
- Martin, M. (2011) Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.j.*
- Matei, G.M., Matei, S., Voicu, V., Mocanu, V., Dumitru, S. & Calciu, I. (2017) Microbial communities structure, activity and influence on soil organic matter in ArgicPhaeozem. *Romanian Biotechnological Letters*, **22**, 12267-12273.
- Matesanz, S., Horgan-Kobelski, T. & Sultan, S.E. (2012) Phenotypic Plasticity and Population Differentiation in an Ongoing Species Invasion. *Plos One*, **7**, 13.
- Mayfield, M.M. & Levine, J.M. (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters*, **13**, 1085-1093.
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E. & Westoby, M. (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 178-185.
- McPeck, M.A. (2017) The Ecological Dynamics of Natural Selection: Traits and the Coevolution of Community Structure. *American Naturalist*, **189**, E91-E117.
- Milcu, A., Partsch, S., Scherber, C., Weisser, W.W. & Scheu, S. (2008) Earthworms and legumes control litter decomposition in a plant diversity gradient. *Ecology*, **89**, 1872-1882.
- Morin, X., Fahse, L., de Mazancourt, C., Scherer-Lorenzen, M. & Bugmann, H. (2014) Temporal stability in forest productivity increases with tree diversity due to asynchrony in species dynamics. *Ecology Letters*, **17**, 1526-1535.
- Mulder, C.P.H., Jumpponen, A., Hogberg, P. & Huss-Danell, K. (2002) How plant diversity and legumes affect nitrogen dynamics in experimental grassland communities. *Oecologia*, **133**, 412-421.
- Musarrat, J., Zaidi, A. & Khan, M.S. (2010) *Recent Advances in Rhizobium-Legume Interactions: A Proteomic Approach*. Springer-Verlag Wien, Vienna.
- Naeem, S. (1998) Species redundancy and ecosystem reliability. *Conservation Biology*, **12**, 39-45.
- Naeem, S., Hakansson, K., Lawton, J.H., Crawley, M.J. & Thompson, L.J. (1996) Biodiversity and plant productivity in a model assemblage of plant species. *Oikos*, **76**, 259-264.
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H. & Woodfin, R.M. (1994) Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature*, **368**, 734-737.

- Naudin, C., Corre-Hellou, G., Voisin, A.S., Oury, V., Salon, C., Crozat, Y. & Jeuffroy, M.H. (2011) Inhibition and recovery of symbiotic N₂ fixation by peas (*Pisum sativum* L.) in response to short-term nitrate exposure. *Plant and Soil*, **346**, 275-287.
- Navas, M.L. & Violle, C. (2009) Plant traits related to competition: how do they shape the functional diversity of communities? *Community Ecology*, **10**, 131-137.
- Nemecek, T. & Erzinger, S. (2005) Modelling representative life cycle inventories for Swiss arable crops. *International Journal of Life Cycle Assessment*, **10**, 68-76.
- Niklaus, P.A., Wardle, D.A. & Tate, K.R. (2006) Effects of plant species diversity and composition on nitrogen cycling and the trace gas balance of soils. *Plant and Soil*, **282**, 83-98.
- O'Mara, F.P. (2012) The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of Botany*, **110**, 1263-1270.
- Ockinger, E. & Smith, H.G. (2007) Semi-natural grasslands as population sources for pollinating insects in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 50-59.
- Oksanen, J., Blanchet, G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Peter, R., Minchin, R.B., O'Hara, Gavin, L., Simpson, Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E. & Wagner, H. (2016) Community Ecology Package. *R package Version 2.4-1*.
- Osborne, C.A., Zwart, A.B., Broadhurst, L.M., Young, A.G. & Richardson, A.E. (2011) The influence of sampling strategies and spatial variation on the detected soil bacterial communities under three different land-use types. *Fems Microbiology Ecology*, **78**, 70-79.
- Peyraud, J.L., Le Gall, A. & Luscher, A. (2009) Potential food production from forage legume-based-systems in Europe: an overview. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **48**, 115-135.
- Peyraud, J.L., Peeters, A. & De Vlieghe, A. (2012) Status and assets of permanent grassland in France and in Europe. *Fourrages*, 195-204.
- Pielou, E.C. (1966) Species-Diversity and Pattern-Diversity in the Study of Ecological Succession. *J. Theoret. Biol.*, **10**, 370-383.
- Piry, S., Alapetite, A., Cornuet, J.M., Paetkau, D., Baudouin, L. & Estoup, A. (2004) GENECLASS2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity*, **95**, 536-539.
- Pontes, L.D., Maire, V., Louault, F., Soussana, J.F. & Carrere, P. (2012) Impacts of species interactions on grass community productivity under contrasting management regimes. *Oecologia*, **168**, 761-771.
- Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.L., Ghesquiere, M. & Litrico, I. (2015) Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, **1**, 5.
- Reich, P.B., Tilman, D., Isbell, F., Mueller, K., Hobbie, S.E., Flynn, D.F.B. & Eisenhauer, N. (2012) Impacts of Biodiversity Loss Escalate Through Time as Redundancy Fades. *Science*, **336**, 589-592.
- Rodriguez, M.V. & Bertiller, M.B. (2014) Temporal asynchrony in fine-root biomass may contribute to shrub and grass coexistence in mixed patches. *Austral Ecology*, **39**, 501-510.
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C. & Mahe, F. (2016) VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *Peerj*, **4**, 22.

- Roscher, C., Kutsch, W.L. & Schulze, E.D. (2011) Light and nitrogen competition limit *Lolium perenne* in experimental grasslands of increasing plant diversity. *Plant Biology*, **13**, 134-144.
- Roscher, C., Schmid, B., Kolle, O. & Schulze, E.D. (2016) Complementarity among four highly productive grassland species depends on resource availability. *Oecologia*, **181**, 571-582.
- Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., Schmid, B. & Schulze, E.D. (2012) Using Plant Functional Traits to Explain Diversity-Productivity Relationships. *Plos One*, **7**, 11.
- Roscher, C., Schumacher, J., Schmid, B. & Schulze, E.D. (2015) Contrasting Effects of Intraspecific Trait Variation on Trait-Based Niches and Performance of Legumes in Plant Mixtures. *Plos One*, **10**, 18.
- Sampoux, J.P., Baudouin, P., Bayle, B., Beguier, V., Bourdon, P., Chosson, J.F., Deneufbourg, F., Galbrun, C., Ghesquiere, M., Noel, D., Pietraszek, W., Tharel, B. & Viguie, A. (2011) Breeding perennial grasses for forage usage: An experimental assessment of trait changes in diploid perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars released in the last four decades. *Field Crops Research*, **123**, 117-129.
- Sarandon, S.J. & Sarandon, R. (1995) Mixture of cultivars - pilot field trial of an ecological alternative to improve production or quality of wheat (*triticum-aestivum*). *Journal of Applied Ecology*, **32**, 288-294.
- Scheele, B.C., Foster, C.N., Banks, S.C. & Lindenmayer, D.B. (2017) Niche Contractions in Declining Species: Mechanisms and Consequences. *Trends in Ecology & Evolution*, **32**, 346-355.
- Scheepens, J.F., Rauschkolb, R., Ziegler, R., Schroth, V. & Bossdorf, O. (2018) Genotypic diversity and environmental variability affect the invasibility of experimental plant populations. *Oikos*, **127**, 570-578.
- Schippers, P. & Kropff, M.J. (2001) Competition for light and nitrogen among grassland species: a simulation analysis. *Functional Ecology*, **15**, 155-164.
- Schob, C., Kerle, S., Karley, A.J., Morcillo, L., Pakeman, R.J., Newton, A.C. & Brooker, R.W. (2015) Intraspecific genetic diversity and composition modify species-level diversity-productivity relationships. *New Phytologist*, **205**, 720-730.
- Schob, C., Macek, P., Piston, N., Kikvidze, Z. & Pugnaire, F.I. (2017) A trait-based approach to understand the consequences of specific plant interactions for community structure. *Journal of Vegetation Science*, **28**, 696-704.
- Shannon, C.E. & Weaver, W. (1963) The mathematical theory of communication. *University Illinois Press*, **14**, 47.
- Soussana, J.F. & Lemaire, G. (2014) Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **190**, 9-17.
- Soussana, J.F., Tallec, T. & Blanfort, V. (2010) Mitigating the greenhouse gas balance of ruminant production systems through carbon sequestration in grasslands. *Animal*, **4**, 334-350.
- Spehn, E.M., Joshi, J., Schmid, B., Alphei, J. & Korner, C. (2000a) Plant diversity effects on soil heterotrophic activity in experimental grassland ecosystems. *Plant and Soil*, **224**, 217-230.
- Spehn, E.M., Joshi, J., Schmid, B., Diemer, M. & Korner, C. (2000b) Above-ground resource use increases with plant species richness in experimental grassland ecosystems. *Functional Ecology*, **14**, 326-337.

- Straëbler, M. & De Goyon, B. (2008) Une analyse de la réglementation sur la commercialisation des mélanges en France après trois campagnes d'application. *Fourrages*, **194**, 137-146.
- Strecker, T., Mace, O.G., Scheu, S. & Eisenhauer, N. (2016) Functional composition of plant communities determines the spatial and temporal stability of soil microbial properties in a long-term plant diversity experiment. *Oikos*, **125**, 1743-1754.
- Sturludottir, E., Brophy, C., Belanger, G., Gustavsson, A.M., Jorgensen, M., Lunnan, T. & Helgadottir, A. (2014) Benefits of mixing grasses and legumes for herbage yield and nutritive value in Northern Europe and Canada. *Grass and Forage Science*, **69**, 229-240.
- Tahernezahad, Z., Saba, J., Zeinalabedini, M., Pourdad, S.S. & Ghaffari, M.R. (2018) ESTIMATION OF BROAD-SENSE HERITABILITY AND VARIANCE COMPONENTS FOR SEED YIELD AND AGRONOMIC TRAITS IN NATIVE AND EXOTIC SAFFLOWER (*CARTHAMUS TINCTORIUS* L.) GENOTYPES. *Bangladesh Journal of Botany*, **47**, 501-508.
- Tang, C., Sparling, G.P., McLay, C.D.A. & Raphael, C. (1999) Effect of short-term legume residue decomposition on soil acidity. *Australian Journal of Soil Research*, **37**, 561-573.
- Tilman, D., Isbell, F. & Cowles, J.M. (2014) Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Vol 45 (ed. D.J. Futuyma), pp. 471-493. Annual Reviews, Palo Alto.
- Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M. & Siemann, E. (1997) The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, **277**, 1300-1302.
- Tilman, D., Lehman, C.L. & Thomson, K.T. (1997) Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 1857-1861.
- Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T. & Lehman, C. (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, **294**, 843-845.
- Tilman, D., Reich, P.B. & Knops, J.M.H. (2006) Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, **441**, 629-632.
- Tilman, D., Wedin, D. & Knops, J. (1996) Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, **379**, 718-720.
- Tooker, J.F. & Frank, S.D. (2012) Genotypically diverse cultivar mixtures for insect pest management and increased crop yields. *Journal of Applied Ecology*, **49**, 974-985.
- Tournier, E., Amenc, L., Pablo, A.L., Legname, E., Blanchart, E., Plassard, C., Robin, A. & Bernard, L. (2015) Modification of a commercial DNA extraction kit for safe and rapid recovery of DNA and RNA simultaneously from soil, without the use of harmful solvents. *Methods*, **2**, 182-191.
- Turcotte, M.M. & Levine, J.M. (2016) Phenotypic Plasticity and Species Coexistence. *Trends in Ecology & Evolution*, **31**, 803-813.
- Turnbull, L.A., Levine, J.M., Loreau, M. & Hector, A. (2013) Coexistence, niches and biodiversity effects on ecosystem functioning. *Ecology Letters*, **16**, 116-127.
- Van de Peer, T., Verheyen, K., Ponette, Q., Setiawan, N.N. & Muys, B. (2018) Overyielding in young tree plantations is driven by local complementarity and selection effects related to shade tolerance. *Journal of Ecology*, **106**, 1096-1105.

- van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. & van Straalen, N.M. (2008) The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 296-310.
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I.R. (1998) Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, **396**, 69-72.
- van Moorsel, S.J., Hahl, T., Wagg, C., De Deyn, G.B., Flynn, D.F.B., Zuppinger-Dingley, D. & Schmid, B. (2018) Community evolution increases plant productivity at low diversity. *Ecology Letters*, **21**, 128-137.
- van Rooijen, N.M., de Keersmaecker, W., Ozinga, W.A., Coppin, P., Hennekens, S.M., Schaminee, J.H.J., Somers, B. & Honnay, O. (2015) Plant Species Diversity Mediates Ecosystem Stability of Natural Dune Grasslands in Response to Drought. *Ecosystems*, **18**, 1383-1394.
- van Ruijven, J. & Berendse, F. (2003) Positive effects of plant species diversity on productivity in the absence of legumes. *Ecology Letters*, **6**, 170-175.
- Vellend, M. (2006) The consequences of genetic diversity in competitive communities. *Ecology*, **87**, 304-311.
- Vellend, M. & Geber, M.A. (2005) Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecology Letters*, **8**, 767-781.
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A. & Navas, M.L. (2009) Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia*, **160**, 747-755.
- Violle, C., Navas, M.L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos*, **116**, 882-892.
- Voisin, A.S., Salon, C., Munier-Jolain, N.G. & Ney, B. (2002) Quantitative effects of soil nitrate, growth potential and phenology on symbiotic nitrogen fixation of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant and Soil*, **243**, 31-42.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., Vandeele, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995) AFLP - A NEW TECHNIQUE FOR DNA-FINGERPRINTING. *Nucleic Acids Research*, **23**, 4407-4414.
- Vukicevich, E., Lowery, T., Bowen, P., Urbez-Torres, J.R. & Hart, M. (2016) Cover crops to increase soil microbial diversity and mitigate decline in perennial agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **36**, 14.
- Wagg, C., Ebeling, A., Roscher, C., Ravenek, J., Bachmann, D., Eisenhauer, N., Mommer, L., Buchmann, N., Hillebrand, H., Schmid, B. & Weisser, W.W. (2017) Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. *Functional Ecology*, **31**, 2320-2329.
- Wallander, H., Nilsson, L.O., Hagerberg, D. & Rosengren, U. (2003) Direct estimates of C : N ratios of ectomycorrhizal mycelia collected from Norway spruce forest soils. *Soil Biology & Biochemistry*, **35**, 997-999.
- Wang, Y.F., Tang, C.X., Wu, J.J., Liu, X.M. & Xu, J.M. (2013) Impact of organic matter addition on pH change of paddy soils. *Journal of Soils and Sediments*, **13**, 12-23.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, **304**, 1629-1633.

- Weidner, S., Koller, R., Latz, E., Kowalchuk, G., Bonkowski, M., Scheu, S. & Jousset, A. (2015) Bacterial diversity amplifies nutrient-based plant-soil feedbacks. *Functional Ecology*, **29**, 1341-1349.
- Weigelt, A., Weisser, W.W., Buchmann, N. & Scherer-Lorenzen, M. (2009) Biodiversity for multifunctional grasslands: equal productivity in high-diversity low-input and low-diversity high-input systems. *Biogeosciences*, **6**, 1695-1706.
- Weihher, E., Freund, D., Bunton, T., Stefanski, A., Lee, T. & Bentivenga, S. (2011) Advances, challenges and a developing synthesis of ecological community assembly theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **366**, 2403-2413.
- Weiner, J. & Thomas, S.C. (1986) Size variability and competition in plant monocultures. *Oikos*, **47**, 211-222.
- Westoby, M. (1998) A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil*, **199**, 213-227.
- Whitlock, R., Grime, J.P., Booth, R. & Burke, T. (2007) The role of genotypic diversity in determining grassland community structure under constant environmental conditions. *Journal of Ecology*, **95**, 895-907.
- Wilson, K.H., Blichington, R.B. & Greene, R.C. (1990) AMPLIFICATION OF BACTERIAL-16S RIBOSOMAL DNA WITH POLYMERASE CHAIN-REACTION. *Journal of Clinical Microbiology*, **28**, 1942-1946.
- Xiao, D., Huang, Y., Feng, S.Z., Ge, Y.H., Zhang, W., He, X.Y. & Wang, K.L. (2018) Soil organic carbon mineralization with fresh organic substrate and inorganic carbon additions in a red soil is controlled by fungal diversity along a pH gradient. *Geoderma*, **321**, 79-89.
- Zak, D.R., Holmes, W.E., White, D.C., Peacock, A.D. & Tilman, D. (2003) Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology*, **84**, 2042-2050.
- Zeng, X.Q., Durka, W. & Fischer, M. (2017) Species-specific effects of genetic diversity and species diversity of experimental communities on early tree performance. *Journal of Plant Ecology*, **10**, 252-258.
- Zhalnina, K., Dias, R., de Quadros, P.D., Davis-Richardson, A., Camargo, F.A.O., Clark, I.M., McGrath, S.P., Hirsch, P.R. & Triplett, E.W. (2015) Soil pH Determines Microbial Diversity and Composition in the Park Grass Experiment. *Microbial Ecology*, **69**, 395-406.
- Zhou, X.Q., Guo, Z.Y., Chen, C.R. & Jia, Z.J. (2017a) Soil microbial community structure and diversity are largely influenced by soil pH and nutrient quality in 78-year-old tree plantations. *Biogeosciences*, **14**, 2101-2111.
- Zhou, Y., Zhu, H.H., Fu, S.L. & Yao, Q. (2017b) Variation in Soil Microbial Community Structure Associated with Different Legume Species Is Greater than that Associated with Different Grass Species. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 13.
- Zhu, Y.Y., Chen, H.R., Fan, J.H., Wang, Y.Y., Li, Y., Chen, J.B., Fan, J.X., Yang, S.S., Hu, L.P., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S., Wang, Z.H. & Mundt, C.C. (2000) Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, **406**, 718-722.
- Zuppinger-Dingley, D., Flynn, D.F.B., De Deyn, G.B., Petermann, J.S. & Schmid, B. (2016) Plant selection and soil legacy enhance long-term biodiversity effects. *Ecology*, **97**, 918-928.

Zuppinger-Dingley, D., Schmid, B., Petermann, J.S., Yadav, V., De Deyn, G.B. & Flynn, D.F.B. (2014) Selection for niche differentiation in plant communities increases biodiversity effects. *Nature*, **515**, 108-+.

Increases of the benefits of species diversity in multi-species temporary grasslands using within-species diversity

Augmentation des bénéfices de la diversité des espèces dans les prairies temporaires multispécifiques avec la diversité intraspécifique

Julien Meilhac, Jean-Louis Durand, Vincent Beguier and Isabelle Litrico

Increasing the benefits of species diversity in multispecies temporary grasslands by increasing within-species diversity

Julien Meilhac¹, Jean-Louis Durand¹, Vincent Beguier² and Isabelle Litrico^{1,*}

¹P3F UR 004 - INRA - Le Chêne RD150, F-86600 Lusignan, BP 86006, France and ²Jouffray Drillaud - La Litière, F-86600 Saint Sauvant, France

*For correspondence. Email isabelle.litrico-chiarelli@inra.fr

Received: 6 June 2018 Returned for revision: 18 July 2018 Editorial decision: 20 November 2018 Accepted: 3 December 2018

• **Background and Aims** The positive effects of species diversity on the functioning and production of ecosystems have been discussed widely in the literature. In agriculture, these effects are increasingly being applied to mixed-species crops and particularly to temporary grasslands. However, the effects of increases in genetic diversity (i.e. within-species diversity) on productivity in multispecies crops have not been much studied. Nevertheless, genetic diversity may have strong positive effects on agricultural ecosystems and positively influence production and species abundances in multispecies covers. We examine here the effects of genetic diversity on temporary multispecies grasslands.

• **Methods** From a real situation, a breeder's field trial, we describe a study with five seed mixtures, each containing seven species (three grasses and four legumes) but with three different levels of genetic diversity (low, medium and high) created by using different numbers of cultivars per species. From the perspective of a plant breeder, we analyse measurements of biomass production over a 5-year period.

• **Key Results** We show a positive effect of genetic diversity on production, on production stability and on the equilibrium of species abundances in the mixtures over the 5-year period of the experiment. The legume/grass proportions were best balanced, having the highest within-species diversity.

• **Conclusions** For the first time in a field-plot study, we demonstrate the major role played by within-species genetic diversity on the production, stability and species composition of temporary grasslands. Our key results seem to find their explanation in terms of shifts in the peaks of species biomass production during the season, these shifts likely leading to temporal species complementarity. Our study suggests major benefits will arise with increases in the genetic diversity of multispecies crops. Genetic diversity may be useful in helping to meet new crop-diversification challenges, particularly with multispecies grasslands. Genetic and species diversity will likely provide additional levers for improving crops in diversified systems.

Key words: Cultivar and species mixtures, genetic diversity, production stability, species equilibrium, grass species, legume species.

INTRODUCTION

Many ecological studies have demonstrated the positive effects of species diversity on ecosystem functioning (Loreau, 1998; Gamfeldt *et al.*, 2008). It is now widely accepted that species diversity affects biomass production functions (Hector *et al.*, 1999; Tilman *et al.*, 1996, 2001), ecosystem services (Hooper *et al.*, 2005; Isbell *et al.*, 2011; Finn *et al.*, 2013) and the stability of ecosystem processes (Tilman *et al.*, 2006; Isbell *et al.*, 2009; Jiang and Pu, 2009; Gross *et al.*, 2014). In community ecology, the principal mechanism used to explain the positive effects of species diversity is complementarity in resource use. This results from a diminution of competitive intensity between species, promoted by their niche difference, and thus favours the abundance of each and so their coexistence. Complementarity may operate at a temporal level, for instance if the growths of two species are not in synchrony. Although widely described at species level, the effects of diversity at genetic level (i.e. at the within-species diversity level) have scarcely been investigated in multispecies crops. Nevertheless, a number of studies

have shown the importance of genetic diversity on the functioning of multispecies plant covers, i.e. plant communities (Whitlock *et al.*, 2007; Prieto *et al.*, 2015). Despite the high potential importance of genetic diversity in multispecies crops (Prieto *et al.*, 2015) and its significance in the breeding of plant species for use in mixtures (Litrico and Violle, 2015) in diversified agro-ecosystems studies of the effects of genetic diversity in multispecies crops are few. As noted by Barot *et al.* (2017), this contrasts with studies of the effects of genetic diversity in monospecies crops.

In multispecies temporary grasslands, farmers use grassland grasses and legume species. However, there has as yet been little work that serves to guide the choice of genetic diversity within the individual species in a species mixture. Temporary multispecies grasslands offer a good model through which to study this question. Some plant breeders seek to improve their seeds for use in temporary multispecies grasslands by utilizing the available genetic diversity to increase production, to engender production stability and to maintain species balance. The aims

of this study are, using a case study, (1) to generate information about the effects of genetic diversity on community functioning, particularly on biomass production and species abundance, and (2) to link the effects of genetic diversity on community functioning with values for species growth synchrony.

The contribution of plant ecology to crop science has expanded in recent years. One of the challenges for agriculture in future work on agro-ecosystems will be to lay more equal weight on aspects of plant production and those of environmental sustainability (Dooley, 2005). Hopefully, this perspective will also help minimize conflict between these two objectives (Nemecek and Erzinger, 2005). The use of multispecies crops, in particular those including legumes, is increasingly seen as a way of making plant productive systems more sustainable. An increasing number of studies have emphasized the positive effects of species diversity in agro-ecosystems (Tilman et al., 2001; Hooper et al., 2005; Cardinale et al., 2012) and these favour diversification in agriculture. Sown multispecies grasslands are a major component of crop diversification, to increase the environmental sustainability of agriculture (O'Mara, 2012). These crops can play a number of positive roles in promoting ecosystem services in cropping systems by affecting the nitrogen economy (Weigelt et al., 2009; Gross et al., 2010), limiting weed populations (Hector et al., 2001; Frankow-Lindberg, 2012) and increasing soil fertility (Garbeva et al., 2006). By these means they can also reduce the need for pesticide application. An increasing proportion of temporary grasslands in cash-crop rotations can also help secure forage production and hence livestock farming autonomy, especially in the face of projected changes in climate, which include increases in the incidence and severity of water deficit. Lastly, temporary grasslands can also have positive environmental outcomes (Soussana and Lemaire, 2014; Kunrath et al., 2015), their multispecies composition being important in ensuring this multifunctional role (Weigelt et al., 2009). Temporary grasslands are frequently sown as species mixtures, and the inclusion of high within-species diversity is indeed possible. This genetic diversity could influence the functioning of these crops (Prieto et al., 2015) to extents, and in ways, that have yet to be assessed. A better understanding of the effects of genetic diversity on community functioning is also likely to be useful in dealing with new challenges faced by agronomy associated with diversification. In particular, breeders need to provide farmers with forage plant cultivars designed for mixtures, and this involves taking plant–plant interactions into account.

Some plant breeders have undertaken trials to test the effects of the genetic variability of the individual species they use in sown grassland mixtures on mixture production over significant periods of time. Here, we take advantage of such a situation occurring in a breeder's experiment, to examine the effects of genetic diversity on temporary multispecies grasslands in the particular case of an experiment set up by a plant breeder to identify optimal seed mixtures for farmers. Monitoring over a 5-year period, we first analyse the effects of genetic diversity on mixture biomass production and on species abundances in a grassland community, and second we examine whether there has been any effect of genetic diversity on species growth synchrony and/or any link between genetic diversity and biomass production and species abundances.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

In September 2011, the plant breeder at Jouffray Drillaud sowed a total of 15 multispecies grassland mixtures in micro-plots (5 × 1.3 m) at the Jouffray Drillaud Station, Saint Sauvant, France (46°21'37" N, 0°03'25" E). The climate of this region is oceanic temperate with wet winters and medium-dry summers. During the 5-year experimental period, the average annual rainfall was 852 mm and the average annual temperature was 12.1°C. The micro-plots were fully exposed to the weather, with no supplementary irrigation applied during the period. The soil is a Cambisol with a silty-loamy texture in the surface horizon and clay in the subsoil horizon (Hubert, 2008) (Supplementary Data Fig. S1). The organic matter concentration varied from ~1.9 % in the 0–30 cm soil layer, down to ~0.4 % at 135 cm depth, with only traces of free CaCO₃. The field capacity at the site was close to 150 mm (Kunrath et al., 2015). To quantify variations in water deficit intensity during regrowth, between seasons and also between years, two indices were computed. A simple daily soil-water balance considered a single soil reservoir of 150 mm depth at maximum soil-water availability (SMWA) (simplified from Kunrath et al., 2015). All mixtures were considered to be exposed to the same SMWA and to the same daily potential evapotranspiration rate. The first index was the fraction of soil water content (FSWC) averaged over the whole regrowth period. The second index was computed following the FAO estimate of threshold values for grassland species and enumerating the proportion of days between two cuts, when the FSWC was <40 %. Rainfall, global solar irradiance, air temperature and humidity and wind-run at 2 m height were recorded daily by an automatic weather station belonging to the INRA network located 2 km from the experimental site. The related database CLIMATIK provided the certified data and the potential evapotranspiration was calculated using the Penman equation calibrated for an irrigated tall fescue turf.

Each micro-plot contained a single seed mixture sown in eight rows, each 5 m long. Each seed mixture contained seven species (all species common in temporary grasslands). The mixtures all contained three grass species (*Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne*) and four legume species (*Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus* and *Medicago sativa*). The seed mixture in each micro-plot had the same total weight of seed and the same species proportions (Table 1). The genetic diversity of each species (controlled by number of cultivars) varied between the seed mixtures. The cultivars of each species were chosen by the breeder from those commonly in use in agriculture, that are available in the French catalogue but are of contrasting phenology, aerial architecture and biomass production (Table 1). This situation would seem to provide an excellent opportunity to explore mechanisms of complementarity existing between species, and also between cultivars. For each species, up to six cultivars were used, except for *T. pratense*, *T. repens* and *L. corniculatus*, for which fewer cultivars were available; three of the seed mixtures contained only one cultivar per species (M-1, M-2 and M-3), one mixture contained two or three cultivars per species (M-4) and one mixture contained two to six cultivars per species (M-5) (Table 1). The five seed mixtures were replicated three times (from the

TABLE 1. Proportions of species and cultivars sown for five mixtures (M-1, M-2, M-3, M-4, M-5). The proportions are those of seed mass. Each cultivar used is described according to four agronomic traits. Each trait is described according to three levels: low (+), medium (++), high (+++). A cultivar code was assigned to cultivars not yet registered and named (D. glomerata, F. arundinacea and L. perenne)

Species	Cultivar	Proportions (seed mass)					Description of cultivars			
		M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	Yield	Height	Leaf area	Phenology
<i>D. glomerata</i>		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Vaillant	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	+
	Lucullus	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	++	++
	Accord	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	+
	Otop	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	++	+++	++
	E1V5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	+	+	+	+++
<i>F. arundinacea</i>	President	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	++
		0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	Soni	1.000	0.000	0.000	0.500	0.125	++	++	++	+++
	Elodie	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+++	++	++	+++
	Noria	0.000	0.000	0.000	0.250	0.125	+	++	++	++
	Gardian	0.000	1.000	0.000	0.000	0.250	+++	+++	+++	++
<i>L. perenne</i>	E3V5	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	+	+	+	++
	Mariellendo	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	++	++	++	+++
		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Gagny	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	++	+	++
	Aberstar	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	++	+	++
	Juras	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+	++	+++
<i>T. repens</i>	Tonnus	0.000	1.000	0.000	0.000	0.166	+++	+++	+++	+
	E6V5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	++	++	++
	Rgmaroc	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	+	+
		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Abervantage	1.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	+	+	++
	Aran	0.000	0.000	0.000	0.333	0.333	++	++	++	++
<i>T. pratense</i>	Giga	0.000	1.000	1.000	0.333	0.333	++	+++	+++	+++
		0.115	0.115	0.115	0.115	0.115				
	Diplo	1.000	1.000	0.000	0.666	0.666	++	++	++	++
	Formica	0.000	0.000	1.000	0.333	0.333	++	+	+	++
		0.078	0.078	0.078	0.078	0.078				
	Leo	1.000	0.000	0.000	0.500	0.500	++	+	+	++
<i>L. corniculatus</i>	Altus	0.000	1.000	0.000	0.500	0.250	++	+++	+++	+
	PX-cte	0.000	0.000	1.000	0.000	0.250	++	+	+++	++
		0.231	0.231	0.231	0.231	0.231				
	timbale	1.000	0.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	+++	++
	Galaxie	0.000	1.000	0.000	0.333	0.166	+++	+++	++	++
	Kali	0.000	0.000	0.000	0.333	0.166	++	+++	++	++
<i>M. sativa</i>	Meldor	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Rafia	0.000	0.000	1.000	0.000	0.166	++	+++	++	++
	Luzelle	0.000	0.000	0.000	0.000	0.166	++	+	+	++

same seed lots) and were randomly distributed in three blocks. There was a total of 15 plots (3 × 5). No nitrogen (N) fertilizer was applied during the experimental period. This limited the soil N resources to soil mineralization of organic N and to fixation of atmospheric N by the legumes.

Total and species biomass

For the 5 years of the experiment the whole canopy of each plot was harvested three times each year (spring, summer and autumn, 2012–16). All plots were cut at 5 cm above ground level and at the same time. Harvest date was decided based on a visual assessment of the above-ground standing biomass. Fresh biomass was weighed for each harvest and each plot. A sample was taken from each harvest and each plot, and weighed (fresh biomass), dried to constant weight at 60 °C for 72 h and weighed again (dry biomass). The dry biomass of each harvest

and each plot was estimated from the ratio between the fresh and dry masses for the samples. At each harvest, four quadrats (0.33 × 0.15 m) were placed randomly in each plot and the species dry biomasses were separated. These samples were dried and weighed to measure the dry mass proportion of each species in the total dry biomass. The estimation of species dry biomass was arduous, so was carried out on only two of the three blocks for years 1, 2 and 3 and on all blocks for years 4 and 5. It was in these latter years that the difference between species abundances began to be large. For each plot and each year, the annual total biomass (for all species) and annual species biomass (for each species) were calculated by summation of the three biomass measurements (spring, summer and autumn). The inter-annual coefficients of variation (CVs) for annual total biomass were calculated as:

$$CV_{\text{inter-annual}} = \frac{\sigma'}{\mu'}$$

where σ' is the standard deviation of annual dry biomass between years and μ' is the mean annual dry biomass over 5 years. The CVs were calculated for each plot.

Evenness index

To define the species abundance equilibrium for each mixture, we adapted the Pielou evenness index (Pielou, 1966), which is based on the Shannon index (Shannon and Weaver, 1963). Unlike the Pielou and Shannon–Weaver indices, which are based on the numbers of individuals of each species, the proportion of species in our evenness index (E) is based on the dry biomass of each species in the plot. First, the diversity index (H) was computed as in Pielou (1966) but with species dry biomass proportions replacing Pielou's species numerical abundance proportions;

$$H = -\sum_{i=1}^S b_i \times \log b_i$$

where b_i represents the dry biomass proportion of species i . In this equation, the maximum value taken by H occurs when the proportions between species dry biomass are equal. Under these conditions, $H_{\max} = \log S$, where S represents the number of species. The value 0 was assigned to extinct species. The evenness index is then defined as:

$$E = H/H_{\max}$$

with values of E varying from 0 to 1. For this study, S was always the total number of species involved and this was fixed in our experiment at seven. The inter-annual CV of the evenness index was calculated for each plot as:

$$CV_j = \frac{\sigma_j}{\mu_j}$$

where σ_j is the standard deviation of E between years in plot j and μ_j is the index mean over 5 years in plot j .

Species synchrony

The species synchrony index (Loreau and de Mazancourt, 2008) was calculated for each year and for each plot. The species synchrony index measures the level of synchrony in the above-ground growth (dry biomass) peak of each species. It is frequently used in ecology to explain plant community stability. The synchrony index (Ψ_j) of plot j was calculated as:

$$\Psi_j = \frac{\sigma_j^2}{(\sum_{i=1}^S \sigma_{ij})^2}$$

where σ_j^2 is the variance of total dry biomass in plot j over subsequent seasonal measurements (three measures per year: spring, summer, autumn) and σ_{ij} is the standard deviation of the dry biomass of species i in mixture j over subsequent seasonal measurements. The value $\Psi = 1$ indicates that the species in the community are perfectly synchronous in their growth in the

plot. For the value $\Psi = 0$ the growths of the species in the plot are totally asynchronous.

Statistical analyses

Index calculation and statistical analyses were carried out each year using R software (v. 3.2.4; R Development Core Team, 2016). The Shannon–Weaver index was calculated with the Vegan package (Oksanen et al., 2016).

The mixture effect was tested on means of annual total biomass, annual species biomass, evenness index, synchrony index, inter-annual CVs of total biomass and inter-annual CVs of the evenness index. The normality and the homoscedasticity of residuals were checked using the Shapiro and Bartlett tests. We conducted ANOVA with the aov function in R. Our design was balanced, with mixture and block as fixed factors according to the following model (model 1):

$$Y_{klm} = \mu + \alpha_k + \beta_l + \varepsilon_{klm}$$

where Y_{klm} is the variable explained, α_k is the fixed mixture effect for level k of the mixture factor, β_l is the fixed block effect for level l of the block factor and ε_{klm} is the model error for the explained variable Y corresponding to observation m . Tukey tests (multiple comparisons) were carried out when the mixture effect was significant, for 2×2 comparison of mixtures (TukeyHSD function). Correlation was assessed between the evenness index and the synchrony index, between the evenness index and total annual biomass and between the synchrony index and total annual biomass with a regression test (lm function).

From the climate data, we observed (Fig. 1) a stronger drought in the two last years of the 5-year trial. To disentangle the effects on total annual biomass of grassland age (time since sowing) and that of drought, we analysed data with a repeated measures analysis of variance (aov function in R with error term). Our design was balanced, with mixture, block, drought and age as fixed factors and individuals as random factor using the following model (model 2):

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_k + \beta_l + \tau_m + \gamma_m + (\alpha\tau)_{km} + (\alpha\gamma)_{km} + (\tau\gamma)_m + u_j + \varepsilon_{ijklm}$$

where j, k, l and m have the same meaning as in the previous equations, Y_{ijklm} is the variable explained, α_k is the fixed mixture effect, β_l is the fixed block effect, [corresponding to number of days (Julian day) per year that FSWC was <40 %], τ_m , γ_m (the number of years since sowing) is the covariable introduced in the model, u_j is the within-subject variability (error term in the aov function) linked to plot j (plot identity) and ε_{ijklm} is the model error; $(\alpha\tau)_{km}$ is the interaction between mixture effect and the drought covariable, $(\alpha\gamma)_{km}$ is the interaction between mixture effect and the age covariable, and $(\tau\gamma)_m$ is the interaction between drought and age. The percentage of total variance explained by each factor and covariable was computed as:

$$\theta_h = \frac{SC_h}{SC_t} \times 100$$

where θ_h is the percentage explained by factor h , SC_h is the sum of squares of factor h and SC_t is the total sum of squares of the model.

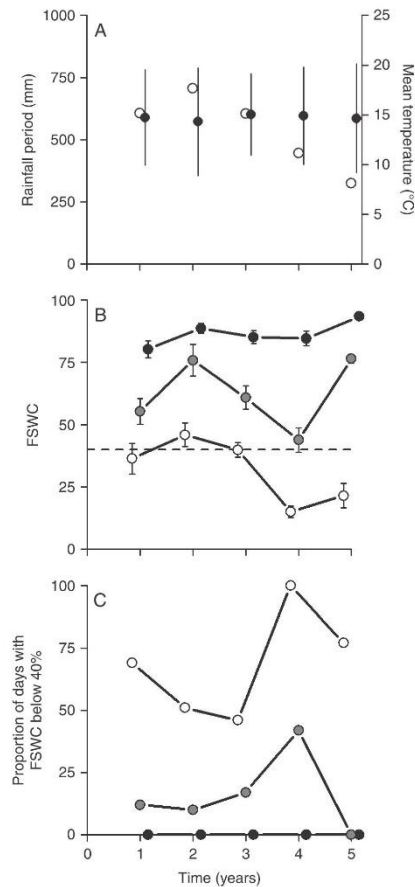


FIG. 1. Climatic data. (A) Rainfall during the measurement periods (March to October) and mean annual temperature (values are mean $\pm$ standard deviation) from the 'climatik' database (Lusignan INRA station). (B) Fraction of soil water content (FSWC) averaged during regrowth each year. Black points represent the values of useful reserve for the first cut, grey points the second cut and white points the third cut. The dashed line represents a threshold of 40 %, below which grassland species are considered to be under water stress (FAO estimate of threshold values for grasslands). Values are mean $\pm$ confidence interval. (C) Proportion of days during regrowth when the FSWC index was <40 % for each year. Black points represent the value of FSWC for the first cut, grey points the second cut and white points the third cut.

RESULTS

Total and species annual biomass

Total annual biomass production (all species) changed over the 5-year period of the experiment (Fig. 2A). Values lay in the

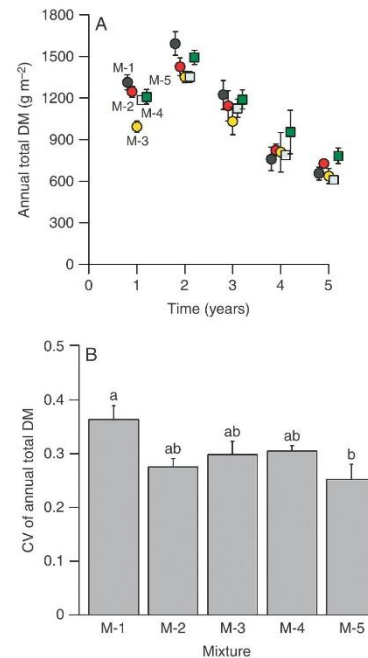


FIG. 2. Production and variation of total biomass. (A) Annual total biomass of five mixtures: M-1 (black points), M-2 (red points), M-3 (yellow points), M-4 (blue squares) and M-5 (green squares). Values are mean $\pm$ standard error. (B) Mean inter-annual CVs of annual total biomass per mixture. Values are mean $\pm$ standard error. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$). DM, dry matter.

TABLE 2. Analysis of variance from model M-2 to explain total annual biomass

Effect	D.f	F value	P value	Percentage of variance explained*
Mixture	4	6.14	0.01	4
Block	2	16.86	<0.01	5.5
Drought	1	210.54	<0.001	23.9
Age	1	355.104	<0.001	40.4
Mixture $\times$ drought	4	2.87	0.03	1.3
Mixture $\times$ age	4	2.87	0.03	1.3
Drought $\times$ age	1	147.05	<0.001	16.7

*Percentage of variance explained by each factor.

range 600–1600 g m⁻², with an increase between year 1 and year 2, and then a decline to year 5. This trend was much the same for all mixtures. The rainfall events during the growth period and the FSWC followed much the same pattern during the 5 years of the experiment (Fig. 1A, B). Total biomass was affected by both drought intensity (number of days per year when

TABLE 3. Analysis of variance from model M-1 to explain annual total biomass, annual biomass for each species, and indices of evenness and synchrony

	Effect	Year 1			Year 2			Year 3			Year 4			Year 5			P value
		D.f	F value	P value	D.f	F value	P value	D.f	F value	P value	D.f	F value	P value	D.f	F value	P value	
Total annual biomass	Mixture	4	7.01	0.01	4	14.11	<0.01	4	1.28	0.36	4	1.08	0.43	4	4.16	0.04	
	Block	2	0.95	0.43	2	19.02	<0.001	2	6.15	0.02	2	6.52	0.02	2	3.64	0.08	
<i>D. glomerata</i> biomass	Mixture	4	5.53	0.06	4	0.08	0.98	4	2.05	0.25	4	1.71	0.24	4	3.14	0.08	
	Block	1	0.35	0.59	1	1.34	0.31	1	1.04	0.37	2	8.05	0.01	2	13.25	<0.01	
<i>F. arundinacea</i> biomass	Mixture	4	6.80	<0.05	4	47.46	<0.01	4	1.95	0.27	4	5.58	0.02	4	23.87	<0.01	
	Block	1	2.79	0.17	1	0.30	0.61	1	0.50	0.52	2	0.60	0.57	2	0.17	0.85	
<i>L. perenne</i> biomass	Mixture	4	10.81	0.02	4	4.44	0.09	4	6.93	0.04	4	1.59	0.27	4	2.74	0.10	
	Block	1	4.48	0.10	1	6.09	0.07	1	0.69	0.45	2	1.33	0.32	2	0.62	0.56	
<i>T. repens</i> biomass	Mixture	4	81.77	<0.01	4	4.26	0.09	4	0.69	0.63	4	0.67	0.63	4	2.02	0.18	
	Block	1	21.88	0.01	1	1.80	0.25	1	3.49	0.14	2	4.68	0.05	2	16.26	<0.01	
<i>T. pratense</i> biomass	Mixture	4	8.12	0.03	4	2.25	0.23	4	1.08	0.47	4	0.90	0.51	4	0.35	0.84	
	Block	1	0.78	0.43	1	0.94	0.39	1	1.74	0.26	2	1.37	0.31	2	0.49	0.63	
<i>L. corniculatus</i> biomass	Mixture	4	4.69	0.08	4	3.23	0.14	4	1.07	0.48	4	4.99	0.03	4	0.98	0.47	
	Block	1	1.92	0.24	1	3.62	0.13	1	0.72	0.44	2	2.54	0.14	2	0.16	0.86	
<i>M. sativa</i> biomass	Mixture	4	14.90	0.01	4	1.06	0.48	4	1.33	0.40	4	5.31	0.02	4	2.27	0.15	
	Block	1	7.98	0.05	1	3.70	0.13	1	1.97	0.23	2	1.36	0.31	2	1.49	0.28	
Evenness index	Mixture	4	4.61	0.08	4	7.74	0.61	4	3.81	0.11	4	2.43	0.13	4	22.97	<0.001	
	Block	1	0.01	0.93	1	2.45	0.19	1	1.83	0.25	2	9.11	0.03	2	5.92	0.03	
Synchrony index	Mixture	4	1.43	0.36	4	0.66	0.65	4	2.35	0.21	4	4.08	0.04	4	1.59	0.27	
	Block	1	0.42	0.55	1	0.77	0.43	1	0.01	0.92	2	3.42	0.08	2	0.38	0.70	

FSWC was <40 %) and by mixture age (Table 2). Drought significantly affected total biomass change from year to year (representing 24 % of variation) with cumulative effects of mixture age (representing 40 % of variation). In the first, second and fifth years, annual total biomass (all species) showed significant differences between mixtures (Table 3, Fig. 2A). Mixture M-5, with the highest genetic diversity, was among the most productive (1200–1600 g m⁻²) in the first 2 years and also exhibited the highest productivity in the final year (around 800 g m⁻²; Fig. 2A). Furthermore, for M-5, the inter-annual CV of total biomass ($F_{4,2} = 4.26$, $P < 0.05$) (Fig. 2B) was lower than that of the most productive of low-diversity mixtures (M-1) and tended to be the lowest measured amongst all mixtures.

The species composition of the mixtures showed significant change for several species and over several years (Table 3). Within all mixtures, the initial (year 1) abundances of *F. arundinacea* and *D. glomerata* accounted for lower proportions of total biomass than *L. perenne* and *T. repens*, but in year 5 the situation was fully reversed (Fig. 3A, B). Until year 4, the differences between mixtures were not explained by their genetic diversities. However, the mixture with greatest genetic diversity (M-5) had significantly higher species abundance representation (Fig. 3B, Table 3). Our results show that genetic diversity of species can influence the contribution of species to total mixture biomass. This was also significant for the grass–legume biomass proportions (Fig. 3A, B) and was confirmed by the species evenness result (see next section).

Species evenness and species synchrony indices

Among the more productive mixtures, only in M-5 did the evenness index remain almost unchanged, exhibiting the highest values throughout the 5-year experiment (Fig. 4A). Hence, the inter-annual CV of evenness index for mixture M-5 was among the lowest (Fig. 4B). The species evenness in M-5 was significantly higher (near 0.8) than in any other mixture in year 5, the final year of measurement (Fig. 4A, Table 3). These results emphasize the positive influence of species genetic diversity on the equilibrium of species abundances in a mixture in the field over a period of time. Lastly, when the drought effect was removed (analysis of residuals of regression model with the number of days when the FSWC index was <40 % as variable), a correlation was maintained ($R^2 = 0.20$, $P < 0.001$) between evenness index and total annual biomass (Fig. 4C).

The synchrony index varied between ~0.2 and 0.75 in year 4 and between 0.35 and 0.75 in year 5. The mixture effect on the synchrony index was significant in year 4 (Table 3), while the synchrony value for M-5 was the weakest. A similar but non-significant trend was found in year 5. Finally, there was a negative correlation ($R^2 = 0.38$, $P < 0.001$) between the evenness index and the synchrony index in year 4 and year 5 (Fig. 4D).

DISCUSSION

As expected, the dynamics of biomass production over the years changed with increasing age of the grassland (Hopkins et al., 1995). Drought intensity also affected total biomass, with a cumulative effect of mixture age. Although the water deficit

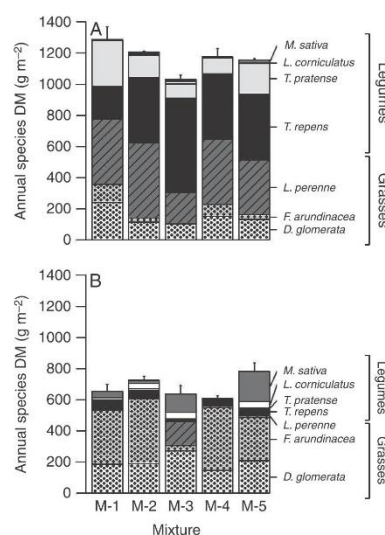


FIG. 3. Annual species biomass. (A) Mean of annual species biomass of each mixture for the first year of the experiment with *D. glomerata*, *F. arundinacea*, *L. perenne*, *T. repens*, *T. pratense*, *L. corniculatus* and *M. sativa*. Values are mean $\pm$ standard error. (B) Mean of annual species biomass of each mixture for the fifth year of the experiment with *D. glomerata*, *F. arundinacea*, *L. perenne*, *T. repens*, *T. pratense*, *L. corniculatus* and *M. sativa*. Values are mean $\pm$ standard error. DM, dry matter.

intensity may have differed slightly between mixtures, the mixture with the highest species genetic diversity showed the highest productivities during the last few years of the trial, after the cumulative effects of grassland age and drought. It also showed the lowest CVs. Our results show not only an effect of genetic diversity on the biomass production of mixtures but also demonstrate that the stability of biomass production tends to increase with high genetic diversity. This finding is consistent with that from a recent study using grassland micro-plots in boxes of artificial soil exposed to drought (Prieto et al., 2015). It also supports the ecological hypothesis that diversity is a source of community stability (Gross et al., 2014). One novel result of our study is the positive effect of genetic diversity on the balance of species abundance over a period of time. That is, the genetic diversity of the various species constituting a community affects the species proportions. The results for both biomass production stability and species evenness for the mixture M-4, which had intermediate genetic diversity, were not intermediate, as might have been expected. Two possible explanations are that (1) the species genetic diversity of M-4 was too low to obtain a significant genetic diversity benefit – in other words, a minimum level of genetic diversity may be required for the complementarity mechanism to be activated; and (2) M-4 did not contain particularly competitive cultivars. The effects of the identity of the cultivars may have become entangled with the effects of increasing genetic diversity. The

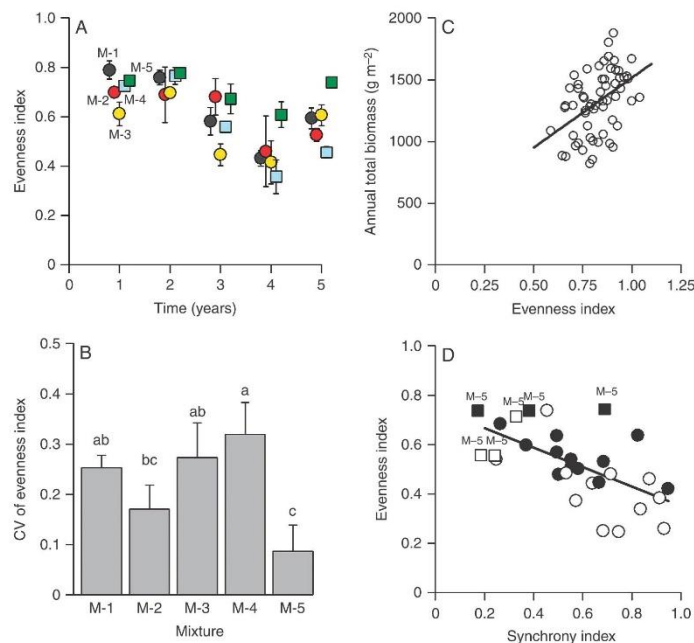


FIG. 4. Equilibrium and synchrony level of species. (A) Equilibrium species abundances estimated from yearly evenness index for the five mixtures: M-1 (black points), M-2 (red points), M-3 (yellow points), M-4 (blue squares) and M-5 (green squares). (B) Inter-annual CV of the evenness index. Values are mean $\pm$ standard error. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$). (C) Annual total biomass as a function of evenness index for the 5 years of the experiment with the drought effect removed; residuals of models with the number of days when the fraction of soil water content (FSWC) index was $< 40\%$ as fixed factor. The regression through both sets of points is significant ($P < 0.001$), with $R^2 = 0.20$. (D) Synchrony index as a function of evenness index for the fourth year (white points) and fifth year (black points). Square points correspond to mixture M-5 and round points correspond to the other mixtures. The regression through both sets of points is significant ($P < 0.001$), with $R^2 = 0.38$.

results for the medium-diversity mixture may be explained by the absence of some cultivars. This hypothesis, leading to selection of competitive cultivars, could be studied with molecular tools to shed light on the dynamics of multi-cultivar swards over time. However, our key result is the negative relationship found between the evenness index and synchronicity. This suggests a temporal complementarity between species driven by high genetic diversity. This result fits with the study of Prieto *et al.* (2015).

For more sustainable, productive and persistent sown grasslands in crop rotations, it is important that we are able to determine the most effective level of genetic diversity of species. It is also important to identify the genetic traits that should be most diverse; some traits may not be useful at all and others quite critical. In particular we need to identify those traits most involved in species complementarity (Litrico and Violle, 2015; Wagg *et al.*, 2017). In our experiment, the trait differences were focused on the cultivars' phenologies and leaf traits (Table 1). In further studies, it would be interesting to test the effects of diversity in a number of other traits and with other species. In a plant community, differentiation of species ecological niches

(MacArthur and Levins, 1967) through differentiation of traits should allow species to reduce the negative effects of plant interaction (i.e. competition) by promoting species complementarity. The variations in evenness and species abundance suggest that traits linked to growth seasonality (e.g. the timing of biomass peaks during the year), and therefore phenology, could be important. Meanwhile, at least a certain level of diversification within species would seem to be desirable. Asynchrony of peak biomass between species leads to temporal niche differentiation of growth (Prieto *et al.*, 2015). This contributes to the species diversity effect on production stability and on ecosystem functioning. The relation between genetic diversity and asynchrony of peak biomass between species under artificial conditions was highlighted recently by Prieto *et al.* (2015). Our results support the potential effect of genetic diversity and, for the first time, demonstrate this support in the field. Selected genotypes within species could be complementary for growth relative to genotypes within other species and thus reduce competition and increase complementarity between species by shifting the timing of biomass peaks. The benefits of high genetic diversity could have occurred simultaneously with the increase in competitive

pressures (after the early years). Species genetic diversity may increase the likelihood of particular genotypes being present that are better adapted to the conditions generated by the presence of other species and their associated selection pressures. In this way, genotype-level selection could lead to species-level complementarity effects. Our study displays a negative correlation between peak biomass synchrony among species and equilibrium of species abundance. This fosters the growth of asynchronous species, decreases competition between species and favours the growth of each species. The equilibrium of species abundance seems to improve total biomass production through the year, probably through species competition equilibrium.

Many studies to date have focused on species diversity effects within crops. However, the genetic diversity effect on the production, stability and species composition of multispecies crops has been largely overlooked. Along with species diversity, genetic diversity can have a nested effect on the performance of a species mixture (Litraco and Huyghe, 2018). The results presented here are based on a particular set of species, of cultivars and of environmental conditions. It remains for our findings to be confirmed for other plant materials and environments through similarly structured experiments. Nevertheless, our results are in broad agreement with the few studies that have been made into the effects of genetic diversity in plant mixtures (Whitlock et al., 2007; Prieto et al., 2015). Here, we provide insights that may present avenues along which to explore the mechanisms underlying the observed ecological effects. We suggest the hypothesis that ecological mechanisms, such as complementarity, may depend on selection at the genetic level. The genetic diversity of a species in a mixture should, over time, ensure the presence of genotypes adapted to selection pressures imposed by the other species in the mixture. In this way, genetic diversity should lead to essential complementarity between species, improved biomass production and species equilibrium stability in multispecies crops.

Conclusions

This study has significance for areas of agriculture and agroecology where crop diversification is required. The high genetic diversity of individual species in a multispecies mixture should raise the biomass production and stability of the plant community. Such stabilities are important in agriculture to ensure enduring production and quality (Sturludottir et al., 2014). The nutritional quality of forage crops is influenced by species composition, especially when legumes are included (Deak et al., 2007). This study shows, for the first time, the importance of genetic diversity obtained through the mixing of cultivars in improving the effects of species mixtures in temporary grasslands. Our results suggest temporal complementarity may be a very good way to optimize grassland functioning, as well as suggesting a target for the composition of seed mixtures for breeders. This study also contributes to the discussion of the need to include genetic diversity in breeding programmes of cultivars intended for multispecies crops and suggests ways in which this may help meet the challenges faced by modern agriculture (Litraco and Violle, 2015).

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data are available online at <https://academic.oup.com/aob> and consist of the following. Figure S1: soil texture as a function of soil depth.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the URP3F technical team and particularly Dominique Dénoue and Brigitte Bonneau, who provided important experimental assistance. We also thank the Jouffray Drillaud technical team that conducted the experiment. Finally, we thank two anonymous referees for their relevant comments on our work. The ANR project (PRAISE, ANR-13-ADAP-0015) co-funded this work. The PhD grant of Julien Meilhac was supported by the Region Poitou-Charente and INRA (BAP division and EcoServ Metaprogram).

LITERATURE CITED

- Barot S, Allard V, Cantarel A, et al. 2017. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 37: 13.
- Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, et al. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486: 59–67.
- Deak A, Hall MH, Sanderson MA, Archibald DD. 2007. Production and nutritive value of grazed simple and complex forage mixtures. *Agronomy Journal* 99: 814–821.
- Dooley EE. 2005. Millennium ecosystem assessment. *Environmental Health Perspectives* 113: A591.
- Finn JA, Kirwan L, Connolly J, et al. 2013. Ecosystem function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: a 3-year continental-scale field experiment. *Journal of Applied Ecology* 50: 365–375.
- Frankow-Lindberg BE. 2012. Grassland plant species diversity decreases invasion by increasing resource use. *Oecologia* 169: 793–802.
- Gamfeldt L, Hillebrand H, Jonsson PR. 2008. Multiple functions increase the importance of biodiversity for overall ecosystem functioning. *Ecology* 89: 1223–1231.
- Garbeva P, Postma J, van Veen JA, van Elsas JD. 2006. Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. *Environmental Microbiology* 8: 233–246.
- Gross K, Cardinale BJ, Fox JW, et al. 2014. Species richness and the temporal stability of biomass production: a new analysis of recent biodiversity experiments. *American Naturalist* 183: 1–12.
- Gross N, Liancourt P, Choler P, Suding KN, Lavorel S. 2010. Strain and vegetation effects on local limiting resources explain the outcomes of biotic interactions. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12: 9–19.
- Hector A, Schmid B, Beierkuhnlein C, et al. 1999. Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. *Science* 286: 1123–1127.
- Hector A, Dobson K, Minns A, Bazeley-White E, Lawton JH. 2001. Community diversity and invasion resistance: an experimental test in a grassland ecosystem and a review of comparable studies. *Ecological Research* 16: 819–831.
- Hooper DU, Chapin FS, Ewel JJ, et al. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75: 3–35.
- Hopkins A, Murray PJ, Bowling PJ, Rook AJ, Johnson J. 1995. Productivity and nitrogen uptake of aging and newly sown swards of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) at different sites and with different nitrogen-fertilizer treatments. *European Journal of Agronomy* 4: 65–75.
- Hubert F. 2008. Clay mineral assemblage characterisation of two temperate soils using direct profile fitting of diffractograms. Mineralogical and pedological outputs. PhD Thesis, Université de Poitiers.
- Ishell F, Calcagno V, Hector A, et al. 2011. High plant diversity is needed to maintain ecosystem services. *Nature* 477: 199–202.

- Isbell FI, Polley HW, Wilsey BJ. 2009. Biodiversity, productivity and the temporal stability of productivity: patterns and processes. *Ecology Letters* **12**: 443–451.
- Jiang L, Pu ZC. 2009. Different effects of species diversity on temporal stability in single-trophic and multitrophic communities. *American Naturalist* **174**: 651–659.
- Kunrath TR, de Berranger C, Charrier X, et al. 2015. How much do sod-based rotations reduce nitrate leaching in a cereal cropping system? *Agricultural Water Management* **150**: 46–56.
- Litrice I, Violle C. 2015. Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends in Plant Science* **20**: 604–613.
- Litrice I, Huyghe C. 2018. Can increased within-field diversity boost ecosystem services and crop adaptability to climatic uncertainty? In: Lemaire G, Carvalho PC, Kronberg S, Recous S, eds. *Agro-ecosystem diversity: reconciling contemporary agriculture and environmental quality*. Academic Press, 191–197. doi:10.1016/B978-0-12-811050-8.00011-X.
- Loreau M. 1998. Biodiversity and ecosystem functioning: a mechanistic model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **95**: 5632–5636.
- Loreau M, de Mazancourt C. 2008. Species synchrony and its drivers: neutral and nonneutral community dynamics in fluctuating environments. *American Naturalist* **172**: E48–E66.
- MacArthur R, Levins R. 1967. The limiting similarity convergence and divergence of coexisting species. *American Naturalist* **101**: 371–385.
- Nemecek T, Erzinger S. 2005. Modelling representative life cycle inventories for Swiss arable crops. *International Journal of Life Cycle Assessment* **10**: 68–76.
- O'Mara FP. 2012. The role of grasslands in food security and climate change. *Annals of Botany* **110**: 1263–1270.
- Oksanen J, Blanchet G, Friendly M, et al. 2016. *Community ecology package*. R package Version 2.4-1. <https://cran.r-project.org>. <https://github.com/vegandevs/vegan>
- R Development Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org>
- Pielou EC. 1966. Species-diversity and pattern-diversity in the study of ecological succession. *Journal of Theoretical Biology* **10**: 370–383.
- Prieto I, Violle C, Barre P, Durand JL, Ghesquiere M, Litrice I. 2015. Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants* **1**: 5.
- Shannon CE, Weaver W. 1963. *The mathematical theory of communication*. Urbana: University Illinois Press.
- Soussana JF, Lemaire G. 2014. Coupling carbon and nitrogen cycles for environmentally sustainable intensification of grasslands and crop-livestock systems. *Agriculture Ecosystems & Environment* **190**: 9–17.
- Sturludottir E, Brophy C, Belanger G, et al. 2014. Benefits of mixing grasses and legumes for herbage yield and nutritive value in Northern Europe and Canada. *Grass and Forage Science* **69**: 229–240.
- Tilman D, Wedin D, Knops J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* **379**: 718–720.
- Tilman D, Reich PB, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C. 2001. Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science* **294**: 843–845.
- Tilman D, Reich PB, Knops JMH. 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature* **441**: 629–632.
- Wagg C, Ebeling A, Roscher C, et al. 2017. Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. *Functional Ecology* **31**: 2320–2329.
- Weigelt A, Weisser WW, Buchmann N, Scherer-Lorenzen M. 2009. Biodiversity for multifunctional grasslands: equal productivity in high-diversity low-input and low-diversity high-input systems. *Biogeosciences* **6**: 1695–1706.
- Whitlock R, Grime JP, Booth R, Burke T. 2007. The role of genotypic diversity in determining grassland community structure under constant environmental conditions. *Journal of Ecology* **95**: 895–907.

Résumé

De nombreuses études mettent en évidence un effet positif de la diversité spécifique sur la productivité des communautés végétales et la biodiversité associée. Mais l'effet de la diversité génétique sur la communauté d'espèces reste encore peu étudié en dépit des rares études montrant un effet positif avec des perspectives d'application dans le domaine de l'amélioration des plantes. C'est dans ce contexte que cette thèse s'interroge sur l'effet de la diversité génétique sur les communautés prairiales et la biodiversité du sol associée. Cette thèse repose sur une situation réelle via un dispositif d'évaluation de mélanges prairiaux installé par et chez un sélectionneur de plantes fourragères. Les résultats majeurs de cette thèse sont un effet positif de la diversité génétique des espèces sur la production de biomasse du mélange, particulièrement lors d'épisodes de sécheresse, et sur l'équilibre d'abondance des espèces. Ces effets positifs semblent être le résultat d'une différenciation de niches des espèces qui est à la base de la complémentarité des espèces en écologie. Il a été mis en évidence une complémentarité temporelle des espèces par une asynchronie des dynamiques de croissance, mais aussi une complémentarité sur l'acquisition de la lumière par des mécanismes de sélection et de plasticité. Enfin, des effets de la diversité génétique ont été observés sur la diversité microbienne avec des rétroactions sur les plantes. Au vu de ces résultats, il apparaît que la diversité génétique occupe une place centrale dans l'assemblage et la structuration des communautés végétales et microbiennes, nous amenant à réfléchir quant à sa valorisation en amélioration des plantes.

Abstract

Many studies highlight a positive effect of species diversity on plant community productivity and associated biodiversity. But genetic diversity effect on species community is still poorly studied despite the rare studies showing a positive effect with prospects for application in the field of plant breeding. It is in this context this thesis examines the genetic diversity effect on grassland communities and associated soil biodiversity. This thesis is based on a real situation via an evaluation design of grassland mixtures installed by and in a plants breeding company. The major results of this thesis are a positive effect of the species genetic diversity on mixture biomass production, especially during drought episodes, and on species abundance equilibrium. These positive effects seem to be the result of a niche differentiation of species which is at basis of species complementarity in ecology. Temporal complementarity of species has been demonstrated by an asynchronous growth dynamics, but also by a complementarity in the light acquisition by selection and plasticity mechanisms. Finally, genetic diversity effects have been observed on microbial diversity with plants feedbacks. In view of these results, it appears that genetic diversity occupies a central place in the assembly and structuring of plant and microbial communities, leading us to think on its value in plants breeding.