

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine

Mention : Biologie et Ecologie des forêts et des agrosystèmes

par **Anaïs THOMAS**

Sous la direction de Nicolas MARRON et Pierrick PRIAULT

Interactions entre espèces en plantations mélangées forestières et agroforestières

Soutenance publique le 25/05/2023

Membres du jury

Mme Claire DAMESIN Mme Marie GOSME	Professeure, Université Paris Saclay Chargée de recherche, INRAE Montpellier	Rapportrice Rapportrice
M. Damien BONAL Mme Alexia STOKES	Directeur de recherche, INRAE Nancy Directrice de recherche, INRAE Montpellier	Examinateur et Président Examinatrice
M. Nicolas MARRON M. Pierrick PRIAULT	Chargé de recherche, INRAE Nancy Maître de conférences, Université de Lorraine	Directeur de thèse Co-directeur de thèse

Unité de recherche :

UMR 1434 Silva, Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE Centre Grand-Est Nancy

Table des Matières

CHAPITRE I –	1
Introduction générale.....	1
1. Contexte et enjeux	2
2. Interactions des espèces végétales en plantations mélangées	7
2.1 Les interactions positives en plantations mélangées	10
2.1.1 <i>Réduction de compétition</i>	10
2.1.2 <i>Facilitation</i>	11
2.2 La compétition en plantations mélangées	14
2.3 Mesurer les interactions biotiques en plantations mélangées.....	16
3. Objectifs, questionnements et hypothèses	18
4. Le site expérimental de La Bouzule	22
CHAPITRE II – Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations	29
Résumé	30
1. Introduction	33
2. Materials and methods	36
2.1 Study area	36
2.2 Experimental design	36
2.3 Monitoring of soil and climate conditions	37
2.4 Tree dimension measurements	38
2.5 Inter- and intra-annual height growth dynamics	38
2.6 Calculation of competition indices.....	39
2.7 Estimation of leaf nitrogen	40
2.8 Statistical analyses.....	40
3. Results	41
3.1 Climate variation over time.....	41
3.2 Soil and leaf nitrogen contents	42
3.3 Tree dimensions	42
3.4 Growth dynamics	47
3.4.1 <i>Inter-annual growth dynamics</i>	47
3.4.2 <i>Intra-annual growth dynamics</i>	47
3.5 Intra- and inter-specific competition	51
3.5.1 <i>Hegyí index</i>	51
3.5.2 <i>Height to DBH (h/d) ratio</i>	51
4. Discussion	53

4.1 Climate conditions.....	53
4.2 Trends over time.....	53
4.2.1 Agroforestry vs. monoculture	53
4.2.2 Forest mixture vs. monoculture.....	55
5. Conclusion.....	58
Acknowledgements.....	58
Supplementary data	59
CHAPITRE III – Effets des mélanges sur les efficacités d'utilisation de l'eau et de l'azote des peupliers.....	67
CHAPITRE III – 1	71
Leaf and tree water-use efficiencies of <i>Populus deltoides</i> × <i>P. nigra</i> in mixed forest and agroforestry plantations.....	71
Résumé	73
1. Introduction	75
2. Materials and methods.....	78
2.1 Study site.....	78
2.2 Tree sampling	78
2.3 Meteorological data.....	79
2.4 Sap flux measurements.....	79
2.5 Leaf gas exchange and morphological traits	80
2.6 Leaf and wood carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}\text{C}$).....	80
2.7 Nitrogen-use efficiency at leaf level	81
2.8 Data analyses.....	81
3. Results	83
3.1 Climate and soil conditions	83
3.2 Water-use efficiency at leaf and tree levels	85
3.3 WUE drivers at leaf and tree levels.....	89
4. Discussion.....	95
5. Conclusion.....	99
Funding	100
Acknowledgements.....	100
Supplementary data	101
CHAPITRE III – 2 Nitrogen-use efficiencies of <i>P. deltoides</i> × <i>P. nigra</i> in mixed plantations	107
Résumé	109
1. Introduction	111
2. Material and methods	114
2.1 Site description.....	114

2.2 Leaf gas exchanges and morphological traits.....	114
2.3 Aboveground net primary productivity (ANPP).....	115
2.4 Leaf litter collection, C and N contents.....	115
2.5 Nitrogen-use efficiencies.....	116
2.6 Statistical analyses.....	117
3. Results	118
3.1 Leaf N concentration, retranslocation and C:N ratio	118
3.2 Nitrogen-use efficiencies.....	118
3.3 Litter mass and N restitution through litter to the soil	120
4. Discussion	123
5. Conclusion	127
CHAPITRE IV – Crown morphology of <i>Populus deltoides</i> × <i>P. nigra</i> and <i>Alnus glutinosa</i> growing in mixed forestry and agroforestry plantations	131
Résumé	132
1. Introduction	134
2. Materials and methods	137
2.1 Study site	137
2.2 Tree crown description.....	137
2.3 Crown illumination index.....	139
2.4 Data analyses	139
3. Results	140
3.1 Tree and crown dimensions.....	140
3.2 Tree crown shape	143
3.3 Light interception index	147
4. Discussion	148
5. Conclusion	151
Acknowledgements	152
CHAPITRE V – Effets des mélanges sur la durée de la saison de croissance des peupliers et des aulnes en plantations mélangées	155
CHAPITRE V – I Phénologie des bourgeons de l’aulne et du peuplier en plantations mélangées forestière et agroforestière.....	156
Résumé	157
1. Introduction	158
2. Méthodes	160
2.1 Site d’étude.....	160
2.2 Échelle de notation visuelle.....	160
2.3 Mise en œuvre	161
2.4 Analyses statistiques	161

3. Résultats	165
3.1 Conditions climatiques	165
3.2 Dates de débourrement et d'entrée en dormance	165
3.3 Dynamiques des phénophases du débourrement et de l'entrée en dormance	166
4. Discussion et conclusion	169
CHAPITRE V – II Sénescence et maturation foliaires des peupliers et des aulnes en plantations mélangées	173
1. Introduction	174
2. Méthodes	175
2.1 Site d'étude et échantillonnage	175
2.2 Récolte des litières	175
2.3 Mesures des teneurs en chlorophylles des feuilles	176
2.4 Surface foliaire spécifique	176
2.5 Analyses statistiques	176
3. Résultats	177
3.1 Conditions climatiques	177
3.2 Évolution de la teneur en chlorophylles et de la surface foliaire spécifique lors de la maturation foliaire	178
3.3 Évolution de la teneur en chlorophylles lors de la sénescence foliaire	179
3.4 Dynamique de chute des feuilles	179
4. Discussion et conclusion	186
CHAPITRE VI – Synthèse et conclusions générales	191
1. Interactions interspécifiques en plantation mélangées : du côté des peupliers	195
1.1 Mécanismes sous-tendant les interactions positives en agroforesterie peuplier – légumineuse	195
1.2 Mélange forestier peuplier – aulne	199
2. Interactions interspécifiques en plantations mélangées : du côté des aulnes	200
3. Mécanismes potentiellement impliqués en agroforesterie vs mélange forestier	201
4. Conclusion	202
4.1 Considérations agronomiques	202
4.2 Limites	203
4.3 Perspectives de poursuites	204
Références bibliographiques	206
Annexes	234
Résumé	238
Abstract	239

Liste des abréviations

Paramètres	Définitions	Unités
AETPF	Agrosiences, Environnement, Territoires, Paysage, Forêt	
ANPP	Aboveground net primary productivity ; Production primaire nette aérienne	kgDW m ⁻² an ⁻¹
A _{sat}	Assimilation nette de CO ₂ à lumière saturante	μmolCO ₂ m ⁻² s ⁻¹
BA	Basal area ; Surface terrière	m ² ha ⁻¹
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie	
C	Carbon ; Carbone	
CD	Crown depth ; Profondeur de la couronne de l'arbre	m
CI	Crown illumination ; Indice d'illumination de la couronne	
C:N	Carbon to nitrogen ratio ; Rapport carbone / azote	
CPA	Crown projection area ; Aire de projection de la couronne	m ²
CR	Crown radius ; Rayon de la couronne	m
CR _{max}	Rayon maximal de la couronne	m
CV	Crown volume ; Volume de la couronne	m ³
DBH	Diameter at breast height ; Diamètre à hauteur de poitrine	mm ; cm
DCCE	Doctorante contractuelle chargée d'enseignement	
ENSAIA	Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et Industries Alimentaires	
F	Transpiration	kgH ₂ O
g ₄₀₀	Conductance stomatique à la vapeur d'eau	molH ₂ O m ⁻² s ⁻¹
H	Height ; Hauteur	cm ; m
HGR _{inter}	Height growth rate ; Taux de croissance inter-annuel en hauteur	cm jour ⁻¹
HGR _{intra}	Taux de croissance intra-annuel en hauteur	cm jour ⁻¹
h/d	Ratio hauteur / diamètre à hauteur de poitrine	m cm ⁻¹
LA	Leaf area ; Surface foliaire	cm ²
LER	Land equivalent ratio	
LCR	Live crown ratio ; Taux de couronne vivante	%
LI	Light interception ; Indice d'interception de la lumière	
NUE	Nitrogen-use efficiency ; Efficacité d'utilisation de l'azote	
NUE _{wood}	Efficacité d'utilisation de l'azote dans le cerne	gDW gN ⁻¹
N	Nitrogen ; Azote	
N _A	Concentration en azote par unité de surface foliaire	g m ⁻² ; mg m ⁻²
N _{leaf} ; N _{green}	Concentration en azote dans les feuilles vertes	mg g ⁻¹
N _{senescent}	Concentration en azote dans les feuilles sénescentes	mg g ⁻¹
N ₂ -fixing species	Espèce fixatrice d'azote atmosphérique	
NRE	Nitrogen retranslocation efficiency ; Efficacité de la retranslocation de l'azote	%
PNUE	Photosynthetic NUE ; Efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote	μmolCO ₂ g ⁻¹ N s ⁻¹ ; μmolCO ₂ mg ⁻¹ N s ⁻¹
SLA	Specific leaf area ; Surface foliaire spécifique	cm ² g ⁻¹ ; m ² g ⁻¹
SVE	Sciences de la vie	
SWC	Soil water content ; Teneur en eau volumétrique du sol	%
TCR	Taillis à courte rotation	
TP	Travaux pratiques	
TTCR	Taillis à très courte rotation	
UE	Unité d'enseignement	
WUE	Water-use efficiency ; Efficacité d'utilisation de l'eau	
WUE _i	Efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (A _{sat} /g ₄₀₀)	μmolCO ₂ molH ₂ O ⁻¹
WUE _T	Efficacité de transpiration	gDW kg ⁻¹ H ₂ O
δ ¹³ C	Composition isotopique en carbone 13	‰
Δ _{wood}	Discrimination isotopique du carbone à l'échelle de l'arbre	‰
Δ _{leaf}	Discrimination isotopique du carbone à l'échelle de la feuille	‰
Ψ _{predawn}	Potentiel hydrique de base foliaire	MPa

Liste des figures

Figure I.1 - Répartition des surfaces de plantations par espèce principale plantée en France avec, en vert, les essences de feuillus, et en bleu, les essences de résineux. (Du Puy et al. 2017).....	3
Figure I.2 - Répartition de la consommation d'énergie primaire issue de sources renouvelables en France en 2020 par type d'énergie. Extrait de : Chiffres clés des énergies renouvelables - Edition 2021	4
Figure I.3 - Évolution du nombre de publications traitant des plantations mixtes entre 1960 et 2020. Graphique produit à partir de la base de données « Web of Science ». La recherche a été réalisée pour « (mixed plantation* OR forest mixture*) ».....	6
Figure I.4 - Illustration du principe d'exclusion compétitive d'après Gause (1934). (A) Les espèces A et B ont des besoins nutritionnels différents, leur développement n'est pas contraint par la présence de l'autre espèce : il s'agit « d'évitement de l'exclusion compétitive », (B) les espèces A et B ont des besoins nutritionnels identiques ce qui contraint le développement de l'espèce B qui sera amenée à disparaître : il s'agit « d'exclusion compétitive ».....	8
Figure I.5 – Schéma du cadre théorique proposé par Forrester et Bauhus (2016) montrant comment la complémentarité entre des espèces données change le long de gradients temporels ou spatiaux de disponibilité des ressources ou de conditions climatiques. La ligne rouge pleine indique que la complémentarité augmente lorsque la disponibilité de la ressource « X » diminue (ou que la condition climatique « Y » devient plus contraignante) parce que les interactions entre les espèces améliorent la disponibilité de la ressource « X » (ou que les interactions améliorent la condition climatique « Y »). La ligne bleue en pointillés représente un cas où les interactions entre les espèces n'entraînent aucun changement de complémentarité le long du gradient, car la complémentarité ne résulte pas d'interactions qui influencent « X » ou qu'il n'y a pas de complémentarité pour cette combinaison d'espèces. Adapté de Forrester et Bauhus (2016)	9
Figure I.6 – Proportion de gain de productivité par les mélanges forestiers incluant une espèce fixatrice d'azote par rapport à la monoculture de l'espèce la plus productive (issue de la méta-analyse de Marron et Epron 2019 portant sur 148 études de cas dans 30 plantations).	13
Figure I.7 – Schéma illustrant les effets potentiels du mélange d'espèces sur l'occupation de l'espace de la canopée dans les peuplements équiens lorsque les couronnes des arbres ont des formes complémentaires. Lorsque deux espèces aux couronnes de formes complémentaires (a et b) sont mélangées et conservent leur forme et leur occupation de l'espace, l'effet du mélange en termes de remplissage de l'espace est simplement additif (c). Dans de nombreux cas, le mélange d'espèces permet une expansion de la couronne (d), un couvert forestier plus dense (e), ou une combinaison des deux (f). Les cas (d) et (f) représentent un véritable effet du mélange par un remplissage plus dense de l'espace de la canopée. Extrait de Pretszch (2015)	17
Figure I.8 – Schéma illustrant les différentes questions traitées dans la thèse (questions 1 à 5). [Performances de croissance des arbres] Question 1 (Chapitre II) ; [Efficacité d'utilisation de l'eau] Question 2 (Chapitre III - 1) ; [Efficacité d'utilisation de l'azote et cycle saisonnier de l'azote des peupliers] Question 3 (Chapitre III – 2) ; [Occupation de l'espace aérien par la canopée] Question 4 (Chapitre VI) ; [Saison de végétation] Question 5 (Chapitre VI). H1 à H6 correspondent aux différentes hypothèses et indiquent pour quelles modalités elles sont testées.....	21
Figure I.9 – Inauguration de la parcelle « Bernard Amiaud ». (Photo : Nicolas Marron)....	23
Figure I.10 – Localisation géographique du site expérimental de La Bouzule dans le Grand-Est de la France (données cartographiques IGN, Géoportail).....	24

Figure I.11 – Schéma représentant la conception expérimentale d'un bloc du site de La Bouzule. L'espacement entre les arbres et les cultures sont présentés. Le nombre de lignes d'arbres n'est pas respecté.	25
Figure I.12 – Vues aériennes du site expérimental de La Bouzule ; en haut à droite vue de la monoculture de peupliers, au milieu en bas vue de la monoculture de trèfle, en bas à droite vue du traitement agroforestier aulnes - prairie temporaire. (Photos : Alexandre Laflotte). 26	26
Figure I.13 – Chronologie des interventions dans les parcelles agroforestières (A) aulnes – succession céréales/graminées et (B) peupliers – succession luzerne / trèfle entre 2014 et 2022.	27
Figure II.1 – Experimental design of the La Bouzule site. Size of the plots and locations of humidity probes and data loggers are indicated. Details of the forest mixture and agroforestry plots are also presented, showing spacing between trees and crops.	37
Figure II.2 – Cumulative monthly rainfall (histograms, mm) and mean temperatures (dots, °C) between April 1st and August 31, from 2016 to 2019 at the experimental site. CAR = cumulative annual rainfall (mm); MAT = mean annual temperature (°C).....	41
Figure II.3 – Inter-annual dynamics of stem heights (in cm) of poplars and alders in monocultures, forest mixture and agroforestry between 2015 and 2019. The shaded areas show the 95% confidence intervals. Different uppercase letters indicate significant differences between dates; different lowercase letters indicate significant differences between treatments at the end of the experiment. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.....	45
Figure II.4 – Annual-based height growth rates (HGR_{inter} , $cm\ day^{-1}$) for poplar (A) and alder (B) since 2015 in agroforestry, forest mixture and monocultures (n=60). Different letters indicate significant differences between treatments for each growing season (April to August). For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.....	49
Figure II.5 – Intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , $cm\ day^{-1}$) for poplar (A) and alder (B) in monocultures, forest mixture and agroforestry between April and August 2018 (n=60). For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Dots are outliers.....	50
Figure II.6 – Hegyi index for diameter for poplar and alder in monocultures and forest mixture in 2017, 2018 and 2019. Different uppercase letters indicate a significant difference between dates; for each date, different lowercase letters indicate significant differences for the S×T interaction. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.	51
Figure II.7 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H, DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H, DBH ; encarts en orange) dans les différents traitements. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante.	65
Figure III.1 – Illustration des différentes intégrations spatiales et temporelles des efficacités d'utilisation de l'eau utilisées dans le cadre de la thèse. Adapté de Durand (2019).	70

Figure III.2 – Photos du site expérimental de La Bouzule : (A) installation d'un capteur de flux de sève sur un peuplier, (B) insertion d'un capteur de flux de sève dans le tronc de peuplier, (C) vue au microscope électronique à balayage de cernes de peuplier, (D) mesures d'échanges gazeux foliaires à la Licor-6800 sur un peuplier équipé d'un capteur de flux de sève. (Photos : Nicolas Marron, Anaïs Thomas)	72
Figure III.3 – Time course of intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) for poplars in agroforestry, forest mixture, and monoculture during the 2020 growing season (June to September). For each effect (D, date; T, treatment) and their interaction ($T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, ns: non-significant; $n=12$. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.....	86
Figure III.4 – Time course of carbon isotope discrimination at leaf level (Δ_{leaf} , ‰) for poplars in agroforestry, forest mixture, and monoculture during the 2020 growing season (June to September). Different letters indicate significant differences between treatments. For each effect (D, date; T, treatment) and their interaction ($T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n=12$. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.....	87
Figure III.5 – (A) Transpiration efficiency (WUE_T , $\text{gDW kg}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) and (B) carbon isotope discrimination at tree level (Δ_{wood} , ‰) for poplars in agroforestry, forest mixture and monoculture ($n = 12$) during the 2020 growing season. Different letters indicate significant differences between treatments. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.	88
Figure III.6 – Relationship between intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) and (A) stomatal conductance (g_{400} , $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and (B) light-saturated net CO_2 assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles, AF), forest mixture (grey triangles, FM) and monoculture (light grey squares, Mono). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: not significant).....	92
Figure III.7 – Relationship between (A) intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) and photosynthetic nitrogen-use efficiency ($PNUE$, $\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1}\text{N s}^{-1}$) and between (B) carbon isotope discrimination at leaf scale (Δ_{leaf} , ‰) and specific leaf area (SLA , $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles, AF), forest mixture (grey triangles, FM) and monoculture (light grey squares, Mono). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: not significant).	93
Figure III.8 – Relationship between transpiration efficiency (WUE_T , $\text{gDW kg}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) and (A) biomass increment (kg) and (B) cumulative transpiration (F , kgH_2O) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles), forest mixture (grey triangles) and monoculture (light grey squares). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, ns: not significant).....	94
Figure III.9 – Photos du site expérimental de La Bouzule : (A) la parcelle agroforestière aulne – graminées équipée de paniers à litières, (B) un panier à litière. (Photos : Anaïs THOMAS).....	108
Figure III.10 – Location of litter traps in the $\frac{1}{4}$ of Voronoi.	116
Figure III.11 – Photosynthetic nitrogen-use efficiency ($PNUE$, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mgN}^{-1} \text{ s}^{-1}$) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences between species and treatments. Significant effects (S, species; T, treatment and their interaction, $S \times T$) are indicated by asterisks: $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$	

(Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values..... 119

Figure III.12 – Nitrogen-use efficiency from the 2020 ring (NUE_{wood} , $gDW\ gN^{-1}$) of poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). The treatment effect was not significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values. 120

Figure III.13 – Aboveground nitrogen-use efficiency (NUE , $gDW_{biomass}\ mgN^{-1}$) of poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences among treatments. The treatment effect was significant ($P \leq 0.001^{***}$); $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values. 121

Figure III.14 – (A) Litter mass ($gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$) and (B) N restitution through litter to the soil ($gN\ m^{-2}\ yr^{-1}$) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences between species and treatments. Significant effects (S, species; T, treatment and their interaction, $S \times T$) are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values..... 122

Figure III.15 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H, DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H, DBH ; encarts en orange), d'efficacité d'utilisation des ressources en eau (WUE_T) et en azote (NUE) des peupliers. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante. 129

Figure V.1 – Échelle de notation en classes pour le suivi du débourrement des bourgeons pour *A. glutinosa*, adaptée de Turok et al. (1996). 163

Figure V.2 – Échelle de notation en classes pour le suivi de l'entrée en dormance des bourgeons pour *A. glutinosa*, adaptée de Rohde et al. (2011). 164

Figure V.3 – Graphique ombrothermique des précipitations cumulées mensuelles (mm) et des températures moyennes mensuelles ($^{\circ}C$) enregistrées du 1^{er} janvier au 31 décembre 2021 sur le site expérimental..... 165

Figure V.4 – Évolution des phénophases de débourrement des bourgeons (A) d'aulnes et (B) de peupliers en monoculture, agroforesterie et mélange forestier en 2021. Pour chaque date et traitement : moyenne \pm erreur standard ; $n=20$. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $S \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$ et $P \leq 0.001^{***}$, et ns pour non-significatif. 167

Figure V.5 – Évolution des phénophases d'entrée en dormance des bourgeons (A) d'aulnes et (B) de peupliers en monoculture, agroforesterie et mélange forestier en 2021. Pour chaque date et traitement : moyenne \pm erreur standard ; $n=20$. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $S \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.001^{***}$, ns pour non-significatif. Pour une date donnée, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les traitements pour chaque espèce..... 168

Figure V.6 – Graphique ombrothermique des précipitations cumulées mensuelles (mm) et des températures moyennes mensuelles (°C) enregistrées du 1 ^{er} janvier 2021 au 31 août 2022 sur le site expérimental.....	178
Figure V.7 – Dynamiques des teneurs en chlorophylles des feuilles des peupliers (en gris claire) et des aulnes (en gris foncé) au cours de la maturation foliaire en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 27 avril et le 11 juin 2022. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $E \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; n = 20. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.....	181
Figure V.8 – Dynamiques de la surface foliaire spécifique (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture entre le 27 avril et le 24 mai 2022. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $E \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; n = 20. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.....	182
Figure V.9 – Surface foliaire spécifique moyenne (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) des aulnes et des peupliers en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), et leur interaction ($E \times T$) sont indiqués pour $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre espèces et/ou traitements.....	183
Figure V.10 – Dynamiques des teneurs en chlorophylles des feuilles des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 26 août et le 8 décembre 2021. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $E \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; n = 20. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.....	184
Figure V.11 – Dynamiques de chute des feuilles des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 26 août et le 8 décembre 2021. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $E \times T \times D$) sont indiqués pour : $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; n = 10 (agroforesterie et mélange forestier) ou n = 6 (monoculture). Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.	185
Figure VI.1 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H, DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H, DBH ; encarts en orange), d'efficacité d'utilisation des ressources en eau (WUE_T) et en azote (NUE) des peupliers, d'interception lumineuse des peupliers et des aulnes (LI ; le LI en mélange forestier est identique pour les deux espèces). La durée de la saison de végétation est également indiquée pour les peupliers et les aulnes. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre respective.	192

Liste des Tableaux

(« Table » lorsque les tableaux sont issus des publications dans des revues internationales)

Table II.1 – Variations in volumetric soil water content (SWC %) depending on the treatment between 2016 and 2019 at the experimental site. SWC values shown are the mean values during the growing season (April to August). Within columns for each depth, significant differences between species and treatment are indicated: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.	43
Table II.2 – A) Soil organic nitrogen content ($N\text{-NO}_3^-$) in the upper 15 cm of the soil in the central inter-row, depending on the modality (5 modalities: poplar/alder agroforestry, poplar/alder monoculture, forest mixture) in 2018. Different letters indicate significant differences between modalities. Means \pm standard errors; $n=9$. B) Leaf nitrogen content (N_{leaf}) for poplar and alder depending on the treatment (3 treatments: agroforestry, forest mixture, monocultures) in 2018. Different letters indicate significant differences between species and treatment. Means \pm standard error; $n=30$	44
Table II.3 – Diameter at breast height (DBH in mm, means \pm standard errors) for poplar and alder depending on the treatment at the end of each growing season (2017 to 2019). Different uppercase letters indicate significant differences between dates; within each column, different lowercase letters indicate significant differences between treatments. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions ($S \times T$, $T \times D$, $S \times D$, $S \times T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.	46
Table II.4 – Height to DBH ratio (h/d , $m\text{ cm}^{-1}$) for poplar and alder in monocultures, forest mixture and agroforestry at the end of each growing season (2017 to 2019) (means \pm standard errors). Different uppercase letters indicate significant difference between dates; within each column, different lowercase letters indicate significant differences between treatments. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions ($S \times T$, $T \times D$, $S \times D$, $S \times T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.	52
Table III.1 – Tree height (Height, cm), diameter at breast height (DBH, mm), and basal area (BA, $m^2\text{ ha}^{-1}$) for poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture) at the start of experiment (June 20, 2020). Means \pm standard errors, $n=12$. Different letters indicate significant differences between treatments.....	78
Table III.2 – Variations in predawn leaf water potential (ψ_{predawn} , MPa) and in volumetric soil water content (SWC, %) at 10 cm depth for poplars in the monoculture (Mono), agroforestry (AF), and forest mixture (FM) plantations from June to September 2020. For each month, different letters indicate significant differences between treatments. Means \pm standard errors. Cumulative rainfall (mm) and mean air temperature ($^{\circ}\text{C}$) recorded at the experimental site are presented from June to September 2020.	84
Table III.3 – (A) Variations in light-saturated net CO_2 assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{molCO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), stomatal conductance (g_{400} , $\text{molH}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$), leaf nitrogen content (N_{leaf} , mg g^{-1}) and specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2\text{ g}^{-1}$) from June to September 2020 and (B) annual biomass increment and transpired water for poplars in the monoculture (Mono), agroforestry (AF), and forest mixture (FM) plantations. For each month, different small letters indicate significant differences between treatments. Differences between months are denoted by different capital letters. Means \pm standard errors.	90
Table III.4 – Mean values \pm standard errors for N concentration in green (N_{green} , $\text{mgN gDW}_{\text{li}}^{-1}$) and senescent leaves ($N_{\text{senescent}}$, $\text{mgN gDW}_{\text{li}}^{-1}$), N retranslocation efficiency (NRE, %), and carbon to nitrogen ratio (C:N) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). For each column, different letters indicate	

significant differences between treatments and species. Significant effects are indicated by asterisks: $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). 119

Table IV.1 – Mean and maximum stem height (H, m), stem diameter at breast height (DBH, cm), crown depth (CD, m), crown radius (CR, m) and live crown ratio (LCR, %) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. Within each column, significant differences between species and treatment are indicated with different letters. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$. Means \pm standard errors are shown. 141

Table IV.2 – Sizes of the longest branches in the eight cardinal and subcardinal directions (north N, northeast NE, east E, southeast SE, south S, southwest SW, west W, northwest NW) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. Within each column, significant differences between species and treatment are indicated with different letters. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Mean \pm standard errors are shown. 144

Tableau V.1 – Variabilité du débourrement et de l'entrée en dormance pour les peupliers et les aulnes en agroforesterie, mélange forestier et en monoculture. La valeur minimale (min) et maximale (max), ainsi que la moyenne (\pm erreur standard) sont indiquées dans le tableau pour chaque espèce et chaque traitement. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), et de leur interaction ($E \times T$) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$, ns pour non significatif. JDA = jour de l'année. $n = 20$ 166

Tableau VI.1 – Tableau synthétisant les résultats des hypothèses pour chaque chapitre de la thèse. Une coche verte indique un effet positif du mélange ; une croix rouge indique un effet négatif du mélange ; un signe égal indique aucun effet du mélange, comparativement à la monoculture : un slash signifie que l'hypothèse n'a pas été testée. 194

Avant-propos

Ces travaux de thèse ont été financés par le Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche et de l'Innovation et ont été conduits au sein de l'unité mixte de recherche Silva (Nancy, Grand-Est), dans l'équipe ForeSTree (Forest, Stand, Tree) sous la supervision de Nicolas Marron et Pierrick Priault.

Au cours de ces trois années, j'ai eu à plusieurs reprises l'occasion de présenter les résultats issus de mon projet doctoral dans des congrès internationaux, tels que la 5^{ème} Conférence Européenne d'Agroforesterie, le 5^{ème} Congrès Mondial d'Agroforesterie, ou encore le 8^{ème} Symposium International sur le Peuplier, et également nationaux (Annexe 1). Je remercie le Labex ARBRE ainsi que l'UMR Silva de m'avoir permis de participer à ces événements.

J'ai également eu l'opportunité de co-encadrer trois stagiaires de Master 1 et la possibilité d'effectuer 128 heures d'enseignement auprès d'étudiants de la Licence Sciences de la Vie et du Master Agronomie Environnement Territoires Paysage Forêt de l'Université de Lorraine. Cette expérience d'enseignement m'a permis d'améliorer mes compétences en pédagogie et d'obtenir le Label Enseignement Supérieur du Doctorat de l'Université de Lorraine (Annexe 1). Les responsabilités collectives qui m'ont été confiées m'ont de plus permis de découvrir le fonctionnement de notre écosystème universitaire et de prendre une part active dans la prise de décision, notamment au sein du Conseil Scientifique de l'Université de Lorraine.

Ces travaux de thèse vont permettre d'aboutir à cinq publications scientifiques, dont deux déjà publiées, deux autres sont soumises et une en cours d'écriture (Annexe 1).

Remerciements

Je remercie tout d'abord Nicolas Marron et Pierrick Priault, mes encadrants de thèse. Je suis reconnaissante d'avoir eu la chance d'apprendre et de commencer ma carrière de chercheuse à vos côtés. Votre confiance en mes capacités et votre soutien indéfectible ont été des moteurs essentiels qui m'ont permis d'avancer avec détermination tout au long de mon projet doctoral. Merci d'avoir créé un environnement de travail stimulant, bienveillant et respectueux me permettant de m'épanouir tant sur le plan professionnel que personnel. Merci pour la liberté et l'autonomie que vous m'avez accordées. Votre confiance en ma capacité à prendre des décisions et à mener à bien de nouvelles expériences et mesures sur le terrain m'a permis de me développer en tant que chercheuse indépendante et d'explorer de nouvelles perspectives. Merci aussi d'avoir cru en ma capacité à gérer de front une charge d'enseignement chaque année en plus de mon projet doctoral. C'était important pour moi et on peut parler d'un rêve d'enfant réalisé. Enfin, je vous remercie de votre patience, votre compréhension et votre soutien constant face aux nombreux défis et obstacles que j'ai pu rencontrer. Je garderai en mémoire cette expérience enrichissante et les valeurs que vous m'avez inculquées. Elles continueront de guider mes pas dans mes futurs projets de recherche.

Du fond du cœur, merci à tous les deux !

Je tiens également à remercier Claire Damesin, Dominique Gérant, et Séverine Piutti d'avoir accepté de m'accompagner en faisant parti de mon comité de suivi de thèse. Je vous remercie du temps que vous m'avez consacré ainsi que pour votre bienveillance, vos conseils avisés qui m'ont permis de prendre du recul sur mon travail quand cela était nécessaire. Votre présence et votre soutien tout au long de mon parcours académique ont été d'une valeur inestimable.

Merci aux membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse : Claire Damesin, Marie Gosme, Damien Bonal et Alexia Stokes.



Pendant ces trois années j'ai aussi eu la chance de côtoyer de nombreux collègues de l'UMR SILVA, beaucoup à INRAE et très peu à la fac (désolée !). Même si la pandémie est arrivée assez vite pendant ma thèse, j'ai eu le privilège de partager avec certains d'entre eux des moments conviviaux autour d'un repas à la cantine, d'un séminaire ou encore de pots pour fêter une promotion, un article publié ou encore un départ. Je ne pourrai pas citer ici tous les collègues rencontrés au cours de cette thèse, et j'aurai peur d'en oublier (oups !), mais je les remercie sincèrement pour leur accueil dans les couloirs d'INRAE ou de la FST.

Je remercie particulièrement Erwin Dallé qui gère l'acquisition des données ainsi que la maintenance de la plantation depuis 2014. Merci de ton aide pour les mesures sur le terrain, notamment pour suivre la croissance de centaines de peupliers et d'aulnes sur la plantation, les suivis phénologiques ou encore pour l'isolement du dernier cerne (un travail vraiment méticuleux et demandant un certain sang froid !).

Merci aussi à Damien Bonal de m'avoir transmis son expérience pour l'installation des capteurs de flux de sève, mais aussi pour nos temps d'échanges, qu'il s'agisse du traitement de ces données ou encore de leur valorisation.

Merci également à mes collègues doctorants avec qui j'ai partagé cette aventure de thèse : Soline ma co-bureau de (très) courte durée, Noé avec qui j'ai souvent échangé sur nos mésaventures avec l'ED, Lama, Ari à INRAE, ou encore Nicolas, Ricardo et Benjamin à la FST.

Je tiens à remercier mes collègues enseignants-chercheurs qui sont des femmes et des hommes remarquables. Une dédicace particulière ici à certains d'entre eux dont l'implication précoce dans mon parcours académique, dès mes débuts en tant qu'étudiante, a eu un impact significatif sur ma réussite : Dominique, Dorine, Sandrine, Séverine, Daniel, Pierrick, Yves. Votre passion pour l'enseignement et la recherche a éveillé en moi un intérêt profond pour le métier d'enseignant-chercheur. Votre volonté de transmettre, votre dévouement envers vos étudiants, ou encore votre passion pour la recherche ont été une réelle source d'inspiration et ont contribué à façonner ma vision et ma compréhension du monde universitaire. Je suis profondément reconnaissante de vous avoir rencontrés en tant qu'étudiante.

Je souhaite également remercier deux personnes en particulier, Marie-Noëlle et Caroline que j'ai souvent pu côtoyer. Merci de votre bonne humeur, vos sourires, votre soutien et votre gentillesse à mon égard.

Je remercie aussi trois étudiants que j'ai encadré au cours de leur projet tuteuré de M1 : Camille François, Olivia Guinobert, Rémi Portal, qui ont participé aux expérimentations et contribué à la réussite de ce travail. Merci à vous tous pour votre travail remarquable et pour nos moments d'échanges en dehors du contexte professionnel. Ce fût un plaisir de travailler avec vous.

Merci à Christian Hossann, Carole Antoine et Christophe Rose de la plateforme SilvaTech. Merci Christian et Carole pour les analyses isotopiques et élémentaires en carbone et azote, et merci Christophe pour le temps passé à me former au cryostat et à l'imagerie sous microscope électronique à balayage.

Enfin, mes remerciements s'étendent à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ma thèse. Leur soutien moral, leurs encouragements et leurs conseils ont été essentiels tout au long de cette aventure académique.



On peut dire que ces trois dernières années ont été mouvementées et riches en émotions. Qu'aurait été ma thèse sans la pandémie de Covid-19, mon mariage en septembre 2020, la naissance en août 2021 de mon fils, Léon, ou encore celle de ma fille, Iris, en décembre 2022 ? Si on m'avait dit que je porterais la vie deux fois au cours de ma thèse ... S'il y a bien une chose que j'ai appris ces dernières années, c'est que rien n'est impossible. Cet accomplissement en tant que femme et maman je le dois à mes proches qui m'ont accompagnée pour en arriver jusqu'ici aujourd'hui.

La famille est comme les branches d'un arbre, chacune va dans une direction différente, mais les racines sont toujours les mêmes. Lume (1951)

Maman, Papa, j'ai toujours pu trouver auprès de vous le réconfort et le courage nécessaire à l'accomplissement de chacun de mes projets. Je tiens à vous exprimer ma

reconnaissance la plus profonde pour tout ce que vous avez fait pour moi tout au long de mon parcours. Votre amour, votre soutien et votre dévouement ont été essentiels pour ma réussite, et je vous remercie du fond du cœur. Vous m'avez permis d'accomplir de grandes choses en tant que femme mais également en tant que maman. Vous m'avez toujours encouragée et appris à ne jamais abandonner, peu importe les obstacles rencontrés. Vous nous avez toujours fait passer avant toute autre chose avec Valentin et Emilien, mes deux petits frères. Nous n'avons jamais manqué de quoi que ce soit, encore moins de l'amour d'une mère et d'un père. En choisissant de faire de nous votre priorité, vous nous avez montré l'importance de la famille et de l'amour inconditionnel. Vous avez toujours veillé à ce que nous soyons soutenus, protégés et épanouis pour notre bien-être. En tant que maman aujourd'hui, je trouve ça remarquable et j'espère pouvoir apporter la même chose à mes enfants, qu'ils grandissent comme nous, dans un environnement aimant et bienveillant. C'est ma priorité absolue. Merci aussi de votre sincérité, même lorsque cela impliquait de me pousser en dehors de ma zone de confort. Vous m'avez encouragée à poursuivre dans cette voie, même lorsque certains professeurs au lycée doutaient de mes capacités dans les sciences « dures » (oui même avec 15 de moyenne ...). En devenant docteure aujourd'hui, je porte également en moi vos valeurs et votre héritage qui continueront de me guider.

Enfin, je remercie mon meilleur allié dans la vie : mon mari adoré Jérémy. Alors que nous entendons souvent parler des doctorants et de leurs défis, il est important de reconnaître le soutien inestimable et la présence constante de nos partenaires. Mon roc, mon pilier silencieux. Il a fait face à mes sautes d'humeur (le pauvre après avoir supporté deux grossesses consécutives !), mes moments de doute et mes inquiétudes grandissantes, sans jamais faillir. A tes côtés je m'épanouis, merci pour tout ce bonheur que tu m'apportes chaque jour. Et puis, quelle fierté de voir ce que nous avons bâti ensemble ces six dernières années. Lorsque je suis devenue ta femme, je pensais qu'il était impossible d'aimer davantage. Je me trompais, ce n'était en fait qu'une graine d'amour prête à être semée. Depuis, cette graine a germé et a développé de multiples racines solides dont nos deux enfants adorés, Léon et Iris. Vous êtes mon précieux trésor que je porte en moi chaque jour et me rend forte. Alors, à toi, mon cher mari, je veux te dire un immense merci. Tu es le véritable héros méconnu derrière ma réussite. Ta présence, ton soutien et ton amour indéfectibles sont le socle sur lequel tout repose. Aujourd'hui, je célèbre non seulement mon titre de Docteure, mais aussi toi, mon partenaire extraordinaire.



Merci à vous tous, et à tous ceux que j'aurai le malheur d'oublier, d'avoir fait de ces années un moment formidable.



A mes enfants Léon et Iris



CHAPITRE I – Introduction générale

1. Contexte et enjeux

Les forêts sont les écosystèmes les plus représentés sur terre : en 2020, elles couvraient 30.6 % du territoire mondial soit environ 4 milliards d'hectares, et 31 % du territoire français soit près de 17 millions d'hectares (FAO 2020a, IGN 2021). Les plantations forestières, c'est-à-dire les forêts à prédominance d'arbres établis par plantation et/ou ensemencement délibéré, couvraient, quant à elles, près de 3 % de la superficie terrestre mondiale, et 3.9 % de celle de l'Europe (FAO 2020a, Forest Europe 2020). En France, ce sont près de 2 millions d'hectares de forêts qui sont plantés et destinés principalement à la production de bois (IGN 2021). La majorité de ces plantations forestières est constituée d'essences résineuses, qui sont principalement le pin maritime, le douglas et l'épicéa commun (Figure I.1).

Actuellement, la production de bois est confrontée à deux défis majeurs. Le premier défi concerne la réponse à la demande croissante de biomasse pour les énergies renouvelables et les produits à base de bois (ex. cellulose, papier, bois d'œuvre) (FAO 2020b). En France, par exemple, le bois énergie représentait un tiers des énergies renouvelables en 2020 (Figure I.2). Les plantations d'espèces à croissance rapide (par exemple les peupliers, les saules, les eucalyptus) sont largement utilisées pour l'approvisionnement en biomasse (Griffin 1989, Pelleri et al. 2013, Mola-Yudego et al. 2017). Du fait de leur capacité de production élevée, les espèces appartenant au genre *Populus* sont les essences de feuillus les plus fréquemment cultivées sur de grandes surfaces en France, et représentaient 200 000 hectares en France en 2019 (Navarro et al. 2018, CIP 2020). En outre, les peupliers sont souvent cultivés dans le cadre de cycles forestiers à courte rotation (TCR) de 15 à 18 ans ou à très courte rotation (TTCR) de 3 à 5 ans (Karp et Shield 2008). Des études ont rapporté que le rendement annuel moyen en biomasse pour des peupliers hybrides était de $10 \text{ Mg}_{\text{MS}} \text{ ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ (climat boréal ; Christersson 2010) et pouvait atteindre jusqu'à $21.5 \text{ Mg}_{\text{MS}} \text{ ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ (climat tempéré ; Ouyang et al. 2022). Ils sont également utilisés en agroforesterie, en tant que culture intercalaire, associés à une culture herbacée (Banga et al. 2017). L'agroforesterie est une pratique datant de l'Antiquité, qui consiste en l'association, sur une même surface, d'arbres et de productions agricoles animales et/ou végétales (Dupraz et Liagre 2008). Les plantations agroforestières de peupliers représentaient 30% des plantations de peupliers plantées déclarées au niveau mondial en 2005 (Ball et al. 2005). En Suède, il a d'ailleurs été montré que le taux de réussite des plantations de peupliers était plus élevé lorsqu'elles se situaient sur des terres agricoles, par rapport aux terres forestières (Hjelm et al. 2018).

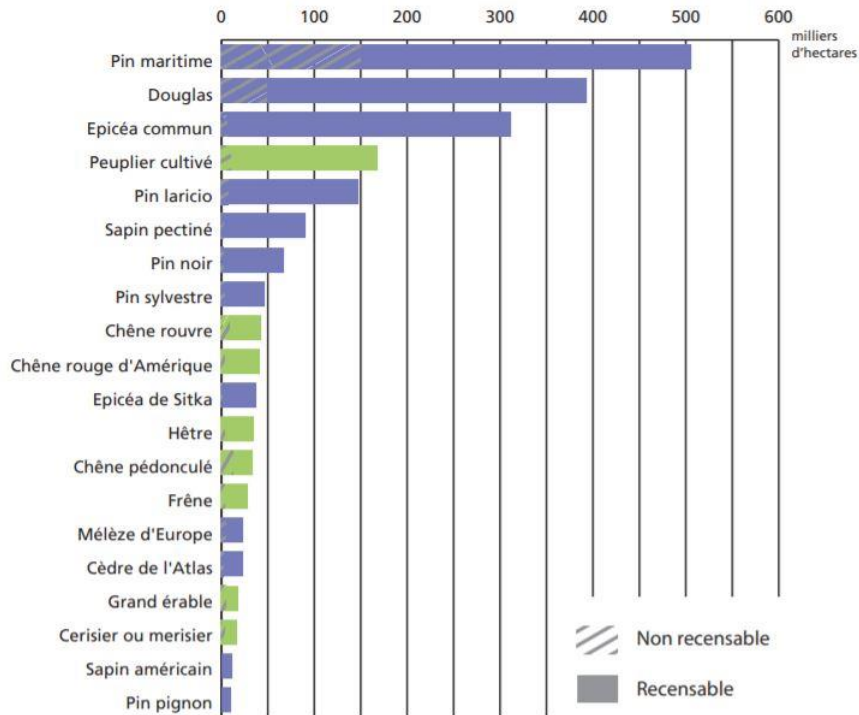


Figure I.1 - Répartition des surfaces de plantations par espèce principale plantée en France avec, en vert, les essences de feuillus, et en bleu, les essences de résineux. (Du Puy et al. 2017)

Le second défi concerne la sécurité alimentaire et notamment les solutions à apporter afin de limiter la concurrence sur les terres agricoles entre les productions alimentaires et énergétiques tout en maintenant, voire augmentant, les rendements (Pretty et al. 2010). Face à la demande croissante en bois, les plantations forestières doivent accroître leur rendement alors que leur expansion est limitée par la concurrence pour l'utilisation des sols. En effet, les terres de bonne qualité sont utilisées en priorité pour l'agriculture « alimentaire » elle-même concurrencée depuis des décennies par l'urbanisation. Hélas, l'exploitation de ces plantations s'effectue généralement sur des terres qui ne peuvent pas nécessairement supporter une telle intensification du fait de leurs besoins en ressources importants, exerçant ainsi une pression supplémentaire sur les bonnes terres, c'est-à-dire fertiles et aux caractéristiques bioclimatiques et physiques favorables (Cossalter et Pye-Smith 2003, Liu et al. 2018). C'est notamment le cas des plantations des espèces du genre *Populus*, qui peuvent être utilisées en conditions de culture intensive, et qui utilisent des quantités importantes d'eau et d'azote pour produire de grands volumes de biomasse (Dawson et Hansen 1983, Navarro et al. 2014). En outre, dans le cas de l'azote, et dans la situation d'une plantation à courte rotation, la fertilité du sol et *in fine* la productivité diminuent au cours des rotations successives en raison des exportations répétées de bois jeune (Berthelot et al. 2000, Laclau et al. 2000). Ainsi, une

approche agroforestière avec des espèces d'arbres à croissance rapide pourrait être une alternative intéressante en réduisant la concurrence spatiale avec la production alimentaire tout en apportant d'autres avantages. Les systèmes agroforestiers à courte rotation ne sont pas très répandus et moins étudiés que les taillis à courte rotation (TCR) (mais voir Lamerre et al. 2015, Tariq et al. 2018, Huber et al. 2018, Seserman et al. 2019). À l'instar des systèmes agroforestiers traditionnels, dans lesquels on retrouve généralement entre 40 et 100 arbres par hectare, les systèmes agroforestiers à courte rotation dont la densité peut avoisiner les 10 000 arbres par hectare peuvent fournir des services écosystémiques tels que la conservation de la biodiversité, l'amélioration de la fertilité des sols, l'augmentation de la production de biomasse, ou encore la limitation de l'érosion hydrique et éolienne (Malézieux et al. 2009, Smith et al. 2012, Lamerre et al. 2015). Une étude réalisée sur le territoire français a également montré que les systèmes agroforestiers avec des cultures intercalaires ont un fort potentiel pour augmenter le stock de carbone dans la biomasse du sol et des arbres, par rapport à une culture agricole simple (Cardinael et al. 2017).

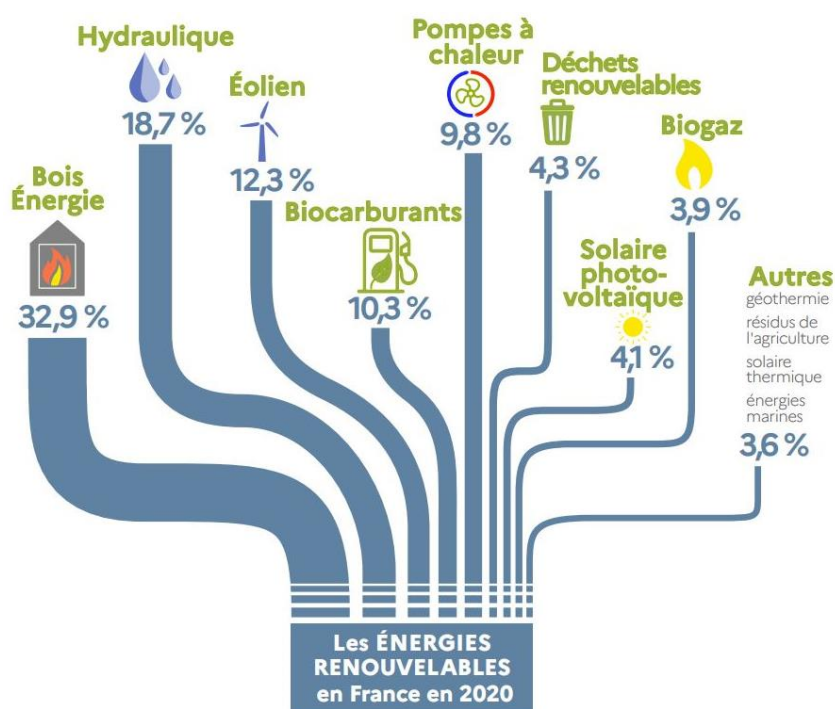


Figure 1.2 - Répartition de la consommation d'énergie primaire issue de sources renouvelables en France en 2020 par type d'énergie. Extrait de : Chiffres clés des énergies renouvelables - Edition 2021, Service des données et études statistiques.

Au cours des trois dernières décennies, de nombreuses études ont mis en avant l'intérêt d'associer plusieurs espèces dans les systèmes forestiers et leurs avantages, comparativement aux systèmes monospécifiques (Kelty 1992, Pretszch et al. 2017). Depuis le début du 21^{ème}

siècle, les recherches sur le sujet connaissent un essor (Figure I.3). Entre 1990 et 2000, une centaine de travaux traitant des forêts mélangées était publiée, en moyenne, par an. Le nombre de publications par an a plus que doublé la décennie suivante (~ 225 publications/an) pour finalement être multiplié par six en 30 ans (~ 550 publications/an entre 2010 et 2020). La productivité des monocultures par rapport aux plantations mélangées a fait l'objet d'un intérêt particulier. En 2017 en France, ces plantations représentaient environ 16 % des forêts plantées (Du Puy et al. 2017). Les plantations agroforestières, où les arbres sont en association avec une culture agricole (sylvoarable) et/ou du pâturage (sylvopastorale), représentent un type important de système mélangé (Dupraz et Liagre 2008, Malézieux et al. 2009). En Europe en 2020, les plantations agroforestières représentaient environ 75 000 hectares (FAO 2020b).

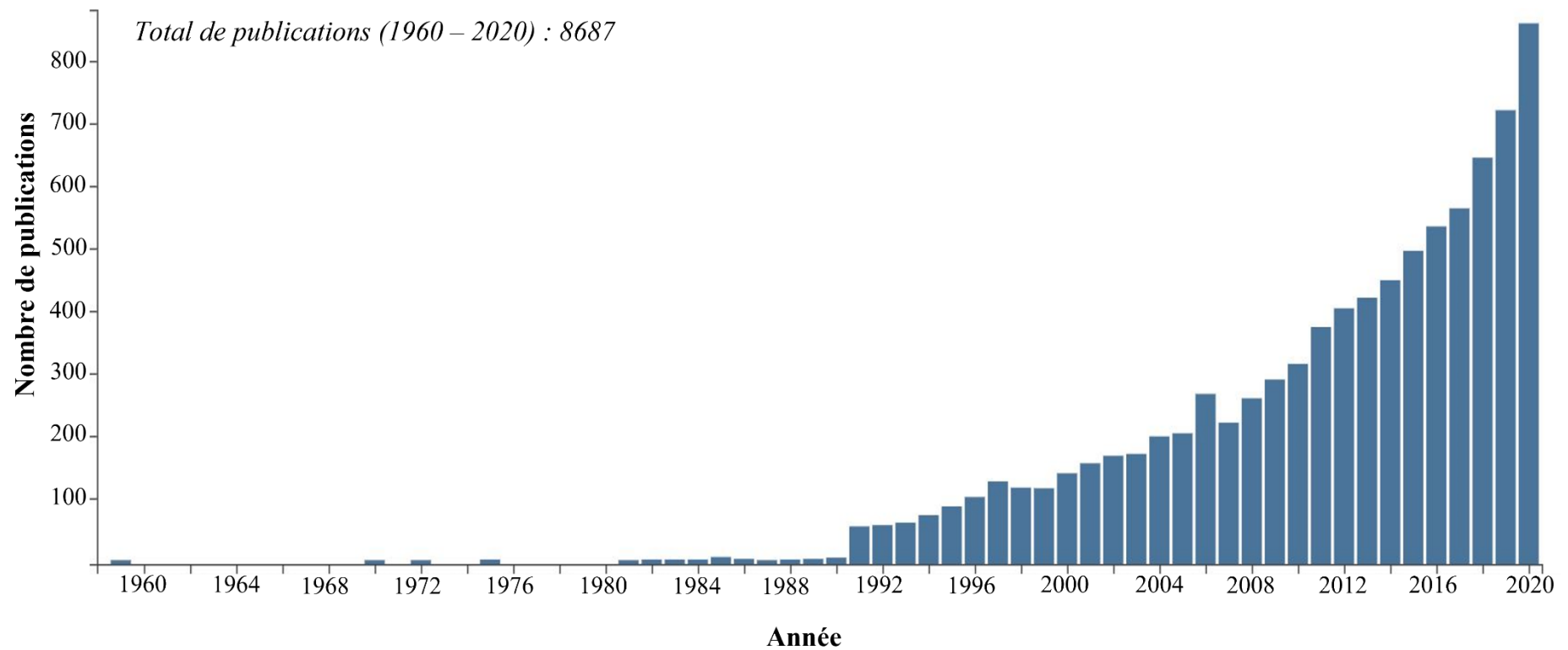


Figure I.3 - Évolution du nombre de publications traitant des plantations mélangées entre 1960 et 2020. Graphique produit à partir de la base de données « Web of Science ». La recherche a été réalisée pour « (mixed plantation* OR forest mixture*) ».

2. Interactions des espèces végétales en plantations mélangées

Les arbres interagissent avec les autres végétaux présents dans leur environnement à travers des interactions allant de la compétition à la facilitation. De nombreuses études se sont intéressées à la productivité comme étant le résultat des interactions qui se produisent dans les peuplements mélangés d'arbres (Kelty 1992, Jose et al. 2006, Forrester 2014, Liu et al. 2018), mais également dans les systèmes agroforestiers (Jose et al. 2004, Nerlich et al. 2013, Thevathasan et Gordon 2004), incluant ou non une espèce fixatrice d'azote (Binkley et al. 1992, Richards et al. 2010, Munroe et Isaac 2014). Dans toute plantation, forestière ou agroforestière, les interactions entre les individus d'une même espèce (intraspécifiques) ou entre les individus de deux espèces différentes (interspécifiques) peuvent être négatives, positives, ou neutres (Jose et al. 2004, Kelty 2006, Forrester 2014). Considérant une espèce A et une espèce B associées, il est possible de distinguer trois grands types d'interactions entre elles qui peuvent être simplement définis de la façon suivante (Ammer 2019) :

- (i) **La compétition** : elle a lieu si l'effet de la présence de l'espèce A sur l'espèce B est négatif, c'est-à-dire si elle nuit à son développement. Des populations de deux espèces ayant des exigences écologiques identiques, c'est-à-dire exploitant une ressource limitante unique, ne peuvent coexister indéfiniment dans un milieu stable et homogène, la plus compétitive des deux espèces finissant par éliminer l'autre (Figure I.4B). Une compétition asymétrique signifie que l'une des deux espèces sera plus impactée que l'autre. En outre, la compétition peut s'exercer entre deux individus d'une même espèce (intraspécifique) ou entre deux individus de deux espèces différentes (interspécifique).
- (ii) **La complémentarité** : dans ce cas, contrairement à la compétition, les deux espèces qui coexistent n'exploitent pas les mêmes ressources ou elles les utilisent différemment (Figure I.4A). Ainsi, si deux espèces sont associées dans un même milieu, celles-ci vont pouvoir coexister et se développer sans se gêner mutuellement. Le mécanisme de la complémentarité entre espèces suppose l'évitement de l'exclusion compétitive grâce à la séparation des niches écologiques des espèces en mélange.

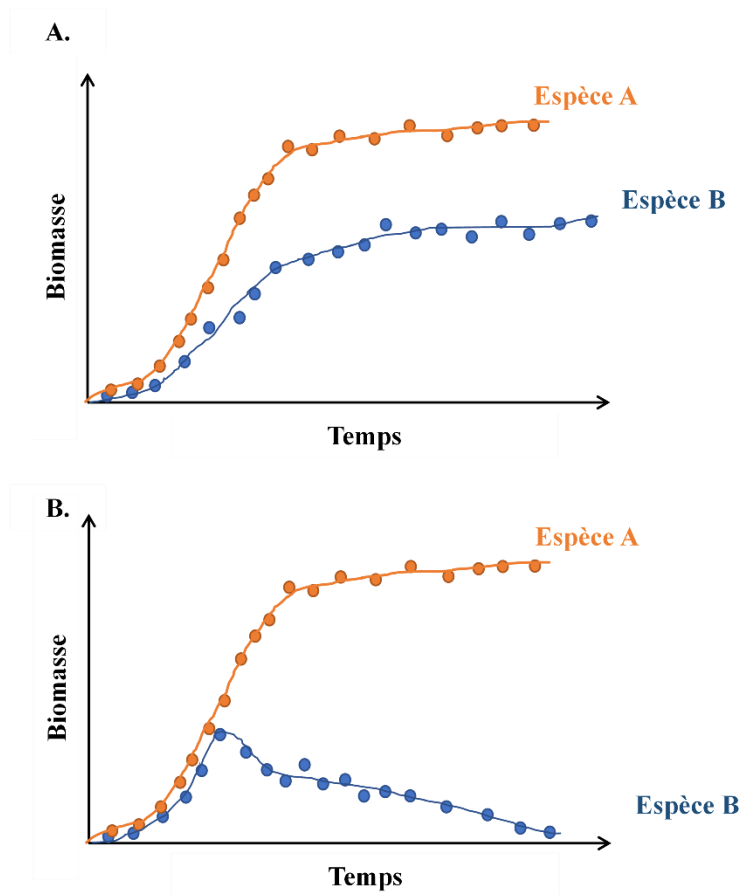


Figure I.4 - Illustration du principe d'exclusion compétitive d'après Gause (1934). (A) Les espèces A et B ont des besoins nutritionnels différents, leur développement n'est pas contraint par la présence de l'autre espèce : il s'agit « d'évitement de l'exclusion compétitive », (B) les espèces A et B ont des besoins nutritionnels identiques ce qui contraint le développement de l'espèce B qui sera amenée à disparaître : il s'agit « d'exclusion compétitive ».

- (iii) **La facilitation** : on parlera de facilitation si l'effet de la présence de l'espèce A sur l'espèce B est bénéfique. La présence de l'espèce A facilite la présence de l'espèce B. Dans ce cas, l'espèce A rend disponible un pool supplémentaire d'une ressource « X » pour l'espèce B, ce pool n'étant pas disponible pour l'espèce B quand l'espèce A est absente (Stachowics 2001).

La compréhension des processus et des interactions qui se produisent dans les peuplements mélangés est cruciale pour maximiser leur probabilité de réussite (Forrester et al. 2005). C'est pourquoi, il est important de choisir judicieusement les espèces à associer pour permettre la prédominance d'interactions positives, soit par complémentarité de niche (les espèces utilisant des ressources différemment dans le temps et/ou l'espace), soit par processus de facilitation (où la présence d'une espèce facilite la croissance de l'autre en améliorant les conditions du milieu). Dans la littérature, la facilitation et la réduction de compétition sont souvent regroupées sous le terme de complémentarité, étant donné qu'il est difficile de

séparer les effets de la facilitation de ceux de la réduction de compétition sur le mélange (Forrester et Bauhus 2016). D'après le cadre théorique proposé par Forrester et Bauhus (2016), les effets de complémentarité augmentent à mesure que la disponibilité ou l'efficacité d'utilisation d'une ressource deviennent limitantes (Figure I.5). Les points suivants s'intéressent de plus près aux différentes interactions en contexte de plantations mélangées.

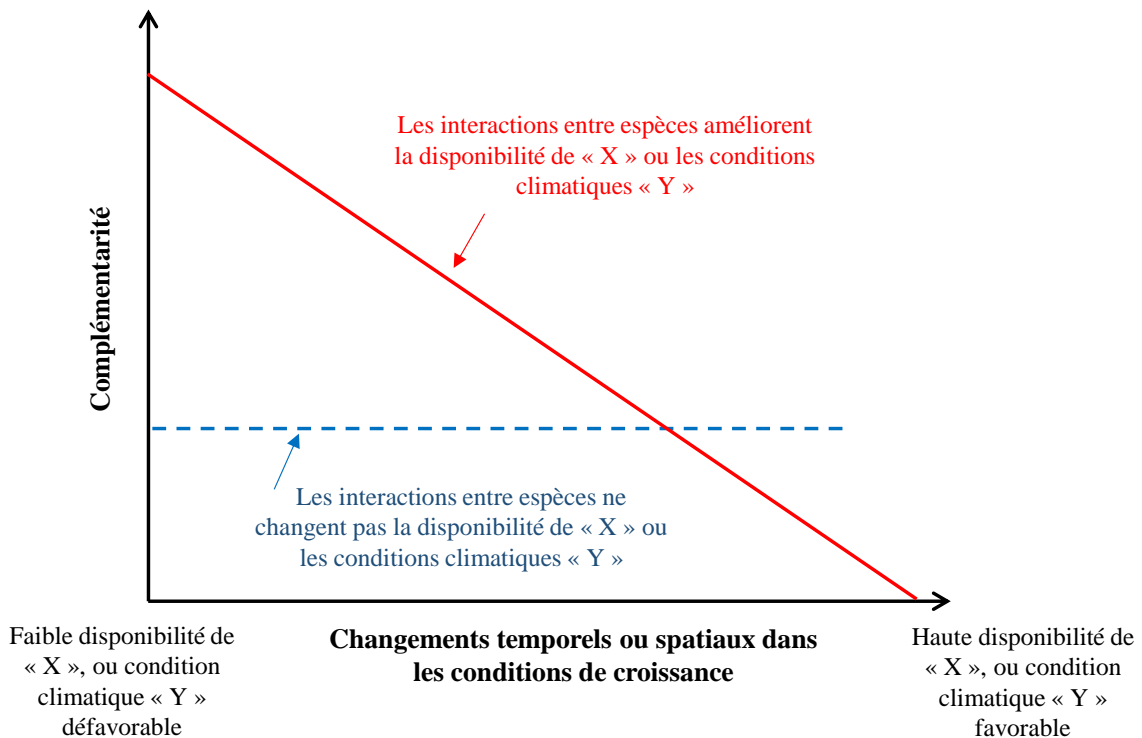


Figure I.5 – Schéma du cadre théorique proposé par Forrester et Bauhus (2016) montrant comment la complémentarité entre des espèces données change le long de gradients temporels ou spatiaux de disponibilité des ressources ou de conditions climatiques. La ligne rouge pleine indique que la complémentarité augmente lorsque la disponibilité de la ressource « X » diminue (ou que la condition climatique « Y » devient plus contraignante) parce que les interactions entre les espèces améliorent la disponibilité de la ressource « X » (ou que les interactions améliorent la condition climatique « Y »). La ligne bleue en pointillés représente un cas où les interactions entre les espèces n'entraînent aucun changement de complémentarité le long du gradient, car la complémentarité ne résulte pas d'interactions qui influencent « X » ou qu'il n'y a pas de complémentarité pour cette combinaison d'espèces. Adapté de Forrester et Bauhus (2016).

2.1 Les interactions positives en plantations mélangées

1.1.1 Réduction de compétition¹

D'après la méta-analyse de Zhang et al. (2012), le mélange d'espèces conduit généralement à une productivité plus élevée du mélange par rapport aux monocultures. Des espèces ayant des traits structurels (système racinaire, hauteur et diamètre de l'appareil végétatif, par exemple) et fonctionnels (tolérance à l'ombre, utilisation de l'eau ou des nutriments, entre autres) différents, n'occupent pas la même niche écologique et entrent faiblement, voir n'entrent pas du tout, en compétition (compétition interspécifique ; Morin et al. 2011). Au contraire, les individus d'une même espèce auront des besoins en ressources similaires et auront plus de chance d'entrer en compétition pour ces ressources (compétition intraspécifique). Comme il est supposé que les individus d'espèces différentes aient un chevauchement de ressources plus faible que des individus de la même espèce, il est attendu que la compétition intraspécifique en monoculture soit plus élevée que la compétition interspécifique en plantation mélangée. C'est pourquoi, la complémentarité de niche est considérée comme une condition préalable à l'optimisation de la production du mélange d'espèces. L'hypothèse de complémentarité de niche postule qu'un meilleur fonctionnement du système est dû à une plus grande diversité d'espèces et de traits fonctionnels permettant une utilisation efficace des ressources par des espèces co-existantes au sein d'une communauté (Tilman 1999). Ainsi, certaines espèces en mélange peuvent bénéficier d'un meilleur accroissement, qu'à surface équivalente en monoculture (Forrester et al. 2004, Dupraz et Liagre 2008).

Une productivité plus élevée en plantation mélangée qu'en monoculture a pu être observée lorsque les espèces ont développé des canopées stratifiées ou des architectures de couronnes différentes (Forrester et al. 2006, Jucker et al. 2015, Hildebrand et al. 2021). L'association d'une espèce exigeante en lumière avec une espèce tolérante à l'ombre peut se révéler en effet efficace pour améliorer l'interception de la lumière par la canopée (Forrester et al. 2004). C'est ce qu'ont montré Forrester et al. (2013) dans une plantation mélangée d'*Abies alba* et de *Picea abies* où la morphologie contrastée des couronnes et leur stratification a conduit à une réduction de la compétition pour l'accès à la lumière. L'association d'une espèce à enracinement superficiel avec une espèce à enracinement profond peut également être intéressante. En agroforesterie, l'hypothèse émise est celle d'une

¹ Les termes suivants sont retrouvés dans la littérature comme synonyme du terme réduction de compétition : « différenciation de niche », « séparation de niche », « complémentarité de niche », « partitionnement de niche »

complémentarité des systèmes racinaires des arbres et de la culture agricole. Il est attendu que les racines des arbres et de la culture prospectent des volumes de sol différents, alors qu'elles occuperaient des volumes de sol identiques en monoculture (Gliessman 1985, Isaac et Borden 2019). Ceci est possible lorsqu'il existe une stratification racinaire comme au sein des mélanges entre peupliers (*Populus spp.*) et orge (*Hordeum vulgare*) (Thevathasan et Gordon 1995). Fernández et al. (2008) ont montré que des pins agroforestiers prélevaient seulement 20% d'eau à moins de 20 cm de profondeur, c'est-à-dire là où se trouvaient les racines de la culture associée, alors que les pins en monoculture prélevaient jusqu'à 70% d'eau à cette même profondeur. En outre, ce type d'association est d'autant plus intéressant lorsque l'eau est le principal élément limitant dans le système. Dans ce cas, il est attendu une augmentation de la disponibilité en eau, à l'échelle de la parcelle, due à une complémentarité des appareils racinaires (Bai et al. 2016, Battipaglia et al. 2017). Par exemple, le hêtre (*Fagus sylvatica*) et le chêne sessile (*Quercus petraea*) résistent mieux au stress hydrique lorsqu'ils sont associés que lorsqu'ils se développent en monoculture (Pretzsch et al. 2013). Enfin, l'association d'espèces à phénologie contrastée, avec une mise en place des feuilles décalée dans le temps par exemple, peut permettre une utilisation complémentaire de la lumière et conduire à une augmentation de la productivité (Ishii et al. 2004). Aldea et al. (2021) ont montré que le pin (*Pinus pinaster*), qui a des feuilles persistantes, pouvait montrer une croissance supplémentaire à l'automne après la chute des feuilles du chêne (*Q. pyrenaica*) quand les deux espèces sont associées.

1.1.2 Facilitation

Outre la réduction de compétition, des effets positifs de l'association d'espèces peuvent découler de la facilitation, notamment par l'amélioration de la disponibilité des ressources (ex : fixation de l'azote, élévation/redistribution hydraulique). Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés aux effets de la facilitation dus à la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (N₂). Dans la suite du manuscrit, seuls les résultats concernant cette facilitation seront détaillés. Cependant, il est important de préciser qu'il existe un effet de facilitation pour la redistribution de l'eau, souvent retrouvé sous le terme d'élévation ou d'ascenseur hydraulique (Bayala et Prieto 2020). De façon très synthétique, cela désigne le processus de déplacement de l'eau vers le haut, des couches humides vers les couches plus sèches du sol, par les racines des plantes qui ont accès à la fois aux couches de sol profondes et peu profondes. Les travaux de Ludwig et al. (2004) et Fernández et al. (2008) sur des

plantations agroforestières en climat semi-aride ont mis en évidence l'existence de ce mécanisme pour des pins (*Pinus ponderosa*). Cet effet suggérant une facilitation pour les cultures associées reste toutefois souvent à prouver car le processus d'ascenseur hydraulique est difficile à démontrer et est peu caractérisé.

Parmi les études sur les plantations mélangées, on retrouve souvent l'association d'une espèce fixatrice d'azote avec une espèce non fixatrice (Richards et al. 2010). L'association d'une espèce fixatrice d'azote avec une espèce non-fixatrice conduit généralement à un rendement supérieur à la monoculture de l'espèce non fixatrice (Bauhus et al. 2000, 2004, Piotto 2008, Marron et Epron 2019). D'après la méta-analyse de Marron et Epron (2019) sur les plantations forestières, elles sont globalement 18 % plus productives que la monoculture de l'espèce la plus productive (Figure I.6), ce qui a d'ailleurs été souvent montré pour les associations d'eucalyptus et d'acacias (Forrester et al. 2004, 2006, 2007). Ceci est possible grâce à la présence de l'espèce fixatrice de N₂ dans le mélange, qui peut augmenter la concentration en azote disponible dans le sol via notamment la fixation symbiotique de N₂ (Kaye et al. 2000). L'introduction d'espèces fixatrices de N₂ dans ces mélanges est un atout supplémentaire pour réduire les besoins en intrants azotés de synthèse. En effet, certaines cultures intensives d'espèces à croissance rapide, comme les monocultures d'eucalyptus ou de peuplier, ont besoin de grandes quantités d'azote pour leur croissance (Dawson et Hansen 1983). Les plantes actinorhiziennes et les légumineuses sont capables de former des symbioses racines – nodules fixatrices de N₂ avec le genre *Frankia* ou *Rhizobium*, respectivement, et sont très appréciées dans les peuplements mélangés afin d'améliorer la fertilité des sols (Carlsson et al. 2006). Par exemple, une fertilisation comprise entre 70 et 100 kgN ha⁻¹ an⁻¹ par retour de litière du robinier (*Robinia pseudoacacia*) au sol a été mise en évidence (Rice et al. 2004). L'aulne (*Alnus spp*) peut fixer entre 40 et 320 kgN ha⁻¹an⁻¹ suivant les espèces et les conditions du milieu (Le Tacon et al. 1988, Russo 2005). D'ailleurs, la présence de l'aulne *A. subcordata* avec *P. euramericana* peut améliorer la fertilité du sol dans le mélange et augmenter la croissance du peuplier (Sayyad et al. 2006). Des légumineuses comme le trèfle (*Trifolium pratense*, *T. repens*) ou la luzerne (*Medicago sativa*) peuvent fixer entre 193 et 545 kgN ha⁻¹an⁻¹ et entre 130 et 350 kgN ha⁻¹an⁻¹, respectivement (Carlsson et Huss-Danell 2003, Russelle et Birr 2004, Kristensen et al. 2022). En contexte agroforestier, Isaac et al. (2014) ont montré que la part d'azote provenant de la fixation symbiotique était entre 39% et 123% plus élevée dans un système soja-peuplier, par rapport à la monoculture. Les espèces fixatrices de N₂ peuvent dès lors favoriser la croissance d'espèces à croissance

rapide (Binkley 2003, Ghorbani et al. 2018). Les peupliers sont ainsi souvent associés, en agroforesterie, à une culture fixatrice de N₂ comme la luzerne (Powell et Bork 2004) ou encore le soja (Reynolds et al. 2007, Manceur et al. 2008, Rivest et al. 2010), en raison de leurs effets bénéfiques sur l'accroissement en hauteur et en diamètre des peupliers (Taghiyari et Efhami 2011). Cependant, comme mentionné précédemment, cet effet positif sur la productivité de l'espèce cible est généralement plus prononcé sur les sols pauvres, lorsque l'azote est limitant (Binkley 1983, Marron et Epron 2019). Dans l'étude de Binkley (2003), l'aulne rouge a amélioré la productivité du douglas mais uniquement dans les sites pauvres en azote ; au contraire, dans les sites où l'azote n'était pas limitant, la productivité du douglas a été réduite.

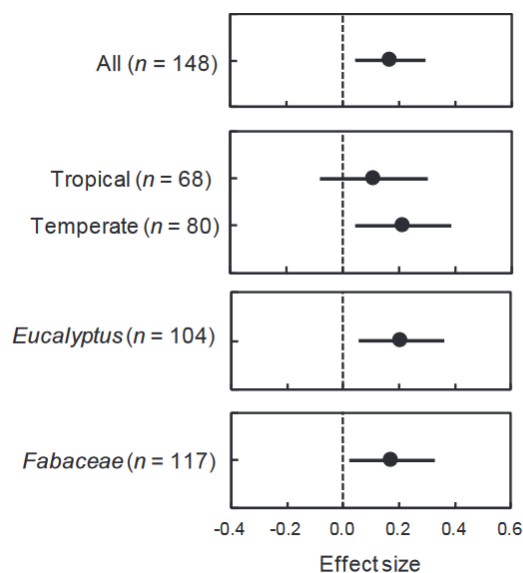


Figure 1.6 – Proportion de gain de productivité par les mélanges forestiers incluant une espèce fixatrice d'azote par rapport à la monoculture de l'espèce la plus productive (issue de la méta-analyse de Marron et Epron 2019 portant sur 148 études de cas dans 30 plantations).

2.2 La compétition en plantations mélangées

Les plantations mélangées conduisent ainsi généralement à une augmentation de la productivité en comparaison à des systèmes monospécifiques. Néanmoins, il est aussi fait état d'échecs, comme au Brésil où l'association d'acacias (*Acacia mangium*) et d'eucalyptus (*Eucalyptus grandis*) n'a pas bénéficié aux deux espèces après six ans (Nouvellon et al., 2012). Marron et al. (2018a) ont quant à eux montré que la monoculture de peupliers (*P. × euramericana*) était deux fois plus productive que le mélange peuplier/robinier (*Robinia pseudoacacia*), après cinq années de croissance. Les effets positifs de réduction de compétition et de facilitation n'ont parfois pas été suffisants pour contrebalancer les effets négatifs de la compétition (Yachi et Loreau 2007, Conte et al. 2018, Marron et al. 2018a). Il s'agit de situations où le degré de compétition interspécifique dépasse celui de la compétition intraspécifique (Kelty 1992, Nouvellon et al. 2012, le Maire et al. 2013).

La compétition interspécifique peut être directement liée aux traits structurels des espèces associées dans le mélange comme dans l'étude de Borden et al. (2017) où l'appareil racinaire des peupliers concurrençait celui de la culture associée, en raison de la concentration en racines fines élevée à la surface. En plantation agroforestière, certaines cultures herbacées nécessitent une importante quantité d'eau pour leur développement et peuvent concurrencer les arbres pour leur croissance. C'était le cas de peupliers (*Populus spp.*) en association avec des céréales (e.g *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*) dont la hauteur et le diamètre moyens étaient 10 à 21% inférieurs après sept ans de croissance, par rapport aux peupliers bordés par de la jachère continue (Burgess et al. 2005). En outre, certaines légumineuses comme la luzerne ont des racines profondes et compétitives comme les arbres (Dawson et al. 2001, Gakis et al. 2004), notamment lors des premiers stades de leur développement (Powell et Bork 2004). Cette compétition interspécifique peut être amplifiée avec l'ajout de contraintes environnementales qui impactent directement la disponibilité en ressources dans le système. Dans l'étude de Marron et al. (2018a), les conditions climatiques défavorables pour les deux espèces (alternance de sécheresses et de périodes d'ennoyage) ont exacerbé la compétition interspécifique dans le mélange peuplier/robinier, entraînant une croissance des arbres plus faible et une mortalité plus élevée que dans les monocultures.

La gestion du système (Conte et al. 2018), le choix du site (Forrester et al. 2005), de la densité de plantation (Benomar et al. 2012, 2013), des espèces à associer (Forrester et al. 2006), entre autres, sont également des facteurs impactant la réussite d'une plantation mélangée. Conte et al. (2018) ont conclu que les performances de croissance des hêtres

(*Fagus sylvatica*) et des pins (*Pinus sylvestris*) étaient meilleures dans les monocultures des deux espèces que dans le mélange, et que cela était dû à la gestion forestière passée (ex : éclaircies) plus qu'aux variations climatiques sur le long terme. Certaines espèces d'arbres, comme les espèces fixatrices de N₂, n'ont parfois aucun avantage à être en mélange, ce qui a pu être le cas du robinier dans le mélange peuplier/robinier étudié par Marron et al. (2018a). En effet, la compétition interspécifique demeure généralement plus élevée que la compétition intraspécifique pour ces espèces (Piotto 2008). En agroforesterie, il a été montré que la culture n'avait souvent aucun avantage à être associée à une espèce d'arbre, qui plus est lorsqu'il s'agit d'une espèce à croissance rapide, voire était négativement impactée dû à l'ombrage des arbres (Artru et al. 2017, Carrier et al. 2019). Cet effet est d'autant plus marqué que les arbres sont âgés, du fait notamment de l'augmentation de l'ombrage par ces derniers avec leur vieillissement (Swamy et al. 2006, Inurreta-Aguirre et al. 2018). Ainsi, les cultures à proximité des arbres, c'est-à-dire à moins de trois mètres en général, peuvent voir leur rendement diminuer (Kanzler et al. 2019). C'est ce qu'ont pu montrer Bouttier et al. (2014) dans un système en culture intercalaire, où le rendement en foin était 75% inférieur à proximité des peupliers, par rapport à la culture pure. La densité d'arbres peut également impacter les rendements des cultures intercalaires. En effet, Sirohi et al. (2022) ont constaté une réduction globale du rendement, entre 10 et 56% de cultures intercalaires (*Sorghum bicolor*, *T. alexandrinum* and *Vigna unguiculata*) à base de peupliers (*P. deltoides*), avec l'augmentation de la densité d'arbres. Avec l'augmentation de l'espacement, en revanche, les auteurs ont pu déterminer un « *land equivalent ratio* » de 2.86. Cela signifie que la productivité de la plantation agroforestière (rendement des arbres et de la culture) sur un hectare est égale au rendement des cultures et des arbres dans une zone de 2.86 hectares lorsqu'ils sont cultivés séparément dans des systèmes agricoles et forestiers conventionnels. Si d'un côté la présence de l'arbre dans le système diminue la disponibilité en lumière pour la culture sous-jacente, elle peut d'un autre côté conférer des avantages, tels qu'une réduction de l'évapotranspiration, et ne pas impacter négativement la productivité globale (Kanzler et al. 2019). Cette dernière étude a mis en évidence une réduction de l'évapotranspiration de la betterave (*Beta vulgaris*) allant jusqu'à 58% à proximité des robiniers (*R. pseudoacacia*) et des peupliers (*P. nigra* × *P. maximowiczii*) ainsi qu'une augmentation de 16% du rendement par rapport à la culture en champ ouvert (considérée comme la monoculture). Ainsi, la productivité d'une plantation résultera des différents types d'interactions inter- et

intraspécifiques, c'est-à-dire d'un équilibre entre la compétition, la réduction de compétition, et la facilitation entre les espèces associées (Vandermeer 1989).

Les interactions positives et négatives sont simultanément à l'œuvre dans le système et leur importance change avec les variations des stress abiotiques (Maestre et al. 2009). Bertness et Callaway (1994) ont proposé l'hypothèse du gradient de stress, qui prédit que la complémentarité augmente dans des conditions de stress abiotique et/ou de perturbations élevées, par rapport à des conditions abiotiques non contraignantes. À un niveau de stress élevé, l'effet de facilitation de l'espèce A (tolérante au stress) peut conduire à l'extension de la niche réalisée par l'espèce B (non tolérante au stress), comme observé par Binkley (2003) pour le douglas en association avec l'aulne. Il faut néanmoins noter que la facilitation sera importante à un niveau de stress élevé mais pas en cas de stress extrême (Callaway et Pugnaire 1999), et que souvent l'hypothèse n'est alors pas vérifiée (Marron et al. 2018a).

2.3 Mesurer les interactions biotiques en plantations mélangées

Le succès des plantations mélangées est généralement évalué par des mesures de l'augmentation de la production de biomasse, par rapport aux monocultures équivalentes. Des indices de complémentarité ont été développés par certains auteurs afin d'estimer l'importance de l'interaction positive ou négative dans les plantations mélangées. Parmi eux, Forrester (2015) a montré que l'eucalyptus (*E. globulus*) en mélange avec l'acacia (*A. mearnsii*) présentait des valeurs d'efficacité d'utilisation de l'eau supérieures de 54 % à celles des eucalyptus poussant en monoculture à des surfaces terrières comparables et a défini ce pourcentage comme un « effet de complémentarité » (*complementarity effect*). L'indice peut aussi être négatif, ce qui signifie que l'interaction négative est dominante. D'autres indices, comme la « complémentarité de la couronne » (*crown complementarity*) sont utilisés dans la littérature, l'hypothèse étant que cette dernière est plus importante dans les mélanges que dans les monocultures (Williams et al. 2017, Kunz et al. 2019, Hildebrand et al. 2021). En plantation mélangée, il sera possible de distinguer les « vrais effets de mélange » (*true mixing effect* ou *multiplicative effect*) des « effets additifs » (Figure I.7). En effet, les différences structurelles observées entre les espèces dans les mélanges et dans les monocultures peuvent être dues à des effets résultant directement des interactions entre les espèces, c'est-à-dire lorsque les nouveaux aspects structurels résultent de l'environnement interspécifique (alias « véritable effet de mélange », Forrester et al. 2013); mais elles peuvent aussi être uniquement dues à des effets résultant de différences interspécifiques non affectées par les

interactions entre espèces, c'est-à-dire lorsque les espèces du mélange conservent leurs différents traits morphologiques ou physiologiques comme en monoculture (« effet additif », Forrester 2014).

Si on s'intéresse aux vrais effets de mélange, la durée d'étude de la plantation va influencer sur les résultats. Effectivement, les effets des interactions entre les espèces sur l'acquisition des ressources, et *in fine* sur la productivité, ne sont pas stables dans le temps (Forrester 2014). Par exemple, Forrester et al. (2012) ont mis en évidence que des eucalyptus (*E. globulus*) en mélange avec des acacias (*A. mearnsii*) avaient de meilleures capacités photosynthétiques qu'en monoculture à partir de la cinquième année. De leur côté, Le Tacon et al. (1988) ont pu déterminer que l'interaction entre l'aune (*A. incana*) et le frêne (*Fraxinus excelsior*) ne devenait une facilitation qu'après 6 ans. De ce fait, si l'étude a lieu sur une durée courte, certains facteurs de stress peuvent venir masquer les effets attendus par la gestion en mélange alors que si elle a lieu sur une durée plus longue, les potentielles variations (dues aux aléas climatiques, par exemple) seront atténuées par la répétition des mesures au fil des saisons de végétation. Il sera dans ce cas plus probable d'observer de vrais effets de mélange.

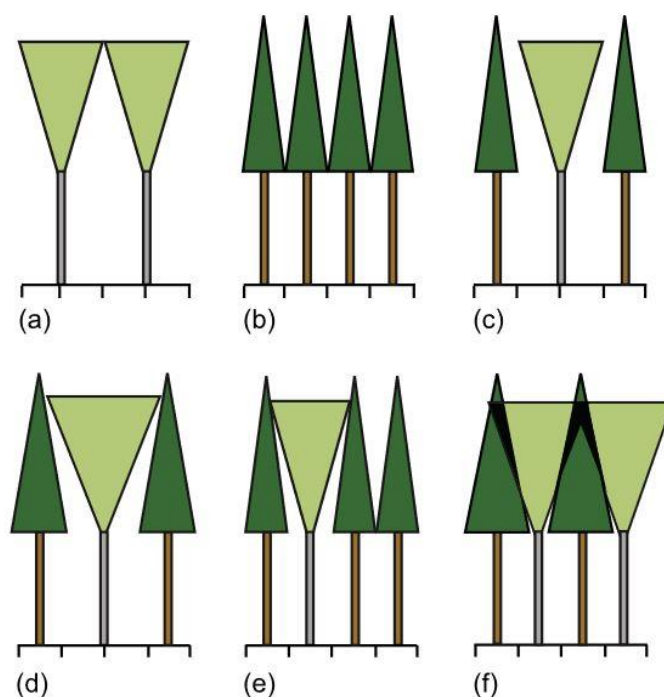


Figure 1.7 – Schéma illustrant les effets potentiels du mélange d'espèces sur l'occupation de l'espace de la canopée dans les peuplements équiens lorsque les couronnes des arbres ont des formes complémentaires. Lorsque deux espèces aux couronnes de formes complémentaires (a et b) sont mélangées et conservent leur forme et leur occupation de l'espace, l'effet du mélange en termes de remplissage de l'espace est simplement additif (c). Dans de nombreux cas, le mélange d'espèces permet une expansion de la couronne (d), un couvert forestier plus dense (e), ou une combinaison des deux (f). Les cas (d) à (f) représentent un véritable effet du mélange par un remplissage plus dense de l'espace de la canopée. Extrait de Pretszch (2014).

3. Objectifs, questionnements et hypothèses

La productivité forestière peut être définie comme étant l'augmentation de la biomasse ou du volume de bois par unité de temps et de surface (Bontemps et al. 2009, Li et al. 2020). Cette production de biomasse dans une plantation va être dépendante de la croissance individuelle des arbres, qui sera elle-même régie par un certain nombre de déterminants : **phénologiques** (notamment la longueur de la saison de végétation), (2) **structuraux** (l'indice foliaire, les architectures aérienne et racinaire, entre autres), (3) **fonctionnels** (par exemple, l'assimilation photosynthétique, l'efficacité d'utilisation des ressources) ou (4) **biochimiques** (comme l'allocation et la dynamique des réserves carbonées et azotées). Par exemple, la compétition pour la lumière dans les écosystèmes forestiers est souvent considérée comme le principal processus limitant (Pretzsch 2014). Ainsi, la photosynthèse comme processus central dans la croissance de l'arbre est fortement liée à la disponibilité de la lumière qui va dépendre de la capacité d'interception lumineuse par le feuillage de l'arbre (déterminant fonctionnel), elle-même régie par des déterminants structurels tels que l'architecture du houppier (Fotis et al. 2018). Ces déterminants sont donc étroitement liés entre eux. En plantation mélangée, les attributs structurels et fonctionnels des espèces associées peuvent augmenter la biomasse aérienne en raison de l'effet de complémentarité, conduisant à une meilleure utilisation des ressources du système dans l'espace et/ou le temps en permettant aux arbres d'être plus productifs.

Ces déterminants sont susceptibles d'être affectés dans les mélanges du fait de la présence d'une seconde espèce, herbacée ou ligneuse. À ce jour, les interactions entre espèces qui déterminent si un mélange donné sera plus productif que les monocultures correspondantes sont encore mal comprises et les études de leur impact sur l'efficacité d'utilisation des ressources sont rares.

Les travaux de thèse se sont déroulés sur le dispositif atelier Agro-TCR mis en place en 2014, géré par les UMR Silva et LAE et la ferme expérimentale de la Bouzule, rattaché à AnaEE France, et dont l'installation a été financée par le Laboratoire d'Excellence ARBRE. Il s'agit d'une plantation expérimentale instrumentée, où sont présents des traitements témoins de monoculture (peuplier, aulne, graminées, légumineuses) et des traitements associant des espèces fixatrices d'azote ligneuse (aulne) et herbacée (luzerne/trèfle) avec des espèces non fixatrices d'azote (peuplier et graminées).

L'objectif général des travaux de thèse a consisté à évaluer l'impact du mélange d'espèces sur les performances de croissance des arbres à travers les effets sur les

déterminants phénologiques, structuraux et fonctionnels (Figure I.8). Ainsi, cette thèse est divisée en cinq grandes parties qui tâcheront d'apporter des éléments de réponse aux questionnements et hypothèses posés ci-dessous :

⇒ **Question 1 : Quel est l'effet de l'association d'espèces incluant une espèce fixatrice d'azote, herbacée ou ligneuse, sur les performances de croissance des arbres ?**

H1 – Les arbres dans les mélanges auront de meilleures performances de croissance qu'en monoculture en raison d'une réduction de compétition entre espèces et/ou d'une facilitation grâce à la présence d'espèces fixatrices d'azote qui augmenteront la teneur en azote du sol et profiteront aux espèces non fixatrices.

⇒ **Question 2 : Des performances de croissance accrues pour les peupliers en mélange sont-elles associées à une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau des peupliers en mélange qu'en monoculture ?**

H2 – Les peupliers dans les mélanges auront une efficacité d'utilisation de l'eau plus élevée qu'en monoculture en raison d'une réduction de compétition et/ou d'un effet de facilitation dû à la présence d'espèces fixatrices d'azote dans les mélanges.

⇒ **Question 3 : Quels sont les effets des mélanges forestier et agroforestier sur l'efficacité d'utilisation de l'azote et sur le cycle saisonnier de l'azote des peupliers ?**

H3 – Les peupliers dans les mélanges auront une efficacité d'utilisation de l'azote réduite en raison d'un effet de facilitation grâce à la présence d'espèces fixatrices d'azote qui augmenteront la teneur en azote du sol et profiteront aux espèces non fixatrices ;

H4 – Une teneur en azote du sol plus importante dans le milieu en mélange va entraîner un moindre recyclage par l'arbre de l'azote avant la sénescence automnale des feuilles et donc des litières de peuplier plus riches en azote en mélange qu'en monoculture.

⇒ **Question 4 : Des performances de croissance accrues des arbres en mélange comparativement à leur monoculture sont-elles associées à une occupation optimisée de l'espace par les canopées des deux espèces pour l'interception lumineuse ?**

H5 – Les arbres dans les mélanges se partageront plus efficacement l'espace aérien que dans leurs monocultures respectives en raison d'une réduction de compétition et/ou d'un effet de facilitation dû à la présence d'espèces fixatrices d'azote dans les mélanges ;

H5a – Cela se traduira par une stratification des houppiers des deux espèces dans le mélange forestier ;

H5b – Et par un développement vertical et horizontal des houppiers plus important en agroforesterie qu'en monoculture.

⇒ **Question 5 : Des performances de croissance accrues des arbres en mélange comparativement à leur monoculture sont-elles associées à une saison de végétation plus longue ?**

H6 – Les arbres auront une saison de végétation allongée en mélanges comparativement à leur monoculture ;

H6a – Cela sera dû à une entrée en dormance plus tardive ;

H6b – Et/ou à un débourrement plus précoce en mélange qu'en monoculture.

Pour répondre aux questions posées et tester nos hypothèses, plusieurs approches expérimentales ont été mises en place sur le site expérimental de La Bouzule (54). À noter que la thèse s'est intéressée uniquement à la composante arborée et aux effets des interactions entre espèces (arborée et herbacée) sur celle-ci.

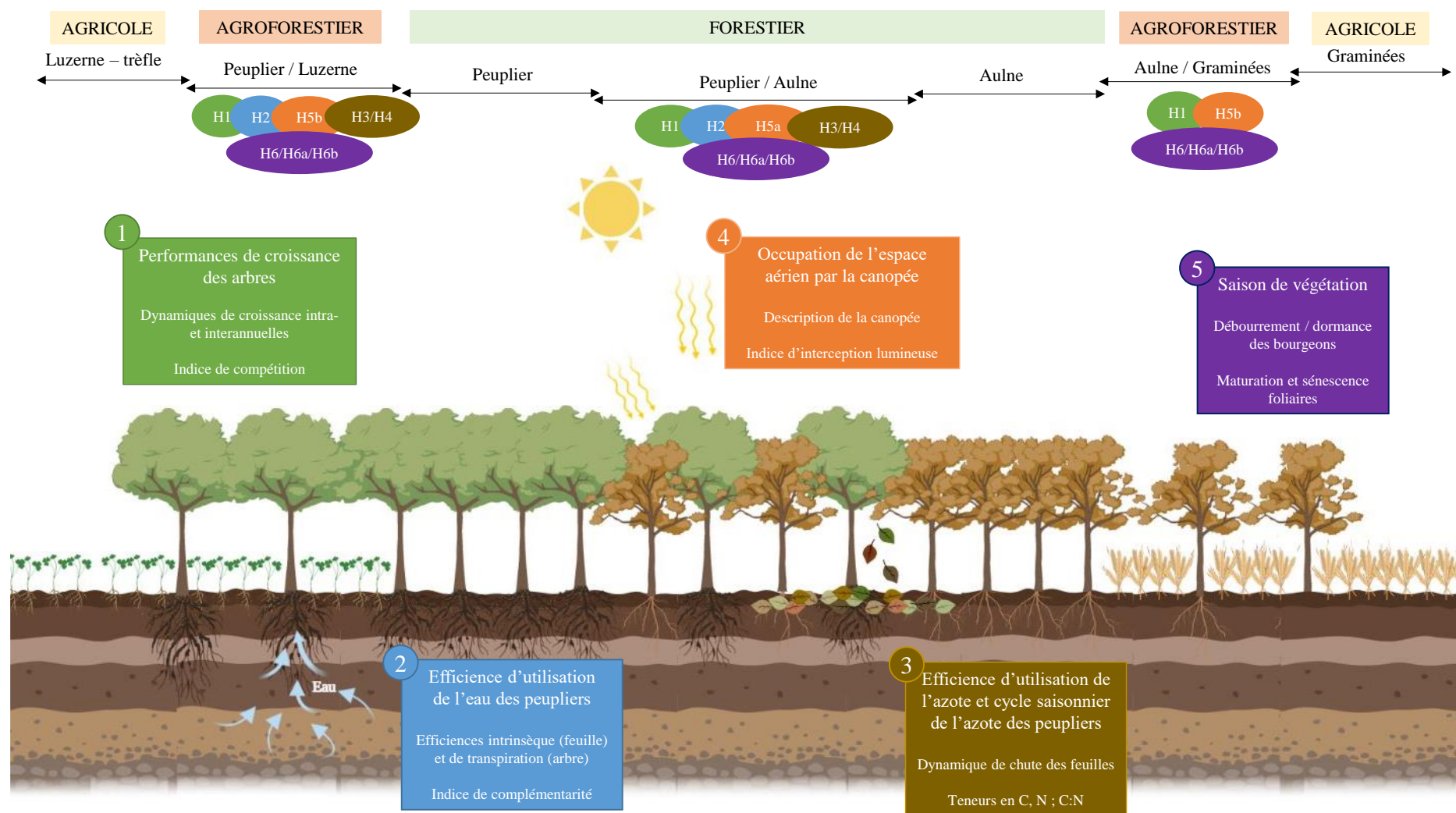


Figure I.8 – Schéma illustrant les différentes questions traitées dans la thèse (questions 1 à 5) et les méthodes employées pour y répondre. [Performances de croissance des arbres] Question 1 (Chapitre II) ; [Efficacité d'utilisation de l'eau] Question 2 (Chapitre III - 1) ; [Efficacité d'utilisation de l'azote et cycle saisonnier de l'azote des peupliers] Question 3 (Chapitre III - 2) ; [Occupation de l'espace aérien par la canopée] Question 4 (Chapitre IV) ; [Saison de végétation] Question 5 (Chapitre V). H1 à H6 correspondent aux différentes hypothèses et indiquent pour quelles modalités elles sont testées.

4. Le site expérimental de La Bouzule

Les travaux de thèse ont été menés sur le site expérimental de La Bouzule, situé sur la parcelle agricole « Bernard Amiaud » appartenant à la ferme expérimentale de La Bouzule (affiliée à l'ENSAIA, Université de Lorraine) près de Nancy, dans le nord-est de la France (48°44'19"N, 6°18'50"E, 219 m alt. ; Figures I.9, I.10). La plantation a été installée au printemps 2014, mesure 448 m de long pour 73 m de large, recouvrant ainsi une superficie totale d'environ 3.5 hectares. Elle est entourée au nord par une prairie naturelle et au sud par le ruisseau de l'Amezule. On note une légère pente vers le sud, soit 218 m pour le point le plus haut, et 217 m en partie basse près du ruisseau. La région est caractérisée par un climat tempéré chaud tel que défini dans la carte du monde de la classification climatique de Köppen-Geiger (Kottek et al. 2006). Le sol est un cambisol stagnique vertique (IUSS Working Group WRB 2006). Une visite virtuelle du site expérimental de La Bouzule a été créée dans le cadre de cette thèse et est disponible en suivant le lien : <https://view.genial.ly/5fbf5c4812e0f20d064f2f6a/interactive-content-visite-virtuelle-parcelle-experimentale-de-la-bouzule>.

La plantation est composée de trois blocs comportant chacun trois types de placettes, à savoir : (i) deux parcelles agricoles en culture pure (succession blé – triticales - ray-grass pour la première, succession luzerne – trèfle pour la seconde), (ii) trois parcelles forestières en monoculture (peuplier et aulne) et une parcelle en mélange (association peuplier/aulne), (iii) deux parcelles agroforestières (association graminées et aulne, association luzerne – trèfle et peuplier), soit donc au total sept traitements (Figure I.11). Les peupliers (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L., clone 'Dorskamp') étaient issus de boutures de 30 cm, tandis que les aulnes (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.) étaient des plants racinés de 50 à 80 cm, âgés d'un an lors de leur plantation. Chaque parcelle unitaire d'un traitement donné mesure environ 0.15 ha. Les placettes forestières (monoculture et mélange forestier) ont été plantées à une densité de 2000 arbres par hectare, chaque ligne étant espacée de 2.5 mètres avec alternance ou non des lignes des deux espèces selon le traitement, et les individus étant espacés d'une distance de 2 mètres sur la ligne. Les placettes agroforestières comptent 1000 arbres par hectare, également espacés de 2 m sur une même ligne, et 5 m séparent les lignes, puisqu'une rangée d'arbres sur deux a été remplacée par une culture herbacée. Au total, 3649 arbres ont été plantés, dont 1836 peupliers et 1813 aulnes. Ces arbres ont été plantés sur 100 lignes, une ligne comprenant 37 arbres (36 dans le bloc 3). En avril 2015, suite à la mortalité de près d'un

quart des individus (331 peupliers et 571 aulnes), une campagne de regarnissage a été effectuée. En 2019, la mortalité totale des arbres était de 5 %, principalement dans le bloc 3 où le sol est moins profond. La mise en place d'un système à forte densité a été adoptée sur cette plantation dans le but de susciter le plus rapidement possible des interactions inter- et intra-spécifiques (Figure I.12). La chronologie des interventions dans les parcelles agroforestières et agricoles, gérées par la ferme de La Bouzule, est présentée Figure I.13.



Figure I.9 – Inauguration de la parcelle « Bernard Amiaud » le 22 juin 2019. (Photo : Nicolas Marron)



Figure I.10 – Localisation géographique du site expérimental de La Bouzule dans le Grand-Est en France (données cartographiques IGN, Géoportail)

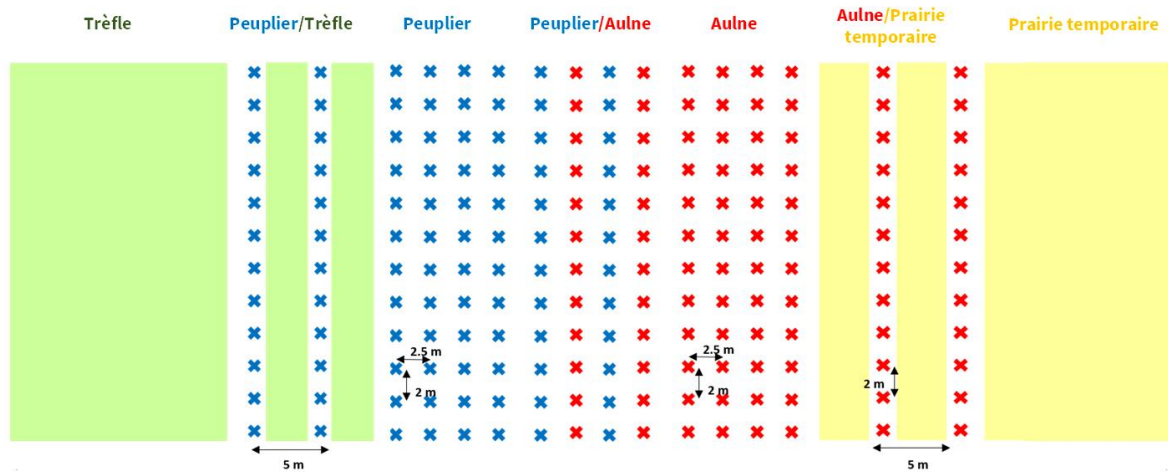


Figure I.11 – Schéma représentant la conception expérimentale d'un bloc du site de La Bouzule. Les espacements entre les arbres et les cultures sont présentés. Le nombre de lignes d'arbres n'est pas respecté.

La parcelle est instrumentée afin de mesurer en continu les paramètres environnementaux depuis 2014. La station météo est composée d'un pluviomètre, de sondes mesurant la température, l'humidité de l'air ou encore l'humidité du sol à plusieurs profondeurs dans les différents traitements, d'un anémomètre et d'un capteur PAR au-dessus du couvert végétal. Les moyennes annuelles de températures et de précipitation cumulées étaient de 11.0°C et 719 mm respectivement entre 2014 et 2021. En 2014, les premières analyses de sol ont été réalisées et sont détaillées dans Clivot et al. (2019). Brièvement, le sol était constitué de 60.9% d'argile, 34.8% de limon et 4.4% de sable, en moyenne, entre 0 et 60 cm de profondeur ; le pH était de 7.4 en moyenne et l'acidité d'échange (Al^{3+} et H^+) de 1.



Figure I.12 – Vues aériennes du site expérimental de La Bouzule ; en haut à droite : vue du traitement agroforestier peupliers/trèfle, au milieu en bas : vue de la culture pure de trèfle, en bas à droite : vue du traitement agroforestier aulnes/prairie temporaire. (Photos : Alexandre Laflotte)

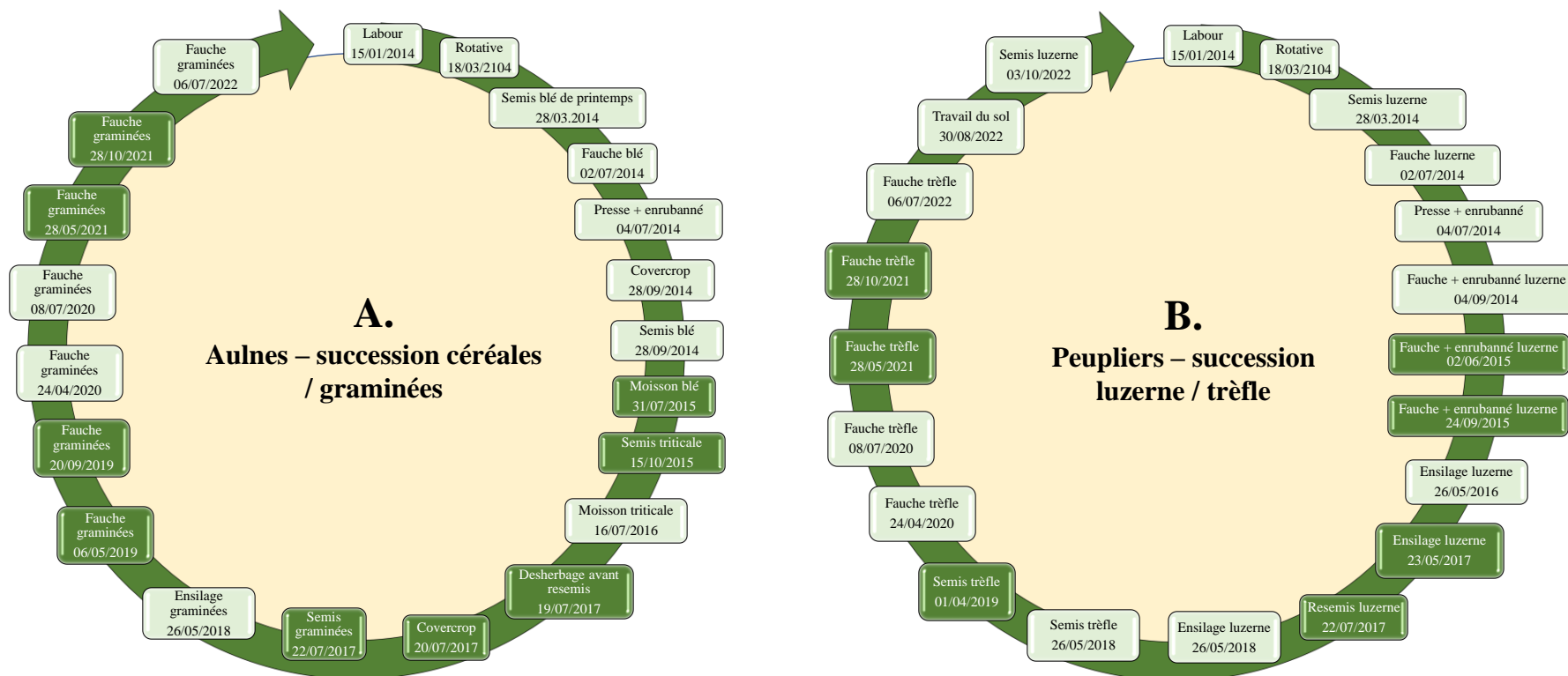


Figure 1.13 – Chronologie des interventions dans les parcelles agroforestières (A) aulnes – succession céréales/graminées et (B) peupliers – succession luzerne/trèfle entre 2014 et 2022. Les encarts en vert clair correspondent aux interventions lors des années paires, les encarts en vert foncé aux interventions lors des années impaires.

CHAPITRE II –

Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations

*Ce chapitre est une étude portant sur les performances de croissance des peupliers et des aulnes en mélange forestier et agroforestier. Il cherche à répondre à la première question de recherche : **Quel est l'effet de l'association d'espèces incluant une espèce fixatrice d'azote, herbacée ou ligneuse, sur les performances de croissance des arbres ?***

Résumé

Ces dernières années, les plantations d'espèces d'arbres à croissance rapide sont apparues comme un moyen possible de répondre à la demande croissante de biomasse pour les énergies renouvelables en Europe. Les plantations agroforestières, comprenant des espèces d'arbres à croissance rapide, pourraient être une option intéressante car elles réduisent la concurrence sur les terres pour la production de biomasse et alimentaire tout en offrant un bouquet de services écosystémiques potentiels. Aujourd'hui, les interactions entre espèces qui déterminent si un mélange donné sera plus productif que les monocultures correspondantes sont encore mal comprises. L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances d'arbres à croissance rapide, à savoir le peuplier (*Populus nigra* × *P. deltoides*) et l'aulne (*Alnus glutinosa*), en association avec des espèces herbacées, fixatrices d'azote (succession de luzerne – trèfle) ou non (graminées : succession de blé – triticales – prairie temporaire constituée de mélanges de ray-grass et de fétuque), respectivement, et en association ensemble. Nous avons comparé la croissance des arbres dans les peuplements mélangés à la croissance dans les monocultures d'arbres correspondantes. Une plantation expérimentale composée de trois blocs comprenant les différents traitements a été mise en place en 2014 dans le nord-est de la France. Dans le mélange forestier, le peuplier et l'aulne ont été plantés en rangées alternées, et dans les parcelles agroforestières, une ligne d'arbres sur deux a été remplacée par les cultures. Aucun apport externe n'a été réalisé pendant les expériences. Pendant six saisons de croissance, la croissance des arbres (hauteur et diamètre à hauteur de poitrine) a été suivie mensuellement dans les peuplements agroforestiers, le peuplement de mélange forestier et les deux monocultures d'arbres. Fin 2019, la hauteur des tiges du peuplier en association avec les cultures fixatrices d'azote (luzerne, puis trèfle) était plus élevée que dans le mélange forestier et la monoculture. Pendant la saison de croissance la plus chaude, avec une période sèche marquée en juin-juillet (2018), le taux de croissance en hauteur des peupliers en traitement agroforestier était entre trois et cinq fois supérieur à celui des peupliers en monoculture et en mélange forestier. Un processus de facilitation dans les plantations agroforestières pourrait expliquer ce résultat en raison d'un enrichissement important du sol en azote par les cultures fixatrices d'azote. Ce résultat n'est apparu que plusieurs années après la plantation des arbres, et des opérations de gestion ont été nécessaires pour contrôler la forte compétition entre les cultures et les arbres pendant les premiers stades. Dans le mélange forestier, les peupliers associés aux aulnes étaient plus petits que dans leur monoculture, malgré une stratification des canopées des deux espèces. Pour les aulnes, la

croissance des arbres ne semble pas être affectée par une association avec les graminées ou avec le peuplier.

Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations

Anaïs Thomas^a – Pierrick Priault^a – Séverine Piutti^b – Erwin Dallé^a – Nicolas Marron^a

^a Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, UMR Silva, 54000 Nancy, France

^b Université de Lorraine, INRAE, UMR Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE), 54518 Vandoeuve, France

Forest Ecology and Management

Volume 480, January 2021, Article 118672

DOI: 10.1016/j.foreco.2020.118672

Key words: Mixed tree plantations; Agroforestry; Growth dynamics; Fast-growing tree species; Interactions

1. Introduction

European Union leaders have agreed to increase the share of renewable energy in EU energy consumption to 27% by 2030 (European Biomass Association 2017). Between 2007 and 2017, renewable energy production increased by 64% in Europe; in 2017, wood (and other solid biofuels) accounted for the largest share of renewable energy at 42% of primary renewable energy production (Eurostat 2019). In recent years, plantations of fast-growing tree species have emerged to increase the contribution of biomass to renewable energy. Globally, these plantations accounted for 2% of the forest area in the world in 2012 (Cateau et al. 2018); in Europe, there were between 55,000 and 60,000 hectares of this type of plantation, mainly composed of poplars and willows in 2012 (Mola-Yudego et al. 2017). Fast-growing tree plantations are often monocultures (Liu et al. 2018). However, in the context of climate change and resource scarcity, mixed-species plantations can be interesting and several advantages have been highlighted. In particular, a higher stand production in mixtures than in monocultures (over-yielding or transgressive over-yielding) can result from facilitation (i.e. at least one species increases a resource availability for its companion species, especially interesting when mixing N₂-fixing species and non-fixing species) or from complementarity/competitive reduction (Vandermeer 1989). In addition, mixed plantations can be more resistant, particularly to diseases and pest attacks (Chamagne et al. 2017, Powell and Bork 2004). However, mixed plantations are not always more productive than monocultures, and this highlights the need to carefully consider species assemblages and specific site conditions (for reviews, see Piotta 2008, and Marron and Epron 2019).

Since fast-growing tree plantations increase around the world and most often on land used for food (Cossalter and Pye-Smith 2003), using an agroforestry approach in this type of plantations (Lamerre et al. 2015, Tariq et al. 2018, Seserman et al. 2019) could be an attractive alternative for farmers. It could reduce land use competition for biomass and food production, while providing forest benefits (Pretzsch et al. 2017). Tropical agroforestry plantations have been widely studied since the last century (e.g. Rao et al. 1998), but in temperate climates, studies of such plantations are still very marginal, even though agroforestry is in progress in Europe (Burgess et al. 2005, Carrier et al. 2019, Swieter et al. 2019) and North America (Thevathasan and Gordon 2004, Reynolds et al. 2007, Borden et al. 2017). Many studies can be found on the effects of trees on crops (Isaac et al. 2014, Bouttier et al. 2014, Inurreta-Aguirre et al. 2018, Kanzler et al. 2019), but studies dealing with the

effects of crops on trees are less frequent in the literature (e.g. but see Balandier et al. 2007 for various species of grass associated to wild cherry (*Prunus avium*)). In addition, when studies focus on the tree component in agroforestry systems, they generally deal with overall tree productivity (Lamerre et al. 2015), without more finely studying their growth dynamics, for example, or the interaction processes between species.

These interaction processes are still poorly understood, especially when it comes to interactions between herbaceous and woody species in agroforestry, which is at the crossroads of forestry and agronomy. In any plantation, interactions between individuals of the same species (intra-specific) or between individuals of two different species (interspecific) can be negative (i.e. competition), positive (i.e. competitive reduction and facilitation) or neutral. The same types of interactions can take place between the woody and herbaceous species in agroforestry plantations (Everson et al. 2009, Jose et al. 2004). The herbaceous component may be negatively impacted by the woody component with regard to the availability of resources such as light (Carrier et al. 2019). The competition for light will become more intense as the trees mature due to the increase in shading by the canopy (Inurreta-Aguirre et al. 2018). Thus, the yield of crops close to the trees decreases. This was shown by Bouttier et al. in 2014 where the herbaceous cover (*Phleum pratense* and *Trifolium pratense*) yield decreased by 75% near poplars (*Populus deltoides* × *Populus nigra*) in an intercropping system compared to control plots. Larger litter deposition within 1 m of the tree strip can also cause a decrease in the yield of the underlying crop, but, in Swieter et al. (2019) this negative impact did not affect overall crop yields. On the other hand, the two components, herbaceous and woody, can be complementary in their use of resources such as soil water. Indeed, trees have been shown to use water more efficiently when they are associated with a crop, compared to when they are in monoculture. Fernández et al. (2008) found that pines (*Pinus ponderosa*) used deeper water resources (below 20 cm) due to the presence of herbaceous roots in the top 20 cm of the soil layer in agroforestry than did pines in a monoculture. Facilitation can also occur in these systems. For example, Powell and Bork (2004) observed an increase in overall available soil nitrogen in an agroforestry system composed of poplars (*Populus tremuloides*) and alfalfa (*Medicago sativa*). The performance of species mixture systems is the net result of the above- and belowground interactions between the associated species.

The aim of our study was to compare the performance of fast-growing trees in different mixtures and in their respective monocultures: i.e. poplar (*Populus nigra* × *P.*

deltoides) and alder (*Alnus glutinosa*), in association with herbaceous species either N₂-fixing species (succession alfalfa (*Medicago sativa*) - clover (*Trifolium pratense*)) or graminoids species (succession of wheat (*Triticum aestivum*) - triticale (*Triticosecale*) - temporary grassland consisting of mixtures of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and fescue (*Festuca ovina*)), respectively. We studied the effects of the different types of species mixtures on tree intra- and inter-annual growth dynamics, compared to the respective tree monocultures. Our main hypothesis was that trees would be larger and taller in mixture plots than in monoculture due to a reduction in species competition and/or facilitation provided by the presence of N₂-fixing species (alfalfa – clover and alder), which increase the soil in nitrogen and benefit the non N₂-fixing species (graminoids and poplar).

2. Materials and methods

2.1 Study area

The experimental plantation is located in an agricultural field at the experimental farm of La Bouzule near Nancy, in northeastern France (48°44'19" N, 6°18'50" E, 219 m asl). The region is characterized by a warm temperate climate, as shown in the Köppen-Geiger climate classification world map (Kottek et al. 2006). The soil is a Vertic Stagnic Cambisol (IUSS Working Group WRB 2006). The mean annual precipitation and temperatures were, respectively, 550 mm and 10.3°C between 2014 and 2019.

2.2 Experimental design

The experimental plantation was installed in the spring of 2014 and is 448 m long and 73 m wide, for a total area of 3.27 ha (Figure II.1). The plantation consists of three blocks, each containing three types of treatments: (i) two kinds of agroforestry, (ii) one forest mixture and (iii) two tree monocultures or two agricultural plots, each plot measuring approximately 0.15 ha (Figure II.1). The agroforestry plots were composed of herbaceous species associated with woody species. From 2014 to 2017, the alder plots were planted with cereals (spring wheat (*Triticum aestivum*) rotated with a winter wheat and triticale (*Triticosecale*); and the poplar plots with alfalfa (*Medicago sativa*); then from 2018, temporary grassland mixing perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and fescue (*Festuca ovina*) replaced the cereals and clover (*Trifolium pratense*) replaced the alfalfa. The forest mixture plot was composed of alternating rows of poplar and alder. The cereals and the temporary grassland are grouped together under “graminoids”, hereafter. The forest plots (tree monocultures and the forest mixture) were planted at a density of 2000 trees per hectare (2.5 m between the rows and 2 m between the trees in a given row) while the agroforestry plots had a density of 1000 trees per hectare, every other row of trees being replaced by crops (5 m between the rows and 2 m between the trees) (Figure II.1). Tree planting was realized with 30-cm-long poplar cuttings of the Euramerican poplar clone Dorskamp (*Populus deltoides* × *Populus nigra*) and one-year-old rooted alder (*Alnus glutinosa*) seedlings measuring from 50 to 80 cm in height. A total of 3649 trees were planted, corresponding to 1836 poplars and 1813 alders. The plantation design leaves sufficient room at the extremity of the rows necessary for the agricultural machinery to pass along. The orientation of tree lines and the spatial distribution

of treatments have been chosen to minimize wind and shelter effects (Figure II.1). To reduce border effects, one border row around each plot was not included in the measurements. In the internal plots, we took into account 732 poplars in monoculture, 697 alders in monoculture, and 440 poplars and 440 alders in the agroforestry and forest mixture. Grass strips of 1 m in overall width were present at the base of the tree lines in agroforestry treatments (0.5 m on each side of the trees). Mechanical and chemical weed control was realized on the tree rows in 2014 and 2015. The plantation was neither watered nor fertilized. No pruning management was performed. In 2019, total tree mortality was 5%, mostly in block 3 where soil was shallower.

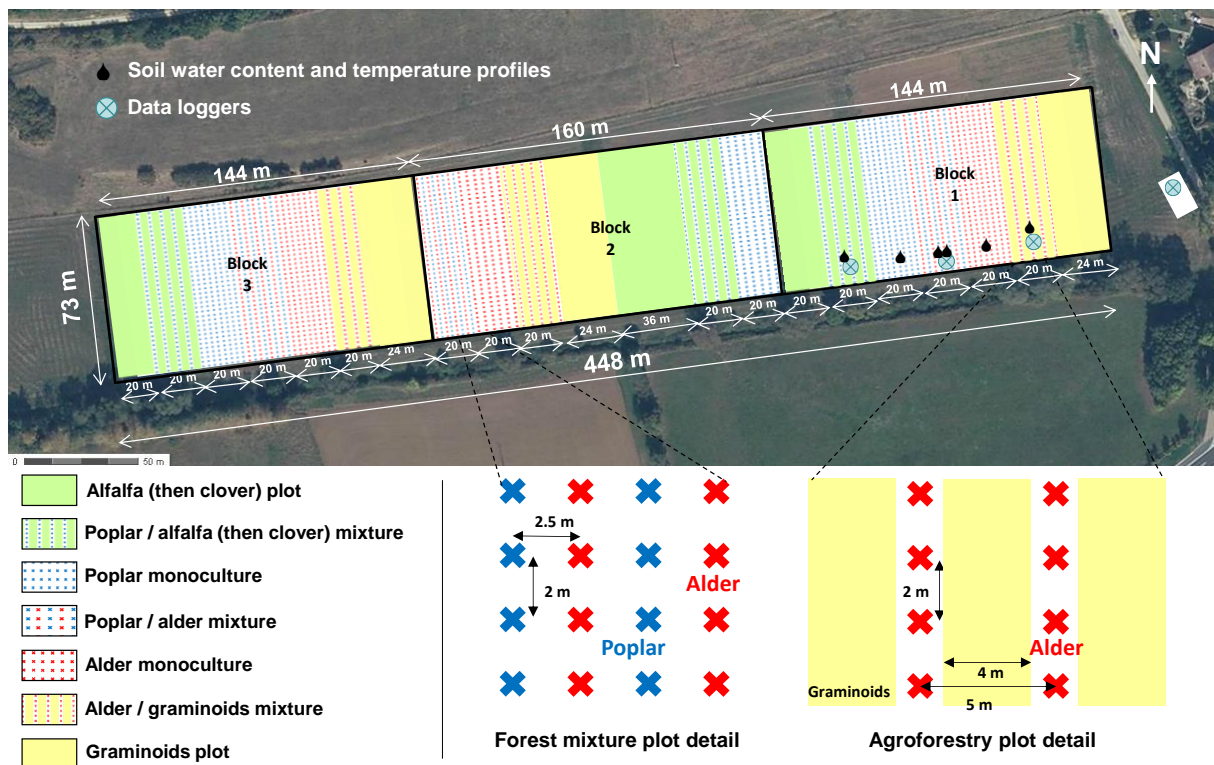


Figure II.1 – Experimental design of the La Bouzule site. Size of the plots and locations of humidity probes and data loggers are indicated. Details of the forest mixture and agroforestry plots are also presented, showing spacing between trees and crops.

2.3 Monitoring of soil and climate conditions

In 2014, initial soil characterization was carried out on soil cores (0-60 cm in depth, diameter of 8 cm) sampled in the central inter-row of each plot (Clivot et al. 2019). On average, soil composition was 60.9 % clay, 34.8 % silt and 4.4 % sand, between 0 and 60 cm in depth. The pH was 7.4 on average and the exchange acidity (Al^{3+} and H^+) was 1. There was some spatial variability over the site in the soil parameters, with increasing pH and carbon content from block 1 to block 3 (Figure II.1), whereas soil depth decreased due to an outcrop

of rocky material (calcareous) near the soil surface in block 3. To monitor soil mineral nitrogen, three soil cores were sampled (0-15 cm in depth, diameter of 8 cm) in the central inter-row of each of the five modalities (i.e. poplar and alder monocultures, poplar and alder agroforestry, forest mixture) in July 2018. The soil mineral nitrogen was extracted with 1M KCl (45 min of agitation at 20°C, 1:4 soil/solution ratio) and filtered on a Whatman 42 paper disc. The mineral nitrogen in the soil extracts was analyzed by continuous flow colorimetry (Skalar analyzer).

Instruments to monitor environmental conditions were set up in the plantation in 2014, and include a rainfall gauge (ARG100, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA) and a thermistor (HMP45C probe, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA). Volumetric soil water content (SWC, %) was monitored hourly with water content reflectometers (CS615, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA) inserted into the soil at an equal distance between two trees in the row at depths of 10, 30 and 80 cm (Figure II.1). Meteorological and SWC data were recorded and stored on data loggers (CR3000, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA).

2.4 Tree dimension measurements

Tree growth was assessed by measuring the stem height and diameter at breast height (DBH) of all the trees at the end of each growing season. In addition, a representative sample of tree height classes was defined in 2015. During growing seasons (April to August), tree growth was monitored every three weeks for 20 poplars and 20 alders in each treatment in the three blocks, for a total of 360 individuals: 20 trees \times 2 species \times 3 blocks \times 3 treatments (monoculture, agroforestry, forest mixture). Height was estimated from the base of the tree to the last bud of the tallest stem with a graduated pole accurate to the nearest centimetre from 2015 on. DBH was measured with a digital caliper to the nearest millimetre from 2017 on.

2.5 Inter- and intra-annual height growth dynamics

In order to visualize inter-annual tree growth dynamics, height growth rate (cm day⁻¹) was calculated for each tree and each year following:

$$HGR (cm day^{-1}) = \frac{H_{final} - H_{initial}}{\Delta_{time}}$$

where

HGR_{inter} is the inter-annual height growth rate,

H_{final} = the last height value of the growing season,

$H_{initial}$ = the first height value of the growing season,

Δ_{time} = the time interval between bud break (beginning of April) and bud set (end of August).

For intra-annual height growth dynamics, height growth rate (cm day^{-1}) was defined as the height difference between two successive measurement dates during the growing season, divided by the time between the two dates:

$$HGR (\text{cm day}^{-1}) = \frac{(H_{n+1} - H_n)}{(T_{n+1} - T_n)}$$

where

HGR_{intra} is the intra-annual height growth rate,

H_n = the height value at time n,

H_{n+1} = the height value at time n+1,

T_n = the date at time n,

T_{n+1} = the date at time n+1.

Only the data for 2018 are presented and discussed for intra-annual dynamics, because 2018 weather conditions were quite specific, the year being warmer than the other years, with less precipitation (Figure II.2) and with a net decrease in SWC during the summer (Figure A1). Growth rate data for the years 2016, 2017 and 2019 are available as supplementary files (Figures A2, A3 and A4).

2.6 Calculation of competition indices

For each tree, the height to DBH (h/d) ratio (m cm^{-1}), which is a measure of tree shape, was calculated and used as an indicator of the level of competition (Forrester et al. 2004; Ghorbani et al. 2018). In the forest plots only (mixture and monocultures), we also used the Hegyi index to evaluate the strength of neighboring competition (Hegyi 1974). This index is typically used to characterize local competition (Vanclay 2006) and was calculated according to Prevosto (2005):

$$IC_i = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n \frac{d_j}{d_i L_{ij}}$$

where

IC_i is the competition index of subject tree i,

d_i = the DBH of subject tree i,

d_j = the DBH of competitor tree j,

L_{ij} = the distance between subject tree i and competitor j,

n = the number of competitors (total = 8 neighboring trees: 2 in the same row and 3 each in the two adjacent rows).

2.7 Estimation of leaf nitrogen

In 2018, ten fully expanded sun-exposed leaves were collected per treatment and per species once a month in June, July and August. The leaves were oven-dried at 60°C for at least 48h, then ground to powder. Nitrogen concentrations (N_{leaf} , mg g⁻¹) were measured with an elemental analyzer (NA-1500, Carlo Erba, Italy) from a sample of 2.0 ± 0.1 mg of dry powder.

2.8 Statistical analyses

Statistical tests were done with the free R software, version 4.0.0 (R Development Core Team 2019). Means were expressed with their standard errors. Statistical tests were considered significant at * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ or *** $P \leq 0.001$.

We used the non-parametric Kruskal Wallis test to assess the effect of the species \times treatment interaction on volumetric soil water content (SWC) at different depths (10 cm, 30 cm, 80 cm) for each year. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), we used the Wilcoxon test for pairwise comparisons.

The effects of species, treatment (three treatments: monoculture, agroforestry, forest mixture), date and their interactions (species \times treatment, species \times date, treatment \times date, species \times treatment \times date) were tested on growth parameters (height, diameter, HGR_{inter} and HGR_{intra}) and on competition indices (Hegyi index, h/d ratio). A mixed-effect model, incorporating both fixed and random effects, was adjusted to the data (*lmer* function of the *lme4* package) with the Maximum Likelihood (ML) method, to test the fixed effects. The model had the following form:

$$\text{Variable} \sim \text{Species} * \text{Treatment} * \text{Year} + (1 | \text{ID})$$

Species, treatment and date were defined as fixed effects; ID, corresponding to each tree measured, was defined as a random effect.

As no date effect on leaf nitrogen contents during the 2018 growing season was recorded, only the following effects were tested with a two-way ANOVA: species, treatment and their interaction. We used the non-parametric Kruskal Wallis test to assess the effect of the modality (five modalities: poplar and alder monocultures, poplar and alder agroforestry, forest mixture) on soil organic nitrogen contents in 2018. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), the Wilcoxon test was used for pairwise comparisons.

3. Results

3.1 Climate variation over time

During growing season (April through August), cumulative rainfall ranging between 197 mm and 413 mm (mean 265 mm) and daily temperatures between 15.2°C and 17.5°C (mean 16.1°C) were recorded at the experimental site. From 2016 to 2019, cumulative rainfall during growing season decreased year after year, with 413 mm in 2016 compared to 197 mm in 2019 (Figure II.2). Year 2018 was the warmest year with an average air temperature of 17.5°C during the April-August period (11.2°C over the whole year). Very little precipitation was recorded in June and July 2018, compared to the other years.

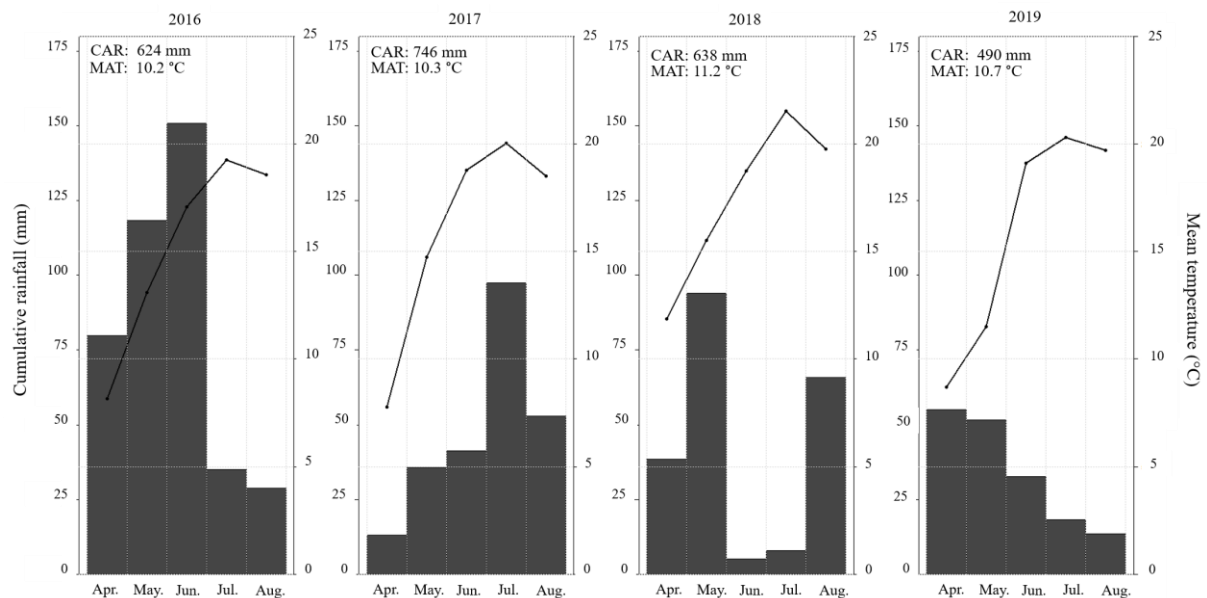


Figure II.2 – Cumulative monthly rainfall (histograms, mm) and mean temperatures (dots, °C) between April 1st and August 31, from 2016 to 2019 at the experimental site. CAR = cumulative annual rainfall (mm); MAT = mean annual temperature (°C).

In 2017, SWC at 10 cm deep was significantly different between species ($P \leq 0.001^{***}$) and treatments ($P \leq 0.001^{***}$) (Table II.1). The soil was moister for poplars in agroforestry and the forest mixture with a SWC of 30.5% and 28.7% (mean values during the growing season), respectively, than for poplars in the monoculture with 20.4%. For alders, soil moisture was 10% higher in the forest mixture than in agroforestry. Soil moisture was also higher in the alder rows (39.3%) than in the poplar rows (28.7%) in the forest mixture. In 2018, although the difference was not significant, the soil was moister for poplars in agroforestry than for poplars in monoculture, with a SWC of 36.5% versus 27.7%,

respectively. In 2017, SWC at 30 cm deep was significantly higher in agroforestry than in forest mixture for poplars (41.2% versus 27.3%) and, for alders, it was significantly higher in agroforestry (38.9%) than in forest mixture and monoculture (24.6% and 25.7%, respectively).

3.2 Soil and leaf nitrogen contents

In July 2018, average $N-NO_3^-$ in the soil was significantly higher in poplar agroforestry than in the other modalities ($P \leq 0.01^{**}$; Table II.2). Average levels of leaf nitrogen (N_{leaf}) were higher for alders than for poplars ($P \leq 0.001^{***}$), except for the poplars in agroforestry. In agroforestry, the poplars also had slightly higher, though non-significant, N_{leaf} values compared to the poplars in the monoculture and in forest mixture (Table II.2).

3.3 Tree dimensions

From 2015 to 2017, poplars were taller in forest plots than in agroforestry and, in 2017, reached a height of 276 cm in monoculture and 250 cm in forest mixture versus 223 cm in agroforestry (Figure II.3). However, the poplars in agroforestry caught up with the poplars in the forest mixture at the end of 2017 and with the poplars in monoculture in 2018. At the end of the 2019 growing season, agroforestry poplars were significantly taller than the poplars in the forest treatments, with 475 cm versus 382 cm in forest mixture and 437 cm in monoculture. At this time, alder heights were not significantly different among treatments (Figure II.3). From 2015, the poplars in the forest treatments were taller than the alders in any treatment (i.e. 158 cm for poplars in monoculture compared to 101 cm for alders in monoculture, in 2015). From 2018, agroforestry poplars were also significantly taller than alders in any treatment (Figure II.3).

A significant treatment \times date effect was recorded for poplars in terms of DBH: while poplars in monoculture had the largest diameter in 2017 and poplars in agroforestry the smallest, by 2019 the latter exhibited a significantly larger diameter than the poplars in the forest plots (Table II.3). At the end of 2019, alder DBH was not significantly different among treatments. Regardless of year and treatment, poplar stems were about 10 to 20 mm larger than alder stems.

Table II.1 – Variations in volumetric soil water content (SWC %) depending on the treatment between 2016 and 2019 at the experimental site. SWC values shown are the mean values during the growing season (April to August). Within columns for each depth, different lowercase letters indicate significant differences between treatments, ns for non-significant. Means \pm standard error.

SWC %		2016		2017		2018		2019	
		Poplar	Alder	Poplar	Alder	Poplar	Alder	Poplar	Alder
10 cm in depth	Agroforestry	37.6 \pm 0.3	38.8 \pm 0.4	30.5 \pm 0.3 ^c	28.7 \pm 0.4 ^{bc}	36.5 \pm 0.5 ^{ab}	31.9 \pm 0.6 ^{ab}	35.3 \pm 0.6	24.8 \pm 0.8
	Forest mixture	38.4 \pm 0.7	43.6 \pm 0.5	28.7 \pm 0.4 ^{bc}	39.3 \pm 0.3 ^d	31.3 \pm 0.7 ^a	42.4 \pm 0.5 ^b	32.7 \pm 0.3	31.6 \pm 0.5
	Monoculture	35.2 \pm 0.6	38.9 \pm 0.6	20.4 \pm 0.3 ^a	36.2 \pm 0.3 ^d	27.7 \pm 0.8 ^a	39.9 \pm 0.6 ^{ab}	28.2 \pm 0.9	26.7 \pm 0.8
		<i>ns, P = 0.06</i>				<i>ns, P = 0.39</i>			
30 cm in depth	Agroforestry	47.4 \pm 0.3 ^{ab}	44.0 \pm 0.1 ^{ab}	41.2 \pm 0.2 ^b	38.9 \pm 0.3 ^b	45.0 \pm 0.3 ^b	34.5 \pm 0.6 ^{ab}	37.1 \pm 0.7	32.0 \pm 0.7
	Forest mixture	36.0 \pm 0.6 ^{ab}	36.1 \pm 0.5 ^a	27.3 \pm 0.4 ^a	25.7 \pm 0.3 ^a	29.9 \pm 0.4 ^a	29.2 \pm 0.7 ^a	35.3 \pm 0.4	28.3 \pm 0.7
	Monoculture	45.1 \pm 0.3 ^b	39.6 \pm 0.5 ^{ab}	38.6 \pm 0.3 ^b	24.6 \pm 0.7 ^a	42.3 \pm 0.4 ^{ab}	32.8 \pm 0.7 ^{ab}	39.4 \pm 0.5	28.8 \pm 0.9
		<i>ns, P = 0.37</i>							
80 cm in depth	Agroforestry	48.4 \pm 0.1 ^c	46.4 \pm 0.0 ^{bc}	42.5 \pm 0.1 ^b	42.8 \pm 0.1 ^b	42.6 \pm 0.2 ^b	44.9 \pm 0.1 ^b	41.8 \pm 0.3 ^{ab}	41.7 \pm 0.2 ^{ab}
	Forest mixture	47.5 \pm 0.1 ^c	45.0 \pm 0.1 ^{bc}	42.6 \pm 0.2 ^b	39.3 \pm 0.2 ^b	45.0 \pm 0.3 ^b	42.4 \pm 0.3 ^b	42.9 \pm 0.3 ^b	40.7 \pm 0.3 ^{ab}
	Monoculture	40.7 \pm 0.1 ^a	39.7 \pm 0.1 ^a	35.5 \pm 0.3 ^a	36.2 \pm 0.2 ^a	37.4 \pm 0.2 ^a	37.9 \pm 0.2 ^a	36.0 \pm 0.3 ^a	36.6 \pm 0.5 ^{ab}

Table II.2 – A) Soil organic nitrogen content ($N\text{-NO}_3^-$) in the upper 15 cm of the soil in the central inter-row, depending on the modality (5 modalities: poplar/alder agroforestry, poplar/alder monoculture, forest mixture) in 2018. Different letters indicate significant differences between modalities. Means \pm standard errors; $n=9$. B) Leaf nitrogen content (N_{leaf}) for poplar and alder depending on the treatment (3 treatments: agroforestry, forest mixture, monocultures) in 2018. Different letters indicate significant differences between species and treatment. Means \pm standard error; $n=30$.

A		
Modality		$N\text{-NO}_3^-$ (mg kg^{-1} soil)
Poplar agroforestry		28.7 ± 4.34 c
Poplar monoculture		3.91 ± 0.37 a
Forest mixture		5.53 ± 0.91 ab
Alder agroforestry		6.89 ± 0.80 b
Alder monoculture		4.94 ± 0.46 ab
B		
Species	Treatment	N_{leaf} (mg g^{-1} leaf)
Poplar	Agroforestry	19.3 ± 1.5 ab
	Forest mixture	16.5 ± 2.4 a
	Monoculture	17.4 ± 1.9 a
Alder	Agroforestry	26.7 ± 1.6 c
	Forest mixture	25.4 ± 1.5 bc
	Monoculture	25.8 ± 2.2 bc

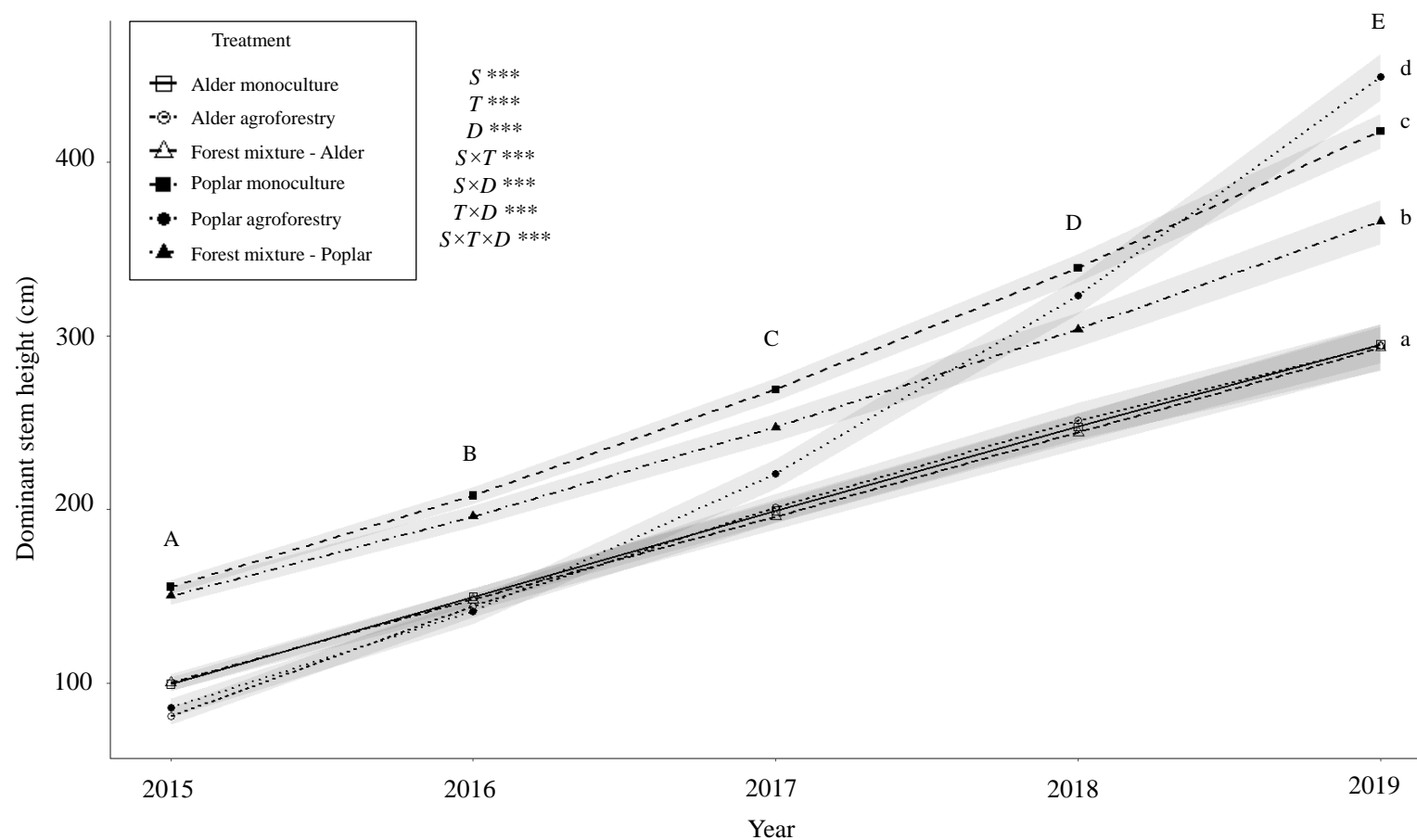


Figure II.3 – Inter-annual dynamics of stem heights (in cm) of poplars and alders in monocultures, forest mixture and agroforestry between 2015 and 2019. The shaded areas show the 95% confidence intervals. Different uppercase letters indicate significant differences between dates; different lowercase letters indicate significant differences between treatments at the end of the experiment. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.

Table II.3 – Diameter at breast height (DBH in mm, means \pm standard errors) for poplar and alder depending on the treatment at the end of each growing season (2017 to 2019). Different uppercase letters indicate significant differences between dates; within each column, different lowercase letters indicate significant differences between treatments. For each effect (*D*, date; *S*, species, *T*, treatment) and their interactions (*S* \times *T*, *T* \times *D*, *S* \times *D*, *S* \times *T* \times *D*), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.

Trait	Species	Treatment	2017		2018		2019		C
			Mean \pm SE	Variation	Mean \pm SE	Variation	Mean \pm SE	Variation	
DBH (mm)	Poplar	Agroforestry	15 \pm 0.6	b	27 \pm 0.9	c	46 \pm 1.4	d	
		Forest mixture	19 \pm 0.5	c	24 \pm 0.7	b	33 \pm 0.9	b	
		Monoculture	21 \pm 0.5	c	27 \pm 0.6	c	37 \pm 0.9	c	
	Alder	Agroforestry	11 \pm 0.3	a	19 \pm 0.4	a	24 \pm 0.5	a	S^{***}
		Forest mixture	11 \pm 0.3	a	17 \pm 0.4	a	22 \pm 0.5	a	T^{***} D^{***}
		Monoculture	11 \pm 0.2	a	17 \pm 0.3	a	22 \pm 0.3	a	$S \times T^*$ $T \times D^{***}$ $S \times D^{***}$ $S \times T \times D^{***}$

3.4 Growth dynamics

3.4.1 Inter-annual growth dynamics

For poplars, a significant treatment effect on height growth rates was found each year, except in 2016 (Figure II.4). In 2015, poplars had slower growth in agroforestry plots than in forest mixture: 0.3 cm day⁻¹ and 0.4 cm day⁻¹, respectively ($P \leq 0.05^*$). Inversely, in 2017, the agroforestry poplars were the ones with the highest growth rate: 0.5 cm day⁻¹ for agroforestry vs. 0.3 cm day⁻¹ for forest mixture ($P \leq 0.001^{***}$). In 2018, agroforestry poplars had a height growth rate almost twice as high as the poplars in the forest mixture and in monoculture, with an average height increase of 0.8 cm per day versus 0.4 cm per day and 0.5 cm per day for forest mixture and monoculture, respectively ($P \leq 0.001^{***}$). In 2019, the same trend as in 2018 was found between agroforestry (0.8 cm day⁻¹) and forest mixture (0.4 cm day⁻¹; $P \leq 0.05$), but there was no longer a significant difference between agroforestry and monoculture (0.6 cm day⁻¹). For alders, there was a significant treatment effect in 2016 ($P \leq 0.001^{***}$) and in 2017 ($P \leq 0.01^{**}$): agroforestry alders had a height growth rate higher than the alders in forest treatments. A significant date effect was also found for both poplars and alders: for poplars, height growth rates were lower in 2015 and 2017 than in the other years ($P \leq 0.001^{***}$); for alders, height growth rates were lower in odd years than in even years ($P \leq 0.05^*$).

3.4.2 Intra-annual growth dynamics

For each species and in each treatment, average growth in height per day was the fastest at the beginning of June with between 1.3 cm (the lowest value observed for poplars in agroforestry and in monoculture) and 2 cm (the highest value observed for agroforestry alders). A species effect was also observed in early June: alders in forest mixture had significantly higher height growth rates ($P \leq 0.05^*$) than did poplars in the same treatment (1.75 cm day⁻¹ versus 1.4 cm day⁻¹ on average, respectively).

During summer, there was a significant species \times treatment effect on HGR_{intra} only in 2018 (Table A1). In July and August, agroforestry poplars exhibited a higher height growth rate than did the poplars in monoculture and forest mixture ($P \leq 0.001^{***}$, Figure II.5, Table A1). Indeed, in July, poplar growth in agroforestry was between three and five times higher than for poplars in monoculture and forest mixture, respectively. In August, poplar growth in the forest plots nearly stopped while the agroforestry poplars continued to gain 0.4 cm per day on average. For alders, there was no significant treatment effect on height growth rates in 2018: the alders in each treatment followed the same dynamics, i.e. a peak in growth in early

June followed by a gradually decreasing rate. In September, poplar and alder height growth stopped in all treatments.

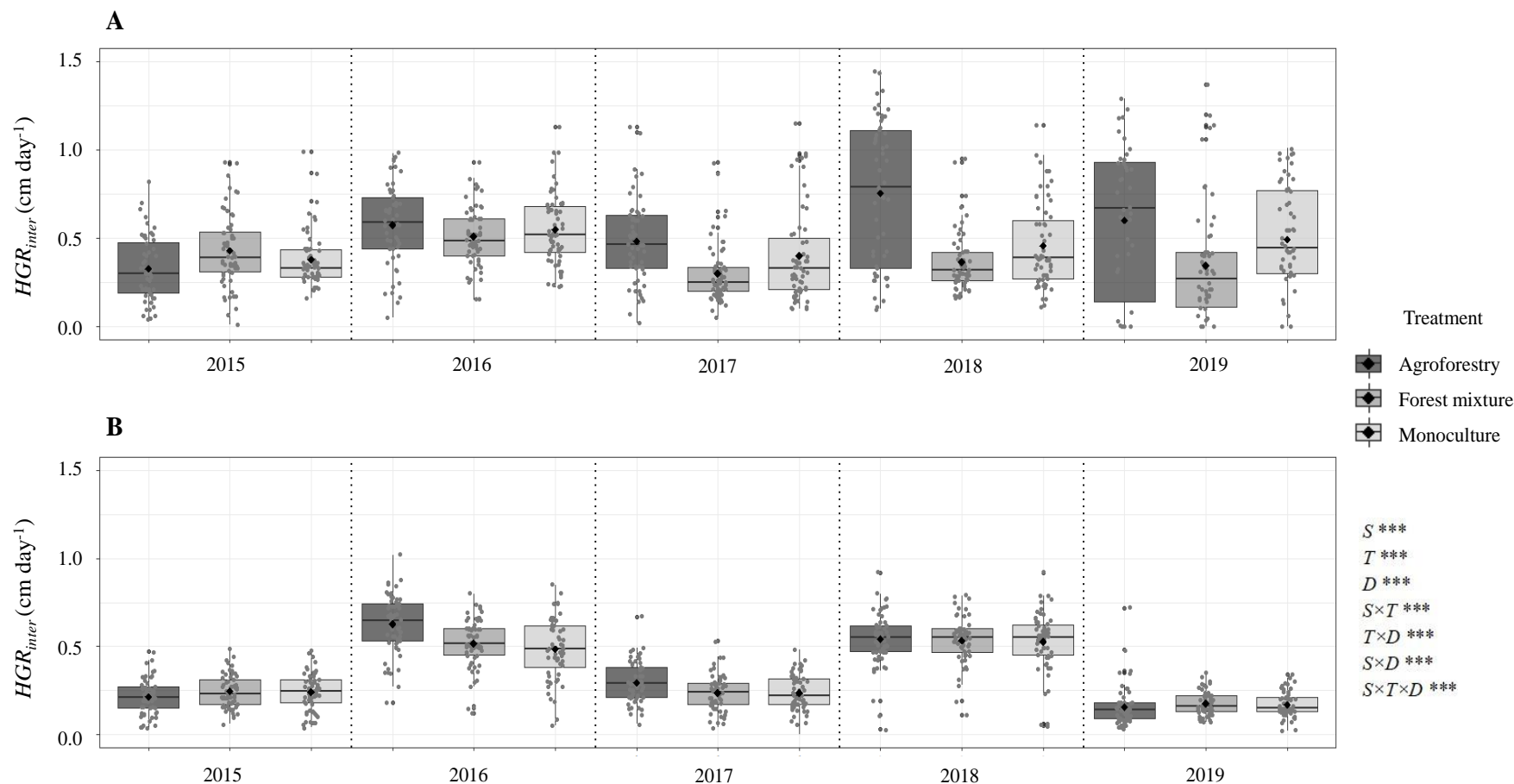


Figure II.4 – Annual-based height growth rates (HGR_{inter} , $cm\ day^{-1}$) for poplar (A) and alder (B) since 2015 in agroforestry, forest mixture and monocultures ($n=60$). Different letters indicate significant differences between treatments for each growing season (April to August). For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions (S×T, T×D, S×D, S×T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.

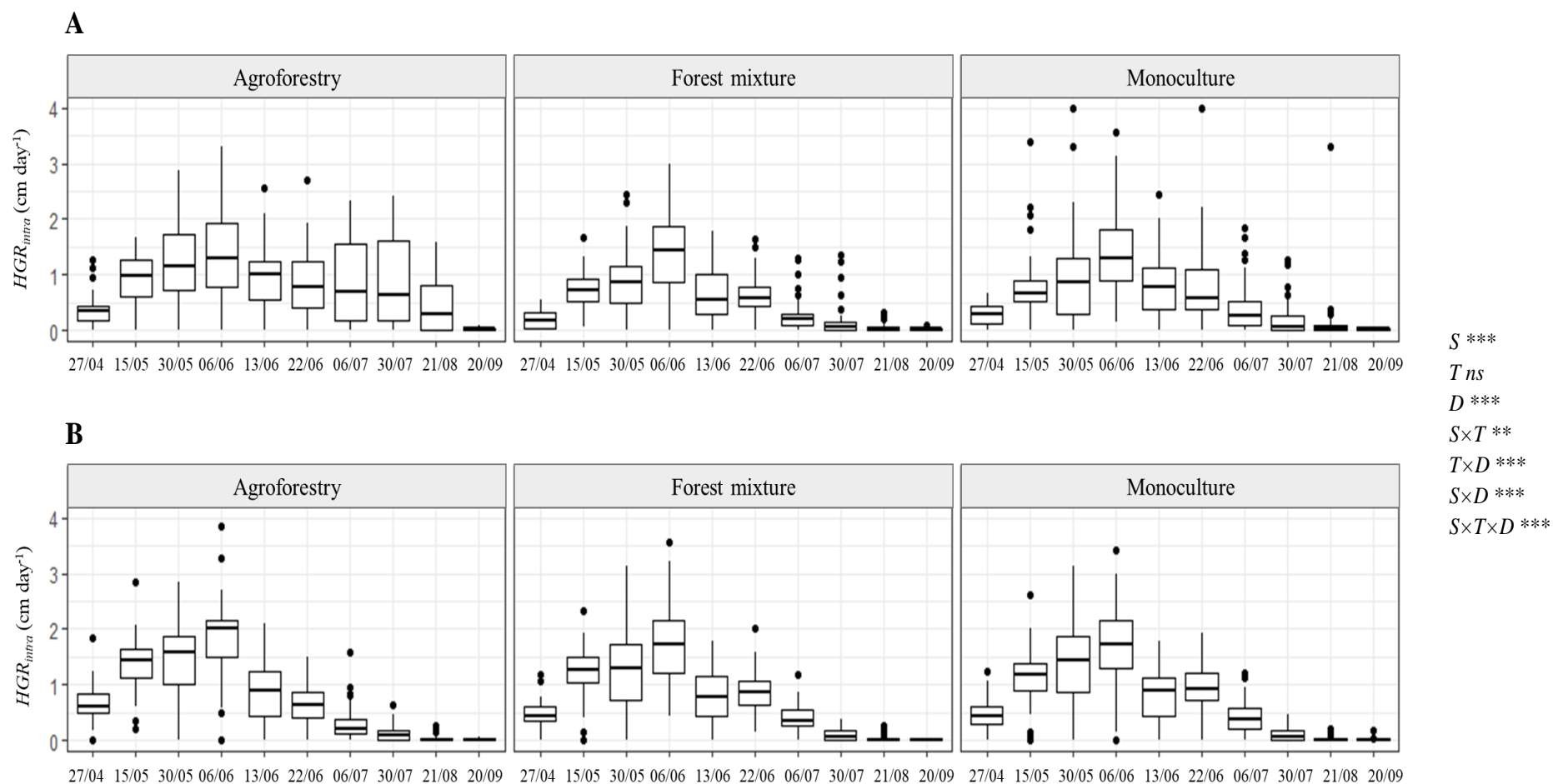


Figure II.5 – Intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , $cm\ day^{-1}$) for poplar (A) and alder (B) in monocultures, forest mixture and agroforestry between April and August 2018 ($n=60$). For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions ($S \times T$, $T \times D$, $S \times D$, $S \times T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Dots are outliers.

3.5 Intra- and inter-specific competition

3.5.1 Hegyi index

Irrespective of the year, there was a significant species \times treatment effect with a significantly higher Hegyi index for poplars in monoculture and alders in forest mixture than for poplars in forest mixture and alders in monoculture (4.57 and 5.72 versus 4.05 and 4.21, respectively, in 2017; Figure II.6). A significant date effect was also found. For alders, the gap between monoculture and forest mixture was more pronounced in 2019 than in 2017 and 2018, with a significant increase in the Hegyi index in forest mixture (5.95 in 2019 versus 5.72 in 2017 and 5.61 in 2018). For poplars, the contrary was observed (although the trend was non-significant): the gap between monoculture and forest mixture was less pronounced than in 2017 and 2018, with a decreasing index in the monoculture (4.82 in 2019 versus 5.57 in 2017).

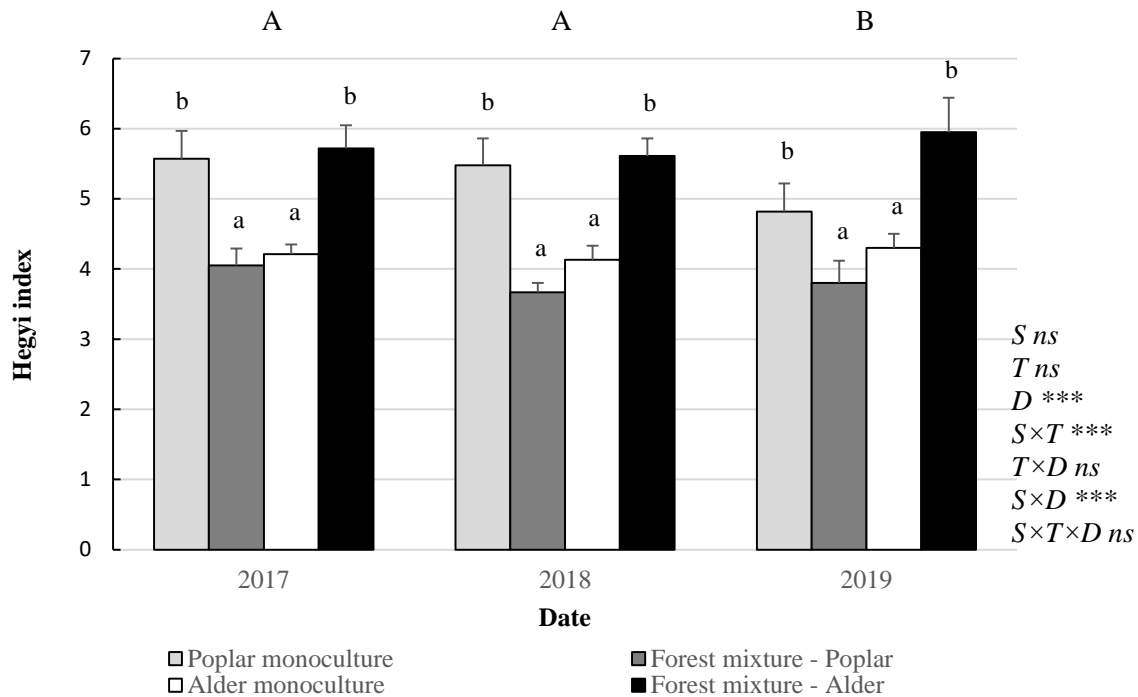


Figure II.6 – Hegyi index for diameter for poplar and alder in monocultures and forest mixture in 2017, 2018 and 2019. Different uppercase letters indicate a significant difference between dates; for each date, different lowercase letters indicate significant differences for the $S \times T$ interaction. For each effect (D , date; S , species, T , treatment) and their interactions ($S \times T$, $T \times D$, $S \times D$, $S \times T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05$ *, $P \leq 0.01$ **, $P \leq 0.001$ ***, ns for non-significant.

3.5.2 Height to DBH (h/d) ratio

There was a significant date effect irrespective of treatment and species, with h/d decreasing over time (Table II.4). Each year, the species \times treatment interaction was

significant. In 2017, there was a higher h/d ratio for poplars in agroforestry than for poplars in monoculture and forest mixture; alders in all treatments also had a higher h/d ratio than poplars in monoculture and forest mixture (Table II.4). From 2018, there was a clear decrease in h/d for both poplars and alders in agroforestry. In 2019, agroforestry poplars showed a lower ratio than monoculture poplars with a value of 1.25 m cm^{-1} versus 1.53 m cm^{-1} , respectively. Agroforestry alders had a lower h/d than alders in forest mixture with a value of 1.36 m cm^{-1} versus 1.58 m cm^{-1} , respectively. The h/d was lower for poplars than for alders in forest mixture (1.41 m cm^{-1} vs. 1.58 m cm^{-1}).

Table II.4 – Height to DBH ratio (h/d , m cm^{-1}) for poplar and alder in monocultures, forest mixture and agroforestry at the end of each growing season (2017 to 2019) (means \pm standard errors). Different uppercase letters indicate significant difference between dates; within each column, different lowercase letters indicate significant differences between treatments. For each effect (D, date; S, species, T, treatment) and their interactions ($S \times T$, $T \times D$, $S \times D$, $S \times T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant.

Trait	Species	Treatment	2017		2018		2019		
			Mean \pm SE	Variation	Mean \pm SE	Variation	Mean \pm SE	Variation	
h/d (m cm^{-1})	Poplar	Agroforestry	2.09 \pm 0.05	b	1.66 \pm 0.04	a	1.25 \pm 0.03	ab	
		Forest mixture	1.83 \pm 0.04	a	1.68 \pm 0.04	a	1.41 \pm 0.03	bc	
		Monoculture	1.75 \pm 0.03	a	1.67 \pm 0.03	a	1.53 \pm 0.04	cd	
	Alder	Agroforestry	2.16 \pm 0.05	b	1.61 \pm 0.03	a	1.36 \pm 0.03	ab	S^{***}
		Forest mixture	2.20 \pm 0.06	b	1.89 \pm 0.05	b	1.58 \pm 0.03	d	T ns
		Monoculture	2.19 \pm 0.04	b	1.79 \pm 0.03	ab	1.49 \pm 0.02	bd	D ***

$S \times T^*$
 $T \times D^{***}$
 $S \times D^{***}$
 $S \times T \times D^{***}$

4. Discussion

We investigated how the performance of fast-growing trees, i.e. poplar and alder, in monocultures is affected when the species are associated in mixed stands and when they are associated with herbaceous species (with an alfalfa-clover succession for poplar and with graminoids for alder). In particular, we present six years of growth monitoring of a large number of trees. Our main hypothesis was that interspecific competition in mixture plots (both mixed forest stands and tree-crop mixtures) would be less strong than intra-specific competition in tree monocultures, due to ecological niche sharing between species and/or facilitation processes caused by the presence of N₂-fixing species (alfalfa, clover, alder) in the mixtures. We therefore expected that the trees would grow faster and be larger and taller in mixtures than in monocultures.

4.1 Climate conditions

The weather conditions measured from 2016 to 2019 were contrasted among years. Conditions were particularly dry during the 2018 growing season with a drastic decline in precipitation during precisely those months where tree growth is usually high (June-July). Moreover, both mean annual temperature and April-August temperatures were, on average, higher in 2018 than in the other years. This resulted in a marked decrease in SWC in July and August 2018: in August, at 10 cm in depth, the minimum value was measured for poplars in monoculture with a SWC of 15% and the maximum value was recorded for poplars in agroforestry with a SWC of 28%, corresponding respectively to 41% and 77% of field capacity (Figure A1).

4.2 Trends over time

4.2.1 Agroforestry vs. monoculture

Shortly after planting, the agroforestry poplars exhibited a delayed growth rate compared to the poplars in the monoculture and forest mixture. This may be due to belowground competition between the poplars and the alfalfa immediately after planting. Indeed, crops can reduce the nutrient and water available to trees, thereby reducing their growth (Burgess et al. 2005); this is especially true for legumes such as alfalfa, which can have deep, competitive roots like trees (Dawson et al. 2001). Similar results were highlighted

by Gakis et al. (2004), who showed that trees (*Acer pseudoplatanus* and *Pinus sylvestris*) associated with legumes (*Trifolium repens*) had a lower height and a smaller stem diameter than in monoculture. Moreover, Powell and Bork (2004) showed that the height and diameter of poplars (*Populus tremuloides*) were reduced by 30% when they were associated with alfalfa (*Medicago sativa*) during the early stages of development. In our study, alfalfa was replaced by clover during the fifth growing season (2018). At this stage, the trees were well established and the belowground competition with the crop was probably less strong. Indeed, in 2019, the agroforestry poplars had an average height and diameter greater than the poplars in the monoculture. Moreover, from 2018 on, the height growth rate of the agroforestry poplars was consistently higher than for the monoculture poplars.

After six years of growth, the monoculture poplars exhibited a higher h/d ratio than did the agroforestry poplars. This result suggests that the intra-specific competition in the monocultures was more intense than the interspecific competition faced by the trees in agroforestry. Our results are in line with those of Rivest on *Populus spp.* for intercropping with soybean (*Glycine max*) and cereals (Rivest et al. 2009). In the latter study, shortly after planting, the intercrop was not beneficial to poplar growth, but after four years, DBH and stem height were higher in agroforestry than in the monoculture. The authors argued that these results were mainly due to the effect of intercrop fertilization applied during their study. At our experimental site, the crops were not fertilized but the alfalfa and then the clover, which are both N_2 -fixing species, may have had a positive effect on poplar growth. Indeed, the diameter increment of the poplars in the agroforestry treatment was approximately 15 mm per year between 2017 and 2019, vs. 8 mm in the monoculture. Similarly, Taghiyari and Efhami (2011) showed a positive effect on the diameter increment of *Populus nigra* in mixtures with alfalfa, with an average annual increment of 13.8 mm over ten growing seasons vs. 12.2 mm without alfalfa. Recently, Shults et al. (2020) also showed an increase in soil $N-NO_3^-$ ranging between 150 and 220% in a poplar (*Populus nigra* \times *P. maximowiczii*) short rotation plantation intercropped with clover (*Trifolium pretense*) compared to a bare-soil control; this increase caused a 25% increase in poplar leaf nitrogen concentrations, but poplar productivity was not significantly increased within two years. In our study, soil mineral nitrogen ($N-NO_3^-$) content was more than five times higher in agroforestry than in the monocultures five years after planting. This is likely due to the symbiotic fixation of atmospheric dinitrogen by the alfalfa and the clover but also due to increased nitrogen availability through root deposition. Many studies have shown that alfalfa has very high N_2

fixation rates (Burity et al. 1989; Russelle and Birr 2004) and that legumes release nitrogen rhizodeposits with a low C/N ratio that are assumed to represent a significant return of nitrogen to the soil (Mayer et al. 2004). Excess soil nitrogen may therefore have benefited the trees, as evidenced by the slightly higher leaf nitrogen content in the agroforestry poplars. This result could be evidence of a facilitation process (Powell and Bork 2004). Moreover, the different tree planting density in the agroforestry treatment, where every second row of trees was replaced by the crop, probably reduced the competition for light among the trees. Indeed, as the spacing between trees increases, the competition for light decreases (Benomar et al. 2013). The predominant interaction in agroforestry therefore seems to shift from competition, during the first years after planting, to a combination of reduced competition and facilitation.

In agroforestry, poplar growth did not seem to be affected by the dry and warm summer in 2018. Indeed, height growth rates remained high during the summer months, compared to monoculture where growth nearly stopped as of July. Overall, soil water content was the highest in the agroforestry treatment and the lowest in the monoculture. In our study, at 10 cm in depth, the SWC was between 7% and 12% higher in agroforestry than in forest treatments (both in monoculture and mixed stands) for the dry period in 2018 (July-August). This is consistent with Powell and Bork's (2004) findings; they showed that alfalfa can facilitate soil moisture retention. A dense herbaceous cover (as alfalfa provides) limits evaporation from the top soil by reducing the exposure of the soil to wind and sun (Powell and Bork 2004). Moreover, poplar and the crop (alfalfa – clover) may have different spatial distributions of their root system, thus reducing the competition for soil water. This was shown by Thevathasan and Gordon (1995) for a poplar/barley mixture (*Populus spp.* and *Hordeum vulgare*) where the barley roots were mostly confined in the top 10 cm of the soil while the poplar roots were deeper. This could be another positive effect of agroforestry on poplar growth, once the dominant effect of the crop on water competition with tree roots in the first few years is passed.

4.2.2 Forest mixture vs. monoculture

At the end of the experiment, the poplars in the forest mixture were shorter and narrower than the poplars in the monoculture. A recent meta-analysis has shown that mixed-tree plantations including a N₂-fixing species like alder were globally more productive than the corresponding monocultures of the non-fixing species (Marron and Epron 2019), and that this effect was more pronounced on poor soils (Binkley 1983). Despite this general trend, the

meta-analysis also inventoried studies where mixture plantations were less productive than monocultures (e.g. Marron et al. 2018a), as is the case in the present study. Indeed, the mean diameter we recorded in our study was significantly lower for poplars in forest mixture than in monoculture. The soil nitrogen content was slightly, but not significantly, higher in alder monoculture and in forest mixture compared to poplar monoculture, suggesting that symbiotic fixation by alders did occur but had no significant effect on the growth of the non-fixing species, at least during the time span of our study. Teissier du Cros et al. (1984) also showed that, a few years after planting, nitrogen fixation by alder (*Alnus glutinosa*) was not yet sufficient to benefit poplar (*Populus trichocarpa* × *deltoides*) growth, at stand level.

We found no significant treatment effect on tree height or DBH for alders. According to Piotto's meta-analysis (2008), forest mixtures have little or no effect on tree height growth rates at stand level, but generally do have a positive effect on stem diameter increment. However, in mixtures including N₂-fixing species, the diameter of the fixing species was negatively affected. Sayyad et al. (2006) showed similar results in a poplar/alder mixture (*Populus deltoides* and *Alnus subcordata*) where alder diameter was significantly higher in monocultures than in association with poplars. In this association, poplar growth only benefited from the presence of the other species. In our study, the absence of effect on alder may be due to the fact that, as alder growth is slower than poplar growth, it was simply too soon to observe interaction effects. Poplars were significantly taller than alders in forest mixture, i.e. slightly less than one and a half times taller. Moreover, from 2015 to 2018, alders had an average height growth rate of 54 cm per year while for poplars, the average rate was 75 cm per year. Our results are in agreement with Côté and Camiré (1987), who showed that poplars (*Populus nigra* × *Populus trichocarpa*) were between one and a half and two times taller than alders (*Alnus glutinosa*) in forest mixture. We suppose that these size differences between species creates a stratification of their canopies in the mixture, thus bringing about a reduction in competition for light. A study of competition indices supports this theory. Based on the Hegyi index for poplars, it appeared that the intra-specific competition in the monocultures was higher than the interspecific competition in the forest mixture, in agreement with the trend observed for the *h/d* ratio. According to Vanclay (2006), a high Hegyi index means that the subject tree has more and/or larger neighbors, resulting in a decrease in the growth of the subject tree. In our study, with similar tree densities in all the forest plots, a high Hegyi index therefore means that the subject tree has larger neighbors. In forest mixture, the lower Hegyi index (reduced competition) for poplars compared to their

monoculture may indicate that canopy stratification reduced the competition for light (Ghorbani et al. 2018). According to Forrester et al. (2004), canopy stratification is a factor to consider as long as there is a significant difference in height between the species in the same treatment, which is what we observed in our study. Furthermore, considering that the individuals of a given tree species have similar ecological requirements and therefore more potential niche overlap than individuals from different species (Yang et al. 2019), we assume that poplars probably competed for the same resources, and this may explain why the Hegyi index of poplar was higher in the monoculture. For alders, on the contrary, intra-specific competition was less strong than interspecific competition. We assume that, because poplars were taller and the forest cover was gradually starting to close, the alders suffered from poplar competition for light and allocated more carbon to height than to diameter (Benomar et al. 2013). In other words, the alders sought light by favoring growth in height in the forest mixture, whereas in alder monoculture, the canopy had not yet started to close.

It is supposed that the stratification of the canopy and the root systems in mixed plantations allows the trees to more efficiently capture light (Kelty 1992), water (Bai et al. 2016; Battipaglia et al. 2017), and nutrient resources (Binkley et al. 1992). However, at 30 cm in depth, the soil water content was the lowest in the forest mixture, irrespective of the year. The roots of the poplars and alders may have overlapped and been competing for water. Indeed, poplars in general (*Populus spp.*) are highly competitive at this depth, compared to other species (e.g. *Juglans nigra* and *Quercus rubra*), due to their high concentration of fine and coarse roots (Borden et al. 2017). In our study, reduced competition could have occurred aboveground, thus improving light capture in the mixture, at least for poplar, but belowground, competition for the water resource could have remained strong, thus resulting in lower tree performances in terms of growth in the forest mixture compared to the monocultures of the two species.

5. Conclusion

After six years of growth, positive interactions seem to be at play in the poplar/legume association, in agreement with our main hypothesis. Our results show that intercrops with N₂-fixing species can significantly improve poplar growth. However, careful weeding of tree rows during the first years after planting is necessary in order to control the strong interspecific competition between the trees and the herbaceous species. On the other hand, in the poplar / alder association, poplar growth was negatively affected compared to its monoculture, despite a stratification of the canopy suggesting aboveground niche sharing. This negative effect could be due to a stronger competition for soil water between species than in the monoculture, and to the fact that nitrogen fixation by the alder was not yet sufficient to benefit the poplars. Alder growth did not appear to be affected by the different kinds of mixtures, suggesting that alder is not limited by soil resources and/or the experiment ended too soon to observe interaction effects for this species.

Acknowledgements

The UMR Silva and the experimental site are supported by the French National Research Agency through the Cluster of Excellence ARBRE (ANR-11-LABX-0002-01). The experiment was part of the SOERE F-ORE-T network supported by GIP ECOFOR, AllEnvi and AnaEE France. We thank the Ferme Expérimentale de la Bouzule (Université de Lorraine) for the management of the agricultural component. Leaf nitrogen analyses were done at the SILVATECH platform (Silvatech, INRAE, 2018. Structural and functional analysis of tree and wood Facility, doi: 10.15454/1.5572400113627854E12) at INRAE Grand-Est - Nancy. We also thank Philippe Santenoise for his help with statistical analyses and Victoria Moore for her careful correction of the manuscript. We are also grateful to all the colleagues and students who helped us maintain the experimental site and who participated in field and lab work.

Supplementary data

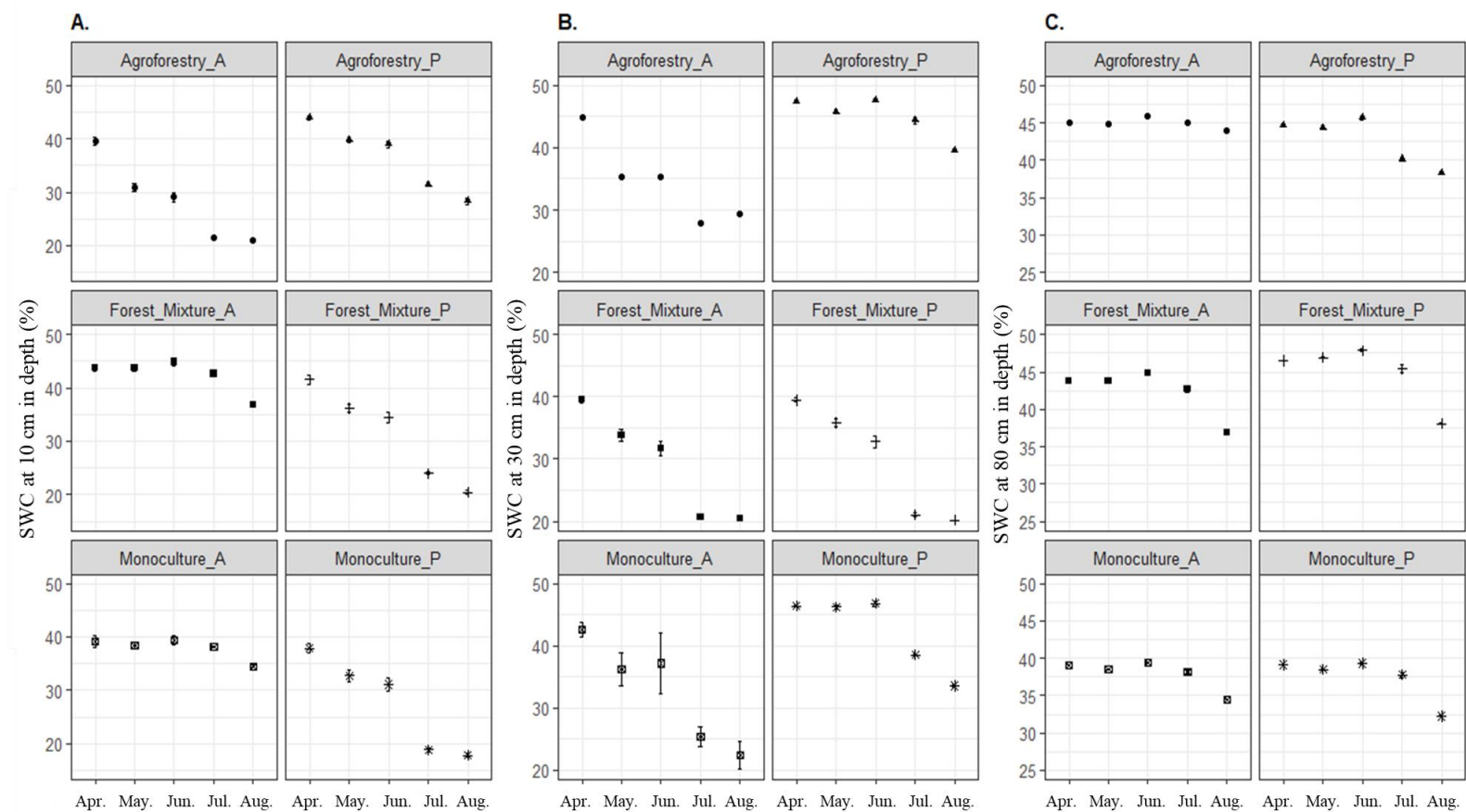


Figure A1 – Time course of soil water content (SWC, %) at the experimental site between April and August 2018 at 10 cm (A), 30 cm (B) and 80 cm (C) in depth, depending on the treatment and species (P, poplar/A, alder). SWC values shown are the mean value for each month. Means \pm standard errors.

Table A1 – Intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , $cm\ day^{-1}$) for poplar and alder in monocultures, forest mixture and agroforestry between April and August 2018 ($n=60$). Different letters indicate significant differences between species and treatments for each month. The effects of species (S), treatment (T) and their interaction ($S\times T$) are indicated for $P\leq 0.05^*$, $P\leq 0.01^{**}$, and $P\leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Means \pm standard error.

HGR_{intra} ($cm\ day^{-1}$)		2018				
		Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.
Poplar	Agroforestry	0.31 \pm 0.03 ^a	1.01 \pm 0.15 ^a	1.09 \pm 0.09 ^{ab}	0.86 \pm 0.10 ^b	0.43 \pm 0.06 ^b
	Forest mixture	0.18 \pm 0.04 ^a	1.10 \pm 0.46 ^a	0.70 \pm 0.42 ^a	0.18 \pm 0.04 ^a	0.02 \pm 0.01 ^a
	Monoculture	0.27 \pm 0.03 ^a	0.86 \pm 0.22 ^a	0.99 \pm 0.10 ^{ab}	0.24 \pm 0.08 ^a	0.08 \pm 0.06 ^a
Alder	Agroforestry	0.62 \pm 0.05 ^c	1.37 \pm 0.10 ^a	1.14 \pm 0.13 ^{ab}	0.18 \pm 0.03 ^a	0.00 \pm 0.01 ^a
	Forest mixture	0.47 \pm 0.03 ^b	0.97 \pm 0.41 ^a	1.32 \pm 0.32 ^b	0.27 \pm 0.06 ^a	0.00 \pm 0.06 ^a
	Monoculture	0.46 \pm 0.03 ^b	1.31 \pm 0.21 ^a	1.12 \pm 0.09 ^{ab}	0.24 \pm 0.03 ^a	0.00 \pm 0.10 ^a
		S ***	S ns	S ns	S ***	S ***
		T ***	T ns	T *	T ***	T ***
		$S\times T$ ns	$S\times T$ ns	$S\times T$ ns	$S\times T$ ***	$S\times T$ ***

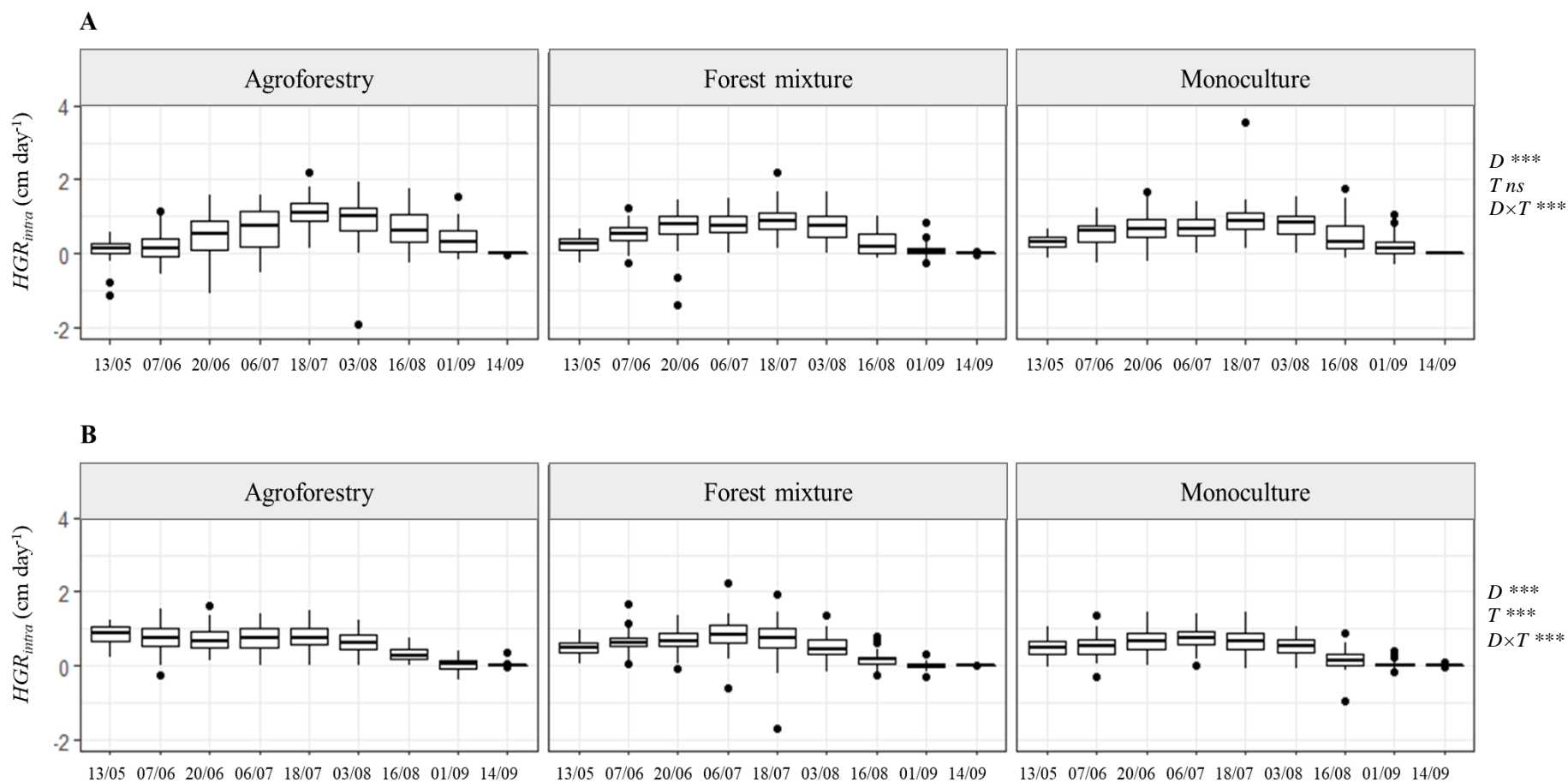


Figure A2 – Time course of intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , cm day⁻¹) for poplar (A) and alder (B) in monocultures, forest mixture and agroforestry between April and August 2016 (n=60). The effects of date (D), treatment (T) and their interaction (D×T) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Dots are outliers.

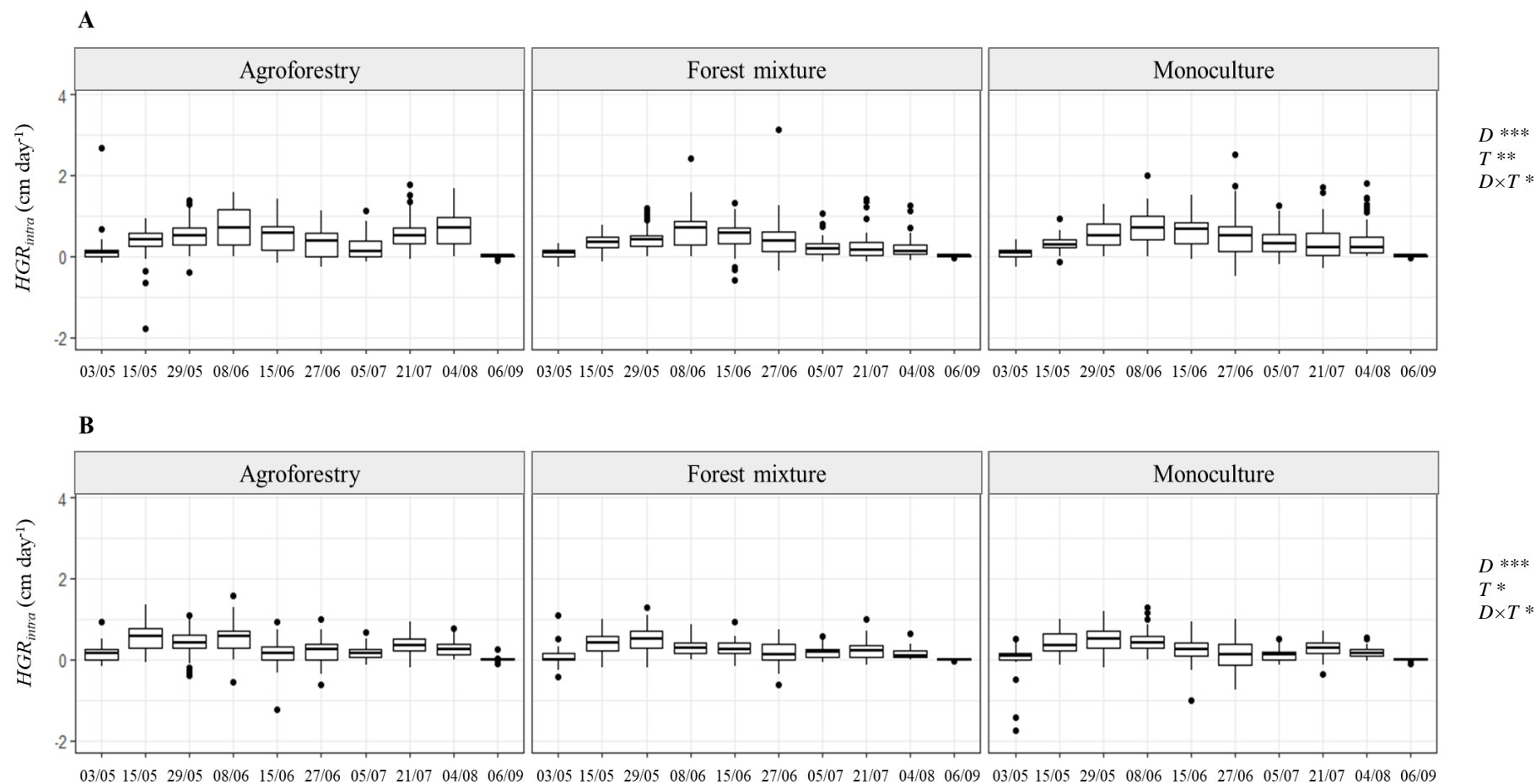


Figure A3 – Time course of intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , $cm\ day^{-1}$) for poplar (A) and alder (B) in monocultures, forest mixture and agroforestry between April and August 2017 ($n=60$). The effects of date (D), treatment (T) and their interaction ($D \times T$) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Dots are outliers.

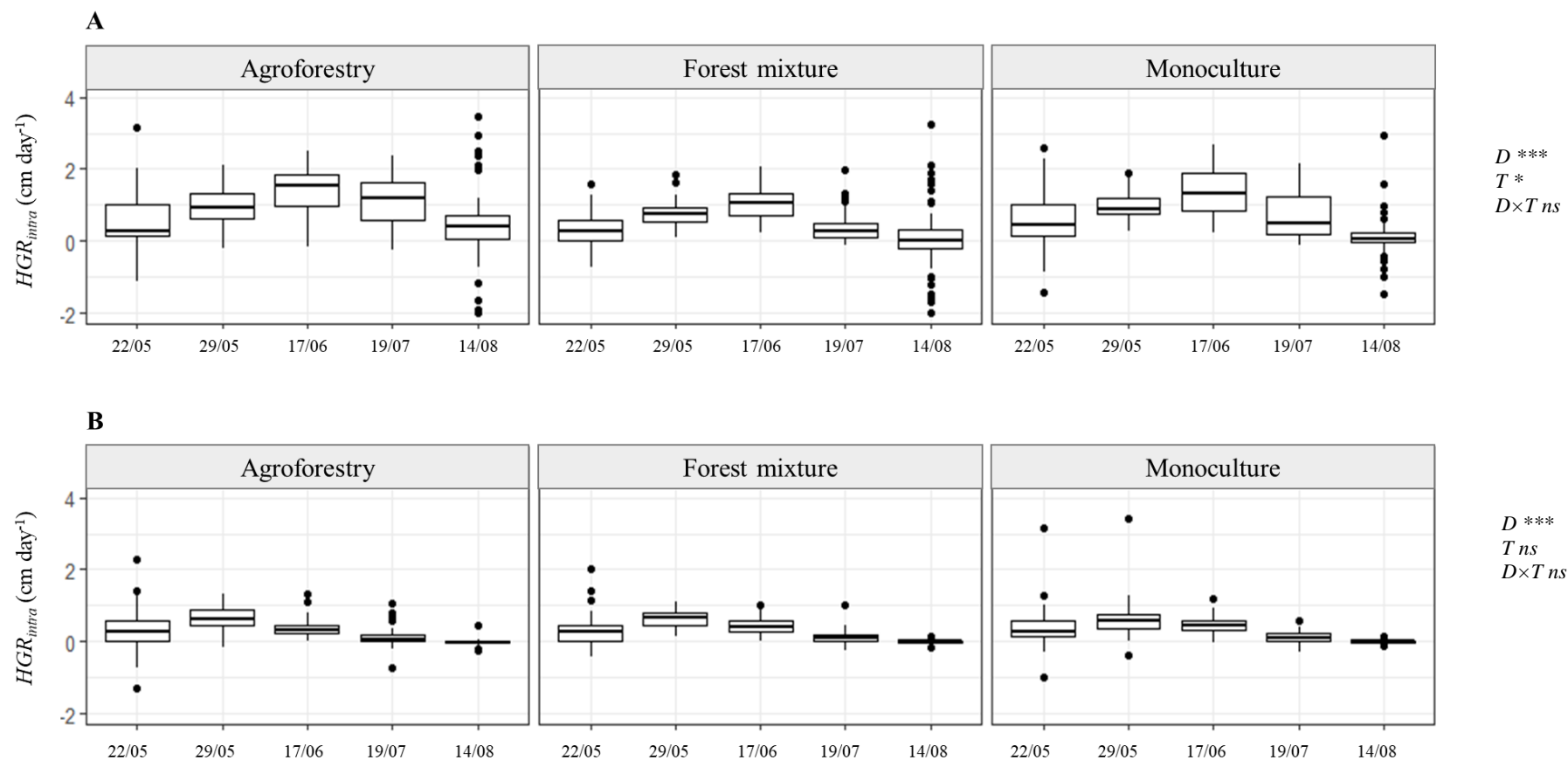


Figure A4 – Time course of intra-annual height growth rates (HGR_{intra} , cm day⁻¹) for poplar (A) and alder (B) in monoculture, forest mixture and agroforestry between April and August 2019 (n=60). The effects of date (D), treatment (T) and their interaction (D×T) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, and $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Dots are outliers.

A retenir (Figure II.7)

- Une culture intercalaire telle que la luzerne peut améliorer la croissance des peupliers ;
- La concurrence pour la lumière et les ressources souterraines (eau, nutriments) semble plus faible pour les peupliers en mélange que pour ceux en monoculture ;
- Les taux de croissance du peuplier étaient plus élevés en agroforesterie que dans les parcelles forestières ;
- La croissance des aulnes n'a pas été affectée par la présence d'une seconde espèce dans chaque mélange.

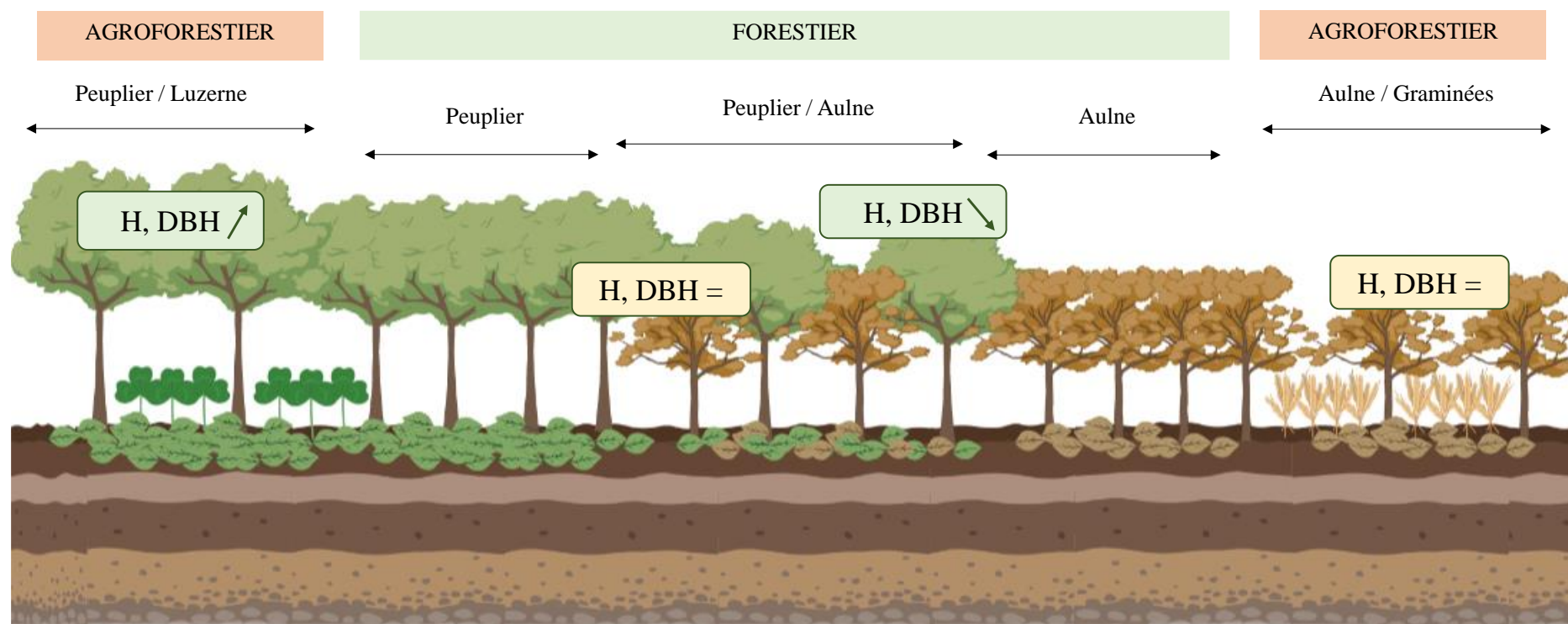


Figure II.7 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H , DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H , DBH ; encarts en orange) dans les différents traitements. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante.

CHAPITRE III – Effets des mélanges sur les efficiences d'utilisation de l'eau et de l'azote des peupliers

La compréhension des mécanismes d'interactions en plantations mélangées repose aussi sur l'étude de l'efficacité de l'utilisation des ressources par les plantes. En effet, une productivité plus élevée du mélange peut être due à des mécanismes de complémentarité entre les espèces liée à l'acquisition des ressources (Forrester 2017). La productivité des arbres est étroitement liée à l'efficacité d'utilisation des ressources, c'est-à-dire à l'efficacité avec laquelle les individus utilisent les ressources disponibles dans le milieu pour produire de la biomasse (Binkley et al. 2004). Parmi ces ressources, l'azote (N) et l'eau sont des éléments essentiels pour la photosynthèse et *in fine* la croissance des plantes. En plantations mélangées, les mécanismes qui sous-tendent une complémentarité liée aux nutriments sont une amélioration (i) de la disponibilité des nutriments, (ii) de la minéralisation des nutriments, (iii) de la vitesse du cycle des nutriments et/ou (iv) de l'acquisition des nutriments par les arbres (Richards et al. 2010). Pour l'eau, une complémentarité peut se manifester, entre autres, par (i) des besoins en eau contrastés, (ii) une profondeur d'enracinement différente, (iii) une profondeur d'extraction de l'eau par les racines différente, (iv) des différences de phénologie (Grossiord et al. 2014, Forrester 2017).

L'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) et de l'azote (NUE) sont utilisées aussi bien en agronomie qu'en foresterie pour évaluer l'efficacité de la gestion de l'eau et de l'azote. À l'échelle de la feuille, l'efficacité avec laquelle ces ressources sont utilisées dans le processus d'assimilation de CO₂ est exprimée au moyen de l'efficacité photosynthétique d'utilisation de l'azote (PNUE) et de l'efficacité d'utilisation de l'eau intrinsèque (WUE_i; Figure III.1). À l'échelle foliaire, PNUE et WUE_i sont obtenues à travers des mesures d'échanges gazeux foliaires. Pour l'eau, WUE est aussi exprimée comme étant le rapport entre l'assimilation de CO₂ et la transpiration (WUE_{instantanée}). WUE est également obtenue par l'intermédiaire des mesures de signatures isotopiques réalisées sur différentes matrices (feuilles, bois) reflétant différentes échelles temporelles et spatiales (Figure III.1). WUE et NUE peuvent aussi être mesurées au niveau de la plante entière ou de l'écosystème (Navarro et al. 2018, Maxwell et al. 2022). À l'échelle de la plante, WUE est généralement exprimée au moyen de l'efficacité de transpiration (WUE_T), c'est-à-dire de la production de biomasse par rapport à la consommation en eau sur la période (Condon et al. 2004; Figure III.1). L'estimation de WUE_T nécessite la détermination précise des gains de biomasse et des pertes en eau cumulées sur une même période. Sur des arbres adultes, l'estimation de l'eau consommée peut se faire à partir de mesures du flux de sève (Granier 1985), tandis que l'estimation de la biomasse produite fait souvent intervenir des équations allométriques. Dans le cadre de ces travaux de

thèse, WUE a été estimée par le biais des indices qui sont présentés Figure III.1. De nombreuses approches existent pour estimer la NUE à l'échelle du plant, complexifiant sa signification biologique (Congreves et al. 2021). Par rapport à WUE, la complexité de NUE réside notamment dans les diverses sources d'azote qui contribuent à la croissance des plantes, comme la matière organique du sol ou la fixation biologique, ainsi que dans la variabilité du mode de calcul de NUE (basé sur le sol, les plantes, les engrais, les isotopes, par exemple). En outre, l'interprétation des indices de NUE va dépendre des limites spatiales et temporelles auxquelles les indices sont appliqués. Dans leur étude, Congreves et al. (2021) proposent un état des lieux des indices de NUE existants et identifient leurs forces et leurs limites. Parmi eux, si on s'intéresse aux indices de NUE dont la définition est basée sur les plantes, on pourra alors estimer NUE comme étant la biomasse produite par unité d'azote disponible dans le sol ou la contribution de l'azote des tissus végétaux à la composante du rendement.

Les informations sur la WUE des arbres (ou des cultures agricoles) en monoculture sont nombreuses (Monclus et al. 2009, Moghaddam et al. 2013, Verlinden et al. 2015, Maier et al. 2019). En revanche, peu d'études ont comparé la WUE des arbres en plantations mélangées et en monoculture (Forrester 2015, Conte et al. 2018). Parmi elles, des informations portant sur les espèces à croissance rapide peuvent être trouvées (Novryianti et al. 2012, Forrester 2015, Battipaglia et al. 2017, Ouyang et al. 2022). Par exemple, Battipaglia et al. (2017) ont montré que la présence de l'aulne (*A. cordata*) dans le mélange permettait l'augmentation de la WUE des chênes (*Q. robur*), grâce à une augmentation de l'assimilation de CO₂, et que cet effet était d'autant plus marqué que la densité de l'espèce fixatrice de N₂ augmentait. Plus récemment, certaines études se sont intéressées à l'utilisation de l'eau des arbres agroforestiers (Muthuri et al. 2009, Buyinza et al. 2019, Liu et al. 2020). Dans l'étude de Liu et al. (2020), le maïs avait une WUE entre 3 et 5% supérieure en mélange avec le pommier qu'en monoculture, tandis que le pommier avait une WUE plus élevée en agroforesterie uniquement lorsque la disponibilité en eau diminuait. Les études qui se sont intéressées à NUE dans les plantations mélangées restent quant à elles rares (Maxwell et al. 2022). Parmi elles, Vogel et Gower (1998) ont mis en évidence que le pin (*P. banksiana*) en association avec l'aulne (*A. crispa*) avait une NUE plus faible en mélange qu'en monoculture. En revanche, dans Moore et al. (2011), le douglas n'a pas bénéficié de la présence de l'aulne rouge. Récemment, l'étude de Maxwell et al. (2022) a mis en évidence qu'une augmentation de la masse de litière dans les mélanges, accompagnée d'une diminution de la concentration en azote de la litière, s'était traduit par une augmentation de NUE dans les mélanges. Ces trois résultats corroborent

l'étude de Richards et al. (2010) ayant constaté que l'efficacité d'utilisation de l'azote des plantes en mélange pouvait augmenter, diminuer, ou rester inchangée, et que les diminutions étaient plus fréquentes que les augmentations. Dans leur review, Richards et al. 2010 ont estimé l'efficacité d'utilisation des nutriments comme étant la croissance de la biomasse aérienne par unité de nutriments dans la litière, sur la base de l'étude de Vitousek (1982). Cependant, cette approche présente des limites, détaillées dans Binkley et al. (2004) dont la principale est le fait que Vitousek (1982) a utilisé la masse de la litière comme un indice de la croissance totale de la forêt, suggérant que la masse de litière est une proportion fixe de la production de l'écosystème. Ainsi, l'interprétation quant à l'effet positif ou négatif d'une augmentation de NUE demeure complexe, et aucune tendance générale ne ressort vraiment sur les variations de NUE en plantations mélangées.

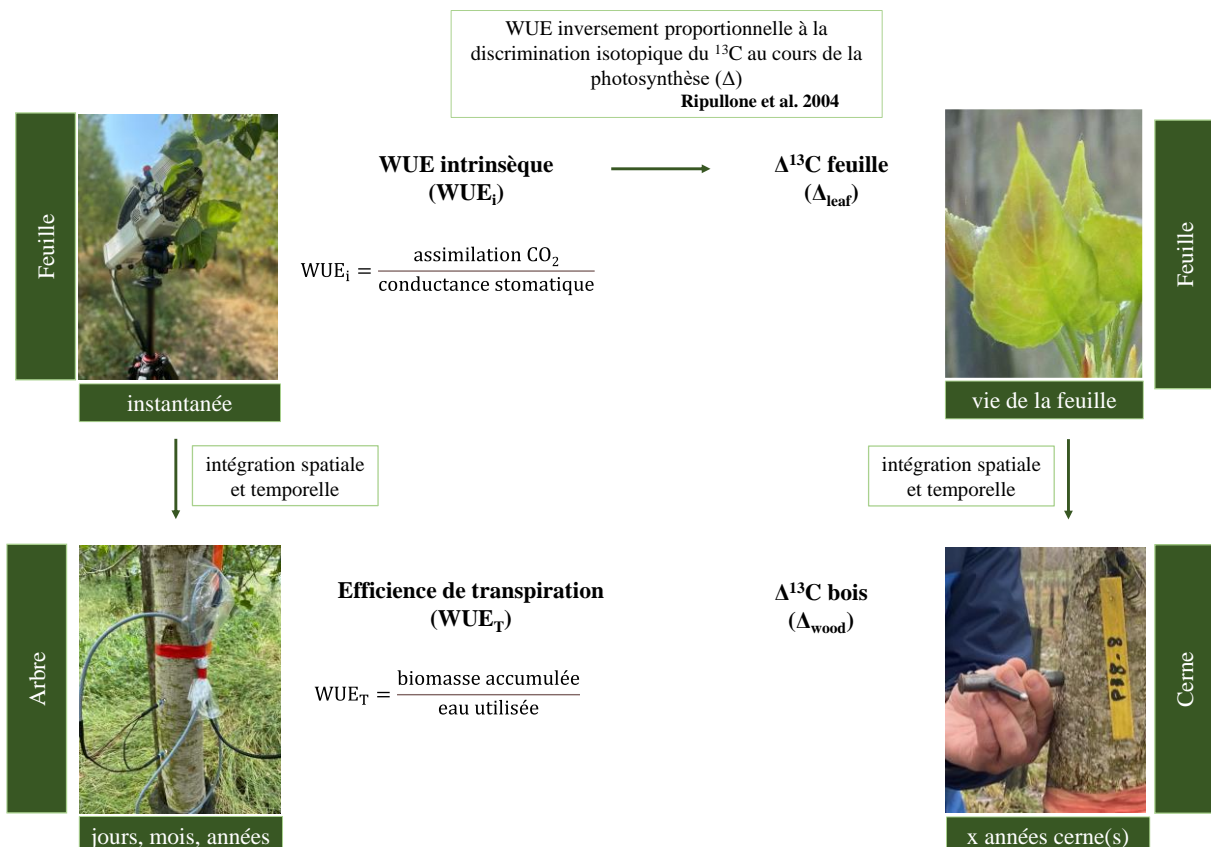


Figure III.1 – Illustration des différentes intégrations spatiales et temporelles des efficacités d'utilisation de l'eau utilisées dans le cadre de la thèse. Adapté de Durand (2019).

CHAPITRE III – 1

Leaf and tree water-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations

*Ce sous-chapitre est une étude traitant de l'efficacité d'utilisation de l'eau de peupliers évoluant en plantations mélangées et en monoculture. Il cherche à répondre à la deuxième question de recherche : **Des performances de croissance accrues pour les peupliers en mélange sont-elles associées à une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau des peupliers en mélange qu'en monoculture ?***

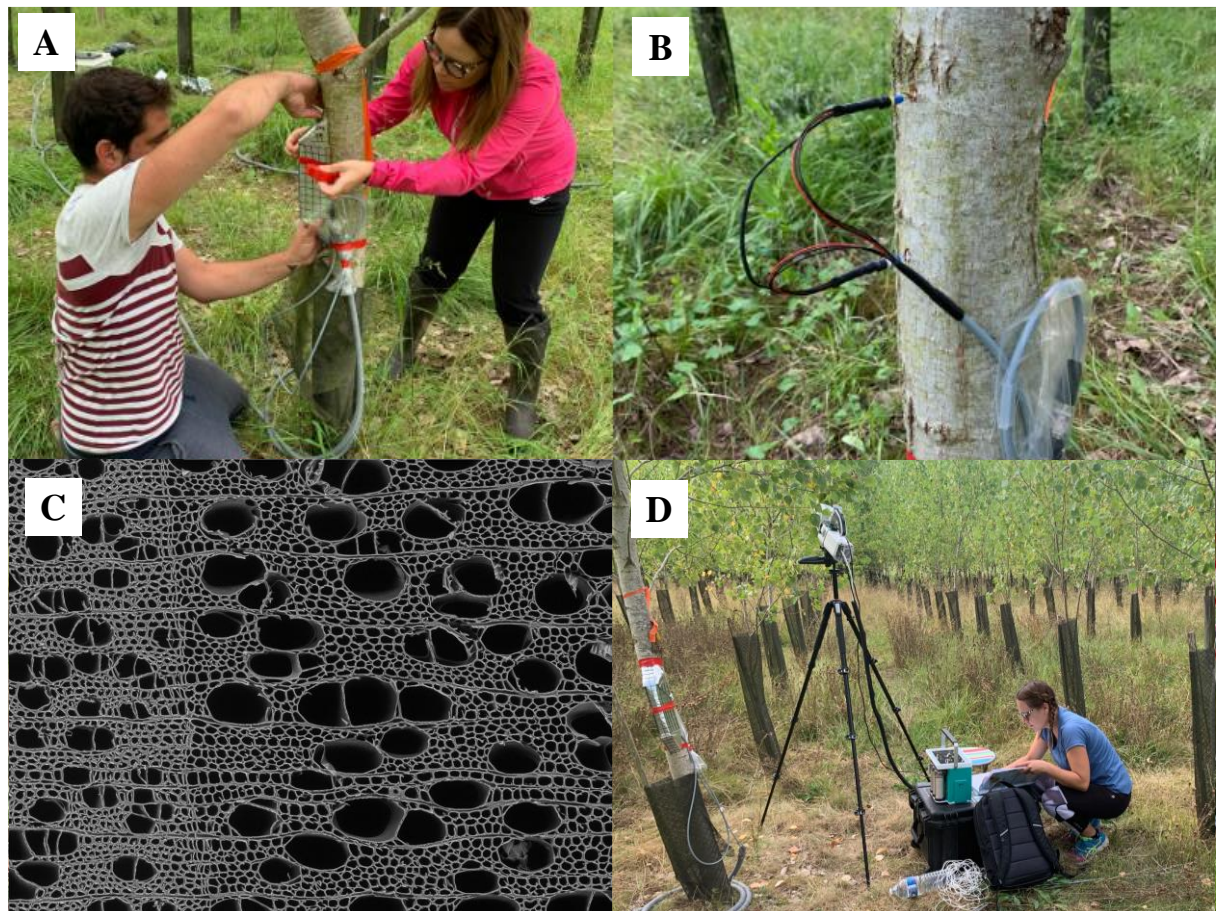


Figure III.2 – Photos du site expérimental de La Bouzule : (A) installation d'un capteur de flux de sève sur un peuplier, (B) insertion d'un capteur de flux de sève dans le tronc de peuplier, (C) vue au microscope électronique à balayage de cernes de peuplier, (D) mesures d'échanges gazeux foliaires à la Licor-6800 sur un peuplier équipé d'un capteur de flux de sève. (Photos : Nicolas Marron, Anaïs Thomas)

Résumé

Dans un contexte global où l'eau va devenir une ressource rare sous les latitudes tempérées, la gestion des plantations d'arbres avec des associations d'espèces, c'est à dire les mélanges forestiers ou l'agroforesterie, pourrait jouer un rôle majeur dans l'optimisation de l'utilisation de cette ressource. Les cadres conceptuels en écologie des communautés suggèrent que, dans les plantations mixtes, les ressources telles que l'eau peuvent être utilisées plus efficacement pour l'acquisition du carbone et la croissance des arbres grâce à une complémentarité de niches entre les espèces. Pour tester les hypothèses qui sous-tendent ces cadres conceptuels, nous avons estimé l'efficacité de l'utilisation de l'eau (WUE) pour des peupliers cultivés en monoculture, en association avec des aulnes (mélange forestier), et en association avec du trèfle (agroforesterie) dans une plantation expérimentale située dans le nord-est de la France. La WUE a été estimée (i) au niveau des feuilles par des mesures d'échange gazeux et l'analyse de la composition isotopique du carbone, (ii) au niveau du bois par la composition isotopique du carbone, et (iii) au niveau de l'arbre par des mesures de flux de sève et d'accroissement de la biomasse saisonnière. Nous avons émis l'hypothèse que les interactions entre les espèces augmenteraient la WUE des peupliers dans les mélanges en raison d'une réduction de la concurrence et/ou des effets de facilitation dus à la présence de l'espèce fixatrice d'azote dans les mélanges. Les peupliers dans les deux types de mélange ont montré une WUE plus élevée que dans la monoculture. Les différences de WUE entre la monoculture et le traitement agroforestier ont été associées à des différences au niveau de la conductance stomatique, de l'assimilation nette de CO₂ sous lumière saturante (au niveau des feuilles) et la transpiration (au niveau de l'arbre), tandis que les différences entre la monoculture et le mélange forestier étaient probablement dues à des différences de conductance stomatique au niveau des feuilles et à la fois de transpiration et d'accumulation de biomasse au niveau des arbres. De plus, plus la WUE était intégrée dans le temps et l'espace (échanges gazeux instantanés < durée de vie des feuilles < période de formation du cerne < arbre entier), plus les différences entre les traitements étaient marquées.

Leaf and tree water-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations

**Anaïs Thomas¹ – Nicolas Marron¹ – Damien Bonal¹ – Séverine Piutti² – Erwin Dallé¹ –
Pierrick Priault^{1,3}**

¹Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, UMR 1434 Silva, 54000 Nancy, France;

²Université de Lorraine, INRAE, UMR 1121 Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE), 54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France;

³Corresponding author (pierrick.priault@univ-lorraine.fr)

Tree Physiology

July 2022, Article tpac094

DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac094>

Key words: Poplar; Mixed tree plantation; Agroforestry; Water-use efficiency

1. Introduction

In Europe, the surface area of forest plantations has increased by 14.5% over the past 30-year period (1990-2020); these plantations covered 8.1 million hectares in 2020 out of a total of about 132 million hectares in the world (FAO 2020). Forest plantations are mostly monospecific (Liu et al. 2018) and are often composed of fast-growing species such as *Populus* spp., which is widely cultivated in temperate plains and whose plantation areas amounted to 7 million hectares worldwide in 2004 (Ball et al. 2005). *Populus* species are known to be very water and nutrient-demanding. They can diminish soil fertility, particularly in short rotation plantations where frequent wood exportations limit nutrient recycling (Cannell 1999, Monclus et al. 2006, Toillon et al. 2016). With current climate changes, the use of more diversified and resource-efficient planting systems is an immediate necessity (Unver et al. 2017), the central question being whether such systems will be able to maintain the same production in the future. Indeed, it is expected that the increase in temperature added to the occurrence of more frequent extreme thermic and drought events will result in reduced crop yields (Beillouin et al. 2020), decreased biomass production (Monclus et al. 2006, Grossiord 2020) and increased tree mortality (Bréda et al. 2006, Senf et al. 2020). Moreover, land-use competition is also an important question since tree plantations are most often installed on fertile soils (Cossalter and Pye-Smith 2003). Agroforestry has emerged as an alternative to reduce land-use competition for biomass and food production as well as to propose more resilient production systems in the current context of global change (Dupraz and Liagre 2008, Lamerre et al. 2015, Banga et al. 2017, Tariq et al. 2018, Seserman et al. 2019).

Compared to monocultures, species mixtures may lead to overall increased biomass productivity through a reduction in competition (Vandermeer 1989, Kelty 2006) and/or facilitation effects for resource acquisition (Powell and Bork 2004). Indeed, species mixture can impact the availability, interception and use of resources (e.g. water), which are crucial determinants of production (Monclus et al. 2009, Richards et al. 2010).

Interactions between species in mixtures can impact above-ground biomass production and induce changes in water-use efficiency (WUE). WUE is basically the amount of biomass produced per unit of water used by the plant during the same period of time (Olbrich et al. 1993). WUE can be assessed at various time and spatial scales, at leaf (Broeckx et al. 2014), tree (Moore et al. 2011, Forrester 2015, Bai et al. 2016, Maier et al. 2019), or ecosystem

levels (Law et al. 2002, Beer et al. 2009) using gas exchanges, sap flow and biomass production measurements as well as using carbon isotopic discrimination as a surrogate (Monclus et al. 2006).

Many studies have shown an increase of WUE in response to environmental factors, mostly water deficit (Cocozza et al. 2011, Larchevêque et al. 2011), high irradiance (Israeli et al. 1996, Aranda et al. 2007), and N availability (DesRochers et al 2007, Ripullone et al. 2004). At plantation level, species mixtures are supposed to improve water-sharing as compared to monocultures through the stratification of the root systems (Bayala and Prieto 2020). Fernández et al. (2008), for instance, found that pines (*Pinus ponderosa* Laws.) associated with Patagonian grasses (*Festuca pallescens* St.-Yves) in agroforestry used deeper water resources due to the presence of the roots of grasses in the top soil layer compared with pines in a monoculture. In mixtures, competition for light is supposed to be lower than in monoculture (Kelty 2006) due to a stratification of the canopies (e.g. canopy packing) which will allow trees to increase carbon assimilation and therefore WUE. In addition, the presence of N₂-fixing species in the mixture can potentially affect the WUE of the non-fixing species if N is present in higher quantities in the environment. In Battipaglia et al. (2017), the presence of alder (*Alnus cordata* L.) in mixtures with oak (*Quercus robur* L.) resulted in a higher WUE_i in oak after four and up to sixteen growing seasons due to increased CO₂ assimilation. Indeed, the atmospheric N₂ fixed by a N₂-fixing species may increase the N availability for the non-fixing species, leading to an increase in the N allocation to leaves and thus, to improved photosynthetic capacities (Bouillet et al. 2008, Forrester et al. 2012).

Results on WUE in mixed plantations can be more contrasted. Forrester (2015), for instance, showed that *Eucalyptus globulus* trees in a mixture with *Acacia mearnsii* presented WUE values 54% higher than eucalypt trees growing in a monoculture at comparable neighbourhood basal areas and defined this percentage as a “complementarity effect”. On the contrary, Conte et al. (2018) showed that European beech (*Fagus sylvatica* L.) did not benefit from its mixture with Scots pines (*Pinus sylvestris* L.) and that both species had higher growth and WUE in their respective monocultures. In addition, few studies dealt with the effect of agroforestry practices on tree WUE (e.g. Buyinza et al. 2019, Hatfield and Dold 2019), and in these studies no comparison was made with either species growing in a monoculture.

In our study in northeastern France, we compared poplar WUE in a poplar/alder association and in a poplar/clover association with a poplar monoculture. Our main objective was to determine whether species mixture had an impact on poplar WUE, and to determine if

the potentially highlighted differences could be found irrespective of the scale, spatial (leaf and tree level) and temporal (instantaneous, leaf life span, growing season). WUE was (1) derived from leaf gas exchanges, (2) calculated from sap flow and biomass increment and (3) estimated through its surrogate leaf/wood core carbon isotopic composition. The different approaches integrate different time scales (instantaneous, lifespan of leaf/wood core, season). We hypothesized that species interactions would allow the poplars in the mixtures to increase WUE compared to the poplars in monoculture thanks to a reduction in competition and/or to a facilitation effect due to the presence of the N₂-fixing species in mixtures.

2. Materials and methods

2.1 Study site

The experimental plantation is located in an agricultural field at the experimental farm of La Bouzule, in northeastern France (48°44'19" N, 6°18'50" E, 219 m asl; see Thomas et al. (2021) for a detailed description). Briefly, the experimental plantation was installed during the spring of 2014 and is 448 m long and 73 m wide, for a total area of 3.27 ha. It is composed of poplar (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L., clone 'Dorskamp') in a monoculture and in association with alder (*Alnus glutinosa* L. Gartn. alternating rows of the two species) and with alfalfa (*Medicago sativa* L, 2014-2018) and then clover (*Trifolium pratense* L, 2019-2020). The forest plots (monoculture and forest mixture) were planted at a density of 2000 trees per hectare while the agroforestry plots have 1000 trees per hectare since every other row of trees was replaced by a herbaceous crop (currently clover) (see Thomas et al. 2021 for more details). Each plot measures approximately 0.15 ha. In 2020, total precipitation was 703 mm and the mean temperature was 11.3°C. A detailed soil analysis is available in Clivot et al. (2019). All the measurements reported in this paper were performed between June and September 2020, i.e. during the plantation's seventh growing season.

2.2 Tree sampling

Poplars occupying dominant positions in the canopy in each treatment (agroforestry, forest mixture, monoculture) were selected taking care to guarantee the least disparity in basal area among treatments and to avoid having trees side by side. A total of 36 poplars (12 poplars × 3 treatments) were monitored (Table III.1).

Table III.1 – Tree height (Height, cm), diameter at breast height (DBH, mm), and basal area (BA, m² ha⁻¹) for poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture) at the start of experiment (June 20, 2020). Means ± standard errors, n=12. Different letters indicate significant differences between treatments.

Treatment	Height (cm)	DBH (mm)	BA (m ² ha ⁻¹)
Agroforestry	717 ± 19.2 ^b	81.6 ± 3.0 ^b	6.3
Forest mixture	564 ± 20.0 ^a	56.8 ± 2.4 ^a	3.8
Monoculture	739 ± 50.8 ^b	76.2 ± 5.6 ^b	10.9

2.3 Meteorological data

Various instruments for monitoring environmental conditions were installed in the plantation in 2014, and include a rainfall gauge (ARG100, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA) and a thermistor (HMP45C probe, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA). Water content reflectometers (CS615, Campbell Scientific, Inc., Logan, UT, USA) were inserted into the soil equidistant between two aligned trees in each treatment and volumetric soil water content at 10 cm in depth was monitored hourly.

Soil water availability was estimated by measuring predawn leaf water potentials (Ψ_{predawn} , MPa). Poplar leaves (n=12) were collected in the early morning before sunrise and water potential was measured immediately with a Scholander-type pressure chamber. Three campaigns were performed in June, July, and August 2020.

2.4 Sap flux measurements

The thermal dissipation technique (Granier 1985) was used to measure sap flux density, i.e. the sap flux per unit of sapwood area and time ($\text{kgH}_2\text{O dm}^{-2} \text{h}^{-1}$), of trees equipped with 20 mm long radial sap flow meters installed on the north side of the stem at a height of about one meter. The sensors were installed below any branches in order to record the flux related to the transpiration of the whole canopy. Protective covers were installed to protect the probes from wind, solar radiation, and rain (they were left open at the bottom). Sap flux density was continuously measured from 20 June to 26 September 2020. Transpiration efficiency (WUE_T) can be calculated as the ratio between the amount of aboveground dry weight (DW) produced between the beginning and the end of the 2020 growing season (biomass increment, g) and the amount of water transpired (F_{tot} , kgH_2O) during the same period (Olbrich et al. 1993). In our study, WUE_T ($\text{gDW kg}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) was determined by:

$$\text{WUE}_T = \frac{\text{biomass increment}}{F_{\text{tot}}}$$

Biomass increment was calculated by determining the aboveground dry biomass at the start (20 June 2020) and at the end (26 September 2020) of the experiment following allometric from Marron et al. 2018a:

$$\text{Aboveground dry biomass (g)} = 225.154 \text{ DBH} - 7.111 \text{ H} - 2348.787$$

where DBH is the diameter at breast height (mm) and H the height (cm) of each poplar tree. This allometric equation had previously been determined for the same poplar clone under similar mixed planting conditions (e.g. planting density, climate conditions, tree age). R^2 was

0.98 (Marron et al. 2018a). The total sap flow (F_{tot} , kgH₂O) of each tree was calculated by summing daily transpiration (F_{daily} , kgH₂O d⁻¹) from June 20 to September 26. F_{daily} was calculated as follows (Granier 1988):

$$F_{\text{daily}}(\text{kg H}_2\text{O d}^{-1}) = A_s \times \sum_{24}^1 v$$

where A_s (dm²) is sapwood area and v (kg dm⁻² h⁻¹) sap flow velocity.

2.5 Leaf gas exchange and morphological traits

Once a month from June 2020 to September 2020, we used a LI-6800 portable photosynthesis system (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) to measure leaf gas exchange on mature leaves (foliar index ranging between 10 and 15 when leaves are numbered from the top of the branches) fully exposed to sunlight for six poplar trees per treatment (n=18). The light-saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , μmolCO₂ m⁻² s⁻¹) was measured at a photosynthetic photon flux density (PPFD) of 1200 μmol m⁻² s⁻¹, a leaf temperature of 25°C, a vapour pressure deficit of 1.2 ± 0.2kPa and an air CO₂ concentration of 400 ppm. Intrinsic water-use efficiency (WUE_i , μmolCO₂ mol⁻¹H₂O) was calculated as the ratio between A_{sat} and g_{400} (g_{400} is the stomatal conductance at a CO₂ concentration of 400 ppm, molH₂O m⁻² s⁻¹).

After each measurement, collected poplar leaves from which petiole has been removed were calked on paper sheets to determine their leaf area (LA) with a Delta-T Area Meter MK2 planimeter (Delta-T Devices Ltd, UK). The leaves were then oven-dried at 60°C for at least 48 h, weighed and then ground to powder. Specific leaf area (SLA) was calculated for each leaf as the ratio between the LA (cm²) and the dry mass (g).

2.6 Leaf and wood carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}\text{C}$)

At leaf level, the powdered leaves were micro-weighed for isotopic analysis to determine the carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$, ‰). At tree level, stem microcores were sampled in the 2020 tree-ring of each poplar (n=36) and analyzed for their ¹³C composition. The microcores were taken in February 2021 with a Trephor (Rossi et al. 2006). Using a Trephor allowed us to take tree microcores 2 mm in diameter and 15 mm in length, thus minimizing damage to the tree. The collected core samples were placed in Eppendorf tubes, then dried in the ambient air for 72 hours before being surfaced with a scalpel. Once surfaced, the microcores were observed under a binocular microscope (Leica MZ 12). The last ring was cut after checking

its length with the CooRecorder software; then the samples were micro-weighed to perform an isotopic analysis. We used an isotope ratio mass spectrometer (Delta S, Finnigan MAT, Bremen, Germany) to measure leaf and wood $\delta^{13}\text{C}$ in 1 mg of homogenous powder and then we calculated the ratio relative to the Vienna Pee Dee Belemnite standard according to:

$$\delta^{13}\text{C} = ((R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}) \times 1000 (\text{‰})$$

where R_{sample} and R_{standard} are $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ratios of the sample and the standard, respectively (Farquhar et al. 1989).

Then, leaf and wood ^{13}C isotopic discrimination (Δ_{leaf} and Δ_{wood} , respectively) were calculated according to:

$$\Delta (\text{‰}) = \frac{1000 \times (\delta^{13}\text{C}_{\text{air}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{sample}})}{(1000 + \delta^{13}\text{C}_{\text{sample}})}$$

where $\delta^{13}\text{C}_{\text{air}}$ represents the ^{13}C isotopic composition of air (assumed to equal -8.6‰) and $\delta^{13}\text{C}_{\text{sample}}$ represents the ^{13}C isotopic composition of the sample (leaf or ring organic matter).

Given that Δ_{leaf} is inversely proportional to WUE_i in many species (Farquhar et al. 1982), including poplar (e.g. Monclus et al. 2006), this variable can be used as a surrogate of WUE at leaf or wood level (Ripullone et al. 2004).

2.7 Nitrogen-use efficiency at leaf level

Nitrogen concentrations (N_{leaf} , mg g^{-1}) were measured with an elemental analyzer (NA-1500, Carlo Erba, Italy) from a 2-mg sample of leaf dry powder. At the leaf level, N_{leaf} values were converted to N concentration per unit area (N_A , g m^{-2}) with the SLA values and photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE, $\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1}\text{N s}^{-1}$) was calculated as the ratio of A_{sat} to N_A (Broeckx et al. 2014).

2.8 Data analyses

Since a combination of interactions often occurs simultaneously (competition, facilitation, niche differentiation), and since the success of the species association will reflect the net result of the different types of interactions, we calculated a complementarity percentage for WUE according to Forrester (2015). A negative complementarity percentage is indicative of competition between species, while a positive percentage indicates a complementarity effect of the mixture.

$$\text{Complementarity (\%)} = \frac{\text{WUE in mixture} - \text{WUE in monoculture}}{\text{WUE in monoculture}} \times 100$$

We used a non-parametric Kruskal Wallis test to assess the effect of treatment on volumetric soil water content (SWC, %) at 10 cm depth for each month. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), we used the Wilcoxon test for pairwise comparisons.

Treatment (three treatments: monoculture, agroforestry, forest mixture) and date effects on WUE_i and Δ_{leaf} , and their interaction (treatment \times date) were tested with a linear model ('lm' procedure). The treatment effect on WUE_T and Δ_{wood} was tested with a one-way ANOVA.

Linear regressions between WUE_i - PNUE and Δ_{leaf} on the one hand and between WUE_T - biomass increment and transpiration on the other hand were computed for each treatment (Pearson correlation coefficients). We used an analysis of covariance (ANCOVA) as a comparison of adjusted means to determine if the linear regression between Δ_{leaf} and SLA, and between WUE_i (or WUE_T) and each quantitative variable (g_{400} , A_{sat} , PNUE, or biomass increment and transpiration) was different between treatments (agroforestry, forest mixture and monoculture). The slopes were found by using the linear model function lm and the covariances were found using the emmeans function in R. A correlation approach between the overall variables measured at leaf level was performed (see Figure A5 available as Supplementary Data at Tree Physiology Online).

All statistical analyses were done with the free R software, version 2022.02.1 (R Development Core Team 2019). Means are expressed with their standard errors. The statistical tests were considered significant at $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ or $P \leq 0.001^{***}$. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), Tukey contrasts (*glht* procedure, *multcomp* package) were used for multiple comparisons among different factor levels.

3. Results

3.1 Climate and soil conditions

From June to August 2020, cumulative rainfall ranged from 5.6 mm (July) to 63.1 mm (June), and mean temperatures ranged from 16.5°C (June) to 20.8°C (August) at the experimental site (Table III.2). There was a significant date effect on Ψ_{predawn} ($P \leq 0.001^{***}$): Ψ_{predawn} was the most negative in July with a mean value of -0.35 ± 0.02 MPa observed in the monoculture and -0.18 ± 0.02 MPa and -0.15 ± 0.01 MPa in the agroforestry treatment and the forest mixture, respectively (Table III.2). In August, Ψ_{predawn} was not significantly different among treatments. A decline in volumetric soil water content (SWC) at 10 cm depth was observed from June to August irrespective of the treatment (Table III.2). In August, minimum values were 18.1% in monoculture, 22.3% in the forest mixture and 39.5% in the agroforestry treatment. A significant treatment effect on SWC ($P \leq 0.001^{***}$) was found regardless of the date, with the highest SWC value in the agroforestry treatment and the lowest in the monoculture.

Table III.2 – Variations in predawn leaf water potential ($\psi_{predawn}$, MPa) and in volumetric soil water content (SWC, %) at 10 cm depth for poplars in the monoculture (Mono), agroforestry (AF), and forest mixture (FM) plantations from June to September 2020. For each month, different letters indicate significant differences between treatments. Means \pm standard errors. Cumulative rainfall (mm) and mean air temperature ($^{\circ}$ C) recorded at the experimental site are presented from June to September 2020.

	June			July			August			September		
	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono
$\Psi_{predawn}$ (MPa)	-0.15 ± 0.01^a	-0.19 ± 0.01^{ab}	-0.25 ± 0.02^b	-0.18 ± 0.02^a	-0.15 ± 0.01^a	-0.35 ± 0.02^b	-0.29 ± 0.02^a	-0.32 ± 0.01^a	-0.34 ± 0.01^a	–	–	–
SWC at 10 cm depth (%)	46.1 ± 0.2^c	30.2 ± 1.2^b	27.6 ± 1.7^a	41.9 ± 0.3^c	25.4 ± 0.2^b	20.4 ± 0.3^a	39.5 ± 0.3^c	22.3 ± 0.3^b	18.1 ± 0.1^a	41.9 ± 1.8^c	26.6 ± 1.8^b	22.2 ± 1.3^a
Cumulative rainfall (mm)		63.1			5.6			48.2			47.6	
Mean temperature ($^{\circ}$ C)		16.5			19.5			20.8			15.8	

3.2 Water-use efficiency at leaf and tree levels

Over the study period, forest mixture had an intermediate WUE_i between that of monoculture and agroforestry treatments (Figure III.3). The poplars in the monoculture showed higher Δ_{leaf} values than those in the mixtures over the study period ($P < 0.01$); Δ_{leaf} in the forest mixture was higher than in the agroforestry treatment ($P \leq 0.05^*$; Figure III.4). In September, Δ_{leaf} was 1.4‰ higher in the monoculture than the agroforestry treatment ($P \leq 0.05^*$). Higher values of Δ_{leaf} were recorded in July ($P \leq 0.01^{**}$) than during the other months, irrespective of the treatment.

The transpiration efficiency (WUE_T) was more than twice as high in the forest mixture than in the monoculture, with values of 6.0 gDW kg⁻¹H₂O and 2.5 gDW kg⁻¹H₂O, respectively (Figure III.5A). The poplars in the agroforestry treatment also had higher WUE_T than the poplars in the monoculture with a value of 4.0 gDW kg⁻¹H₂O versus 2.5 gDW kg⁻¹H₂O, respectively. The carbon isotope discrimination at wood level (Δ_{wood}) was significantly higher in the monoculture and the forest mixture than in the agroforestry treatment, with values of 19.7‰, 19.6‰ and 18.4‰, respectively (Figure III.5B). Δ_{wood} was not significantly different between the monoculture and the forest mixture ($P = 0.8$). Complementarity effects in terms of WUE_T were 97% and 158% for the poplars in the agroforestry treatment and in the forest mixture, respectively.

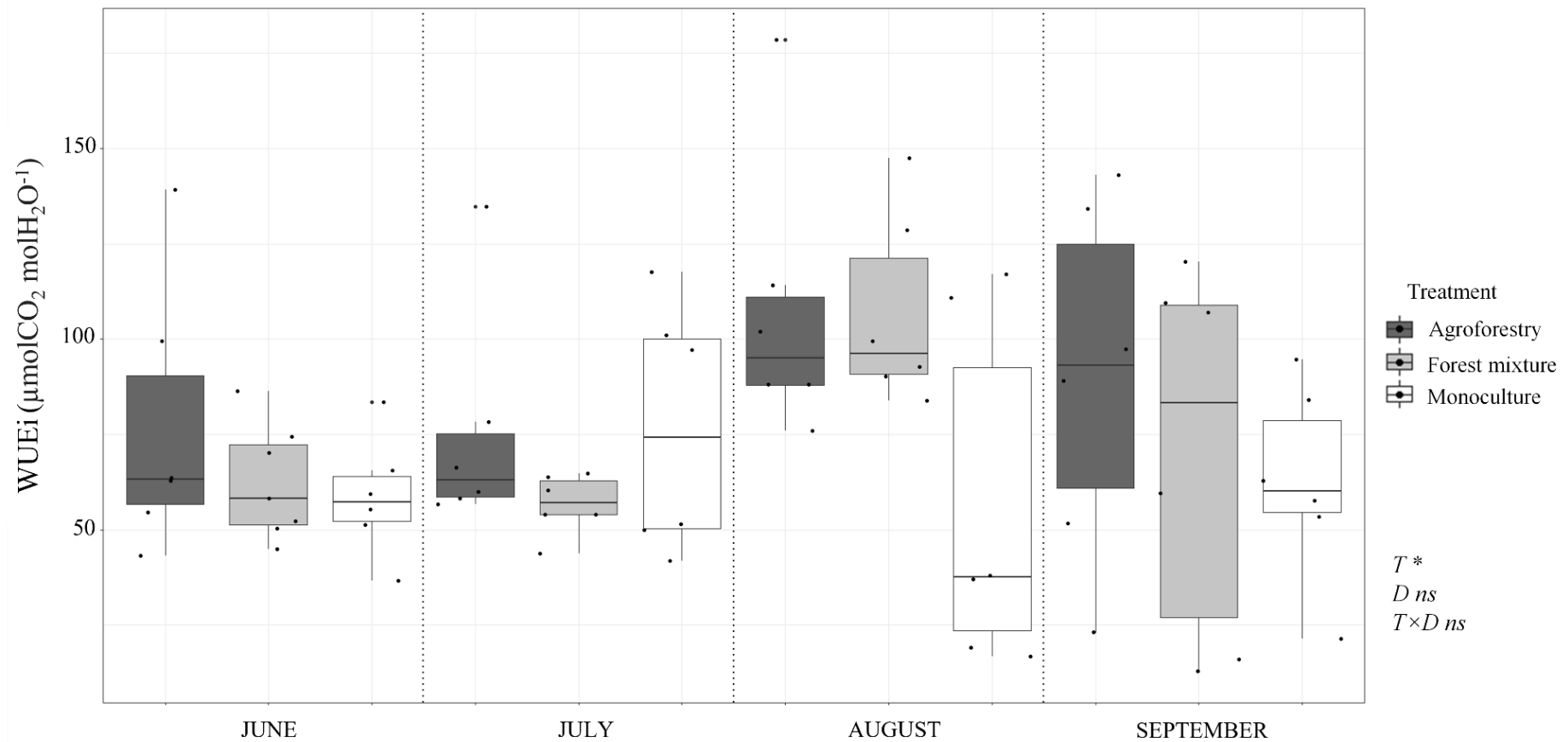


Figure III.3 – Time course of intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) for poplars in agroforestry, forest mixture, and monoculture during the 2020 growing season (June to September). For each effect (D, date; T, treatment) and their interaction ($T \times D$), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, ns: non-significant; $n=12$. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.

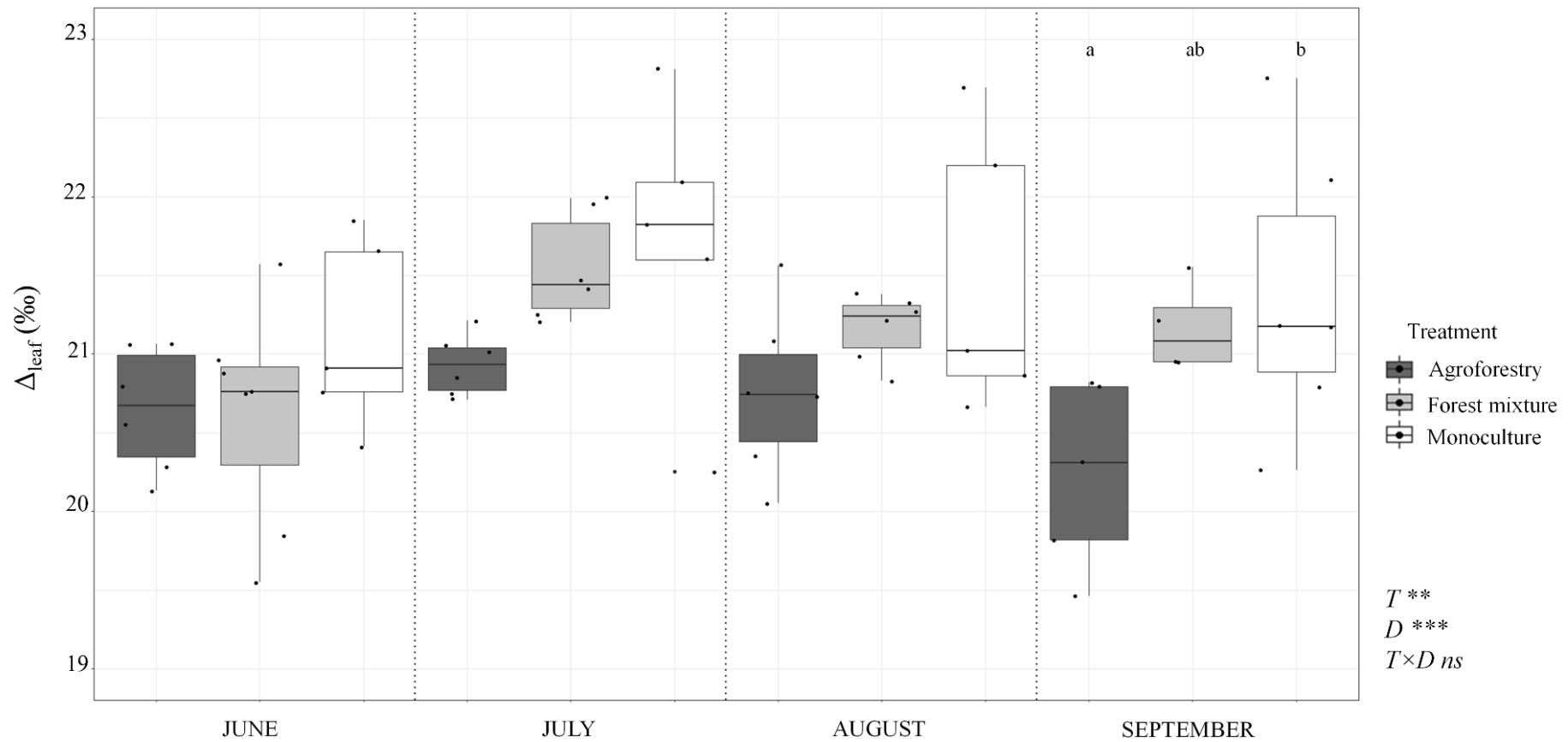


Figure III.4 – Time course of carbon isotope discrimination at leaf level (Δ_{leaf} , ‰) for poplars in agroforestry, forest mixture, and monoculture during the 2020 growing season (June to September). Different letters indicate significant differences between treatments. For each effect (D, date; T, treatment) and their interaction (T×D), significant differences are indicated by asterisks: $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n=12$. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.

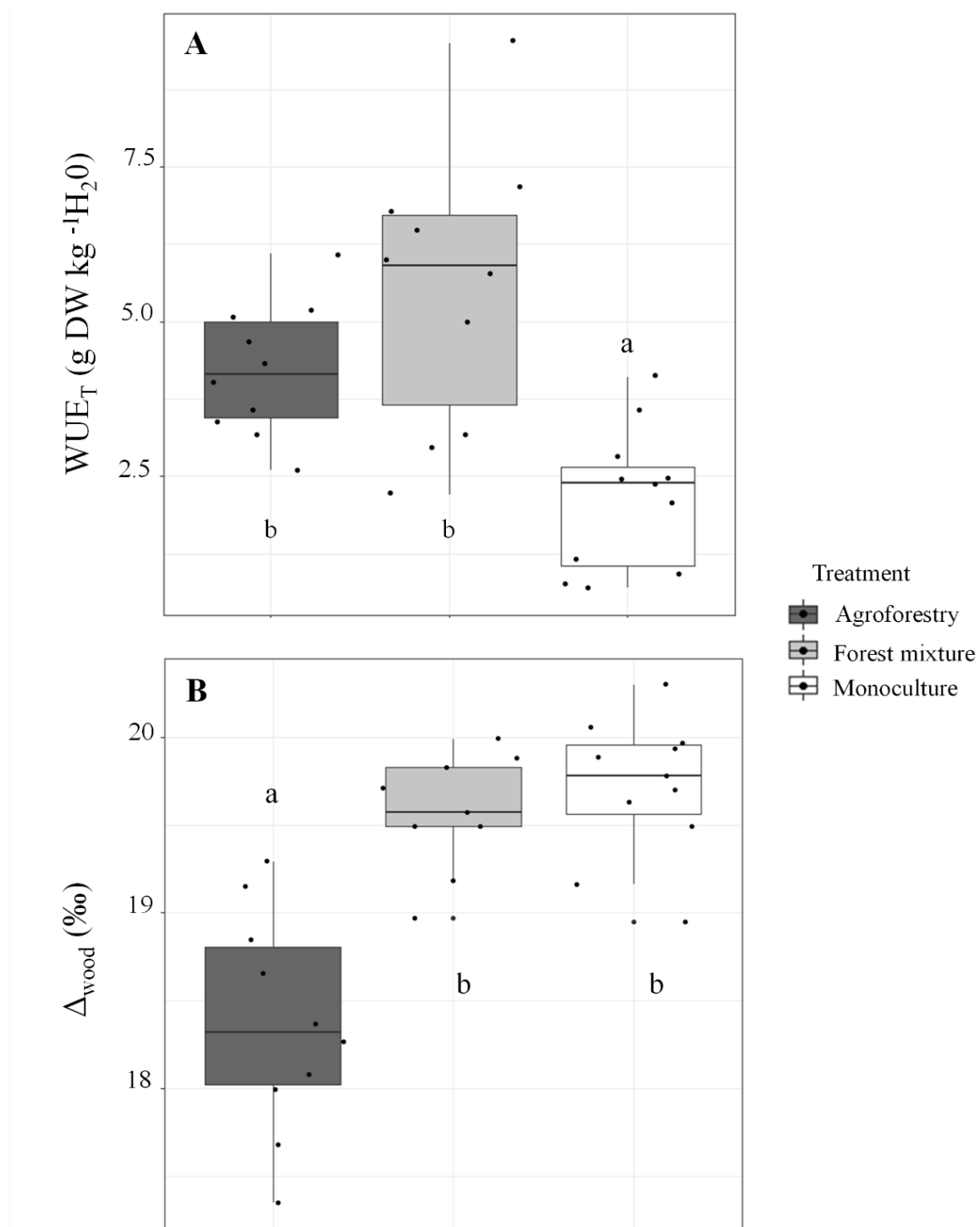


Figure III.5 – (A) Transpiration efficiency (WUE_T , $gDW\ kg^{-1}H_2O$) and (B) carbon isotope discrimination at tree level (Δ_{wood} , ‰) for poplars in agroforestry, forest mixture and monoculture ($n = 12$) during the 2020 growing season. Different letters indicate significant differences between treatments. Each box represents the quartile below ($Q1$) and above ($Q3$) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values. Grey dots are individual values.

3.3 WUE drivers at leaf and tree levels

A_{sat} was lower from August to September than from June to July (Table III.3). A_{sat} in the forest mixture was significantly higher in August ($13.2 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) than in the monoculture and agroforestry plots ($5.6 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). g_{400} was lower in August than for the other months, regardless of the treatment (Table III.3). N_{leaf} was significantly higher in the agroforestry plot (17.9 mg g^{-1} on average) than in the forest plots (around 14.5 mg g^{-1} on average) from August (Table III.3). SLA was higher in the monoculture ($\sim 92.2 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ on average) than in the two mixtures ($\sim 78.5 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ on average; Table III.3).

Negative relationships were observed between WUE_i and g_{400} ($P \leq 0.001^{***}$; $r = -0.83$), and between WUE_i and A_{sat} in the forest mixture ($P \leq 0.01^{**}$; $r = -0.63$), and between WUE_i and g_{400} in the agroforestry plot ($P \leq 0.001^{***}$; $r = -0.64$) (Figure III.6A). According to the ANCOVA, there was a significant treatment effect between both mixtures and the monoculture on g_{400} ($P < 0.05$) and between the agroforestry and the monoculture treatments on A_{sat} ($P \leq 0.05^*$). For a mean g_{400} estimated at $0.227 \text{ molH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mean WUE_i was significantly higher in the forest mixture ($83.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) and in the agroforestry plot ($81.3 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) than in the monoculture ($62.5 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$; Figure III.6A). For a mean A_{sat} estimated at $13.7 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, mean WUE_i was significantly higher in agroforestry ($85.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) than in the monoculture ($61.8 \mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$; Figure III.6B). A negative relationship was found between WUE_i and PNUE in the forest mixture only ($P \leq 0.01^{**}$; $r = -0.60$; Figure III.7A). A positive relationship was observed between Δ_{leaf} and SLA in the monoculture only ($P \leq 0.001^{***}$; $r = 0.69$; Figure III.7B). Correlation matrices between the main leaf traits and the relationships between N_{leaf} with WUE_i , Δ_{leaf} , A_{sat} , and g_{400} (see Figures A5, A6).

Table III.3 – (A) Variations in light-saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), stomatal conductance (g_{400} , $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), leaf nitrogen content (N_{leaf} , mg g^{-1}) and specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$) from June to September 2020 and (B) annual biomass increment and transpired water for poplars in the monoculture (Mono), agroforestry (AF), and forest mixture (FM) plantations. For each month, different small letters indicate significant differences between treatments. Differences between months are denoted by different capital letters. Means \pm standard errors.

	JUNE			JULY			AUGUST			SEPTEMBER		
	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono	AF	FM	Mono
A_{sat} ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	14.5 \pm 3.0 ^a	18.9 \pm 2.4 ^a A	19.6 \pm 0.7 ^a	19.4 \pm 2.3 ^{ab}	20.4 \pm 0.8 ^b A	14.1 \pm 1.8 ^a	5.6 \pm 1.7 ^a	13.2 \pm 0.7 ^b B	5.6 \pm 2.3 ^a	8.0 \pm 1.6 ^a	14.1 \pm 1.3 ^a A	11.4 \pm 2.6 ^a
g_{400} ($\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	0.22 \pm 0.06 ^a	0.32 \pm 0.06 ^a AB	0.36 \pm 0.05 ^a	0.29 \pm 0.05 ^a	0.37 \pm 0.03 ^a B	0.24 \pm 0.06 ^a	0.06 \pm 0.02 ^a	0.13 \pm 0.01 ^a AB	0.09 \pm 0.03 ^a	0.11 \pm 0.03 ^a	0.48 \pm 0.21 ^a A	0.21 \pm 0.05 ^a
N_{leaf} (mg g^{-1})	19.1 \pm 0.6 ^a	18.6 \pm 0.9 ^a A	18.0 \pm 1.3 ^a	18.3 \pm 0.7 ^a	16.2 \pm 0.6 ^a A	25.2 \pm 5.8 ^a	18.3 \pm 0.5 ^b	15.0 \pm 0.6 ^a A	14.8 \pm 0.6 ^a	17.5 \pm 0.8 ^b	13.8 \pm 0.7 ^a A	14.6 \pm 0.5 ^a
SLA ($\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$)	85.8 \pm 4.9 ^a	85.5 \pm 6.8 ^a	91.0 \pm 7.5 ^a	74.9 \pm 2.6 ^a	76.3 \pm 4.9 ^a	94.3 \pm 6.3 ^b	81.2 \pm 0.8 ^{ab}	75.9 \pm 1.6 ^a	99.7 \pm 9.8 ^b	72.9 \pm 2.6 ^a	75.4 \pm 2.6 ^a	84.0 \pm 5.5 ^a
B												
	AF	FM	Mono									
Annual biomass increment (kg)	3.1 \pm 0.2 ^b	2.2 \pm 0.2 ^{ab}	1.5 \pm 0.3 ^a									
Annual transpired water (kgH ₂ O)	763 \pm 24 ^b	431 \pm 16 ^a	742 \pm 25 ^b									

The relationship between WUE_T and the poplar biomass increment measured in 2020 was positive in the forest mixture ($P \leq 0.05^*$; $r = 0.78$) and the monoculture ($P \leq 0.01^{**}$; $r = 0.79$) but not significant in the agroforestry treatment ($P = 0.9$; $r = 0.18$; Figure III.8A). According to the ANCOVA, there was a significant treatment effect between the forest mixture and both the monoculture ($P \leq 0.001^{***}$) and the agroforestry treatment ($P \leq 0.05^*$). For a mean biomass increment estimated at 2.25 kg, mean WUE_T was significantly higher in the forest mixture (5.1 gDW kg⁻¹H₂O) than in the agroforestry (3.5 gDW kg⁻¹H₂O) and the monoculture (2.8 gDW kg⁻¹H₂O) treatments (Figure III.8A). There was no significant difference in mean WUE_T between the monoculture and agroforestry treatments ($P = 0.79$). The relationship between WUE_T and transpiration (F) was negative in the forest mixture ($P \leq 0.05^*$; $r = -0.65$) and the agroforestry treatment ($P \leq 0.05^*$; $r = -0.71$) (Figure III.8B). The ANCOVA showed that, at identical cumulative transpiration, WUE_T was significantly higher in both mixtures than in the monoculture ($P \leq 0.01^{**}$). For a mean cumulative transpiration estimated at 648 kgH₂O, WUE_T was twice as low in the monoculture compared to both mixture treatments (Figure III.8B).

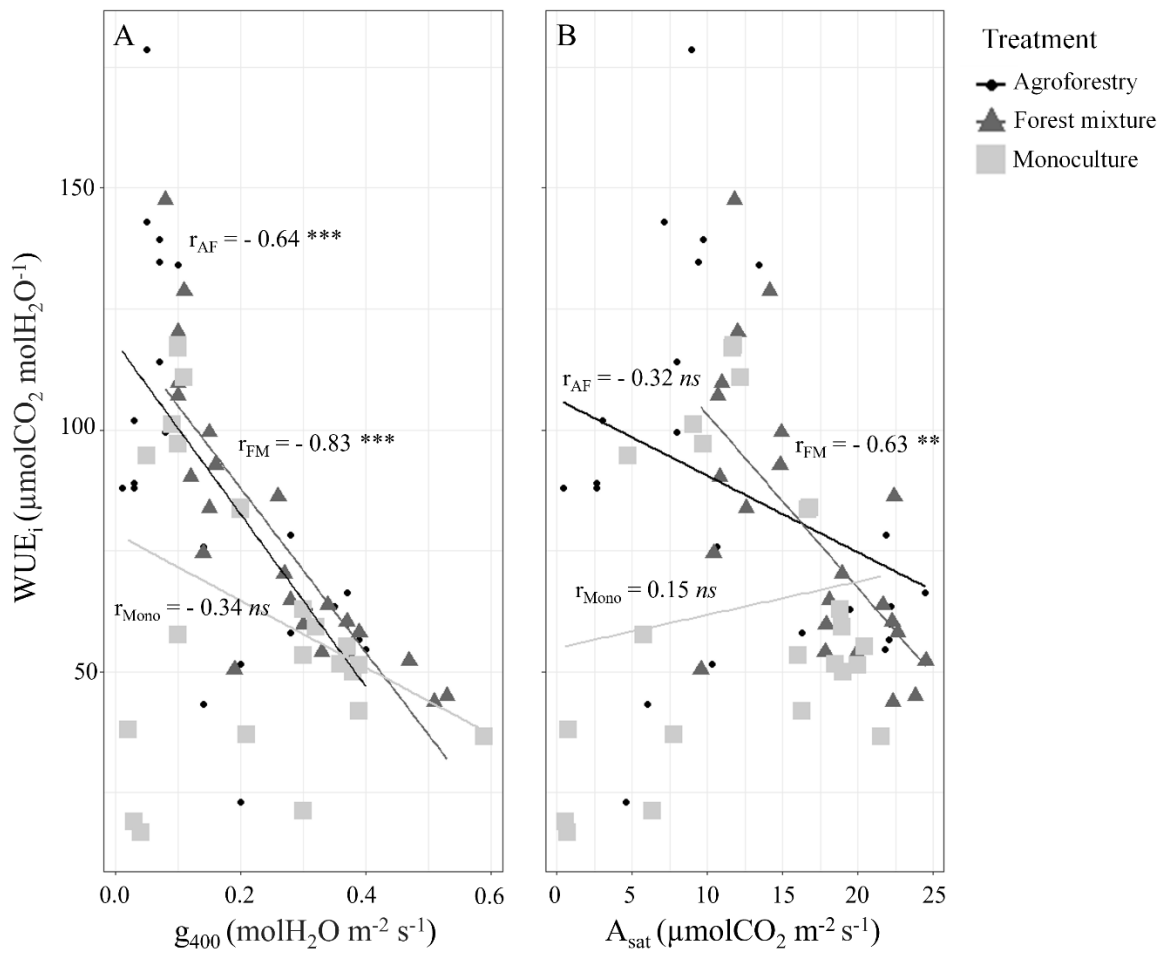


Figure III.6 – Relationship between intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) and (A) stomatal conductance (g_{400} , $\text{molH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and (B) light-saturated net CO_2 assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles, AF), forest mixture (grey triangles, FM) and monoculture (light grey squares, Mono). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.01$ **, $P \leq 0.001$ ***, ns: not significant).

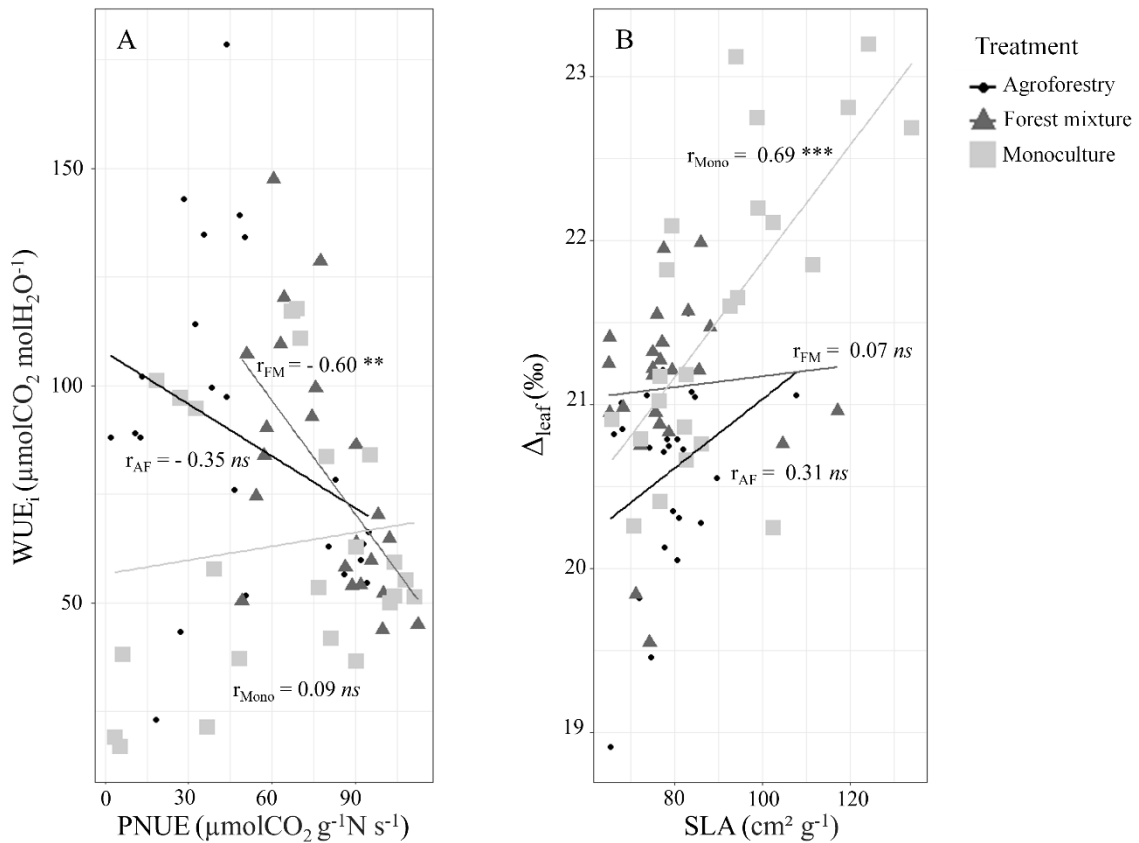


Figure III.7 – Relationship between (A) intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu\text{molCO}_2 \text{ molH}_2\text{O}^{-1}$) and photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE, $\mu\text{molCO}_2 \text{ g}^{-1}\text{N s}^{-1}$) and between (B) carbon isotope discrimination at leaf scale (Δ_{leaf} , ‰) and specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles, AF), forest mixture (grey triangles, FM) and monoculture (light grey squares, Mono). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.01$ **, $P \leq 0.001$ ***, ns: not significant).

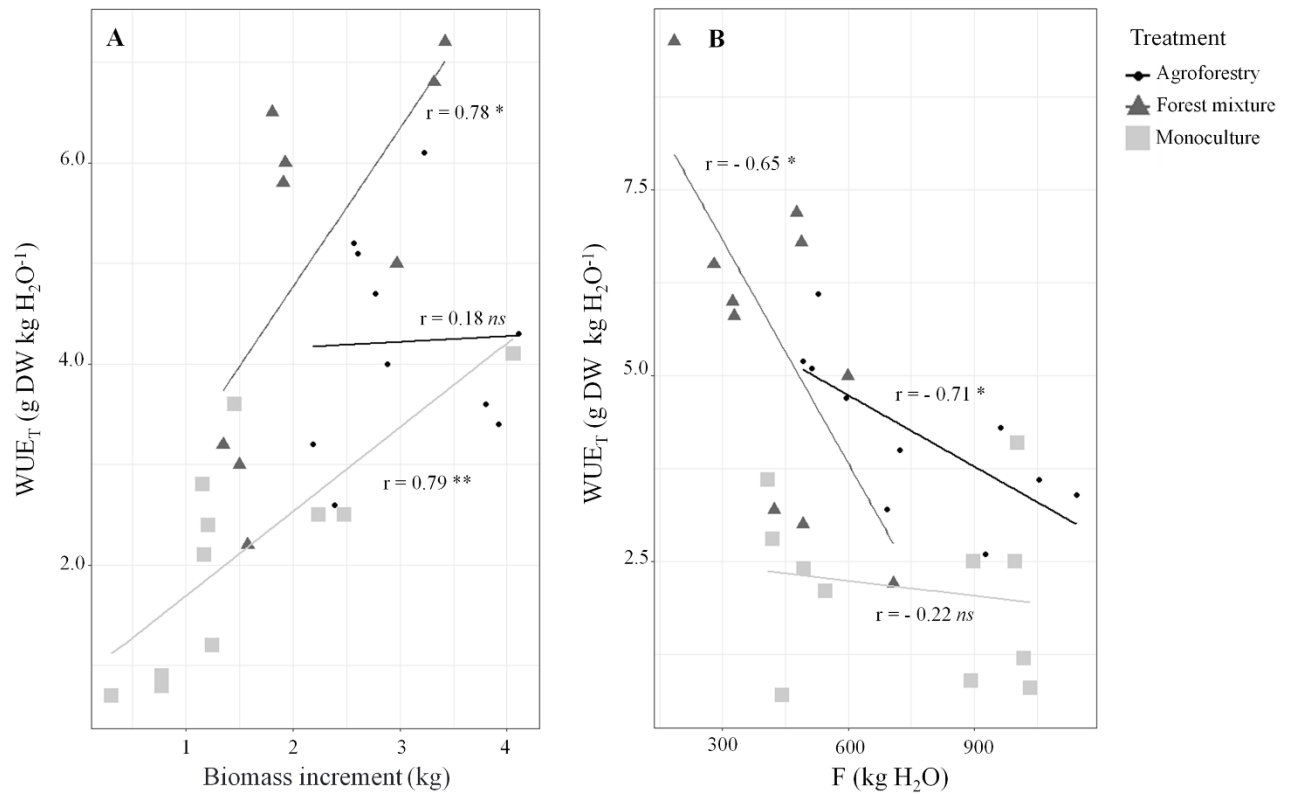


Figure III.8 – Relationship between transpiration efficiency (WUE_T , $g DW kg^{-1} H_2O$) and (A) biomass increment (kg) and (B) cumulative transpiration (F , $kg H_2O$) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles), forest mixture (grey triangles) and monoculture (light grey squares). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, ns: not significant).

4. Discussion

Our results highlight differences in WUE between the mixtures and the monoculture at both leaf and tree scales. At the leaf scale, the mean WUE (for the whole growing season) of the poplars in the monoculture was lower than for the poplars in agroforestry. At the tree scale, the poplars in both types of mixtures used water more efficiently than in the monoculture, and this difference was more pronounced between the forest mixture and the monoculture than between the agroforestry treatment and the monoculture.

For poplars in the monoculture, leaf and wood carbon isotopic discrimination values are consistent with those obtained for similar poplar hybrids in other studies (Bonhomme et al. 2008, Rasheed et al. 2011, Broeckx et al. 2014). At tree level, we found that WUE_T varied between 2.5 g kg^{-1} (monoculture) and 6.0 g kg^{-1} (forest mixture). Rasheed et al. (2013) found that whole-plant transpiration efficiency for *P. deltoides* × *P. nigra* hybrid varied between 10 and 15 g kg^{-1} , which is higher than the levels we recorded in our study, but this is certainly because their trees were young (few month cuttings).

Overall, however, studies on the effect of species mixture on poplar WUE remain scarce, especially at the tree level. In our agroforestry and forest mixture treatments, Δ_{leaf} values ranged from 20.0‰ to 21.5‰, respectively; these values are in the range of values obtained for the poplar monoculture. However, Δ_{wood} ranged from 18.4‰ (agroforestry) to 19.5‰ (forest mixture) which is lower than Δ_{wood} recorded in the monoculture.

The difference in WUE_i among treatments was less marked than the differences in terms of WUE_T , as already shown in other studies (Konate 2010, Rasheed et al. 2013). Indeed, as WUE_T integrates a larger time step than WUE_i , variability in WUE_T can be due to nocturnal transpiration or even to the respiration and transpiration of non-photosynthetic organs (Medrano et al. 2015).

An increase in WUE has been commonly observed in response to a decrease in water availability, for poplar hybrids in particular (Bonhomme et al. 2008, Fichot et al. 2009, 2010, Coccozza et al. 2011). However, even if soil water content was slightly lower in the monoculture than in the two types of mixtures, predawn leaf water-potential values did not reveal any hydric constraints for the duration of the study (maximum value recorded: -0.15 MPa; minimum value recorded: -0.35 MPa). The differences in WUE observed among treatments were then not due to water limitation. Moreover, competition for water generally

leads to an increase in WUE in the case where a water deficit occurs (e.g. Monclus et al. 2006). This pattern would be opposite to what we observed in the monoculture.

As water was not limiting in our study, the respective 97% and 158% complementarity effect we recorded for WUE_T in the agroforestry and forest mixture could be explained by aboveground complementarity. Indeed, differences in WUE between the two types of mixtures could have been due to the higher productivity resulting from a reduction in competition for light between the poplars in the mixtures and in the monoculture. In the agroforestry treatment, since every second row of poplars was replaced by alfalfa/clover, the poplars likely had better access to light than in the monoculture; indeed, as the spacing between trees increases, the competition for light decreases (Benomar et al. 2013). Robinson et al. (2001) showed that jack pine WUE at the leaf scale decreased in a two-species mixture as the density of the competitor increased. We did not observe the same phenomenon for poplars in our forest mixture, even though the planting density was the same as in the monoculture. We assumed that a lower WUE in the monoculture was due to higher intraspecific competition for light than interspecific competition between poplars and alders in the forest mixture. Indeed, the basal area in the monoculture was three times greater than in the forest mixture. It was consistent with the fact that Δ_{leaf} increased as SLA increased in the monoculture in our study, reflecting a possible effect of shading on the decrease in WUE at the leaf scale (Aranda et al. 2007). Moreover, in the same site in 2019, Thomas et al. (2021) showed that alders in the forest mixture were smaller than poplars (294 ± 3.7 cm and 382 ± 7.0 cm, respectively) resulting in canopy stratification. Thus, the poplars in mixture with alders (and those in the agroforestry treatment) had probably access to higher quantities of light than in the monoculture, leading to increased light interception and carbon assimilation, and therefore to higher WUE.

Variations in WUE_i can result from differences in photosynthetic capacity (A_{sat}) and/or stomatal conductance (g_{400}). In our experiment, the higher WUE_i for the poplars in the agroforestry plot than in the monoculture was due to differences in both g_{400} and A_{sat} . A higher nitrogen supply in mixtures than in monoculture can increase WUE in poplars, as shown in Ripullone et al. (2004) where higher nitrogen availability led to an increase in WUE in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) and poplar (*P. euroamericana* (Dode) Guinier). As N_2 -fixing species, alder and alfalfa/clover may have increased nitrogen availability in the soil for a positive effect on A_{sat} , and consequently, on WUE. In Battipaglia et al. (2017), the presence of *A. cordata* positively affected *Q. robur* WUE_i during the first

sixteen years of the plantation's growth. In our study, the leaf nitrogen content was higher for poplars in the agroforestry than in the monoculture, indicating a possible effect of the presence of the N₂-fixing species on WUE_i driven by net carbon assimilation. Indeed, a higher N_{leaf} can improve the capacity for leaf carbon uptake (Aranda et al. 2017). However, we did not find any relationship between N_{leaf} and A_{sat} contrary to Aranda et al. (2017), indicating that both A_{sat} and g₄₀₀ would be involved in WUE_i changes in agroforestry poplars. For the forest mixture, we found a negative relationship between WUE_i and PNUE. Several studies have shown a similar negative relationship between WUE and nitrogen-use efficiency at the leaf scale, which reflects a trade-off between nitrogen and WUE (Field et al. 1983, Van Den Boogaard et al. 1997, Broeckx et al. 2014, Su and Shangguan 2020). We did not find differences in WUE_i between the forest mixture and the monoculture, and it is consistent with the fact that the leaf nitrogen content was not significantly different between the two treatments. The negative relationship between WUE_i and PNUE is commonly observed for situations where stomatal conductance impacts much more transpiration than net photosynthesis. This is in line with our results showing that WUE changes at leaf level are more likely driven by stomatal conductance in the forest mixture.

Transpiration efficiency (WUE_T) was negatively correlated with total transpiration (F) in both the agroforestry treatment and the forest mixture. The higher transpiration rate of the poplar in the monoculture could explain why WUE_T was lower than in the mixtures. Indeed, at similar levels of transpiration, WUE_T in the mixtures was twice as high as in the monoculture. In agroforestry, it has been shown that nitrogen fixation stimulates tree growth (Thomas et al. 2021). In the forest mixture, the alder trees might also have increased N soil availability due to N₂-fixation, thus accelerating the rate of N cycling which could also lead to an increase in WUE (Forrester et al. 2006). This effect could have influenced WUE_T as follows: poplar leaf N was not significantly affected by the forest mixture, but the production of more numerous leaves per tree could have impacted N at the tree level. In the forest mixture and monoculture, WUE_T increased with biomass increment, meaning that faster growing poplars used water more efficiently. This positive correlation between WUE_T and biomass increment in the forest mixture and the monoculture indicates that biomass accumulation (assimilation at the leaf scale) had a larger effect than transpiration (g₄₀₀ at the leaf scale), as previously found in Rasheed et al. (2013). In line with the results obtained in Maier et al. (2019), we found that tree-scale WUE was negatively correlated with total transpiration and positively correlated with growth, but not with Δ_{wood}. Our results are also in

agreement with Forrester (2015) who showed that *E. globulus* WUE was higher in mixtures than in monocultures, but only for trees that grew faster. Although the poplars in our forest mixture were not as tall as those in the agroforestry and monoculture treatments at the beginning of the growing season, they accumulated more biomass and had a higher WUE_T.

5. Conclusion

Our study highlights that poplar trees in both mixture types showed higher WUE compared to those in monoculture. The differences we found in WUE between the monoculture and the agroforestry treatment were associated to differences in stomatal conductance and light-saturated net CO₂ assimilation rate (at the leaf level) and transpiration (at the tree level), while the differences between the monoculture and the forest mixture were more likely due to differences in stomatal conductance at the leaf level and both transpiration and biomass accumulation at the tree level. Even if the differences in WUE among treatments were in some cases non-significant, the trend was in the same direction irrespective of scale, with agroforestry showing the highest values and the monoculture showing the lowest values. All the WUE indicators, or their proxies, gave consistent results. Moreover, the more the WUE proxy was integrated over time, the more the differences among treatments were marked (instantaneous gas exchanges < leaf life span < seasonal wood core < whole tree). The strong differences observed at the tree level and seasonal scales may be due to the sum of the more minor differences highlighted at smaller spatial and time scales.

From an agronomic perspective, the higher biomass production and lower water consumption occurring when poplar is grown in association with a N₂-fixing crop make such mixtures very promising in a global context where water could become a limiting resource. However, this conclusion must be taken with two reserves:

(1) Tree planting density in the agroforestry system was half that in the monoculture. Therefore, at the plantation scale, the water needs for woody biomass production were likely to be lower in the agroforestry treatment than in the monoculture. However, it is possible that the much higher growth observed under the agroforestry regime (see Thomas et al. 2021) linked to the production of many more branches than in the monoculture (data not shown), would result in higher biomass in the agroforestry system, even on a hectare-by-hectare basis.

(2) In agroforestry systems, large poplar trees are very strong competitors for the crop, the production of which can be strongly reduced. Large trees should therefore be harvested before they threaten crop production too much. Tree rotation length and inter-row distance between trees must be optimized to allow the trees to benefit as long as possible from the nitrogen fixing by the crop without lowering crop yields due to too a strong competition.

Funding

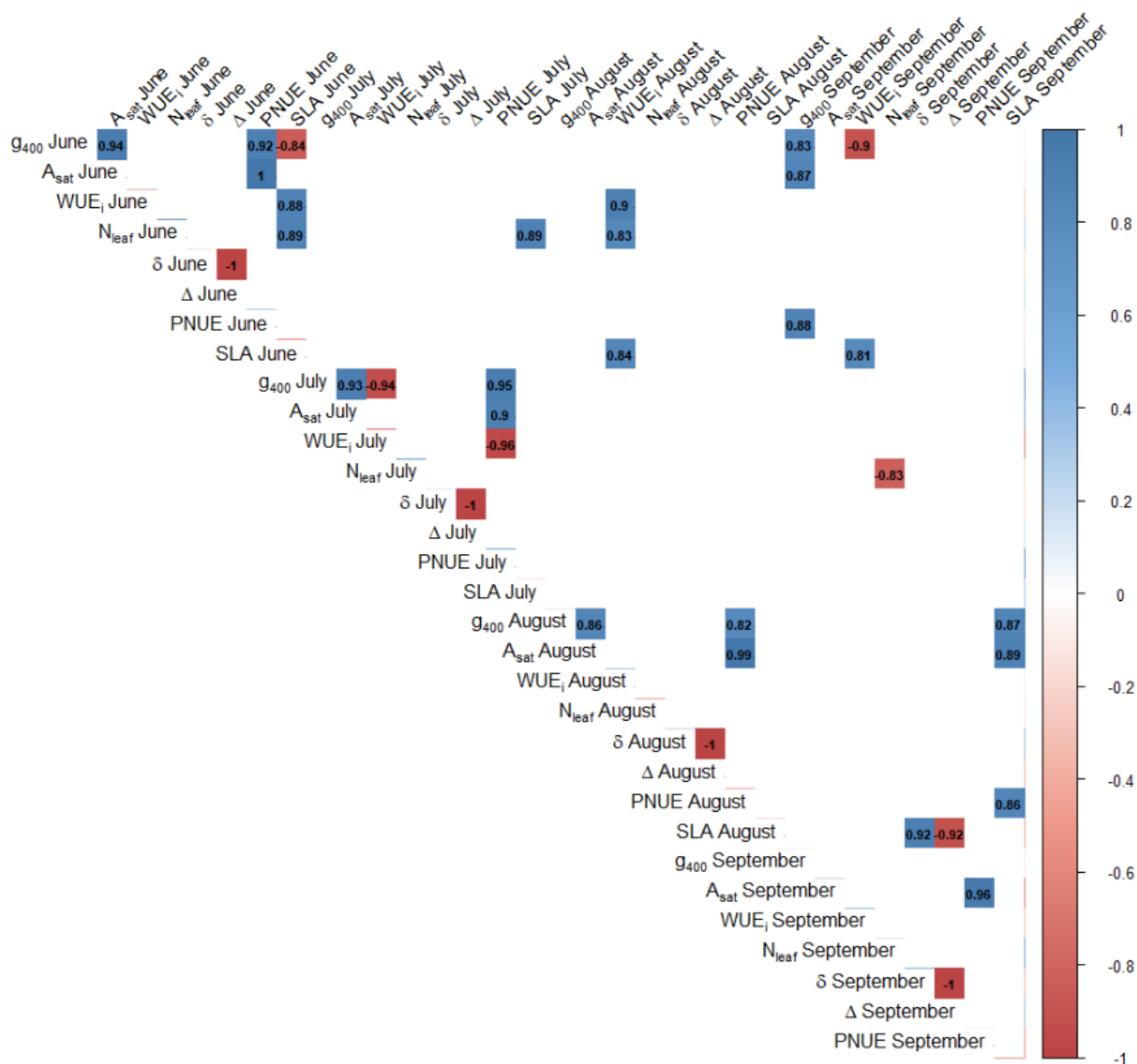
This study was supported by the French National Research Agency through the Cluster of Excellence ARBRE (ANR-11-LABX-0002-01). The experimental plantation is part of the SOERE F-ORE-T network supported by GIP ECOFOR, AllEnvi and AnaEE France. The experimental plantation is supported by the DISC and ECODIV Departments of INRAE. The sap flow experiment was partly funded by the A2F Department (Agronomie, Agroalimentaire, Forêt) of the Université de Lorraine through the project “Bilan hydrique et Minéral d'une Plantation AgroForestière peuplier-trèfle (BiM-PAF !)”.

Acknowledgements

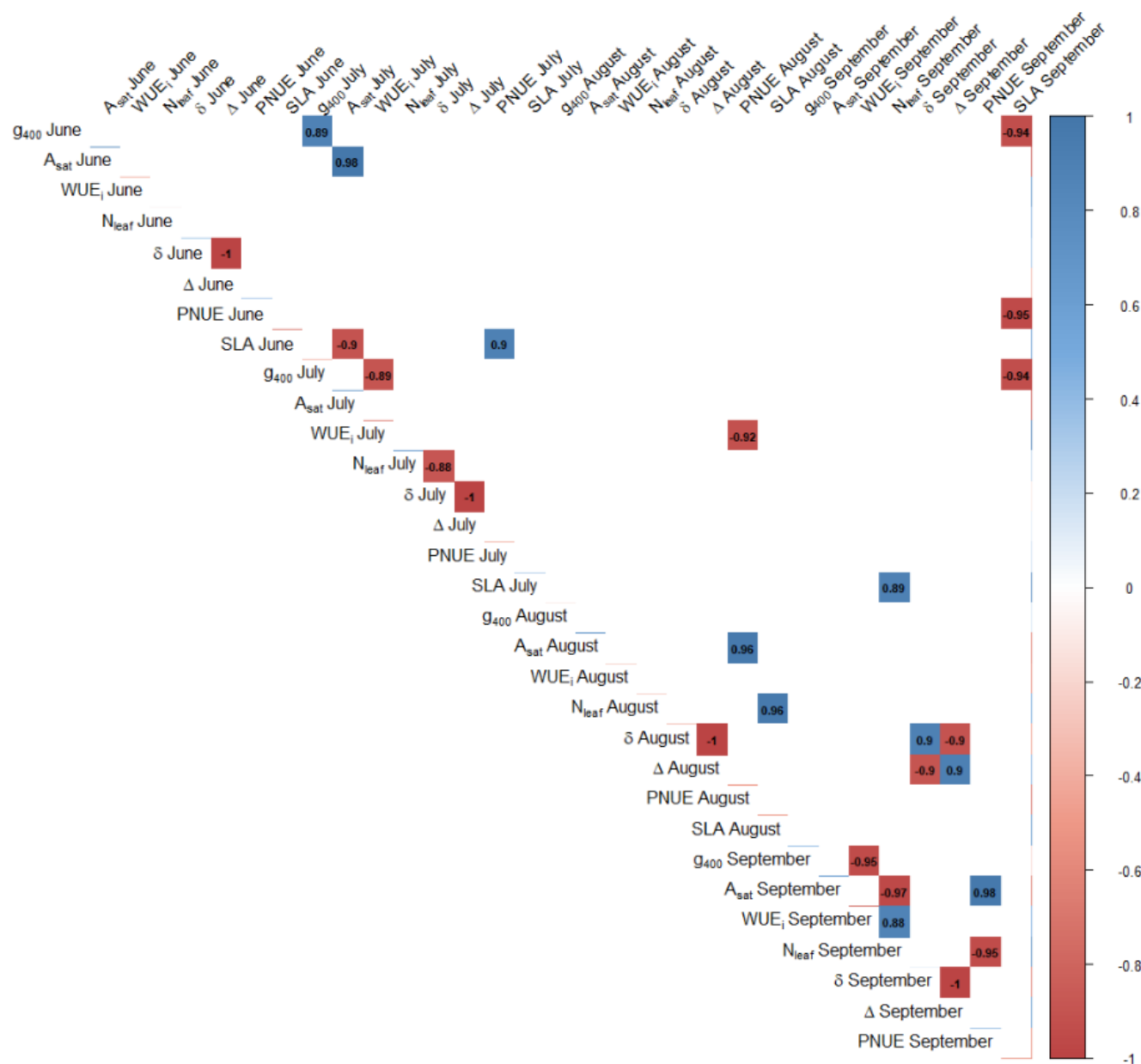
We thank the Ferme Expérimentale de la Bouzule (Université de Lorraine) for the management of the agricultural component. Leaf nitrogen and ¹³C isotopic discrimination analyses were done at the SILVATECH platform (Silvatech, INRAE, 2018. Structural and functional analysis of tree and wood facility, doi: 10.15454/1.5572400113627854E12) at INRAE Grand-Est - Nancy. We are grateful to all the colleagues and students who helped us to manage the experimental site and who participated in field and lab work.

Supplementary data

A. Agroforestry



B. Forest mixture



C. Monoculture

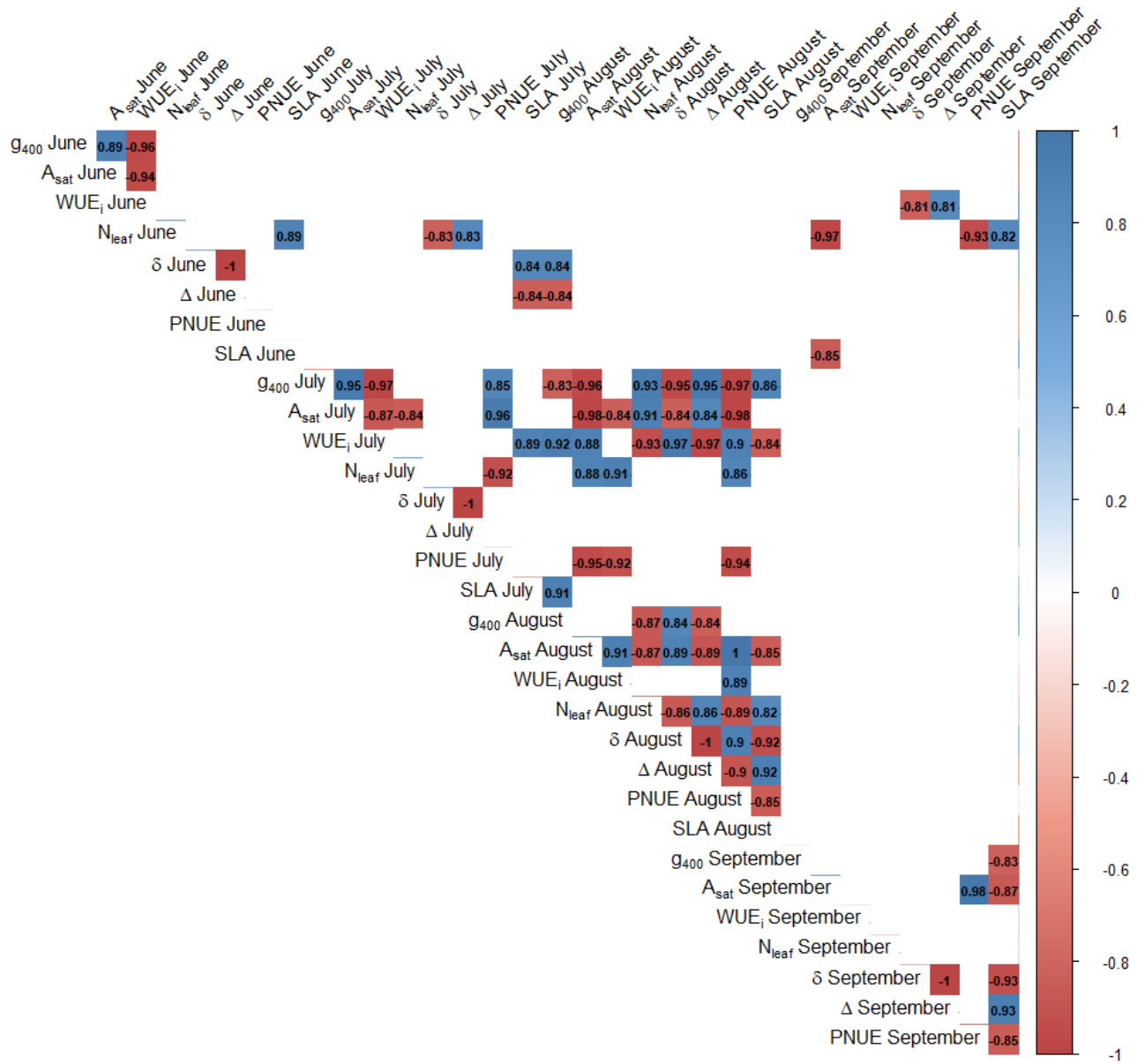


Figure A5 – Correlation matrices between the main leaf traits for poplars in the (A) agroforestry, (B) forest mixture, and (C) monoculture plantations from June to September 2020. Coefficients in blue indicate a positive correlation, those in red a negative correlation. Only significant correlations are presented ($P \leq 0.05$).

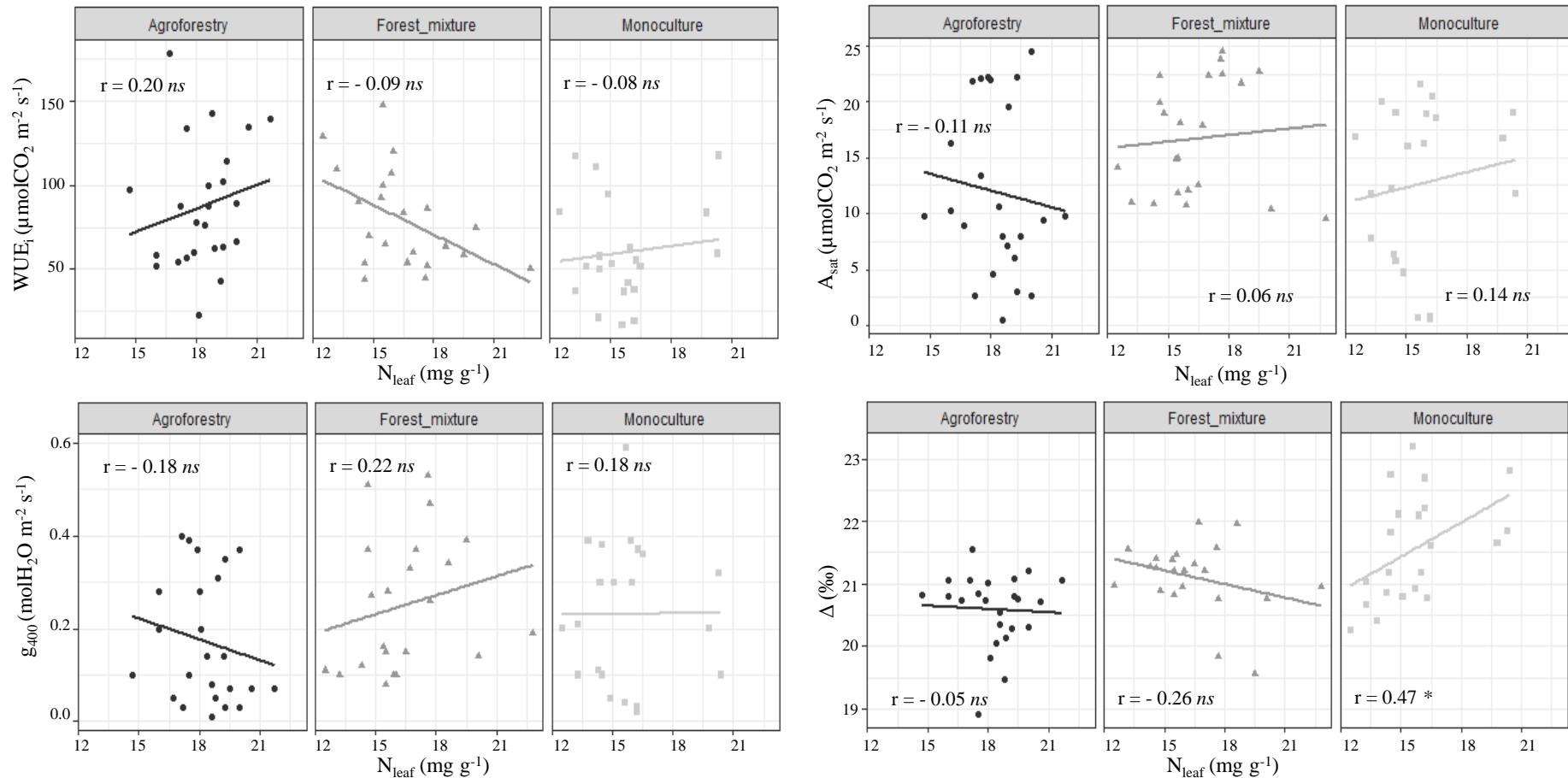


Figure A6 – Relationship between leaf nitrogen content (N_{leaf} , $mg\ g^{-1}$) and (A) intrinsic water-use efficiency (WUE_i , $\mu molCO_2\ molH_2O^{-1}$), (B) saturation assimilation rate (A_{sat} , $\mu molCO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$), (C) stomatal conductance (g_{400} , $molH_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$), (D) carbon isotope discrimination at leaf scale (Δ_{leaf} , ‰) measured in 2020 for poplars in agroforestry (black circles), forest mixture (grey triangles) and monoculture (light grey squares). Pearson's correlation coefficients are presented ($P \leq 0.01$ **, ns: not significant).

A retenir

- Les peupliers dans les deux types de mélange avaient une WUE plus élevée que dans la monoculture ;
- Une WUE plus élevée dans les mélanges n'était pas due à l'effet d'une sécheresse éventuelle mais plus certainement à une plus grande disponibilité en lumière dans les mélanges que dans la monoculture ;
- Les différences de WUE entre la monoculture et le traitement agroforestier ont été expliquées par des différences de conductance stomatique et d'assimilation du carbone (à l'échelle foliaire) et de transpiration (à l'échelle de l'arbre) ;
- Les différences de WUE entre la monoculture et le mélange forestier étaient quant à elles dues à des différences de conductance stomatique (à l'échelle foliaire) et à la fois de transpiration et d'accumulation de biomasse (à l'échelle de l'arbre).

CHAPITRE III – 2

Nitrogen-use efficiencies of *P. deltooides* × *P. nigra* in mixed plantations

*Ce sous-chapitre a pour objectif d'examiner les effets du trèfle et de l'aulne, espèces fixatrices d'azote, sur l'azote du sol disponible, l'azote foliaire ainsi que sur sa remobilisation avant la sénescence chez le peuplier, espèce non fixatrice d'azote. Il cherche à répondre à la troisième question de recherche : **Quels sont les effets des mélanges forestier et agroforestier sur l'efficacité d'utilisation de l'azote et sur le cycle saisonnier de l'azote des peupliers ?***



Figure III.9 – Photos du site expérimental de La Bouzule : (A) la parcelle agroforestière aulne – graminées équipée de paniers à litière, (B) un panier à litière. (Photos : Anaïs THOMAS)

Résumé

La productivité des arbres est étroitement liée à l'efficacité de l'utilisation des éléments nutritifs, c'est-à-dire l'efficacité avec laquelle les individus utilisent les éléments nutritifs disponibles dans l'environnement pour produire de la biomasse. Cependant, les plantations intensives d'espèces à croissance rapide sont souvent des systèmes monospécifiques et nécessitent de grandes quantités d'azote pour leur croissance. Ainsi, l'introduction d'espèces fixatrices d'azote atmosphérique (N_2) dans ces plantations peut être un atout pour réduire le besoin d'apports d'azote synthétique. En outre, elle peut potentiellement affecter l'efficacité d'utilisation de l'azote (NUE) des espèces non fixatrices de N_2 en améliorant le taux de photosynthèse à l'échelle de la feuille, et par conséquent en augmentant la production de biomasse à l'échelle de l'arbre, et/ou en augmentant la disponibilité de l'azote dans l'environnement. Dans cette étude, notre objectif principal était de déterminer si le mélange d'espèces avec des espèces fixatrices de N_2 (aulne ou trèfle) avait un impact sur la NUE du peuplier, et de déterminer si les différences potentiellement mises en évidence pouvaient être trouvées quelle que soit l'échelle, spatiale (feuille, arbre et parcelle unitaire) et temporelles (instantanée, saisonnière, durée de vie du cerne). Au niveau de la parcelle unitaire, la NUE des peupliers était significativement plus élevée dans le mélange forestier que dans l'agroforesterie et la monoculture. Cela était dû à une diminution de la production de litière couplée à une diminution des concentrations d'azote de la litière, ainsi qu'à un taux inférieur de recyclage des éléments nutritifs dans le mélange forestier par rapport aux autres traitements. Même si les différences de NUE des peupliers étaient non significatives entre les traitements au niveau de la feuille et de l'arbre (mais significatives au niveau de la parcelle unitaire), la tendance était la même quelle que soit l'échelle.

Nitrogen-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forestry and agroforestry plantations

Anaïs Thomas^a – Nicolas Marron^a – Séverine Piutti^b – Erwin Dallé^a – Pierrick Priault^{a*}

^aUniversité de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, UMR Silva, 54000 Nancy, France;

^bUniversité de Lorraine, INRAE, UMR Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE), 54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France;

*Corresponding author (pierrick.priault@univ-lorraine.fr)

Keywords: poplar, alder, mixed tree plantation, agroforestry, nitrogen-use efficiency

(in preparation for publication)

1. Introduction

Tree growth and plantation productivity are highly dependent on nutrient availability in the system and can be impacted by management practices as well as by the selected species (Richards et al. 2010). Intensive plantations of fast-growing species are often monospecific systems and require large amounts of nitrogen for their growth (Dawson and Hansen 1983, Liu et al. 2018). This is especially true for *Populus spp.* plantations which can use significant amounts of nitrogen and diminish soil fertility, particularly in short rotation plantations where frequent wood exportations limit nutrient recycling (Cannell 1999, Monclus et al. 2006, Toillon et al. 2016). Thus, the use of new systems, managed in a more sustainable way to be more productive and resource efficient, is necessary. As mixed plantations are often more productive than monocultures, they are considered as the main alternative to intensive systems (Pretzsch et al. 2017). In particular, the introduction of nitrogen (N_2)-fixing-species in these mixtures can be an additional asset to reduce the need of synthetic N inputs. Moreover, the association of a N_2 -fixing-species with a non- N_2 -fixing species generally leads to higher yields than monoculture of the non- N_2 -fixing species (Piotto 2008, Marron and Epron 2019).

Tree productivity is closely related to nutrient-use efficiency, i.e. the efficiency with which individuals use available nutrients in the environment to produce biomass (Binkley et al. 2004). Nitrogen-use efficiency (NUE) can be assessed at various time (instantaneous, growing season) and spatial scales (leaf, tree, or plantation levels; Tradiati et al. 2007, Wang et al. 2008, Novriyanti et al. 2012, Maxwell et al. 2022). According to these latter studies, NUE can be estimated at leaf level, as the amount of carbon assimilated per area-based leaf nitrogen concentration, referred as photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE). At stand level, NUE can be estimated as the aboveground net primary productivity (ANPP) divided by the product of litter mass and its nitrogen concentration, referred as stand-level nitrogen-use efficiency. However, there are many very different approaches to calculate NUE. In their review, Congreves et al. (2021) provide a comprehensive list of NUE indices, as well as their strengths and weaknesses.

When a N_2 -fixing species is associated with a non- N_2 -fixing species, mixed-tree plantations can be 18% more productive than the monoculture of the most productive species (Marron and Epron 2019). Among them, associations of eucalyptus and acacia were often found to be more productive than their respective monocultures (Forrester et al. 2004, 2007),

because of an increase in the concentration of available N in the soil via symbiotic N₂ fixation benefiting to the non-N₂-fixing species (Forrester 2006). Actinorhizal plants, i.e. capable of forming N₂-fixing root-nodule symbioses with bacteria belonging to the genus *Rhizobium* or *Frankia*, are therefore highly valued in association to fast-growing tree species to improve soil fertility (Teissier du Cros et al. 1984, Faucher et al. 2006). Alder (*Alnus spp*), for instance, can fix up to 100 kg of N per hectare per year depending on the species and on the soil and climate conditions (Le Tacon et al. 1988, Russo 2005). Thus, alder has been shown to promote the growth of the other tree species in mixture, such as poplar or Douglas-fir (Binkley 2003, Ghorbani et al. 2018). This positive effect on the target species productivity is more pronounced on poor soils when N is limiting (Binkley 1983). Binkley (2003) showed that red alder (*A. rubra*) improved Douglas-fir productivity but only on N-limiting sites. Moreover, Ghorbani et al. (2018) found that poplars (*Populus deltoides*) in association with alders (*Alnus subcordata*) had higher foliar nitrogen content than in monoculture. In the case of agroforestry plantations, trees in the system become competitors with the crop for the nutrient acquisition but if the associated crop is a N₂-fixing species, then soil N concentration may be increased through N₂ fixation in addition to deep N upwelling by the trees (Isaac et al. 2014, Isaac and Borden 2019). Isaac et al. (2014) showed that nitrogen derived from atmosphere was between 39% and 123% higher in a soybean-peach system, compared to the soybean monoculture. Dupraz et al. (1999) also found that N content of leaves in walnuts (*Juglans nigra* and *Juglans nigra* × *regia*) were increased due to the presence of alfalfa (*Medicago sativa*) and sainfoin (*Onobrychis sativa*), after one year. More recently Shults et al. (2020) showed that, after two years, poplar leaves (*P. nigra* × *P. maximowiczii*) exhibited more than 25% higher levels of N when they were intercropped with clover (*Trifolium pratense*) in a short rotation plantation, in comparison to control.

Luo and Zhou (2019) observed a decrease in NUE in different poplar species at the leaf and tree level under a high N supply treatment. At leaf level, if the associated species is a N₂-fixing species in mixture, it can have a positive effect on PNUE of the non-N₂-fixing species. This is because it can increase leaf N concentrations and photosynthetic rates per unit of leaf area of the non-N₂-fixing species, as shown by Forrester et al. (2012) for eucalyptus in a *Eucalyptus globulus* - *Acacia mearnsii* mixture. At stand level, species mixture can influence NUE through combined effects on soil N availability, N resorption efficiency (NRE), and litterfall N concentrations (Richards et al. 2010), as shown by Maxwell et al. (2022) in a birch (*Betula pendula*) - pine (*Pinus pinaster*) mixture. Aboveground biomass production (and litter

N concentration) of non-N₂-fixing species can be increased by its mixture with a N₂-fixing species compared to its monoculture. Indeed, N₂-fixing species produce N-rich and often rapidly decomposed litter with a low carbon to nitrogen ratio, known to indicate a faster restitution of N to the soil (Rice et al. 2004, Mayer et al. 2004).

In our study in northeastern France, we compared the NUE of poplar trees (non-N₂-fixing species) in a poplar – alder (N₂-fixing species) association and in a poplar – clover (N₂-fixing species) association with a poplar monoculture. Our main objective was to determine whether species mixture with N₂-fixing species had an impact on poplar NUE, and to determine if the potentially highlighted differences could be found irrespective of the scale, spatial (leaf, tree and plot level) and temporal (instantaneous, seasonal). NUE was (1) estimated from leaf gas exchanges, (2) calculated from ANPP and litter N concentration and (3) estimated from the N concentration of the wood core. We hypothesized that the species mixture would decrease the NUE of the poplars compared to their monoculture, due to an increase in soil N availability due to the presence of the N₂-fixing species in the mixture. The increase in soil N availability should in turn lead to a lower N retranslocation (i.e. the percentage of N retranslocated from green leaves to woody tissues before abscission) before leaf fall and thus to increased litter N concentrations.

2. Material and methods

2.1 Site description

This study was carried out at the experimental farm of La Bouzule near Nancy, in northeastern France. It is situated at 48°44'19"N and 6°18'50"E, at an altitude of about 219 m above sea level. The region is characterized by a warm temperate climate, according to the Köppen-Geiger climate classification world map (Kottek et al. 2006). The soil is a Vertic Stagnic Cambisol (IUSS Working Group WRB 2006). The experimental setup for the monitoring of climatic conditions is described in details in Thomas et al. (2021).

The experimental plantation was installed during the spring of 2014 and is 448 m long and 73 m wide, for a total area of 3.27 ha. It is composed of three types of mixtures including N₂-fixing species: 1. poplars (*P. deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L., clone 'Dorskamp') with an alfalfa (*Medicago sativa* L.) - clover (*Trifolium pratense* L.) succession; 2. poplars and alders (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.); 3. alders with a temporary grassland (*Lolium perenne* L., *Festuca ovina* L.), as well as their equivalent agricultural and woody monocultures. The forest plots (monoculture and forest mixture) were planted at a density of 2000 trees per hectare while the agroforestry plots present a density of 1000 trees per hectare since every other row of trees was replaced by the herbaceous crop/grassland (see Thomas et al. 2021 for more details). Each plot measures approximately 0.15 ha. The total precipitation was 804 mm and the mean temperature was 10.4°C in 2021. A detailed soil analysis is available in Clivot et al. (2019).

2.2 Leaf gas exchanges and morphological traits

In July and August 2021, a LI-6800 portable photosynthesis system (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) was used to measure leaf gas exchanges on mature leaves (foliar index ranging between 10 and 15 when leaves are numbered from the top of the branches) fully exposed to sunlight for six poplar and six alder trees per treatment (n=36). The light-saturated net CO₂ assimilation rate (A_{sat} , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was measured at a photosynthetic photon flux density (PPFD) of 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a leaf temperature of 25°C, a vapour pressure deficit of 1.2 ± 0.2 kPa and an air CO₂ concentration of 400 ppm.

After each measurement, leaves were collected without petiole and were calked on paper sheets to determine their leaf area (LA) with a Delta-T Area Meter MK2 planimeter (Delta-T Devices Ltd, UK). The leaves were then oven-dried at 60°C for at least 48 h,

weighed and then ground to powder. Specific leaf area (SLA, $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) was calculated for each leaf as the ratio between the leaf area (m^2) and the dry mass (g). Nitrogen concentrations (N_{leaf} , mg g^{-1}) were measured with an elemental analyzer (NA-1500, Carlo Erba, Italy) from 2-mg of leaf dry powder. N_{leaf} values were converted to N concentration per unit area (N_A , mg m^{-2}) using the SLA values.

2.3 Aboveground net primary productivity (ANPP)

The increment in biomass production during the 2021 growing season was used as an estimate of ANPP ($\text{kgDW}_{\text{biomass}} \text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) for the poplars in each treatment. The annual estimates of the aboveground dry biomass (g) were calculated using the following allometric equation established in Marron et al. (2018a):

$$\text{Aboveground dry biomass} = 225.154 \text{ DBH} - 7.111 \text{ H} - 2348.787$$

where DBH is the diameter at breast height (mm) and H is the height (cm) of each poplar tree. This allometric equation has previously been determined for the same poplar clone under similar mixed planting conditions (e.g. planting density, climate conditions). R^2 was 0.98 (Marron et al. 2018a).

2.4 Leaf litter collection, C and N contents

The litterfall was monitored from August 11 to December 8, 2021. Every two weeks, the litter was collected from ten litter traps ($50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$, 0.25 m^2) installed in each mixture and six in each tree monoculture, for a total of 42 litter traps. Litter traps were placed at different distances from randomly selected trees and in the Voronoï space to cover spatial variability in each treatment. This space corresponds to the elemental area defined by the half-distance between a tree and its neighbor; a quarter of the area was retained for sampling. Therefore, litter traps were placed on the diagonal between two trees: at the foot of the tree, at quarter and half distance, and considering "virtual" trees when tree lines are replaced by the agroforestry crop (Figure III.10). Leaf litter and woody debris collected from each basket were separated by species, dried at 45°C during 48h, weighed, and then pooled over the entire fall period. Oven-dried litter was ground to powder for nutrient analysis: N and carbon (C) concentrations were measured with an elemental analyzer (NA-1500, Carlo Erba, Italy) from 7-mg of leaf litter dry powder. Litter mass ($\text{gDW}_{\text{lit}} \text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) and N restitution through litter to the soil ($\text{g}_N \text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) were calculated for each species in each treatment. The C:N ratio was calculated as the total C content of leaf litter divided by the corresponding N content.

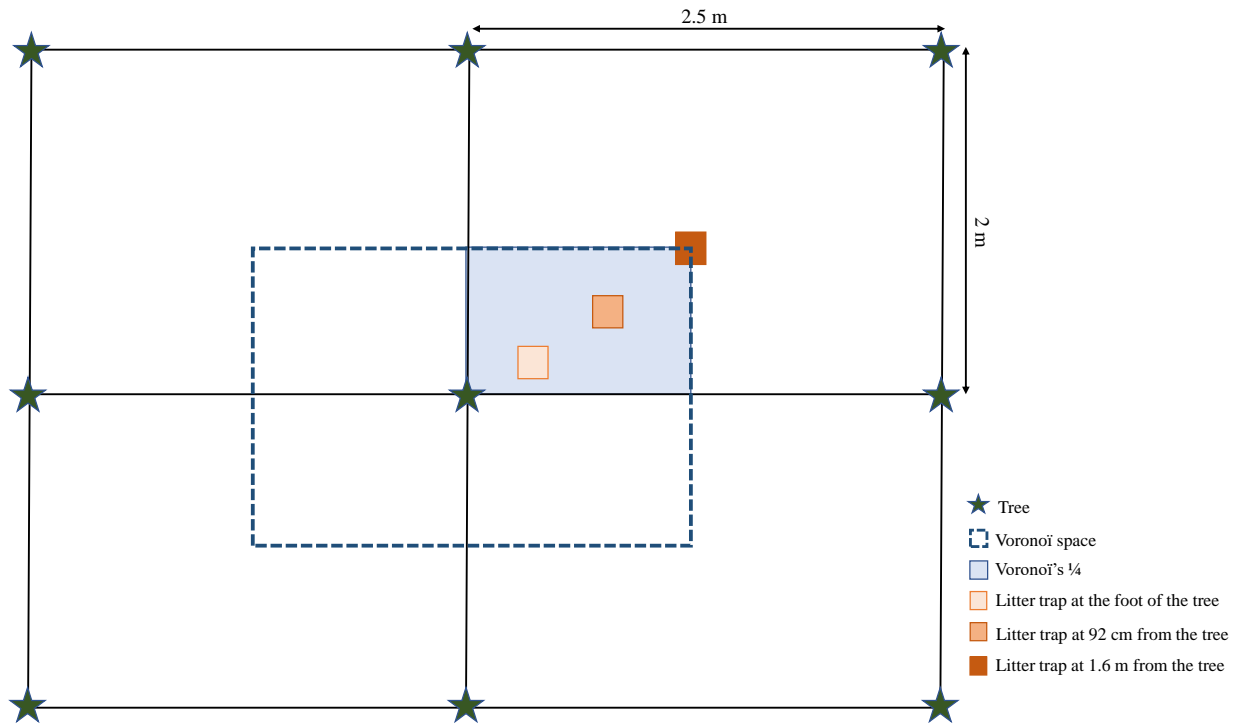


Figure III.10 – Location of litter traps in the $\frac{1}{4}$ of Voronoi.

2.5 Nitrogen-use efficiencies

At leaf level, photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{N s}^{-1}$) was calculated as the ratio between A_{sat} and N_A according to Broeckx et al. (2014). At tree level, 2020 tree-rings of poplars ($n=36$) were sampled and analyzed for their nitrogen concentration. The stem microcores were collected in February 2021 with a Trephor (Rossi et al. 2006). Using a Trephor allowed us to take tree microcores measuring 2 mm in diameter and 15 mm in length, thus minimizing damage to the tree. The collected core samples were placed in Eppendorf tubes, then dried in the ambient air for 72h before being surfaced with a scalpel. Once surfaced, the microcores were observed under a binocular microscope (LeicaMZ12). The 2020 ring was cut after checking its length with the CooRecorder software. N concentration was measured with an elemental analyzer (NA-1500, Carlo Erba, Italy) from 10-mg of ring dry powder. Nitrogen-use efficiency of the 2020 ring (NUE_{wood} , gDW gN^{-1}) was estimated as the amount of wood dry biomass per gram of nitrogen. At plot level, aboveground nitrogen-use efficiency ($\text{NUE gDW}_{\text{biomass}} \text{ mgN}^{-1}$) for the poplars in each treatment was calculated according to Binkley et al. (2004):

$$\text{NUE} = \frac{\text{ANPP}}{\text{litter mass} \times \text{litter N concentration}} / 1000$$

N concentrations of senesced leaves in leaf litter were used to estimate nitrogen resorption efficiency (NRE %; hereafter called “retranslocation”), calculated according to Crous et al. (2019), as the fraction of N removed from its senescent leaves ($N_{\text{senescent}}$, mg g^{-1}) relative to the amount present in its green leaves (N_{green} , mg g^{-1}) prior to leaf abscission following:

$$\text{NRE} = \frac{(N_{\text{green}} - N_{\text{senescent}})}{N_{\text{green}}} \times 100$$

2.6 Statistical analyses

The effects of species, treatment (three treatments: Monoculture, Agroforestry, Forest Mixture) and their interaction (species \times treatment) were tested on N_{green} , $N_{\text{senescent}}$, C:N, PNUE, litter mass, and N restitution with a linear model (*lm* procedure). For the poplars, the treatment effect was tested on NUE_{wood} and NUE with a one-way ANOVA. All statistical analyses were done with the free R software, version 2022.02.1 (R Development Core Team 2022). Means are expressed with their standard errors. The statistical tests were considered significant at $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ or $P \leq 0.001^{***}$. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), Tukey contrasts (*glht* procedure, *multcomp* package) were used.

3. Results

3.1 Leaf N concentration, retranslocation and C:N ratio

N_{green} and $N_{\text{senescent}}$ were significantly higher for the alders than for the poplars ($P \leq 0.001^{***}$; Table III.4). For the poplars, there was no difference in N_{green} among treatments ($P > 0.76$), while $N_{\text{senescent}}$ was significantly higher in the agroforestry than in the forest mixture ($P \leq 0.01^{**}$), and there was no difference between the two mixtures and the monoculture ($P > 0.14$; Table III.4).

The poplars and alders had a similar NRE with a mean value of 40.3% and 40.8%, respectively (Table III.4). For the poplars, the NRE was lower in the monoculture (37.1%) and in the agroforestry (37.5%) treatments compared to the forest mixture (46.3%). For the alders, the NRE was lower in the monoculture (38.1%) than in the mixtures (42.8% in the agroforestry and 41.6% in the forest mixture; Table III.4).

The C:N ratio was significantly higher for the poplars in the forest mixture (45.5 ± 1.8) than in the monoculture (34.5 ± 1.0) and the agroforestry treatments (33.4 ± 0.8 ; $P \leq 0.001^{***}$), while there was no difference in C:N between alders regardless of the treatment ($P > 0.51$; Table III.4).

3.2 Nitrogen-use efficiencies

PNUE of the poplars was significantly higher than PNUE of the alders ($P \leq 0.001^{***}$), with a mean value of $124.4 \pm 13.5 \mu\text{molCO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{N s}^{-1}$ versus $66.0 \pm 6.1 \mu\text{molCO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{N s}^{-1}$, respectively (Figure III.11) For both species, there were no difference in PNUE among the different treatments ($P > 0.9$). There was no treatment effect on NUE_{wood} of the poplars, which averaged $480 \pm 40 \text{ gDW gN}^{-1}$ ($P > 0.7$; Figure III.12).

NUE was significantly higher for the poplars in the forest mixture than in the monoculture and agroforestry treatments (Figure III.13) with a value of $28.4 \pm 3.2 \text{ gDW}_{\text{biomass}} \text{ mgN}^{-1}$ versus $8.7 \pm 0.9 \text{ gDW}_{\text{biomass}} \text{ mgN}^{-1}$ and $13.6 \pm 1.4 \text{ gDW}_{\text{biomass}} \text{ mgN}^{-1}$ ($P \leq 0.001^{***}$), respectively. There was no difference in NUE between the poplars in the monoculture and the agroforestry treatments ($P = 0.21$; Figure III.13).

Table III.4 – Mean values \pm standard errors for N concentration in green (N_{green} , mgN gDW_{li}⁻¹) and senescent leaves ($N_{senescent}$, mgN gDW_{li}⁻¹), N retranslocation efficiency (NRE, %), and carbon to nitrogen ratio (C:N) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). For each column, different letters indicate significant differences between treatments and species. Significant effects of treatments (T), species (S) and their interaction are indicated by asterisks: $P \leq 0.01$ **, $P \leq 0.001$ ***, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture).

Species	Treatment	N_{green}	$N_{senescent}$	NRE	C:N
Poplar	Agroforestry	21.6 \pm 0.6 ^{ab}	13.3 \pm 0.6 ^b	37.5	33.4 \pm 0.8 ^a
	Forest mixture	19.0 \pm 0.9 ^a	10.3 \pm 0.6 ^a	46.3	45.5 \pm 1.8 ^b
	Monoculture	20.0 \pm 0.7 ^a	12.6 \pm 0.4 ^{ab}	37.1	34.5 \pm 1.0 ^a
Alder	Agroforestry	25.9 \pm 2.5 ^{bc}	16.2 \pm 0.5 ^c	42.8	32.4 \pm 1.1 ^a
	Forest mixture	29.6 \pm 1.4 ^c	17.3 \pm 0.7 ^c	41.6	29.7 \pm 1.1 ^a
	Monoculture	28.6 \pm 1.0 ^c	17.2 \pm 0.5 ^c	38.1	29.6 \pm 1.1 ^a
		S ***	S ***		S ***
		T ns	T ns		T **
		S \times T ns	S \times T ***		S \times T ***

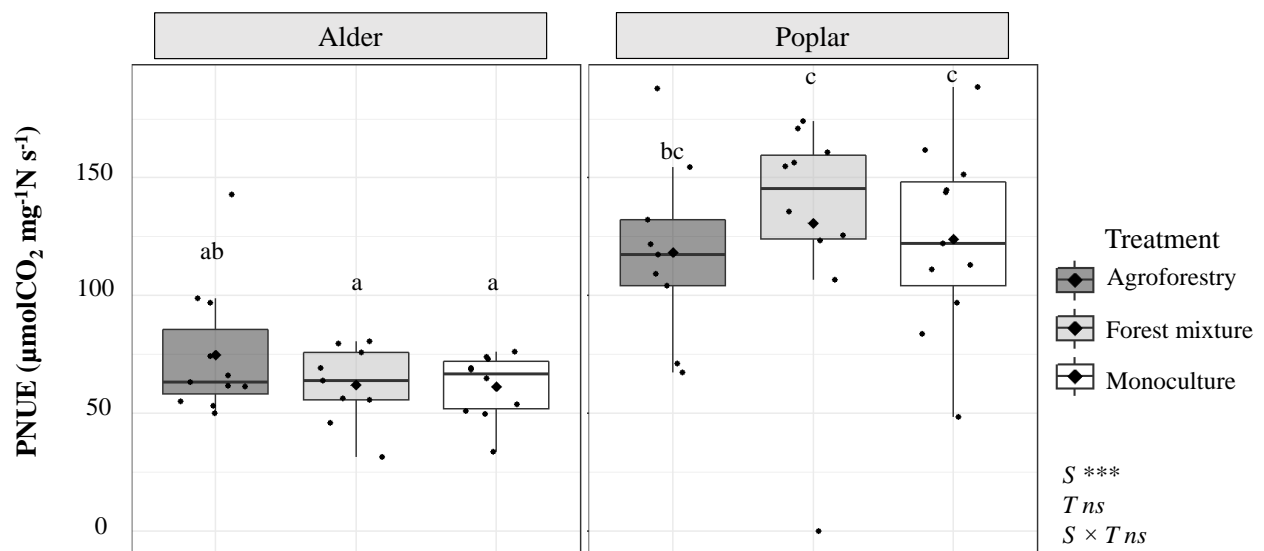


Figure III.11 – Photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE, $\mu\text{molCO}_2 \text{ mgN}^{-1} \text{ s}^{-1}$) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences between species and treatments. Significant effects (S, species; T, treatment and their interaction, S \times T) are indicated by asterisks: $P \leq 0.001$ ***, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values.

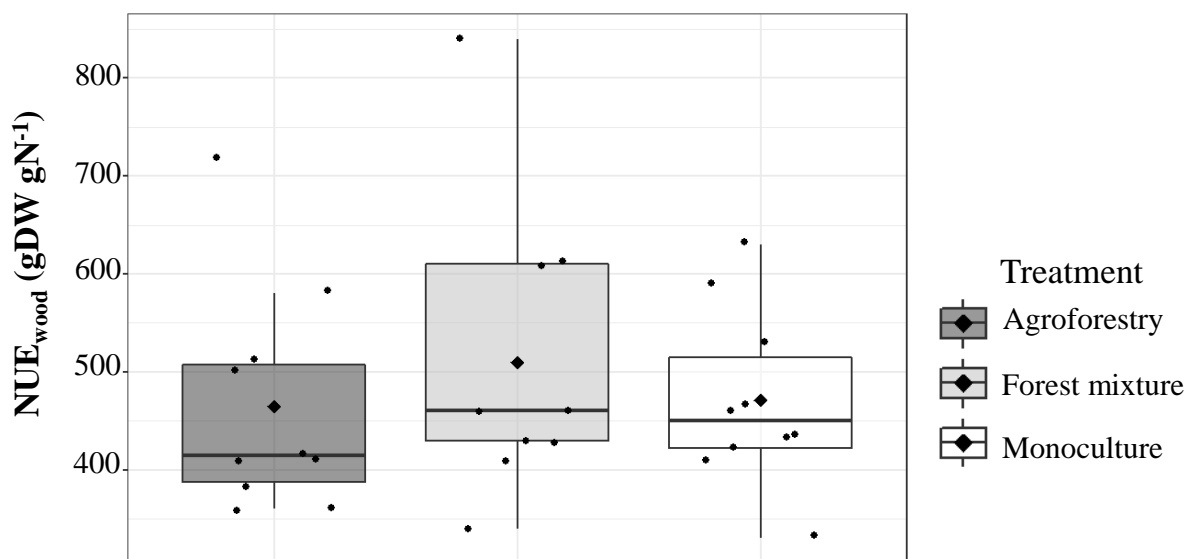


Figure III.12 – Nitrogen-use efficiency from the 2020 wood ring (NUE_{wood} , $gDW\ gN^{-1}$) of poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). The treatment effect was not significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below ($Q1$) and above ($Q3$) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values.

3.3 Litter mass and N restitution through litter to the soil

The litter mass ranged from $47.4 \pm 8.7\ gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$ (alder in forest mixture) to $336.0 \pm 68.8\ gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$ (poplar monoculture) and was significantly higher for the poplars than for the alders ($P \leq 0.001^{***}$; Figure III.14A). The litter mass was significantly higher for the poplars in the monoculture ($336.0 \pm 68.8\ gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$) than for the poplars in the forest mixture ($115.8 \pm 22.6\ gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$; $P \leq 0.01^{**}$), while there was no significant treatment effect neither between the monoculture and the agroforestry ($243.9 \pm 41.2\ gDW_{lit}\ m^{-2}\ yr^{-1}$; $P = 0.4$), nor between the forest mixture and the agroforestry ($P = 0.06$; Figure III.14A). The major part of the total litter production in the forest mixture came from poplars leaves (74.9%).

The N restitution through litter to the soil ranged from $0.83 \pm 0.2\ g\ m^{-2}\ yr^{-1}$ (alder in forest mixture) to $4.43 \pm 0.9\ g\ m^{-2}\ yr^{-1}$ (poplar monoculture) and was significantly higher for the poplars than for the alders ($P \leq 0.001^{***}$; Figure III.14B). For the poplars, the N restitution through litter to the soil was significantly higher for the poplars in the monoculture and in the agroforestry treatment ($3.2 \pm 0.6\ g\ m^{-2}\ yr^{-1}$) than in the forest mixture ($1.1 \pm 0.3\ g\ m^{-2}\ yr^{-1}$; $P \leq 0.05^{*}$), and there was no difference between the poplars in the monoculture and in the agroforestry treatment ($P = 0.4$). For the alders, the N restitution through litter to the

soil was not significantly different among treatments with a mean value of $1.3 \pm 0.4 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ ($P > 0.5$; Figure III.14B).

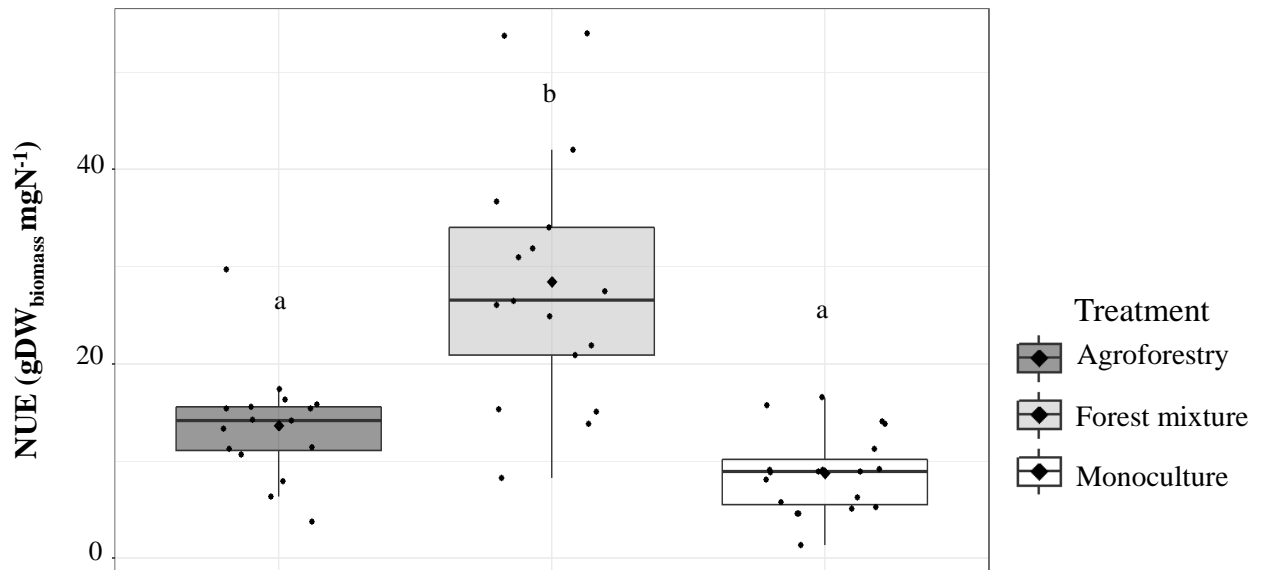


Figure III.13 – Aboveground nitrogen-use efficiency (NUE, $\text{gDW}_{\text{biomass}} \text{mgN}^{-1}$) of poplars depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences among treatments. The treatment effect was significant ($P \leq 0.001^{***}$); $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values.

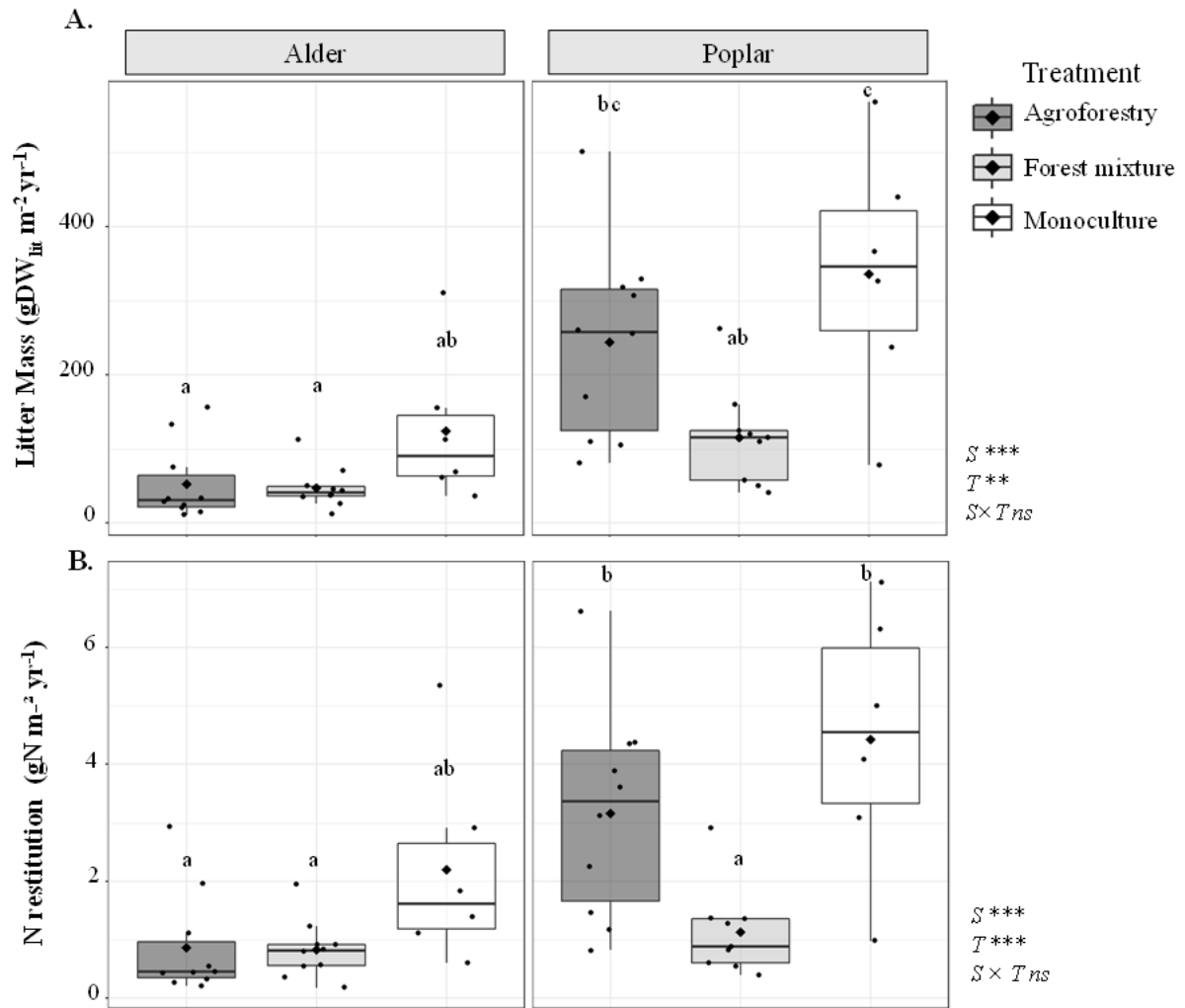


Figure III.14 – (A) Litter mass ($\text{gDW}_{\text{litter}} \text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) and (B) N restitution through litter to the soil ($\text{gN m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) of poplars and alders depending on the treatment (Agroforestry, Forest mixture, Monoculture). Different letters indicate significant differences between species and treatments. Significant effects (S, species; T, treatment and their interaction, $S \times T$) are indicated by asterisks: $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns: non-significant; $n = 12$ (Agroforestry, Forest mixture) or $n = 10$ (Monoculture). Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. The diamond in the box represents the mean of all trees. Vertical bars represent minimum and maximum values. Black dots are individual values.

4. Discussion

We investigated how the nitrogen-use efficiency (NUE) of the poplars in monoculture was affected when the species was associated with an herbaceous species (clover) or with a woody species (alder), both of them being able to fix symbiotically atmospheric N₂. We hypothesized that the species mixture would cause a decrease in the NUE of the poplars compared to their monoculture, due to an increase in soil N availability because of the presence of the N₂-fixing species in the mixture. The increase in soil N availability should in turn lead to a lower N retranslocation before leaf fall and thus higher litter N concentrations in the two kinds of mixtures as compared to the poplar monoculture.

Our results highlight that the two species mixtures did not result in any change in photosynthetic nitrogen-use efficiency (PNUE) of the poplars compared to their monoculture. Nevertheless, the alders showed lower PNUE and had a higher N concentration in green and senescent leaves than the poplars. It could be attributed to their N₂-fixing ability, with the lower efficiency being related to a higher concentration of foliar N (Vitousek 1982, Novriyanti et al. 2012). Novriyanti et al. (2012) showed that acacia (*Acacia auriculiformis* and *A. mangium*) and eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*, *E. urophylla*, *E. grandis*, and *E. globulus*) exhibit different strategies for using nitrogen in their photosynthetic system. Thus, the alders may invest N in other functions (e.g. structural N in cell wall proteins) rather than in proteins and photosynthetic mechanisms (Tanabe et al. 2022), which could also explain their lower growth rate compared to poplars (Thomas et al. 2021).

At plot level, our results highlight differences in aboveground NUE among the poplars in the forest mixture compared to the poplars in the monoculture and agroforestry treatments. In their study, Maxwell et al. (2022) found a higher NUE in the birch (*Betula pendula*) – pine (*Pinus pinaster*) mixture than in each respective monoculture due to higher biomass accumulation coupled with a decrease in N concentration in the litter of the mixture due to pine dominance, the litter of which is probably more difficult to degrade than litter from deciduous species. According to our results, the high NUE observed in the forest mixture was mainly due to low litter production associated with a low restitution of N to the soil, through the litter, rather than to differences in biomass accumulation (ANPP) which was not significantly different among the three treatments (data not shown). The difference in litter production may be explained by the lower growth performance of the poplars in the forest mixture than in the two other treatments as shown in Thomas et al. (2021) in the same

plantation, as well as to the low litter production of alders in the forest mixture. These results are comparable to those of González et al. (2020) who showed that the poplar monoculture (*P. alba*) provided the highest quantity of litter with $337 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, followed by the poplar – black locust (*Robinia pseudoacacia*) mixture with a total of $282 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ and finally, by the black locust monoculture with $255 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$. The authors assumed that this was due to the rapid growth rate of the *P. alba* genotype compared to *R. pseudoacacia* over two 3-year rotations. However, our results contrast with those of Ghorbani et al. (2018) where the amount of litter produced was higher in the alder (*Alnus subcordata*) monoculture ($565 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$) than in the poplar (*P. deltoides*) monoculture ($387 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$). The values recorded in Ghorbani et al. (2018) for the poplar monoculture are close to those reported in our study but those for the alder monoculture and forest mixture are well above ours. This is probably due to the fact that alders were younger in our study than in Ghorbani et al. (2018).

The difference in NUE found between the poplars in the forest mixture and in the agroforestry plots was surprising even though a N_2 -fixing species was present in both treatments. Indeed, it has often been shown that the presence of a N_2 -fixing species in the mixture can benefit to a non- N_2 -fixing species by increasing the N concentration of the leaves (González et al. 2020). Vogel (1998), for instance, found that N concentrations in foliage and in annual litterfall were higher for jack pine (*Pinus banksiana*) in mixture with alder (*Alnus crispa*) than for jack pine without alder, because of a higher N availability in the mixture compared to the jack pine monoculture. In our study, the green leaf N concentration was not significantly different between the two kinds of mixtures and the monoculture. However, soil organic N content was significantly higher in the poplar-legume agroforestry treatment than in the poplar-alder forest mixture in 2018 at the same study site (Thomas et al. 2021). This result would suggest a stronger effect of the legume than of the alder on the poplar NUE, i.e. a lower poplar NUE in the agroforestry than in the forest mixture. Indeed, a decrease in NUE at the foliar and tree level under high N treatment has been observed by Luo and Zhou (2019) in different poplar species. However, this was not observed in this study as NUE remained unchanged between the agroforestry and monoculture while it was higher in the forest mixture.

High NUE can be found in cases where small amounts of nutrients flow into the litter (Binkley et al. 1992). Binkley et al. (2004) showed that NUE decreased with increasing N supply in litter. In mixture, litter decomposition from one species can be accelerated by the presence of litter from another species (Taylor et al. 1989, Gartner and Cardon, 2004,

Forrester et al. 2006). Yeste et al. (2021) showed that the lowest C:N ratio was found in the soil near beech (*Fagus sylvatica*) in mixture with pine (*Pinus sylvestris*) ; it suggests a better quality of the mixed litter compared to the pine litter leading to higher decomposition rates than litter from monospecific plots. Rice et al. (2004) have shown that black locust (*Robinia pseudoacacia*), a N₂-fixing species, impacts N cycling in pine (*Pinus rigida*) - oak (*Quercus ilicifolia*, *Q. prinoides*) systems by adding high quality litter that recycles rapidly, leading to increased soil N reserves and improved net N mineralization rates. The C:N values observed in our study for the monoculture and agroforestry poplars are consistent with those of Cotrufo et al. (2005) who recorded a C:N ratio of 33 for *P. euramericana*. In contrast, a C:N ratio superior to 40 in leaf litter indicates a low decomposition rate and N immobilization (Moore et al. 2006), i.e. most of the N is immobilized by microorganisms and is not available for plants (Dickson 1989). In our study, poplar litter in the forest mixture immobilizes N because of a C:N ratio of 45.5. This value is close to the results obtained in Gonzáles et al. (2022) who reported a C:N ratio of 47.9 in *P. deltoides* monoculture. In the latter study, low soil N availability was the cause of a high C:N ratio in poplars associated with high N retranslocation. In addition, although the N content of alder leaves in the litter was significantly higher than for poplars in the forest mixture, this did not improve the poplar litter decomposition rate, estimated from the C:N ratio, compared to the poplar monoculture. However, the presence of alder improves, to a lesser extent, the litter quality of the mixture by providing more easily degradable litter. Firstly, it can be assumed that since poplar leaves represent up to 75% of the litter, the potentially positive effect of N-enriched alder litter was reduced. Secondly, annual N release to the soil via leaf litter was higher in the poplar monoculture than in the forest mixture, due to the higher mass of leaf litter.

For the poplars, the N concentration in green leaves recorded in our study was close to those previously reported in the literature for *P. euramericana* and *P. nigra* (Marron and Ceulemans 2006, Calfapietra et al. 2007). The differences in N concentration in senescent leaves between the poplars and the alders were consistent with previous studies who showed that senescent leaf N concentration was significantly higher in N₂-fixing species than in non-N₂-fixing species (Hayes et al. 2014, Oikawa et al. 2020). The retranslocation of nutrients is one of the most important strategy used by plants to conserve nutrients and influence processes as varied as competition, nutrient cycling and their uptake and stand productivity (Brant and Chen 2015, Gonzáles et al. 2022). Keskitalo et al. (2005) showed that approximately 90% of the leaf N in aspen (*P. tremula*) could be retranslocated before leaf fall.

In their review, Brant and Chen (2015) showed that an increase in soil fertility reduced nutrient resorption. In our study, the N retranslocation efficiency (NRE) values obtained for the poplars, i.e. the percentage of N retranslocated from green leaves to woody tissues before abscission, were consistent with those shown by Calfapietra et al. (2007) for *P. euramericana*. However, the presence of alder in the forest mixture did not decrease the NRE of poplars contrary to what was expected from the effect of the N₂-fixing species, and there seemed to be no difference between NRE of poplars in monoculture and in agroforestry. This was also highlighted by Vogel and Gower (1998) in a jack pine – green alder mixture, where the average percentage of NRE from senesced foliage of jack pine (ranging from 55% to 62%) did not differ with the monoculture, probably because nutrient retranslocation is only weakly influenced by nutrient availability for a variety of species. In general, for deciduous species, percentages of NRE ranged between 40 and 68% (Vergutz et al. 2012), which means that the percentages of NRE detected in our study are close to the lower limit of those cited in the literature for deciduous species. This result suggests that retranslocation is low, because N is probably not limiting, whether or not there is the presence of an N₂-fixing species. In addition, NRE is a direct estimate of the NUE of the species, and a high NRE generally coincides with a high NUE (Vitousek 1982, Pérez et al. 2003), which is consistent with our results. For the alders, NRE was higher in mixtures than in the monoculture which is surprising because it is generally assumed that higher levels of N in green leaves are associated with lower retranslocation efficiency (Stewart et al. 2008, Vergutz et al., 2012, Oikawa et al. 2020). In contrast, other studies found no difference in NRE between N₂-fixing and non-N₂-fixing species (Hayes et al. 2014, Tanabe et al. 2022). This suggests that N retranslocation is as important for alders as for poplars in our study, or not important if N is not limiting. This may partially explain why there was no positive effect of the alder on the poplar NUE in the forest mixture.

5. Conclusion

Our study highlights that poplar trees in forest mixture showed higher NUE than poplars in monoculture and in agroforestry while there was no effect of legume on poplar NUE. The differences we found in NUE among the treatments were associated to differences in the litter mass production and N restitution through litter to the soil, as well as to differences in the litter decomposition rate. Based on the nitrogen retranslocation values, which were similar between both species, there seems to be no N limitation in the plantation. Even if the differences in NUE among treatments were non-significant at the leaf and wood core levels, the trends were in the same direction irrespective of the scale, with forest mixture showing the highest values and the monoculture and the agroforestry showing the lowest values.

This study highlights that the type of mixture involves different consequences in terms of the resource use efficiency of a species. Indeed, our previous work on the same plantation showed a higher water-use efficiency (Thomas et al. 2022) and lower biomass production (Thomas et al. 2021) in forest mixture compared to poplar in the monoculture. For agroforestry poplars, on the other hand, water-use efficiency and growth performance were higher than in the monoculture.

A retenir (Figure III.15)

- Les peupliers dans le mélange forestier avaient une NUE plus élevée que les peupliers en monoculture ;
- Il n'y avait aucun effet de l'association avec la légumineuse sur la NUE du peuplier en agroforesterie ;
- Une NUE plus élevée dans le mélange était due à des différences dans la production de litière et la restitution d'azote par les litières, mais aussi à une décomposition plus lente de la litière des peupliers dans le mélange forestier ;
- Il n'y avait pas de différence de retranslocation de l'azote entre les peupliers et les aulnes ce qui semble indiquer que l'azote n'était pas limitant dans la plantation ;
- Des mesures de teneurs en azote du sol dans les différents traitements ont été effectuées et doivent nous parvenir prochainement pour nous permettre une étude plus approfondie des résultats en lien avec les caractéristiques du sol.

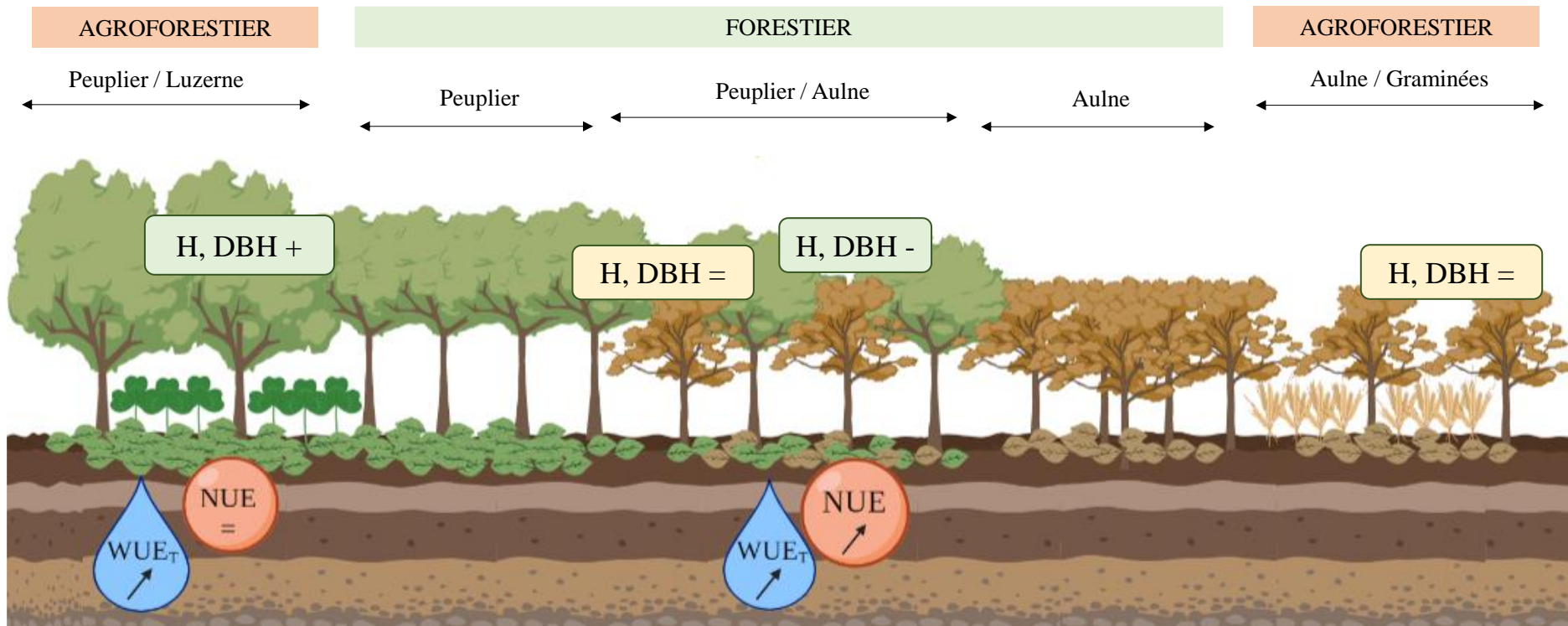


Figure III.15 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H , DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H , DBH ; encarts en orange), d'efficacité d'utilisation des ressources en eau (WUE_T) et en azote (NUE) des peupliers. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante.

Parmi les déterminants structurels influant sur la croissance des arbres, la distribution verticale et la forme des houppiers sont importantes à considérer puisqu'elles impactent directement l'accès à la lumière qui conditionnera la croissance des individus (Prescott 2002, Pretschi 2014). Une productivité plus élevée dans les mélanges que dans les monocultures a souvent été observée lorsque les espèces ont développé des canopées stratifiées et/ou des architectures de couronnes différentes (Forrester 2006). Les différences structurelles observées entre le mélange d'espèces et les monocultures peuvent être dues à des effets résultant directement des interactions entre les espèces, c'est-à-dire lorsque les nouveaux aspects structurels résultent de l'environnement interspécifique : on parlera de « vrais effets de mélange » (Forrester et al. 2013). Cependant, les différences structurelles peuvent également être dues à des effets résultant de différences interspécifiques qui ne sont pas affectées par les interactions entre espèces, c'est-à-dire que chaque espèce dans le mélange s'en tient à son comportement connu dans les peuplements purs : on parlera alors d'« effets additifs » (Forrester 2014). Les changements dans la morphologie de la couronne et la structure de la canopée peuvent également dépendre des disponibilités en nutriments (Dieler et Pretschi 2013). La présence d'une espèce fixatrice d'azote, herbacée ou ligneuse, dans le mélange peut favoriser la croissance de l'espèce non fixatrice à travers son développement aérien, lui permettant ainsi un meilleur accès à la lumière qu'en monoculture (Piotto 2008). Des mesures de description de la canopée ont donc été réalisées au cours de la thèse. L'objectif de ces mesures consistait à déterminer s'il y avait une stratification verticale et/ou une modification de la morphologie de la couronne de l'arbre dans les mélanges, par rapport aux monocultures d'arbres respectives, et si ces effets étaient le résultat d'un véritable effet de mélange ou d'effets additifs.

CHAPITRE IV –

Crown morphology of *Populus deltoides* × *P. nigra* and *Alnus glutinosa* growing in agroforestry and forest mixture plantations

Ce chapitre est une étude sur les caractéristiques architecturales des houppiers des peupliers et des aulnes. Il cherche à répondre à la quatrième question de recherche : Des performances de croissance accrues en mélange comparativement à la monoculture sont-elles associées à une occupation optimisée de l'espace par les canopées des deux espèces pour l'interception lumineuse ?

Résumé

De nombreuses études ont mis en évidence la valeur des plantations mélangées et leurs avantages par rapport aux monocultures. Le succès des plantations mélangées est généralement évalué en mesurant l'augmentation de la biomasse et/ou de la production végétale par rapport aux monocultures correspondantes. Parmi les déterminants structurels de la croissance, la distribution verticale des branches et la forme de la couronne sont importantes à considérer car elles ont un impact direct sur l'accès à la lumière, qui conditionne la croissance des arbres. Nous avons évalué l'effet de deux types de mélanges d'espèces dans le nord-est de la France (agroforesterie et mélange forestier) sur l'architecture de la couronne de peupliers (*Populus deltoides* × *P. nigra*) et d'aulnes (*Alnus glutinosa*) après sept saisons de croissance, et comparé les mélanges à leurs monocultures respectives. Quatre variables décrivant l'architecture des arbres (hauteur, profondeur de la couronne, surface de projection de la couronne, volume de la couronne) ont été évaluées. Notre étude montre que les peupliers de la parcelle agroforestière ont modifié la morphologie de leur couronne par un véritable effet de mélange grâce à la présence du trèfle, une espèce fixatrice de N₂, ainsi qu'à une compétition réduite pour la lumière en raison d'un espacement plus grand que dans la monoculture. Dans le mélange forestier, malgré une stratification de la canopée suggérant un partage optimisé de la niche aérienne, créant ainsi peut-être un effet additif, la morphologie de la couronne du peuplier n'était pas différente de celle de la monoculture. Enfin, les différents types de mélanges n'ont pas affecté la morphologie des couronnes d'aulne. D'un point de vue agronomique, le développement plus important des couronnes qui s'est produit lorsque le peuplier était associé à une culture fixant le N₂ fait de ce type de mélange un moyen très prometteur afin d'augmenter la contribution de la biomasse au mix énergétique renouvelable en Europe.

Crown morphology of *Populus deltoides* × *P. nigra* and *Alnus glutinosa* growing in agroforestry and forest mixture plantations

Anaïs Thomas¹ – Pierrick Priault¹ – Séverine Piutti² – Erwin Dallé¹ – Nicolas Marron^{1,3}

¹Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, UMR 1434 Silva, 54000 Nancy, France;

²Université de Lorraine, INRAE, UMR 1121 Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE), 54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France;

³Corresponding author (nicolas.marron@inrae.fr)

Agroforestry systems 97, pages 673-686

February 2023

DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac094>

Key words: Mixed tree plantation; Agroforestry; Crown architecture; Aerial stratification; Nitrogen fixation; Species interaction

1. Introduction

Forest plantations cover about 3% of the land area worldwide, and 3.9% at the European scale (FAO 2020, Forest Europe 2020). Over the past three decades, numerous studies have highlighted the value of mixed plantations and their advantages over monospecific systems (Pretzsch et al. 2017). Indeed, mixed plantations are considered a sustainable way to produce more through more efficient use of the resources necessary for tree growth (i.e. water, light, nutrients), while also being more environmentally-friendly than monocultures (Loreau et Hector 2001). The success of these plantations is usually assessed by measuring the increase in biomass and/or plant production compared to the corresponding monocultures. Tree biomass production is dependent on individual tree growth, which in turn is governed by (1) phenological (e.g. length of growing season, Elferjani et al. 2016), (2) biochemical (e.g. allocation of carbon, Benomar et al. 2012), (3) functional (e.g. water-use efficiency, Forrester 2015) and (4) structural (e.g. tree architecture, Broeckx et al. 2012) determinants. Among the structural determinants, the vertical distribution of branches and crown shape are important factors since they directly affect the tree's access to light, which conditions tree growth (Prescott 2002, Pretzsch 2014).

Interactions between tree species can alter light interception; this phenomenon corresponds to aboveground competition for light (Kelty 1992). To reduce competition for light in mixed plantations, an association of species with complementary structural and functional traits should be chosen. The association of a light-demanding species with a shade-tolerant one can, for instance, be an interesting way to improve light interception at the plantation level (Forrester et al. 2004, Ishii et al. 2004). Indeed, complementarity (i.e. reduced competition) and/or facilitation effects are likely to occur between species in mixed plantations, resulting in higher productivity compared to a monoculture (Kelty 1992, Loreau and Hector 2001). Productivity has shown high responsiveness to light availability when trees are grown in mixtures (Forrester et al. 2013, Pretzsch et al. 2015a, Williams et al. 2017). Higher productivity in mixtures than in monocultures is generally observed when species have developed stratified canopies or different crown architectures (Guariguata et al. 1995, Forrester et al. 2006). Moreover, mixed plantations seem to show improved light interception compared to monocultures through changes in crown shape and canopy structure (Forrester et al. 2013, Jucker et al. 2015, Duarte et al. 2021, Hildebrand et al. 2021). Williams et al. (2017), for instance, found that productivity was higher in two- and four-species mixtures due to the

aboveground spatial complementarity of the different species' crowns, leading to higher global light interception than in monocultures. Forrester et al. (2013) suggested that species interactions resulted in a reduction in competition for light in mixed-stands of *Abies alba* Mill. and *Picea abies* L. due to contrasting crown morphology and stratification.

The structural differences observed between species in mixtures and in monocultures may be due to effects resulting directly from interactions between the species, i.e. where the new structural aspects result from the interspecific environment (“true mixing effects”, Forrester et al. 2013). For example, true mixing effects can lead to intraspecific changes in crown size and shape; this is referred to as crown plasticity - or the morphological adjustment of individual trees to mixing-induced environmental variability (variability in canopy space; Longuetaud et al. 2013, Van de Peer et al. 2017, Kunz et al. 2019). However, structural differences may also be due to effects resulting from interspecific differences unaffected by species interactions, i.e. when the species in the mixture keep their different morphological or physiological traits (“additive effect”, Forrester 2014). This was shown by Pretzsch et al. (2016) for Scots pines (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.); in monocultures, the species showed different, complementary structural traits which were preserved when the two species were mixed. Moreover, Williams et al. (2017) concluded that the positive effects of tree species associations on crown complementarity are mostly due to species-specific differences rather than to crown plasticity.

Changes in crown morphology and the occupation of different spatial niches in the canopy space may also depend on nutrient availability (Dieler and Pretzsch 2013). The presence of a nitrogen (N)-fixing species in the mixture may benefit the growth and crown development of the non-fixing species, and allow it to have better access to light than in a monoculture (Piotto 2008). Indeed, the association of an N₂-fixing species, either herbaceous or woody, with a non-fixing species is often encountered in agroforestry plantations, where trees and herbaceous crops are associated on the same plot (Dupraz and Liagre 2008, Munroe and Isaac 2014).

Our aim was to compare tree crown development in poplar and alder in three mixed scenarios (in a poplar/alder mixture, in a poplar / clover mixture, and in an alder / graminoid mixture) with poplar and alder monocultures in a seven-year-old tree plantation in northeastern France. Studies on agroforestry systems have largely focused on the effect of light availability on the crop (Manceur et al. 2008, Bouttier et al. 2014) but the effect on the tree is poorly documented (e.g. Righi et al. 2016, Ribeiro and Righi 2020). Our study aimed

to determine if there is a vertical stratification and/or modification in crown morphology in mixtures, in comparison to the respective tree monocultures, and whether these are true mixing effects or the result of additive effects. We hypothesized that trees in mixtures would occupy the canopy space in a more optimized way than in their respective monocultures, and that light interception by the trees would improve due to reduced competition for light and/or a facilitation effect due to the presence of an N₂-fixing species in the mixture. Specifically, we assumed that we would observe (i) crown stratification in both species in the forest mixture, and (ii) higher vertical and broader horizontal crown development in the agroforestry system than in the monocultures.

2. Materials and methods

2.1 Study site

The experiments took place at the experimental plantation of La Bouzule in northeastern France (48°44'19" N, 6°18'50" E, 219 m asl), described in detail in Thomas et al. (2021). Briefly, the plantation was installed during the spring of 2014 and is 448 m long and 73 m wide, for a total area of 3.27 ha. Thirty-cm-long poplar cuttings of the Euramerican poplar clone Dorskamp (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L.) and one-year-old rooted alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.) seedlings measuring from 50 to 80 cm in height were planted in lines of trees oriented in a north-south direction. The forest plots (monocultures and forest mixture) were planted at a density of 2000 trees per hectare while the agroforestry plots have a density of 1000 trees per hectare, every other row of trees being replaced by the herbaceous crop (clover and graminoids for agroforestry poplars and alders, respectively) as compared to the forest plots. Between 2014 and 2020, average annual precipitation was 607 mm and the mean temperature was 11.6 °C. A detailed soil description is available in Clivot et al. (2019). All the measurements reported in this paper were performed during the winter of 2020-2021, i.e. after the trees' seventh growing season, except for the crown illumination index, which was measured during summer 2021. The measurements concerned 180 poplars and 180 alders: 60 trees per species × 3 treatments (monoculture, agroforestry, forest mixture), corresponding to a representative sample of tree height classes defined in 2015.

2.2 Tree crown description

Crown radii (r , m) in eight directions (cardinal and subcardinal) and the mean crown radius (CR, m) of each tree were determined according to Dieler and Pretzsch (2013) (Figure IV.1). Then, the crown projection area (CPA, m²), i.e. the projected surface occupied by a tree canopy on the ground, was estimated according to the following equation:

$$\text{CPA} = \pi \text{CR}^2$$

For each tree, height (H , m) was measured from the base of the tree to the last bud of the tallest stem with a graduated pole; diameter at breast height (DBH, cm) was measured with a digital caliper; maximum crown radius (CR_{max} , m) was defined as the longest crown radius; and crown depth (CD, m) was defined as the difference between H and the height of the lowest living branch (Figure IV.1). The live crown ratio (LCR, %), which is an effective

indicator of growth vigor, was determined as the ratio of live crown length (CD) to total tree height (H). These variables were then used to estimate the crown volume (CV, m³) of each tree according to Jucker et al. 2015:

$$CV = \frac{\pi CR_{\max}^2 CD}{2\beta + 1}$$

Crown shape coefficients (β) for poplar and alder were obtained from Purves et al. (2007).

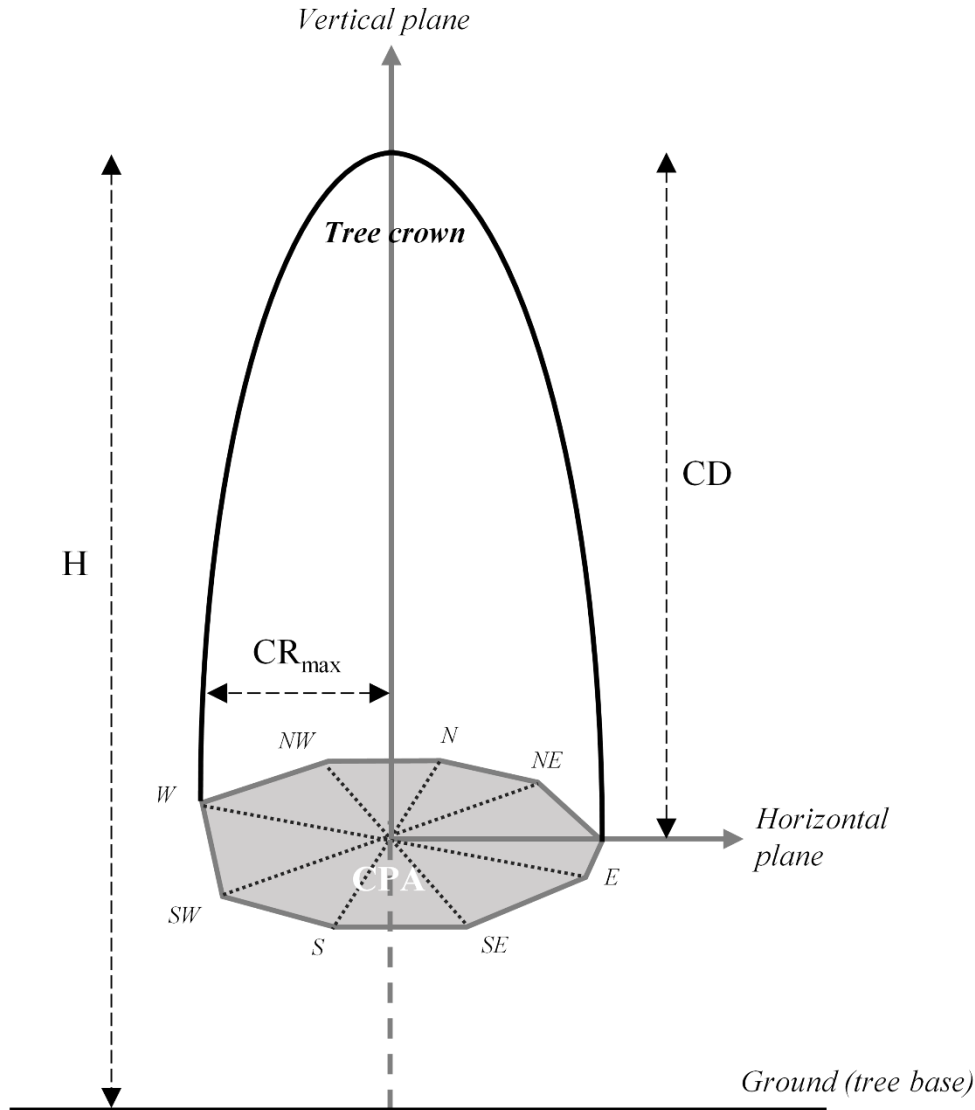


Figure IV.1 – Schematic representation of the crown profile of a tree, where *H* is total tree height, *CD* is crown depth, *CR_{max}* is crown maximum radius, *CPA* is crown projection area (grey area), and *N*, *NE*, *E*, *SE*, *S*, *SW*, *W*, *NW* are the eight cardinal and subcardinal directions.

2.3 Crown illumination index

Crown volume can be used as a proxy for leaf area density and light interception (Binkley et al. 2013; Pretzsch 2014; Pretzsch et al. 2017). In our study, the light interception index (LI) was estimated with the following equation according to the approach developed by King et al. (2005):

$$LI = CPA \times CI^2$$

where:

CPA = crown projection area (m²) of each tree

CI = crown illumination index

CI was determined for each tree according to Clark and Clark (1992). This index score accounts for the vertical and lateral illumination of the crown, and the relative amount of crown lighting (Verryckt et al. 2022). Although the CI is an indirect way to characterize the light environment, as shown through a multi-parameter calibration, it is a reliable method to rapidly describe forest light environments (Keeling and Phillips 2007).

2.4 Data analyses

We used the free R software, version 2022.02.1 (R Core Team 2022) to carry out statistical tests on our results. We tested species (poplar and alder) and treatment effects (three treatments: monoculture, agroforestry, forest mixture) and their interaction (species × treatment) on crown description variables with a linear model ('lm' procedure). Means were expressed with their standard errors. The statistical tests were considered significant at * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$ or *** $P \leq 0.001$. When a significant effect was recorded ($P \leq 0.05$), Tukey contrasts (*glht* procedure, *multcomp* package) were used for multiple comparisons among different factor levels.

3. Results

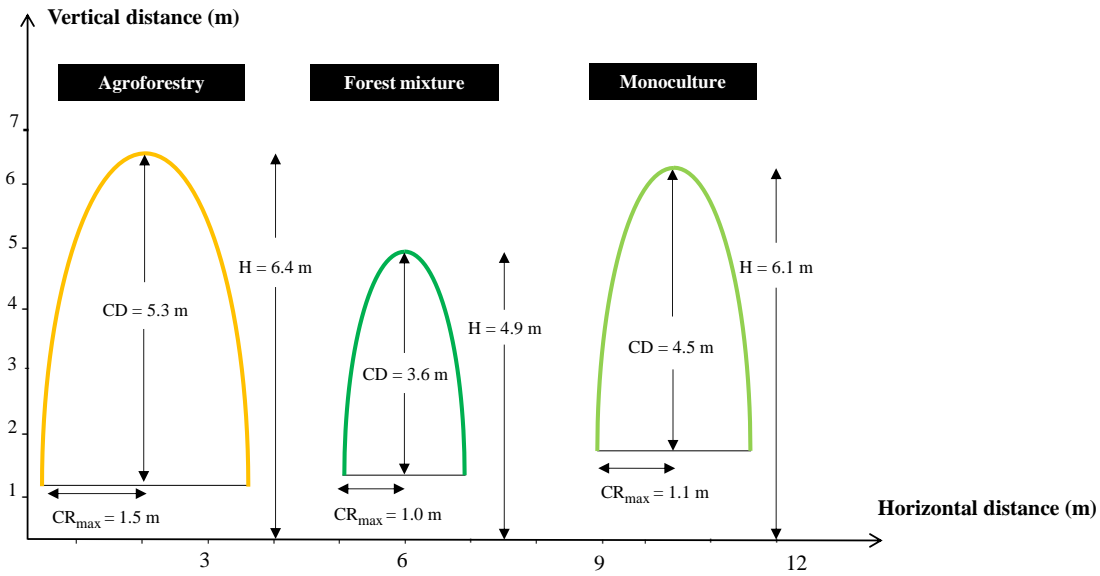
3.1 Tree and crown dimensions

Stem height (H), diameter at breast height (DBH), crown depth (CD), mean crown radius (CR) and live crown ratio (LCR) were higher for the poplars than for the alders ($P \leq 0.001^{***}$; Table 1). Poplar H in the agroforestry and monoculture plots did not differ significantly (6.4 ± 0.3 m and 6.1 ± 0.3 m, respectively), while poplar H in the forest mixture was significantly lower than in the other two treatments (4.9 ± 0.2 m) (Table IV.1). The DBH of the agroforestry poplars was significantly higher than in the monoculture and mixed forest plots (69.8 ± 4.3 mm in agroforestry, 52.3 ± 3.1 mm in the monoculture and 44.0 ± 3.6 mm in the forest mixture). The DBH, CR and LCR of the poplars in the monoculture and the forest mixture did not differ significantly while the CD was significantly higher in the monoculture than in the forest mixture. The CD, CR and LCR of the poplars were all significantly higher in the agroforestry treatment than in the forest mixture and monoculture plots (Figure IV.2A). For the alders, there was no significant treatment effect regardless of the variable. When poplars and alders were compared, poplar CD and H were significantly higher than alder CD and H in the forest mixture (Figure IV.2B).

Table IV.1 – Mean and maximum stem height (H, m), stem diameter at breast height (DBH, cm), crown depth (CD, m), crown radius (CR, m) and live crown ratio (LCR, %) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. Within each column, significant differences between species and treatments are indicated with different letters. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$. Means \pm standard errors are shown.

Species	Treatment	Mean H	Max H	Mean DBH	Max DBH	Mean CD	Max CD	Mean CR	Max CR	Mean LCR	Max LCR
Poplar	Agroforestry	6.4 \pm 0.3 ^c	9.8	69.8 \pm 4.3 ^d	125.0	5.3 \pm 0.3 ^d	8.7	1.5 \pm 0.1 ^c	2.5	77.1 \pm 1.9 ^d	88.6
	Forest mixture	4.9 \pm 0.2 ^b	10.1	44.0 \pm 2.6 ^{bc}	113.5	3.6 \pm 0.2 ^b	8.4	1.0 \pm 0.0 ^{ab}	1.8	69.6 \pm 1.2 ^{bc}	85.2
	Monoculture	6.1 \pm 0.3 ^c	10.5	52.3 \pm 3.1 ^c	112.0	4.5 \pm 0.3 ^c	8.3	1.1 \pm 0.0 ^b	1.8	72.6 \pm 1.2 ^c	85.0
Alder	Agroforestry	3.5 \pm 0.1 ^a	5.7	34.6 \pm 1.7 ^{ab}	75.6	2.4 \pm 0.1 ^a	4.5	1.0 \pm 0.0 ^{ab}	2.0	65.0 \pm 1.0 ^{ab}	79.0
	Forest mixture	3.6 \pm 0.1 ^a	5.2	30.7 \pm 1.2 ^a	45.0	2.4 \pm 0.1 ^a	3.8	0.9 \pm 0.0 ^a	1.4	65.5 \pm 1.2 ^{ab}	76.6
	Monoculture	3.5 \pm 0.1 ^a	5.2	31.1 \pm 1.4 ^a	57.2	2.3 \pm 0.1 ^a	4.1	0.9 \pm 0.0 ^a	1.7	63.9 \pm 1.3 ^a	78.0
		S ***		S ***		S ***		S ***		S ***	
		T **		T ***		T ***		T ***		T *	
		S×T ***		S×T ***		S×T ***		S×T ***		S×T *	

A.



B.

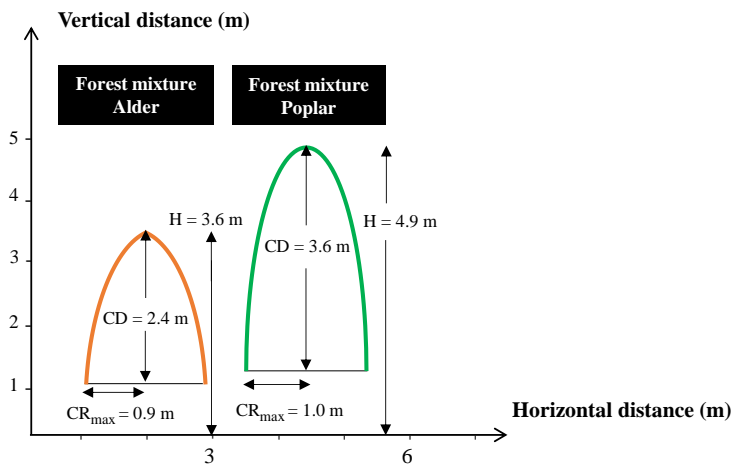


Figure IV.2 – Schematic representation of the crown profiles of (A) the poplars in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments and (B) the poplars and alders in the forest mixture, where H is total tree height, CD is crown depth, and CR_{max} is crown maximum radius.

3.2 Tree crown shape

The poplars generally developed longer and more horizontal branches than did the alders; this difference was more pronounced between the agroforestry poplars and the alders regardless of treatment ($P \leq 0.001^{***}$; Table IV.2). The poplars in the agroforestry treatment developed longer branches than in the corresponding monoculture and the forest mixture, regardless of branch orientation, with the highest values found for the three western directions ($P \leq 0.001^{***}$; Table IV.2). For the agroforestry poplars only, significantly lower branch-length values were recorded for the North and South, than for the East and West (Figure IV.3). In the forest mixture, the poplars and the alders developed similar branch lengths, regardless of branch orientation ($P = 0.31$).

The poplars in the agroforestry and the monoculture treatments had a higher crown projection area (CPA) and crown volume (CV) than did the alders, but there was no significant difference between the two species in the forest mixture (Figure IV.3; Figure IV.4). CPA was higher for the poplars in the agroforestry treatment than in either of the forest plots, with a value of $5.6 \pm 0.4 \text{ m}^2$ versus $2.4 \pm 0.2 \text{ m}^2$ in the forest mixture and $2.6 \pm 0.2 \text{ m}^2$ in the monoculture (Figure IV.3; Figure IV.4A). It is noteworthy that, on the tree line, crown overlap occurred only for the poplars in agroforestry (Figure IV.3). CV was much higher for the poplars in agroforestry than for the poplars in the forest plots, with a value of $19.5 \pm 2.1 \text{ m}^3$ versus $5.5 \pm 0.5 \text{ m}^3$ in the forest mixture and $9.2 \pm 1.0 \text{ m}^3$ in the monoculture (Figure IV.4B). For the alders, CPA and CV were not significantly different among treatments; CPA values were around $2.0 \pm 0.15 \text{ m}^2$ and CV values ranged from $3.2 \pm 0.2 \text{ m}^3$ (forest mixture) to $4.7 \pm 0.6 \text{ m}^3$ (agroforestry) (Figure IV.3; Figure IV.4). A trend towards higher CPA values was nevertheless visible for the agroforestry alders (Figure IV.3).

Table IV.2 – Sizes of the longest branches in the eight cardinal and subcardinal directions (north N, northeast NE, east E, southeast SE, south S, southwest SW, west W, northwest NW) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. Within each column, significant differences between species and treatments are indicated with different letters. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$, ns for non-significant. Mean \pm standard errors are shown.

Species	Treatment	Mean N	Mean NE	Mean E	Mean SE	Mean S	Mean SW	Mean W	Mean NW
Poplar	Agroforestry	116.6 \pm 6.3 ^c	124.4 \pm 6.4 ^b	123.7 \pm 6.3 ^c	129.5 \pm 7.0 ^c	116.1 \pm 6.5 ^c	130.9 \pm 7.0 ^c	131.6 \pm 7.0 ^b	131.1 \pm 7.1 ^b
	Forest mixture	84.7 \pm 3.4 ^{ab}	84.4 \pm 4.0 ^a	79.7 \pm 3.7 ^{ab}	80.1 \pm 4.0 ^{ab}	80.6 \pm 3.7 ^{ab}	82.1 \pm 3.9 ^{ab}	77.1 \pm 4.1 ^a	83.7 \pm 4.2 ^a
	Monoculture	88.1 \pm 3.6 ^{ab}	84.8 \pm 4.1 ^a	83.9 \pm 4.6 ^b	83.5 \pm 4.9 ^b	88.2 \pm 4.2 ^b	86.8 \pm 4.4 ^b	79.9 \pm 4.3 ^a	83.8 \pm 4.1 ^a
Alder	Agroforestry	89.0 \pm 3.6 ^b	84.9 \pm 2.5 ^a	82.0 \pm 4.5 ^{ab}	83.5 \pm 4.6 ^{ab}	80.5 \pm 3.5 ^{ab}	80.8 \pm 3.8 ^{ab}	77.4 \pm 3.9 ^a	83.7 \pm 3.3 ^a
	Forest mixture	73.8 \pm 2.9 ^{ab}	73.6 \pm 3.4 ^a	76.4 \pm 3.4 ^{ab}	74.5 \pm 3.5 ^{ab}	70.4 \pm 3.1 ^a	71.3 \pm 3.7 ^{ab}	66.0 \pm 2.8 ^a	73.3 \pm 3.2 ^a
	Monoculture	75.1 \pm 3.0 ^{ab}	76.6 \pm 3.4 ^a	66.0 \pm 3.6 ^a	68.2 \pm 3.0 ^a	67.2 \pm 3.4 ^a	66.5 \pm 3.1 ^a	69.1 \pm 3.4 ^a	73.2 \pm 3.6 ^a
		S ***	S ***	S ***	S ***	S ***	S ***	S ***	S ***
		T *	T ***	T ***	T ***	T ***	T ***	T ***	T ***
		S×T (P = 0.07)	S×T ***	S×T ***	S×T ***	S×T **	S×T ***	S×T ***	S×T ***

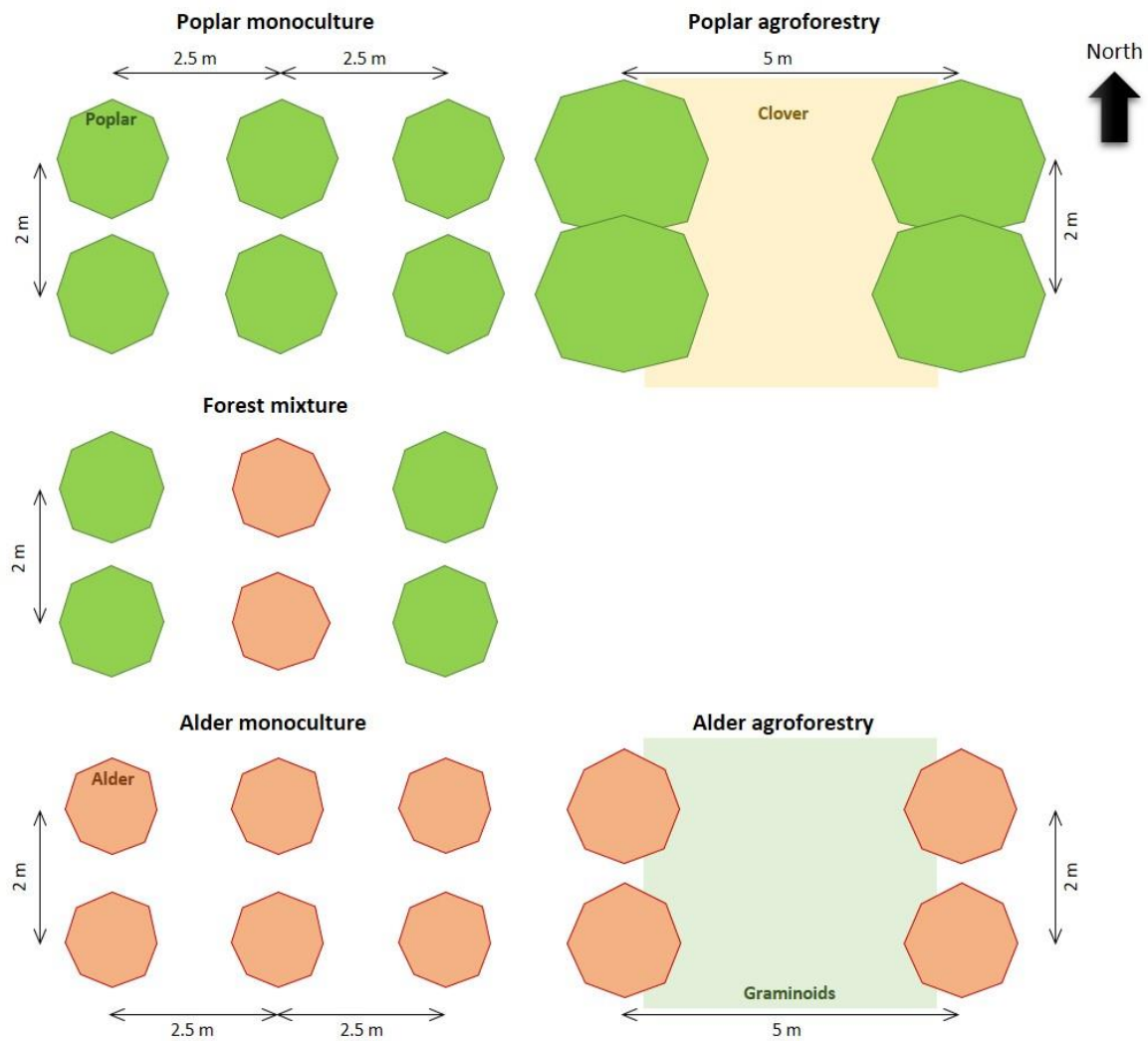


Figure IV.3 – Crown projection area (CPA) based on mean crown size of the poplars (in green) and alders (in orange) in the different treatments (agroforestry, forest mixture and monoculture). Mean size of the crowns in the eight cardinal and subcardinal directions are respected. The spacing between two trees in the same row and between two different rows of trees is indicated.

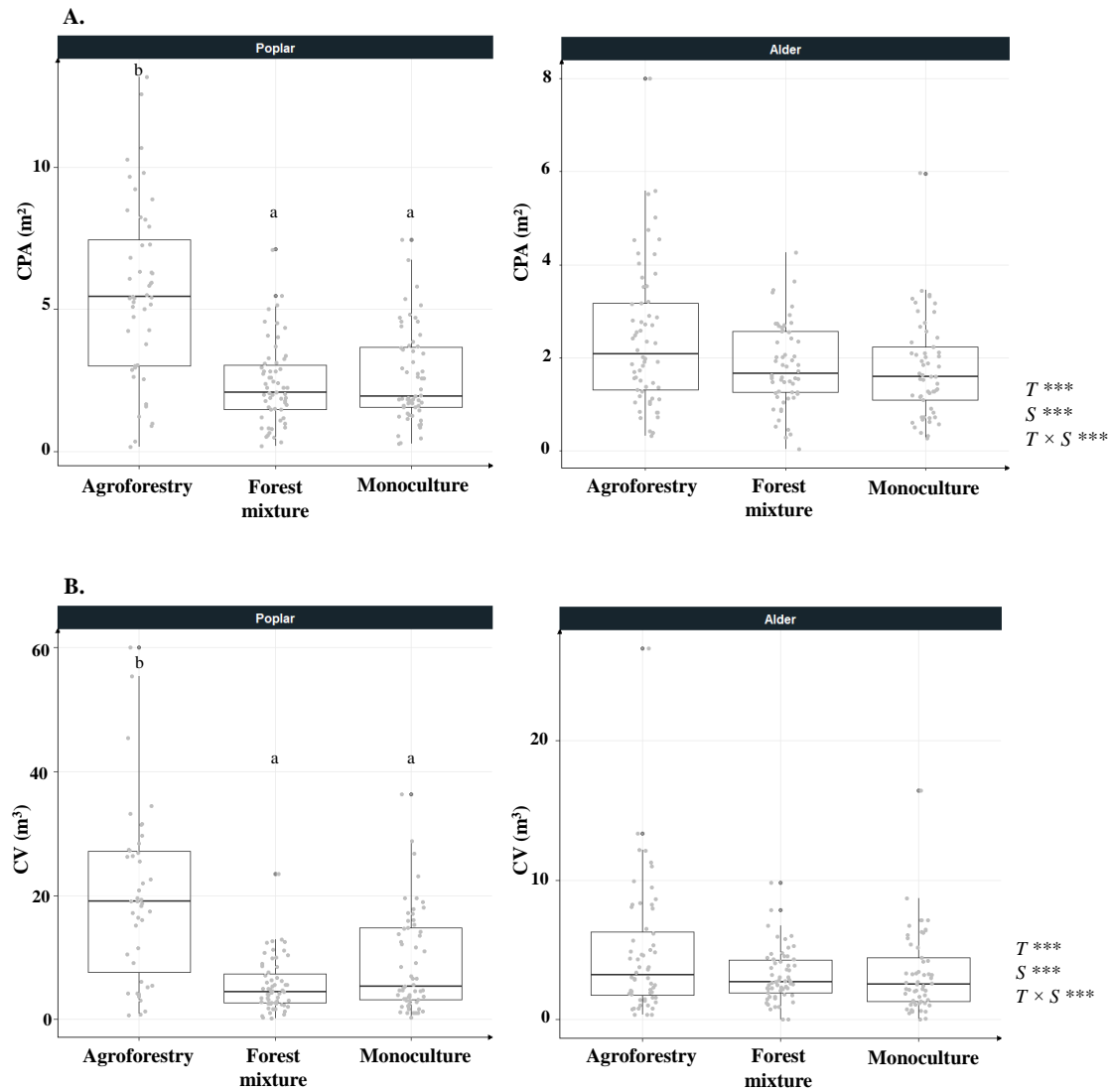


Figure IV.4 – (A) Crown projection area (CPA, m²) and (B) crown volume (CV, m³) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. For each species, different letters indicate significant differences between treatments. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.001$ ***. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values.

3.3 Light interception index

The light interception index (LI) was higher for both poplars and alders in the agroforestry plots (93 and 61, respectively) than in the forest mixture (45 and 29, respectively) and in their respective monocultures (45 and 39, respectively; Figure IV.5). Poplar LI was not significantly different from alder LI in the forest mixture; however, LI was significantly higher for poplar than for alder in the agroforestry treatment.

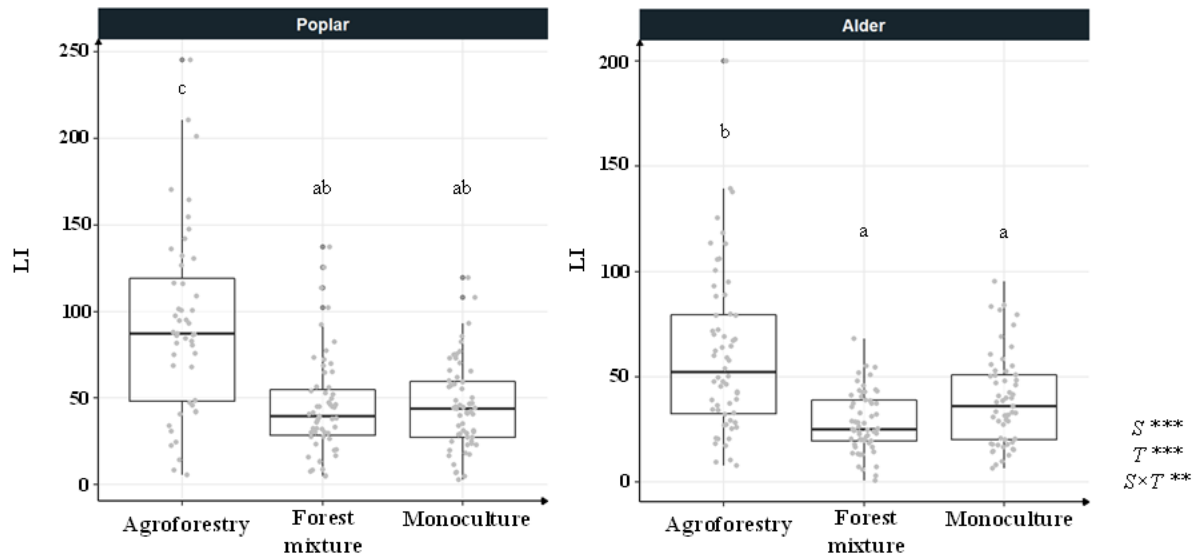


Figure IV.5 – Light interception index (LI) of the poplars and alders in the agroforestry, forest mixture and monoculture treatments. For each species, different letters indicate significant differences between species and treatments. The effects of treatment (T), species (S) and their interaction (T×S) are indicated for $P \leq 0.01^{**}$ and $P \leq 0.001^{***}$. Each box represents the quartile below (Q1) and above (Q3) the median value. Vertical bars represent minimum and maximum values.

4. Discussion

This study investigated how tree crown development was affected after seven growing seasons in three different contexts: poplars and alders associated in a forest mixture, poplars and alders in association with clover or graminoids, respectively agroforestry, and poplar and alder monocultures. We hypothesized that the trees would occupy the canopy space in a more optimized way in the two types of mixtures than in their respective monocultures, thus improving light interception by the trees, thanks to reduced competition for light and/or a facilitation effect due to the presence of an N₂-fixing species in the mixtures.

In our study, the poplars and the alders in the forest mixture did not benefit from any true mixing effects; indeed, they did not have longer and wider crowns, therefore crown volume remained the same as in the monocultures. Our results contrast with those of Jucker et al. (2015), who reported that trees growing in mixtures were shorter than in monocultures but had wider and deeper crowns and longer horizontal branches than in their monocultures. Guillemot et al. (2020) also showed greater space exploration along the vertical crown gradient for tropical trees growing in a mixture due to a greater investment in branches than in the monocultures. However, the poplars in our forest mixture may have benefited from additive effects. Indeed, as the poplars in our plantation were taller than the alders, they may have had more access to light in the mixture than in their monoculture due to aerial canopy stratification (Forrester et al. 2004). According to William et al. (2017), canopy stratification can lead to a reduced competition for light, compared to monocultures. The light interception index of the poplars in our forest mixture was not higher than that of the alders, meaning that the vertical stratification of the two species did not improve poplar light interception. Thus, our hypotheses 1 (additive effects on the changes in crown morphology of the poplars in the forest mixture) and 2 (a facilitation effect due to the presence of alders resulting in true mixing effects) were refuted. Indeed, the poplars in the forest mixture did not exhibit any new structural aspects resulting from the interspecific environment, indicating that the presence of alders, even though they are an N₂-fixing species, did not benefit the architecture of poplars. In the same plantations, Thomas et al. (2021) found that the soil mineral N was more than five times higher in the poplar agroforestry than in the forest mixture, associated with better poplar growth performances in the agroforestry, while there was no significant effect of the presence of alder on either soil N content or poplar growth in the forest mixture. This suggests that the beneficial effects of N enrichment are likely to be seen more quickly with an herbaceous N₂-

fixing species due to the shorter rotations and may be delayed when a woody N₂-fixing species is involved (Binkley et al. 1992, Forrester 2014). Moreover, poplar/alder mixtures are sometimes unsuccessful, as shown by Teissier du Cros et al. (1984). In their study, the poplar/alder association with a 1.5 × 2 m spacing was not more productive than the poplar monoculture because the N₂ fixed by the alder (*A. glutinosa*) was not yet beneficial to the poplar (*P. trichocarpa* Torr. & Gray × *P. deltoides*, Belgian clone ‘Unal’) after only three years of growth.

The poplars in our agroforestry treatment modified both their crown size and architecture. Indeed, they had longer and wider crowns than in the forest plots (both mixed and monoculture), which resulted in a crown volume twice as large. Our results are in line with Ribeiro and Righi (2020), who showed that crown projection area and crown volume for eucalyptus hybrids (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden × *E. camaldulensis* Dehnh, hybrid COP-1277) were higher in an agroforestry system compared to the monoculture. In addition, Kunz et al. (2019) found that diversifying neighboring species allowed trees to optimize their crown morphology. The changes in crown shape for the poplars in our agroforestry treatment resulted from true mixing effects. These true mixing effects could be attributed to a facilitation effect due to the presence of a leguminous crop in the mixture. Indeed, as an N₂-fixing species, the clover planted in the inter-rows may have benefited the growth of the poplars by increasing the availability of nitrogen in the soil compared to the monoculture, as shown in Thomas et al (2021). Taghiyari and Efhami (2011) showed a positive effect on the diameter increment of *P. nigra* L. var. *betulifolia* in mixtures with alfalfa, which is also an N₂-fixing species. This is consistent with what we found for our agroforestry poplars. Since every other tree line in the forest plots was replaced with clover, it is also likely that tree-planting density influenced the crown morphology of our agroforestry poplars. Indeed, Benomar et al. (2012) showed that larger planting spacing can lead to increased poplar crown volume through increased branch length and diameter at breast height. Moreover, *Populus sp.* crown architecture exhibits high morphological plasticity in response to spacing (Ceulemans et al. 1990). In our study, the agroforestry poplars had a larger diameter at breast height and a higher live crown ratio (i.e. tree vigor) than in their monoculture, even though they were not taller. The trees may have allocated more carbon to diameter and branchiness than to height due to the reduced competition for light in the agroforestry treatment (i.e. where tree-planting density was lower) (Benomar et al. 2013). Moreover, many studies have shown that crown and stem diameter growth are more sensitive to competition than height growth, which can

remain stable over a wide range of planting densities (Piotto 2008, Pretzsch et al. 2015b). Han et al. (2020) showed that the diameter at breast height of 11-year-old *Populus × tomentosa* Carrière clones was higher in treatments with a planting density of 417 and 833 stems ha⁻¹ than in treatments with a planting density of 1667 stem ha⁻¹. Zhang et al. (2020) showed higher leaf and branch biomass production for poplar clones in wide-spaced than in narrow-spaced plantations.

The larger planting spacing in the agroforestry plot probably lead to a reduced competition for light compared to the monoculture. This was shown by Benomar et al. (2011) for two hybrid poplar clones (*P. balsamifera* L. × *P. trichocarpa* and *P. maximowiczii* Henry × *P. balsamifera*) growing in wider spacings (3 m × 3 m and 5 m × 5 m) compared to those growing in a closer spacing (1 m × 1 m). Indeed, the poplars in our agroforestry treatment had a higher light interception index than the poplars in the monoculture. Thus, intraspecific competition among poplars in the monoculture was stronger than interspecific competition in the agroforestry treatment. These results are consistent with the competition indices calculated previously by Thomas et al. (2021) for the two treatments after six years of growth at the same experimental site. Moreover, the higher live crown ratio for the agroforestry poplars reflects the fact that the trees had branches and foliage lower down on the stem than in the forest treatments. In Forrester et al. (2004), eucalyptus (*E. globulus* ssp. *pseudoglobulus* Naudin ex Maiden Kirkpatr.) in a monoculture did not produce branches and foliage along the first few meters of the stem due to higher intraspecific competition for light compared to the eucalyptus in a mixture with acacia (*Acacia mearnsii* De Wild.). A natural pruning process is common in trees to mitigate intraspecific competition for light, as shown by Van de Peer et al. (2017) for birch (*Betula pendula* Roth.) – the trees decreased the number of first order branches. This is consistent with height measurements of the first live branch in our study, which show greater natural pruning for the poplars in the monoculture.

The different crown architecture we found for the agroforestry poplars, with a higher crown volume and better light interception than in the monoculture, may partially explain the increased growth performance found previously in Thomas et al. (2021) as well as the higher water-use efficiency demonstrated in Thomas et al. (2022). However, vertical stratification of the two species in the forest mixture did not lead to higher growth performance than in the monoculture. For the alders, there were no additive or true mixing effects on crown size and shape in any of the treatments, although they tended to have a higher crown projection area in the agroforestry plot. This could be explained by a higher LI in the agroforestry treatment

than in the forest treatments, probably due to the lower planting density and the subsequent reduced competition for light.

5. Conclusion

After seven growing seasons, positive interactions seem to be at play in the poplar/clover association, in agreement with our main hypothesis. Our results show that intercropping poplar with an N₂-fixing crop can significantly improve tree crown volume through changes in crown morphology (lateral and vertical extension) as compared to trees growing in the monoculture. Thus, the agroforestry poplars were able to benefit from true mixing effects, probably due to the presence of clover, an N₂-fixing species, as well as to reduced competition for light due to the larger planting spacing than in the monoculture. On the other hand, in the poplar/alder association, poplar crown volume was unaffected compared to their monoculture, despite a stratification of the canopy suggesting a shared aerial niche and a subsequent additive effect. This lack of effect could be because nitrogen fixed by the alders was not yet sufficient to benefit the poplars. Finally, alder crown morphology did not appear to be affected by the different types of mixtures, although a trend toward an increased crown volume seemed to emerge for the agroforestry alders.

From an agronomic point of view, the increase in crown volume, and therefore in biomass production, that occurs when poplar is grown in association with an N₂-fixing crop make these mixtures a promising way to increase biomass production for renewable energy in Europe. However, broader lateral development and branches growing lower on the stem in agroforestry could potentially pose a problem for the passage of agricultural machinery on the crop close to the trees. Moreover, while the development of more numerous branches on trees growing in agroforestry can be an asset for the production of biomass in a system where the whole tree is valorized, branchiness could also be an inconvenience when the objective is to produce timber/lumber in a system where trees are commonly pruned to avoid knots in the wood due to the presence of branches.

Acknowledgements

The UMR Silva and the experimental site are supported by the French National Research Agency through the Cluster of Excellence ARBRE (ANR-11-LABX-0002-01). The experiment was part of the SOERE F-ORE-T network supported by GIP ECOFOR, AllEnvi and AnaEE France. We thank the Ferme Expérimentale de la Bouzule (Université de Lorraine) for the management of the agricultural component.

A retenir (Figure IV.6)

- Les peupliers en association avec le trèfle ont bénéficié de vrais effets de mélange ;
- Cela s'est traduit par un développement latéral et horizontal de la couronne plus important que dans les traitements forestiers ;
- En revanche, les peupliers en association avec l'aulne n'ont pas bénéficié de vrais effets de mélange mais d'effets additifs sans impact sur l'interception lumineuse ;
- La morphologie de la couronne des aulnes n'a pas été affectée par les mélanges ;
- Les aulnes et les peupliers en agroforesterie ont eu une interception de la lumière améliorée comparativement aux arbres dans les traitements forestiers.

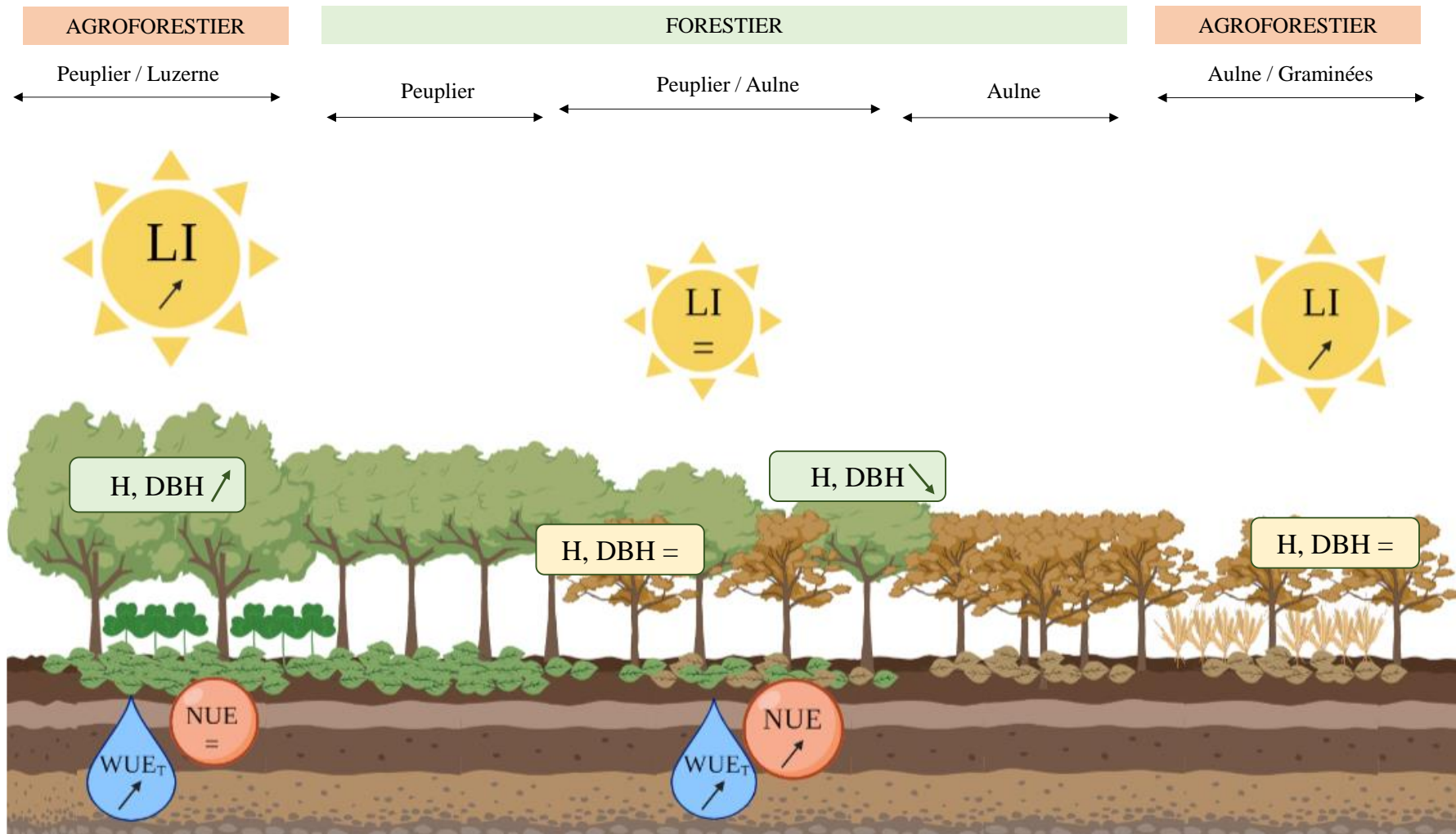


Figure IV.6 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H , DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H , DBH ; encarts en orange), d'efficacité d'utilisation des ressources en eau (WUE_T) et en azote (NUE) des peupliers, d'interception lumineuse des peupliers et des aulnes (LI ; le LI en mélange forestier est identique pour les deux espèces). Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante.

CHAPITRE V –

Effets des mélanges sur la durée de la saison de croissance des peupliers et des aulnes en plantations mélangées

*Ce chapitre est une étude portant sur les processus phénologiques de printemps et d'automne des peupliers et des aulnes. Il cherche à répondre à la cinquième et dernière question de recherche : **Des performances de croissance accrues en mélange comparativement à la monoculture sont-elles associées à une saison de végétation plus longue ?***

CHAPITRE V – I

Phénologie des bourgeons de l’aulne et du peuplier en plantations mélangées forestière et agroforestière

Phénologie des bourgeons de l’aulne et du peuplier en plantations mélangées forestière et agroforestière

Anaïs Thomas – Nicolas Marron – Erwin Dallé – Pierrick Priault

Université de Lorraine, AgroParisTech, INRAE, UMR Silva, 54000 Nancy, France

Mots clés : débourrement, entrée en dormance, phénologie, aulnes, peupliers, plantations mélangées

Revue Forestière Française (soumis)

Résumé

En tant que déterminant phénologique, la durée de la saison de végétation est importante à considérer puisqu’elle va directement impacter l’absorption photosynthétique saisonnière qui va conditionner la croissance des arbres. Cette étude avait pour objectifs de (i) proposer une échelle de notation visuelle pour les processus de débourrement et d’entrée en dormance chez *Alnus glutinosa* et (ii) déterminer l’effet de l’association d’*A. glutinosa* avec *Populus deltoides* × *P. nigra*, entre eux et avec des cultures herbacées, sur la durée de la saison de végétation des deux espèces ligneuses, comparativement à leur monoculture respective. Bien que nos résultats n’aient pas mis en évidence de différence significative en termes de durée de saison de végétation pour les arbres en mélange, comparativement à leur monoculture respective, les aulnes agroforestiers ont eu tendance à débourrer plus tard et à entrer en dormance plus tôt, tandis que le contraire a été observé pour les peupliers agroforestiers.

1. Introduction

En 2020 en France, les plantations forestières, c'est-à-dire les forêts à prédominance d'arbres établis par plantation et/ou ensemencement délibéré, couvraient près de 2 millions d'hectares à destination principalement de la production de bois (IGN 2021). Du fait de leur capacité de production élevée, les espèces appartenant au genre *Populus* sont les essences de feuillus les plus fréquemment cultivées sur de grandes surfaces, et représentaient 200 000 hectares en 2019 en France (CIP 2020). La plupart des plantations de peupliers sont cultivées dans le cadre de cycles forestiers à courte rotation (TCR) de 15 à 18 ans ou à très courte rotation (TTCR) de 3 à 5 ans. En outre, elles requièrent des quantités importantes d'eau et d'azote pour produire de grands volumes de biomasse (Dawson and Hansen 1983, Navarro et al. 2018).

Au cours des trois dernières décennies, de nombreuses études ont mis en évidence la valeur des plantations mélangées et leurs avantages par rapport aux systèmes monospécifiques (Pretzsch et al. 2017). En effet, les plantations mélangées sont considérées comme une option résiliente permettant de produire davantage en utilisant plus efficacement les ressources nécessaires à la croissance des arbres (l'eau, la lumière, les nutriments), tout en étant plus respectueuses de l'environnement que les monocultures (Loreau et Hector 2001). Le succès de ces plantations est généralement évalué en mesurant l'augmentation de la production végétale par rapport aux monocultures correspondantes. L'introduction d'espèces fixatrices d'azote dans ces mélanges peut également être un atout supplémentaire pour réduire les besoins en intrants azotés de synthèse. L'aulne (*Alnus spp*) est apprécié dans les peuplements mélangés, du fait notamment de sa faculté à fixer l'azote atmosphérique en association avec la bactérie *Frankia* qui peut améliorer la fertilité du sol. En effet, l'aulne est une plante actinorhizienne pouvant fixer jusqu'à 100 kg d'azote atmosphérique par hectare et par an suivant les espèces (Le Tacon et al. 1988). Ainsi, l'aulne a le potentiel de favoriser la croissance des autres essences ligneuses comme le peuplier ou le douglas quand ils sont associés (Binkley 2003, Ghorbani et al. 2018). L'aulne est également une essence utilisée en agroforesterie, associée à une culture herbacée non fixatrice d'azote. Parmar et al. (2022) ont récemment décrit l'intérêt de l'aulne (*A. nepalensis*) et son effet sur la productivité accrue des cultures (rotation maïs – moutarde – pomme de terre), comparativement à la monoculture agricole, en Inde.

La production de biomasse dépend de la croissance individuelle des arbres, qui est elle-même régie par des déterminants structurels (Broeckx et al. 2012), fonctionnels (Forrester 2015), biochimiques (Benomar et al. 2012) ou phénologiques (Elferjani et al. 2016). En tant que déterminant phénologique, la durée de la saison de végétation est importante à considérer puisqu'elle va directement impacter l'absorption photosynthétique saisonnière qui va conditionner la croissance de l'arbre (Marchand et al. 2020). Chez de nombreuses espèces ligneuses tempérées, la croissance est caractérisée par l'alternance d'une période d'activité et d'inactivité des bourgeons. Elle débute avec le débourrement, qui marque le début de la saison de croissance et se poursuit tant que les conditions climatiques sont favorables ; elle se termine par l'entrée en dormance des bourgeons, qui consiste en un arrêt progressif de la croissance jusqu'à la formation des bourgeons d'hiver. En climat tempéré, la photopériode (durée du jour) et la température sont les principaux facteurs environnementaux qui rythment les processus phénologiques (Bréda et al. 2000, Adole et al. 2019). Outre ces deux facteurs, l'augmentation de la disponibilité en nutriments peut impacter la durée de la saison de végétation. En effet, la présence d'une espèce fixatrice dans le mélange peut affecter la durée de la saison de végétation de l'espèce non fixatrice. Par exemple, Sigurdsson (2001) a montré qu'un excès d'azote dans le sol du système pouvait retarder l'entrée en dormance des bourgeons et donc le processus de sénescence des feuilles en automne chez les peupliers (*Populus trichocarpa*).

Il est aisé de trouver des références en matière d'échelle de suivi pour le débourrement et l'entrée en dormance de certaines espèces (i.e. le peuplier) ; pour les aulnes en revanche, aucune échelle de suivi phénologique n'a, à notre connaissance, été établie. Certaines études sur la phénologie du débourrement de l'aulne se sont appuyées sur l'échelle BBCH appliquée aux espèces ligneuses, de manière générale, par manque d'informations spécifiques sur l'aulne (par exemple : Kort et al. 2016). La présente étude avait donc pour objectifs de (i) proposer une échelle de notation visuelle pour les processus de débourrement et d'entrée en dormance chez *A. glutinosa* et (ii) déterminer l'effet de l'association d'*A. glutinosa* avec *P. deltoides* × *P. nigra*, entre eux (mélange forestier) et avec des cultures herbacées (agroforesterie), sur la durée de la saison de végétation des deux espèces, comparativement à leur monoculture respective.

2. Méthodes

2.1 Site d'étude

Les observations ont été effectuées sur le site expérimental de La Bouzule dans le nord-est de la France (48°44'19" N, 6°18'50" E, 219 m d'altitude). La plantation expérimentale a été installée au cours du printemps 2014 et mesure 448 m de long et 73 m de large, pour une superficie totale de 3.27 ha. Elle est composée de mélanges forestier et agroforestiers d'espèces fixatrices/non fixatrices d'azote ligneuses (peupliers et aulnes) et herbacées (succession luzerne/trèfle, graminées), ainsi que de leurs monocultures respectives. Lors de la plantation, les peupliers (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. × *P. nigra* L., clone 'Dorskamp') étaient des boutures ligneuses tandis que les aulnes (*Alnus glutinosa* L. Gaertn.) étaient des plants racinés. Chaque parcelle unitaire d'un traitement donné mesure environ 0.15 ha. Les parcelles forestières (monoculture et mélange forestier) ont été plantées à une densité de 2000 arbres par hectare tandis que les parcelles agroforestières comptent 1000 arbres par hectare, puisqu'une rangée d'arbres sur deux a été remplacée par une culture herbacée (voir Thomas et al. 2021 pour plus de détails). Des instruments de suivi des conditions environnementales ont été mis en place dans la plantation en 2014, et comprennent notamment un pluviomètre et un thermistor. La région est caractérisée par un climat tempéré chaud et les moyennes annuelles de températures et de précipitation cumulées étaient de 11.6°C et 633 mm respectivement entre 2014 et 2020.

2.2 Échelle de notation visuelle

Pour suivre le débourrement et l'entrée en dormance des bourgeons des deux espèces d'arbres, nous nous sommes appuyés sur la méthode de notation en classes (Faucher et al., 2006). Les échelles de notations visuelles établies par Turok et al. (1996) et Rohde et al. (2011) pour suivre le débourrement et l'entrée dormance des bourgeons de peupliers (*P. deltoides* × *P. nigra*), ont été utilisées pour identifier les principales phénophases et les adapter à *A. glutinosa* (Figures V.1 et V.2). Pour les deux processus, l'échelle de notation a été divisée en sept phénophases, chacune basée sur une observation visuelle du bourgeon terminal. Ces phénophases vont du stade 1 (bourgeon complètement fermé) à 5 (bourgeon pleinement ouvert et croissance amorcée) pour le débourrement, ou du stade 3 (présence de feuilles en croissance) à 0 (bourgeon complètement fermé) pour l'entrée en dormance.

Ainsi, pour le débourrement, on aura : *Stade 1* : Aucun signe de rupture du bourgeon, *Stade 2* : Bourgeon commençant à se gonfler, *Stade 2.5* : Bourgeon rompu, *Stade 3* : Ébauche de feuille visible, *Stade 3.5* : Feuille enroulée visible, *Stade 4* : Présence de jeunes feuilles (ce stade correspond au débourrement proprement dit), *Stade 5* : Croissance des feuilles (Figure V.1).

Pour l'entrée en dormance, on aura : *Stade 3* : Présence d'au moins deux feuilles enroulées, *Stade 2* : Dernière feuille enroulée et bourgeon non visible, *Stade 1.5* : Présence d'une feuille partiellement enroulée et bourgeon visible, *Stade 1* : Dernière feuille (F1) plus enroulée mais ressemblant à une feuille juvénile et bourgeon vert, *Stade 0.5* : F1 à l'apparence d'une feuille adulte et bourgeon vert, *Stade 0* : F1 à l'apparence d'une feuille adulte et bourgeon fermé et brun. Le stade 0 correspond à l'entrée en dormance du bourgeon (Figure V.2).

2.3 Mise en œuvre

Les suivis des deux processus phénologiques ont été effectués sur un échantillonnage de 20 peupliers et aulnes dans les trois systèmes de plantations différents (monoculture/mélange forestier/agroforesterie), soit un total de 120 arbres. Les campagnes ont été effectuées du 12 mars au 29 avril 2021 pour le débourrement, et du 26 août au 27 septembre 2021 pour l'entrée en dormance des bourgeons. Il s'agissait de la huitième saison de végétation des arbres. La durée de la saison de croissance a été déterminée à partir des dates de débourrement et d'entrée en dormance pour chaque espèce et chaque traitement.

2.4 Analyses statistiques

Une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs a été utilisée pour évaluer les effets de l'espèce (E), du traitement (T ; trois traitements : monoculture, agroforesterie, mélange forestier) et de leur interaction ($E \times T$) sur les dates de débourrement (*Stade 4*), et d'entrée en dormance (*Stade 0*) des bourgeons. Les effets de l'espèce, du traitement, de la date (D), et de leurs interactions ($E \times T$, $E \times D$, $T \times D$ et $E \times T \times D$) ont été testés sur les dynamiques des phénophases du débourrement et d'entrée en dormance des bourgeons. Un modèle à effet mixte, prenant en compte des effets fixes et aléatoires, a été ajusté aux données pour tester les effets fixes (fonction *lmer* du package *lme4*). Le modèle avait la forme suivante :

$$\text{Variables} \sim \text{Espèce} * \text{Traitement} * \text{Date} + (1|\text{ID}).$$

Espèce, Traitement et Date ont été définis comme effets fixes ; ID, correspondant à chaque arbre mesuré, a été défini comme effet aléatoire.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel libre R, version 2022.02.1 (R Development Core Team, 2022). Les moyennes sont exprimées avec leurs erreurs standards. Les tests statistiques ont été considérés comme significatifs à $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ ou $P \leq 0.001^{***}$. Lorsqu'un effet significatif a été observé ($P \leq 0.05$), un test de Tukey a été effectué pour les comparaisons multiples entre les différents niveaux de facteurs.

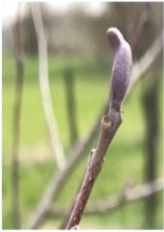






Stade	<i>A. glutinosa</i>	Description	Feuilles / Ecailles
1		Bourgeon fermé	Aucun signe de rupture
2		Bourgeon fermé	Bourgeon légèrement à entièrement gonflé
2.5		Bourgeon rompu	Ecailles proches du bourgeon, Bourgeon vert visible
3		Eclatement des écailles	Ecailles écartées du bourgeon, Ebauche de feuille
3.5		Transition bourgeon - feuille	Feuille enroulée visible
4		Eclatement des bourgeons	Pousses deviennent vertes, Jeunes feuilles observées
5		Croissance des feuilles	Feuilles commencent à croître, Nervures apparaissent

Figure V.1 – Échelle de notation en classes pour le suivi du débournement des bourgeons pour *A. glutinosa*, adaptée de Turok et al. (1996).







Stade	<i>A. glutinosa</i>	Description	Feuilles / écailles
3		Pousse apicale en pleine croissance	> 2 feuilles enroulées
2		Elongations des inter-nœuds presque terminées	Dernière feuille enroulée, Aucun bourgeon visible
1.5		Transition vers structure des bourgeons	Dernière feuille partiellement enroulée, Bourgeon visible et vert
1		Bourgeon visible, encore ouvert	Toutes les feuilles sont étirées, Dernière feuille avec un aspect juvénile, Ecailles du bourgeon vertes
0.5		Bourgeon fermé	Dernière feuille avec un aspect adulte, Ecailles du bourgeon vertes à rouges
0		Bourgeon en dormance	Bourgeon rouge-brun, Bourgeon gonflé et dur

Figure V.2 – Échelle de notation en classes pour le suivi de l'entrée en dormance des bourgeons pour *A. glutinosa*, adaptée de Rohde et al. (2011).

3. Résultats

3.1 Conditions climatiques

En 2021, les précipitations mensuelles cumulées étaient comprises entre 21 mm en avril et 146.5 mm en juillet (total de 804 mm sur l'année). Des températures comprises entre 2°C en janvier et 19.1°C en juin (moyenne de 10.4°C sur l'année) ont été enregistrées sur le site expérimental (Figure V.3).

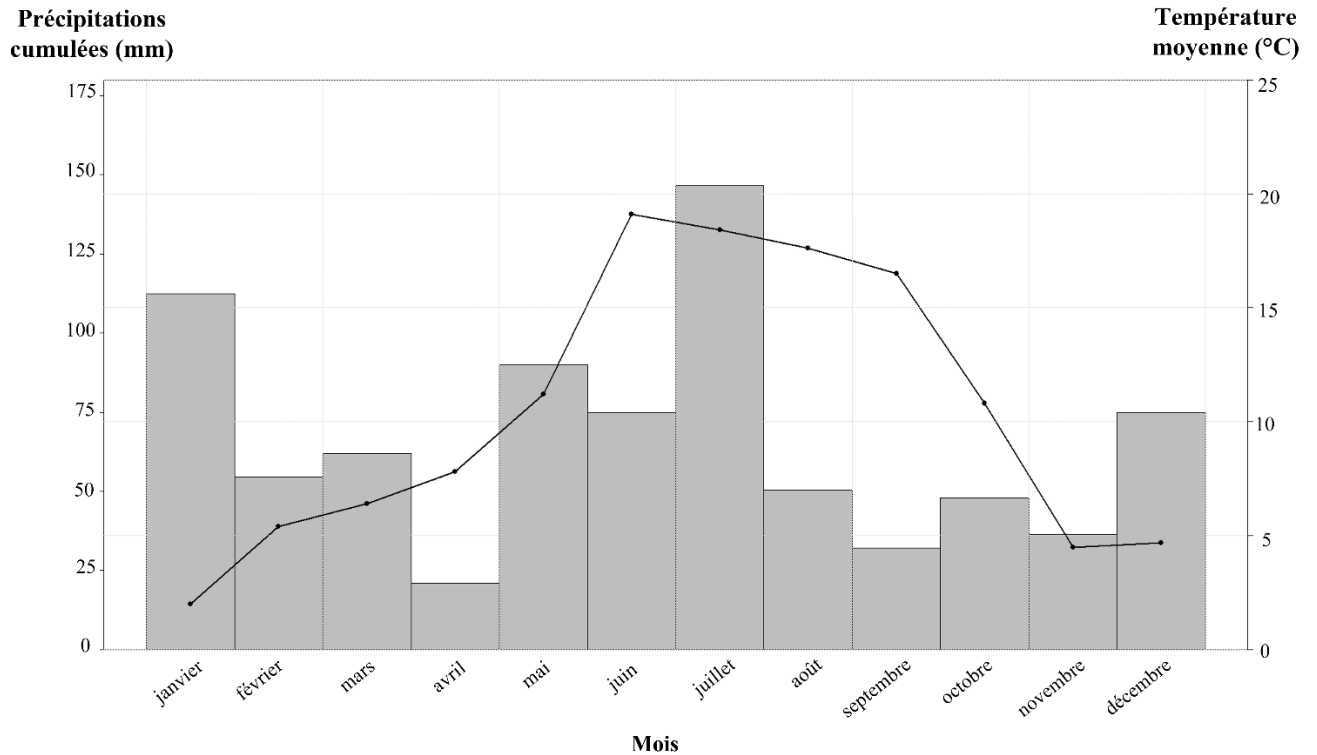


Figure V.3 – Graphique ombrothermique des précipitations cumulées mensuelles (mm) et des températures moyennes mensuelles (°C) enregistrées du 1^{er} janvier au 31 décembre 2021 sur le site expérimental.

3.2 Dates de débourrement et d'entrée en dormance

Le débourrement (*Stade* 4) des peupliers et des aulnes a eu lieu entre les jours 91 (1^{er} avril) et 119 (29 avril) de l'année 2021 sur le site expérimental (Tableau V.1). En moyenne, le débourrement des aulnes a eu lieu significativement plus tôt que pour les peupliers ($P \leq 0.01^{**}$), à savoir le jour 109 (19 avril) contre le jour 112 (22 avril). Pour les deux espèces, la date moyenne de débourrement ne différait pas suivant le traitement ($P = 0.3$). Pour les peupliers, la variabilité du débourrement était de 14 jours (monoculture) à 18 jours

(agroforesterie), tandis qu'elle était de 21 jours (monoculture) à 28 jours pour les aulnes (agroforesterie ; Tableau V.1).

L'entrée en dormance (*Stade 1*) des deux espèces a eu lieu entre les jours 246 (3 septembre) et 270 (27 septembre) sur le site expérimental (Tableau V.1). En moyenne, les bourgeons sont entrés en dormance (*Stade 0*) le jour 267 (24 septembre) pour les deux espèces ($P = 0.5$) et quel que soit le traitement ($P = 0.4$; Tableau V.1). L'entrée en dormance variait de 7 (mélange forestier et monoculture) à 14 jours (agroforesterie) pour les peupliers et de 7 (monoculture) à 24 jours (mélange forestier) pour les aulnes (Tableau V.1). Pour les aulnes, la durée de la saison de croissance était en moyenne de 157 jours, et celle des peupliers de 155 jours, quel que soit le traitement pour les deux espèces (Tableau V.1).

Tableau V.1 – Variabilité du débourrement et de l'entrée en dormance pour les peupliers et les aulnes en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture. La valeur minimale (*min*) et maximale (*max*), ainsi que la moyenne (\pm erreur standard) sont indiquées pour chaque espèce et chaque traitement. Les effets de l'espèce (*E*), du traitement (*T*), et de leur interaction ($E \times T$) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$, *ns* pour non significatif. JDA = jour de l'année. $n = 20$

Espèce	Traitement	Débourrement (JDA)			Dormance (JDA)			Saison de croissance (jours)		
		<i>Stade 4</i>			<i>Stade 0</i>			<i>Durée</i>		
		min	max	moyenne \pm SE	min	max	moyenne \pm SE	min	max	moyenne \pm SE
Peuplier	Agroforesterie	98	116	110.9 \pm 1.4	256	270	266.5 \pm 1.2	140	172	155.9 \pm 2.4
	Mélange forestier	102	117	112.5 \pm 1.0	263	270	266.2 \pm 0.8	147	168	153.7 \pm 1.3
	Monoculture	102	116	112.8 \pm 0.9	263	270	267.5 \pm 0.8	147	168	155.0 \pm 1.1
Aulne	Agroforesterie	91	119	110.1 \pm 1.6	256	270	264.2 \pm 1.4	137	172	154.8 \pm 2.2
	Mélange forestier	91	116	107.3 \pm 1.8	246	270	266.9 \pm 1.4	144	179	159.9 \pm 2.1
	Monoculture	98	119	109.6 \pm 1.3	263	270	266.9 \pm 0.9	147	172	156.9 \pm 1.8
		<i>E</i> **			<i>E</i> ns ($P = 0.5$)			<i>E</i> ns ($P = 0.7$)		
		<i>T</i> ns ($P = 0.6$)			<i>T</i> ns ($P = 0.2$)			<i>T</i> ns ($P = 0.7$)		
		$E \times T$ ns ($P = 0.3$)			$E \times T$ ns ($P = 0.4$)			$E \times T$ ns ($P = 0.1$)		

3.3 Dynamiques des phénophases du débourrement et de l'entrée en dormance

Il n'y avait pas de différence dans la dynamique de débourrement entre les peupliers et les aulnes ($P = 0.8$; Figure V.4). Sur l'ensemble de la période, les bourgeons des aulnes en agroforesterie sont passés plus lentement, en moyenne, d'une phénophase à la suivante, par rapport aux bourgeons des aulnes en mélange forestier ($P \leq 0.001^{***}$) et en monoculture ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.4A). Au contraire, pour les peupliers, ce sont les bourgeons des arbres en mélange forestier ($P \leq 0.01^{**}$) et en monoculture ($P \leq 0.001^{***}$) qui sont passés plus lentement d'une phénophase à la phénophase suivante, par rapport aux bourgeons des arbres en agroforesterie (Figure V.4B).

La dynamique d'entrée en dormance des bourgeons des peupliers et des aulnes ne différait pas entre les deux espèces ($P = 0.5$; Figure V.5). Sur l'ensemble de la période, les bourgeons des aulnes en agroforesterie sont, en moyenne, passés plus rapidement d'une phénophase à la suivante par rapport aux bourgeons des aulnes en mélange forestier ($P \leq 0.001^{***}$) et en monoculture ($P \leq 0.01^{**}$; Figure V.5A) ; cela était plus marqué au début du processus, entre le 26 août et le 3 septembre 2021 ($P \leq 0.05^*$). Pour les peupliers, les bourgeons des arbres en agroforesterie sont passés d'une phénophase à la suivante plus rapidement que les bourgeons des arbres en mélange forestier ($P \leq 0.001^{***}$), alors qu'il n'y avait pas de différence avec la monoculture ($P = 0.06$) ; ce décalage était surtout marqué à la première date de suivi ($P \leq 0.05^*$; Figure V.5B).

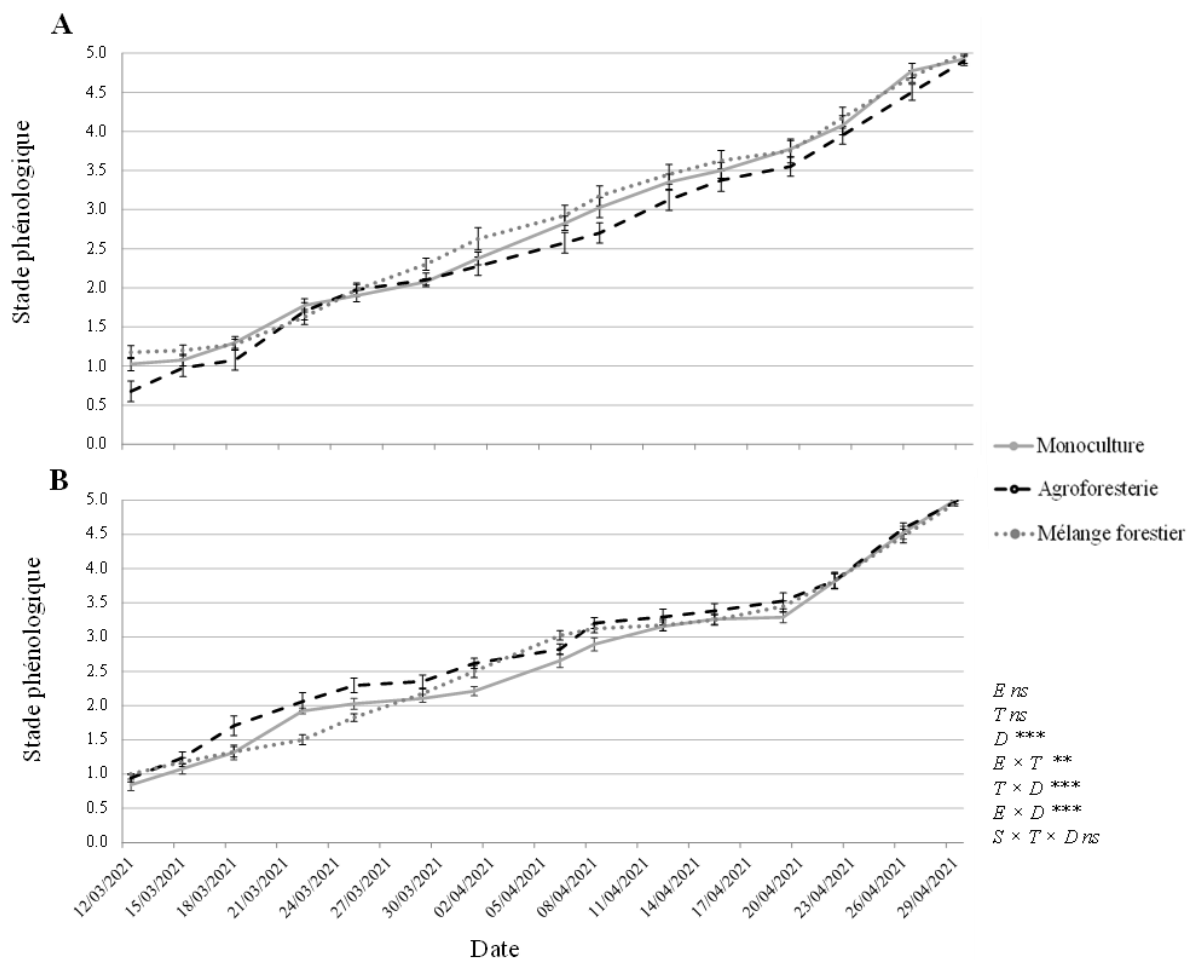


Figure V.4 – Évolution des phénophases de débourrement des bourgeons (A) d'aulnes et (B) de peupliers en monoculture, agroforesterie et mélange forestier en 2021. Pour chaque date et traitement : moyenne \pm erreur standard ; $n=20$. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $S \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$ et $P \leq 0.001^{***}$, et ns pour non-significatif.

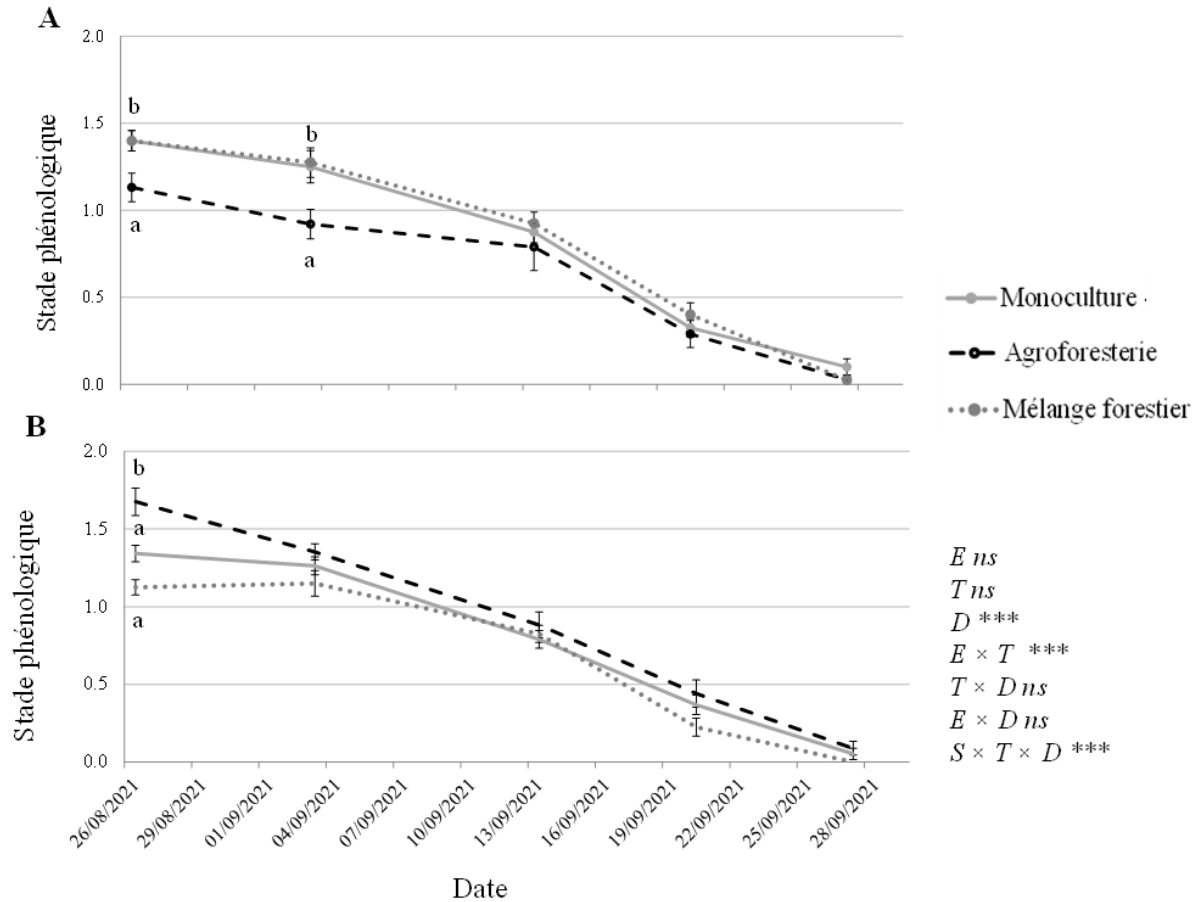


Figure V.5 – Évolution des phénophases d'entrée en dormance des bourgeons (A) d'aulnes et (B) de peupliers en monoculture, agroforesterie et mélange forestier en 2021. Pour chaque date et traitement : moyenne \pm erreur standard ; $n=20$. Les effets de l'espèce (*E*), du traitement (*T*), de la date (*D*) et leurs interactions (*E* \times *T*, *T* \times *D*, *E* \times *D*, *S* \times *T* \times *D*) sont indiqués pour $P \leq 0.001$ ***, *ns* pour non-significatif. Pour une date donnée, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les traitements pour chaque espèce.

4. Discussion et conclusion

Cette étude avait d'une part pour objectif pratique de proposer une échelle de notation visuelle pour les processus de débourrement et d'entrée en dormance des bourgeons chez *A. glutinosa*, et d'autre part, d'évaluer l'influence de l'association d'*A. glutinosa* et *P. deltoides* × *P. nigra*, entre eux et avec des cultures herbacées, sur la durée de la saison de végétation des arbres en comparaison de leurs monocultures.

Pour les deux espèces, les dates de débourrement recensées dans notre étude correspondaient aux valeurs déjà rapportées dans la littérature en Europe, avec un débourrement autour du 11 avril pour des aulnes (*A. glutinosa*) dans le nord-est de la France et entre le 18 et le 23 avril pour des peupliers (*P. deltoides* × *P. nigra*) en Belgique (DeWald et Steiner 1986, Pellis et al. 2004). Pour l'entrée en dormance des bourgeons, DeWald et Steiner (1986) ont rapporté une date plus précoce pour les aulnes, à savoir le 1^{er} septembre. Cette différence peut être expliquée par le fait que depuis les années 1980, les arbres ont subi les conséquences du réchauffement climatique et, qu'à l'instar d'autres espèces ligneuses tempérées, la saison de croissance de l'aulne est probablement allongée depuis cette époque (Linderholm 2006, Estiarte and Peñuelas 2015). En revanche, une date proche de celle trouvée dans notre étude a été précédemment rapportée par Rohde et al. (2011) pour les peupliers (*P. deltoides* × *P. nigra*), à savoir le 20 septembre.

La variabilité du débourrement et de l'entrée en dormance plus importante pour les aulnes que pour les peupliers était probablement liée au fait que les peupliers étaient des clones, donc tous identiques, contrairement aux aulnes qui sont issus de graines. Le débourrement des aulnes a eu lieu quatre jours plus tôt que celui des peupliers en 2021. La température est souvent le principal facteur influençant le débourrement (Gleeson et al. 2013). Cette différence entre les deux espèces pourrait donc s'expliquer par le fait que les Bétulacées débourent dès que les conditions de températures sont favorables. En effet, l'aulne est adapté à une large gamme de climat et son débourrement ne nécessite pas d'exigence particulière de photopériode ni de « *chilling* », c'est-à-dire d'exposition à des températures froides l'hiver (Claessens et al. 2010, Basler et Körner 2012, Peaucelle et al. 2019). En revanche, ce n'est pas le cas pour les peupliers dont le débourrement est sensible à l'augmentation des températures et qui nécessite une certaine quantité de froid l'hiver (Pellis et al 2004, Pletsers et al. 2015). Le nombre de jour de *chilling* est déterminé comme étant le nombre de jours où les températures moyennes journalières sont comprises entre 0 et 5°C. Sur le site

expérimental, la température moyenne était de 10°C du 19 avril (débourrement des aulnes) au 22 avril 2021 (débourrement des peupliers), ce qui semble indiquer que le décalage observé entre les deux espèces n'est pas dû au *chilling* dans notre cas. En revanche, on peut supposer que cette différence est liée au fait que l'aulne, en tant qu'espèce fixatrice d'azote, est plus efficace que les peupliers pour la remobilisation de l'azote foliaire au moment du débourrement.

Bien que les aulnes aient eu un débourrement plus précoce que les peupliers, nos résultats ne vont pas dans le sens d'une saison de croissance plus longue pour les aulnes. Cela étant, la durée de saison de croissance déterminée dans notre étude correspondait à ce qui est rapporté dans la littérature pour les aulnes et les peupliers : la saison de croissance des aulnes en France est supérieure à 145 jours et celle des peupliers dans le nord de l'Europe est d'environ 150 jours (DeWald et Steiner 1986, Vico et al. 2021). En outre, nos résultats n'ont pas mis en évidence de saison de végétation plus longue pour les aulnes et les peupliers en agroforesterie, comparativement à leur monoculture respective. Cependant, lorsqu'on s'intéresse aux dynamiques de débourrement et d'entrée en dormance, les aulnes en agroforesterie ont eu tendance à avoir un débourrement plus tardif et une dormance plus précoce que dans les traitements forestiers, indiquant une saison de végétation plus courte. Le contraire a été observé pour les peupliers en agroforesterie qui ont eu un débourrement plus tôt et une entrée en dormance plus tardive. Dans Thomas et al. (2021), les performances de croissance (hauteur, diamètre à hauteur de poitrine) des aulnes sur ce site expérimental ne différaient pas suivant le traitement alors que pour les peupliers, les performances de croissance étaient accrues en agroforesterie comparativement aux traitements forestiers. Il est donc probable que l'absence d'une ligne d'arbre sur deux en agroforesterie ait eu un effet négatif sur la longueur de la saison de végétation pour les aulnes. La différence étant plus importante entre les aulnes agroforestiers et ceux dans le mélange forestier, on peut supposer que c'est parce que les aulnes en mélange forestier étaient sous le houppier des peupliers et que les variations climatiques étaient moins importantes qu'en agroforesterie. Pour les peupliers, il est probable que les performances de croissance accrues en agroforesterie, contrebalancent cet effet négatif lié à la densité plus faible que dans les traitements forestiers. Selon Rohde et al. (2011), le stade 0.5 (suivi de l'entrée en dormance) correspondrait à la fermeture des bourgeons, et le stade 0 aux bourgeons dormants matures. Dans notre étude, l'effet traitement mis en évidence pour l'entrée en dormance (stade 0) pour les deux espèces aurait, semble-t-il, été plus marqué (mais statistiquement inchangé) si nous avions utilisé le stade 0.5.

Au vu de ces résultats, l'utilisation des échelles de notation en classes proposées dans cette étude pour l'aulne semble pertinente pour étudier ces deux processus phénologiques. L'introduction d'arbres dans les cultures agricoles a déjà par le passé été reconnue pour ses effets bénéfiques sur la régulation du microclimat du système (Monteith et al. 1991). Néanmoins, ces études s'intéressaient à l'effet de l'arbre sur la composante agricole en comparaison de la culture agricole pure. Lorsque l'on s'intéresse à la composante arborée dans ce contexte agroforestier en comparaison de la monoculture, l'effet sur l'arbre est contrasté suivant l'espèce. En effet, dans cette étude, l'absence d'une ligne d'arbre sur deux, comparativement aux traitements forestiers, tendait à avoir un effet négatif pour les arbres comme ce qui a été observé pour l'aulne. En revanche, cela n'a pas été le cas du peuplier en agroforesterie. Néanmoins, dans les systèmes agroforestiers, les grands arbres sont de forts concurrents pour la culture herbacée dont la production peut être fortement réduite.

A retenir (Figure VI.1)

- La durée de la saison de végétation n'a pas été impactée par les mélanges ;
- Des différences dans les dynamiques des processus de débourrement et d'entrée en dormance ont cependant été mises en évidence ;
- Les peupliers en agroforesterie ont atteint le stade 4 (débourrement) plus tôt et le stade 0 (entrée en dormance) plus tard que les peupliers dans les traitements forestiers ;
- Le contraire a été observé pour les aulnes.

CHAPITRE V – II

Sénescence et maturation foliaires des peupliers et des aulnes en plantations mélangées

1. Introduction

La phénologie peut être définie comme l'étude des phénomènes biologiques qui se reproduisent chaque année dans le cycle de vie des plantes, tels que le débourrement et la chute des feuilles (Pellis et al. 2004). Certaines études ont constaté une augmentation de la productivité forestière associée à une augmentation de la durée de la saison de croissance (ou durée de la canopée ; Vitasse et al. 2014, Čufar et al. 2015). En effet, la durée de la canopée va directement impacter l'absorption photosynthétique saisonnière qui va conditionner la croissance individuelle des arbres (Marchand et al. 2020). Ainsi, certaines espèces sont préférentiellement sélectionnées pour leur caractéristiques phénologiques afin d'optimiser la durée de la saison de végétation et permettre des rendements supérieurs (Rohde et al. 2011).

En plantation mélangée, les différences de phénologie entre espèces peuvent contribuer à expliquer les rendements supérieurs observés comparativement aux monocultures respectives de ces espèces. C'est notamment le cas des associations d'espèces à feuilles caduques avec des espèces à feuilles persistantes (Steckel et al. 2019). Dans l'étude de Steckel et al. (2019), les pins (*Pinus sylvestris*) en association avec des chênes (*Quercus robur*) ont reçu plus de lumière au printemps avant l'émergence des feuilles des chênes, favorisant ainsi leur croissance. Dans le cas d'une association avec une espèce fixatrice d'azote atmosphérique (N₂), Sigurdsson (2001) a montré qu'un excès d'azote dans le sol pouvait retarder l'entrée en dormance des bourgeons et donc le processus de sénescence des feuilles en automne chez les peupliers (*Populus trichocarpa*).

La plasticité de la photosynthèse a été montrée en réponse à des variations de température, de photopériode et d'azote foliaire pour de nombreuses espèces (Reich et Oleksyn 2004, Estiarte and Peñuelas 2015), dont le peuplier (Elferjani et al. 2016). L'azote foliaire représente majoritairement la chlorophylle qui est un pigment photosynthétique important pour les arbres car il influence leurs capacités photosynthétiques et *in fine* leurs performances de croissance (Tradiati et al. 2007). Muthuri et al. (2009) ont montré une augmentation de la teneur en chlorophylles au fur et à mesure de la maturation des feuilles pour trois espèces d'arbres (*Grevillea robusta*, *Alnus acuminata*, *Paulownia fortunei*). En outre, la dynamique de chute des chlorophylles a dans le passé été utilisée comme un indicateur de l'entrée en sénescence chez certaines espèces dont le peuplier (Keskitalo et al. 2005, Castro et Sanchez-Azofeifa 2008, Mattila et al. 2018). En effet, la perte de chlorophylles et le déclin de la photosynthèse sont des caractéristiques communes de la

sénescence automnale. Collier et Thibodeau (1995) ont montré que les feuilles de peupliers (*P. tremuloides*) perdaient plus de 80% de leurs chlorophylles, majoritairement pendant le mois de septembre dans la province de L'Ontario au Canada. Dans cette étude la perte de chlorophylles s'est accompagnée d'une diminution des teneurs en azote foliaires. En effet, au moment de la sénescence automnale, les arbres vont remobiliser l'azote et d'autres nutriments des feuilles vers les organes pérennes, afin de les réutiliser au printemps suivant, lors de la reprise de croissance (Michelson et al. 2018).

L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'influence des mélanges d'espèces sur les processus de sénescence et de maturation foliaires à travers des suivis de teneurs en chlorophylles des feuilles vertes et sénescentes de peupliers et d'aulnes, au printemps et à l'automne, lors de la mise en place et avant la chute des feuilles. Comme l'azote foliaire représente majoritairement la chlorophylle et la Rubisco (Evans 1989), nos hypothèses étaient (1) d'observer des teneurs en chlorophylles supérieures dans les feuilles des peupliers en mélanges avec une espèce fixatrice de N₂, que dans les feuilles de peupliers en monoculture, (2) que les teneurs en chlorophylles foliaires des peupliers en mélanges seraient plus importantes au début de la maturation foliaire et juste avant la chute des feuilles que dans leur monoculture en raison d'un moindre besoin de remobilisation de l'azote en présence des fixateurs, et (3) que les aulnes auraient une stratégie différente des peupliers quant à la synthèse et à la dégradation des chlorophylles en raison de leur statut d'espèce fixatrice de N₂.

2. Méthodes

2.1 Site d'étude et échantillonnage

Les mesures ont eu lieu sur la plantation expérimentale instrumentée de La Bouzule dans le nord-est de la France (48°44'19" N, 6°18'50" E, 219 m alt.), décrite en détails dans Thomas et al. (2021). L'ensemble des mesures et prélèvements a été réalisé au sein du deuxième bloc.

2.2 Récolte des litières

La chute des feuilles a été suivie du 11 août au 8 décembre 2021. Toutes les deux semaines, la litière a été collectée dans dix paniers à litière (50 cm × 50 cm, 0.25 m²) installés dans chaque mélange, et six dans chaque monoculture d'arbres, soit un total de 42 paniers. Les paniers ont été placés à différentes distances d'arbres cibles choisis au hasard et dans l'espace de Voronoï pour couvrir la variabilité spatiale de chaque traitement. Cet espace

correspond à la surface élémentaire définie par la mi-distance entre un arbre et son voisin dont un quart de la surface sera retenu pour l'échantillonnage. Ainsi, les paniers à litière ont été placés sur la diagonale entre deux arbres : au pied de l'arbre, au quart et à la mi-distance, et en considérant les arbres " virtuels " lorsque les lignes d'arbres sont remplacées par la culture agroforestière (Figure III.10). La litière de feuilles collectée dans chaque panier a été triée par espèce, séchée à 45°C pendant 48h et pesée.

2.3 Mesures des teneurs en chlorophylles des feuilles

La teneur en chlorophylles ($\mu\text{g cm}^{-2}$) a été mesurée pour tous les arbres sélectionnés grâce à une pince foliaire Dualex® (Dualex Scientific+, Force A, France) qui permet de réaliser des mesures instantanées, non-destructives (Goulas et al. 2004). Le suivi de la sénescence foliaire a été effectué à l'automne 2021, du 26 août au 5 novembre, soit jusqu'à la chute des feuilles, tandis que le suivi de la maturation foliaire a été effectué au printemps 2022, du 27 avril au 11 juin. Les campagnes de suivi ont été espacées de 5 à 7 jours. Les suivis étaient effectués sur un échantillonnage aléatoire de 20 peupliers et aulnes représentatifs de la variabilité de taille des arbres dans la plantation dans les trois systèmes de plantations différents (monoculture/mélange forestier/agroforesterie) en excluant les arbres situés sur les bordures, soit un total de 120 arbres. Lors de chaque campagne, les mesures au Dualex ont été effectuées sur trois feuilles par arbres, sélectionnées aléatoirement.

2.4 Surface foliaire spécifique

Les feuilles utilisées précédemment pour les mesures au Dualex ont été prélevées et décalquées sur papier directement après la campagne sur le terrain. Le décalque de la feuille a permis par la suite de déterminer sa surface foliaire via l'utilisation d'un planimètre. Les feuilles ont ensuite été placées à l'étuve à 50°C pendant 48h, séchées puis pesées. En connaissant la surface foliaire et la masse sèche de chaque échantillon, il a par la suite été possible de déterminer la surface foliaire spécifique (SLA, specific leaf area, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), calculée comme étant le rapport entre la surface foliaire (cm^2) et la masse sèche (g).

2.5 Analyses statistiques

Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D), et de leurs interactions ($E \times T$, $E \times D$, $T \times D$ et $E \times T \times D$) ont été testés sur l'évolution des teneurs en chlorophylles lors de la sénescence et de la maturation foliaire ainsi que sur celle de la SLA. Un modèle à effet

mixte, prenant en compte des effets fixes et aléatoires, a été ajusté aux données pour tester les effets fixes (fonction *lmer* du package *lme4*). Le modèle avait la forme suivante :

$$\text{Variables} \sim \text{Espèce} * \text{Traitement} * \text{Date} + (1|\text{ID}).$$

Espèce, Traitement et Date ont été définis comme effets fixes ; ID, correspondant à chaque arbre mesuré, a été défini comme effet aléatoire.

Une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs a été utilisée pour tester les effets de l'espèce (*E*), du traitement (*T*) et de leur interaction ($E \times T$) sur la SLA sur l'ensemble du suivi.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel libre R, version 2022.02.1 (R Development Core Team, 2022). Les moyennes sont exprimées avec leur erreur standard. Les tests statistiques ont été considérés comme significatifs à $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$ ou $P \leq 0.001^{***}$. Lorsqu'un effet significatif a été observé ($P \leq 0.05^*$), un test de Tukey a été effectué pour les comparaisons multiples entre les différents niveaux de facteurs.

3. Résultats

3.1 Conditions climatiques

En 2021, les précipitations mensuelles cumulées étaient comprises entre 21 mm en avril et 146.5 mm en juillet (total de 804 mm sur l'année). Des températures comprises entre 2°C en janvier et 19.1°C en juin (moyenne de 10.4°C sur l'année) ont été enregistrées sur le site expérimental (Figure V.6). En 2022, les précipitations mensuelles cumulées étaient comprises entre 6 mm en juillet et 76.5 mm en avril (total de 310 mm du 1^{er} janvier au 31 août 2022).

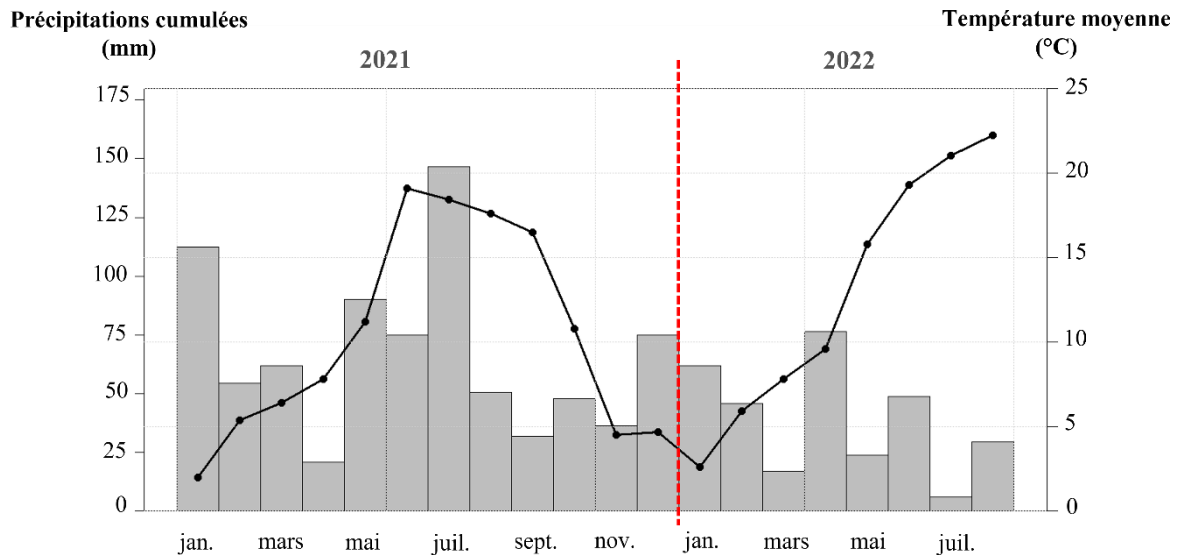


Figure V.6 – Graphique ombrothermique des précipitations cumulées mensuelles (mm) et des températures moyennes mensuelles (°C) enregistrées du 1^{er} janvier 2021 au 31 août 2022 sur le site expérimental.

3.2 Évolution de la teneur en chlorophylles et de la surface foliaire spécifique lors de la maturation foliaire

Au début de la mise en place des feuilles le 27 avril 2022, la teneur en chlorophylles dans les feuilles d’aulnes était significativement supérieure à celle des feuilles de peupliers, à savoir $19.1 \pm 0.6 \mu\text{g cm}^{-2}$, en moyenne, contre $10.9 \pm 0.7 \mu\text{g cm}^{-2}$, respectivement ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.7). La teneur en chlorophylles des aulnes a augmenté de façon significative entre le 27 avril et le 11 juin ($P \leq 0.001^{***}$), et a atteint une valeur de $28.0 \pm 0.9 \mu\text{g cm}^{-2}$ en moyenne le 11 juin, tous traitements confondus. D’un autre côté, la teneur en chlorophylles des peupliers, tous traitements confondus, a fortement augmenté (et de manière significative) entre chaque date pour atteindre une valeur maximale de $31.6 \pm 1.1 \mu\text{g cm}^{-2}$, en moyenne, le 11 juin ($P \leq 0.001^{***}$ entre le 27 avril et le 11 juin). Les feuilles des peupliers en monoculture avaient une teneur en chlorophylles significativement plus élevée que les peupliers en agroforesterie ($P \leq 0.001^{***}$) et en mélange forestier ($P \leq 0.01^{**}$) avec une valeur de $34.3 \pm 1.2 \mu\text{g cm}^{-2}$ contre $30.8 \pm 1.3 \mu\text{g cm}^{-2}$ et $29.7 \pm 0.9 \mu\text{g cm}^{-2}$, respectivement en fin de suivi (11 juin). Il n’y avait pas de différence entre les deux mélanges ($P = 0.28$; Figure V.7).

Au début de la mise en place des feuilles le 27 avril 2022, la SLA des peupliers était significativement supérieure à celle des aulnes, avec en moyenne $157.6 \pm 5.7 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ contre $126.8 \pm 4.5 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$, respectivement ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.8). La SLA était plus faible en fin de suivi (le 24 mai 2022) par rapport à la première date pour les peupliers en

agroforesterie ($129.3 \pm 6.1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$; $P \leq 0.05^*$) ainsi que pour les peupliers dans le mélange forestier ($110.4 \pm 4.2 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$; $P \leq 0.05^*$). En revanche, il n'y avait pas de différence de SLA entre la fin et le début du suivi ni pour les peupliers et les aulnes en monoculture ($P > 0.56$), ni pour les aulnes en agroforesterie et en mélange forestier ($P > 1.0$). Sur l'ensemble du suivi, la SLA était significativement plus faible pour les peupliers en mélange forestier que pour ceux en monoculture et en agroforesterie, avec une SLA en moyenne de $145.8 \pm 2.8 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ contre $158.3 \pm 3.1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$, respectivement ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.9). Il n'y avait pas de différence de SLA entre les peupliers en agroforesterie et ceux en monoculture ($P = 0.99$). Pour les aulnes, le contraire a été observé, avec une SLA en moyenne significativement plus importante dans le mélange forestier ($152.7 \pm 2.4 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) qu'en agroforesterie ($133.9 \pm 1.7 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$; $P \leq 0.01^{**}$). Les aulnes en monoculture ($144.3 \pm 2.3 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) avaient également une SLA significativement plus élevée que les aulnes en agroforesterie ($P \leq 0.01^{**}$; Figure V.9).

3.3 Évolution de la teneur en chlorophylles lors de la sénescence foliaire

Pour les peupliers, la diminution de la teneur en chlorophylles a commencé de façon significative le 13 septembre 2021, et s'est poursuivie jusqu'à la chute des feuilles ($P \leq 0.001^{***}$ entre le 13 septembre et le 8 décembre ; Figure V.10). Sur l'ensemble du suivi, la teneur en chlorophylles dans les feuilles de peupliers était significativement supérieure en agroforesterie ($24.7 \pm 0.8 \mu\text{g cm}^{-2}$) comparativement aux peupliers dans les traitements forestiers ($20.5 \pm 0.7 \mu\text{g cm}^{-2}$; $P \leq 0.001^{***}$). Pour les aulnes en revanche, la teneur en chlorophylles des feuilles juste avant la chute des feuilles en novembre n'était pas significativement différente de la teneur en chlorophylles des feuilles au début du suivi ($P = 0.39$), et cela quel que soit le traitement ($P > 0.96$). Au début du suivi, la teneur en chlorophylles des feuilles de peupliers n'était pas significativement différente de celle des aulnes, à savoir $33.5 \pm 0.8 \mu\text{g cm}^{-2}$ en moyenne pour les peupliers et $35.3 \pm 0.9 \mu\text{g cm}^{-2}$ pour les aulnes ($P = 0.59$), tandis qu'elle était nettement inférieure à celle des aulnes à la fin du suivi, à savoir $9.4 \pm 0.9 \mu\text{g cm}^{-2}$, en moyenne, contre $33.2 \pm 1.3 \mu\text{g cm}^{-2}$, respectivement ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.10).

3.4 Dynamique de chute des feuilles

La chute des feuilles des aulnes s'est produite un mois plus tard que celle des peupliers à savoir en novembre et octobre, respectivement ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.11). Les peupliers ont commencé à perdre leurs feuilles à partir du 28 septembre jusqu'au 10 novembre. Pour les peupliers, la chute des feuilles s'est ainsi produite principalement tout au long du mois

d'octobre, et était plus importante dans la monoculture que dans le mélange forestier, avec en moyenne $115.7 \pm 21 \text{ g m}^{-2}$ de litière contre $56.7 \pm 12 \text{ g m}^{-2}$ le 25 octobre, respectivement ($P \leq 0.01^{**}$). La quantité de feuilles de peupliers tombée à cette date n'était pas différente entre l'agroforesterie ($76.0 \pm 15 \text{ g m}^{-2}$) et la monoculture ($P = 0.5$), ni entre l'agroforesterie et le mélange forestier ($P = 1.0$). Les aulnes ont quant à eux essentiellement perdu leurs feuilles autour du 10 novembre, dans tous les traitements, et cette perte était significativement plus importante en monoculture que dans les mélanges ($P \leq 0.001^{***}$; Figure V.11).

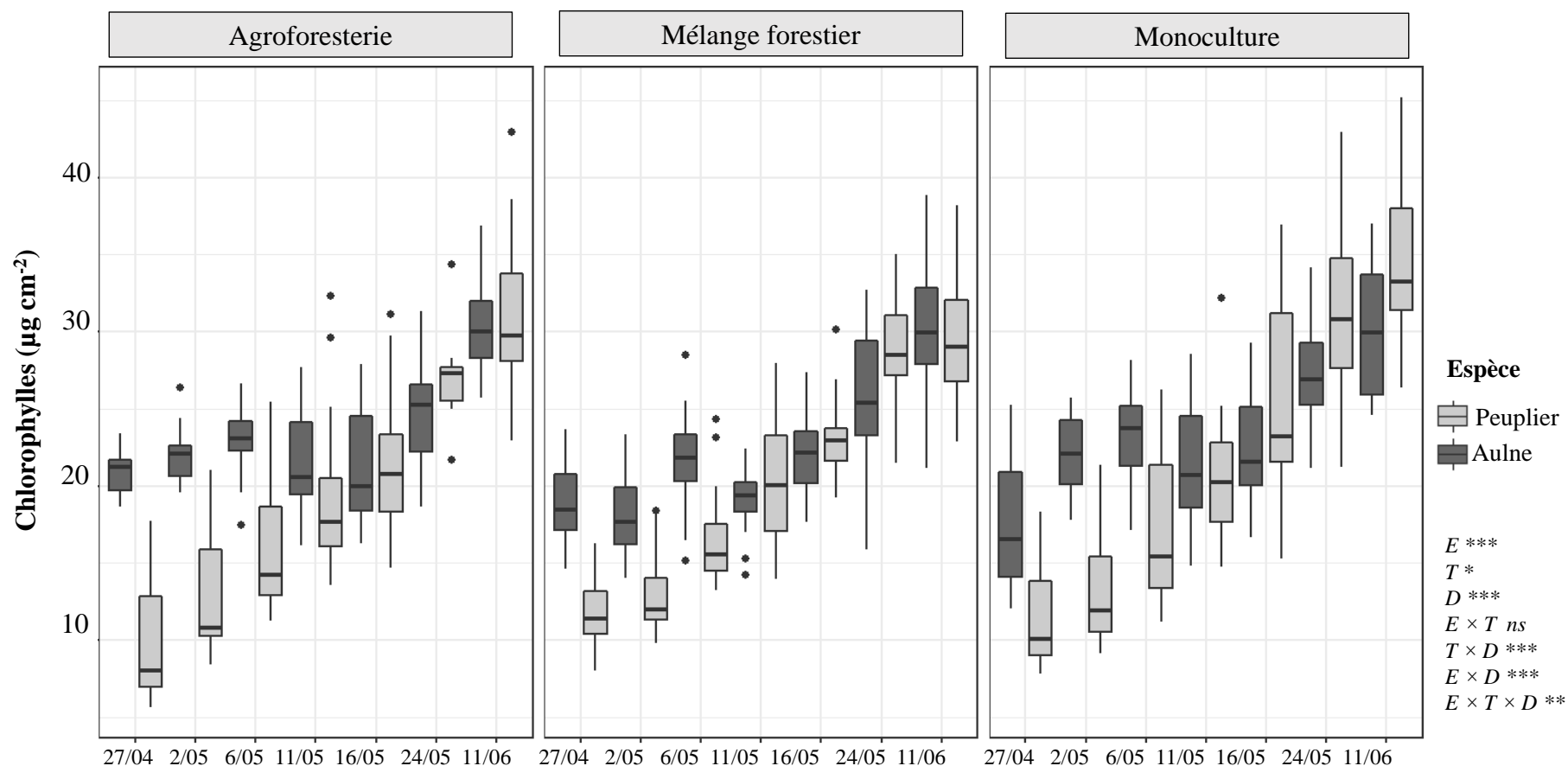


Figure V.7 – Dynamiques des teneurs en chlorophylles des feuilles des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) au cours de la maturation foliaire en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 27 avril et le 11 juin 2022. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions ($E \times T$, $T \times D$, $E \times D$, $E \times T \times D$) sont indiqués pour $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif; $n = 20$. Chaque boîte représente le quartile inférieur ($Q1$) et supérieur ($Q3$) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.

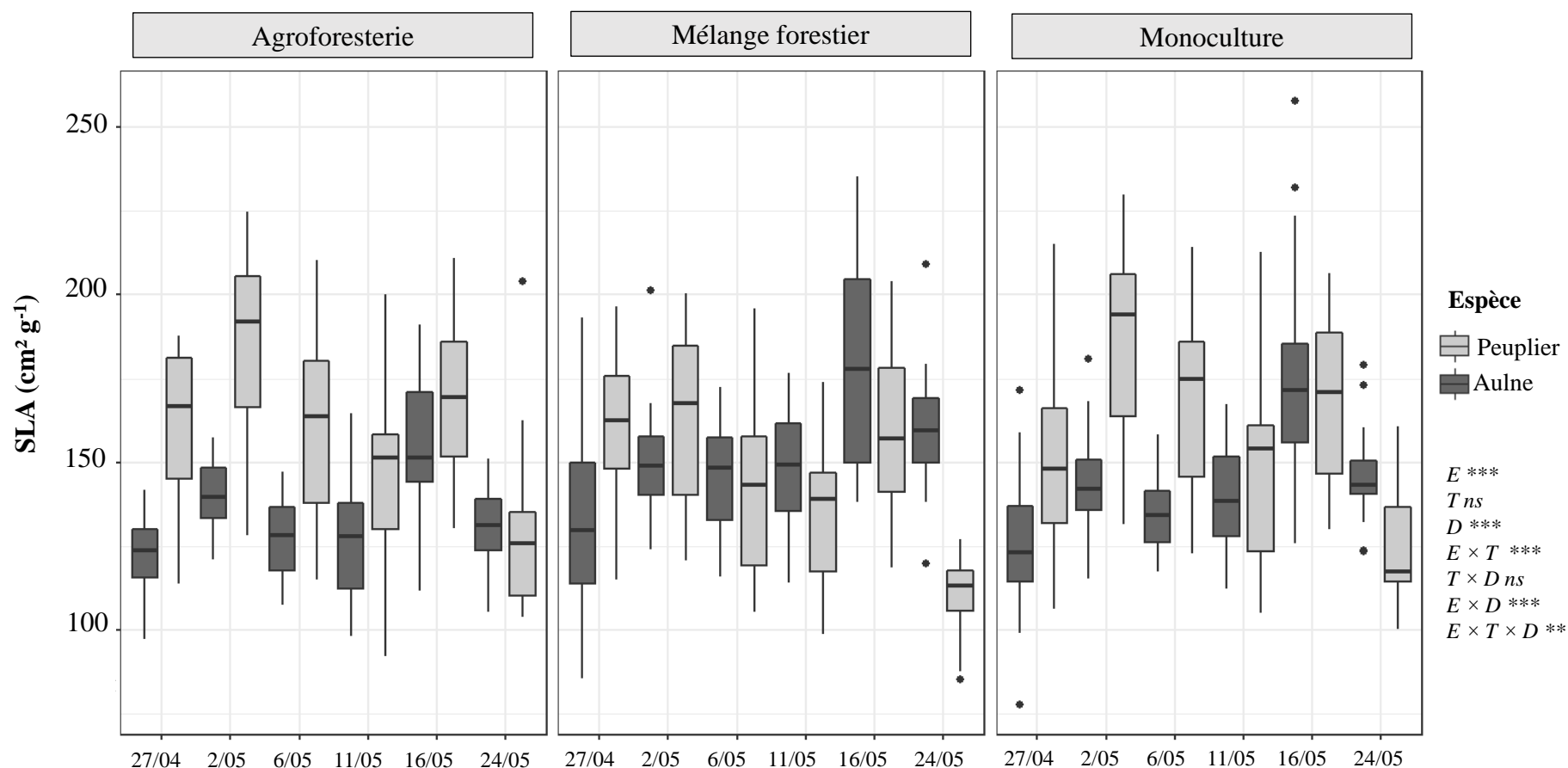


Figure V.8 – Dynamiques de la surface foliaire spécifique (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture entre le 27 avril et le 24 mai 2022. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions (E \times T, T \times D, E \times D, E \times T \times D) sont indiqués pour $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; $n = 20$. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.

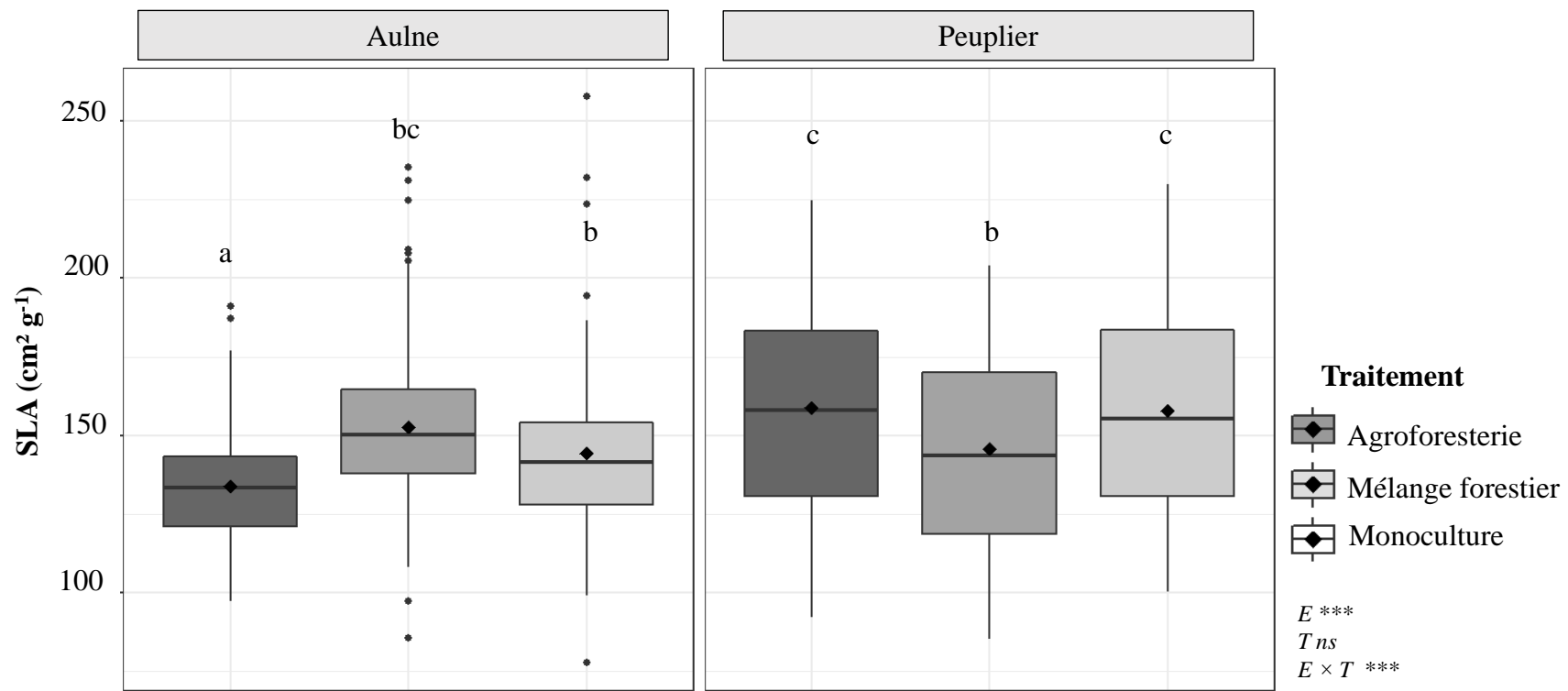


Figure V.9 – Surface foliaire spécifique moyenne (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) des aulnes et des peupliers en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), et leur interaction ($E \times T$) sont indiqués pour $P \leq 0.001$ ***, ns : non-significatif. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre espèces et/ou traitements.

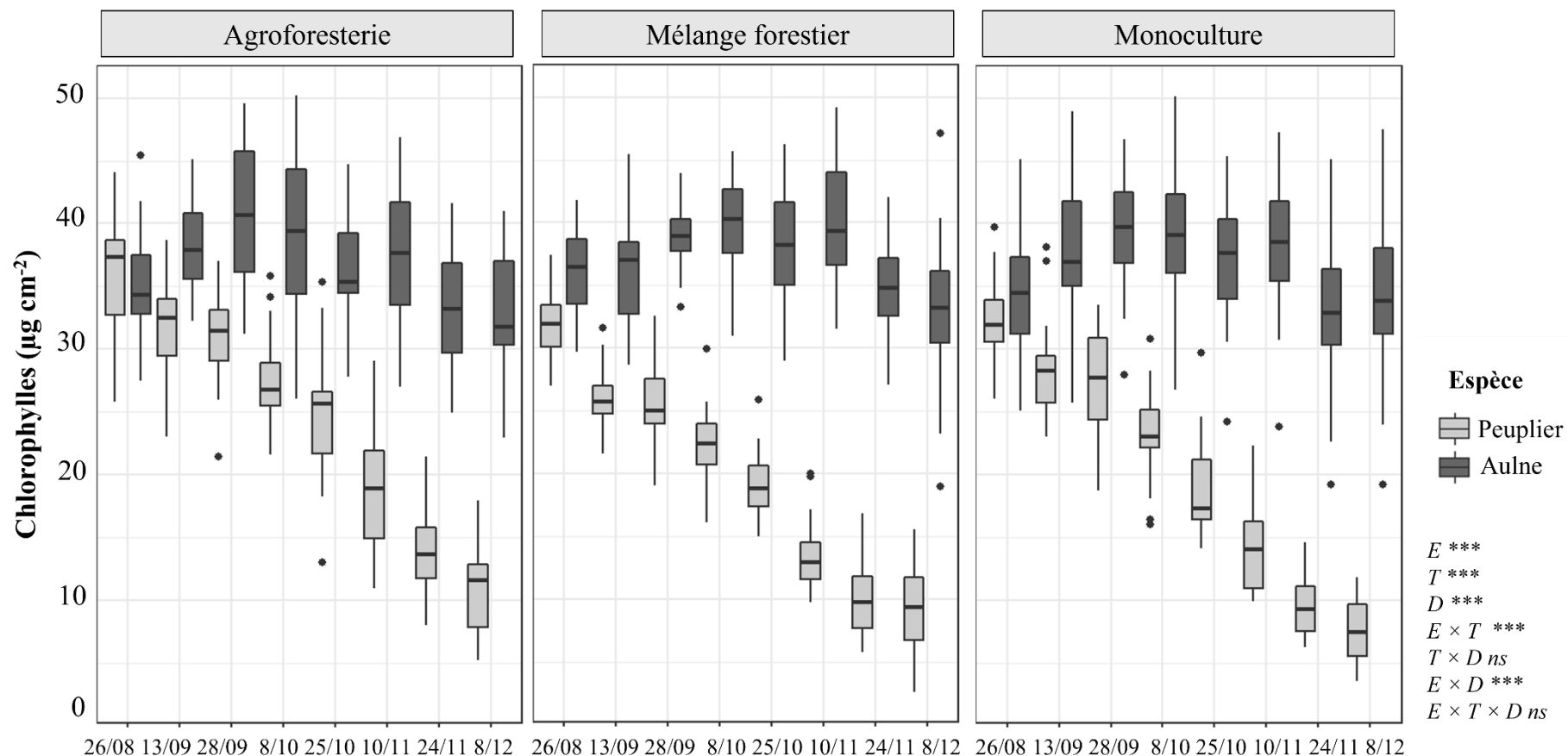


Figure V.10 – Dynamiques des teneurs en chlorophylles des feuilles des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 26 août et le 8 décembre 2021. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions (E x T, T x D, E x D, E x T x D) sont indiqués pour $P \leq 0.001$ ***, ns : non-significatif ; n = 20. Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.

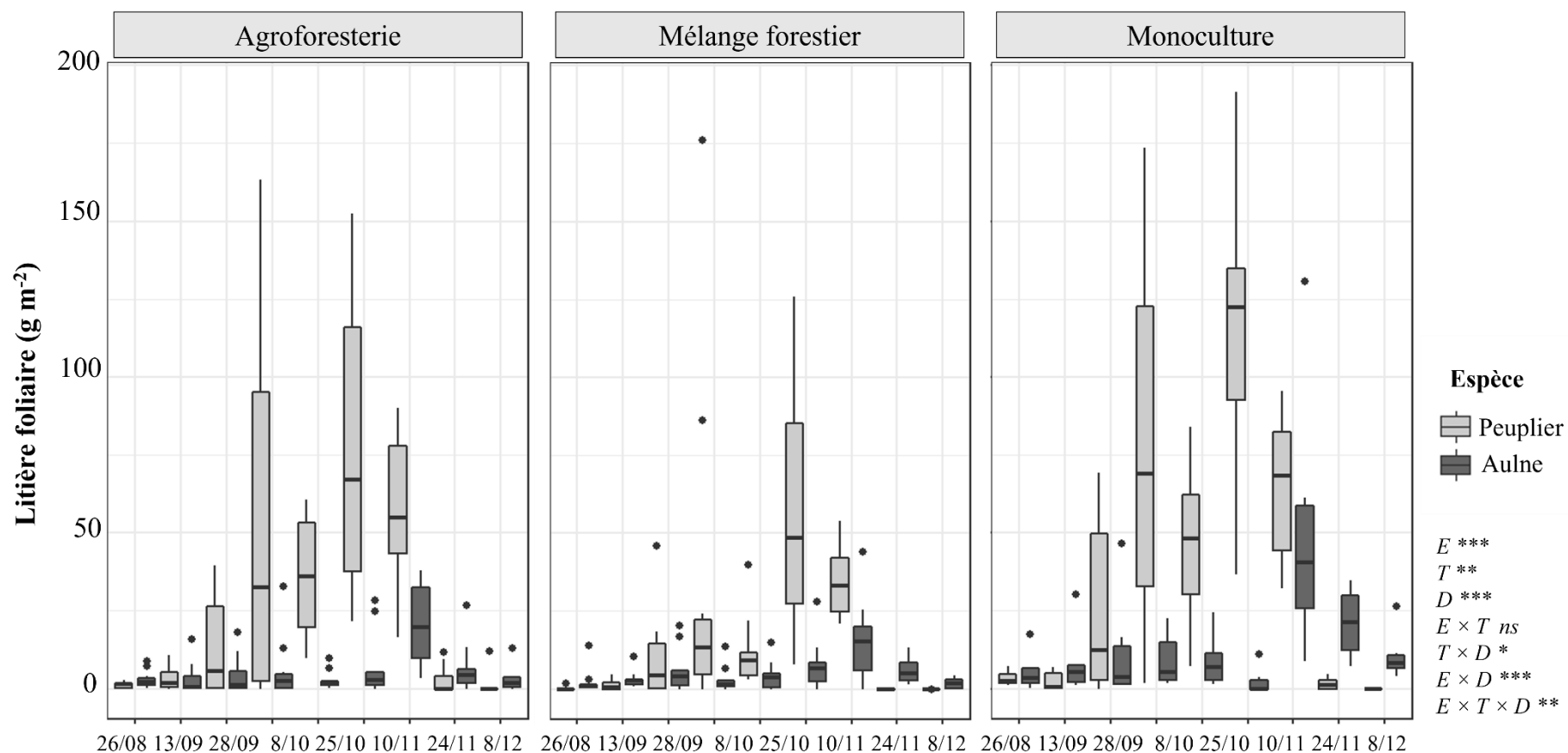


Figure V.11 – Dynamiques de chute des feuilles des peupliers (en gris clair) et des aulnes (en gris foncé) en agroforesterie, en mélange forestier et en monoculture, entre le 26 août et le 8 décembre 2021. Les effets de l'espèce (E), du traitement (T), de la date (D) et leurs interactions (E × T, T × D, E × D, E × T × D) sont indiqués pour : $P \leq 0.05^*$, $P \leq 0.01^{**}$, $P \leq 0.001^{***}$, ns : non-significatif ; $n = 10$ (agroforesterie et mélange forestier) ou $n = 6$ (monoculture). Chaque boîte représente le quartile inférieur (Q1) et supérieur (Q3) à la valeur médiane. Les points noirs sont les valeurs extrêmes.

4. Discussion et conclusion

Dans notre étude, la dégradation des chlorophylles dans les feuilles de peupliers a été initiée autour du 13 septembre. Cette date est proche de celle observée par Keskitalo et al. (2005) où la dégradation des chlorophylles des feuilles de *P. tremula* était initiée autour du 10 septembre, et ce sur plusieurs années. C'est également ce qu'ont montré Frachebout et al. (2009), avec une initiation de la sénescence le 10 septembre, pour une durée de 10 à 20 jours, et une abscission des feuilles à partir de début octobre. Dans ces deux études menées en Suède, le début de la sénescence, estimée à partir de la dégradation des chlorophylles des feuilles, était majoritairement contrôlée par le raccourcissement de la photopériode, même si les basses températures ont accéléré le processus. En outre, la sénescence automnale de certaines espèces de peupliers, comme le tremble, est initiée presque à la même date chaque année, quelles que soient les conditions météorologiques (Michelson et al. 2018). Au contraire, la sortie de la dormance chez les peupliers est un processus dépendant majoritairement de la température (Pauley et Perry 1954, Pellis et al. 2004).

D'après nos résultats, il semblerait que les peupliers et les aulnes aient une stratégie différente concernant la synthèse et la dégradation des chlorophylles dans les feuilles lors des processus de maturation et de sénescence foliaires. Pour la sénescence, Mattila et al. (2018) ont montré l'existence d'au moins deux stratégies de dégradation des chlorophylles au moment de la sénescence ; soit la teneur en chlorophylles d'une feuille reste élevée pendant tout l'automne et commence à diminuer seulement 5 à 10 jours avant l'abscission, soit les chlorophylles sont lentement dégradées et l'azote remobilisé pendant tout l'automne, bien qu'un pic de dégradation soit observé 3 à 5 jours avant l'abscission. Ainsi, il semblerait que la dégradation des chlorophylles des feuilles de peupliers suive plutôt la deuxième stratégie, c'est-à-dire avec une dégradation lente. En effet, les peupliers ont commencé à perdre leurs feuilles environ 15 jours après le début de la dégradation chlorophyllienne. En revanche, il s'agirait plutôt de la première stratégie pour les aulnes, bien qu'il n'ait pas été observé de pic dans la dégradation de chlorophylles juste avant l'abscission des feuilles pour cette espèce. En tant qu'espèce fixatrice de N₂, il se pourrait que l'aulne maintienne une teneur élevée en chlorophylles dans ses feuilles pour optimiser l'assimilation du carbone jusqu'au dernier moment avant la chute. En effet, on peut supposer que l'aulne n'a pas besoin de recycler l'azote étant donné qu'il en a en abondance en raison de la fixation de N₂. Ainsi, l'aulne perd ses feuilles encore vertes, comme en témoignent les teneurs en chlorophylles observées,

permettant un enrichissement du sol en azote (Claessens et al. 2010). Les peupliers, en revanche, auraient pour stratégie de mettre en réserve l'azote foliaire dans les organes pérennes, d'où la dégradation progressive des chlorophylles dans les feuilles, puis de le remobiliser rapidement lors de la maturation foliaire le printemps suivant (Dean et al. 1993). En outre, la chute des feuilles d'aulnes a eu lieu plus tard que celle des peupliers, comme mis en évidence dans l'étude de Ghorbani et al. (2018) pour une plantation mélangée de peupliers (*P. deltoides* Bartr. ex Marsh) et d'aulnes (*Alnus subcordata* C. A. Mey). Ce fait n'est pas en accord avec les dates d'entrée en dormance précédemment observées (Chapitre V – 1), les bourgeons d'hiver des deux espèces étant formés au même moment, ce qui met en évidence un décalage entre la phénologie foliaire et la phénologie des bourgeons. Pour les peupliers, Pellis et al. (2004) ont rapporté une chute des feuilles majoritairement autour du 7 novembre pour les mêmes groupes hybrides que les peupliers de notre étude, soit quelques jours plus tard que la date recensée dans notre cas, à savoir le 25 octobre. Concernant la maturation foliaire, cette différence de stratégie entre espèces pourrait s'expliquer par le fait que l'aulne a suffisamment d'azote à disposition dans le système pour synthétiser la chlorophylle dès l'émergence des feuilles et les premières feuilles en sont donc déjà chargées. Ce n'est pas le cas des peupliers qui doivent remobiliser l'azote mis en réserve avant l'abscission des feuilles.

Si les mélanges d'espèces n'ont pas eu d'impact sur la teneur en chlorophylles lors du processus de maturation foliaire, au cours de la sénescence, en revanche, la teneur en chlorophylles des feuilles de peupliers était en moyenne plus élevée lorsque ces derniers évoluaient en agroforesterie, comparativement aux traitements forestiers. Wang et al. (2018) ont montré que la teneur en chlorophylles de *Sophora japonica* pouvait augmenter de manière significative avec l'augmentation de l'apport en N. Dans notre étude, nous pouvons supposer que la présence du trèfle en tant qu'espèce fixatrice de N₂ a bénéficié aux peupliers, comme en témoigne la teneur en chlorophylles dans les feuilles plus élevée que pour les peupliers dans les autres traitements. La présence de l'aulne dans le mélange forestier n'a, en revanche, pas occasionné de teneur en chlorophylles des feuilles de peupliers plus élevée qu'en monoculture, ce qui suggère un effet plus important de la légumineuse herbacée que de l'espèce fixatrice de N₂ ligneuse sur le peuplier. Ainsi, les performances de croissance des peupliers plus élevées en agroforesterie que dans les traitements forestiers mises en évidence dans le Chapitre II (Thomas et al. 2021) pourraient être associées à une entrée en dormance plus tardive (Chapitre V – 1) ainsi qu'à une teneur en chlorophylles des feuilles plus élevée.

En effet, ces résultats suggèrent une activité photosynthétique foliaire plus tardive avec une assimilation du carbone en fin de saison de croissance en agroforesterie. Le processus de sénescence résulte cependant d'un compromis entre remobilisation et rendement photosynthétique (assimilation du carbone) et les conclusions de la littérature quant aux bénéfices ou inconvénients d'une sénescence plus ou moins lente sont contrastés. En effet, certains auteurs mettent en évidence qu'une sénescence rapide est avantageuse pour un arbre (Frachebout et al. 2009), tandis que d'autres ont montré le contraire. Elferjani et al. (2016) ont, par exemple, mis en évidence que la phénologie des bourgeons des peupliers (*P. spp*) était un attribut plastique et que le clone le plus productif était celui qui commençait sa dormance le plus tard.

Des variations de surface foliaire spécifique (SLA) pourraient également contribuer aux meilleures performances de croissance des arbres en agroforesterie observées dans Thomas et al. (2021). En effet, il a été montré, pour des conditions d'ombrage, qu'une SLA plus élevée permettait d'augmenter le taux d'assimilation photosynthétique car elle augmente la surface d'interception de la lumière et/ou réduit l'épaisseur ou la densité des feuilles (Niinemets 2004, Onoda et al. 2004). Dans notre étude, les peupliers agroforestiers avaient une SLA plus faible par rapport aux autres peupliers (Figure V.9) ce qui suggère qu'ils ne sont certainement pas impactés par de l'ombrage. De leur côté, Benomar et al. (2011) ont mis en évidence une augmentation de la SLA pour des clones de peupliers en réponse à la réduction de l'espacement. D'après nos résultats, l'augmentation de la SLA des peupliers en monoculture pourrait être liée à l'augmentation de la compétition entre les houppiers pour la lumière du fait de la densité d'arbres deux fois plus importante qu'en agroforesterie.

A retenir

- Les aulnes et les peupliers ont eu des stratégies différentes concernant la synthèse et la dégradation des chlorophylles dans les feuilles, liées au statut d'espèce fixatrice de N₂ de l'aulne ;
- Les aulnes ont perdu leurs feuilles alors qu'elles étaient encore chargées de chlorophylles ;
- En revanche, les peupliers ont perdu leurs feuilles après une forte diminution de leur teneur en chlorophylles ;
- Les peupliers en agroforesterie avaient une teneur en chlorophylles des feuilles plus élevée en fin de saison de végétation comparativement aux peupliers dans les traitements forestiers.

CHAPITRE VI –

Synthèse et conclusions générales

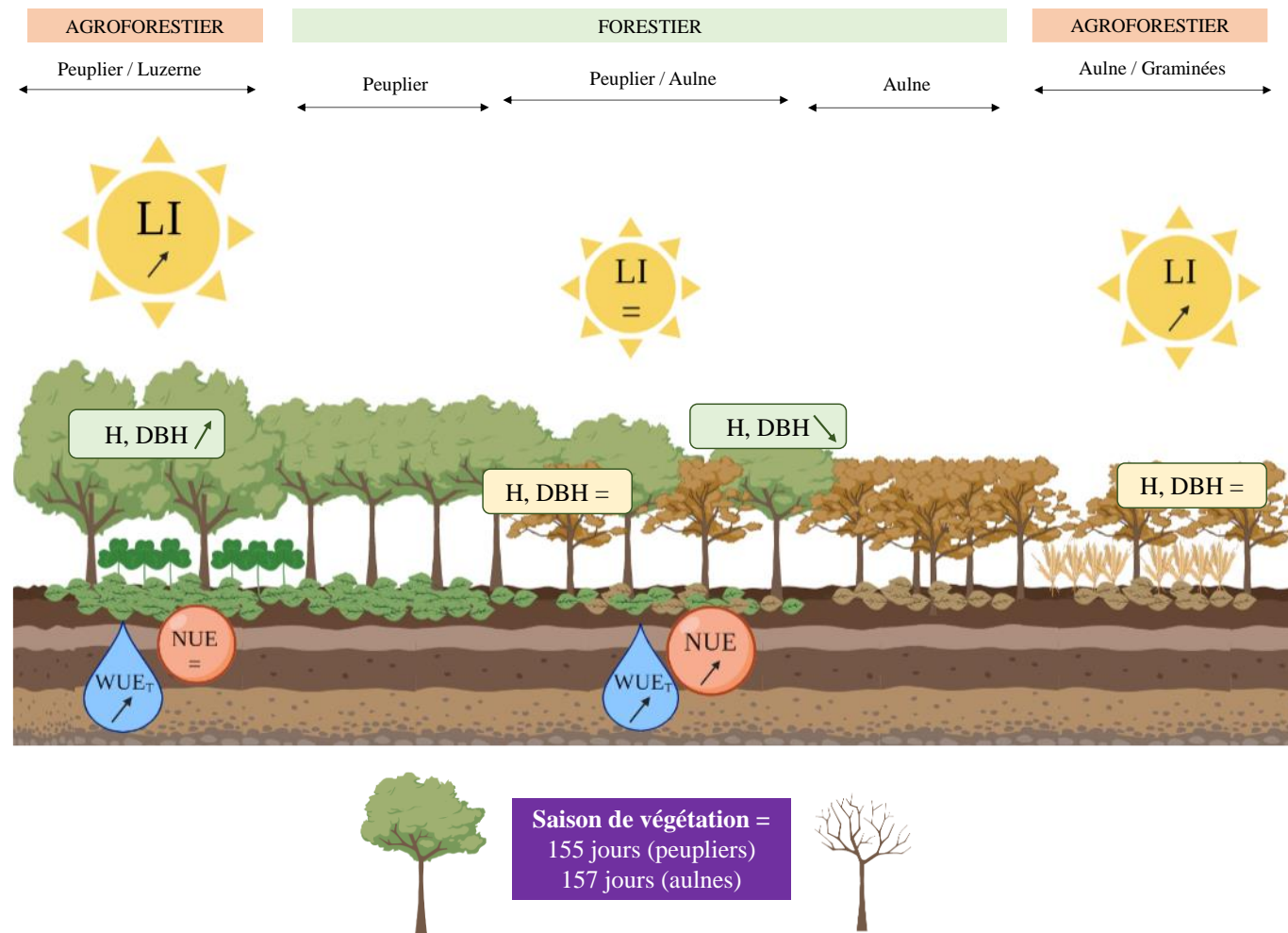


Figure VI.1 – Schéma illustrant les modifications de performances de croissance des peupliers (H , DBH ; encarts en vert) et des aulnes (H , DBH ; encarts en orange), d'efficacité d'utilisation des ressources en eau (WUE_T) et en azote (NUE) des peupliers, d'interception lumineuse des peupliers et des aulnes (LI ; le LI en mélange forestier est identique pour les deux espèces). La durée de la saison de végétation estimée grâce à la phénologie du bourgeon est également indiquée pour les peupliers et les aulnes. Un signe égal indique qu'il n'y avait pas de différence, une flèche qui pointe vers le bas indique une diminution, une flèche vers le haut indique une augmentation, dans le mélange par rapport à la monoculture d'arbre correspondante.

Ces travaux de thèse avaient pour principal objectif d'étudier les effets des interactions entre deux espèces (ligneuse – ligneuse, ligneuse – herbacée) en plantations mélangées (mélange forestier et agroforestier) sur les performances de croissance des arbres, par comparaison avec les résultats obtenus pour chaque monoculture d'arbre. Plus précisément, ces travaux se sont intéressés aux effets potentiels de l'association d'espèces sur différents déterminants de la productivité, notamment les performances de croissance des arbres (Chapitre II), les efficacités d'utilisation des ressources en eau et azote (Chapitre III), la morphologie de la couronne (Chapitre IV), ou encore les processus phénologiques de début et de fin de saison de croissance (Chapitre V). Dans l'ensemble, la plupart de nos hypothèses ont été vérifiées (Tableau VI.1). En synthétisant les résultats à partir des différents chapitres, il a été constaté : que les performances de croissance des peupliers ont été positivement impactées par la présence d'une légumineuse en agroforesterie (Chapitre II) ; que pour cette espèce, le mélange a influencé l'efficacité d'utilisation de l'eau (agroforesterie, mélange forestier) et de l'azote (mélange forestier ; Chapitre III), tout comme la morphologie de la couronne (agroforesterie, Chapitre IV), et dans une moindre mesure modifié les processus phénologiques des aulnes et des peupliers (Chapitre V) (Figure VI.1). Globalement, seules des tendances ont été observées pour les aulnes, avec des performances croissance et un développement de la couronne ayant tendance à être plus élevés en agroforesterie que dans les traitements forestiers (Figure VI.1). Ainsi, ces résultats suggèrent une modification des interactions écophysiologicals dans les mélanges, liée notamment à la structure de la canopée et à l'efficacité d'utilisation des ressources, mais également à l'identité de l'espèce fixatrice de N₂. Les paragraphes qui suivent décrivent, pour chaque espèce, comment les interactions interspécifiques ont impacté le fonctionnement des arbres.

Tableau VI.1 – Tableau synthétisant les résultats des hypothèses pour chaque chapitre de la thèse. Une coche verte indique un effet positif du mélange ; une croix rouge indique un effet négatif du mélange ; un signe égal indique aucun effet du mélange, comparativement à la monoculture : un slash signifie que l'hypothèse n'a pas été testée.

Chapitre	Questions	Hypothèses	Résultats	
			Agroforesterie	Mélange forestier
II. Croissance	1. Quel est l'effet de l'association d'espèces incluant une espèce fixatrice d'azote, herbacée ou ligneuse, sur les performances de croissance des arbres ?	H1 : Effet positif des mélanges sur les performances de croissance des arbres	✓ peupliers = = aulnes (Figure II.3, Table II.3)	✗ peupliers = = aulnes (Figure II.3, Table II.3)
III. WUE et NUE	2. Des performances de croissance accrues pour les peupliers en mélange sont-elles associées à une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau des peupliers en mélange qu'en monoculture ?	H2 : Effet positif des mélanges sur l'efficacité d'utilisation de l'eau des peupliers	✓ (Figures III.3, III.4, III.5)	✓ (Figure III.5)
	3. Quels sont les effets des mélanges forestier et agroforestier sur l'efficacité d'utilisation de l'azote et sur le cycle saisonnier de l'azote des peupliers ?	H3 : Effet positif des mélanges sur l'efficacité d'utilisation de l'azote chez les peupliers	= = (Figures III.11, III.12, III.13)	✗ (Figure III.13)
		H4 : Moindre recyclage par l'arbre de l'azote avant la sénescence automnale des feuilles et donc des litières de peuplier enrichies en azote	= = (Table III.4)	✗ (Table III.4)
IV. Architecture	4. Des performances de croissance accrues en mélange comparativement à la monoculture sont-elles associées à une occupation optimisée de l'espace par les canopées des deux espèces pour l'interception lumineuse ?	H5a : Stratification aérienne des deux espèces dans le mélange forestier	/	✓ (Figure IV.2, Table IV.1)
		H5b : Développement vertical et horizontal des houppiers plus important en agroforesterie	✓ (Figures IV.3, IV.4)	/
V. Phénologie	5. Des performances de croissance accrues en mélange comparativement à la monoculture sont-elles associées à une saison de végétation plus longue ?	H6 : Allongement de la saison de végétation en mélange	✗ peupliers et aulnes (Tableau V.1)	✗ peuplier et aulnes (Tableau V.1)
		H6a : Entrée en dormance plus tardive en mélange qu'en monoculture	✗ peuplier et aulnes (Tableau V.1)	✗ peuplier et aulnes (Tableau V.1)
		H6b : Débourrement plus précoce en mélange qu'en monoculture	✗ peuplier et aulnes (Tableau V.1)	✗ peuplier et aulnes (Tableau V.1)

1. Interactions interspécifiques en plantation mélangées : du côté des peupliers

1.1 Mécanismes sous-tendant les interactions positives en agroforesterie peuplier – légumineuse

Durant les quatre premières années suivant l'installation de la plantation en 2014, les peupliers en agroforesterie ont subi la compétition souterraine et aérienne exercée par la luzerne : la compétition interspécifique était plus importante que la compétition intraspécifique (Tableau II.4). Cependant, les interactions entre espèces dans une plantation donnée ne sont pas statiques et évoluent dans le temps, à mesure que le peuplement se développe et en fonction des variations climatiques interannuelles (Forrester 2014), comme en témoignent ces travaux de thèse. En effet, il a été constaté un changement du type d'interaction entre le peuplier et la légumineuse, allant d'une compétition prédominante au début de la plantation, vers des mécanismes de réduction de compétition et de facilitation à partir de la cinquième saison de croissance. De manière générale, il a été observé, à travers le suivi de croissance en hauteur et en diamètre des arbres (Chapitre II), que ces interactions positives en agroforesterie ont mené à de meilleures performances de croissance des peupliers en 2019 (Figure VI.1). En agroforesterie, les études impliquant les peupliers décrites dans la littérature impliquent souvent une association avec une culture fixatrice de N₂, à savoir le trèfle (Shults et al. 2020), la luzerne (Powell et Bork 2004), ou encore le soja (Reynolds et al. 2007, Manceur et al. 2008, Rivest et al. 2010). En effet, la présence d'une légumineuse peut permettre une augmentation de l'azote disponible du sol et donc entraîner une amélioration des performances de croissance des peupliers, comme rapporté par Powell et Bork (2004) pour un système agroforestier peuplier (*P. tremuloides*)/luzerne (*M. sativa*). Taghiyari et Efhami (2011) ont également mis en évidence le bénéfice de l'association peuplier (*P. nigra*)/luzerne sur l'accroissement en diamètre des arbres en mélange, par rapport à la monoculture.

D'après l'hypothèse de gradient de stress de Bertness et Callaway (1994), l'importance des interactions positives augmente dans les environnements plus stressants, sous-entendant une amélioration de la productivité sur les sites avec de faibles disponibilités en ressources (Marron et Epron 2019). Des études ont cependant signalé une prédominance des interactions positives et une augmentation de la croissance sur des sites non limitants (Forrester et al. 2013, Belluau et al. 2021). Dans ces études, les effets positifs du mélange d'espèces sur la

productivité étaient renforcés par une disponibilité en eau non-limitante. L'augmentation de la disponibilité et de l'efficacité de l'utilisation des ressources sont des processus importants à l'origine des interactions positives (facilitation et réduction de compétition) (Forrester 2017). D'ailleurs, plusieurs traits fonctionnels ont été identifiés comme de bons indicateurs de l'amélioration de la productivité des arbres et de l'utilisation des ressources comme, pour le compartiment aérien : la hauteur (Chapitre II), l'accroissement annuel moyen en diamètre (Chapitre II), l'architecture de la couronne (Chapitre IV), ou encore la concentration en N des feuilles et le rapport C:N de la litière (Chapitre III – 2) (Ammer 2019).

L'amélioration de la disponibilité des ressources souterraines peut être le point de départ permettant une augmentation de la productivité en plantation mélangée (Ammer 2019). Dans le cas de la plantation de La Bouzule, l'augmentation de la teneur en azote du sol en agroforesterie (Tableau II.2), grâce à la fixation de l'azote et à la restitution de l'azote au sol par les parties souterraines de la luzerne après la fauche en 2018, est à l'origine des performances de croissance plus élevées des peupliers. À l'instar des résultats de Powell et Bork (2004), cette amélioration de la disponibilité en azote dans le sol s'est traduite par un investissement accru dans la biomasse aérienne des peupliers, dont la résultante a été ici une plasticité des propriétés de la couronne (telles que l'augmentation de l'aire de projection de la couronne ; Figure IV.4). Aussi, tout comme l'effet d'une amélioration de la disponibilité en azote, un espacement plus important peut bénéficier au développement de la couronne de chaque individu (Benomar et al. 2012). Dans un système agroforestier avec des cultures intercalaires, les arbres sont exposés à des conditions de croissance différentes de ceux évoluant dans les systèmes forestiers, du fait de l'absence d'une ligne d'arbre sur deux en agroforesterie. Les arbres sont plus exposés à la lumière du soleil que les arbres en mélange forestier et en monoculture. Un espacement plus large des individus dans la plantation offre plus d'espace à chaque individu, ce qui induit une réduction de la compétition pour la lumière (Zheng et al. 2019, Sirohi et al. 2022). Ces travaux de thèse ont mis en évidence que la compétition interspécifique pour les ressources en eau (Chapitre III – 1) et en lumière (Chapitre IV) était plus faible que la compétition intraspécifique dans la monoculture de peupliers. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Sirohi et al. (2022) qui montraient que les performances de croissance des peupliers (*P. deltoides*) étaient les plus élevées dans le traitement avec l'espacement le plus important. C'est également ce qu'ont mis en évidence Proe et al. (2002) pour une plantation TCR de peupliers (*P. balsamifera* × *P. trichocarpa*), de saules (*Salix viminalis* L.) et d'aulnes (*A. rubra*). De leur côté, Toillon et al. (2013) ont mis en

évidence que l'augmentation de la densité de plantation accentuait la concurrence des plantes pour la lumière, se traduisant par des arbres avec une hauteur plus élevée avec une circonférence et une WUE plus faibles, lorsqu'il n'y a pas de limitation en eau .

Un effet positif de l'association peupliers/légumineuse a pu être mis en évidence sur les efficacités d'utilisation de l'eau (WUE) estimées aux différentes échelles (WUE_i , Δ_{leaf} , WUE_T et Δ_{wood} ; Chapitre III – 1). Simultanément à ces mesures, des mesures de teneurs en eau volumétrique du sol et de potentiels de base foliaire ont été effectuées et n'ont pas mis en évidence de limitation en eau dans les différents traitements (Tableau III.2). Outre l'effet de facilitation lié à la fixation symbiotique de l'azote par les légumineuses, les différences de WUE ont donc été aussi attribuées aux changements de régimes lumineux entre l'agroforesterie et la monoculture. Des changements dans l'environnement lumineux au niveau de la couronne des arbres peuvent influencer la transpiration et avoir des conséquences sur l'efficacité d'utilisation de l'eau des espèces en mélange (Percy et al. 2005). Dans ces travaux de thèse, les changements structurels au niveau de la couronne ont effectivement été associés à des changements dans les conditions lumineuses (c'est-à-dire la quantité de lumière interceptée par les arbres, Figure IV.5). Ainsi, nos résultats corroborent le fait qu'une productivité plus élevée dans les plantations mélangées peut être due à une augmentation de l'interception de la lumière (Williams et al. 2021) qui favorise la photosynthèse à l'échelle de l'arbre (Forrester et al. 2019) et améliore l'efficacité d'utilisation de l'eau (Morin et al. 2011, Zhang et al. 2012). Forrester et al. (2010) ont mis en évidence qu'une part importante de l'amélioration de l'efficacité d'utilisation de l'eau s'expliquait par la présence d'une espèce fixatrice de N_2 (*A. mearnsii*). D'après nos résultats, bien que les peupliers agroforestiers aient eu une teneur en azote des feuilles plus importante que ceux en monoculture, cette dernière n'a pas eu d'effet sur l'assimilation de CO_2 à l'échelle foliaire (Figure A6). En revanche, il y avait plus de feuilles associées à chaque peuplier en agroforesterie, donc potentiellement plus d'azote à l'échelle de l'arbre (Figures III.14A, V.7). Les changements morphologiques dans la couronne des peupliers agroforestiers peuvent être considérés comme un des mécanismes expliquant les effets du mélange sur la croissance des peupliers et l'efficacité d'utilisation de l'eau, à travers l'augmentation de l'interception de la lumière.

Des modifications de la structure de la couronne des arbres influent également sur la qualité et la quantité de la litière foliaire, qui informent sur la vitesse de recyclage des nutriments et *in fine* sur la disponibilité en nutriments qui en résulte (Prescott 2002, Pretsch 2014, Jucker et al. 2015). Dans ces travaux de thèse, la présence de la légumineuse n'a pas

impacté le taux de recyclage de l'azote des peupliers (Chapitre III – 2), comme en témoignent la quantité d'azote restituée au sol, la retranslocation de l'azote depuis les feuilles vertes avant leur chute ou encore le ratio C:N (Table III.4, Figures III.14B). Ces résultats contrastent avec ce qui est généralement observé pour ce type d'association (Vogel 1998, Koupar et al. 2011, Ghorbani et al. 2018, Gonzáles et al. 2020). Contrairement à l'efficacité d'utilisation de l'eau, il n'y a pas eu d'effet de l'association peuplier/légumineuse sur l'efficacité d'utilisation de l'azote des peupliers (Chapitre III – 2). Cependant, les études sur la disponibilité de l'azote et sa décomposition et leurs effets sur l'efficacité d'utilisation de l'azote dans les peuplements mélangés restent rares, bien que certains travaux aient émergé ces dernières années (de Stree et al. 2021, Maxwell et al. 2020, 2022).

La présence de la légumineuse en agroforesterie a donc augmenté la disponibilité de l'azote qui, à son tour, a provoqué une augmentation de la production de biomasse des parties aériennes à travers la production d'un plus grand nombre de feuilles par peuplier (Chapitres II, V-2). Le moment du débourrement au printemps, de la fermeture des bourgeons à l'automne, mais aussi la durée de l'activité photosynthétique tout au long de la saison de croissance, ont tous une incidence sur la quantité de carbone assimilée et, finalement, sur la croissance de l'arbre (Elferjani et al. 2016). En outre, les processus phénologiques et le cycle saisonnier de l'azote sont intimement liés (Sigurdsson 2001). La phénologie des bourgeons des peupliers (*Populus spp*) est un attribut plastique (Elferjani et al. 2016), comme cela a été mis en évidence dans le Chapitre V. En effet, l'association peuplier/légumineuse en agroforesterie a impacté les processus caractérisant la fin de saison (Chapitre V), le début de la dormance étant plus tardif (Figure V.5A) et la teneur en chlorophylles plus élevée dans les feuilles sénescentes des peupliers agroforestiers que dans la monoculture (Figure V.8A). Keskitalo et al. (2005) ont montré que la photopériode était le principal déclencheur de la sénescence pour *P. tremula*. Une meilleure interception de la lumière par les peupliers en agroforesterie aurait donc permis une plus longue perception de la durée d'ensoleillement comparativement à la monoculture. Ainsi, les processus phénologiques de fin de saison participeraient aussi à expliquer les taux de croissance encore élevés en fin de saison (Figure II.5A) et, dans une moindre mesure, les meilleures performances de croissance des peupliers agroforestiers.

1.2 Mélange forestier peuplier – aulne

La présence de l'aulne *A. subcordata*, en tant qu'espèce fixatrice d'azote, avec *P. euramericana* peut améliorer la fertilité du sol dans le mélange et augmenter la croissance du peuplier (Sayyad et al. 2006). Ghorbani et al. (2018) ont également rapporté une productivité plus élevée pour un mélange de *P. deltoides* avec *A. subcordata* par rapport aux monocultures des deux espèces après 20 ans de plantation. Ces résultats ont été attribués à la stratification de la canopée des deux espèces dans le mélange ainsi qu'à une meilleure utilisation des ressources en eau et en nutriments du site. Cependant, l'association peuplier/aulne ne conduit pas toujours à de meilleures performances que les monocultures de l'espèce non fixatrice de N₂ (Le Tacon et al. 1988), comme en attestent aussi ces travaux de thèse. En effet, la présence des aulnes dans le mélange forestier n'a pas conduit à une augmentation de la croissance des peupliers par rapport à la monoculture. Malgré une stratification aérienne, les peupliers occupant une position dominante, tandis que les aulnes étaient dominés et légèrement ombragés, les peupliers n'ont pas profité de l'espace libéré au niveau de la canopée pour améliorer l'interception de la lumière (Figure IV.4). Ces résultats suggèrent qu'une stratification verticale des espèces en mélange ne conduit pas nécessairement à une meilleure interception de la lumière, ce qui contraste avec les résultats rapportés pour des plantations mélangées d'eucalyptus et d'acacia (Nouvellon et al. 2012, Epron et al. 2013) ou de douglas et d'aulne (Binkley 1992). L'association des aulnes avec les peupliers n'a pas permis d'améliorer les performances de croissance des peupliers (Chapitre II) mais elle a toutefois permis d'améliorer leur efficacité d'utilisation de l'eau, comparativement à leur monoculture (Figure III.5). Au vu des précédents résultats, la différence de surface terrière entre les traitements (Table III.1) apparaît comme un facteur explicatif des différences d'efficacité d'utilisation de l'eau observées, puisqu'aucun effet d'une limitation en eau (comme susmentionnée) ou de la présence de l'aulne en tant qu'espèce fixatrice de N₂ n'a été mis en évidence.

Une amélioration du statut azoté du sol n'a pas été mise en évidence dans le mélange forestier (Chapitre II), contrairement à ce qui a pu être observé dans d'autres systèmes incluant une espèce fixatrice de N₂ (Rice et al. 2004). D'ailleurs, les peupliers ont même eu tendance à immobiliser l'azote, comme l'ont mis en évidence le ratio C:N et la valeur de retranslocation de l'azote (Table III.4). En effet, même si l'apport d'azote venant des litières de feuilles était comparable à celui de la monoculture de peupliers, il s'est accompagné d'un taux de recyclage plus lent qu'en monoculture (Table III.4). Ces résultats ne vont pas dans le

sens de ce qui est généralement observé, l'espèce fixatrice de N₂ augmentant la disponibilité de l'azote dans le sol grâce à la fixation symbiotique et accélérant le taux de recyclage de l'azote de l'espèce non fixatrice (Forrester et al. 2006).

La proportion de l'espèce fixatrice dans le mélange peut être un facteur explicatif des résultats observés dans le mélange forestier. Marron et Epron (2019) ont mis en évidence que de faibles proportions d'espèces fixatrices de N₂ (33% ou moins) dans le mélange n'ont aucun impact significatif sur la production de biomasse, tandis que des proportions élevées (66% ou plus) et égales (50%) ont eu un effet positif (+27%). Dans l'étude de Binkley et al. (1992), *A. falcataria* avait été mélangé avec *E. saligna* dans des proportions variées et les auteurs ont conclu que la production de biomasse était supérieure de 17% à la monoculture de *E. saligna* lorsque l'espèce fixatrice représentait deux tiers des individus en mélange. Aussi, Sayyad et al. (2006) ont mis en évidence une diminution de l'azote du sol dans les plantations mélangées d'aulnes et de peupliers à mesure que la proportion de peupliers augmentait. De ce fait, la présence des aulnes aurait pu bénéficier à la croissance des peupliers si les aulnes avaient été présents en plus grande proportion dans le mélange. En outre, les effets bénéfiques sur la productivité d'un enrichissement en azote du sol, grâce à l'espèce fixatrice de N₂ ligneuse, peuvent mettre plusieurs années avant d'être observés (Binkley et al. 1992, Forrester 2014). Cela n'a peut-être pas été le cas en agroforesterie où les effets bénéfiques d'un enrichissement en azote sont probablement visibles plus rapidement avec une espèce fixatrice de N₂ herbacée du fait de la rotation plus courte. Il est cependant possible que des effets soient visibles dans le mélange forestier au cours de la prochaine rotation, les rejets bénéficiant des systèmes racinaires de la rotation précédente étant supposés être plus vigoureux.

2. Interactions interspécifiques en plantations mélangées : du côté des aulnes

Les associations aulne/peuplier et aulne/graminées n'ont eu ni d'effet négatif, ni d'effet positif, sur les aulnes dans le cadre de ces travaux de thèse (Figure VI.1). L'absence d'effets du mélange d'espèces sur l'aulne est cohérente avec plusieurs travaux qui montrent que l'espèce fixatrice n'a, en général, pas d'avantage à être associée à une seconde espèce (Sayyad et al. 2006, Piotto 2008, Ghorbani et al. 2018). Bien qu'il s'agisse d'une espèce sous-utilisée, l'aulne glutineux est l'une des essences à courte rotation les plus prometteuses en Europe, du fait notamment de sa production de biomasse élevée, en particulier sur les sites

moins fertiles (Huber et al. 2018, Salca 2019). Cependant, lorsque l’aulne est utilisé en plantation mélangée pour augmenter la production d’arbres, comme le peuplier, il peut se retrouver rapidement en compétition pour l’eau et la lumière, et *A. glutinosa* est une espèce très sensible à la compétition (Claessens et al. 2010). En effet, bien qu’il s’agisse d’une espèce à croissance rapide, l’aulne a une croissance initiale faible comparativement aux peupliers (Côté et Camiré 1987, Huber et al. 2018). Ghorbani et al. (2018) ont mis en évidence que la productivité primaire nette totale de l’aulne (*A. subcordata*) dans la monoculture était inférieure de moitié à celle de la monoculture du peuplier (*P. deltoides*). Du fait de différences de croissance des deux espèces observées également en monoculture, la compétition interspécifique était plus forte que la compétition intraspécifique pour les aulnes (Figure II.6, Table II.4), tandis que les peupliers ont bénéficié d’effets additifs. Cependant, bien que les peupliers aient occupé une position dominante dans le mélange forestier, leur présence n’a pas conduit à une diminution de l’indice d’interception lumineuse des aulnes (Figure IV.5), ce qui peut expliquer pourquoi les performances de croissance des aulnes étaient similaires dans les trois types de traitements (Table II.3, Figure II.3). Ce résultat peut être attribué au fait que les aulnes sont connus pour allouer une plus grande proportion de la biomasse totale aux racines contrairement aux peupliers (Proe et al. 2002) ou que les aulnes n’ont peut-être simplement pas été affectés, les conditions de croissance entre les trois traitements étant proches. Ce phénomène pourrait aussi suggérer que la compétition induite par les peupliers était trop faible pour stimuler la fixation de N_2 chez l’aulne et être bénéfique à la croissance des peupliers dans notre étude. En effet, la fixation de N_2 est normalement stimulée par la compétition (Dawson et Hansen 1983). Dans leur étude, Dawson et Hansen (1983) ont mis en évidence que la compétition induite par des peupliers dans une association peupliers (hybrides)/aulnes (*A. glutinosa*) a conduit à une augmentation rapide de la concentration en azote dans le sol et a bénéficié à l’espèce non fixatrice.

3. Mécanismes potentiellement impliqués en agroforesterie vs mélange forestier

Outre la fertilité du sol, les interactions positives sont fortement influencées par le contexte pédoclimatique, le stade de développement des arbres dans la plantation, ou encore l’identité des espèces d’arbres associées. Dans ces travaux de thèse, il a été constaté que les peupliers présentaient des réponses contrastées en fonction du type de mélange. En effet, les

peupliers ont bénéficié de véritables effets de mélange (« *true mixing effect* »), en termes de performances de croissance et de développement du houppier, lorsqu'ils étaient associés avec la luzerne puis le trèfle. Ces résultats sont cohérents avec les résultats de Powell et Bork (2004) et de Taghiyari et Efhami (2011). En revanche, les peupliers n'ont pas été affectés positivement, voire ils ont été affectés négativement, par la présence des aulnes dans le mélange forestier. Par conséquent, il semblerait que la réponse des peupliers, dans ce contexte, dépende de l'identité de l'espèce fixatrice d'azote dans le mélange. En effet, la luzerne (*Medicago sativa*) a un potentiel de fixation de N₂ bien plus important que celui de l'aulne (*Alnus glutinosa*), avec un taux de fixation allant de 130 à 350 kgN ha⁻¹ an⁻¹ pour la luzerne contre 40 à 53 kgN ha⁻¹ an⁻¹ pour l'aulne (Carlsson et Huss-Danell 2003, Russelle et Birr 2004, Russo 2005). Ainsi, le choix des espèces dans un mélange est important à considérer car il peut influencer la dynamique de la croissance aérienne et la couverture de la canopée.

4. Conclusion

Plusieurs conclusions importantes peuvent être tirées de ce travail qui contribue à améliorer notre compréhension des effets des interactions entre espèces sur les déterminants de la productivité en plantations mélangées. Ces conclusions ne doivent cependant pas être généralisées car les conditions pédoclimatiques jouent un rôle essentiel dans la croissance et la survie des individus et influent également sur les interactions entre espèces dans un mélange. En effet, les espèces d'arbres utilisées, la disponibilité en eau et nutriments du site, les caractéristiques du peuplement, telles que la surface terrière et l'âge, sont autant de facteurs qui régissent ces interactions. Dans ces travaux, les peupliers ont présenté des réponses contrastées selon l'espèce avec laquelle ils étaient mélangés. Les peupliers en agroforesterie ont eu une croissance stimulée à partir de la cinquième saison de croissance, comparativement aux peupliers en monoculture tandis que dans le cas du mélange aulne/peuplier, il n'y avait pas d'intérêt à privilégier le mélange à la monoculture pour les deux espèces. Concernant ces travaux de recherche, plusieurs remarques et pistes de réflexion peuvent être formulées.

4.1 Considérations agronomiques

D'un point de vue agronomique, la densité de plantation pour laquelle les mesures ont été effectuées en agroforesterie (1000 tiges ha⁻¹) est nettement plus importante que celle

couramment utilisée dans les systèmes agroforestiers classiques (~ 40 à 100 tiges ha⁻¹). Toutefois, il est important de noter un intérêt croissant pour les systèmes agroforestiers denses de type TCR (Lamerre et al. 2015, Swieter et al. 2019, 2021, Sirohi et al. 2022). Ces travaux de thèse se sont de plus intéressés uniquement aux arbres et non aux cultures agricoles étant donné le peu de recherches, encore actuellement, qui s'intéressent à la composante ligneuse en contexte agroforestier. Brièvement, pour la composante agricole, nous avons pu observer un effet positif des aulnes sur le rendement des graminées, ainsi que sur leurs teneurs en azote, sans doute dû à l'apport d'azote procuré par les aulnes (effet de facilitation). Par contre, l'impact des peupliers sur les légumineuses en fin de rotation était négatif en raison du fort ombrage provoqué par les arbres sur la culture et par les litières de peuplier très couvrantes (effet de compétition). Cet effet négatif de la présence des peupliers pourrait être évité en adaptant la gestion du système, soit dans notre cas en coupant plus tôt les arbres. Pour cela, l'étude de la dynamique interannuelle des performances de croissance des arbres (telle que présentée dans Thomas et al. 2021) peut s'avérer être un outil utile pour estimer à quel moment couper les arbres (par exemple, dès l'apparition d'un plateau dans la dynamique de croissance). Enfin, couplées aux données recueillies pour les arbres, celles des rendements agricoles pourront permettre le calcul d'indicateurs de performance tels que le *land equivalent ratio* (LER) à destination des agriculteurs.

4.2 Limites

Une analyse multivariée aurait pu nous permettre d'estimer l'influence relative des différents déterminants mesurés sur la productivité dans les systèmes à base de peuplier, pour lesquels les jeux de données sont les plus riches. Cependant, les jeux de données ne nous ont pas permis de réaliser ce type d'analyse étant donné la diversité dans les échantillonnages réalisés au cours des différentes campagnes de mesure, des arbres différents ayant été mesurés ou les trois blocs n'ayant pas été échantillonnés dans certains cas. D'autre part, la complémentarité, au regard de la réduction de compétition et de la facilitation, a été évaluée sur la base de mesures et d'observations effectuées au niveau aérien. Parmi les mécanismes explicatifs potentiels, les effets de l'association d'espèces dans les deux types de mélange pourraient être partiellement expliqués par des processus de complémentarité ou de compétition souterraine. Ainsi, afin d'améliorer les connaissances sur les effets des interactions entre espèces dans ce contexte, les expérimentations futures devraient se

concentrer spécifiquement sur certains mécanismes souterrains comme la stratification racinaire et l'étude de l'architecture des systèmes souterrains.

4.3 Perspectives de poursuites

Le dispositif expérimental de La Bouzule arrive en fin de première rotation (9 ans) et les arbres seront abattus début 2023 pour initier le démarrage d'une seconde rotation. Cet abattage permettra, entre autres, d'établir des équations allométriques afin de déterminer comment la productivité est affectée par le mélange. Ces résultats permettront de passer à l'échelle de la plantation car les mesures présentées dans ce manuscrit de thèse ont essentiellement été réalisées aux échelles de l'organe et de l'arbre. Ni l'eau, ni l'azote n'étaient, semble-t-il, limitants dans nos systèmes ; il serait cependant intéressant de se demander si les différences d'efficacités d'utilisation de l'eau et de l'azote observées entre les mélanges et la monoculture seraient identiques dans le cas de contraintes appliquées (à travers des expériences d'exclusion de pluie ou de limitation en azote dans le milieu en conditions contrôlées/semi contrôlées, par exemple). En outre, comme la diversité des espèces peut influencer positivement la communauté fongique (Buée et al. 2011), il se pourrait qu'un changement de la composition mycorhizienne dans les mélanges, par rapport aux monocultures, ait également influencé la disponibilité et l'efficacité d'utilisation de l'eau des espèces d'arbres ; des études sur ces aspects seraient donc intéressantes. Enfin, la part de l'azote provenant de la fixation atmosphérique n'a pas été estimée dans le cadre de ces travaux par manque de temps. Cependant, il serait intéressant de l'estimer afin de déterminer (1) si la fixation de N_2 se produit, et (2) si c'est le cas, s'il existe des différences de taux de fixation de N_2 entre la légumineuse et l'aulne, puisque nous faisons l'hypothèse pour expliquer certains de nos résultats que la fixation est moins efficace pour l'aulne que pour la succession luzerne/trèfle. Pour cela, différentes méthodes existent dont des méthodes isotopiques basées sur des différences de signature isotopique (^{15}N) de l'azote de l'air et du sol (abondance naturelle, dilution isotopique) (Marron et al. 2018b).

Références bibliographiques

- Adole T, Dash J, Rodriguez-Galiano V, Atkinson PM (2019) Photoperiod controls vegetation phenology across Africa. *Commun Biol* 2: 391. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0636-7>
- Aldea J, Bravo F, Vázquez-Piqué J, Ruíz-Peinado R, del Río M (2021) Differences in stem radial variation between *Pinus pinaster* Ait. and *Quercus pyrenaica* Willd. may release inter-specific competition. *For Ecol Manag* 481: 118779. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118779>
- Ammer C (2019) Diversity and forest productivity in a changing climate. *New Phytol* 221: 50–66. <https://doi.org/10.1111/nph.15263>
- Aranda I, Pardos M, Puertolas J, Jimenez MD, Pardos JA (2007) Water-use efficiency in cork oak (*Quercus suber*) is modified by the interaction of water and light availabilities. *Tree Physiol* 27: 671–677. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.5.671>
- Aranda I, Bahamonde HA, Sánchez-Gómez D (2017) Intra-population variability in the drought response of a beech (*Fagus sylvatica* L.) population in the southwest of Europe. *Tree Physiol* 37: 938–949. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx058>
- Artru S, Garré S, Dupraz C, Hiel MP, Blitz-Frayret C, Lassois L (2017) Impact of spatio-temporal shade dynamics on wheat growth and yield, perspectives for temperate agroforestry. *Eur J Agron* 82: 60–70. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.10.004>
- Bai W, Sun Z, Zheng J, Du G, Feng L, Cai Q, Yang N, Feng C, Zhang Z, Evers JB, van der Werf W, Zhang L (2016) Mixing trees and crops increases land and water use efficiencies in a semi-arid area. *Agric Water Manag* 178: 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.10.007>
- Balandier P, de Montard FX, Curt T (2007) Root Competition for Water between Trees and Grass in a Silvopastoral Plot of 10 Year Old *Prunus avium*, in: Rani Batish, D., Kumar Kohli, R., Jose, S., Pal Singh, H. (Eds.), *Ecological Basis of Agroforestry*. CRC Press, pp. 253–270. <https://doi.org/10.1201/9781420043365.ch13>
- Ball J, Carle J, Del Lungo A (2005) Contribution of poplars and willows to sustainable forestry and rural development. *Unasyuva* 221: 3–9.
- Banga A, Yadava A, Sah VK (2017) Growth, Biomass and Carbon Sequestration Potential of Different Poplar (*Populus deltoides* Bartr.) clones in Agroforestry System with Wheat (*Triticum aestivum*) Varieties in tarai belt of Uttarakhand. *J Environ Sci Technol* 5: 32–36. <https://gjestenv.com/index.php/gjest/article/view/85>

- Basler D, Körner C (2012) Photoperiod sensitivity of bud burst in 14 temperate forest tree species. *Agric For Meteorol* 165: 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.06.001>.
- Battipaglia G, Pelleri F, Lombardi F, Altieri S, Vitone A, Conte E, Tognetti R (2017) Effects of associating *Quercus robur* L. and *Alnus cordata* Loisel. on plantation productivity and water use efficiency. *For Ecol Manag* 391: 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.02.019>
- Bauhus J, Khanna P, Menden N (2000) Aboveground and belowground interactions in mixed plantations of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *Can J For Res* 30: 1886–1894. <https://doi.org/10.1139/cjfr-30-12-1886>
- Bauhus J, Winden A, Nicotra A (2004) Aboveground interactions and productivity in mixed-species plantations of *Acacia mearnsii* and *Eucalyptus globulus*. *Can J For Res* 34: 686–694. <https://doi.org/10.1139/x03-243>
- Bayala J, Prieto I (2020) Water acquisition, sharing and redistribution by roots: applications to agroforestry systems. *Plant Soil* 453: 17–28. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04173-z>
- Beer C, Ciais P, Reichstein M, Baldocchi D, Law BE, Papale D, Soussana JF, Ammann C, Buchmann N, Frank D, Gianelle D, Janssens IA, Knohl A, Köstner B, Moors E, Rouspard O, Verbeeck H, Vesala T, Williams CA, Wohlfahrt G (2009) Temporal and among-site variability of inherent water use efficiency at the ecosystem level. *Glob Biogeochem Cycles* 23: GB2018. <https://doi.org/10.1029/2008GB003233>
- Beillouin D, Schauburger B, Bastos A, Ciais P, Makowski D (2020) Impact of extreme weather conditions on European crop production in 2018. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 375:20190510. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0510>
- Belluau M, Vitali V, Parker WC, Paquette A, Messier C (2021). Overyielding in young tree communities does not support the stress-gradient hypothesis and is favoured by functional diversity and higher water availability. *J Ecol* 109: 1790–1803. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13602>
- Benomar L, DesRochers A, Larocque GR (2011) Changes in specific leaf area and photosynthetic nitrogen-use efficiency associated with physiological acclimation of two hybrid poplar clones to intraclonal competition. *Can J For Res* 41: 1465–1476. <https://doi.org/10.1139/x11-073>
- Benomar L, DesRochers A, Larocque GR (2012) The effects of spacing on growth, morphology and biomass production and allocation in two hybrid poplar clones growing in the boreal region of Canada. *Trees* 26: 939–949. <https://doi.org/10.1007/s00468-011-0671-6>

- Benomar L, DesRochers A, Larocque GR (2013) Comparing growth and fine root distribution in monocultures and mixed plantations of hybrid poplar and spruce. *J For Res* 24: 247–254. <https://doi.org/10.1007/s11676-013-0348-7>
- Berthelot A, Ranger J, Gelhaye D (2000) Nutrient uptake and immobilization in a short-rotation coppice stand of hybrid poplars in north-west France. *For Ecol Manag* 128: 167–179. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00145-0)
- Bertness MD, Callaway R (1994) Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol* 9: 187–191. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90088-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90088-4)
- Binkley D (1983) Ecosystem production in Douglas-fir plantations: Interaction of red alder and site fertility. *For Ecol Manag* 5: 215–227. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(83\)90073-7](https://doi.org/10.1016/0378-1127(83)90073-7)
- Binkley D, Dunkin K, DeBell D, Ryan M (1992) Production and Nutrient Cycling in Mixed Plantations of Eucalyptus and Albizia in Hawaii. *For Sci* 38: 393–408.
- Binkley D (2003) Seven decades of stand development in mixed and pure stands of conifers and nitrogen-fixing red alder. *Can J For Res* 33: 2274–2279. <https://doi.org/10.1139/x03-158>
- Binkley D, Stape JL, Ryan MG (2004) Thinking about efficiency of resource use in forests. *For Ecol Manag* 193: 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.01.019>
- Binkley D, Campoe OC, Gspaltl M, Forrester DI (2013) Light absorption and use efficiency in forests: Why patterns differ for trees and stands. *For Ecol Manag* 288: 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.11.002>
- Bonhomme L, Barbaroux C, Monclus R, Morabito D, Berthelot A, Villar M, Dreyer E, Brignolas F (2008) Genetic variation in productivity, leaf traits and carbon isotope discrimination in hybrid poplars cultivated on contrasting sites. *Ann For Sci* 65: 503. <https://doi.org/10.1051/forest:2008024>
- Bontemps JD, Herve JC, Dhote JF (2009) Long-Term Changes in Forest Productivity: A Consistent Assessment in Even-Aged Stands. *For Sci* 55: 549–564.
- Borden KA, Thomas SC, Isaac ME (2017) Interspecific variation of tree root architecture in a temperate agroforestry system characterized using ground-penetrating radar. *Plant Soil* 410: 323–334. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3015-x>
- Bouillet JP, Laclau JP, Gonçalves JLM, Moreira MZ, Trivelin PCO, Jourdan C, Silva EV, Piccolo MC, Tsai SM, Galiana A (2008) Mixed-species plantations of *Acacia mangium* Bouttier L, Paquette A, Messier C, Rivest D, Olivier A, Cogliastro A (2014) Vertical root separation and light interception in a temperate tree-based intercropping

- system of Eastern Canada. *Agrofor Syst* 88: 693–706. <https://doi.org/10.1007/s10457-014-9721-6>
- Brant AN, Chen HYH (2015) Patterns and Mechanisms of Nutrient Resorption in Plants. *Cri Rev Plant Sci* 34: 471–486. <https://doi.org/10.1080/07352689.2015.1078611>
- Bréda N, Granier A, Aussenac G (2000) Evolutions possibles des contraintes climatiques et conséquences pour la croissance des arbres. *Rev For Fr* 52: 73–90. <https://doi.org/10.4267/2042/5407>
- Bréda N, Huc R, Granier A, Dreyer E (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Ann For Sci* 63: 625–644. <https://doi.org/10.1051/forest:2006042>
- Broeckx LS, Verlinden MS, Vangronsveld J, Ceulemans R (2012) Importance of crown architecture for leaf area index of different *Populus* genotypes in a high-density plantation. *Tree Physiol* 32: 1214–1226. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps083>
- Broeckx LS, Fichot R, Verlinden MS, Ceulemans R (2014) Seasonal variations in photosynthesis, intrinsic water-use efficiency and stable isotope composition of poplar leaves in a short-rotation plantation. *Tree Physiol* 34: 701–715. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu057>
- Buée M, Maurice JP, Zeller B, Andrianarisoa S, Ranger J, Courtecuisse R, Marçais B, Le Tacon FF (2011) Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecol* 4: 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2010.07.003>
- Burgess PJ, Incoll LD, Corry DT, Beaton A, Hart BJ (2005) Poplar (*Populus spp*) growth and crop yields in a silvoarable experiment at three lowland sites in England. *Agrofor Syst* 63: 157–169. <https://doi.org/10.1007/s10457-004-7169-9>
- Burity HA, Ta TC, Faris MA, Coulman BE (1989) Estimation of nitrogen fixation and transfer from alfalfa to associated grasses in mixed swards under field conditions. *Plant Soil* 114: 249–255. <https://doi.org/10.1007/BF02220805>
- Buyinza J, Muthuri CW, Downey A, Njoroge J, Denton MD, Nuberg IK (2019) Contrasting water use patterns of two important agroforestry tree species in the Mt Elgon region of Uganda. *Aust For* 82: 57–65. <https://doi.org/10.1080/00049158.2018.1547944>
- Calfapietra C, Angelis PD, Gielen B, Lukac M, Moscatelli MC, Avino G, Lagomarsino A, Polle A, Ceulemans R, Mugnozza GS, Hoosbeek MR, Cotrufo MF (2007) Increased nitrogen-use efficiency of a short-rotation poplar plantation in elevated CO₂ concentration. *Tree Physiol* 27: 1153–1163. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.8.1153>

- Callaway RM, Pugnaire FI (1999) Facilitation in plant communities, in: Pugnaire FI, Valladares F (eds.), *Handbook of Functional Plant Ecology*, Marcel and Derek Inc, New York, pp. 623–648.
- Cannell MGR (1999) Environmental impacts of forest monocultures: water use, acidification, wildlife conservation, and carbon storage, in: Boyle JR, Winjum JK, Kavanagh K, Jensen EC (eds.), *Planted Forests: Contributions to the Quest for Sustainable Societies*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 239–262. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2689-4_17
- Cardinael R, Chevallier T, Cambou A, Béral C, Barthès BG, Dupraz C, Durand C, Kouakoua E, Chenu C (2017) Increased soil organic carbon stocks under agroforestry: A survey of six different sites in France. *Agric Ecosyst Environ* 236: 243–255. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.011>
- Carlsson G, Huss-Danell K (2003) Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. *Plant Soil* 253: 353–372. <https://doi.org/10.1023/A:1024847017371>
- Carlsson G, Palmborg C, Huss-Danell K (2006) Discrimination against ^{15}N in three N_2 -fixing *Trifolium* species as influenced by *Rhizobium* strain and plant age. *Acta Agric Scand B Soil Plant Sci* 56: 31–38. <https://doi.org/10.1080/0906471051003131>
- Carrier M, Rhéaume Gonzalez FA, Cogliastro A, Olivier A, Vanasse A, Rivest D (2019) Light availability, weed cover and crop yields in second generation of temperate tree-based intercropping systems. *Field Crops Res.* 239: 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.05.004>
- Castro KL, Sanchez-Azofeifa GA (2008) Changes in Spectral Properties, Chlorophyll Content and Internal Mesophyll Structure of Senescing *Populus balsamifera* and *Populus tremuloides* Leaves. *Sensors* 8: 51–69. <https://doi.org/10.3390/s8010051>
- Cateau, E., King, L., Vallauri, D., 2018. Plantations industrielles d'arbres à croissance rapide : réalités, risques et solutions. *Rapp. WWF Paris* 24.
- Ceulemans R, Stettler RF, Hinckley TM, Isebrands J.G, Heilman, P.E., 1990. Crown architecture of *Populus* clones as determined by branch orientation and branch characteristics. *Tree Physiol* 7: 157–167. <https://doi.org/10.1093/treephys/7.1-2-3-4.157>
- Chamagne J, Tanadini M, Frank D, Matula R, Paine CET, Philipson CD, Svátek M, Turnbull LA, Volařík D, Hector A (2017) Forest diversity promotes individual tree growth in central European forest stands. *J Appl Ecol* 54: 71–79. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12783>
- Christersson L (2010) Wood production potential in poplar plantations in Sweden. *Biomass Bioenergy* 34: 1289–1299. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.03.021>

- CIP, Commission Internationale du Peuplier (2020). Rapport France – 2020. 26^{ème} session, Rome, Italie. 45p.
- Claessens H, Oosterbaan A, Savill P, Rondeux J (2010) A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. *Forestry* 83: 163–175. <https://doi.org/10.1093/forestry/cpp038>
- Clark DA, Clark DB (1992) Life History Diversity of Canopy and Emergent Trees in a Neotropical Rain Forest. *Ecol Monogr* 62: 315–344. <https://doi.org/10.2307/2937114>
- Clivot H, Petitjean C, Marron N, Dallé E, Genestier J, Blaszczyk N, Santenoise P, Laflotte A, Piutti S (2019) Early effects of temperate agroforestry practices on soil organic matter and microbial enzyme activity. *Plant Soil* 453: 189–207. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04320-6>
- Cocozza C, Giovannelli A, Traversi ML, Castro G, Cherubini P, Tognetti R (2011) Do tree-ring traits reflect different water deficit responses in young poplar clones (*Populus* × *canadensis* Mönch 'I-214' and *P. deltoides* 'Dvina')? *Trees-Struct Funct* 25: 975-985. <https://doi.org/10.1007/s00468-011-0572-8>
- Collier DE, Thibodeau BA (1995) Changes in respiration and chemical content during autumnal senescence of *Populus tremuloides* and *Quercus rubra* leaves. *Tree Physiol* 15: 759–764. <https://doi.org/10.1093/treephys/15.11.759>
- Condon AG, Richards RA, Rebetzke GJ, Farquhar GD (2004) Breeding for high water-use efficiency. *J Exp Bot* 55: 2447–2460. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh277>
- Congreves KA, Otchere O, Ferland D, Farzadfar S, Williams S, Arcand MM (2021) Nitrogen Use Efficiency Definitions of Today and Tomorrow. *Front Plant Sci* 12: 637108. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.637108>
- Conte E, Lombardi F, Battipaglia G, Palombo C, Altieri S, La Porta N, Marchetti M, Tognetti R (2018) Growth dynamics, climate sensitivity and water use efficiency in pure vs. mixed pine and beech stands in Trentino (Italy). *For Ecol Manag* 409: 707–718. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.12.011>
- Cossalter C, Pye-Smith C (2003) Fast-wood forestry: myths and realities, Forest perspectives. Jakarta: CIFOR. ISBN 979-3361-09-3
- Côté B, Camiré C (1987) Tree growth and nutrient cycling in dense plantings of hybrid poplar and black alder. *Can J For Res* 17: 516–523. <https://doi.org/10.1139/x87-086>
- Cotrufo MF, De Angelis P, Polle A (2005) Leaf litter production and decomposition in a poplar short-rotation coppice exposed to free air CO₂ enrichment (POPFACE). *Global Change Biol* 11: 971–982. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.00958.x>

- Crous KY, Wujeska-Klaue A, Jiang M, Medlyn BE, Ellsworth DS (2019) Nitrogen and Phosphorus Retranslocation of Leaves and Stemwood in a Mature Eucalyptus Forest Exposed to 5 Years of Elevated CO₂. *Front Plant Sci* 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00664>
- Čufar K, De Luis M, Prislan P, Gričar J, Črepinšek Z, Merela M, Kajfež-Bogataj L (2015) Do variations in leaf phenology affect radial growth variations in *Fagus sylvatica*? *Int J Biometeorol* 59: 1127–1132. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0896-3>
- Dawson JO, Hansen EA (1983) Effect of *Alnus glutinosa* on hybrid populus growth and soil nitrogen concentration in a mixed plantation, in: Hansen JO, Edward A (eds.), *Intensive Plantation Culture: 12 years research*, St. Paul, MN: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, North Central Forest Experiment Station, pp. 29–34
- Dawson LA, Duff EI, Campbell CD, Hirst DJ (2001) Depth distribution of cherry (*Prunus avium* L.) tree roots as influenced by grass root competition. *Plant Soil* 231: 11–19.
- Dean MA, Letner CA, Eley JH (1993) Effect of Autumn Foliar Senescence on Chlorophyll a:b Ratio and Respiratory Enzymes of *Populus tremuloides*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. juillet 1993. Vol. 120, n° 3, pp. 269. <https://doi.org/10.2307/2996991>
- DeLong SC (1991) The light interception index: a potential tool for assisting in vegetation management decisions. *Can J For Res* 21: 1037-1042
- DesRochers A, van den Riessche R, Thomas BR (2007) The interaction between nitrogen source, soil pH, and drought in the growth and physiology of three poplar clones. *Can J Bot* 85: 1046-1057. <https://doi.org/10.1139/B07-062>
- DeWald LE, Steiner KC (1986) Phenology, height increment, and cold tolerance of *Alnus glutinosa* populations in a common environment. *Silvae genetica* 35: 205–211.
- de Streel G, Ammer C, Annighöfer P, et al (2021) Mixing has limited impacts on the foliar nutrition of European beech and Scots pine trees across Europe. *For Ecol Manag* 479: 118551. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118551>
- Dickson RE (1989) Carbon and nitrogen allocation in trees. *Ann For Sci* 46: 631s–647s. <https://doi.org/10.1051/forest:198905ART0142>
- Dieler J, Pretzsch H (2013) Morphological plasticity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in pure and mixed-species stands. *For Ecol Manag* 295: 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.12.049>
- Duarte MM, Moral R de A, Guillemot J, Zuim CIF, Potvin C, Bonat WH, Stape JL, Brancalion PHS (2021) High tree diversity enhances light interception in tropical forests. *J Ecol* 109: 2597–2611. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13669>

- Dupraz C, Simorte V, Dauzat M, Bertoni G, Bernadac A, Masson P (1999) Growth and nitrogen status of young walnuts as affected by intercropped legumes in a Mediterranean climate, in: Auclair D, Dupraz C (eds.), *Agroforestry for Sustainable Land-Use Fundamental Research and Modelling with Emphasis on Temperate and Mediterranean Applications*, Forestry Sciences. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 71–80. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0679-7_4
- Dupraz C, Liagre F (2008) *Agroforesterie, des arbres et des cultures*. Paris : Editions France Agricole, 414p.
- Durand M (2019) Déterminismes physiologiques, morphologiques et moléculaire de l'efficacité d'utilisation de l'eau en lien avec la réponse à la sécheresse chez les peupliers : de la feuille à la plante entière. Ingénierie de l'environnement. Université de Lorraine, 2019. Français. ffNNT : 2019LORR0082ff. fftel-02350625f
- Du Puy S, Derrière N, Wurpillot S (2017) La forêt plantée en France: état des lieux. La feuille de l'inventaire forestier: Institut national de l'information géographique et forestière 40: 16p. https://inventaire-forestier.ign.fr/IMG/pdf/if40_plantations.pdf
- Elferjani R, DesRochers A, Tremblay F (2016) Plasticity of bud phenology and photosynthetic capacity in hybrid poplar plantations along a latitudinal gradient in northeastern Canada. *Environ Exp Bot* 125: 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.01.007>
- Epron D, Nouvellon Y, Mareschal L, Moreira RM e, Koutika LS, Geneste B, Delgado-Rojas JS, Laclau JP, Sola G, Gonçalves JL de M, Bouillet JP (2013) Partitioning of net primary production in Eucalyptus and Acacia stands and in mixed-species plantations: Two case-studies in contrasting tropical environments. *For Ecol Manag* 301: 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.034>
- Estiarte M, Peñuelas J (2015) Alteration of the phenology of leaf senescence and fall in winter deciduous species by climate change: effects on nutrient proficiency. *Glob Chang Biol* 21: 1005–1017. <https://doi.org/10.1111/gcb.12804>
- European Biomass Association (AEBIOM) (2017) Annual statistical report on the contribution of biomass to the energy system in the EU28. p. 215.
- Eurostat (2020) *Statistics Explained – Statistiques sur les énergies renouvelables*. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Renewable_energy_statistics/fr
- Evans JR (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78: 9-19.

- Everson CS, Everson TM, van Niekerk W (2009) Soil water competition in a temperate hedgerow agroforestry system in South Africa. *Agrofor Syst* 75: 211–221. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9174-x>
- FAO (2020a) Global Forest Resources Assessment 2020: Main report. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9825en>
- FAO (2020b) The State of the World's Forests 2020. FAO and UNEP. <https://doi.org/10.4060/ca8642en>
- Farquhar GD, O'Leary M, Berry J (1982) On the Relationship Between Carbon Isotope Discrimination and the Intercellular Carbon Dioxide Concentration in Leaves. *Functional Plant Biol* 9: 121. <https://doi.org/10.1071/PP9820121>
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40:503–537. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.002443>
- Faucher M, Meslier C, Veisse D, Verger M, Bastien JC (2006) Notations de phénologie foliaire sur arbres forestiers. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 139–142. fhal-02665619
- Fernández ME, Gyenge J, Licata J, Schlichter T, Bond BJ (2008) Belowground interactions for water between trees and grasses in a temperate semiarid agroforestry system. *Agrofor Syst* 74: 185–197. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9119-4>
- Fichot R, Laurans F, Monclus R, Moreau A, Pilate G, Brignolas F (2009) Xylem anatomy correlates with gas exchange, water-use efficiency and growth performance under contrasting water regimes: evidence from *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Tree Physiol* 29: 1537–1549. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpp087>
- Fichot R, Barigah TS, Chamaillard S, Thiec DL, Laurans F, Cochard H, Brignolas F (2010) Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Plant Cell Environ* 33: 1553–1568. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02164.x>
- Field C, Merino J, Mooney HA (1983) Compromises between water-use efficiency and nitrogen-use efficiency in five species of California evergreens. *Oecologia* 60: 384–389. <https://doi.org/10.1007/BF00376856>
- Forest Europe (2020) State of Europe's Forests 2020. https://foresteurope.org/wp-content/uploads/2016/08/SoEF_2020.pdf
- Forrester DI, Bauhus J, Khanna PK (2004) Growth dynamics in a mixed-species plantation of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *For Ecol Manag* 193: 81–95. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.01.024>

- Forrester DI, Bauhus J, Cowie AL (2005) On the success and failure of mixed-species tree plantations: lessons learned from a model system of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. For Ecol Manag 209: 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.01.012>
- Forrester DI, Bauhus J, Cowie AL, Vanclay JK (2006) Mixed-species plantations of *Eucalyptus* with nitrogen-fixing trees: A review. For Ecol Manag 233: 211–230. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.05.012>
- Forrester DI, Schortemeyer M, Stock WD, Bauhus J, Khanna PK, Cowie AL (2007) Assessing nitrogen fixation in mixed- and single-species plantations of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. Tree Physiol 27: 1319–1328. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.9.1319>
- Forrester DI, Theiveyanathan S, Collopy JJ, Marcar NE (2010) Enhanced water use efficiency in a mixed *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii* plantation. For Ecol Manag 259: 1761–1770. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.07.036>
- Forrester DI, Lancaster K, Collopy JJ, Warren CR, Tausz M (2012) Photosynthetic capacity of *Eucalyptus globulus* is higher when grown in mixture with *Acacia mearnsii*. Trees 26: 1203–1213. <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0696-5>
- Forrester DI, Kohnle U, Albrecht AT, Bauhus J (2013) Complementarity in mixed-species stands of *Abies alba* and *Picea abies* varies with climate, site quality and stand density. For Ecol Manag 304: 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.04.038>
- Forrester DI (2014) The spatial and temporal dynamics of species interactions in mixed-species forests: From pattern to process. For Ecol Manag 312: 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.003>
- Forrester DI (2015) Transpiration and water-use efficiency in mixed-species forests versus monocultures: effects of tree size, stand density and season. Tree Physiol 35: 289–304. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv011>
- Forrester DI, Bauhus J (2016) A Review of Processes Behind Diversity—Productivity Relationships in Forests. Curr Forestry Rep 2: 45–61. <https://doi.org/10.1007/s40725-016-0031-2>
- Forrester DI (2017) Ecological and Physiological Processes in Mixed Versus Monospecific Stands. In: Pretzsch H, Forrester D, Bauhus J (eds.), Mixed-Species Forests, Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 73–115. https://doi.org/10.1007/978-3-662-54553-9_3
- Forrester DI, Rodenfels P, Haase J, Härdtle W, Leppert KN, Niklaus PA, von Oheimb G, Scherer-Lorenzen M, Bauhus J (2019) Tree-species interactions increase light absorption and growth in Chinese subtropical mixed-species plantations. Oecologia 191: 421–432. <https://doi.org/10.1007/s00442-019-04495-w>

- Fotis AT, Morin TH, Fahey RT, Hardiman BS, Bohrer G, Curtis PS (2018) Forest structure in space and time: Biotic and abiotic determinants of canopy complexity and their effects on net primary productivity. *Agric For Meteorol* 250–251: 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.12.251>
- Fracheboud Y, Luquez V, Björkén L, Sjödin A, Tuominen H, Jansson S (2009) The Control of Autumn Senescence in European Aspen. *Plant Physiol* 149: 1982–1991. <https://doi.org/10.1104/pp.108.133249>
- Gakis S, Mantzanas K, Alifragis D, Papanastasis VP, Papaioannou A, Seilopoulos D, Platis P (2004) Effects of understorey vegetation on tree establishment and growth in a silvopastoral system in northern Greece. *Agrofor Syst* 60: 149–157. <https://doi.org/10.1023/B:AGFO.0000013275.30617.ad>
- Gartner TB, Cardon ZG (2004) Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos* 104(2): 230–246. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.12738.x>
- Gause GF (1934) *The struggle for existence*. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland. 163p.
- Ghorbani M, Sohrabi H, Sadati SE, Babaei F (2018) Productivity and dynamics of pure and mixed-species plantations of *Populus deltoids* Bartr. ex Marsh and *Alnus subcordata* C. A. Mey. *For Ecol Manag* 409: 890–898. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.11.016>
- Gleeson E, Donnelly A, McGrath R, ní Bhroin A, O’Neill BF, Semmler T (2013) Assessing the Influence of a Range of Spring Meteorological Parameters on Tree Phenology. *Biol Environ* 113: 1–10. <https://doi.org/10.3318/BIOE.2013.06>
- Gliessman S (1985) Multiple Cropping Systems: A Basis for Developing an Alternative Agriculture. *Innovative Technologies for Lesser Developed Countries*, pp. 69–86. Available at: <http://www.princeton.edu/~ota/disk2/1985/8512/851207.PDF>.
- González I, Sixto H, Rodríguez-Soalleiro R, Oliveira N (2020) Nutrient Contribution of Litterfall in a Short Rotation Plantation of Pure or Mixed Plots of *Populus alba* L. and *Robinia pseudoacacia* L. *Forests* 11: 1133. <https://doi.org/10.3390/f11111133>
- González I, Sixto H, Rodríguez-Soalleiro R, Cañellas I, Fuertes A, Oliveira N (2022) How can leaf-litter from different species growing in short rotation coppice contribute to the soil nutrient pool? *For Ecol Manag* 520: 120405. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120405>
- Goulas Y, Cerovic ZG, Cartelat A, Moya I (2004). Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. *Appl Opt* 43: 4488–4496. <https://doi.org/10.1364/AO.43.004488>

- Granier A (1985) Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Ann For Sci* 42: 193–200. <https://doi.org/10.1051/forest:19850204>
- Granier A (1988) Evaluation of transpiration in a Douglas-fir stand by means of sap flow measurements. *Tree Physiol* 3: 309–20. <https://doi.org/10.1093/treephys/3.4.309>
- Griffin AR (1989) Strategies for the genetic improvement of yield in Eucalyptus, in: Peirera JS, Landsberg JJ (eds.), *Biomass Production by Fast-Growing Trees*, Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 247–265. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-2348-5>
- Grossiord C, Gessler A, Granier A, Berger S, Bréchet C, Hentschel R, Hommel R, Scherer-Lorenzen M, Bonal D (2014) Impact of interspecific interactions on the soil water uptake depth in a young temperate mixed species plantation. *J Hydrol* 519: 3511–3519. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2014.11.011>
- Grossiord C (2020) Having the right neighbors: how tree species diversity modulates drought impacts on forests. *New Phytol* 228: 42–49. <https://doi.org/10.1111/nph.15667>
- Guariguata MR, Rheingans R, Montagini F (1995) Early woody invasion under the tree plantation in Costa Rica: implications for forest restoration. *Restor Ecol* 3: 252–260.
- Guillemot J, Kunz M, Schnabel F, Fichtner A, Madsen CP, Gebauer T, Härdtle W, von Oheimb G, Potvin C (2020) Neighbourhood-mediated shifts in tree biomass allocation drive overyielding in tropical species mixtures. *New Phytol* 228: 1256–1268. <https://doi.org/10.1111/nph.16722>
- Hatfield JL, Dold C (2019) Water-Use Efficiency: Advances and Challenges in a Changing Climate. *Front Plant Sci* 10: 103. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00103>
- Han Q, Zhang Y, Geng X, Du K, Yang J, Kang X (2020) Response of tree growth, crown, and branch development to planting density. *Austrian J For Sci* 137: 179–198.
- Hayes P, Turner BL, Lambers H, Laliberté E (2014) Foliar nutrient concentrations and resorption efficiency in plants of contrasting nutrient-acquisition strategies along a 2-million-year dune chronosequence. *J Ecol* 102: 396–410. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12196>
- Hegyí F (1974) A simulation model for managing jack-pine stands, in: Fries J (ed.), *Growth Models for Tree and Stand Simulation*, Royal College of Forestry, Stockholm, pp. 74–90.
- Hildebrand M, Perles-García MD, Kunz M, Härdtle W, von Oheimb G, Fichtner A (2021) Tree-tree interactions and crown complementarity: The role of functional diversity and branch traits for canopy packing. *Basic Appl Ecol* 50: 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2020.12.003>

- Hjelm K, Mc Carthy R, Rytter L (2018) Establishment strategies for poplars, including mulch and plant types, on agricultural land in Sweden. *New For* 49: 737–755. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9652-6>
- Huber JA, Matiu M, Hülsbergen KJ (2018) First-rotation growth and stand structure dynamics of tree species in organic and conventional short-rotation agroforestry systems. *Heliyon* 4: e00645. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00645>
- IGN (2021) Le mémento - Inventaire Forestier Edition 2021.
- Inurreta-Aguirre HD, Lauri PÉ, Dupraz C, Gosme M (2018) Yield components and phenology of durum wheat in a Mediterranean alley-cropping system. *Agrofor Syst* 92: 961–974. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0201-2>
- Isaac ME, Carlsson G, Ghoulam C, Makhani M, Thevathasan NV, Gordon AM (2014) Legume Performance and Nitrogen Acquisition Strategies in a Tree-Based Agroecosystem. *Agroecol Sustain Food Syst* 38: 686–703. <https://doi.org/10.1080/21683565.2013.870630>
- Isaac ME, Borden KA (2019) Nutrient acquisition strategies in agroforestry systems. *Plant Soil* 444: 1–19. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04232-5>
- Ishii HT, Tanabe S, Hiura T (2004) Exploring the Relationships Among Canopy Structure, Stand Productivity, and Biodiversity of Temperate Forest Ecosystems. *For Sci* 50:342–355. <https://doi.org/10.1093/forestscience/50.3.342>
- Israeli Y, Schwartz A, Plaut Z, Yakir D (1996) Effects of light regime on $\delta^{13}\text{C}$, photosynthesis and yield of field-grown banana (*Musa sp.*, Musaceae). *Plant Cell Environ* 19: 225-230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00244.x>
- IUSS Working Group WRB (2006) World Reference Base for Soil Resources 2006 – A Framework for International Classification, Correlation and Communication. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Jose S, Gillespie AR, Pallardy SG (2004) Interspecific interactions in temperate agroforestry. *Agrofor Syst* 61: 237–255. <https://doi.org/10.1023/B:AGFO.0000029002.85273.9b>
- Jose S, Williams R, Zamora D (2006) Belowground ecological interactions in mixed-species forest plantations. *For Ecol Manag* 233: 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.05.014>
- Jucker T, Bouriaud O, Coomes DA (2015) Crown plasticity enables trees to optimize canopy packing in mixed-species forests. *Funct Ecol* 29: 1078–1086. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12428>

- Kanzler M, Böhm C, Mirck J, Schmitt D, Veste M (2019) Microclimate effects on evaporation and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) yield within a temperate agroforestry system. *Agrofor Syst* 93: 1821–1841. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0289-4>
- Karp A, Shield I (2008) Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytol* 179: 15–32. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02432.x>
- Kaye JP, Resh SC, Kaye MW, Chimner RA (2000) Nutrient and Carbon Dynamics in a Replacement Series of Eucalyptus and Albizia Trees. *Ecology* 81: 3267–3273. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[3267:NACDIA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[3267:NACDIA]2.0.CO;2)
- Keeling HC, Phillips OL (2007) A calibration method for the crown illumination index for assessing forest light environments. *For Ecol Manag* 242: 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.01.060>
- Kelty MJ (1992) Comparative productivity of monocultures and mixed-species stands, in: Kelty MJ, Larson BC, Oliver CD (eds.), *The Ecology and Silviculture of Mixed-Species Forests*, Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 125–141. https://doi.org/10.1007/978-94-015-8052-6_8
- Kelty MJ (2006) The role of species mixtures in plantation forestry. *For Ecol Manag* 233: 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.05.011>
- Keskitalo J, Bergquist G, Gardeström P, Jansson S (2005) A Cellular Timetable of Autumn Senescence. *Plant Physiol* 139: 1635–1648. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066845>
- King DA, Davies SJ, Nur Supardi MN, Tan S (2005) Tree growth is related to light interception and wood density in two mixed dipterocarp forests of Malaysia. *Funct Ecol* 19: 445–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.00982.x>
- Konate NM (2010) Diversité interspécifique de l'efficience d'utilisation de l'eau des acacias sahéliens et australiens. PhD thesis in silviculture and forestry. Université Henri Poincaré-Nancy 1, France. French.
- Kort HD, Mijnsbrugge KV, Vandepitte K, Mergeay J, Ovaskainen O, Honnay O (2016) Evolution, plasticity and evolving plasticity of phenology in the tree species *Alnus glutinosa*. *J Evol Biol* 29: 253–264. <https://doi.org/10.1111/jeb.12777>
- Kottek M, Grieser J, Beck C, Rudolf B, Rubel F (2006) World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol Zeitschrift* 15: 259–263. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2006/0130>
- Koupar SAM, Hosseini SM, Modirrahmati A, Tabari M, Golchin A, Rad FH (2011) Effect of pure and mixed plantations of *Populus deltoides* with *Alnus subcordata* on growth,

- nutrition and soil properties: A case study of Foman Region, Iran. *Asian J Chem* 23: 5261–5265.
- Kristensen RK, Fontaine D, Rasmussen J, Eriksen J (2022) Contrasting effects of slurry and mineral fertilizer on N₂-fixation in grass-clover mixtures. *Eur J Agron* 133: 126431. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126431>
- Kunz M, Fichtner A, Härdtle W, Raunonen P, Bruelheide H, von Oheimb G (2019) Neighbour species richness and local structural variability modulate aboveground allocation patterns and crown morphology of individual trees. *Ecol Lett* 22: 2130–2140. <https://doi.org/10.1111/ele.13400>
- Laclau JP, Bouillet JP, Ranger J (2000) Dynamics of biomass and nutrient accumulation in a clonal plantation of Eucalyptus in Congo. *For Ecol Manag* 128: 181–196. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(99\)00146-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(99)00146-2)
- Lamerre J, Schwarz KU, Langhof M, von Wühlisch G, Greef JM (2015) Productivity of poplar short rotation coppice in an alley-cropping agroforestry system. *Agrofor Syst* 89: 933–942. <https://doi.org/10.1007/s10457-015-9825-7>
- Larchevêque M, Maurel M, Desrochers A, Larocque GR (2011) How does drought tolerance compare between two improved hybrids of balsam poplar and an unimproved native species? *Tree Physiol* 31: 240–249. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpr011>
- Law BE, Falge E, Gu L, Baldocchi DD, Bakwin P, Berbigier P, Davis K, Dolman AJ, Falk M, Fuentes JD, Goldstein A, Granier A, Grelle A, Hollinger D, Janssens IA, Jarvis P, Jensen NO, Katul G, Mahli Y, Matteucci G, Meyers T, Monson R, Munger W, Oechel W, Olson R, Pilegaard K, Paw U KT, Thorgeirsson H, Valentini R, Verma S, Vesala T, Wilson K, Wofsy S (2002) Environmental controls over carbon dioxide and water vapor exchange of terrestrial vegetation. *Agric For Meteorol* 113: 97–120. [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(02\)00104-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(02)00104-1)
- le Maire G, Nouvellon Y, Christina M, Ponzoni FJ, Gonçalves JLM, Bouillet JP, Laclau JP (2013) Tree and stand light use efficiencies over a full rotation of single- and mixed-species *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* plantations. *For Ecol Manag* 88: 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.03.005>
- Le Tacon F, Bouchard D, Garbaye J (1988) Augmentation de la croissance initiale du Frêne (*Fraxinus excelsior* L.) par épandage de boues de station d'épuration urbaine et plantation intercalaire d'Aulne blanc (*Alnus incana* (L.) Moench.). *Rev For Fr* 60: 117–125. <https://doi.org/10.4267/2042/25871>
- Li C, Barclay H, Roitberg B, Lalonde R (2020) Forest Productivity Enhancement and Compensatory Growth: A Review and Synthesis. *Front Plant Sci* 11: 575211. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.575211>

- Linderholm, H.W. (2006). Growing season changes in the last century. *Agric For Meteorol* 137: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.03.006>
- Liu CLC, Kuchma O, Krutovsky KV (2018) Mixed-species versus monocultures in plantation forestry: Development, benefits, ecosystem services and perspectives for the future. *Glob Ecol Conserv* 15: e00419. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2018.e00419>
- Liu Z, Jia G, Yu X (2020) Water uptake and WUE of Apple tree-Corn Agroforestry in the Loess hilly region of China. *Agri Water Manag* 234: 106138. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106138>
- Longuetaud F, Piboule A, Wernsdörfer H, Collet C (2013) Crown plasticity reduces inter-tree competition in a mixed broadleaved forest. *Eur J Forest Res* 132: 621–634. <https://doi.org/10.1007/s10342-013-0699-9>
- Loreau M, Hector A (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412: 72–76. <https://doi.org/10.1038/35083573>
- Ludwig F, Dawson TE, Prins HHT, Berendse F, Kroon H (2004) Below-ground competition between trees and grasses may overwhelm the facilitative effects of hydraulic lift. *Ecol Lett* 7: 623–631. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00615.x>
- Luo J, Zhou JJ (2019) Growth performance, photosynthesis, and root characteristics are associated with nitrogen use efficiency in six poplar species. *Environ Exp Bot* 164: 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.04.013>
- Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J Ecol* 97: 199–205. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x>
- Maier CA, Burley J, Cook R, Ghezehei SB, Hazel DW, Nichols EG (2019) Tree Water Use, Water Use Efficiency, and Carbon Isotope Discrimination in Relation to Growth Potential in *Populus deltoides* and Hybrids under Field Conditions. *Forests* 10: 993. <https://doi.org/10.3390/f10110993>
- Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C, Laurans M, Makowski D, Ozier-Lafontaine H, Rapidel B, Tourdonnet S, Valantin-Morison M (2009) Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agron Sustain Dev* 29: 43–62. <https://doi.org/10.1051/agro:2007057>
- Manceur AM, Boland GJ, Thevathasan NV, Gordon AM (2008) Dry matter partitions and specific leaf weight of soybean change with tree competition in an intercropping system. *Agrofor Syst* 76: 295–301. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9181-y>
- Marchand LJ, Dox I, Gričar J, Prislán P, Leys S, Van den Bulcke J, Fonti P, Lange H, Matthysen E, Peñuelas J, Zuccarini P, Campioli M (2020) Inter-individual variability

- in spring phenology of temperate deciduous trees depends on species, tree size and previous year autumn phenology. *Agric For Meteorol* 290: 108031. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108031>
- Marron N, Ceulemans R. (2006) Genetic variation of leaf traits related to productivity in a *Populus deltoides* × *Populus nigra* family. *Can J For Res* 36: 390–400. <https://doi.org/10.1139/x05-245>
- Marron N, Priault P, Gana C, Gérant D, Epron D (2018a) Prevalence of interspecific competition in a mixed poplar/black locust plantation under adverse climate conditions. *Ann For Sci* 75: 23. <https://doi.org/10.1007/s13595-018-0704-z>
- Marron N, Gana C, Gérant D, Maillard P, Priault P, Epron D (2018b) Estimating symbiotic N₂ fixation in *Robinia pseudoacacia*. *J Plant Nutr Soil Sci* 181: 296–304. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700503>
- Marron N, Epron D (2019) Are mixed-tree plantations including a nitrogen-fixing species more productive than monocultures? *For Ecol Manag* 441: 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.03.052>
- Mattila H, Valev D, Havurinne V, Khorobrykh S, Virtanen O, Antinluoma M, Mishra KB, Tyystjärvi E (2018) Degradation of chlorophyll and synthesis of flavonols during autumn senescence—the story told by individual leaves. *Aob Plants* 10: ply028. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply028>
- Maxwell TL, Augusto L, Bon L, et al (2020) Effect of a tree mixture and water availability on soil nutrients and extracellular enzyme activities along the soil profile in an experimental forest. *Soil Biol Biochem* 148: 107864. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107864>
- Maxwell TL, Fanin N, Parker WC, Bakker MR, Belleau A, Meredieu C, Augusto L, Munson AD (2022) Tree species identity drives nutrient use efficiency in young mixed-species plantations, at both high and low water availability. *Funct Ecol* 36: 2069–2083. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14109>
- Mayer J, Buegger F, Steen Jensen E, Schloter M, Heß J (2004) Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biol Fertil Soil* 39: 153–164. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0694-2>
- Medrano H (2015) From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. *Crop J* 3: 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.04.002>
- Michelson IH, Ingvarsson PK, Robinson KM, Edlund E, Eriksson ME, Nilsson O, Jansson S (2018) Autumn senescence in aspen is not triggered by day length. *Physiol Plant* 162: 123–134. <https://doi.org/10.1111/ppl.12593>

- Mincer AM, Boland GJ, Thevathasan NV, Gordon AM (2008) Dry matter partitions and specific leaf weight of soybean change with tree competition in an intercropping system. *Agrofor Syst* 76: 295–301. <https://doi.org/10.1007/s10457-008-9181-y>
- Moghaddam A, Raza A, Vollmann J, Ardakani MR, Wanek W, Gollner G, Friedel JK (2013) Carbon isotope discrimination and water use efficiency relationships of alfalfa genotypes under irrigated and rain-fed organic farming. *Eur J Agron* 50: 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.05.010>
- Mola-Yudego B, Arevalo J, Díaz-Yáñez O, Dimitriou I, Freshwater E, Haapala A, Khanam T, Selkimäki M (2017) Reviewing wood biomass potentials for energy in Europe: the role of forests and fast growing plantations. *Biofuels* 8: 401–410. <https://doi.org/10.1080/17597269.2016.1271627>
- Monclus R, Dreyer E, Villar M, Delmotte FM, Delay D, Petit JM, Barbaroux C, Thiec DL, Bréchet C, Brignolas F (2006) Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoides* × *Populus nigra*. *New Phytol* 169: 765–777. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01630.x>
- Monclus R, Villar M, Barbaroux C, Bastien C, Fichot R, Delmotte FM, Delay D, Petit JM, Brechet C, Dreyer E, Brignolas F (2009) Productivity, water-use efficiency and tolerance to moderate water deficit correlate in 33 poplar genotypes from a *Populus deltoides* × *Populus trichocarpa* F₁ progeny. *Tree Physiol* 29: 1329–1339. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpp075>
- Monteith JL, Ong CK, Corlett JE (1991) Microclimatic interactions in agroforestry systems. *For Ecol Manag* 45: 31–44. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(91\)90204-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(91)90204-9)
- Moore TR, Trofymow JA, Prescott CE, Fyles J, Titus BD (2006) Patterns of Carbon, Nitrogen and Phosphorus Dynamics in Decomposing Foliar Litter in Canadian Forests. *Ecosystems* 9: 46–62. <https://doi.org/10.1007/s10021-004-0026-x>
- Moore GW, Bond BJ, Jones JA (2011) A comparison of annual transpiration and productivity in monoculture and mixed-species Douglas-fir and red alder stands. *For Ecol Manag* 262: 2263–2270. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.08.018>
- Morin X, Fahse L, Scherer-Lorenzen M, Bugmann H (2011) Tree species richness promotes productivity in temperate forests through strong complementarity between species: Species richness promotes forest productivity. *Ecol Lett* 14: 1211–1219. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01691.x>
- Munroe JW, Isaac ME (2014) N₂-fixing trees and the transfer of fixed-N for sustainable agroforestry: a review. *Agron Sustain Dev* 34: 417–427. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0190-5>

- Muthuri CW, Ong CK, Craigon J, Mati BM, Ngumi VW, Black CR (2009) Gas exchange and water use efficiency of trees and maize in agroforestry systems in semi-arid Kenya. *Agric Ecosyst Environ* 129: 497–507. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.11.001>
- Navarro A, Facciotto G, Campi P, Mastrorilli M (2014) Physiological adaptations of five poplar genotypes grown under SRC in the semi-arid Mediterranean environment. *Trees* 28: 983–994. <https://doi.org/10.1007/s00468-014-1012-3>
- Navarro A, Portillo-Estrada M, Vanbeverem SPP, Ariza-Carricondo C, Ceulemans R (2018) Transpiration at leaf and tree level in a poplar short-rotation coppice culture: seasonal and genotypic differences. *Acta Hort* 1222: 93–102. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1222.13>
- Nerlich K, Graeff-Hönninger S, Claupein W (2013) Agroforestry in Europe: a review of the disappearance of traditional systems and development of modern agroforestry practices, with emphasis on experiences in Germany. *Agrofor Syst* 87: 475–492. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9560-2>
- Niinemets Ü (2004) Adaptive adjustments to light in foliage and whole-plant characteristics depend on relative age in the perennial herb *Leontodon hispidus*. *New Phytol* 162: 683–696. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01071.x>
- Nouvellon Y, Laclau JP, Epron D, Maire GL, Bonnefond JM, Gonçalves JLM, Bouillet JP (2012) Production and carbon allocation in monocultures and mixed-species plantations of *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* in Brazil. *Tree Physiol* 32: 680–695. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps041>
- Novriyanti E, Watanabe M, Makoto K, Takeda T, Hashidoko Y, Koike T (2012) Photosynthetic nitrogen and water use efficiency of acacia and eucalypt seedlings as afforestation species. *Photosynt* 50: 273–281. <https://doi.org/10.1007/s11099-012-0033-7>
- Oikawa S, Matsui Y, Oguro M, Okanishi M, Tanabe R, Tanaka T, Togashi A, Itagaki T (2020) Species-specific nitrogen resorption proficiency in legumes and nonlegumes. *J Plant Res* 133: 639–648. <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01211-1>
- Olbrich BW, Le Roux D, Poulter AG, Bond WJ, Stock WD (1993) Variation in water use efficiency and $\delta^{13}\text{C}$ levels in *Eucalyptus grandis* clones. *J Hydrol* 150: 615–633. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(93\)90128-V](https://doi.org/10.1016/0022-1694(93)90128-V)
- Onoda Y, Hikosaka K, Hirose T (2004) Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency. *Funct Ecol* 18: 419–425. <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00847.x>

- Ouyang Y, Dev S, Grace III JM, Amatya DM, Leininger TD (2022) Simulating Biomass Production and Water Use of Poplars in a Plantation Using a STELLA-Based Model. *Forests* 13: 547. <https://doi.org/10.3390/f13040547>
- Parmar B, Vishwakarma A, Padbhushan R, Kumar A, Kumar R, Kumari R, Kumar Yadav B, Giri SP, Kaviraj M, Kumar U (2022) Hedge and Alder-Based Agroforestry Systems: Potential Interventions to Carbon Sequestration and Better Crop Productivity in Indian Sub-Himalayas. *Front Environ Sci* 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.858948>
- Pauley SS, Perry TO (1954) Ecotypic Variation of the Photoperiodic Response in *Populus*. *J Arnold Arbor* 35: 167–188. <https://doi.org/10.5962/p.185976>
- Pearcy RW, Muraoka H, Valladares F (2005) Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. *New Phytol* 166: 791–800. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01328.x>
- Peaucelle M, Janssens IA, Stocker BD, Descals Ferrando A, Fu YH, Molowny-Horas R, Ciais P, Peñuelas J (2019) Spatial variance of spring phenology in temperate deciduous forests is constrained by background climatic conditions. *Nat Commun* 10: 5388. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13365-1>
- Pelleri F, Ravagni S, Bianchetto E, Bidini C (2013) Comparing growth rate in a mixed plantation (walnut, poplar and nurse trees) with different planting designs: Results from an experimental plantation in Northern Italy. *Ann Silv Res* 37: 13–21. <https://doi.org/10.12899/asr-750>
- Pellis A, Laureysens I, Ceulemans R (2004) Genetic Variation of the Bud and Leaf Phenology of Seventeen Poplar Clones in a Short Rotation Coppice Culture. *Plant Biol* 6: 38–46. <https://doi.org/10.1055/s-2003-44746>
- Pérez CA, Armesto JJ, Torrealba C, Carmona MR (2003) Litterfall dynamics and nitrogen use efficiency in two evergreen temperate rainforests of southern Chile. *Austral Ecology* 28: 591–600. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2003.01315.x>
- Piotto D (2008) A meta-analysis comparing tree growth in monocultures and mixed plantations. *For Ecol Manag* 255: 781–786. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.09.065>
- Pletsers A, Caffarra A, Kelleher CT, Donnelly A (2015) Chilling temperature and photoperiod influence the timing of bud burst in juvenile *Betula pubescens* Ehrh. and *Populus tremula* L. trees. *Ann For Sci* 72: 941–953. <https://doi.org/10.1007/s13595-015-0491-8>
- Powell GW, Bork EW (2004) Competition and facilitation in mixtures of aspen seedlings, alfalfa, and marsh reedgrass. *Can J For Res* 34: 1858–1869. <https://doi.org/10.1139/X04-065>

- Prescott CE (2002) The influence of the forest canopy on nutrient cycling. *Tree Physiol* 22: 1193–1200. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.15-16.1193>
- Pretty J, Sutherland WJ, Ashby J, Auburn J, Baulcombe D, Bell M, Bentley J, Bickersteth S, Brown K, Burke J, Campbell H, Chen K, Crowley E, Crute I, Dobbelaere D, Edwards-Jones G, Funes-Monzote F, Godfray HCJ, Griffon M, Gypmantisiri P, Haddad L, Halavatau S, Herren H, Holderness M, Izac AM, Jones M, Koochafkan P, Lal R, Lang T, McNeely J, Mueller A, Nisbett N, Noble A, Pingali P, Pinto Y, Rabbinge R, Ravindranath NH, Rola A, Roling N, Sage C, Settle W, Sha JM, Shiming L, Simons T, Smith P, Strzepeck K, Swaine H, Terry E, Tomich TP, Toulmin C, Trigo E, Twomlow S, Vis JK, Wilson J, Pilgrim S (2010) The top 100 questions of importance to the future of global agriculture. *Int J Agric Sustain* 8: 219–236. <https://doi.org/10.3763/ijas.2010.0534>
- Pretzsch H, Schütze G, Uhl E (2013) Resistance of European tree species to drought stress in mixed versus pure forests: evidence of stress release by inter-specific facilitation. *Plant Biol* 15: 483–495. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00670.x>
- Pretzsch H (2014) Canopy space filling and tree crown morphology in mixed-species stands compared with monocultures. *For Ecol Manag* 327: 251–264. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.04.027>
- Pretzsch H, Biber P, Uhl E, Dahlhausen J, Rötzer T, Caldentey J, Koike T, van Con T, Chavanne A, Seifert T, Toit B du, Farnden C, Pauleit S (2015a) Crown size and growing space requirement of common tree species in urban centres, parks, and forests. *Urban For Urban Green* 14: 466–479. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2015.04.006>
- Pretzsch H, del Río M, Ammer C, Avdagic A, Barbeito I, Bielak K, Brazaitis G, Coll L, Dirbnerger G, Drössler L, Fabrika M, Forrester DI, Godvod K, Heym M, Hurt V, Kurylyak V, Löf M, Lombardi F, Matović, Mohren F, Motta R, den Ouden J, Pach M, Ponette Q, Schütze G, Schweig J, Skrzyszewski J, Sramek V, Sterba H, Stojanović, Svoboda M, Vanhellemont M, Verheyen K, Wellhausen K, Zlatanov T, Bravo-Oviedo A (2015b) Growth and yield of mixed versus pure stands of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) analysed along a productivity gradient through Europe. *Eur J For Res* 134: 927–947. <https://doi.org/10.1007/s10342-015-0900-4>
- Pretzsch H, del Río M, Schütze G, Ammer Ch, Annighöfer P, Avdagic A, Barbeito I, Bielak K, Brazaitis G, Coll L, Drössler L, Fabrika M, Forrester DI, Kurylyak V, Löf M, Lombardi F, Matović B, Mohren F, Motta R, den Ouden J, Pach M, Ponette Q, Skrzyszewski J, Sramek V, Sterba H, Svoboda M, Verheyen K, Zlatanov T, Bravo-Oviedo A (2016) Mixing of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) enhances structural heterogeneity, and the effect increases with

- water availability. *For Ecol Manag* 373: 149–166. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.04.043>
- Pretzsch H, Forrester DI, Bauhus J (eds.) 2017. *Mixed-Species Forests*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 653p. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-54553-9>
- Prevosto B (2005) Les indices de compétition en foresterie : exemples d'utilisation, intérêts et limites. *Rev For Fr* 5: 413-430. <https://doi.org/10.4267/2042/5062>
- Proe MF, Griffiths JH, Craig J (2002) Effects of spacing, species and coppicing on leaf area, light interception and photosynthesis in short rotation forestry. *Biomass Bioenergy* 23: 315–326. [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00060-0](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00060-0)
- Purves DW, Lichstein JW, Pacala SW (2007) Crown plasticity and competition for canopy space: a new spatially implicit model parameterized for 250 North American tree species. *Plos one* 2: e870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000870>
- R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org/index.html>
- R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.r-project.org/>
- Rao MR, Nair PKR, Ong CK (1998) Biophysical interactions in tropical agroforestry systems, in: Nair PKR, Latt CR (eds.), *Directions in Tropical Agroforestry Research*, Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 3–50. https://doi.org/10.1007/978-94-015-9008-2_1
- Rasheed F, Dreyer E, Richard B, Brignolas F, Montpied P, Thiec DL (2013) Genotype differences in ^{13}C discrimination between atmosphere and leaf matter match differences in transpiration efficiency at leaf and whole-plant levels in hybrid *Populus deltoides* × *nigra*. *Plant Cell Environ* 36: 87–102. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02556.x>
- Reich PB, Oleksyn J (2004) Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 101: 11001–11006. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403588101>
- Reynolds PE, Simpson JA, Thevathasan NV, Gordon AM (2007) Effects of tree competition on corn and soybean photosynthesis, growth, and yield in a temperate tree-based agroforestry intercropping system in southern Ontario, Canada. *Ecol Eng* 29: 362–371. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.09.024>
- Ribeiro G da S, Righi CA (2020) Canopy architecture of an agroforestry system: initial evaluation of a waveform system. *Agroforest Syst* 94: 487–498. <https://doi.org/10.1007/s10457-019-00415-2>

- Rice SK, Westerman B, Federici R (2004) Impacts of the exotic, nitrogen-fixing black locust (*Robinia pseudoacacia*) on nitrogen-cycling in a pine–oak ecosystem. *Plant Ecol* 174: 97–107. <https://doi.org/10.1023/B:VEGE.0000046049.21900.5a>
- Richards AE, Forrester DI, Bauhus J, Scherer-Lorenzen M (2010) The influence of mixed tree plantations on the nutrition of individual species: a review. *Tree Physiol* 30: 1192–1208. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq035>
- Righi CA, Couderc V, Pereira CR, Couto HTZ, Silva LD (2016) Effect of shade on biomass accumulation and partitioning for *Eucalyptus camaldulensis* sprouts. *J Sust For* 35: 75–87. <https://doi.org/10.1080/10549811.2015.1102072>
- Ripullone F, Lauteri M, Grassi G, Borghetti M (2004) Variation in nitrogen supply changes water-use efficiency of *Pseudotsuga menziesii* and *Populus × euroamericana*; a comparison of three approaches to determine water-use efficiency. *Tree Physio* 24: 671–679. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.6.671>
- Rivest D, Cogliastro A, Bradley RL, Olivier A (2010) Intercropping hybrid poplar with soybean increases soil microbial biomass, mineral N supply and tree growth. *Agrofor Syst* 80: 33–40. <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9342-7>
- Robinson DE, Wagner RG, Bell FW, Swanton CJ (2001) Photosynthesis, nitrogen-use efficiency, and water-use efficiency of jack pine seedlings in competition with four boreal forest plant species. *Can J For Res* 31: 2014–2025. <https://doi.org/10.1139/x01-133>
- Rohde A, Storme V, Jorge V, Gaudet M, Vitacolonna N, Fabbrini F, Ruttink T, Zaina G, Marron N, Dillen S, Steenackers M, Sabatti M, Morgante M, Boerjan W, Bastien C (2011) Bud set in poplar – genetic dissection of a complex trait in natural and hybrid populations. *New Phytol* 189: 106–121. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03469.x>
- Rossi S, Anfodillo T, Menardi R (2006) Trephor: A New Tool for Sampling Microcores from tree stems. *IAWA J* 27: 89–97. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000139>
- Russelle MP, Birr AS (2004) Large-Scale Assessment of Symbiotic Dinitrogen Fixation by Crops: Soybean and Alfalfa in the Mississippi River Basin. *Agron J* 96: 1754–1760. <https://doi.org/10.2134/agronj2004.1754>
- Russo RO (2005) Nitrogen-Fixing Trees with Actinorhiza in Forestry and Agroforestry, in: Werner D, Newton WE (eds.), *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment*, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp. 143–171. https://doi.org/10.1007/1-4020-3544-6_8

- Salca EA (2019) Black Alder (*Alnus glutinosa* L.) a Resource for Value-Added Products in Furniture Industry Under European Screening. *Curr For Rep* 5: 41–54. <https://doi.org/10.1007/s40725-019-00086-3>
- Sayyad E, Hosseini S, Mokhtari J, Mahdavi R, Jalali S, Akbarinia M, Tabari M (2006) Comparison of growth, nutrition and soil properties of pure and mixed stands of *Populus deltoides* and *Alnus subcordata*. *Silva Fenn* 40: 350. <https://doi.org/10.14214/sf.350>
- Senf C, Buras A, Zang CS, Rammig A, Seidl R (2020) Excess forest mortality is consistently linked to drought across Europe. *Nature Commun* 11: 6200. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19924-1>
- Seserman DM, Freese D, Swieter A, Langhof M, Veste M (2019) Trade-Off between Energy Wood and Grain Production in Temperate Alley-Cropping Systems: An Empirical and Simulation-Based Derivation of Land Equivalent Ratio. *Agriculture* 9: 147. <https://doi.org/10.3390/agriculture9070147>
- Shults P, Nzokou P, Koc I (2020) Nitrogen contributions of alley cropped *Trifolium pratense* may sustain short rotation woody crop yields on marginal lands. *Nutr Cycl Agroecosyst* 117: 261–272. <https://doi.org/10.1007/s10705-020-10068-8>
- Sigurdsson BD (2001) Elevated [CO₂] and nutrient status modified leaf phenology and growth rhythm of young *Populus trichocarpa* trees in a 3-year field study. *Trees* 15: 403–413. <https://doi.org/10.1007/s004680100121>
- Sirohi C, Dhillon RS, Chavan SB, Handa AK, Balyan P, Bhardwaj KK, Kumari S, Ahlawat KS (2022) Development of poplar-based alley crop system for fodder production and soil improvements in semi-arid tropics. *Agrofor Syst* 96: 731–745. <https://doi.org/10.1007/s10457-022-00735-w>
- Smith J, Pearce BD, Wolfe MS (2012) A European perspective for developing modern multifunctional agroforestry systems for sustainable intensification. *Renew Agric Food Syst* 27: 323–332. <https://doi.org/10.1017/S1742170511000597>
- Stachowicz JJ (2001) Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *BioScience* 51: 235–246. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0235:MFATSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0235:MFATSO]2.0.CO;2)
- Steckel M, Heym M, Wolff B, Reventlow DOJ, Pretzsch H (2019) Transgressive overyielding in mixed compared with monospecific Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and oak (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) stands – Productivity gains increase with annual water supply. *For Ecol Manag* 439: 81–96. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.02.038>

- Stewart JR, Kennedy GJ, Landes RD, Dawson JO (2008) Foliar-Nitrogen and Phosphorus Resorption Patterns Differ among Nitrogen-Fixing and Non fixing Temperate-Deciduous Trees and Shrubs. *Int J Plant Sci* 169: 495–502. <https://doi.org/10.1086/528749>
- Su B, Shangguan Z (2020) Patterns and driving factors of water and nitrogen use efficiency in *Robinia pseudoacacia* L. on the Loess Plateau in China. *CATENA* 195: 104790. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104790>
- Swamy S, Mishra A, Puri S (2006) Comparison of growth, biomass and nutrient distribution in five promising clones of under an agrisilviculture system. *Bioresour Technol* 97: 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.032>
- Swieter A, Langhof M, Lamerre J, Greef JM (2019) Long-term yields of oilseed rape and winter wheat in a short rotation alley cropping agroforestry system. *Agrofor Syst* 93: 1853–1864. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0288-5>
- Taghiyari HR, Efhami D (2011) Diameter Increment Response of *Populus nigra* var. *betulifolia* Induced by Alfalfa. *Austrian J For Sci* 128: 112–127.
- Tanabe R, Miyazawa SI, Kitade O, Oikawa S (2022) Effect of symbiotic N₂ fixation on leaf protein contents, protein degradation and nitrogen resorption during leaf senescence in temperate deciduous woody species. *Oecologia* 200: 79–87. <https://doi.org/10.1007/s00442-022-05264-y>
- Tariq A, Gunina A, Lamersdorf N (2018) Initial changes in soil properties and carbon sequestration potential under monocultures and short-rotation alley coppices with poplar and willow after three years of plantation. *Sci Total Environ* 634: 963–973. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.391>
- Taylor BR, Parsons WFJ, Parkinson D (1989) Decomposition of *Populus tremuloides* leaf litter accelerated by addition of *Alnus crispa* litter. *Can J For Res* 19: 674–679. <https://doi.org/10.1139/x89-104>
- Teissier du Cros E, Jung G, Bariteau M (1984) Alder-Frankia interaction and alder-poplar association for biomass production. *Plant Soil* 78: 235–243. <https://doi.org/10.1007/BF02277854>
- Thevathasan NV, Gordon AM (1995) Moisture and fertility interactions in a potted poplar-barley intercropping. *Agrofor Syst* 29: 275–283. <https://doi.org/10.1007/BF00704874>
- Thevathasan NV, Gordon AM (2004) Ecology of tree intercropping systems in the North temperate region: Experiences from southern Ontario, Canada. *Agrofor Syst* 61: 257–268. <https://doi.org/10.1023/B:AGFO.0000029003.00933.6d>

- Thomas A, Priault P, Piutti S, Dallé E, Marron N (2021) Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations. For Ecol Manag 480: 118672. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118672>
- Thomas A, Marron N, Bonal D, Piutti S, Dallé E, Priault P (2022) Leaf and tree water-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations. Tree Physiol: tpac094. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac094>
- Tilman D (1999). The Ecological Consequences of Changes in Biodiversity : A Search for General Principles. Ecology 80: 1455–1474. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[1455:TECOCI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[1455:TECOCI]2.0.CO;2)
- Toillon J, Fichot R, Dallé E, Berthelot A, Brignolas F, Marron N (2013) Planting density affects growth and water-use efficiency depending on site in *Populus deltoides* × *P. nigra*. For Ecol Manag 304: 345–354. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.05.017>
- Toillon J, Dallé E, Bodineau G, Berthelot A, Bastien JC, Brignolas F, Marron N (2016) Plasticity of yield and nitrogen removal in 56 *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes over two rotations of short-rotation coppice. For Ecol Manag 375: 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.05.023>
- Tradiati Tjitrosemito S, Guhardja E, Sudarsono Qayim I, Leuschner C (2007) Nitrogen Resorption and Nitrogen Use Efficiency in Cacao Agroforestry Systems Managed Differently in Central Sulawesi. HAYATI J Biosci 14: 127–132. <https://doi.org/10.4308/hjb.14.4.127>
- Turok J, Lefevre S, Cagelli L, De Vries S (eds.) (1996) *Populus nigra* network: European Forest genetic resources programme, EUFORGEN ; report of Second meeting ; Casale Monferrato, Italy, 10-12 September 1995. Roma : IPGRI. ISBN: 978-92-9043-272-2.
- Unver O, Bhaduri A, Hoogeveen J (2017) Water-use efficiency and productivity improvements towards a sustainable pathway for meeting future water demand. Water Secur 1: 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.wasec.2017.05.001>
- Van Den Boogaard R, Alewijnse D, Veneklaas EJ, Lambers H (1997) Growth and water-use efficiency of 10 *Triticum aestivum* cultivars at different water availability in relation to allocation of biomass. Plant Cell Environ 20: 200–210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1997.d01-60.x>
- Van de Peer T, Verheyen K, Kint V, Van Cleemput E, Muys B (2017) Plasticity of tree architecture through interspecific and intraspecific competition in a young experimental plantation. For Ecol Manag 385: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.11.015>

- Vanclay JK (2006) Experiment designs to evaluate inter- and intra-specific interactions in mixed plantings of forest trees. For Ecol Manag 233: 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.05.034>
- Vandermeer J (1989) The Ecology of Intercropping. Cambridge University Press, Cambridge, 237 p. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511623523>
- Vergutz L, Manzoni S, Porporato A, Novais RF, Jackson RB (2012) Global resorption efficiencies and concentrations of carbon and nutrients in leaves of terrestrial plants. Ecol Monogr 82: 205–220. <https://doi.org/10.1890/11-0416.1>
- Verlinden MS, Fichot R, Broeckx LS, Vanholme B, Boerjan W, Ceulemans R (2015) Carbon isotope compositions ($\delta^{13}\text{C}$) of leaf, wood and holocellulose differ among genotypes of poplar and between previous land uses in a short-rotation biomass plantation. Plant Cell Environ 38: 144–156. <https://doi.org/10.1111/pce.12383>
- Verryckt LT, Vicca S, Van Langenhove L, Stahl C, Asensio D, Urbina I, Ogaya R, Llusià J, Grau O, Peguero G, Gargallo-Garriga A, Courtois EA, Margalef O, Portillo-Estrada M, Ciais P, Obersteiner M, Fuchslueger L, Lugli LF, Fernandez-Garberí PR, Vallicrosa H, Verlinden M, Ranits C, Vermeir P, Coste S, Verbruggen E, Bréchet L, Sardans J, Chave J, Peñuelas J, Janssens IA (2022) Vertical profiles of leaf photosynthesis and leaf traits and soil nutrients in two tropical rainforests in French Guiana before and after a 3-year nitrogen and phosphorus addition experiment. Earth Syst Sci Data 14: 5–18. <https://doi.org/10.5194/essd-14-5-2022>
- Vico G, Karacic A, Adler A, Richards T, Weih M (2021) Consistent Poplar Clone Ranking Based on Leaf Phenology and Temperature Along a Latitudinal and Climatic Gradient in Northern Europe. Bioenergy Res 14: 445–459. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10249-5>
- Vitasse Y, Lenz A, Körner C (2014) The interaction between freezing tolerance and phenology in temperate deciduous trees. Front Plant Sci 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00541>
- Vitousek PM (1982) Nutrient cycling and nutrient use efficiency. Am Nat 119: 553–572. <http://www.jstor.org/stable/2461143>
- Vogel JG, Gower ST (1998) Carbon and Nitrogen Dynamics of Boreal Jack Pine Stands with and without a Green Alder Understory. Ecosystems 1: 386–400. <http://www.jstor.org/stable/3658921>
- Wang Q, Wang S, Huang Y (2008) Comparisons of litterfall, litter decomposition and nutrient return in a monoculture *Cunninghamia lanceolata* and a mixed stand in southern China. For Ecol Manag 255: 1210–1218. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.10.026>

- Wang X, Guo X, Yu Y, Cui H, Wang R, Guo W (2018) Increased nitrogen supply promoted the growth of non-N-fixing woody legume species but not the growth of N-fixing *Robinia pseudoacacia*. *Sci Rep* 8: 17896. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35972-6>
- Williams LJ, Paquette A, Cavender-Bares J, Messier C, Reich PB (2017) Spatial complementarity in tree crowns explainsoveryielding in species mixtures. *Nat Ecol Evol* 1: 0063. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0063>
- Williams LJ, Butler EE, Cavender-Bares J, Stefanski A, Rice KE, Messier C, Paquette A, Reich PB (2021) Enhanced light interception and light use efficiency explainoveryielding in young tree communities. *Ecol Lett* 24: 996–1006. <https://doi.org/10.1111/ele.13717>
- Yachi S, Loreau M (2007) Does complementary resource use enhance ecosystem functioning? A model of light competition in plant communities. *Ecol Lett* 10: 54–62. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00994.x>
- Yang X, Zhang W, He Q (2019) Effects of intraspecific competition on growth, architecture and biomass allocation of *Quercus Liaotungensis*. *J Plant Interact* 14: 284–294. <https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1629656>
- Yeste A, Blanco JA, Imbert JB, Zozaya-Vela H, Elizalde-Arbilla M (2021) *Pinus sylvestris* L. and *Fagus sylvatica* L. effects on soil and root properties and their interactions in a mixed forest on the Southwestern Pyrenees. *For Ecol Manag* 481: 118726. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118726>
- Zhang Y, Chen HYH, Reich PB (2012) Forest productivity increases with evenness, species richness and trait variation: a global meta-analysis. *J Ecol* 100: 742–749. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01944.x>
- Zhang Y, Tian Y, Ding S, Lv Y, Samjhana W, Fang S (2020) Growth, Carbon Storage, and Optimal Rotation in Poplar Plantations: A Case Study on Clone and Planting Spacing Effects. *Forests* 11: 842. <https://doi.org/10.3390/f11080842>
- Zheng LT, Chen HYH, Yan ER (2019) Tree species diversity promotes litterfall productivity through crown complementarity in subtropical forests. *J Ecol* 107: 1852–1861. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13142>

Annexes

Annexe 1. Productions scientifiques réalisées pendant la thèse

Publications

Thomas A, Priault P, Piutti S, Dallé E, Marron N (2021) Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations. *For Ecol Manag* 480: 118672. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118672>

Thomas A, Marron N, Bonal D, Piutti S, Dallé E, Priault P (2022) Leaf and tree water-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations. *Tree Physiol*: tpac094 <https://doi.org/10.1093/treephys/tpac094>

Thomas A, Priault P, Piutti S, Dallé E, Marron N (*under review*) Crown morphology of *Populus deltoides* × *P. nigra* and *Alnus glutinosa* growing in mixed forestry and agroforestry plantations. *Agrof syst*.

Thomas A, Marron N, Dallé E, Priault P (*soumise*) Phénologie des bourgeons de l'aulne et du peuplier en plantations mélangées forestière et agroforestière. *Revue Forestière Française*.

Thomas A, Marron N, Piutti S, Dallé E, Priault P (*in prep*) Nitrogen-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forestry and agroforestry plantations.

Conférences & Congrès

13 février 2020 : *Séminaire annuel de l'Ecole Doctorale SIRENa* – Présentation orale **Grosjean Anaïs**. Interactions entre espèces en plantations mélangées.

17 mai 2021 : *5th European Agroforestry Conference*, Sardaigne (online event) – Présentation orale **Thomas, A.**, Marron, N., Priault, P., 2021. Do agroforestry practices improve tree performance compared to monoculture? Case study of agroforestry plantations including fast-growing tree species.

29 juin 2021 : *RMT AgroforesterieS Croisons les regards #5* (online) - Présentation orale **Thomas, A.**, Marron, N., Priault, P., 2021. Les pratiques agroforestières intraparcellaires améliorent-elles les performances de croissance des arbres par rapport à une monoculture ? Étude de cas de plantations comprenant des arbres à croissance rapide.

17 juillet 2022 : 5^{ème} Congrès Mondial d'Agroforesterie, Québec – Présentation orale
 Priault, P., **Thomas, A.**, Piutti, S., Dallé, E., Marron, N., 2022. Species interactions dynamics in fast-growing poplar and alder forestry and agroforestry systems: from leaf to tree.

17 juillet 2022 : 5^{ème} Congrès Mondial d'Agroforesterie, Québec – Présentation orale
Thomas, A., Marron, N., Bonal, D., Piutti, S., Dallé, E., Priault, P., 2022. Water-use efficiency of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations.

5 octobre 2022 : IUFRO 8th International Poplar Symposium, Serbie (online event) – Présentation orale.

Thomas, A., Marron, N., Bonal, D., Piutti, S., Dallé, E., Priault, P., 2022. Leaf and tree water-use efficiencies of *Populus deltoides* × *P. nigra* in mixed forest and agroforestry plantations.

Autres

⇒ Communications orales

27 février 2020 : Rencontre Doctorant - Master Université de Lorraine
Grosjean Anaïs. Un doctorat : pourquoi ?

15 décembre 2020 : Séminaire Flash d'équipe ForeSTree – Présentation du projet doctoral

27 janvier 2021 : Comité de pilotage du projet ADEME PotA-GE - Présentation du 1^{er} article de la thèse

16 février 2021 : Séminaire Flash d'équipe ForeSTree – Présentation de la visite virtuelle du dispositif expérimental

7 juin 2021 : Journée d'animation de l'UMR SILVA - Présentation du 1^{er} article de la thèse

26 janvier 2022 : Comité de pilotage du projet ADEME PotA-GE - Présentation du 2^{ème} article de la thèse

27 septembre 2022 : Séminaire Flash d'équipe ForeSTree – Présentation du 2^{ème} article de la thèse

⇒ Visite virtuelle du dispositif expérimental de La Bouzule, en suivant le lien ci-dessous :

<https://view.genial.ly/5fbf5c4812e0f20d064f2f6a/interactive-content-visite-virtuelle-parcelle-experimentale-de-la-bouzule>

Enseignement & Encadrement

⇒ Label Enseignement Supérieur du Doctorat de l'Université de Lorraine

⇒ Service d'enseignement

2019 – 2020 : Université de Lorraine

32 heures d'enseignement en tant que doctorante contractuelle chargée d'enseignement (DCCE) :

- TP Licence 1 - Sciences de la Vie (SVE) : UE « Biologie des spermaphytes »

2020 – 2021 : Université de Lorraine

64 heures d'enseignement (DCCE) :

- TP Master 2 - Agronomie Environnement Territoire Paysage Forêt (AETPF) : UE « Agroforesterie »
- TP Licence 2 - SVE : UE « Botanique »
- TP Licence 2 - SVE : UE « Physiologie végétale »
- TP Licence 1 - SVE : UE « Biologie des spermaphytes »

2021 – 2022 : Université de Lorraine

32 heures d'enseignement (DCCE) :

- TD Master 1 - AETPF : UE « Ecophysiologie »
- TP Licence 1 - SVE : UE « Biologie des spermaphytes »
- TP Master 2 - AETPF : UE « Agroforesterie »

⇒ Encadrement de 3 stagiaires M1 AETPF pendant 8 semaines

- **Camille François** (2020) : Étude des capacités photosynthétiques du peuplier en agroforesterie avec une herbacée fixatrice d'azote, en comparaison avec la monoculture et le mélange forestier avec un arbre fixateur d'azote.
- **Olivia Guinobert** (2021) : Etude de la dormance et du débourrement des bourgeons du peuplier et de l'aulne en monoculture, agroforesterie et en mélange forestier.
- **Rémi Portal** (2022) : Etude du débourrement des bourgeons du peuplier et de l'aulne en monoculture, agroforesterie et en mélange forestier.

Résumé

Les plantations d'espèces à croissance rapide (par exemple les peupliers, les saules, les eucalyptus) sont largement utilisées pour l'approvisionnement en biomasse. Cependant, ces plantations sont souvent des systèmes monospécifiques et sont généralement très consommatrices en ressources. C'est notamment le cas des plantations des espèces appartenant au genre *Populus*, pouvant être cultivées en conditions de culture intensive, qui utilisent des quantités importantes d'eau et d'azote pour produire de grands volumes de biomasse. Dans ce contexte, les plantations mélangées, forestières ou agroforestières, apparaissent comme une alternative intéressante aux monocultures. En effet, elles peuvent produire plus en utilisant plus efficacement les ressources indispensables à la croissance des différentes composantes du mélange en jouant sur la complémentarité entre les espèces. L'introduction d'espèces fixatrices d'azote dans ces mélanges peut également être un atout supplémentaire pour réduire les besoins en intrants azotés de synthèse.

Dans toute plantation, forestière ou agroforestière, les interactions intraspécifiques (individus d'une même espèce) ou interspécifiques (entre individus de deux espèces différentes) peuvent être négatives, positives, ou neutres. À ce jour, les interactions entre espèces qui déterminent si un mélange donné sera plus productif que les monocultures correspondantes sont encore mal comprises et les études de leur impact sur l'efficacité d'utilisation des ressources sont rares. L'objectif général des travaux de thèse a consisté à évaluer l'impact de plusieurs mélanges d'espèces, forestiers et agroforestiers, sur les performances de croissance des arbres à travers les effets sur les déterminants fonctionnels (efficacités d'utilisation des ressources), structuraux (architecture des houppiers) et phénologiques (phénologie printanière et automnale des bourgeons et des feuilles). L'hypothèse principale était que grâce à la fixation symbiotique de l'azote et à une complémentarité entre espèces, les arbres dans les mélanges seraient plus productifs et utiliseraient plus efficacement les ressources qu'en monoculture.

Cet objectif a été poursuivi sur une plantation instrumentée sur le site de La Bouzule (54), installée au printemps 2014, composée de mélanges d'espèces ligneuses (peupliers et aulnes) et herbacées (légumineuses, graminées), ainsi que les monocultures correspondantes. Le fonctionnement de trois types de mélanges comprenant des espèces fixatrices d'azote (peupliers/succession luzerne – trèfle ; peupliers/aulnes ; aulnes/succession céréales – prairie temporaire) a été comparé avec les monocultures des deux espèces ligneuses. L'originalité des travaux réside notamment dans l'alliance de l'étude de processus intervenant aux échelles de l'organe et de l'arbre pour décrire les processus d'interactions entre espèces et les performances globales des différents types de mélanges, par rapport aux monocultures correspondantes.

Les interactions entre espèces dans une plantation ne sont pas statiques mais changent au fur et à mesure que le peuplement se développe. La nature des interactions entre le peuplier et les légumineuses dans la parcelle agroforestière a évolué d'une compétition prédominante, au début de la plantation, vers une facilitation grâce à un enrichissement du sol en azote. Les performances de croissance des peupliers étaient accrues, par rapport à la monoculture, associées à une efficacité d'utilisation de l'eau plus élevée qu'en monoculture ainsi qu'à une réduction de compétition entre les houppiers permettant une meilleure interception de la lumière en agroforesterie. En revanche, une efficacité d'utilisation de l'eau plus élevée des peupliers associés à l'aulne qu'en monoculture n'a pas été associée à de meilleures performances de croissance des deux espèces comparativement à leurs monocultures respectives. Globalement, l'aulne n'était que très peu affecté par les mélanges.

Mots clés : plantations mélangées, agroforesterie, interactions entre espèces, déterminants de la croissance, efficacité d'utilisation des ressources, peuplier

Abstract

Plantations of fast-growing species (e.g. poplars, willows, eucalyptus) are widely used for biomass supply. However, these plantations are often monospecific systems and are generally very resource demanding. This is particularly the case for plantations of species belonging to the *Populus* genus, which can be grown under intensive cultivation conditions, and which use large quantities of water and nitrogen to produce large volumes of biomass. In this context, mixed forest or agroforestry plantations appear as an interesting alternative to monocultures. Indeed, they can produce more by using more efficiently the resources necessary for the growth of the different components of the mixture by playing on the complementarity between the species. The introduction of nitrogen-fixing species in these mixtures can also be an additional asset to reduce the need for synthetic nitrogen inputs.

In any plantation, forest or agroforestry, intraspecific interactions (individuals of the same species) or interspecific interactions (between individuals of two different species) can be negative, positive, or neutral. To date, the interactions between species that determine whether a given mixture will be more productive than the corresponding monocultures are still poorly understood and studies of their impact on resource-use efficiency are scarce. The overall objective of the PhD work was to evaluate the impact of several species mixtures, both forest and agroforestry, on tree growth performance through effects on functional (resource-use efficiencies), structural (crown architecture) and phenological (spring and fall bud and leaf phenology) determinants. The main hypothesis was that thanks to symbiotic nitrogen fixation and complementarity between species, trees in mixtures would be more productive and use resources more efficiently than in monoculture.

This objective was pursued on an instrumented plantation on the La Bouzule site (54), installed in spring 2014, composed of mixtures of woody (poplars and alders) and herbaceous (legumes, graminoids) species, as well as their respective monocultures. The functioning of three types of mixtures including nitrogen-fixing species (poplars/alfalfa - clover succession; poplars/alders; alders/cereal - temporary grassland succession) was compared with monocultures of the two woody species. The originality of the work lies on the combination of the study of processes occurring at the organ and tree scales to describe the interaction processes between species and the overall performance of the different types of mixtures, compared to their respective monocultures.

Species interactions in a plantation are not static but change as the stand develops. The nature of the interactions between poplars and legumes in the agroforestry plot evolved from a predominant competition at the beginning of the plantation to facilitation through soil nitrogen enrichment. The growth performances of the poplars were increased compared to the monoculture, associated with a higher water-use efficiency than in monoculture and a reduction of competition between the canopies allowing a better interception of light in agroforestry. In contrast, higher water-use efficiency of poplars associated with alder than in monoculture was not associated with better growth performances of both species compared to their respective monocultures. Overall, alder was only slightly affected by the mixtures.

Keywords: mixed plantations, agroforestry, species interactions, growth determinants, resource-use efficiencies, poplar