

**ÉCOLE DOCTORALE ENERGIE, MATERIAUX, SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS**

Institut des Sciences de la Terre d'Orléans

THÈSE présentée par :

Fabien LEROY

soutenue le : **1^{er} décembre 2017**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : **Sciences de l'Univers**

**Effets des changements de végétation dans les
tourbières à sphaignes sur le cycle du carbone**

THÈSE dirigée par :

Fatima LAGGOUN

Directrice de Recherche, CNRS, Orléans

RAPPORTEURS :

Isabelle BERTRAND

Directrice de Recherche, INRA de Montpellier

Claire CHENU

Professeur, AgroParisTech

JURY :

Yves COQUET

Professeur, Université d'Orléans

André-Jean FRANCEZ

MCF, HDR, Université de Rennes 1

Daniel GILBERT

Professeur, Université de Franche-Comté

Sébastien GOGO

Physicien-Adjoint CNAP, Université d'Orléans

Philip L. STADDON

Lecturer in Ecology & Envir. Sc., Open University

Table des matières

I. Contexte scientifique et objectifs de la thèse	1
I.1 Les tourbières, un écosystème remarquable.....	2
I.1.1 Place des tourbières dans le monde.....	2
I.1.2 Une végétation caractéristique: les sphaignes.....	3
I.1.3 Les services écosystémiques.....	5
I.1.3.1 Une fonction biologique.....	5
I.1.3.2 Une fonction archéologique.....	5
I.1.3.3 Une fonction culturelle.....	6
I.1.3.4 Une valeur fonctionnelle	Erreur ! Signet non défini.
I.1.4 Les tourbières face aux changements globaux.....	6
I.1.4.1 Le drainage	7
I.1.4.2 L'élévation de la concentration en CO ₂	7
I.1.4.3 Augmentation de la température.....	8
I.1.4.4 Changements des précipitations et du niveau de la nappe d'eau	9
I.1.4.5 Augmentation des dépôts azotés	9
I.2 Les changements de végétation dans les tourbières.....	9
I.2.1 Les facteurs majeurs induisant un changement de végétation.....	9
I.2.2 Conséquences du changement de végétation sur le cycle du C.....	11
I.2.2.1 Effets du changement de végétation sur les sphaignes	11
I.2.2.2 Effets du changement de végétation sur les communautés microbiennes	12
I.2.2.3 Effets du changement de végétation sur les exports de C et le stockage de C	13
I.2.3 Démarche.....	15
References	18
II. Matériels et méthodes	23
II.1 Le site d'étude	24
II.1.1 Tourbière de La Guette	24
II.1.2 Les communautés végétales de la tourbière de La Guette.	25
II.2 Expérimentation 'Mésocosmes'	27
II.2.1 Approches expérimentales	27
II.2.2 Les mesures des flux de gaz à effet de serre (CO ₂ , CH ₄ et N ₂ O)	28
II.2.3 Prélèvement et analyse des échantillons d'eau	31
II.2.4 Analyse élémentaire et stock de C et N	32
References	32

III. Impact des végétaux vasculaires sur la croissance des sphaignes et la décomposition des litières 35

III.1 Effet de l'ombrage et des apports de litières de végétaux vasculaires sur la croissance des sphaignes.....40

III.1.1 Expérimentation en laboratoire40

III.1.1.1 Introduction.....40

III.1.1.2 Materials and methods41

III.1.1.3 Results42

III.1.1.4 Discussion45

References47

III.1.2 Expérience en microcosmes : résultats préliminaires49

III.2 Litter decomposition in peatlands is promoted by mixed plants..... 51

Abstract.....51

III.2.1 Introduction52

III.2.2 Materials and methods.....53

III.2.2.1 Study site and litter sampling53

III.2.2.2 Laboratory experiment.....54

III.2.2.3 Field experiment.....56

III.2.2.4 Statistics57

III.2.3 Results.....57

III.2.3.1 Laboratory experiment.....57

III.2.3.2 Field experiment.....60

III.2.3.3 Catalysis of C dynamics models and β -glucosidase activities62

III.2.4 Discussion.....63

III.2.4.1 Occurrence of a synergistic effect63

III.2.4.2 Role of β -glucosidase in early C dynamics the early decomposition stages.....65

III.2.4.3 Sensitivity of the WEOC compartment.....65

III.2.4.4 Implication in a scenario of vegetation dynamics66

III.2.5 Conclusions66

References67

Supplementary data.....69

IV. Caractérisation moléculaire et dissoutes de la matière organique suite à l'invasion de *Molinia caerulea*..... 71

IV.1 Dynamique des 5-n-alkylresorcinols de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et leur potentiel allélopathique75

IV.1.1 Introduction75

IV.1.2 Matériels & Méthodes.....	76
IV.1.2.1 Récolte et analyse du matériel.....	76
IV.1.2.2 Paramètres environnementaux.....	77
IV.1.2.3 Tests de germination de la molinie	77
IV.1.3 Résultats.....	78
IV.1.3.1 Variation des teneurs des ARs de <i>Molinia caerulea</i>	78
IV.1.3.2 Variation des teneurs des ARs en fonction des paramètres environnementaux	79
IV.1.3.3 Germination des graines de <i>Molinia caerulea</i>	82
IV.1.4 Discussion.....	82
IV.1.4.1 Dynamique des ARs dans les feuilles de <i>Molinia caerulea</i>	82
IV.1.4.2 Activité des ARs dans les plantes.....	83
IV.1.5 Conclusion.....	84
IV.2 Effets des plantes vasculaires sur la composition de la matière organique dissoute des tourbières à sphaignes.....	86
IV.2.1 Introduction	86
IV.2.2 Matériel et méthodes	87
IV.2.2.1 Dispositif expérimental	87
IV.2.2.2 Echantillonnage et analyse.....	87
IV.2.2.3 Analyse de la fluorescence 3D de la MOD.....	88
IV.2.2.4 Statistiques	89
IV.2.3 Résultats.....	89
IV.2.3.1 Carbone organique dissous	89
IV.2.3.2 SUVA et indice de fluorescence.....	92
IV.2.4 Discussion.....	94
1.3. Effet de la <i>Molinia caerulea</i> sur les variations des concentrations de COD	94
1.4. Caractérisation de la MOD	95
IV.2.4.1 Conclusion	96
References	96
V. Bilan de carbone et potentiel de réchauffement climatique d’une tourbière à sphaignes envahie par <i>Molinia caerulea</i>	99
Abstract.....	102
V.1 Introduction.....	103
V.2 Materials and methods.....	104
V.2.1 Experimental design, sampling and methods.....	104
V.2.2 Greenhouse gas measurements	104
V.2.3 Carbon flux modeling.....	105

V.2.3.1	Ecosystem Respiration	105
V.2.3.2	Gross primary production	106
V.2.3.3	CH ₄ emissions	107
V.2.3.4	Greenhouse Gases C Budget and global warming potential	107
V.2.3.5	Statistics and model validation.....	108
V.3	Results.....	108
V.3.1	Environmental conditions	108
V.3.2	Measured GHG fluxes	109
V.3.3	Calibration and validation of the GPP models	110
V.3.4	Calibration and validation of the ER and CH ₄ emissions models.....	112
V.3.5	Greenhouse gases carbon budget and global warming potential.....	115
V.4	Discussion	117
V.4.1	Gaseous C emissions	117
V.4.2	Models evaluation and sensitivities to parameters	117
V.4.3	Annual C fluxes and GGCB	118
	References	120
VI.	Interactions entre changements de végétation et changements globaux	123
VI.1	Vegetation composition controls temperature sensitivity of CO ₂ and CH ₄ emissions and DOC concentration in peatlands	127
Abstract.....		127
VI.1.1	Introduction	128
VI.1.2	Materials and methods.....	129
VI.1.3	Results and discussion	130
References		135
Supplementary material		136
VI.2	Response of C and N cycles to N fertilization in <i>Sphagnum</i> and <i>Molinia</i> -dominated peat mesocosms	137
Abstract.....		137
VI.2.1	Introduction	138
VI.2.2	Materials and methods.....	139
VI.2.2.1	Experimental design	139
VI.2.2.2	Greenhouse gas (GHG) measurements	140
VI.2.2.3	Data analysis and modeling.....	140
VI.2.3	Results	141
VI.2.3.1	C and N fluxes.....	141
VI.2.3.2	C and N stocks	143

VI.2.4 Discussion.....	146
VI.2.4.1 N retention by Sphagnum	146
VI.2.4.2 Effect of <i>Molinia caerulea</i> on the N cycle.....	147
VI.2.5 Conclusions	148
References	149
Supplementary material	151
VII. Conclusions générales	153
VII.1 Synthèse générale.....	154
VII.1.1 Effets des plantes vasculaires sur le système ‘plante-sol’	154
VII.1.2 Implications sur la dynamique du C dans les tourbières à sphaignes	157
VII.2 Perspectives.....	160
References	162
VIII. Annexes	165
Determinism of non-additive litter mixture effect on decomposition: role of the hydric properties of litters.	166
Abstract.....	166
VIII.1.1 Introduction.....	167
VIII.1.2 Materials and methods	168
VIII.1.2.1 Equations.....	168
VIII.1.2.2 Numerical experiments	170
VIII.1.2.3 Calibration	171
VIII.1.2.4 Validation	171
VIII.1.3 Results.....	172
VIII.1.3.1 Numerical experiment.....	172
VIII.1.3.2 Calibration	175
VIII.1.3.3 Validation	176
VIII.1.4 Discussion	176
VIII.1.4.1 Support for the IMC hypothesis and implications	176
VIII.1.4.2 Complementary mechanisms of non-additive effect of mixture on litter decomposition.....	178
VIII.1.5 Conclusion	181
References	181
Supplementary material	184

Liste des figures

Figure I-1 Distribution des tourbières dans le monde (Source: International Peatland Society).....	2
Figure I-2 Influence des bryophytes sur les cycles du carbone et l'azote dans les écosystèmes terrestres, avec un effet positif (+) ou négatif (-) sur les activités microbiennes, les feux et les ruissellements (Turetsky, 2003).	4
Figure I-3 Prédiction des changements de température (a) et de précipitation moyenne (b) d'ici 2081-2100 selon les modèles RCP 2.6 et RCP 8.5 (Stocker et al 2014).	8
Figure I-4 Modifications des habitats par les plantes vasculaires et par <i>Sphagnum</i> spp dans les tourbières (Eppinga et al., 2009).	11
Figure I-5 Influences du réchauffement climatique et du changement de végétation sur les processus de décomposition. Le réchauffement climatique peut avoir un effet direct ou indirect sur la décomposition en impactant la végétation et les communautés microbiennes (Ward et al., 2015)...13	
Figure II-1 Localisation des quatre sites du Service National d'Observation des tourbières	24
Figure II-2 Schéma conceptuel montrant les changements d'apport de litières et la vitesse des cycles de C et N lors de la transition d'une tourbière dominée par des sphaignes à une tourbière dominée par <i>Molinia caerulea</i> (adapté de Ritson, 2015).	26
Figure II-3 Représentation du dispositif expérimental avec chaque mésocosme entouré d'une bâche étanche contenant de l'eau provenant de la tourbière de La Guette.	28
Figure II-4 Dispositif expérimental des mésocosmes et mesures des flux de GES et station météorologique.....	29
Figure II-5 Evolution des concentrations en CO ₂ dans la chambre fermée (a) transparente (pour mesurer l'échange net de l'écosystème), (b) opaque (pour mesurer la respiration).....	30
Figure II-6 Mesures des flux de GES en chambre fermée avec la sonde Vaisala (à gauche) et le SPIRIT (à droite).	30
Figure III-1 Height (a, b) and weight (c, d) of <i>Sphagnum palustre</i> under light and shade conditions with litters (a, c) or extract additions (b, d). Asterisks represent significant results (- p < 0.1, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001).	43
Figure III-2 Height and weight for the additions of litters or litters extract of <i>Betula</i> spp (B. spp), <i>Calluna vulgaris</i> (C. vul), <i>Molinia caerulea</i> (M. cae) and water (C) under light and shade conditions (n=5).....	44
Figure III-3 Carbon (a, b) and Nitrogen content (c) and C/N ratio of <i>Sphagnum palustre</i> under light and shade conditions (a) or litters additions (b, c, d). Letters represent significant results with p < 0.05.	45
Figure III-4 Rayonnement photosynthétiquement actif (RPA) reçu par les sphaignes en pleine lumière, avec un ombrage modéré et ombrage sévère entre le 15 mai et le 10 juillet. Mesures effectuées à 14 h.	49
Figure III-5 Croissance des sphaignes sous les traitements pleine lumière, ombrage modéré et ombrage sévère relevé entre 15 mai et le 10 juillet 2017 à 14 h.	50
Figure III-6 Mean (±SE, n=3) remaining solid C (a), water extractable organic carbon (WEOC) (b) and CO ₂ - C production (c) in single species litter decomposition of <i>Sphagnum fallax</i> (°, S), <i>Pinus</i>	

uncinata (Δ , P) and *Eriophorum vaginatum* ($\diamond$, E) during the laboratory incubation. Lines represent the corresponding fitted curves from the model for each type of litter. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).....57

Figure III-7 Additive ($\blacksquare$) and observed ($\square$) mean ($\pm$ SE, $n=3$) of remaining solid C (i), WEOC (ii) and cumulative CO_2 - C (iii) of *Sphagnum*-*Pinus*-*Eriophorum* (a), *Sphagnum*-*Eriophorum* (b), *Pinus*-*Eriophorum* (c) and *Sphagnum*-*Pinus* (d) litter mixture decomposition during the laboratory incubation. Additive values are the weighed means from the values measured in the decomposition of the single species litter. Lines represent the corresponding fitted curves from the model. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).59

Figure III-8 Mean ($\pm$ SE, $n=12$) remaining mass (a) and CO_2 production (b) of *Sphagnum fallax* ($\circ$, S), *Pinus uncinata* (Δ , P) and *Eriophorum vaginatum* ($\diamond$, E) litter from field litter bags experiment. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).60

Figure III-9 Additive ($\blacksquare$) and observed ($\square$) mean ($\pm$ SE, $n=12$) of remaining litter mass (a) and CO_2 production (b) from litter mixtures of *Sphagnum*-*Pinus*-*Eriophorum* (SPE) during field litter bags experiment. Additive values were calculated as the weighed mean of the values from litter decomposition of single plant species litter. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).61

Figure III-10 Additive ($\blacksquare$) and observed ($\square$) β -glucosidase activities of *Sphagnum*-*Pinus*-*Eriophorum*, *Sphagnum*-*Eriophorum*, *Pinus*-*Eriophorum* and *Sphagnum*-*Pinus* litter mixtures ($\pm$ SD, $n=3$). Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Only values from 0 to 28 days of incubation are given because a contamination occurred for the β -glucosidase activities samples at 51 days.63

Figure III-11 Model of the C flow in the litter decomposition process. Three compartments corresponding to the solid (litter), aqueous (WEOC), and gaseous (cumulative C- CO_2 respired) forms of C are indicated. Solid lines indicate the rates of catalysis and respiration. The L pool flows into the WEOC at the catalysis rate “c” and the WEOC is respired at the rate “r” (adapted from Gogo et al. 2014).69

Figure III-S12 β -glucosidase activities in *Sphagnum* ($\circ$), *Pinus* (Δ) and *Eriophorum* ($\diamond$) litter during the laboratory incubation ($\pm$ SD, $n=3$). Only values from 0 to 28 days of incubation are given because a contamination occurred for the β -glucosidase activities samples at 51 days.70

Figure III-S13 Linear regression between catalysis rates and β -glucosidase activities. Each point represents the β -glucosidase activities measured associated to the catalysis rate obtained for each litter type at a time t. The r^2 was calculated with all litters at the exception of *Sphagnum* ones ($\bullet$).70

Figure IV-1 Variation des teneurs en 5-n-alkylrésorcinols par homologues (code couleur) dans les feuilles de *Molinia caerulea* entre avril et décembre 2014 ($n=4$)78

Figure IV-2 Evolution de la quantité relative des homologues impairs d'ARs en C17, C19, C21, C23 et C25 dans les feuilles de *Molinia caerulea* entre avril et décembre 2014 ($n=4$).79

Figure IV-3 Relation entre la quantité totale d'ARs (a) et d'homologues en C17 (b), C19 (c), C21 (d), C23 (e), C25 (f) et la moyenne du rayonnement photosynthétiquement active du jour précédemment le prélèvement des feuilles de *Molinia caerulea*.81

Figure IV-4 Représentation des matrices d'excitation (λ_{ex}) – émission (λ_{em}) pour le mésocosme à Sphaignes + Molinie (n°3) lors de trois dates de prélèvements. Les deux composés humiques A et C sont indiqués.....	89
Figure IV-5 Concentrations du carbone organique dissout (COD) dans les eaux des piézomètres des mésocosmes à sphaignes et à sphaignes + molinie ($\pm$ SE, N=3) de mai 2015 à juin 2016.....	90
Figure IV-6 Concentration en carbone organique dissout (COD) dans les rhizons à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie (n=3) entre mars 2016 et juin 2016.	91
Figure IV-7 Mesures du SUVA ₂₅₄ , de l'intensité totale de pics, du rapport des pics humiques C/A et de l'indice de l'activité biologique (BIX) dans les rhizons à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie (n=3) entre mars 2016 et juin 2016.....	94
Figure V-1 Measurements of ecosystem respiration (ER; a), gross primary production (GPP, b), net ecosystem exchange (NEE, c) and CH ₄ emissions (d) in <i>Sphagnum</i> and <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to June 2016.....	110
Figure V-2 Dependence of gross primary production (GPP) on irradiance at four dates. The photosynthesis-irradiance curve shows the maximum rate of photosynthesis (GPP _{max}) and the half saturation value (k).....	111
Figure V-3 Linear relationship between the Gross Primary Production maximum (GPP _{max}) calculated with the photosynthesis-irradiance curve and <i>Sphagnum</i> growth (a) and the number of <i>Molinia caerulea</i> leaves (b).....	112
Figure V-4 Calibration and validation of the models by comparison of simulated and measured ecosystem respiration (ER; a and b), gross primary production (GPP, c), and CH ₄ emissions (CH ₄ , d and e) in <i>Sphagnum</i> and <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> plots. The diagonal lines represent the 1:1.	113
Figure V-5 Greenhouse gases carbon budget (GGCB; a) and global warming potential over 100 years (GWP ₁₀₀ ; b) average per day in <i>Sphagnum</i> and <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> plots.....	115
Figure V-6 Modelized greenhouse gases carbon budget (GGCB, gC m ⁻² y ⁻¹) for annual temperature average variation from 9.8 to 13.8°C and WTL fluctuation from 2.5 to -9 cm for <i>Sphagnum</i> (a) and <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> (b) plots.....	116
Figure V-7 Modelized greenhouse gases carbon budget (NEE) with variations of the growing season length (-/+ 60 days) and air temperature (-/+ 2°C) for <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> plots	116
Figure VI-1 Time series of water table level (a), air (b) and soil temperature at 5 (c) and 20 cm (d) in <i>Sphagnum</i> and <i>Molinia</i> plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to April 2016. Data were collected during greenhouse gas emission measurements.	130
Figure VI-2 Exponential relationship between Ecosystem Respiration (a), CH ₄ emissions (b), Dissolved Organic Carbon (c) and soil temperature at 5 cm for <i>Sphagnum</i> plots and at 20 cm for <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> plots	132
Figure VI-S3 Time series of <i>Molinia caerulea</i> cover in <i>Molinia</i> plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to April 2016. Data were collected during greenhouse gas emission measurements.....	136
Figure VI-4 N ₂ O emissions measured in summer (n=19), autumn (n=8), winter (n=5) and spring (n=8) in <i>Sphagnum</i> and <i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i> mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH ₄ NO ₃ addition (n=3).....	142

Figure VI-5 N stocks (gN m^{-2}) and fluxes (black arrow, $\text{gN m}^{-2} \text{y}^{-1}$) in Sphagnum (a) and Sphagnum + Molinia mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$) from July 2015 to June 2016.....	144
Figure VI-6 C stocks (gC m^{-2}) and fluxes (black arrow, $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$) in Sphagnum (a) and Sphagnum + Molinia mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$) from July 2015 to June 2016.....	145
Figure VI-7 C/N ratio per layer in Sphagnum (a) and Sphagnum + Molinia mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$). Significant differences per layer are expressed as $0.05 < -p < 0.1$, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$	146
Figure VI-S8 Time series of N_2O emissions in Sphagnum (a) and Sphagnum + Molinia mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$) from May 2015 to June 2016.	152
Figure VII-1 Actions des plantes vasculaires sur la croissance et la décomposition des sphaignes.	156
Figure VII-2 Bilan des flux de CO_2 et de CH_4 dans une tourbière à <i>Sphagnum rubellum</i> (à gauche) et à <i>Sphagnum rubellum</i> + <i>Molinia caerulea</i>	158
Figure VII-3 Effets des dépôts azotés et d'un changement des communautés végétales sur la dynamique de l'N dans une tourbières à sphaignes. Les flèches en pointillés représentent les hypothèses des processus impliqués dans les changements de flux de N_2O	160
Figure VIII-1: Litter water content (LWC), reaction rate (k) and remaining mass from experiment 1 simulation 1 (A, B, C; Ex1 Sim1) and simulation 2 (C, D, E; Ex1 Sim2). To represent the relationship between the reaction rate and the LWC, equations from Moyano <i>et al.</i> (2013; eqs 2 and 4) and from Bunnell <i>et al.</i> (1977; eq 3) were used in Ex1 Sim1 and Ex1 Sim2, respectively. In A, D the black dot represents the initial LWC of the simulations, which corresponds to the LWC_{max} of each litter, and the length of the arrows is proportional to the evaporation rate.	172
Figure VIII-2: Litter water content (LWC), reaction rate (k) and remaining mass from experiment 2 simulation 1 (A, B, C; Ex2 Sim1), simulation 2 (Fig. C, D, E; Ex2 Sim2) and simulation 3 (F, G, I; Ex2 Sim3). To represent the relationship between the reaction rate and the LWC, equation 3 from Bunnell <i>et al.</i> (1977) was used in all simulations. In Fig. A, D, G, the black dots represent the initial LWC of the simulations, which corresponds to the LWC_{max} of each litter, and the length of the arrows is proportional to the evaporation rate.....	173
Figure VIII-3: Observed (white dots) and calibrated (grey lines) remaining mass for <i>Sphagnum rubellum</i> (A) and <i>Molinia caerulea</i> (B) litter. $R^2 \text{ adj}$ = adjusted R square, NRMSE = normalised root mean square error.	175
Figure VIII-4: A: Remaining mass in mixture measured (white dots), expected from litter decomposing alone (additive, grey triangle), modelled with interaction (full line) and modelled without interaction (dotted-dashed line). B: Modelled decomposition rate for the <i>Sphagnum rubellum</i> (S. rub) litter with (full grey line) and without interaction (dotted-dashed grey line), and modelled decomposition rate for the <i>Molinia caerulea</i> (M. cae) litter with (full black line) and without interaction (dotted-dashed black line). C: proportion (in %) of the observed synergistic effect that could be explained by the model proposed in this study.....	176

Figure VIII-S5: Schematic diagram showing the model relating litter water content to evaporation rate, the reaction rate to the litter water content and the remaining mass to the change of reaction rate with time.....184

Figure VIII-S6: Schematic diagram showing the interaction scenario between two litters with different hydric properties. Litter 1 has a high LWC and a low evaporation rate. Litter 2 has a low LWC and a high evaporation rate. The flows of water are shown when LWC1 is greater than LWC2 and when it is equal.185

Liste des tables

Table III-1 Significant differences obtained with three-way ANOVAs for height, weight, carbon and nitrogen content and C/N ratio of <i>Sphagnum palustre</i> after four culture weeks. Asterisks represent significant results (- $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Only significant interactive effect are shown in this table.....	42
Table III-2 Différences significatives obtenus avec des ANOVAs à deux voies à mesures répétées pour la hauteur de <i>Sphagnum palustre</i> . Les différences significatives sont montrées telles que - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$	50
Table III-3 C content (%), N content (%) and C:N ratio for the <i>Sphagnum</i> (S), <i>Pinus</i> (P), <i>Eriophorum</i> (E), <i>Sphagnum-Pinus</i> (SP), <i>Sphagnum-Eriophorum</i> (SE), <i>Pinus-Eriophorum</i> (PE) and <i>Sphagnum-Pinus-Eriophorum</i> (SPE) litters.....	55
Table III-4 Levels of significance from the post-hoc tests for comparison of <i>Sphagnum-Pinus</i> (SP), <i>Sphagnum-Eriophorum</i> (SE), <i>Pinus-Eriophorum</i> (PE) and <i>Sphagnum-Pinus-Eriophorum</i> (SPE) litter mixture effect (additive vs observed) by incubation time on the remaining solid C, water extractable organic carbon (WEOC) and cumul of CO ₂ - C production during the laboratory experiments. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).	58
Table III-5 Levels of significance from the post-hoc tests for comparison of <i>Sphagnum-Pinus-Eriophorum</i> (SPE) litter mixture effect (additive vs observed) by incubation time on the remaining solid C and CO ₂ production during the field experiments. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).	61
Table III-6 Catalysis rate (mg C gC ⁻¹ d ⁻¹) obtained from the C-fluxes model over time for <i>Sphagnum</i> (S), <i>Pinus</i> (P), <i>Eriophorum</i> (E), <i>Sphagnum-Pinus</i> (SP), <i>Sphagnum-Eriophorum</i> (SE), <i>Pinus-Eriophorum</i> (PE) and <i>Sphagnum-Pinus-Eriophorum</i> (SPE). The model was calibrated with data from the laboratory incubation experiment. Calculate additive rates values are means from the catalysis rates measured in the decomposition of the single species litter.....	62
Table III-S7 Percentage normalized root mean square error (% NRMSE) for the solid (L), dissolved (W), gaseous (G) pools and the sum of them for the <i>Sphagnum</i> (S), <i>Pinus</i> (P), <i>Eriophorum</i> (E), <i>Sphagnum-Pinus</i> (SP), <i>Sphagnum-Eriophorum</i> (SE), <i>Pinus-Eriophorum</i> (PE) and <i>Sphagnum-Pinus - Eriophorum</i> (SPE) models of C dynamics.	69
Table IV-1 Coefficients de détermination entre les teneurs totales des ARs et la moyenne du rayonnement photosynthétiquement actif (PAR), de la température de l'air (Ta) et du sol à 20 cm (Ts), du niveau de la nappe d'eau (WTL) et de la hauteur des feuilles de <i>Molinia caerulea</i> (Nb _{Mc}) des 2h, 12h, un jour (1j) et de la semaine (1sem) précédant la date de prélèvement. Les relations significatives positives ou négatives (test de Pearson) sont exprimées avec +/- $p < 0.05$, respectivement.	80
Table IV-2 Pourcentage de germination des graines de <i>Molinia caerulea</i> avec une température constante à 20°C ou fluctuante entre 25 et 15°C (16/8h) avec et sans stratification et différents solvants.....	82
Table IV-3 Coefficient de détermination (r ²) des régressions linéaires entre concentrations en carbone organique dissous ([DOC]) et température de l'air (Ta) et du sol (Ts) à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie. Les corrélations significatives sont exprimées	

avec $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ représentent respectivement les relations négatives ou positives.....90

Table IV-4 Coefficient de détermination (r^2) des régressions linéaires entre concentration en carbone organique dissous ([COD]) et température de l'air (Ta) et du sol (Ts) à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à sphaignes et à Sphaignes + Molinie. Les corrélations significatives sont exprimées avec $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ représente respectivement les relations négatives et positives.....92

Table IV-5 Moyennes des mesures de carbone organique dissous (COD), azote totale (AT), conductivité, pH, SUVA₂₅₄, HIX, BIX, intensité des pics totaux, des pics humiques A et humique C et du ratio C/A dans les eaux prélevées à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie entre mars 2016 et juin 2016. Les différences significatives de l'ANOVA à trois voies à mesures répétées sont exprimées avec $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ ($n = 3$). Ici, seule l'interaction entre végétation et profondeur est présentée car seule cette interaction montre des différences significatives.....93

Table V-1 Linear regression coefficient of determination (r^2) of Ecosystem Respiration (ER), Gross Primary Production (GPP) and methane emissions (CH₄) with air (Ta) and soil temperature (Ts) at 5 and 20 cm depth, water table level (WTL), photosynthetic active radiation (PAR) and the number of *Molinia caerulea* leaves. The number in bold is the highest determination coefficient for each variable in *Sphagnum* and *Sphagnum + Molinia* plots. Significance levels of correlation are expressed as $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ represents a negative or positive relationship, respectively.105

Table V-2 Mean values of 14 months' measurements of net ecosystem exchange (NEE), gross primary production (GPP), ecosystem respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), photosynthetic active radiation (PAR), water table level (WTL) and air (Ta) and soil temperature (Ts) in *Sphagnum* and *Sphagnum + Molinia* plots. Significant differences of two-way repeated-measure ANOVAs are expressed as $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ ($n = 6$).109

Table V-3 r^2 , normalized root mean square errors (NRMSE) and adjusted model parameters for ecosystem respiration (ER), gross primary production (GPP), net ecosystem exchange (NEE) and CH₄ emissions (CH₄) in *Sphagnum + Molinia* and *Sphagnum* plots.114

Table V-4 Modeled annual gross primary production (GPP; gC m⁻² y⁻¹), ecosystem respiration (ER; gC m⁻² y⁻¹), net ecosystem exchange (NEE; gC m⁻² y⁻¹), CH₄ emissions (CH₄; gC m⁻² y⁻¹), greenhouse gases carbon budget (GGCB; gC m⁻² y⁻¹) and global warming potential over 100 years (GWP₁₀₀; g CO₂ eq m⁻² y⁻¹) in *Sphagnum + Molinia* and *Sphagnum* plots.115

Table VI-1 Mean values of 12 months' measurements of Ecosystem Respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), Dissolved Organic Carbon (DOC), Water Table Level (WTL), photosynthetically active radiation (PAR) and air (Ta) and soil temperature (Ts) in *Sphagnum + Molinia* and *Sphagnum* plots. Significance levels of one way ANOVAs with repeated measured are expressed as $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$ ($n = 6$).131

Table VI-2 Determination coefficient (r^2) of exponential regressions for mean values of 12 months' measurements of Ecosystem Respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), Dissolved Organic Carbon (DOC) with Water Table Level, Air and Soil Temperature at 5 and 20 cm. Bold numbers represent the highest determination coefficient for each variable in *Sphagnum* and *Sphagnum + Molinia* plots.

Significance correlation are expressed as $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ represents a negative or positive relationship, respectively.133

Table VI-3 Mean values of 12 months' measurements of Net Ecosystem Exchange (NEE), Gross Primary Production (GPP), Ecosystem Respiration (ER), CH_4 emissions (CH_4), Dissolved Organic Carbon (DOC), N_2O emissions (N_2O), Dissolved Total Nitrogen (TN), NH_4^+ and NO_3^- content, air temperature (Ta), Water Table Level (WTL), number and height of Molinia leaves in Sphagnum and Sphagnum + Molinia mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition. Significant differences of repeated-measure ANOVAs are expressed as $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$. 141

Table VI-4 C and N content (%) of Sphagnum and Sphagnum + Molinia mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition per depth ($n=3$; $\pm\text{SE}$). Significant differences are expressed as $0.05 < p < 0.1$, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$143

Table VI-S5 Density ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) of Sphagnum and Sphagnum + Molinia mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition per depth ($\pm\text{SE}$, $n=3$). Significant differences of two-way ANOVAs are expressed as $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$151

Table VI-S6 Significant differences in C and N quantity (in gC and $\text{gN m}^{-2} \text{y}^{-1}$) per layer, expressed as $0.05 < p < 0.1$, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$151

Table VIII-1: Values of the parameters used in the numerical experiment (LWC_{max} = maximum litter water content in g of water g^{-1} of dry mass, k_{max} and e in d^{-1} , a , b , c and d in g of water g^{-1} of dry mass; L1 and L2 refer to litter 1 and litter 2 respectively, n.a. = not applicable).174

Table VIII-2: Values of the parameters set (LWC_{max} = maximum litter water content in g of water g^{-1} of dry mass) and obtained (k_{max} and e in d^{-1} , c and d in g of water g^{-1} of dry mass) by fitting the model to the experimental data of the decomposition of Sphagnum rubellum and Molinia caerulea alone.175

I. Contexte scientifique et objectifs de la thèse

I.1 Les tourbières, un écosystème remarquable

I.1.1 Place des tourbières dans le monde

Les **tourbières sont des zones humides** accumulant une quantité importante de matière organique sous forme de tourbe sur une épaisseur d'au moins 30 cm à plusieurs mètres de profondeur (Gorham, 1991). La tourbe est constituée majoritairement de débris végétaux peu décomposés contenant au moins 30% de matière organique (MO; Joosten and Clarke, 2002). Cette accumulation de MO permet le stockage d'une grande quantité de carbone (C). En effet, les tourbières auraient stocké depuis le début de l'Holocène entre 270 et 547 Gt C représentant 15 à 30% du C des sols mondiaux alors que leur superficie ne représente que 3% des terres émergées (Turunen et al., 2002). Cette accumulation de C est possible grâce à un **déséquilibre important entre la production primaire et la décomposition** (e.g. Bragazza et al., 2009). Dans ces milieux, le C est davantage assimilé par la photosynthèse qu'émis lors de la décomposition et ce, malgré une faible production primaire. L'accumulation de la tourbe s'y opère grâce à la faible décomposition de la MO avec une activité réduite des décomposeurs de par (i) les **conditions environnementales particulières** du milieu et (ii) une **végétation caractéristique**.

Une des conditions environnementales majeures déterminant la création d'une tourbière est un bilan hydrique positif avec **des apports d'eau supérieurs à leurs pertes**. Ceci permet de créer et maintenir des conditions anoxiques qui, associées à d'autres facteurs (e.g. oligotrophie, acidité des eaux), limitent la décomposition de la MO. Les conditions climatiques

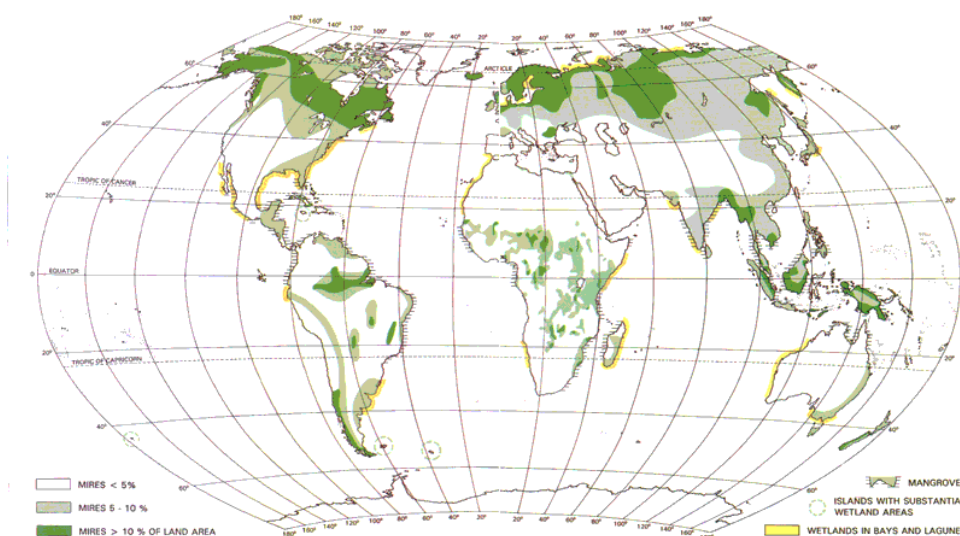


Figure I-1 Distribution des tourbières dans le monde (Source: International Peatland Society)

favorisant cet excédent d'eau conditionnent la répartition mondiale des tourbières. Ainsi, on retrouve plus de 85% des tourbières dans l'hémisphère nord, notamment en haute latitude (Sibérie, pays scandinaves, nord du Canada et Alaska, Fig. I-1) où les conditions humides et froides limitent les pertes par évapotranspiration et la décomposition des débris végétaux. Les surfaces sous climat tropical sont également le lieu de formation de tourbières grâce aux fortes précipitations permettant un bilan hydrique positif et ce, malgré les températures élevées.

Basée sur une production primaire supérieure à la décomposition, la formation des tourbières se met en place par l'un des deux processus suivants:

- **l'atterrissement**, avec le remplissage progressif d'une cuvette d'eau (lacs, étangs ou mares) par des sédiments organiques remplacés au fur et à mesure par l'accumulation de débris organiques de végétaux autochtones
- **la paludification**, se met en place dans des zones à forte humidité permettant l'accumulation de matière organique et le passage progressif de prairies, plaines alluviales ou forêts en tourbières.

La nature des différents apports en eau par le ruissellement, les nappes ou les précipitations permet de différencier deux grands types de tourbières:

- Les tourbières **ombrotrophes** qui sont alimentées par les eaux de pluie, sont pauvres en éléments nutritifs avec un pH acide et une végétation composée majoritairement de sphaignes
- Les tourbières **minérotrophes** qui sont alimentées par les eaux de ruissellement sont plus riches en éléments nutritifs avec une végétation constituée davantage d'herbacées et d'arbres.

D'autres classes de tourbières peuvent ensuite être déterminées selon différentes caractéristiques du milieu tels le pH, la disponibilité en nutriments, la teneur en eau du sol ou encore les communautés végétales. Alors que le climat et l'hydrologie jouent un rôle important dans la naissance et le développement des tourbières, la végétation, facteur indissociable des deux premiers, joue un rôle essentiel dans le bilan entre production végétale et décomposition de la MO.

I.1.2 Une végétation caractéristique: les sphaignes

La végétation des tourbières est généralement répartie en 4 types de communautés végétales (Rydin et Jeglum, 2013):

- **Les arbres**, en faible densité dans les tourbières boréales et tempérées, sont représentés majoritairement par les pinacées (*Pinus spp*, *Larix spp* et *Picea spp*) et les bétulacées (*Betula spp* et *Alnus spp*)
- **Les arbustes**, présents dans de nombreuses tourbières, regroupent majoritairement des éricacées (e.g. *Erica tetralix* et *Calluna vulgaris*)
- **Les graminoides**, regroupant les poacées (telle que la molinie bleue) et des plantes à morphologie similaire tels que les familles des juncacées et des cypéracées (comprenant les laiches - *Carex spp* - et les linaigrettes – *Eriophorum spp*)
- **Les bryophytes**, dominantes dans de nombreuses tourbières boréales et tempérées, le genre *Sphagnum* est une mousse qui joue un rôle déterminant dans l'édification d'une tourbière.

En grande majorité, la tourbe des hautes latitudes est issue de la décomposition des bryophytes, essentiellement des sphaignes (Turetsky, 2003). De par leur morphologie, leur anatomie, leur physiologie et leur composition, **les sphaignes** promeuvent les conditions humides et contrôlent les caractéristiques physico-chimiques des eaux (acidité, anoxie, oligotrophie). Ces conditions sont justement celles qui favorisent la croissance des sphaignes. Ces mousses sont donc de **véritables espèces ingénieurs des tourbières** (van Breemen, 1995) capables de créer les conditions favorables à leurs propres croissances et par là même entrainer

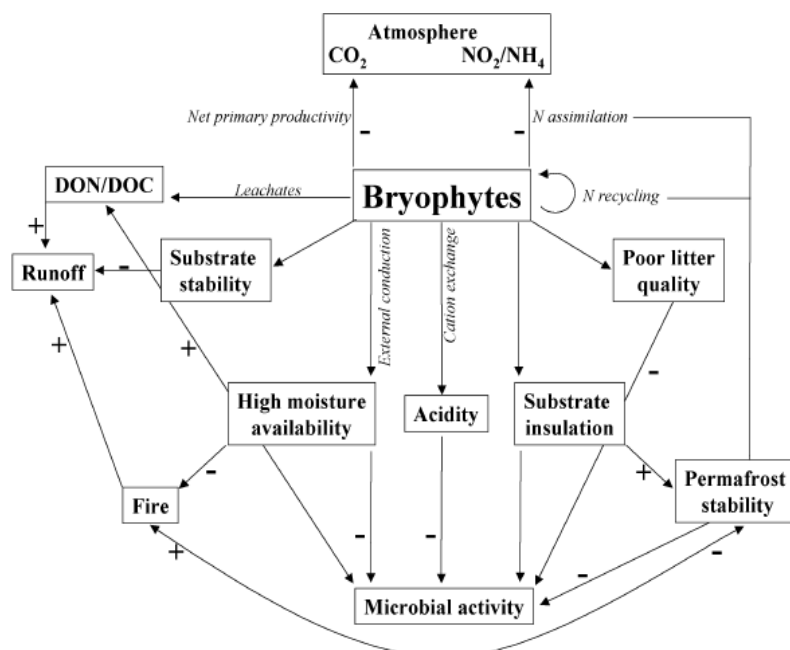


Figure I-2 Influence des bryophytes sur les cycles du carbone et l'azote dans les écosystèmes terrestres, avec un effet positif (+) ou négatif (-) sur les activités microbiennes, les feux et les ruissellements (Turetsky, 2003).

l'accumulation de la tourbe. A cela s'ajoute la capacité des sphaignes, et plus généralement des bryophytes, à réduire la disponibilité de l'azote pour les plantes vasculaires et les microbes, à avoir une matière organique récalcitrante et à produire des composés antimicrobiens (Jassey et al., 2013). Ces conditions réduisent l'activité microbienne (Turetsky, 2003, Fig. I-2), et **permettent l'accumulation de C à l'échelle globale.** Il en résulte que les sphaignes auraient permis l'établissement de la moitié des tourbières nordiques et le stockage de plus de 150 Gt de C (Rydin et al., 2013).

I.1.3 Les services écosystémiques

Outre leur capacité à stocker une grande quantité de C, les tourbières possèdent de nombreux intérêts bénéfiques pour les sociétés humaines qu'il convient de bien identifier afin de procéder à la gestion conservatoire de ces espaces naturelles et/ou à la restauration de leurs fonctions.

I.1.3.1 Services biologiques

La diversité biologique ou biodiversité peut se définir à plusieurs échelles: au niveau de l'écosystème (diversité écosystémique), au niveau des espèces (diversité interspécifique) et au sein d'une même espèce (diversité intraspécifique). Les tourbières jouent un rôle important dans le maintien de la biodiversité sur tous ces niveaux de par les différentes classes de tourbières et leur forte hétérogénéité spatiale (diversité écosystémique), de par leurs nombreuses espèces spécialisées dont de nombreuses espèces rares, reliques ou menacées (diversité interspécifique) et de la variabilité phénotypique et génotypique d'une même espèce (diversité intraspécifique, Minayeva and Sirin, 2012)

I.1.3.2 Services archéologiques

Les tourbières sont des sources d'informations de leur environnement passé. Les dépôts de tourbe conservent les restes de plantes (e.g. grains de pollen) et d'animaux vivant au sein de la tourbière permettant l'archivage d'informations environnementales et climatiques mais aussi des activités anthropiques passées (Parish et al., 2008). Un des exemples les plus connus de préservation par les tourbières est l'homme de Tollund, parfaitement conservé durant 2300 ans qui a été découvert dans une tourbière au Danemark en 1950.

I.1.3.3 Services culturels

Les sociétés humaines sont connectées depuis longtemps aux tourbières à des fins de collectes (plantes, chasse, pêche). Cette exploitation est maintenant limitée et laisse désormais place à des valeurs culturelles, esthétiques, récréatives et éducatives. En effet, les paysages particuliers des tourbières, provenant de sa végétation peu ordinaire, sont souvent aménagés de chemin de promenade pour les touristes et offrent un cadre privilégié pour les enseignements des sciences environnementales, du primaire à l'université.

I.1.3.4 Services de regulation et d'approvisionnement

Comme évoqué précédemment, les tourbières jouent un rôle important sur le climat mondial par leur fonction de puits de C mais aussi localement en **régulant des conditions climatiques** notamment en maintenant une humidité élevée et des températures basses du milieu. S'y ajoute un **rôle important sur l'hydrologie** en atténuant les sécheresses et les inondations, purifiant l'eau en éliminant les polluants. Grâce à leur capacité de stockage en eau, les tourbières jouent un rôle important dans le maintien et l'approvisionnement en eau potable (e.g. Parish et al., 2008),

La capacité des tourbières à stocker le C est grandement dépendante de la synergie entre le climat, l'hydrologie et la végétation. Cependant, les tourbières vont être affectées par les changements globaux et peuvent avoir d'importantes rétroactions sur le climat selon la réponse des échanges de gaz à effet de serre entre l'atmosphère et les tourbières (e.g. Limpens et al., 2008).

I.1.4 Les tourbières face aux changements globaux

Malgré les services fournis, la moitié de la surface des tourbières a disparu en Europe, soit plus 300 000 km² (Joosten and Clark, 2002). Parmi les tourbières restantes, nombreuses ont été dégradées par l'Homme pour permettre leurs mises en culture et n'accumulent plus de tourbe. A cela, s'ajoute les effets des changements climatiques pouvant affecter le fonctionnement des tourbières et leur fonction de stock de C. Ainsi, alors que le climat dépend de la quantité et de la qualité du C dans l'atmosphère, la fonction puits de C des tourbières est importante pour la régulation de celui-ci mais peut être altérée par de nombreuses perturbations dont :

I.1.4.1 Le drainage

Alors que l'utilisation des tourbières par l'homme a toujours eu lieu, leur forte dégradation commence au 17^{ème} siècle lorsque celles-ci sont vues comme des terres à conquérir notamment pour l'agriculture. Aujourd'hui, la mise en culture (en foresterie ou pour l'agriculture) est la principale cause de perte de tourbières (99.8%) avec l'extraction de la tourbe qui est désormais mineure (0.2% ; Joosten and Clarke 2002). La mise en culture des tourbières est généralement accompagnée d'un drainage pour permettre une meilleure aération du sol et le développement de nouvelles communautés végétales. Ces changements induisent des modifications de paramètres physiques (telle que la densité ou la conductivité thermique), chimiques (avec de nouveaux composés biochimiques et de nouvelles enzymes) et biologiques (avec des changements de végétation, de micro et mésofaune). Ces transformations modifient souvent le taux de décomposition de la MO (et donc l'accumulation de la tourbe) et les émissions des principaux gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 et N_2O). Alors que l'abaissement du niveau de la nappe par le drainage diminue les émissions de CH_4 , cela induit une augmentation des émissions de CO_2 et N_2O (Strack, 2008). Il en résulte que la culture sur les sols tourbeux est responsable de 32% des émissions globales des cultures et ceux malgré une production ne représentant que 1.1% des calories issues des cultures (Carlson et al., 2016).

I.1.4.2 L'élévation de la concentration en CO_2

Les plantes utilisent le CO_2 pour la photosynthèse. Une augmentation de la concentration atmosphérique de CO_2 pourrait stimuler son assimilation par photosynthèse et ainsi la fonction puits de carbone des écosystèmes. Cependant, la croissance des sphaignes ne semble pas être favorisée par l'augmentation des concentrations en CO_2 (e.g. Berendse et al., 2001). Au contraire, cette augmentation peut défavoriser la croissance des sphaignes au profit des plantes vasculaires (Fenner et al., 2007).

La réponse des plantes à des concentrations plus élevées en CO_2 conduit à une modification des processus microbiens et une augmentation des émissions de CH_4 et CO_2 avec des apports de carbone labile, via les exsudats racinaires, plus importants (Freeman et al., 2009). Néanmoins, l'effet direct de l'augmentation de la concentration en CO_2 semble moins important que celui de l'élévation de la température, des changements d'humidité ou encore de l'augmentation des dépôts azotés (Rydin et Jeglum, 2013).

I.1.4.3 Augmentation de la température

Les prédictions d'augmentation de la température moyenne de l'air indiquent que celle-ci serait plus importante sous les hautes latitudes de l'hémisphère nord (Fig. I-3, Stocker et al., 2014), précisément là où se trouvent la majorité des tourbières. Cette augmentation va avoir de multiples effets interagissant entre eux : effets sur l'hydrologie, la période de végétation, les limites de répartitions des plantes. L'effet du réchauffement climatique aurait un effet positif sur l'assimilation, la dégradation et les émissions de carbone conduisant à une accélération du cycle du carbone au sein des écosystèmes. Alors que des saisons de végétation plus longues et une augmentation des températures pourraient favoriser l'absorption du CO₂ par les tourbières (Griffis et al., 2000), cela implique également de plus fortes émissions de CO₂ causées par la stimulation des activités cataboliques (e.g. respiration). Les effets sur le CH₄ sont plus variables avec des plus fortes émissions liées à une plus forte décomposition des litières et aux surplus de substrat émis par les racines mais aussi une diminution des émissions liée à une baisse du niveau d'eau limitant la production tout en favorisant l'oxydation de celui-ci.

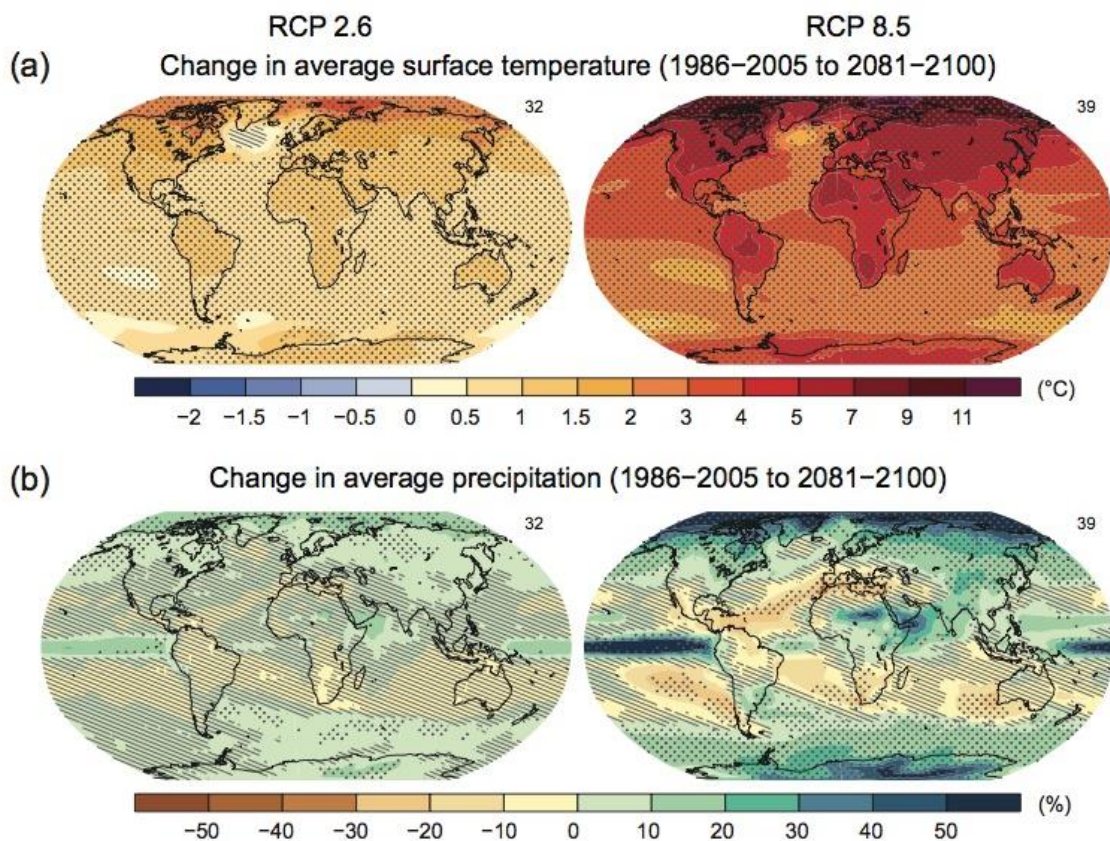


Figure I-3 Prédictions des changements de température (a) et de précipitation moyenne (b) d'ici 2081-2100 selon les modèles RCP 2.6 et RCP 8.5 (Stocker et al 2014).

I.1.4.4 Changements des précipitations et du niveau de la nappe d'eau

Les changements climatiques impliquent également une augmentation des précipitations dans les hautes latitudes et une diminution de celles-ci aux tropiques (Fig. I-3). Les baisses de niveau d'eau dans le sol sont généralement associées à une plus grande oxydation de la tourbe menant à une augmentation de la décomposition de la MO et de la respiration mais aussi à une diminution des émissions de CH₄. Au contraire, des conditions plus humides induisent de plus fortes émissions de CH₄ et réduisent celles de CO₂ (e.g Waddington et al., 1996). Les teneurs en eau du sol jouent également un rôle important sur la production primaire notamment durant la saison de végétation (Lafleur et al., 2003). Une augmentation des précipitations dans les tourbières tempérées pourrait compenser l'évaporation causée par l'augmentation des températures de 2°C (Gong et al., 2012). Cependant pour les tourbières tropicales, l'augmentation de l'évapotranspiration serait associée à une baisse des précipitations et donc une baisse de la nappe d'eau et une augmentation des émissions de carbone des tourbières.

I.1.4.5 Augmentation des dépôts azotés

Les tourbières sont généralement des milieux pauvres en éléments nutritifs. L'apport d'azote, via les dépôts atmosphériques, le ruissellement des eaux ou l'action directe d'une fertilisation, pourrait déséquilibrer les processus au sein des tourbières et augmenter la respiration et les pertes de carbone (Bragazza et al., 2012). Cependant, l'effet le plus rapporté lors d'apports azotés est une modification des communautés végétales avec une augmentation des plantes vasculaires (graminées, arbustes et/ou des arbres) et un déclin des sphaignes (Berendse et al., 2001).

Ces modifications environnementales vont avoir des effets indirects sur le fonctionnement des tourbières qui peuvent avoir des effets plus importants sur le cycle du C que les perturbations déjà citées tels qu'une intensification des feux dans les tourbières augmentant les émissions de C (Turetsky et al., 2011), une dégradation du permafrost ou encore une modification des communautés végétales au sein des tourbières.

I.2 Les changements de végétation dans les tourbières

I.2.1 Les facteurs majeurs induisant un changement de végétation

La combinaison des changements globaux peut induire un changement de végétation au sein des tourbières avec une augmentation des plantes vasculaires, surtout des graminoides et

des éricacées, et ce, au détriment des sphaignes (Brewer et al., 2008; Buttler et al., 2015; Dieleman et al., 2015). Ces modifications environnementales donnent un avantage compétitif aux plantes vasculaires et diminuent le recouvrement des bryophytes (Myers-Smith et al., 2011; Pearson et al., 2013) notamment de par:

- **L'élévation des températures**, identifiée parmi les principaux facteurs aboutissant à un passage d'une tourbière dominée par des sphaignes à celle dominée par des plantes vasculaires (Dieleman et al., 2015). L'augmentation des températures diminue les avantages compétitifs des sphaignes et permet la colonisation des plantes vasculaires, notamment des graminées. Même si la productivité des sphaignes augmente avec l'augmentation des températures avec un optimum de photosynthèse autour de 20-25°C (Breeuwer et al., 2008), l'élévation des températures tout comme l'augmentation des concentrations en CO₂ atmosphérique sont des conditions favorables pour l'expansion des plantes vasculaires dans les tourbières en surpassant les effets inhibiteurs du milieu tels que les pH acides (Dieleman et al., 2015).

- **L'augmentation des concentrations en CO₂** semble avoir des effets différents sur chaque espèce végétale avec une diminution, une stagnation ou une augmentation de la croissance des sphaignes et des plantes vasculaires mais pouvant avoir des effets synergiques avec l'augmentation des températures menant à une diminution du recouvrement des sphaignes au profit des plantes vasculaires (Heijmans et al., 2002; Fenner et al., 2007).

- **La baisse du niveau d'eau**, pouvant être associé à des élévations de températures ou un drainage des tourbières, cette baisse favorise l'oxygénation du sol tourbeux. Cette aération de la tourbe permet un meilleur développement de plantes vasculaires tel que les pins (Frelechoux et al., 2000). Les changements globaux qui affectent la disponibilité en eau sont considérés comme les facteurs les plus importants altérant la végétation dans les tourbières dans les régions tempérées et boréales avec l'augmentation de température et les dépôts azotés (e.g. Limpens et al., 2008).

- **L'augmentation des dépôts azotés**. Bien que les sphaignes captent la majorité des apports azotés atmosphériques et réduisent sa disponibilité pour les plantes vasculaires (Berendse et al., 2001), celles-ci vont atteindre une teneur maximale si les apports d'azote restent élevés. L'azote peut ainsi s'infiltrer dans le sol et être disponible pour les plantes vasculaires ce qui favorisera leur croissance (Berendse et al., 2001).

Par conséquent, ces changements environnementaux pris indépendamment ou en interaction peuvent modifier la composition et l'abondance des communautés végétales au sein des tourbières en promouvant les plantes vasculaires et réduisant la couverture des sphaignes. Ces changements de végétation vont avoir des rétroactions sur leur environnement en altérant la disponibilité en nutriment, le niveau d'eau ou encore la quantité de lumière disponible pour les sphaignes (Fig. I-4). Ainsi, alors que la dominance des sphaignes est un élément clé pour les tourbières et leur fonction de puits de carbone (Fig. I-4), de telles modifications du couvert végétal pourraient avoir des effets importants sur le stock du carbone dans ces écosystèmes et de fortes rétroactions sur les changements climatiques.

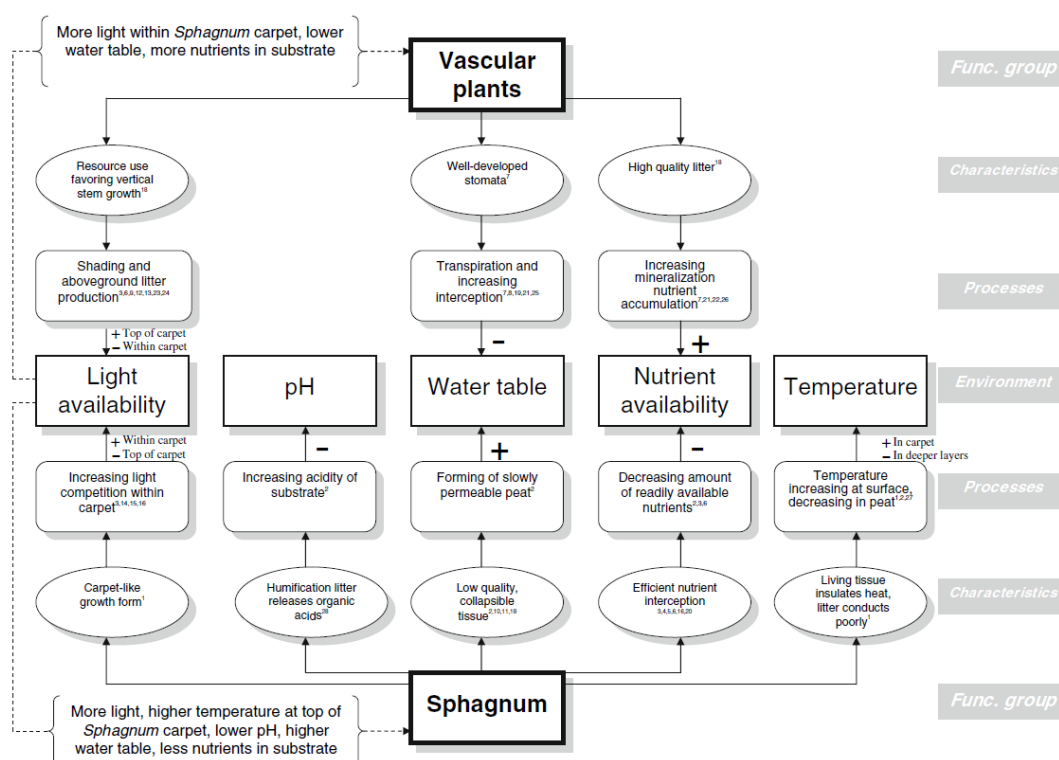


Figure I-4 Modifications des habitats par les plantes vasculaires et par *Sphagnum* spp dans les tourbières (Eppinga et al., 2009).

I.2.2 Conséquences du changement de végétation sur le cycle du C

I.2.2.1 Effets du changement de végétation sur les sphaignes

Les plantes vasculaires et les sphaignes cohabitent au sein des tourbières. Les sphaignes ont la capacité de réduire la présence de nombreuses espèces de plantes vasculaires tels que *Betula nana* (Hobbie et al. 1999) ou encore *Eriophorum angustifolium* (Heijmans et al. 2002) en acidifiant le milieu ou encore en séquestrant une grande quantité de nutriments grâce à leur

forte capacité d'échanges cationiques. Les sphaignes agissent comme des ingénieurs écologiques structurant les communautés végétales des tourbières et jouent ainsi un rôle important dans la dynamique du carbone. La présence des plantes vasculaires en faible densité (avec un recouvrement inférieur à 60%) peut faciliter la croissance des sphaignes en gardant des conditions microenvironnementales stables, en limitant des stress environnementaux liés notamment aux sécheresses et en fournissant un support physique sur lequel les sphaignes peuvent pousser. La présence des plantes vasculaires réduit généralement la quantité de lumière reçue par les sphaignes, ce qui semble être bénéfique à leur croissance lorsque l'interception lumineuse ne dépasse pas 50 à 60 % (Malmer et al., 2003; Bonnet et al., 2010). En effet, les sphaignes sont généralement adaptées aux conditions d'ombrage (Ma et al., 2015) avec un point de saturation de photosynthèse généralement bas ($\sim 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Marschall and Proctor 2004). A cela s'ajoute, la capacité des sphaignes à s'acclimater à l'ombrage en relocalisant leur capacité photosynthétique dans les parties supérieures (Zona et al 2011) par une augmentation de leur concentration en chlorophylle (Bonnett et al., 2010) améliorant ainsi leur croissance en hauteur. Néanmoins, la lumière peut être une ressource limitante pour la photosynthèse des sphaignes dès lors que le recouvrement par les plantes vasculaires devient trop important, avec une interception lumineuse supérieure à 60% (Malmer et al., 2003). L'effet d'ombrage diminue alors la production de biomasse et conduit à l'étiolation des sphaignes (Bonnett et al., 2010). L'ombrage est également généré par les litières des plantes vasculaires se déposant sur les sphaignes et empêchant les rayonnements lumineux d'atteindre les sphaignes.

I.2.2.2 Effets du changement de végétation sur les communautés microbiennes

La composition chimique des litières (e.g. concentrations en C, N, teneurs en composés biochimiques...) varie selon les espèces végétales considérées (Dorrepaal et al., 2005). Les différences de structure entre litières, les rendent plus ou moins décomposables, modifient l'activité des communautés microbiennes et le taux de décomposition de la MO. Des litières produites par des graminées se décomposent trois à quatre fois plus rapidement que celle des bryophytes (Cornwell et al., 2008). En conséquence, des tourbières dominées par des sphaignes ont un taux d'accumulation de C plus rapide que celles dominées par des végétaux vasculaires (Gorham, 1991). Ainsi, les différentes espèces végétales peuvent conditionner la structure et l'activité des communautés microbiennes du sol via des différences de qualité de substrats liés à la composition de leurs litières mais aussi de par les exsudats racinaires des plantes vasculaires (Aerts et al 2009). Tout comme les litières, la composition chimique des exsudats racinaires et leurs quantités ont montré des différences selon les espèces végétales (Crow and Wieder et al.,

2005). L'exsudation racinaire est une source importante de substrats pour les microorganismes. Ces intrants permettent la sélection des certains groupes de microorganismes fongiques ou bactériens pouvant être bénéfiques pour les plantes. Ce mécanisme permet aux plantes de mettre en place des associations mycorrhiziennes ou encore d'accélérer la décomposition de la MO afin d'acquérir davantage de nutriments généralement limitants. Ces exsudats racinaires augmentent l'activité microbienne et peut, dans un même temps, stimuler les pertes en C par minéralisation via la décomposition de ces composées mais aussi en augmentant la décomposition de la MO récalcitrante, ce qui est nommé le 'priming effect' (Kuziyakov et al., 2000). *In fine*, l'influence de la composition des litières et des exsudats racinaires sur la structure et les activités des communautés microbiennes est une composante essentielle de la décomposition de la MO des sols permettant la régulation des flux de GES et le stockage du C dans les tourbières (Fig. I-4 ; Ward et al 2015).

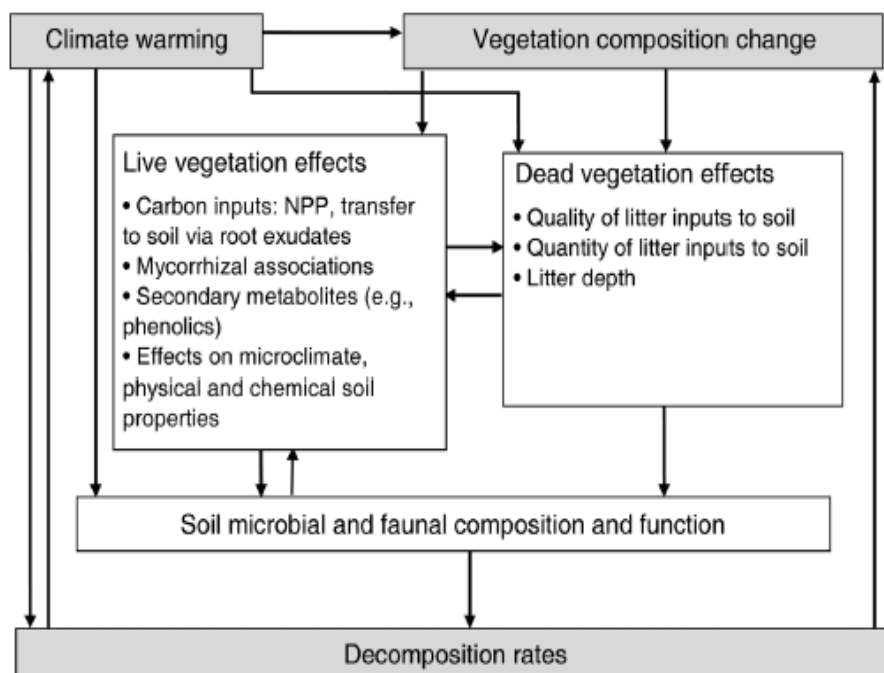


Figure I-5 Influences du réchauffement climatique et du changement de végétation sur les processus de décomposition. Le réchauffement climatique peut avoir un effet direct ou indirect sur la décomposition en impactant la végétation et les communautés microbiennes (Ward et al., 2015).

I.2.2.3 Effets du changement de végétation sur les exports de C et le stockage de C

La capacité de stockage de C des tourbières repose sur le déséquilibre entre le C entrant via la photosynthèse (production primaire) et le C sortant via la décomposition. Les différentes communautés végétales possèdent chacune des traits fonctionnels spécifiques influençant la

production primaire au sein des écosystèmes. Une plus forte absorption de CO₂ est généralement mesurée dans des tourbières arborées ou couvertes par des graminoides en comparaison de celles couvertes par des arbustes ou des bryophytes (Ward et al., 2013). Cependant, ces différences de quantité, mais aussi de ‘qualité’, du C entrant affectent les processus de décomposition du système (abordées précédemment). Les produits de la photosynthèse sont la principale source des exudats racinaires et la libération de ce C labile par les racines peut fortement stimuler l’activité microbienne, ce qui conduit à une augmentation des émissions de CO₂ et de CH₄ (Crow and Wieder 2005 ; Ward et al., 2013) et des exports de C sous forme dissoute (De Deyn et al., 2008). Ces émissions de GES plus élevées peuvent aussi être imputées à la structure écophysologique des végétaux vasculaires (aérenchymes), permettant l’oxygénation des racines en conditions humides et le transport du CH₄ vers l’atmosphère (Greenup et al., 2000).

Il en résulte que l’augmentation des exports de C gazeux et dissous pourrait conduire à des pertes de C plus importantes que le gain obtenu par la plus grande productivité primaire des plantes vasculaires, et ce par une augmentation de la décomposition de la MO déjà stockée sous forme de tourbe (Hartley et al., 2012). La libération du C déjà stocké sous forme de tourbe semble dépendante des communautés végétales. Cette libération se produit en présence des graminoides et d’arbustes (lors d’une augmentation de la température de 1°C) alors que cet effet n’est pas observé lorsque seuls des bryophytes sont présentes (Walker et al., 2015). Ainsi, les changements des communautés végétales jouent donc un rôle important sur la dynamique du C dans les tourbières, qui pourraient être même plus importants qu’une élévation modérée des températures (Ward et al., 2015). La dégradation de ce pool de C ‘stable’ pourrait créer une rétroaction positive sur le changement climatique ce qui montre la nécessité de considérer les impacts des changements des communautés végétales, une des conséquences des changements globaux (Walker et al., 2016).

Ainsi, il est désormais admis que l’une des conséquences majeures du changement global est le changement du couvert végétal dans les écosystèmes terrestres et plus particulièrement dans les tourbières (e.g. Limpens et al 2008 ; Wardle et al., 2004). Cependant, Il existe de grandes incertitudes quant la nature et l’ampleur des interactions induites par les plantes vasculaires sur les végétaux et le sol et la dynamique du C dans les tourbières. Ainsi, l’objectif majeur de ma thèse est d’**identifier comment les nouvelles interactions mises en place par les plantes vasculaires affectent le cycle du carbone des tourbières à sphaignes.**

I.2.3 Démarche

La démarche adoptée pour répondre à cet objectif repose sur une approche multiéchelle menée pour étudier différents processus spécifiques pouvant altérer le bilan de C des tourbières à sphaignes envahies par des plantes vasculaires. Pour cela, différentes hypothèses relatives aux mécanismes écologiques ont été formulées en 4 questions majeures structurant les chapitres du manuscrit de thèse:

Comment les plantes vasculaires vont affecter

- 1) La croissance et la décomposition des sphaignes ? (Chapitre III)**
- 2) La composition chimique de la MO aérienne et souterraine ? (Chapitre IV)**
- 3) Le bilan de C des tourbières à sphaignes ? (Chapitre V)**
- 4) La réponse des flux de C face aux changements globaux ? (Chapitre VI)**

Chacune de ces questions amènent des hypothèses qui sont abordées au sein de leur chapitre respectif.

Chapitre III

Ce chapitre, divisé en deux parties, s'intéresse à l'effet des plantes vasculaires sur les processus de production de sphaignes et de décomposition des litières.

La première partie porte sur les effets d'une interception lumineuse par les plantes vasculaires et de l'occurrence des litières des plantes vasculaires (*Molinia caerulea*, *Betula spp* et *Calluna vulgaris*) sur la capacité de croissance en poids et en taille de *Sphagnum palustre* via une expérimentation en laboratoire. Les hypothèses ici sont que (i) l'interception de la lumière par les plantes vasculaires réduit la photosynthèse et la croissance des sphaignes mais que (ii) les litières et des extraits de plantes vasculaires fournissent des nutriments pouvant augmenter la croissance des sphaignes avec (iii) des effets différents selon la nature des litières de plantes vasculaires en présence qui apportent des concentrations différentes en nutriments. Les résultats de cette expérimentation en laboratoire (en phytotron) sont complétés par une expérimentation en microcosmes réalisée à l'extérieur du laboratoire.

La deuxième partie porte sur la cinétique de décomposition de mélange de litières issues de plantes vasculaires et de sphaignes. Souvent comparées mais plus rarement mélangées, les litières incubées en mélange peuvent conduire à des effets non-additifs (synergique ou antagoniste) affectant le taux de décomposition. Cette étude a été menée par la combinaison

d'une expérimentation dite de sacs litière (litter-bag) en laboratoire et in situ dans la tourbière de Frasne via l'incubation des litières de *Sphagnum fallax* et des litières de *Pinus uncinata* et *Eriophorum vaginatum*. Les hypothèses abordées sont que (i) le mélange de litières de sphaignes et de plantes vasculaires conduit à une augmentation de la décomposition de la MO accompagnée (ii) d'une augmentation de l'activité de l'enzyme β -glucosidase.

Chapitre IV

Les nouveaux assemblages bryophytes - végétaux vasculaires conduisent à des changements dans le système plante-tourbe (i.e. aérien-souterrain) via des transformations de la composition et de la mobilisation de la MO. Ces transformations s'opèrent à la fois par des changements quantitatifs et qualitatifs des litières et des modifications dans le compartiment souterrain (présence de racines des plantes vasculaires et exsudats racinaires). De telles altérations de la MO jouent un rôle important sur le cycle biogéochimique des éléments (C notamment) des tourbières et sont capables de déstabiliser la décomposition de la MO (Gogo et al., 2011). Ainsi, ce chapitre s'intéresse à la caractérisation moléculaire et dissoute de la MO suite à l'invasion des tourbières à sphaignes par *Molinia caerulea*. Ce chapitre est divisé en deux parties chacune focalisées sur une échelle spatiale.

La première partie porte sur l'analyse de la dynamique des 5-n-alkylresorcinols (ARs) de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et sur leur potentiel allélopathique. Ces composés lipidiques détectés pour la première fois dans *Molinia caerulea* (Zocatelli, communication personnelle) ont été trouvés dans d'autres Poacées et ont montré un rôle dans les interactions chimiques des plantes (stimulation de la germination des graines et de la croissance des plants ; Scognamiglio et al., 2011). La compréhension de ces effets a été étudiée ici par la quantification par GC-MS des teneurs en ARs dans les feuilles de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et par la mise en germination des graines de *Molinia caerulea* en laboratoire. Les hypothèses formulées dans cette étude sont que (i) la quantité d'ARs chez *Molinia caerulea* est dépendante des conditions biotiques et/ou abiotiques et que (ii) les ARs stimulent la croissance et la germination de *Molinia caerulea*.

La seconde partie porte sur l'impact des plantes vasculaires sur la composition de la matière organique dissoute (MOD) dans les tourbières à sphaignes. Les effets sur la composition de la MOD ont été étudiés via une expérimentation utilisant des mésocosmes à sphaignes en présence ou non de *Molinia caerulea*. L'analyse de la MOD a été effectuée sur des prélèvements d'eau effectués dans des piézomètres et des rhizons installées à 5 cm et 20 cm dans les mésocosmes. Les hypothèses formulées dans ce travail sont que (i) la présence de *Molinia caerulea* va induire

des différences quantitatives et qualitatives de la MOD des tourbières à sphaignes avec (ii) des effets différents à 5 et 20 cm, respectivement altérés par, les l xivats de litières et les exsudats racinaires de *Molinia caerulea*

Chapitre V

Ces nouveaux processus induits par le changement de végétation ont des effets sur les échanges ‘sol-atmosphère’ (notamment de par ces flux de GES de CO₂ et CH₄), avec une plus forte absorption du CO₂ généralement remarqu e avec les plantes vasculaires. Une partie de ces produits de photosynthèse additionnels est allouée aux exsudats racinaires stimulant l’activité microbienne et induisant des émissions plus fortes de CO₂ et de CH₄. Cette augmentation des exports de C provient de la minéralisation des exsudats racinaires mais aussi d’une stimulation de la décomposition du C déjà stocké dans la tourbière. En outre, cette absorption de C plus importante par les plantes vasculaires pourrait induire de plus grandes pertes de C que leurs gains, qu’il convient de quantifier via un bilan de C pour estimer l’impact de cette nouvelle végétation sur la capacité de stockage de C des tourbières. Ainsi, ce chapitre porte sur la dynamique des flux de CO₂ et de CH₄ et du bilan de C d’une tourbière à sphaignes en réponse à un envahissement par des végétaux vasculaires et a été abordé par une expérimentation en mésocosmes contenant uniquement *Sphagnum rubellum* ou *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*. Les hypothèses de travail sont que *Molinia caerulea* (i) va induire une augmentation de l’absorption du CO₂ et induire des émissions de CO₂ et CH₄ plus importante menant (ii) le système à être une source de C et avoir une rétroaction positive sur le réchauffement climatique.

Chapitre VI

Les effets des plantes vasculaires sur le cycle du C des tourbières vont se combiner à ceux liés aux changements climatiques. De récentes études montrent l’importance de la synergie entre les changements climatiques et de végétation et du besoin de prendre en considération différentes variables simultanément lors d’étude sur les changements climatiques (Ward et al., 2015, Walker et al., 2016). Ainsi ce chapitre divisé en deux parties porte sur les interactions entre le changement de végétation et les changements globaux.

La première partie porte sur la sensibilité des exports de C   la température sous deux communautés végétales (*Sphagnum rubellum* et *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*) via une expérimentation en mésocosmes. Les hypothèses de travail sont les suivantes : (i) la présence de *Molinia caerulea* augmente la concentration du COD en raison d’une production plus importante d’exsudats racinaires par rapport aux mésocosmes   *Sphagnum spp*, (ii) ces

exsudats labiles sont rapidement consommés par les communautés microbiennes et augmentent les émissions de CO₂ et de CH₄ mais (iii) comme la source de C est plus labile, la sensibilité des flux de C à la température diminue.

La deuxième partie s'intéresse à la dynamique du C et de l'N en réponse à une augmentation des dépôts azotés sous ces deux communautés végétales (*Sphagnum rubellum* et *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*) via une expérimentation en mésocosmes. Les tourbières sont généralement des écosystèmes pauvres en élément nutritifs et une augmentation des dépôts azotés peut altérer leur stockage de C et également favoriser les plantes vasculaires dans ces écosystèmes. Ainsi, une expérimentation en mésocosmes avec deux communautés végétales (*Sphagnum rubellum* et *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*), chacune soumise, ou non, à des apports azotés a permis de tester les hypothèses selon lesquelles les dépôts azotés entraînent : (i) une augmentation des flux de C (production primaire brute, respiration, émissions de CH₄) (iii) une augmentation des flux et des teneurs en N (émissions de N₂O, concentrations de NH₄⁺ et NO₃⁻ dans l'eau et d'N dans les sphaignes) avec (iii) des réponses différentes selon les deux communautés végétales.

References

- Aerts, R., & Bobbink, R. (1999). The impact of atmospheric nitrogen deposition on vegetation processes in terrestrial, non-forest ecosystems. In *The impact of nitrogen deposition on natural and semi-natural ecosystems* (pp. 85-122). Springer Netherlands.
- Berendse, F., Van Breemen, N., Rydin, H., Buttler, A., Heijmans, M., Hoosbeek, M. R., Lee, J.A., Mitchell, E., Saarinen, T., Vasander, H., & Wallén, B. (2001). Raised atmospheric CO₂ levels and increased N deposition cause shifts in plant species composition and production in Sphagnum bogs. *Global Change Biology*, 7(5), 591-598.
- Bonnett, S. A. F., Ostle, N., & Freeman, C. (2010). Short-term effect of deep shade and enhanced nitrogen supply on *Sphagnum capillifolium* morphophysiology. *Plant Ecology*, 207(2), 347-358.
- Bragazza, L., Buttler, A., Siegenthaler, A., & Mitchell, E. A. (2009). Plant litter decomposition and nutrient release in peatlands. *Carbon Cycling in Northern Peatlands*, 99-110.
- Bragazza, L., Buttler, A., Habermacher, J., Brancaloni, L., Gerdol, R., Fritze, H., Hanajik, P., Laiho, R., & Johnson, D. (2012). High nitrogen deposition alters the decomposition of bog plant litter and reduces carbon accumulation. *Global Change Biology*, 18(3), 1163-1172.
- Breeuwer, A., Heijmans, M. M., Robroek, B. J., & Berendse, F. (2008). The effect of temperature on growth and competition between *Sphagnum* species. *Oecologia*, 156(1), 155-167.
- Buttler, A., Robroek, B. J., Laggoun-Défarge, F., Jassey, V. E., Pochelon, C., Bernard, G., et al., (2015). Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *Journal of vegetation science*, 26(5), 964-974.

- Carlson, K. M., Gerber, J. S., Mueller, N. D., Herrero, M., MacDonald, G. K., Brauman, K. A., Havlik, P., O'Connell, C.S., Johnson, J.A., Saatchi, S., & West, P. C. (2016). Greenhouse gas emissions intensity of global croplands. *Nature Climate Change*.
- Cornwell, W. K., Cornelissen, J. H., Amatangelo, K., Dorrepaal, E., Eviner, V. T., Godoy, O., et al., (2008). Plant species traits are the predominant control on litter decomposition rates within biomes worldwide. *Ecology letters*, 11(10), 1065-1071.
- Crow, S. E., & Wieder, R. K. (2005). Sources of CO₂ emission from a northern peatland: root respiration, exudation, and decomposition. *Ecology*, 86(7), 1825-1834.
- De Deyn, G. B., Cornelissen, J. H., & Bardgett, R. D. (2008). Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology letters*, 11(5), 516-531.
- Dieleman, C. M., Branfireun, B. A., McLaughlin, J. W., & Lindo, Z. (2015). Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: implications for ecosystem function and stability. *Global change biology*, 21(1), 388-395.
- Dorrepaal, E., Cornelissen, J. H., Aerts, R., Wallen, B. O., & Van Logtestijn, R. S. (2005). Are growth forms consistent predictors of leaf litter quality and decomposability across peatlands along a latitudinal gradient?. *Journal of Ecology*, 93(4), 817-828.
- Fenner, N., Ostle, N. J., McNamara, N., Sparks, T., Harmens, H., Reynolds, B., & Freeman, C. (2007). Elevated CO₂ effects on peatland plant community carbon dynamics and DOC production. *Ecosystems*, 10(4), 635-647.
- Freeman, C., Kim, S. Y., Lee, S. H., & Kang, H. (2009). Effects of elevated atmospheric CO₂ concentrations on soil microorganisms. *Journal of microbiology*, 42(4), 267-277.
- Freléchoux, F., Buttler, A., Schweingruber, F. H., & Gobat, J. M. (2000). Stand structure, invasion, and growth dynamics of bog pine (*Pinus uncinata* var. *rotundata*) in relation to peat cutting and drainage in the Jura Mountains, Switzerland. *Canadian Journal of Forest Research*, 30(7), 1114-1126.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., & Lottier, N. (2011). Invasion of a Sphagnum-peatland by *Betula* spp and *Molinia caerulea* impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106(1), 53-69.
- Gong, J., Wang, K., Kellomäki, S., Zhang, C., Martikainen, P. J., & Shurpali, N. (2012). Modeling water table changes in boreal peatlands of Finland under changing climate conditions. *Ecological modelling*, 244, 65-78.
- Gorham, E. (1991). Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecological applications*, 1(2), 182-195.
- Griffis, T. J., Rouse, W. R., & Waddington, J. M. (2000). Interannual variability of net ecosystem CO₂ exchange at a subarctic fen. *Global Biogeochemical Cycles*, 14(4), 1109-1121.
- Greenup, A. L., Bradford, M. A., McNamara, N. P., Ineson, P., & Lee, J. A. (2000). The role of *Eriophorum vaginatum* in CH₄ flux from an ombrotrophic peatland. *Plant and Soil*, 227(1), 265-272.
- Hartley, I. P., Garnett, M. H., Sommerkorn, M., Hopkins, D. W., Fletcher, B. J., Sloan, V. L., Phoenix, G.K. & Wookey, P. A. (2012). A potential loss of carbon associated with greater plant growth in the European Arctic. *Nature Climate Change*, 2(12), 875-879.
- Heijmans, M. M., Klees, H., de Visser, W., & Berendse, F. (2002). Response of a Sphagnum bog plant community to elevated CO₂ and N supply. *Plant Ecology*, 162(1), 123-134.

- Hobbie, S. E., Shevtsova, A., & Chapin III, F. S. (1999). Plant responses to species removal and experimental warming in Alaskan tussock tundra. *Oikos*, 417-434.
- Jassey, V. E., Chiapusio, G., Binet, P., Buttler, A., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., et al., (2013). Above-and belowground linkages in Sphagnum peatland: climate warming affects plant-microbial interactions. *Global Change Biology*, 19(3), 811-823.
- Joosten, H., & Clarke, D. (2002). Wise use of mires and peatlands.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J. K., & Stahr, K. (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(11), 1485-1498.
- Lafleur, P. M., Roulet, N. T., Bubier, J. L., Frolking, S., & Moore, T. R. (2003). Interannual variability in the peatland-atmosphere carbon dioxide exchange at an ombrotrophic bog. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(2).
- Limpens, J., Berendse, F., Blodau, C., Canadell, J. G., Freeman, C., Holden, J., et al. (2008). Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications—a synthesis. *Biogeosciences*, 5(5), 1475-1491.
- Ma, J. Z., Bu, Z. J., Zheng, X. X., Ge, J. L., & Wang, S. Z. (2015). Effects of shading on relative competitive advantage of three species of Sphagnum. *Mires & Peat*, 16.
- Malmer, N., Albinsson, C., Svensson, B. M., & Wallén, B. (2003). Interferences between Sphagnum and vascular plants: effects on plant community structure and peat formation. *Oikos*, 100(3), 469-482.
- Marschall, M., & Proctor, M. C. (2004). Are bryophytes shade plants? Photosynthetic light responses and proportions of chlorophyll a, chlorophyll b and total carotenoids. *Annals of botany*, 94(4), 593-603.
- Minayeva, T. Y., & Sirin, A. A. (2012). Peatland biodiversity and climate change. *Biology Bulletin Reviews*, 2(2), 164-175.
- Myers-Smith, I. H., Forbes, B. C., Wilmking, M., Hallinger, M., Lantz, T., Blok, D., et al. (2011). Shrub expansion in tundra ecosystems: dynamics, impacts and research priorities. *Environmental Research Letters*, 6(4), 045509.
- Parish, F., Sirin, A., Charman, D., Joosten, H., Minaeva, T., & Silvius, M. (2008). Assessment on peatlands, biodiversity and climate change. Global Environment Centre, Kuala Lumpur and Wetlands International Wageningen, 179.
- Pearson, R. G., Phillips, S. J., Loranty, M. M., Beck, P. S., Damoulas, T., Knight, S. J., & Goetz, S. J. (2013). Shifts in Arctic vegetation and associated feedbacks under climate change. *Nature Climate Change*, 3(7), 673-677.
- Scognamiglio, M., Fiumano, V., D'Abrosca, B., Pacifico, S., Messere, A., Esposito, A., & Fiorentino, A. (2012). Allelopathic potential of alkylphenols from *Dactylis glomerata* subsp. *hispanica* (Roth) Nyman. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 206-210.
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., & Midgley, P. M. (2014). Climate change 2013: The physical science basis.
- Strack, M. (Ed.). (2008). Peatlands and climate change. IPS, International Peat Society
- Turetsky, M. R. (2003). The role of bryophytes in carbon and nitrogen cycling. *The Bryologist*, 106(3), 395-409.
- Turetsky, M. R., Donahue, W. F., & Benscoter, B. W. (2011). Experimental drying intensifies burning and carbon losses in a northern peatland. *Nature Communications*, 2, 514.
- Turunen, J., Tomppo, E., Tolonen, K., & Reinikainen, A. (2002). Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland—application to boreal and subarctic regions. *The Holocene*, 12(1), 69-80.

- Ward, S. E., Ostle, N. J., Oakley, S., Quirk, H., Henrys, P. A., & Bardgett, R. D. (2013). Warming effects on greenhouse gas fluxes in peatlands are modulated by vegetation composition. *Ecology letters*, 16(10), 1285-1293.
- Ward, S. E., Orwin, K. H., Ostle, N. J., Briones, M. J., Thomson, B. C., Griffiths, R. I., et al., (2015). Vegetation exerts a greater control on litter decomposition than climate warming in peatlands. *Ecology*, 96(1), 113-123.
- van Breemen N. 1995. How Sphagnum bogs down other plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 10: 270-275.
- Walker, T. N., Ward, S. E., Ostle, N. J., & Bardgett, R. D. (2015). Contrasting growth responses of dominant peatland plants to warming and vegetation composition. *Oecologia*, 178(1), 141-151.
- Walker, T. N., Garnett, M. H., Ward, S. E., Oakley, S., Bardgett, R. D., & Ostle, N. J. (2016). Vascular plants promote ancient peatland carbon loss with climate warming. *Global change biology*, 22(5), 1880-1889.
- Zona, D., Oechel, W. C., Richards, J. H., Hastings, S., Kopetz, I., Ikawa, H., & Oberbauer, S. (2011). Light-stress avoidance mechanisms in a Sphagnum-dominated wet coastal Arctic tundra ecosystem in Alaska. *Ecology*, 92(3), 633-644.

II. Matériels et méthodes

II.1 Le site d'étude

II.1.1 Tourbière de La Guette

Le principal site d'étude est la tourbière de La Guette, un des quatre sites du Service National d'Observation *Tourbières* (Fig. II-1) qui vise notamment à observer sur le long terme les flux de GES et le bilan de carbone (gazeux, dissous et particulaire) dans des tourbières tempérées notamment vis-à-vis des changements globaux. La tourbière est située sur la commune de Neuvy-sur-Barangeon (N 47°19'44", E 2°17'04") dans le Cher (Fig. II-1) et s'étend sur une vingtaine d'hectares avec une épaisseur moyenne de tourbe de 80 cm et un maximum atteignant 180 cm. Les précipitations et la température moyenne annuelles sont de 883 mm et 11°C, respectivement (sur la période de 1989 à 2001, Gogo et al., 2011). C'est une tourbière minérotrophe pauvre en éléments nutritifs, formée par l'accumulation d'eau de pluie dans une cuvette imperméabilisée par une couche d'argile (La Guette, D'Angelo, 2015). Le site est classé Espace Naturel Sensible par le Conseil départemental du Cher, et également Zone Naturelle d'Intérêt Écologique Faunistique et Floristique (ZNIEFF).

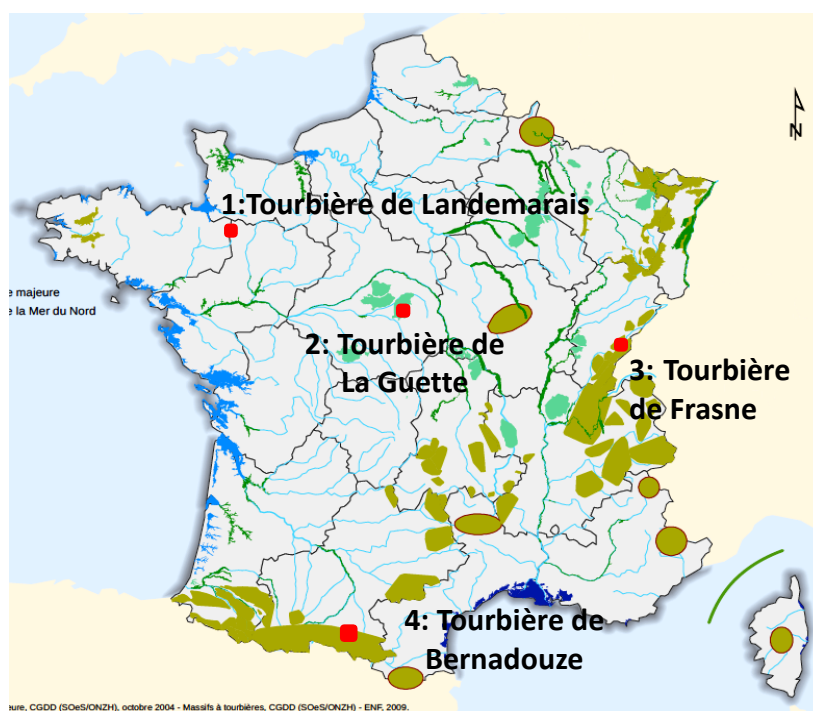


Figure II-1 Localisation des quatre sites du Service National d'Observation des tourbières

La tourbière de La Guette a récemment subi de nombreuses perturbations avec notamment la construction (avant 1945) d'une route traversant la tourbière à l'endroit de l'exutoire des eaux, un incendie (en 1976), ou encore la plantation de pins noirs en amont du site. Ces

modifications environnementales augmentent les pertes en eau du système et les apports en éléments nutritifs du site et modifient les communautés végétales de la tourbière.

II.1.2 Les communautés végétales de la tourbière de La Guette.

Ce site abrite de nombreuses espèces typiques des tourbières acides avec *Sphagnum spp*, principalement *Sphagnum cuspidatum* et *Sphagnum rubellum*. Des *Cyperaceae* sont également présentes avec *Eriophorum angustifolium* et *Rhynchospora alba*, tout comme deux *Ericaceae*, *Erica tetralix* et *Calluna vulgaris*. On y trouve également deux espèces de droséras, *Drosera rotundifolia* et *Drosera lanceolata*. Ainsi, la tourbière de La Guette présente une mosaïque de formations végétales très diversifiées et abrite des espèces protégées. Néanmoins, une étude réalisée en 2002 par l'association Sologne Nature, en collaboration avec le bureau d'étude Géo-Hyd et l'Université d'Orléans a mis en évidence une forte dynamique de boisement par le Bouleau (*Betula spp*) et, plus récemment, une invasion du site par *Molinia caerulea* (Laggoun-Défarge, 2011).

Molinia caerulea est une plante pérenne de la famille des poacées occupant des sols humides, acides ou tourbeux notamment en Europe mais qui étend sa distribution dans le nord de l'Afrique, en Caucase ou en Sibérie (Taylor et al., 2001). La molinie bleue (*Molinia caerulea*) que l'on nomme communément molinie, possède un système racinaire très étendu et bien adapté aux conditions humides (avec notamment la présence d'un aérénchyme). Naturellement présente dans les tourbières, *Molinia caerulea* est capable d'envahir rapidement un milieu et le rendre monospécifique. Ce phénomène, déjà reporté par Jefferies (1915), est souvent la conséquence d'une perturbation des conditions environnementales favorisant la colonisation de la molinie. La colonisation des tourbières par *Molinia caerulea* semble être facilitée par de multiples facteurs incluant des influences anthropiques et climatiques dont notamment:

- **les dépôts azotés**, favorisant cette plante nitrophile dans des zones acides et souvent pauvres en éléments nutritifs, au détriment d'espèces ombrotrophes (Tomassen et al., 2004).
- **Les incendies**, augmentant la production et la germination des graines de *Molinia caerulea* tout comme sa biomasse foliaire (Brys et al., 2005).

- **L'élévation de la température de l'air**, diminuant les avantages compétitifs des sphaignes et permettant la colonisation des plantes vasculaires, notamment des graminées (Dieleman et al., 2015).

Au cours des dernières décennies, de nombreuses graminéoides ont eu une forte expansion dans les zones humides ou dans les tourbières tels que *Molinia caerulea* en Europe (Chambers et al., 1999). Cette plante envahie de nombreuses tourbières en Europe dont celles de France et du Royaume-Uni (Gogo et al., 2016, Ritson, 2015). Cet envahissement se déroule en plusieurs étapes avec une première étape exogène permettant à *Molinia caerulea* de créer des conditions favorables à son développement (souvent des fluctuations importantes du niveau de la nappe d'eau) et, dans une deuxième étape endogène, sous l'action de la Molinie elle-même, le milieu devenant monospécifique et pauvre en espèces (Chambers et al., 1999, Fig. II-2). Contrairement aux espèces ombrotrophes bien adaptées aux environnements pauvres en éléments nutritifs et qui produisent peu de litières, *Molinia caerulea* apportent une quantité importante de litières facilement décomposables, ce qui permet un recyclage rapide des nutriments favorisant son développement (Aerts et al., 1999, Ritson, 2015, Fig. II-2). *Molinia caerulea* modifie son environnement pour le rendre favorable à son développement au dépend des sphaignes par l'abaissement du niveau d'eau et par l'interception de la lumière (Fig II-2).

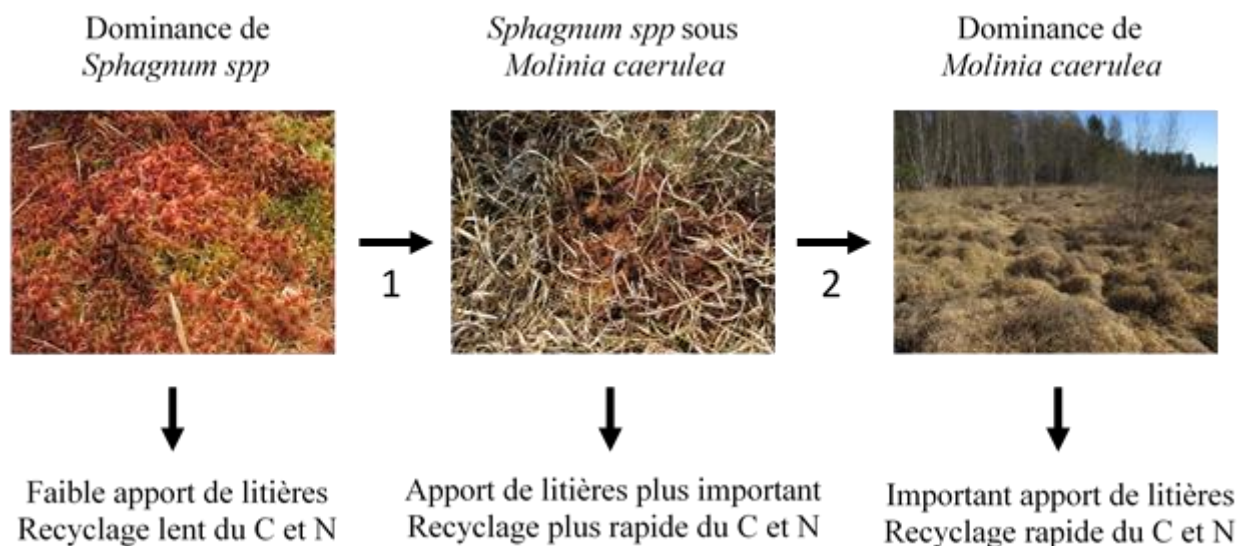


Figure II-2 Schéma conceptuel montrant les changements d'apport de litières et la vitesse des cycles de C et N lors de la transition d'une tourbière dominée par des sphaignes à une tourbière dominée par *Molinia caerulea* (adapté de Ritson, 2015).

Même si les causes de l'envahissement de *Molinia caerulea* sont de mieux en mieux identifiées, beaucoup d'effets et d'interactions de *Molinia caerulea* sur le fonctionnement des tourbières restent inexplorés. L'envahissement des tourbières par *Molinia caerulea* pose

problème du fait de sa capacité à éliminer de nombreuses espèces végétales et rendre le milieu pauvre en espèces que par son impact sur le cycle du carbone dans les tourbières (Chambers et al., 1999).

Ainsi, la majorité des travaux de cette thèse porte sur la problématique de l’envahissement d’un site (La Guette) par *Molinia caerulea*. Seul le Chapt III-2, où le site d’étude est la tourbière de Frasne (Fig II-1), concerne l’étude de l’effet du mélange des litières de plantes vasculaires (*Eriophorum vaginatum* et *Pinus uncinata*) et de sphaignes sur la décomposition de la MO.

La problématique liée à l’envahissement des tourbières à sphaignes par *Molinia caerulea* a principalement été étudiée par la mise en place d’une expérimentation ‘Mésocosmes’, transversale à plusieurs études (Chapt IV-2, V et VI) et détaillée ci-dessous. Les autres expériences sont décrites dans les chapitres respectifs.

II.2 Expérimentation ‘Mésocosmes’

II.2.1 Approches expérimentales

Douze mésocosmes de tourbe de 30 cm de hauteur et de diamètre ont été collectés dans la tourbière de La Guette (N 47°19’44”, E 2°17’04”, France) en mars 2015. Ces mésocosmes, entourés de tubes en PVC perforés, ont été enterrés dans le sol minéral à l’extérieur du laboratoire. La cavité recevant le mésocosme a été recouverte d’une bâche imperméable de façon à isoler le mésocosme du sol minéral environnant. Elle a ensuite été remplie d’eau provenant de la tourbière de La Guette avec un niveau d’eau similaire dans tous les mésocosmes (à 5 cm de profondeur, Fig. II-3). Les mésocosmes ont subi deux traitements : un traitement ‘végétation’ et un traitement ‘fertilisation’ :

- Traitement ‘végétation’ :

Au démarrage de l’expérience, les mésocosmes contenaient uniquement *Sphagnum rubellum* puis ont été séparés en 2 communautés végétales : 6 mésocosmes contenant uniquement *Sphagnum rubellum* (appelés «*Sphagnum*») où les jeunes pousses de molinie ont été systématiquement arrachées, et 6 mésocosmes contenant à la fois *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea* (appelés *Sphagnum* + *Molinia*). A l’automne, les litières provenant des feuilles de *Molinia caerulea* ont été insérées dans le tapis de sphaignes.

- Traitement 'fertilisation'

Chacune des deux communautés végétales ont été subdivisées en deux traitements avec les mésocosmes avec (mésocosmes 'Fertilisés') et sans (mésocosmes 'Contrôle') ajout de NH_4NO_3 , couramment utilisés comme engrais agricole. Les apports azotés ont été réalisés chaque semaine entre mai 2015 et juin 2016 à raison de $3.2 \text{ gN m}^{-2} \text{ a}^{-1}$, ce qui représente une quantité totale de $3.7 \text{ gN m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ sur la durée de l'expérimentation. Cet apport azoté est plus élevé que ceux observés actuellement dans les tourbières (Bragazza et al., 2004), mais pourrait refléter le dépôt de N attendu pour 2100 (Lamarque et al., 2005).

Un suivi des conditions environnementales a été réalisé grâce à une station météorologique (Campbell Scientific CR800) enregistrant avec un pas de 15 min : la pression atmosphérique, la pluviométrie, le sens et la direction du vent, le rayonnement lumineux, les précipitations et les températures de l'air et de chaque mésocosme à 5 et 20 cm de profondeur

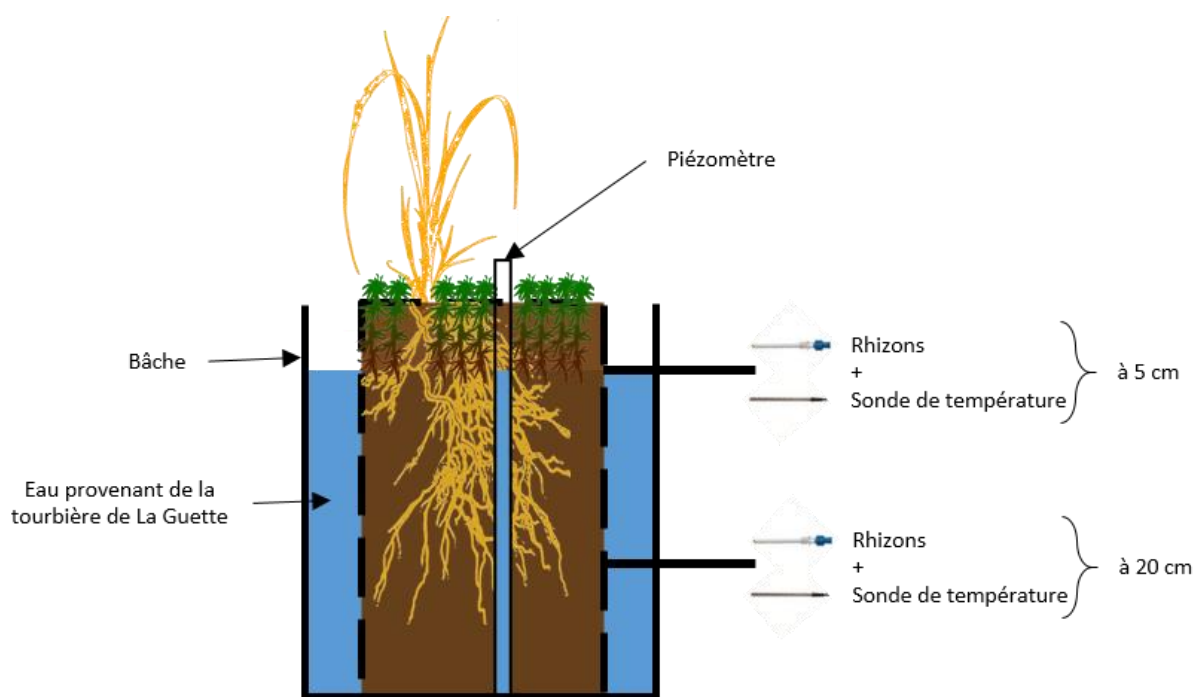


Figure II-3 Représentation du dispositif expérimental avec chaque mésocosme entouré d'une bâche étanche contenant de l'eau provenant de la tourbière de La Gnette.

II.2.2 Les mesures des flux de gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 et N_2O)

Des mesures de flux de GES (CO_2 , CH_4 et N_2O) ont été réalisées entre mai 2015 et juin 2016 à une fréquence de deux fois par semaine lors de la saison de végétation (entre mai et septembre)

et une fois toutes les deux semaines en dehors de la saison de végétation. C'est la méthode de 'chambre statique' qui a été utilisée pour la mesure des flux de GES. Une chambre étanche est placée sur le bord du PVC contenant le mésocosme pour pouvoir mesurer la concentration en GES dans un volume connu et d'en déduire les flux, avec soit une absorption de gaz, i.e. une diminution de la concentration, ou une émission de gaz, i.e. une augmentation de la concentration des GES (Fig. II-4 et II-5).



Figure II-4 Dispositif expérimental des mésocosmes et mesures des flux de GES et station météorologique

Les mesures de CO_2 ont été réalisées à l'aide d'une sonde Vaisala CARBOCAP GMP 343 (Fig. II-5). Un ventilateur de faible puissance est positionné à l'intérieur de la chambre afin d'homogénéiser l'air. La concentration de CO_2 est mesurée toutes les 5s pendant 5 min avec soit la chambre transparente nue permettant l'enregistrement de l'échange net de l'écosystème (bilan entre la photosynthèse et la respiration, Fig II-5), soit avec la chambre recouverte d'un tissu empêchant le rayonnement lumineux d'atteindre les plantes et donc la photosynthèse pour mesurer uniquement la respiration de l'écosystème (Fig II-5).

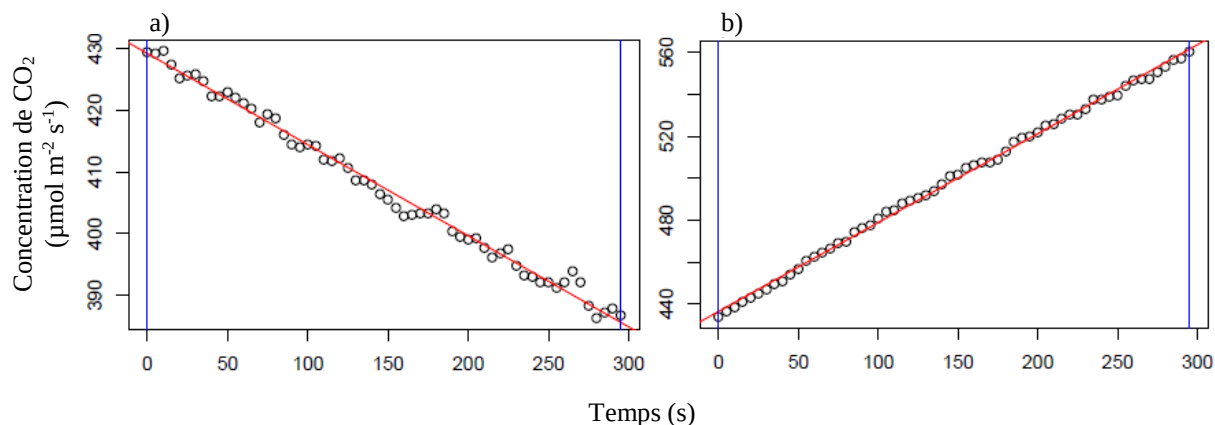


Figure II-5 Evolution des concentrations en CO₂ dans la chambre fermée (a) transparente (pour mesurer l'échange net de l'écosystème), (b) opaque (pour mesurer la respiration)

Les mesures de CH₄ et de N₂O ont été réalisées le même jour que les mesures de CO₂ avec le SPIRIT (SPECTromètre Infra Rouge In-situ Troposphérique, Fig. II-6) par spectrométrie infra-rouge (Guimbaud et al., 2011). Les concentrations de CH₄ et N₂O ont été enregistrées toutes les 1.5 s pendant 15 à 20 min selon l'intensité des flux.



Figure II-6 Mesures des flux de GES en chambre fermée avec la sonde Vaisala (à gauche) et le SPIRIT (à droite).

Les pentes obtenues avec les mesures de concentration des GES permettent d'obtenir les flux de GES en μmol m⁻² s⁻¹. La mesure des flux de GES était accompagnée systématiquement des mesures de facteurs biotiques et abiotiques : comptage du nombre de pieds de molinie, mesure du rayonnement photosynthétiquement actif (pendant les mesures de CO₂), niveau

d'eau, mesuré grâce à un piézomètre situé au centre de chaque mésocosme, utilisé également pour les prélèvements d'eau.

II.2.3 Prélèvement et analyse des échantillons d'eau

Les prélèvements d'eau réalisés dans le piézomètre sont filtrés avec des filtres seringue en polyethersulfone avec une taille des pores de 0,45 μm pour l'analyse des teneurs en COD et en azote total (à chaque prélèvement) et en NO_3^- et NH_4^+ (toutes les deux semaines). Les concentrations de COD et d'azote total des échantillons sont déterminées avec un Shimadzu TOC-5000. Une acidification de l'échantillon avec de l'acide chlorhydrique est opérée dans l'analyseur pour atteindre un pH inférieur à 2 et convertir le carbone inorganique en CO_2 . Le CO_2 est purgé afin de ne laisser que le carbone organique non-purgeable. L'échantillon est alors injecté dans un four à 720°C où le carbone organique y est oxydé et libéré sous forme de CO_2 . Un détecteur infrarouge mesure la concentration en CO_2 permettant, via une courbe de calibration, de déduire la concentration en COD de l'échantillon. Lorsqu'un échantillon est introduit dans le tube de combustion et chauffé à 720 °C, l'azote total se décompose pour devenir un monoxyde d'azote. Le gaz porteur, qui contient le monoxyde d'azote, est refroidi et déshumidifié par le déshumidificateur puis entre dans un analyseur de gaz de chimioluminescence où le monoxyde d'azote est détecté.

Les quantifications de NO_3^- et NH_4^+ ont été réalisées en chromatographie ionique par la Cellule R&D d'Expertise et de Transfert en Traçages Appliqués à l'Hydrogéologie et à l'Environnement (CETHAHE) de l'Université d'Orléans. La conductivité et le pH de chaque échantillon sont également mesurés.

Des prélèvements d'eau avec des rhizons situés à 5 et 20 cm de profondeur dans les mésocosmes ont été réalisés entre mars et mai 2016 (Fig. II-3). L'échantillonnage est réalisé avec des rhizons (Rhizosphere Research Products, référence: 19.21.21) d'un diamètre de 2.5 mm avec des pores de 0.15 μm . Tout comme les échantillons prélevés dans le piézomètre, la conductivité et le pH de chaque échantillon ont été mesurés ainsi que les concentrations en COD et d'azote total à l'aide du Shimadzu TOC-5000. Les eaux prélevées ont également fait l'objet d'une caractérisation en spectrophotométrie UV (SUVA_{254}) et en fluorescence 3D. Ces deux méthodes sont détaillées dans le chapitre IV.

II.2.4 Analyse élémentaire et stock de C et N

A la fin de l'expérimentation (juillet 2017), les mésocosmes ont été fractionnés en différents compartiments : feuilles de *Molinia caerulea*, capitulum de sphaignes (0-0.5 cm), partie vivante des sphaignes (0.5-2.5 cm) et tourbe à différentes profondeurs (2.5-7.5, 7.5-12.5, 12.5-17.5 et 17.5-22.5 cm). Les mesures de concentrations en C et N ont été réalisées dans ces différentes profondeurs du mésocosme avec l'analyseur élémentaire FLASH 2000 Thermo Fisher Scientific. Les échantillons sont séchés à l'étuve, broyés puis analysés pour doser le C et l'N. Sous l'effet de la combustion à 950°C le C organique est transformé en CO₂ et l'azote totale en N₂. Les gaz sont alors injectés dans une colonne chromatographique pour séparer les différents éléments qui sont ensuite détectés et quantifiés par un catharomètre (détecteur universel). Les résultats sont exprimés en g (C ou N) g⁻¹ de matière sèche.

Des mesures de masse volumique (exprimées en g cm⁻³) sont également effectuées, aux différentes profondeurs citées précédemment, en pesant des cubes de 5 cm de côté séchés à l'étuve pendant 3 jours. La multiplication de la densité avec les teneurs en C et N permettent de quantifier les stocks en C et N pour chaque profondeur.

References

- Aerts, R. (1999). Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, 50(330), 29-37.
- Bragazza, L., Tahvanainen, T., Kutnar, L., Rydin, H., Limpens, J., Hájek, M., Grosvernier, P., Hájek, T., Hajkova, P., Hansen, I., Iacumin, P., Gerdol, P., 2004. Nutritional constraints in ombrotrophic Sphagnum plants under increasing atmospheric nitrogen deposition in Europe. *New Phytologist*, 163(3): 609-616.
- Brys, R., Jacquemyn, H., & De Blust, G. (2005). Fire increases aboveground biomass, seed production and recruitment success of *Molinia caerulea* in dry heathland. *Acta Oecologica*, 28(3), 299-305
- D'Angelo, B. (2015). Variabilité spatio-temporelle des émissions de GES dans une tourbière à Sphaignes: effets sur le bilan carbone (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
- Chambers, F. M., Mauquoy, D., & Todd, P. A. (1999). Recent rise to dominance of *Molinia caerulea* in environmentally sensitive areas: new perspectives from palaeoecological data. *Journal of Applied Ecology*, 36(5), 719-733.
- Dieleman, C. M., Branfireun, B. A., McLaughlin, J. W., & Lindo, Z. (2015). Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: implications for ecosystem function and stability. *Global change biology*, 21(1), 388-395.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., & Lottier, N. (2011). Invasion of a Sphagnum-peatland by *Betula* spp and *Molinia caerulea* impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106(1), 53-69.

- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Merzouki, F., Mounier, S., Guirimand-Dufour, A., Jozja, N., et al., (2016). In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* litters. *Journal of Soils and Sediments*, 16(1), 13-27
- Guimbaud, C., Catoire, V., Gogo, S., Robert, C., Chartier, M., Laggoun-Défarge, F., et al. (2011). A portable infrared laser spectrometer for flux measurements of trace gases at the geosphere–atmosphere interface. *Measurement Science and Technology*, 22(7), 075601.
- Jefferies, T. A. (1915). Ecology of the purple heath grass (*Molinia caerulea*). *Journal of Ecology*, 3(2), 93-109.
- Laggoun-Défarge, F. (2011). *Fonctionnement et dynamique des tourbières Impact de l'anthropisation et du changement climatique* (Université d'Orléans).
- Lamarque, J. F., Kiehl, J. T., Brasseur, G. P., Butler, T., Cameron-Smith, P., Collins, W. D., Collins, W. J., Granier, C., Hauglustaine, D., Hess, P. G., Holland, E. A., Horowitz, L., Lawrence, M. G., McKenna, D., Merilees, P., Prather, M. J., Rasch, P. J., Rotman, D., Shindell, D., Thornton, P., 2005 Assessing future nitrogen deposition and carbon cycle feedback using a multimodel approach: analysis of nitrogen deposition. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 110(D19).
- Ritson, J. P. (2015). The impact of climate change and management practices on dissolved organic carbon (DOC) flux and drinking water treatment in peatland catchments.
- Taylor, K., Rowland, A. P., & Jones, H. E. (2001). *Molinia caerulea* (L.) Moench. *Journal of Ecology*, 89(1), 126-144.
- Tomassen, H., Smolders, A. J., Limpens, J., Lamers, L. P., & Roelofs, J. G. (2004). Expansion of invasive species on ombrotrophic bogs: desiccation or high N deposition?. *Journal of applied Ecology*, 41(1), 139-150.

III. Impact des végétaux vasculaires sur la croissance des sphaignes et la décomposition des litières

Préambule

L'augmentation du pourcentage de recouvrement des plantes vasculaires dans les tourbières affecte le fonctionnement de ces écosystèmes via l'établissement de nouvelles interactions avec les organismes déjà présents, en particulier avec les sphaignes, l'espèce caractéristique de ces milieux et à l'origine du stockage efficient du C dans ces écosystèmes (e.g. Holden, 2005). En effet, ces bryophytes permettent de créer et d'amplifier les conditions défavorables aux décomposeurs du sol et permettent ainsi le déséquilibre entre production primaire et décomposition. Cependant, l'envahissement des plantes vasculaires est susceptible d'affecter ces deux processus et *in fine* d'altérer le taux d'accumulation de C des tourbières.

Les interactions entre les plantes vasculaires et les sphaignes sont un équilibre entre facilitation et compétition. D'un côté, les plantes vasculaires peuvent créer des conditions microclimatiques et un support physique favorable la croissance des sphaignes (Pouliot et al., 2011). D'un autre côté, l'augmentation du recouvrement par les plantes vasculaires diminue la quantité de lumière disponible pour les sphaignes défavorisant ainsi leur croissance (Malmer et al., 1994). L'apport, d'une quantité importante de litières des plantes vasculaires se déposant sur les sphaignes peut produire un effet négatif sur leur croissance (Berendse et al. 2001) ou être potentiellement positif en apportant des nutriments via la décomposition de ces litières (van Breemen, 1995). Les taux de décomposition des litières des plantes vasculaires sont souvent comparés dans les tourbières. Cependant, la décomposition en milieu naturel se présente souvent par le mélange des litières des espèces végétales. Des études sur la décomposition de mélanges de litières d'espèces végétales différentes, opérées principalement en forêt, ont permis de mettre en évidence divers effets. Des mélanges de litières produisent des effets « additifs » où la moyenne du taux de décomposition des litières incubées séparément permet de prédire le taux de décomposition du mélange de ces litières. D'autres mélanges de litières produisent des effets « non-additifs » où la vitesse de décomposition du mélange des litières mesurée est différente de celle estimée à partir de la décomposition des litières incubées séparément. L'effet « non-additif » du mélange des litières peut être un effet antagoniste ou un effet synergique, avec respectivement, un taux de décomposition plus lent et plus rapide du mélange des litières en comparaison à celui moyenné des litières incubées séparément (Gartner et Cardon, 2004). De telles modifications du taux de décomposition des sphaignes pourraient se produire en présence des litières de plantes vasculaires et pourraient altérer le taux d'accumulation du C dans les tourbières. Malgré les conséquences potentielles de cet effet sur la fonction puits de C

des tourbières, très peu d'études reportent des expériences de décomposition de mélange de litières dans ces écosystèmes.

Ainsi, l'augmentation du pourcentage de recouvrement par les plantes vasculaires peut à la fois affecter la production des sphaignes et la décomposition des litières avec des implications importantes sur la dynamique du C dans les tourbières. La problématique de ce chapitre porte donc sur :

Comment les plantes vasculaires peuvent-elles affecter la croissance des sphaignes et la décomposition des litières dans les tourbières ?

L'objectif principal ici est de déterminer les implications d'une augmentation du couvert des plantes vasculaires sur le déséquilibre entre production et décomposition des sphaignes. Pour répondre à cet objectif, deux parties sont développées dans ce chapitre :

La première partie intitulée « **Effet de l'ombrage et des apports de litières de végétaux vasculaires sur la croissance des sphaignes** » a pour objectif de déterminer la réponse de la croissance des sphaignes à deux modifications environnementales générées par les plantes vasculaires : l'ombrage et l'apport de litières contrastées en termes de composition chimique (e.g. nutriments). Pour cela, nous avons, dans un premier temps, mis en place une expérience de croissance de sphaignes en laboratoire. Des capitulum de *Sphagnum palustre* (3mm) provenant de la tourbière de La Guette ont été cultivés sur de l'agar-agar avec des litières ou des extraits de litières de *Molinia caerulea*, *Betula spp* ou *Calluna vulgaris* et soumis à une intensité lumineuse de $146 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour la condition contrôle ou à $73 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ pour la condition ombrage. Ces deux conditions d'intensité lumineuse montrent qu'une réduction de l'intensité lumineuse augmente la biomasse des sphaignes mais au contraire diminue la hauteur des sphaignes en présence des extraits des plantes vasculaires (Fig. III-1). Ainsi, un ombrage modéré semble pouvoir stimuler la croissance des sphaignes tout comme l'a reporté Murray et al., (1989). Cet effet est positif tant que l'effet de l'ombrage est considéré comme modéré, c'est-à-dire avec une diminution de l'intensité lumineuse de 50% (Bonnet et al., 2010). L'ombrage tend également à augmenter les teneurs en C et N sans influencer le ratio C/N. Ces résultats soutiennent une augmentation de l'allocation de N à la chlorophylle lors des conditions ombragées (Bonnett et al., 2010). Les extraits des litières de plantes vasculaires ont également augmenté les teneurs en C et N dans les sphaignes sans pour autant influencé leur croissance (Fig. III-3). Cette expérience montre de potentiels effets bénéfiques des conditions ombragées

pour la production de *Sphagnum palustre*. Cependant, avec ces résultats basés sur une étude en laboratoire, il est difficile de considérer les résultats en termes de conditions réelles et de ce fait une expérimentation en microcosmes a été réalisée à l'extérieur. Les résultats préliminaires seront présentés à la suite de l'expérimentation en laboratoire avec les dernières données collectées lors de cette expérience en cours de traitement.

La seconde partie de ce chapitre intitulé « **Litter decomposition in peatlands is promoted by mixed plants** » fait référence à un article accepté dans Journal of Soils and Sediments et a pour objectif de déterminer l'effet des plantes vasculaires sur la décomposition des litières. Pour cela, une expérimentation de décomposition des litières de *Sphagnum fallax*, *Eriophorum vaginatum* et *Pinus uncinata* fût réalisée en laboratoire et sur la tourbière de Frasne. Les litières des trois espèces ont été placées sur la tourbière de Frasne, seules ou en mélange (*Sphagnum-Pinus-Eriophorum*), pendant 3 ans afin de quantifier la perte de masse et la production de CO₂ de ces 4 types de litières. En laboratoire, 7 types de litières (3 pour les litières seules et 4 pour les combinaisons de mélange possible) ont été incubées pendant 51 jours à 20°C pour suivre la perte de masse, le carbone organique extractible à l'eau ou Water Extractable Organic Carbon (WEOC), la production de CO₂ et la β -glucosidase, enzyme impliquée dans la dégradation de la cellulose et dans le cycle du C (pour plus de détails, voir III-2-2 de la publication ci-dessous). Les expériences en laboratoire et sur le terrain montrent que le mélange de litières *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* a eu un effet synergique sur la décomposition en augmentant la perte de masse mais aussi, uniquement au laboratoire, le WEOC et la production de CO₂ (Fig. III-7 et III-8). Cet effet synergique est principalement contrôlé par le mélange *Sphagnum-Eriophorum* augmentant la perte de masse et la production de CO₂ comparé aux valeurs attendues à partir des litières incubées séparément (Fig. III-7). Bien que l'activité de la β -glucosidase soit souvent considérée comme un facteur majeur régulant la décomposition, le mélange des litières n'a ici provoqué d'augmentation de l'activité de cette exo-enzyme (Fig. III-10). Cela suggère que d'autres enzymes peuvent être impliquées dans l'effet observé. Ces expériences supportent le fait que le mélange des litières de graminoides et de sphaignes conduit à un effet synergique sur la décomposition des litières. Dans un contexte de changement de végétation, un tel effet de mélange pourrait modifier la dynamique du carbone dans les tourbières. Néanmoins, la compréhension des mécanismes responsable de cet effet synergique reste toujours à approfondir.

Un des mécanismes pouvant induire des effets non-additifs du mélange des litières est l'amélioration des conditions micro-environnementales (hypothèse ACM). Ce mécanisme se mettrait en place quand les litières en mélange présentent des caractéristiques physique et chimique différentes, permettant d'améliorer les conditions microclimatiques des décomposeurs et plus particulièrement la disponibilité en eau favorisant ainsi la décomposition du mélange (Makkonen et al., 2013). Les différences de propriétés hydriques entre les litières pourraient être un contrôle efficace de la non-additivité de la décomposition lors du mélange des litières. Cette hypothèse a été approfondie par Gogo et al., (Soumis à Functional Ecology, voir annexes) pour tester et valider l'hypothèses ACM. Un des postulats de cette hypothèse est que, lorsque les 2 litières ont des vitesses d'évaporation différentes, l'eau de la litière la plus humide est transférée vers celle qui est la plus sèche pour compenser le gradient créé par l'évaporation, permettant de maintenir les 2 litières dans des conditions optimales de teneurs en eau pour la décomposition.

III.1 Effet de l'ombrage et des apports de litières de végétaux vasculaires sur la croissance des sphaignes

III.1.1 Expérimentation en laboratoire

Effect of shading and vascular plant litter on *Sphagnum* palustre growth in peatlands

Fabien Leroy, Sébastien Gogo, Benjamin Morel, Lijuan Feng, Fatima Laggoun-Défarge

A soumettre dans *Journal of Bryology*

III.1.1.1 Introduction

Peatlands are wetlands characterised by an accumulation of peat from 30 cm to several meters of depth (Rydin *et al.*, 2013). They cover only 3 % of the global terrestrial ecosystem, but have stored between 15 to 30 % of the world soil Carbon (C; Turunen *et al.*, 2002; Gorham, 1991). *Sphagnum* mosses are characteristic plants of peatlands and are considered as efficient ecosystem engineers, which drive peatland dynamics by creating a nutrient poor, wet and acidic environment (van Breemen, 1995; Rydin *et al.*, 2006). Through these actions, *Sphagnum* species gain a competitive advantage over other plants. In addition, they produce decay-resistant litter and hamper microbial litter decomposition so that a net accumulation of peat organic matter (OM) takes place. However, global change is expected to modify the structure and abundance of plant species in peatlands, with an increase in vascular plants to the detriment of *Sphagnum* mosses. A shift in peatland plant communities, especially those reducing *Sphagnum* dominance in favor of vascular vegetation, is expected to have significant effects on carbon storage (Dieleman *et al.*, 2015). In this scenario, it is important to determine vegetation dynamics and plant interactions to understand feedback between vegetation and the environment (Limpens *et al.*, 2008). The unfavorable actions of *Sphagnum* mosses on vascular plants are well reported (Svensson, 1995; Heijmans *et al.*, 2002), but the effect of vascular plants on *Sphagnum* mosses is poorly studied and the distinct competition and facilitation interactions are still to be determined. So far, both positive and negative effects of vascular plants on bryophytes have been reported (Ingerpuu *et al.*, 2003; Bergamini *et al.*, 2001). These effects have species-specific facilitation and competition interactions by light interception (Buttler *et al.*, 2015; Ingerpuu *et al.*, 2005; Van Wijk *et al.*, 2004; Van der Wal *et al.*, 2005) and moisture and nutrient conditions (Ingerpuu *et al.*, 2005). Over the last three decades the

abundance of *Molinia caerulea* (*Poaceae*) has increased in Europe, leading to the invasion of numerous peatlands (Marrs *et al.*, 2004). The invasion of peatlands by *Betula pubescens* has also been reported (Tomassen *et al.*, 2003; Gogo *et al.*, 2011) together with a reduction in *Sphagnum* growth (Hogg, *et al.*, 1995). However, the mechanisms determining this decrease in *Sphagnum* abundance have not been fully elucidated. Here we explore the role of *Molinia caerulea* and *Betula spp.* (invading species) and of *Calluna vulgaris* (non-invading species) on *Sphagnum* moss growth.

In the present study, we used *Sphagnum palustre* (*S. pal*), a common *Sphagnum* species occurring in peatlands and subject to vascular plant invasion, which was grown in the laboratory under controlled conditions with different radiation intensities, with *Betula spp* (*B. spp* including *Betula verrucosa* and *Betula pubescens*), *Calluna vulgaris* (*C. vul*) and *Molinia caerulea* (*M. cae*) litters or with their water extracts. The *S. pal* length, weight and C and N content were measured after four weeks of culture.

The first factor tested was shading. When vascular plants grow, their canopy decreases the amount of light reaching the *Sphagnum* mosses. The second factor tested was the effect of different litters through chemical interactions (e.g. nutrient input, allelopathic mechanisms). In the field, *Sphagnum* mosses can be in direct contact with vascular plant litters or can receive leachates from these litters. So the third factor tested was the litter (the whole litter or the water extracted from litter). We hypothesise that (i) shading will reduce *Sphagnum* growth, (ii) the litter and litter water extract will provide nitrogen (N, assumed to be limiting) which may increase *Sphagnum* growth, with a higher effect of litter water extract as nutrients in solution may be more readily available, and (iii) the effect of different vascular plants' litters which may provide different nutrients and chemical interactions.

III.1.1.2 Materials and methods

Leaf litters of *B. spp*, *C. vul* and *M. cae*, as well as *S. pal* capitulum (top 3 mm) were collected in April 2015 in La Guette peatland (154 m, N 47°19' E 2°17', France). La Guette is a transitional fen that has been invaded by *B. spp* and *M. cae* since a wildfire that took place in the mid-seventies (Viel *et al.*, submitted). *S. pal* capitulum culture was performed on 0.4% of agar-agar in Petri dishes (diameter 90 mm). Seventy Petri dishes were prepared so as to have five replicates for the control and for the addition of litter and litter water extracts of *B. spp*, *C. vul* and *M. cae* in both irradiance conditions (light and shade). Air dried vascular plant litters

were added following the “sandwich method” (Fujii *et al.*, 2004). 5 mL of agar-agar was added to each Petri dish. After gelatinising, 300 mg of litter was spread on the substrate and another 5 mL of agar-agar was added. 50 *S. pal* capitula were placed on the top. Litter water extracts were prepared by adding 0.5 g of litter in 100 mL of distilled water over a night. The litter extracts and distilled water were added twice a week in order to immerse Overall, N and C addition was quantitatively greater in the litter than in the corresponding litter water extract: the total inputs of N and C from *B. spp*, *C. vul* and *M. cae* extracts were 0.16, 0.14 and 0.22 mg of N and 2.5, 11.4 and 2.4 mg of C, respectively, compared to the total input with the litters (6.5, 4.4 and 3.0 g of N and 144, 148 and 126 mg of C respectively).

S. pal capitulum. *Sphagnum* culture was performed under a 400 Watt lamp with a net, for the shading condition, and without for the light condition. The Photosynthetically Active Radiation flux (PAR flux) received by the culture was 146 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for the light condition and 73 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for the shade condition. After four weeks *S. pal* growth was assessed by measuring length and dry weight (at 50°C during one week). Then, the *S. pal* capitula were crushed to measure Carbon (C) and Nitrogen (N) content with an elementary analyser (Thermo-FLASH 2000 CHNS Analyser). Three-way ANOVAs were performed to compare the length, weight and C and N content in *S. pal* capitula between the irradiance conditions (light-shade), the nutrient additions (control-litters-litter extracts) and the vascular plants species (control-*B. spp*-*C. vul*-*M. cae*). Differences were considered significant at $p < 0.05$ and are referred to as * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. The trend is referred to as - $p < 0.1$.

III.1.1.3 Results

Table III-1 Significant differences obtained with three-way ANOVAs for height, weight, carbon and nitrogen content and C/N ratio of *Sphagnum palustre* after four culture weeks. Asterisks represent significant results (- $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Only significant interactive effect are shown in this table

	Significance				
	Irradiance conditions	Nutrient additions	Vascular plants species	Irradiance : Additions	Irradiance : Species
Height		*	**	***	**
Weight	***		*		
Carbon	***	***			
Nitrogen	-	**			
CN		*			

The irradiance conditions significantly affects the weight and carbon content of *Sphagnum palustre* with tend to modify the nitrogen content (Table III-1). Even if no main effect of the irradiance conditions seems to alter the height of *Sphagnum* mosses, interactive effects occur between irradiance and the nutrient additions and the vascular plants species (Table III-1).

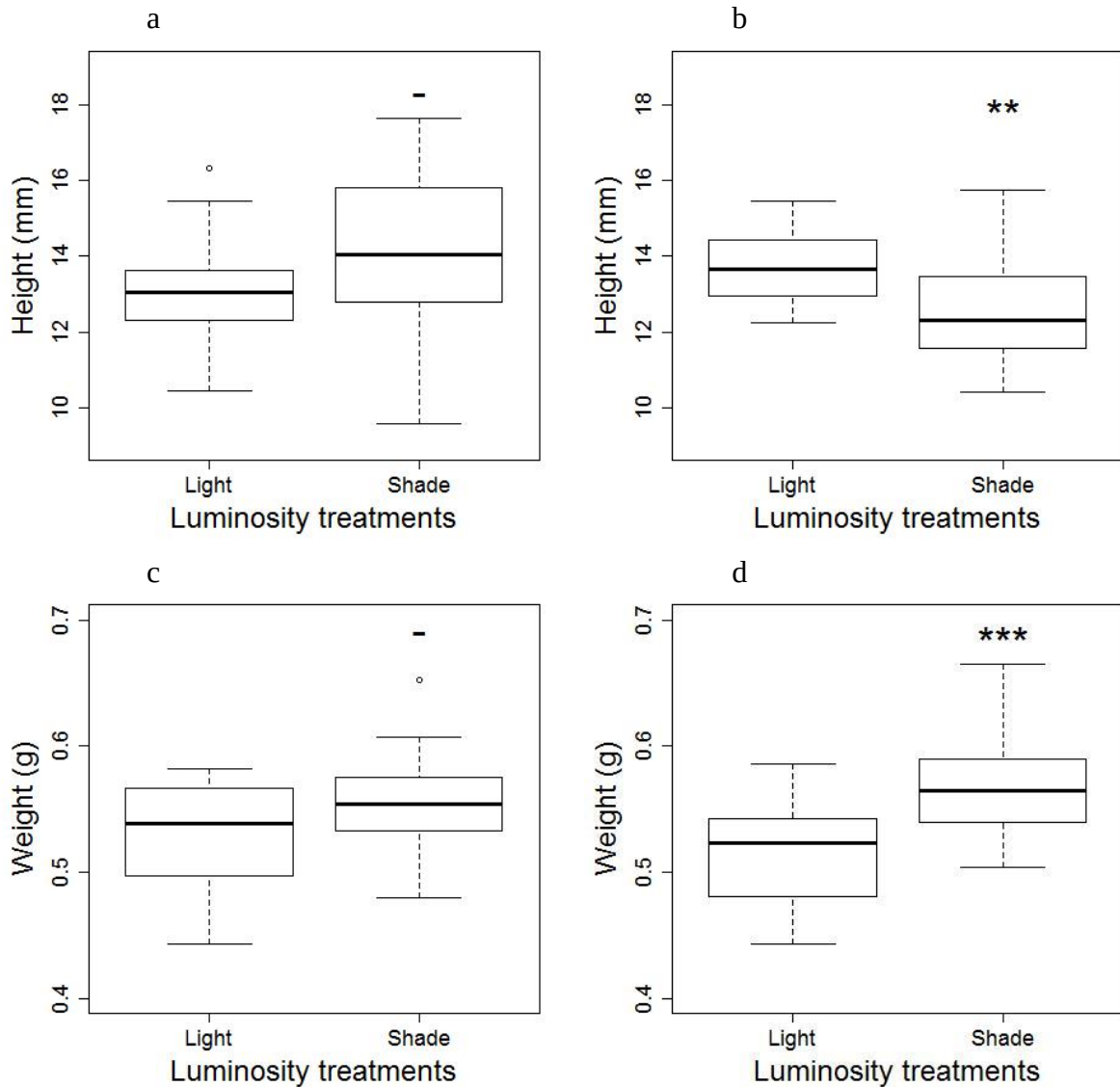


Figure III-1 Height (a, b) and weight (c, d) of *Sphagnum palustre* under light and shade conditions with litters (a, c) or extract additions (b, d). Asterisks represent significant results (- $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

The separation of height and weight per nutrient additions shows that shading tended to increase both *S. pal* height and weight with litter additions ($P < 0.10$, Fig. III-1a and c). With the addition of litter water extract and under shading conditions, *S. pal* height significantly decreased (Fig. III-1b, $P < 0.01$), whereas its weight significantly increased (Fig. III-1d). The

main effect induced by the vascular plants species considered global differences between height or weight among vascular plants species. Nevertheless, no vascular plants species specifically modified the height or weight of *Sphagnum palustre* compared to the control.

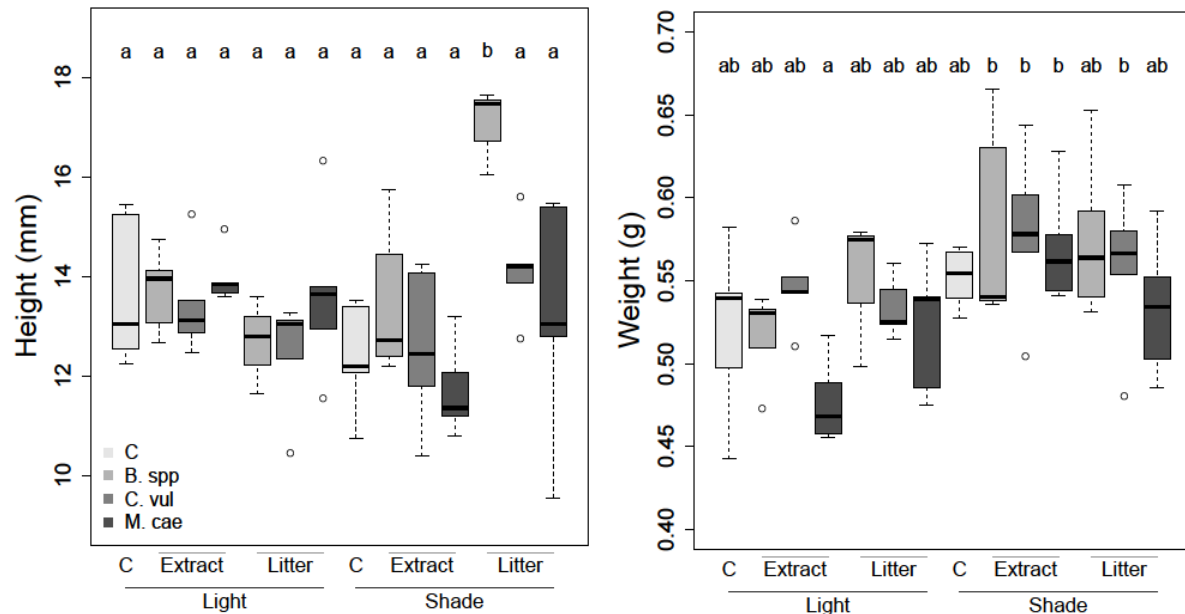


Figure III-2 Height and weight for the additions of litters or litters extract of *Betula spp* (B. spp), *Calluna vulgaris* (C. vul), *Molinia caerulea* (M. cae) and water (C) under light and shade conditions (n=5)

Carbon and Nitrogen content was affected by the irradiance conditions and the nutrient additions (and also the C/N ratio) without a main effect of vascular plants species (Table III-1). Shading significantly increased C content and only tended to increase N content compared to the light conditions (Table III-1, Fig. III-2). Both C and N increased conducted to maintain a similar C/N ratio. At the contrary to the nutrient additions which significantly decreased with litter extracts compared to the control (Fig. III-3d). Water extracts significantly increased the N content compared to control without affecting the C content (only compared to litters additions, Fig. III-3b and c).

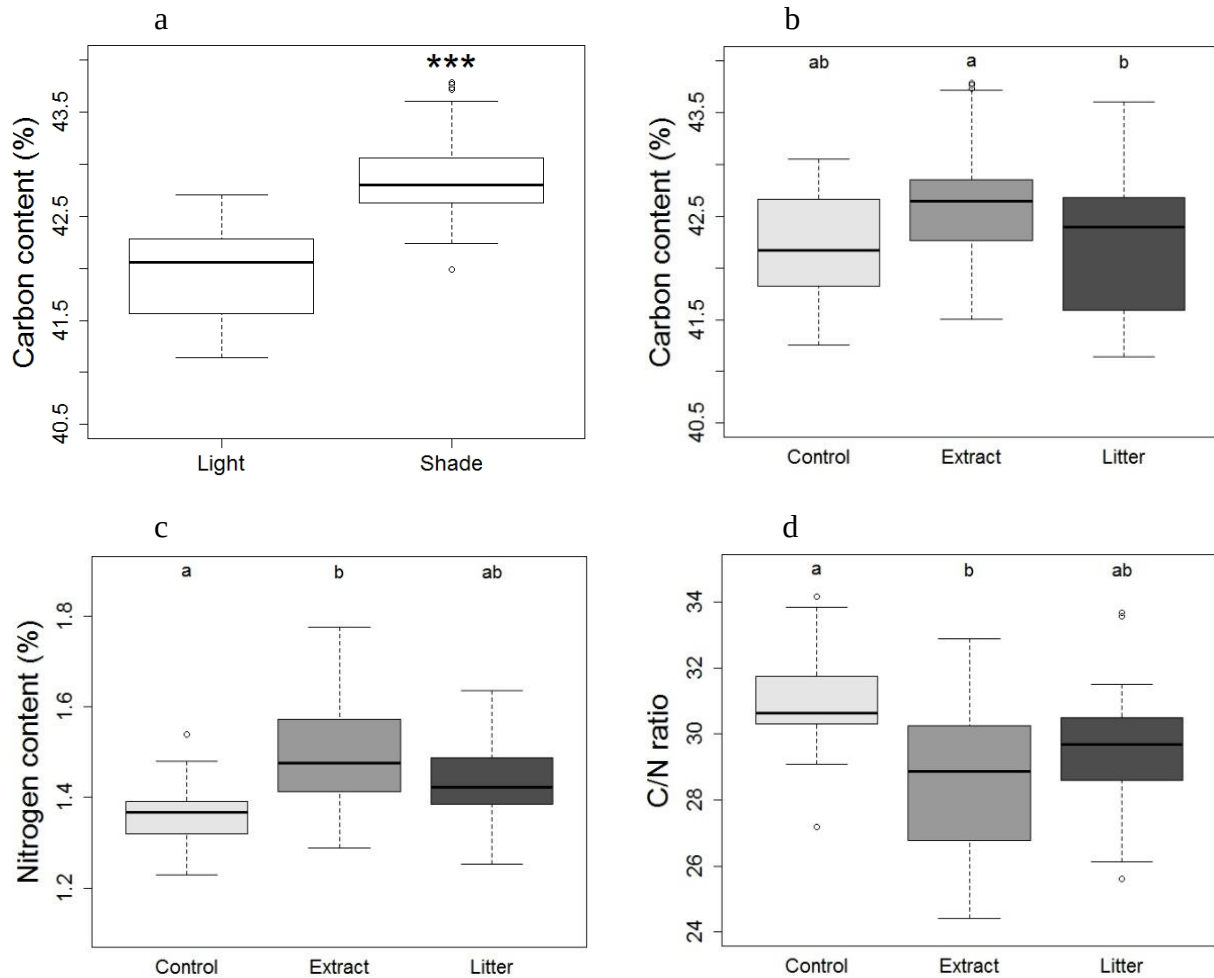


Figure III-3 Carbon (a, b) and Nitrogen content (c) and C/N ratio of *Sphagnum palustre* under light and shade conditions (a) or litters additions (b, c, d). Letters represent significant results with $p < 0.05$.

III.1.1.4 Discussion

Contrary to our first hypothesis, the shading conditions simulated in our experiment had a positive effect on *Sphagnum palustre* biomass (but generally had a negative effect on height). Bonnett *et al.* (2010) showed that shading conditions decreased *Sphagnum capillifolium* biomass, but the shading used was lower (less than $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) than that of our study ($73 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Indeed, it has been shown that *Sphagnum* moss growth decreased under severe shading conditions when field layer plants reduced incident light by more than 50% (Malmer *et al.*, 1994). Murray and his collaborators (1989) demonstrated, however, that a moderate shading could have a positive effect on *Sphagnum* moss growth. The shading conditions in our study simulated a moderate shading that induced a net gain of photosynthesis with an increase

in total biomass. Shading may thus have both a positive and a negative effect on *S. palustre* growth depending on the light intensity. In the field, light availability is further reduced when bryophytes grow beneath a dense cover of plant canopy (Pedersen *et al.* 2001). Heijmans *et al.* (2002) suggested that a high density of vascular plants (at least 60% cover) are required for *Sphagnum* moss growth reduction because of shading. *Molinia caerulea* in La Gnette peatland can cover more than 60% (unpublished data), suggesting that depending on its percentage of cover, *S. palustre* growth may be stimulated or inhibited. Furthermore, when the vascular plant abundance increases, the growth of mosses is probably constrained less by the shading of living plants than by the shading of the accumulated above-ground litter (Malmer *et al.*, 1994). Our second hypothesis was partially confirmed as the water extract resulted in an increase of C and N content. However, increasing the nutrient content did not enhance *Sphagnum* moss growth. An increased N content of *Sphagnum* associated to an absence of increased growth has been interpreted as a limitation in other nutrients (Hoosbeek *et al.*, 2002). Similar to Ma *et al.*, (2015), we report that shading increased C and N content in *Sphagnum* capitula. Our results support the suggestion that N allocation to chlorophyll increased under shaded conditions (Bonnett *et al.*, 2010) and that litter and litter water extract were a significant source of N. N input from the litter was greater than that from the water extract (10- to 80-fold higher). However, confirming our third hypothesis, water extract additions increased C and N content more efficiently in *Sphagnum palustre* than did the litter. This effect was probably due to the fact that N was more readily available. There was no need to decompose the organic matter to mineralise organic N. Finally, we found that *Betula spp* litter had a positive effect on *S. palustre* height that was not observed with the water extract. This unexpected result suggests that compounds present in the litter but not in the water extract may have a positive effect on *S. palustre* growth. Chemical analyses of organic substances from litters and litter water extracts (molecular characterisation through liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometry) and of other nutrients than N (e.g. phosphorus) could provide further information concerning such an effect. Our results have implications for understanding invaded peatland dynamics. When vascular plants start to colonise a site, it may have a positive effect on *Sphagnum* moss growth (at least on *S. palustre*). Then, if the percentage of vascular plant cover exceeds 60%, *Sphagnum* moss growth may be reduced, and this may jeopardize *Sphagnum*-dominated peatland functioning. This suggests a non-linear trend of vegetation change: *Sphagnum* moss biomass may increase just before its dramatic reduction. Finally, the effect of litter water extract on N content of *Sphagnum* species suggests that in such waterlogged environments, the influence of vascular plants on *Sphagnum* mosses may be wider than the area just beneath it. Waterborne molecules

originating from the litter may have an effect far from the plant they originate from. Although less concentrated in water than in solid organic matter, such molecules may be more readily effective as they are soluble. Further long-term experiments are needed to understand how shading and nutrients (including P) interact on *Sphagnum* moss growth and on the chemical composition of litter leachates versus solid organic matter.

Acknowledgements This paper is a contribution to the research conducted in the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01). The authors would like to thank E. Rowley-Jolivet for revision of the English version.

References

- Bergamini, A., Pauli, D., Peintinger, M. & Schmid, B. 2001. Relationships between productivity, number of shoots and number of species in bryophytes and vascular plants. *Journal of Ecology*, 89(6): 920-929.
- Bonnett, S. A. F., Ostle, N. & Freeman, C. 2010. Short-term effect of deep shade and enhanced nitrogen supply on *Sphagnum capillifolium* morphophysiology. *Plant Ecology*, 207(2): 347-358.
- Buttler A., Robroek B.J.M., Laggoun-Défarge F., Jassey V.E.J., Pochelon C., Bernard G., Delarue F., Gogo S., Mariotte P., Mitchell E.A.D., Bragazza L. 2015. Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *Journal of Vegetation Science*, 26(5): 964-974.
- Dieleman, C. M., Branfireun, B. A., McLaughlin, J. W. & Lindo, Z. 2015. Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: Implications for ecosystem function and stability. *Global Change Biology*, 21(1): 388-395.
- Fujii Y., Shibuya T., Nakatani K., Itani T., Hiradate S. & Parvez M. 2004. Assessment method for allelopathic effect from leaf litter leachates. *Weed Biology and Management*, 4(1): 19-23.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F. & Lottier, N. 2011. Invasion of a *Sphagnum*-peatland by *Betula* spp and *Molinia caerulea* impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106(1): 53-69.
- Gorham, E. 1991. Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecological Applications*, 1: 182-185.
- Heijmans, M. M., Klees, H. & Berendse, F. 2002. Competition between *Sphagnum magellanicum* and *Eriophorum angustifolium* as affected by raised CO₂ and increased N deposition. *Oikos*, 97(3): 415-425.
- Holden, J. (2005). Peatland hydrology and carbon release: why small-scale process matters. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 363(1837), 2891-2913.
- Hogg, P., Squires, P. & Fitter, A. H. 1995. Acidification, nitrogen deposition and rapid vegetational change in a small valley mire in Yorkshire. *Biological Conservation*, 71(2): 143-153.
- Hoosbeek, M. R., Van Breemen, N., Vasander, H., Buttler, A., & Berendse, F. 2002. Potassium limits potential growth of bog vegetation under elevated atmospheric CO₂ and N deposition. *Global Change Biology*, 8(11): 1130-1138.

- Ingerpuu, N., Vellak, K., Liira, J. & Pärtel, M. 2003. Relationships between species richness patterns in deciduous forests at the north Estonian limestone escarpment. *Journal of Vegetation Science*, 14(5): 773-780.
- Ingerpuu, N., Liira, J. & Pärtel, M. 2005. Vascular plants facilitated bryophytes in a grassland experiment. *Plant Ecology*, 180(1): 69-75.
- Limpens, J., Berendse, F., Blodau, C., Canadell, J. G., Freeman, C., Holden, J., Roulet, N., Rydin, H. & Schaepman-Strub, G. 2008. Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications - a synthesis. *Biogeosciences*, 5(5): 1475-1491.
- Ma, J. Z., Bu, Z. J., Zheng, X. X., Ge, J. L. & Wang, S. Z. 2015. Effects of shading on relative competitive advantage of three species of *Sphagnum*. *Mires and Peat*, 16: 4.
- Malmer, N., Svensson, B. M., & Wallén, B. 1994. Interactions between *Sphagnum* mosses and field layer vascular plants in the development of peat-forming systems. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 29(4): 483-496.
- Marrs, R. H., Phillips, J. D. P., Todd, P. A., Ghorbani, J. & Le Duc, M. G. 2004. Control of *Molinia caerulea* on upland moors. *Journal of Applied Ecology*, 41(2): 398-411.
- Murray, K. J., Tenhunen, J. D. & Kummerow, J. 1989. Limitations on *Sphagnum* growth and net primary production in the foothills of the Philip Smith Mountains, Alaska. *Oecologia*, 80(2): 256-262.
- Pedersen, B., Hanslin, H. M., & Bakken, S. 2001. Testing for positive density-dependent performance in four bryophyte species. *Ecology*, 82(1): 70-88.
- Rydin, H., Gunnarsson, U. & Sundberg, S. 2006. The role of *Sphagnum* in peatland development and persistence. In: R.K. Wieder & D.H. Vitt, eds. *Boreal peatland ecosystems*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 47-65.
- Rydin, H., Jeglum, J. K. & Jeglum, J. K. 2013. *The biology of peatlands*, 2nd edn.. Oxford University Press.
- Svensson, B. M. (1995). Competition between *Sphagnum fuscum* and *Drosera rotundifolia*: a case of ecosystem engineering. *Oikos*, 205-212.
- Tomassen, H., Smolders, A. J., Lamers, L. P., & Roelofs, J. G. 2003. Stimulated growth of *Betula pubescens* and *Molinia caerulea* on ombrotrophic bogs: role of high levels of atmospheric nitrogen deposition. *Journal of Ecology*, 91(3): 357-370.
- Turunen, J., Tomppo, E., Tolonen, K. & Reinikainen, A. 2002. Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland - application to boreal and subarctic regions. *The Holocene*, 12: 69-80.
- Van der Wal, R., Pearce, I. S., & Brooker, R. W. 2005. Mosses and the struggle for light in a nitrogen-polluted world. *Oecologia*, 142(2): 159-168.
- Van Wijk, M. T., Clemmensen, K. E., Shaver, G. R., Williams, M., Callaghan, T. V., Chapin, F. S., Cornelissen, J. H. C., Gough, L., Hobbie, S. E., Lee, J. A., Michelsen, A., Press, M. C., Richardson, S. J. & Rueth, H. 2004. Long term ecosystem level experiments at Toolik Lake, Alaska, and at Abisko, Northern Sweden: generalizations and differences in ecosystem and plant type responses to global change. *Global Change Biology*, 10(1): 105-123.
- Viel, E., Binet, S., Gogo, S. & Laggoun-Défarge, F. Submitted. Tree invasion controls the drainage pattern in La Guette peatland (France): impact on the water storage capacity of the peat.

III.1.2 Expérience en microcosmes : résultats préliminaires

Comme indiqué précédemment, les résultats de l'expérience en phytotron montrent de potentiels effets bénéfiques des conditions ombragées pour la production de *Sphagnum palustre*. Cependant, avec ces résultats basés sur une étude en laboratoire, il est difficile de considérer les résultats en termes de conditions réelles du fait :

- De l'agar qui a été versé chaud sur la litière, de sorte qu'elle a été "partiellement stérilisé"; et qui a pu limiter le contact des litières avec les sphaignes.
- De la faible luminosité générée par les lampes.

Ainsi cette expérience en laboratoire a été complétée par une expérience utilisant des microcosmes (de 12 cm de hauteur et de diamètre) de *Sphagnum palustre* provenant de la tourbière de La Guette qui ont placés à l'extérieur du laboratoire. Les traitements appliqués sur les microcosmes ont été (i) l'ajout de litières de *Molinia caerulea*, *Betula spp* ou aucune litière (témoin) (ii) placées sous différentes intensité lumineuse : plein soleil (sans ombrage, 100% d'intensité lumineuse), avec un ombrage appelé 'modéré' (équivalent à 27% de l'intensité lumineuse maximale) et un ombrage appelé 'sévère' (équivalent à 16% de l'intensité lumineuse maximale, Fig. III-4), obtenus grâce à différents filets.

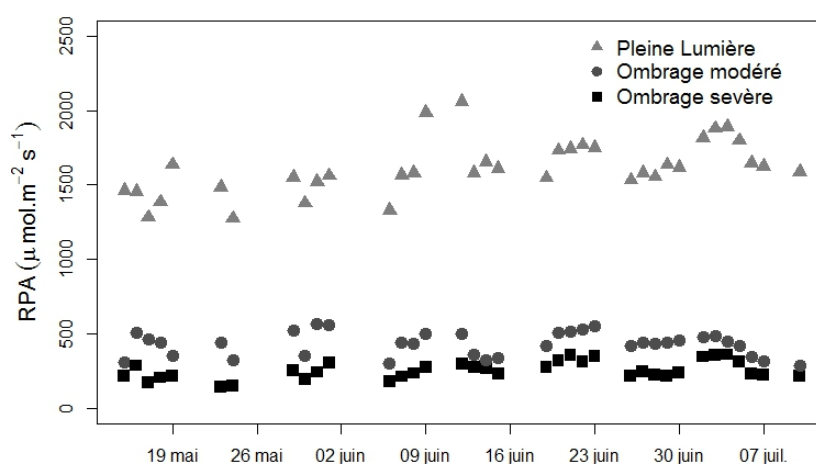


Figure III-4 Rayonnement photosynthétiquement actif (RPA) reçu par les sphaignes en pleine lumière, avec un ombrage modéré et ombrage sévère entre le 15 mai et le 10 juillet. Mesures effectuées à 14 h.

Les différentes intensités lumineuses affectent significativement la croissance des sphaignes (Table III-2) alors que l'ajout des litières des plantes vasculaires n'influe pas la hauteur de *Sphagnum palustre*.

Table III-2 Différences significatives obtenus avec des ANOVAs à deux voies à mesures répétées pour la hauteur de *Sphagnum palustre*. Les différences significatives sont montrées telles que - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

	Significativité		
	Intensité lumineuse	Additions de litières	Interaction
Hauteur des sphaignes	*		

Les deux conditions d'ombrages montrent un effet positif sur la croissance des sphaignes en comparaison de la condition pleine lumière (Fig. III-5).

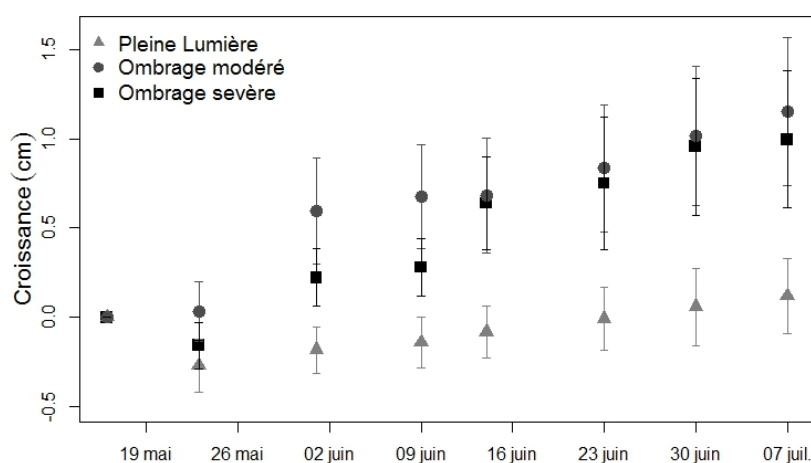


Figure III-5 Croissance des sphaignes sous les traitements pleine lumière, ombrage modéré et ombrage sévère relevé entre 15 mai et le 10 juillet 2017 à 14 h.

Ainsi, même si l'augmentation du recouvrement des plantes vasculaires montre généralement des effets négatifs sur la croissance des sphaignes, les premières données de l'expérimentation en microcosmes, tout comme les résultats obtenus en laboratoire, montrent que l'ombrage a un effet positif sur la croissance des sphaignes. Les bryophytes sont généralement des espèces bien adaptées aux conditions d'ombrage avec la capacité d'optimiser leur croissance en changeant en relocalisant leurs ressources (N pour la production de chlorophylle) sous peu de rayonnement lumineux (Bonnett et al., 2010). La mise en place de ces mécanismes lors de notre expérimentation en microcosmes reste toujours à approfondir notamment par la mesure des teneurs en C et N et en chlorophylle dans les différentes parties des sphaignes.

III.2 Litter decomposition in peatlands is promoted by mixed plants

Fabien Leroy, Sébastien Gogo, Alexandre Buttler, Luca Bragazza, Fatima Laggoun-Défarge

Article publié dans la revue *Journal of Soils and Sediments* (2017)

doi: 10.1007/s11368-017-1820-3

Abstract

The carbon sink function of peatlands is primarily driven by a higher production than decomposition of the litter *Sphagnum* mosses. The observed increase of vascular plants in peatlands could alter the decomposition rate and the carbon (C) cycle through a litter mixing effect, which is still poorly studied. Here, we examine the litter mixing effect of a peat moss (*Sphagnum fallax*) and two vascular plants (*Pinus uncinata* and *Eriophorum vaginatum*) in the field and laboratory-based experiment. During the laboratory incubation, mass loss, CO₂ production and dissolved organic carbon concentration were periodically monitored during 51 days. The collected data were then processed in a C dynamics model. The calculated enzymatic activity was correlated to the measured β -glucosidase activity in the litter. In the field experiment, mass loss and CO₂ production from litter bags were annually measured for three years. Both laboratory and field experiments clearly show that the litter mixture, i.e. *Sphagnum-Pinus-Eriophorum*, had a synergistic effect on decomposition by enhancing the mass loss. Such enhanced mass loss increased the water extractable C and CO₂ production in the litter mixture during the laboratory experiment. The synergistic effect was mainly controlled by the *Sphagnum-Eriophorum* mixture that significantly enhanced both mass loss and CO₂ production. Although the β -glucosidase activity is often considered as a major driver of decomposition, mixing the litters did not cause any increase of the activity of this exo-enzyme in the laboratory experiment suggesting that other enzymes can play an important role in the observed effect. Mixing litters of graminoid and *Sphagnum* species led to a synergistic effect on litter decomposition. In a context of vegetation dynamics in response to environmental change, such a mixing effect could alter the C dynamics at a larger scale. Identifying the key mechanisms responsible for the synergistic effect on litter decomposition, with a specific focus on the enzymatic activities, is crucial to better predict the capacity of peatlands to act as C sinks.

Keywords β -glucosidase • Carbon dynamics models • Catalysis • CO₂ production • Dissolved organic carbon • Litter mixture effect

III.2.1 Introduction

Sphagnum-dominated peatlands accumulate organic matter (OM) as peat at a rate of ca. 20 to 30 g C m⁻² year⁻¹ (Francez 2000; Rydin et al. 2013). At global scale, peatlands are estimated to store about 270 to 547 Pg C as peat (1 Pg = 10¹⁵ g), representing ca. 15-30% of the world's soil carbon (C) stock in an area accounting for only 3-5% of the land surface (Turunen et al. 2002; Yu et al. 2010). This high rate of C accumulation is due to peculiar environmental and soil conditions, i.e. waterlogging, anoxia, acidity, low temperature, and specific plant species composition that ultimately hamper the microbial litter decomposition so resulting in a net accumulation of OM as peat (e.g. Gorham, 1991; Holden, 2005). In particular, *Sphagnum* mosses have a key role for peat accumulation as they are able to create unfavorable conditions for decomposer activities by producing a recalcitrant litter and by promoting waterlogged and acidic conditions (Van Breemen 1995). As a result, *Sphagnum* mosses gain in competitive ability against vascular plants, whose litter is much more easily decomposable (Bragazza et al. 2007, 2009), thereby acting as effective ecosystem engineers (Van Breemen 1995).

Human-induced environmental changes are expected to modify plant species abundance in peatlands, in particular by favoring vascular plants at the expense of *Sphagnum* mosses under a warmer climate (Buttler et al., 2015; Dieleman et al., 2015). Although previous studies have shown that warming can modify the rate of litter decomposition in peatlands (Thormann et al., 2004; Bragazza et al. 2016) and that decomposition rates of *Sphagnum* are lower than those of vascular plants (Hoorens et al., 2010), few studies have addressed the issue of a litter mixture effect in peatlands (Hoorens et al. 2010; Krab et al. 2013; Gogo et al. 2016). Most of the studies on litter decomposition in peatlands have focused on single plant species, although in natural conditions litters mainly consist of a mixture of multiple plant species (Salamanca et al. 1998). Litters in mixture can decompose faster (synergistic effect) or slower (antagonistic effect) than the same litter type alone (non-additive effect (Gartner and Cardon, 2004). Almost 70% of mixed-species litter exhibited non-additive mass loss with a prevalence of synergistic effects (Gartner and Cardon, 2004). Such modifications of the decomposition rate due to litter mixture could affect the imbalance between primary production and decomposition in peatlands in response to a vegetation dynamics and, ultimately, the capacity of peatlands to act as C sinks. Despite the crucial role of litter decomposition in controlling C dynamics and peat accumulation in peatlands, we have still little understanding of how the mixture litter affects decomposition.

As change in leaf litter quality can affect enzyme production by soil microbes (Hu et al. 2006), litter mixture could also change enzyme activities, which may result in a non-additive effect. For example, β -glucosidase is commonly described as an important exo-enzyme involved in C-cycling, and therefore primarily in the decomposition of cellulose (Kourtev et al. 2002; Sinsabaugh et al. 2002), so that it could be a key-player in the non-additive effect of litter mixture. Nevertheless, the role of enzymes in relation to litter decomposition still needs to be elucidated.

In order to understand the effect of a litter mixture of *Sphagnum* mosses and vascular plants on OM decomposition and C dynamics in peatlands, we performed a decomposition experiment under laboratory and field conditions. Experimental laboratory data were then used to calibrate a C dynamics model proposed by Gogo et al. (2014), using three C compartments: the solid (mass loss), the dissolved (Water Extractable Organic Carbon, WEOC) and the gaseous components (CO_2 -C). In this model, the litter is catalyzed by exo-enzymes at a rate “c” to produce soluble organic C, i.e. WEOC, which is used for respiration at a rate “r” by microorganisms. The model gives a catalysis rate for each litter that contributes to overall catalytic activity. The field experiment was performed to assess whether there was agreement between laboratory and field decomposition tests by focusing on mass loss and CO_2 production. Overall, the aims of this work were: (i) to determine the occurrence of a litter mixture effect for three different plant species during decomposition; (ii) to elucidate the role of β -glucosidase activity during litter decomposition; (iii) to relate the catalysis rate from the C dynamics modeling to the activity of hydrolytic enzymes.

III.2.2 Materials and methods

III.2.2.1 Study site and litter sampling

Plant litter material for laboratory and field experiments was collected at the Forbonnet peatland in Frasne (France, N46°49'35" E 6°10'20", 840m). The site is a *Sphagnum*-dominated peatland with a mean annual temperature of 7.5°C and annual rainfall amount of 1400 mm (Laggoun-Défarge et al. 2008; Delarue et al. 2011). The vascular plant cover mainly consists of *Eriophorum vaginatum*, *Scheuchzeria palustris*, *Andromeda polifolia*, *Vaccinium oxycoccos* and *Carex limosa* (Buttler et al. 2015) with a recent increased abundance of trees of the genus *Pinus* in response to a decline in peat water content, as observed in many bogs in the study region (Frelechoux et al. 2000). Overall, the moss layer is primarily dominated by *Sphagnum fallax* and *S. magellanicum*. Litter samples of *Eriophorum vaginatum* (E) and *Pinus uncinata*

(P) were composed, respectively, of senescent leaves and needles. Litter samples of *Sphagnum fallax* (S) corresponded to the decaying part just below the green photosynthesizing apical part (Bragazza et al. 2007). After having been air-dried, sub-samples of each litter type were oven dried at 50°C for 48 hours in order to calculate the dry weight.

III.2.2.2 Laboratory experiment

Sample preparation and incubation - For the laboratory experiment, samples of one gram for seven litter types were prepared. Litter types were formed by single litter of *Sphagnum fallax* (S), *Eriophorum vaginatum* (E) or *Pinus uncinata* (P), and by the following mixtures: *Sphagnum fallax* + *Eriophorum vaginatum* (SE), *Sphagnum fallax* + *Pinus uncinata* (SP), *Pinus uncinata* + *Eriophorum vaginatum* (PE) and *Sphagnum fallax* + *Pinus uncinata* + *Eriophorum vaginatum* (SPE). Litter samples received 20 mL of peatland water overnight in order to inoculate microorganisms (Hoorens et al. 2002). The excess water was removed with a tissue and the litter samples were placed in aluminum cups with small holes at the bottom to allow air circulation. The cups were placed on a 0.4 L pot containing 20 mL of saturated solution of K₂SO₄ to maintain moist conditions. Each pot with its cup was covered with perforated aluminum foil to allow air circulation. All pots were placed in an incubator (Aralab 1200) at 20°C and 95% of relative humidity. A total of 105 litter samples (pots) were prepared in order to have 3 replicates for each of the 7 litter types and 5 periodical harvests. At intervals of 0, 1, 14, 28 and 51 days after incubation, we measured CO₂ production, water extractable organic carbon (WEOC) release, litter mass loss, β -glucosidase activities and C content in 3 replicats of each litter type.

Laboratory measurements - The CO₂ production was measured with a GMP343 Vaisala probe after placing the litter sample (pots) in a 2.34 L chamber. The measurement took 15 minutes. The slope of CO₂ increased over time within the chamber (in $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{mol air}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$) and was used to calculate a cumulative C release (g C g^{-1} initial C litter). The WEOC from each sample was obtained after rinsing the incubated litter three times with 50 mL of distilled water and followed the method described in Delarue et al. (2011). The extract was filtered through a 0.45 μm membrane filter. Dissolved organic carbon (DOC) in water extract was determined with a Shimadzu TOC 5000A (Total Organic Carbon Analyzer). The particles on the 0.45 μm filter and the remaining litter were dried at 50°C during two days and then weighed to obtain the remaining mass (mass loss = initial mass – remaining mass) in g OM g^{-1} initial litter mass. The C in each litter sample was then measured with an elementary analyzer

(Thermo-FLASH 2000 CHNS/O Analyzer). The S, E and P litters contained, respectively, 42.4, 50.9 and 47.7 % of C (Table III-3). These contents were constant in time and between additive (calculated values) and measured values in mixture litter (Table III-3).

Table III-3 C content (%), N content (%) and C:N ratio for the *Sphagnum* (S), *Pinus* (P), *Eriophorum* (E), *Sphagnum-Pinus* (SP), *Sphagnum-Eriophorum* (SE), *Pinus-Eriophorum* (PE) and *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE) litters.

Composition	Litters						
	S	P	E	SP	SE	PE	SPE
C (%)	42.4	50.9	47.7	46.8	45.2	49.7	46.9
N (%)	1.8	1.7	1.9	1.6	1.9	1.9	1.7
C:N	23.7	29.2	25.8	30.1	23.3	26.9	26.8

This normalized the three C pools in g C g⁻¹ initial C litter, thus making possible to input data in the C dynamics models. The activity of β -glucosidase was measured by adding to 0.5 mL of water extracted litter, 3.5 mL of 4-Methylumbelliferyl β -D-glucopyranoside, a substrate for β -glucosidase activities which is transformed into 4-Methylumbelliferone (MUF). After one hour of incubation, the concentration of MUF was determined by fluorescence using an excitation wavelength of 330 nm and an emission wavelength of 450 nm and was compared to standard solution. Measured values obtained in the litter mixtures were compared to calculate additive values (expected) after Hoorens et al. (2010), which are means of the values as measured in the decomposition of the single species litter type.

C dynamic modeling - The experimental design was similar to that published by Gogo et al. (2014, 2016). These authors conceptualized the model assuming that solid OM is catalyzed by exo-enzymes, leading to soluble OM, which is then absorbed by microorganisms and used as an energy source for different microbial functions (enzyme production, maintenance, growth). Then, the soluble organic C is respired and released into the environment in the form of CO₂. The applied model followed Schimel and Weintraub (2003) but was simplified to make it experimentally testable (Supplementary Fig. III-S11). It is composed of three compartments: (i) the “L” compartment corresponding to the C fraction contained in the litter (solid fraction), (ii) the “W” compartment corresponding to the C fraction in the WEOC (dissolved fraction) and (iii) the “G” compartment corresponding to the C fraction in the cumulative CO₂ released by microbial respiration (gaseous fraction). C flow from the L to the W compartment at a rate

corresponding to the exo-enzyme catalysis rate. C flows from the W to the G compartment at a rate corresponding to the respiration rate. Equations describe the simultaneous change in time of the state variable (L, W, and G) and the reaction rates (Gogo et al. 2014; Supplementary Fig. III-S11). At any time, the sum of all these three fractions is equal to 1. The three fractions corresponding to C stocks (solid, soluble, gaseous) were experimentally measured. The catalysis rate “c” and the respiration rate “r” were tuned at the same time to fit the stock values of the model to those experimentally assessed. When the reaction rates are allowed to change in the course of the experiment, the goodness of fit is improved. The reaction rates were allowed to follow a negative exponential decrease with time. The following parameters describe the shape of the curve: “a+b” = the initial reaction rate, “a” = the final rate, “m” = decay rate with time of the reaction rate (Rovira and Rovira, 2010). Observed rates obtained in litter mixture were compared to calculate additive rates, which are means of the catalysis and respiration rates measured in decomposition of the single species litter type. The root mean square error (RMSE) was calculated for each litter type in order to represent model performance. The RMSE is calculated by squaring individual errors, summing them, dividing the sum by their total number (N), and then taking the square root of this quantity:

$$RMSE = \sqrt{\sum \frac{(y_{pred} - y_{meas})^2}{N}}$$

The RMSE was normalized to the mean of observed data and multiplied by 100 to obtain the Normalized Root Mean Square Error (NRMSE) in percentage (%): $NRMSE = 100 \times \frac{RMSE}{\bar{y}}$

III.2.2.3 Field experiment

The litterbag experiment was performed at the Forbonnet peatland in order to annually measure mass loss and CO₂ production during three years of field incubation. Litterbags (0.5 mm mesh) were prepared with one gram of litter of S, P, E and in a mixture of the three species (SPE). For the SPE litter mix, each species contributed equally to the final weight of the litter bag. Litter bags were placed vertically in the moss carpet and buried at 5 cm depth on November 2009 in lawns, which represent the major feature in this bog, avoiding hummocks where there was tree encroachment. Twelve samples were prepared for each of the four litter treatments that were periodically collected after one, two and three years of incubation. Litter mass loss was calculated as percentage of remaining mass of initial litter mass. The CO₂ flux was measured

immediately after collection in a 835 cm³ chamber with a Li-Cor LI-8100 analyser and expressed as fluxes (in µg CO₂ h⁻¹ g⁻¹ dry weight).

III.2.2.4 Statistics

The role of litter mixture in affecting the measured variables was compared to the corresponding additive calculated values (expected) from the litter decomposition of each single species. Two-way ANOVA was applied to investigate differences in the measured variables for both the field and laboratory experiments where the selected factors were “litter types” (observed vs additive) and “time (years or days) of measurements. Post-hoc Tukey’s Honestly Significant Differences tests were performed to determine significant differences within groups. Differences were considered as a trend for $p < 0.1$ (noted with: -) and significant at $p < 0.05$ and referred to by * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$. Modeled curves for temporal changes of variables in the laboratory incubation experiment were calculated from the C dynamics model. All statistical analyses were done using R 3.1.1 software.

III.2.3 Results

III.2.3.1 Laboratory experiment

During the laboratory incubation of the single litter type, *Sphagnum fallax* (S) litter was characterized by a mass loss, DOC release and CO₂ production significantly different compared to *Pinus uncinata* (P) and *Eriophorum vaginatum* (E) litter (Fig. III-6).

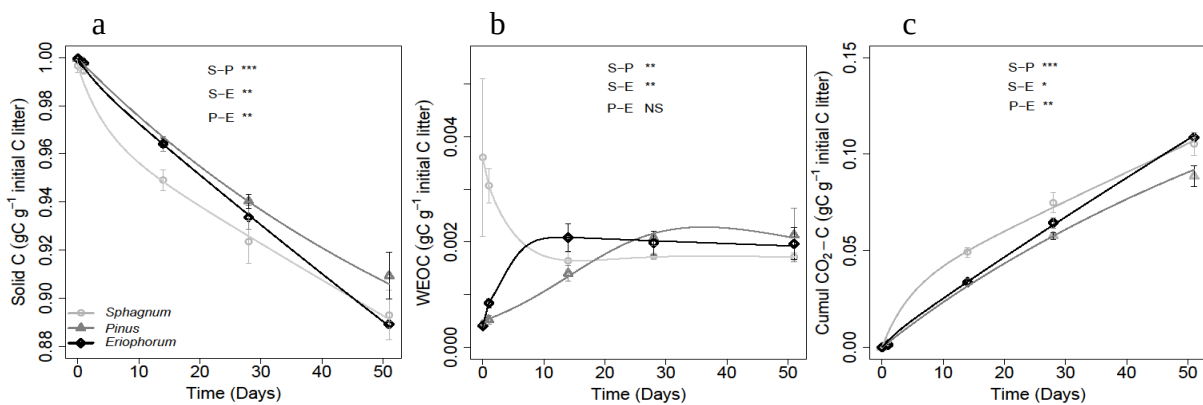


Figure III-6 Mean ($\pm$ SE, $n=3$) remaining solid C (a), water extractable organic carbon (WEOC) (b) and CO₂ - C production (c) in single species litter decomposition of *Sphagnum fallax* (○, S), *Pinus uncinata* (△, P) and *Eriophorum vaginatum* (◇, E) during the laboratory incubation. Lines represent the corresponding fitted curves from the model for each type of litter. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

When compared to the decomposition calculated from the single plant litter (additive mean values), the observed *Sphagnum* + *Pinus* + *Eriophorum* (SPE) mixture showed a significantly higher mass loss (i.e. lower remaining C) ($p < 0.001$), a higher WEOC ($p < 0.05$) as well as a higher production of CO_2 ($p: 0.063$) (Fig. III-7). The litter mixture of *Sphagnum* + *Eriophorum* (SE) significantly ($p < 0.001$) increased mass loss and CO_2 production by 13% after 51 days of incubation, as compared to the additive effect (Fig. III-7, Table III-4). The C dynamics in the SP and PE mixtures did not significantly differ from the additive effect of the single species (Fig. III-7, Table III-4) although the litter mixture of *Pinus* and *Eriophorum* (PE) showed a tendency to decrease litter mass loss and CO_2 production ($p: 0.069$ and 0.097 , respectively).

Table III-4 Levels of significance from the post-hoc tests for comparison of *Sphagnum-Pinus* (SP), *Sphagnum-Eriophorum* (SE), *Pinus-Eriophorum* (PE) and *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE) litter mixture effect (additive vs observed) by incubation time on the remaining solid C, water extractable organic carbon (WEOC) and cumulated CO_2 - C production during the laboratory experiments. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

		Main effect			Post hoc test				
		Litter (expected observed)	type vs	Time (days)	0	1	14	28	51
SP	Solid C			***					
	WEOC	-							
	Cumul CO_2 - C			* * *					
SE	Solid C	***		***					***
	WEOC								
	Cumul CO_2 - C	***		***					***
PE	Solid C	-		***					
	WEOC			***					
	Cumul CO_2 - C	-		***					
SPE	Solid C	*		***					
	WEOC	*		***					
	Cumul CO_2 - C	-		***					

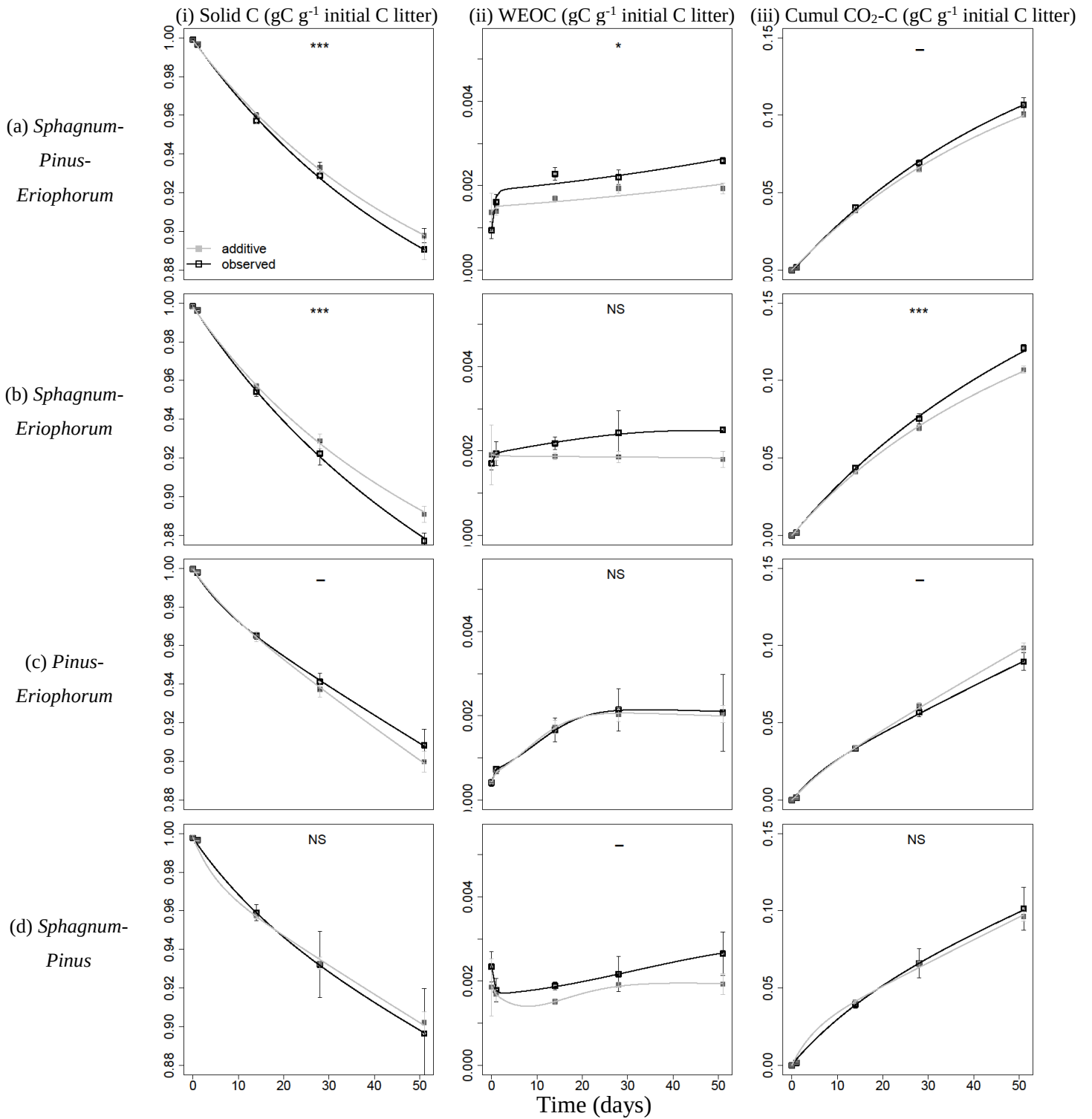


Figure III-7 Additive (■) and observed (□) mean (±SE, n=3) of remaining solid C (i), WEOC (ii) and cumulative CO₂ - C (iii) of *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (a), *Sphagnum-Eriophorum* (b), *Pinus-Eriophorum* (c) and *Sphagnum-Pinus* (d) litter mixture decomposition during the laboratory incubation. Additive values are the weighed means from the values measured in the decomposition of the single species litter. Lines represent the corresponding fitted curves from the model. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - p < 0.1, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001).

III.2.3.2 Field experiment

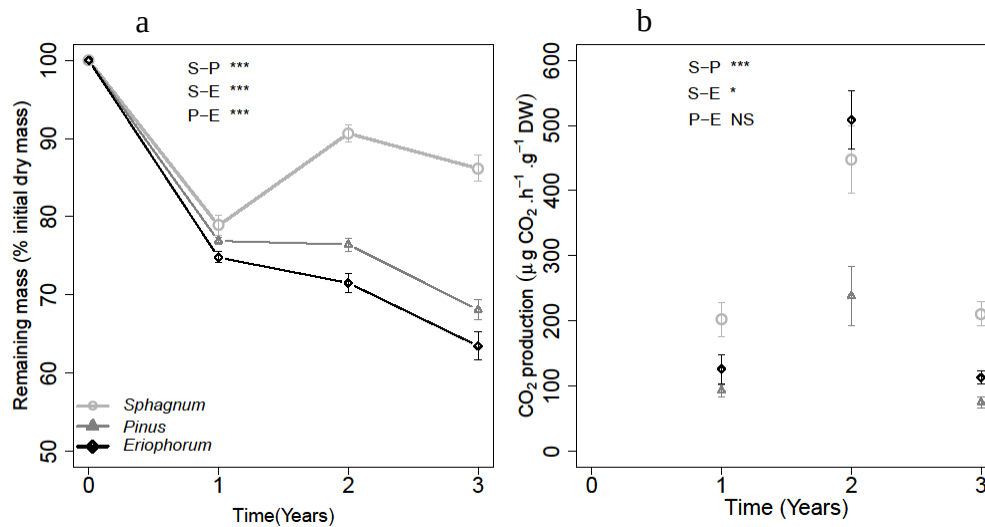


Figure III-8 Mean ($\pm$ SE, n=12) remaining mass (a) and CO₂ production (b) of *Sphagnum fallax* (○, S), *Pinus uncinata* (Δ, P) and *Eriophorum vaginatum* (◇, E) litter from field litter bags experiment. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

After three years of field incubation, the decomposition of single litter of *S. fallax* was slower than that of vascular plants ($p < 0.001$) (Fig. III-8, Table III-5). *S. fallax* litter showed significant differences for CO₂ production compared to *Pinus uncinata* ($p < 0.001$) and *Eriophorum* litter ($p < 0.05$).

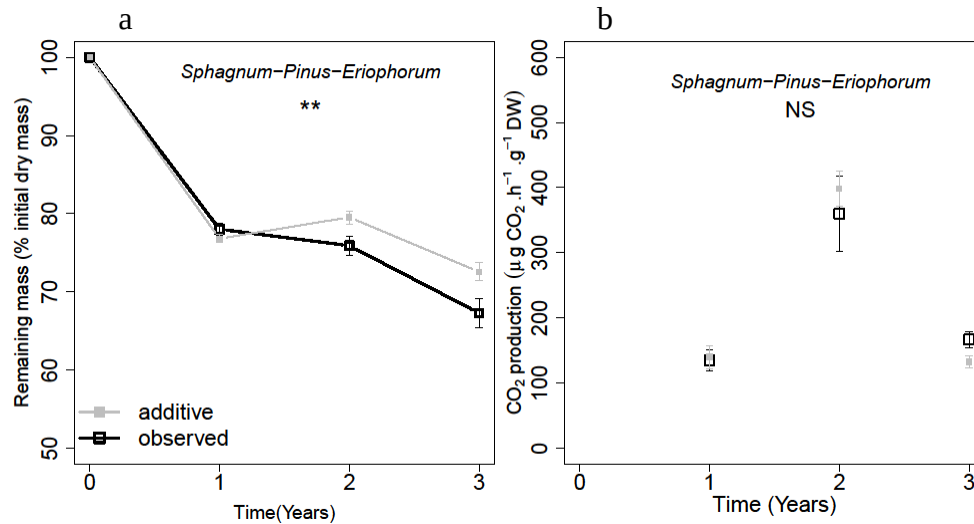


Figure III-9 Additive (■) and observed (□) mean ($\pm$ SE, n=12) of remaining litter mass (a) and CO₂ production (b) from litter mixtures of *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE) during field litter bags experiment. Additive values were calculated as the weighed mean of the values from litter decomposition of single plant species litter. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

There was a significant effect of litter mixture during field decomposition, with a mass loss higher (ca. 19%) than that expected from the single species additive effect ($p < 0.01$) (Fig. III-9), while the CO₂ production in the mixture litter did not differ from the additive effect (Fig. III-9, Table III-5).

Table III-5 Levels of significance from the post-hoc tests for comparison of *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE) litter mixture effect (additive vs observed) by incubation time on the remaining solid C and CO₂ production during the field experiments. Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

		Main effect	Post hoc test			
		Litter type (expected vs observed)	Time (years)	1	2	3
SPE	Solid C	**	***			*
	CO ₂ production		***			

III.2.3.3 Catalysis of C dynamics models and β -glucosidase activities

The model fitted well the measured values with a lower NRMSE (sum between 2.82 and 9.41 %; Supplementary Table SIII-7) compared to Gogo et al. (2014). The catalysis rate decreased with incubation time in each litter type (Table III-6). In *Sphagnum* litter, this rate was initially very fast and decreased rapidly to become slower than vascular plant litters. The catalysis rates measured in *Sphagnum-Eriophorum* (SE) and *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE) mixtures were always greater than expected from the mean of single litter species at each time of measurement (Table III-6). This corresponded to higher C mass loss, WEOC and CO₂ production.

Table III-6 Catalysis rate (mg C gC⁻¹ d⁻¹) obtained from the C-fluxes model over time for *Sphagnum* (S), *Pinus* (P), *Eriophorum* (E), *Sphagnum-Pinus* (SP), *Sphagnum-Eriophorum* (SE), *Pinus-Eriophorum* (PE) and *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* (SPE). The model was calibrated with data from the laboratory incubation experiment. Calculate additive rates values are means from the catalysis rates measured in the decomposition of the single species litter.

Litters		Time (days)				
		0	1	14	28	51
S		7.87	6.61	1.91	1.66	1.65
P		2.57	2.54	2.18	1.84	1.40
E		4.02	3.51	2.22	2.20	2.20
SP	observed	3.44	3.33	2.34	1.84	1.54
	additive	3.05	5.18	1.83	1.62	1.61
SE	observed	3.57	3.51	2.86	2.34	1.77
	additive	3.41	3.34	2.57	2.00	1.44
PE	observed	3.79	3.5	1.87	1.62	1.59
	additive	3.47	3.26	2.08	1.88	1.85
SPE	observed	3.29	3.23	2.63	2.11	1.46
	additive	3.10	3.05	2.45	1.93	1.31

At the beginning of incubation, β -glucosidase activity was similar in all litter types but afterward it significantly increased in *Eriophorum* and *Pinus* litters, while remaining constant in *Sphagnum* litter (Supplementary Fig. III-S12). Mixing litters did not affect β -glucosidase activities so that there were no significant differences between observed and calculated additive values (Fig. III-10). Overall, β -glucosidase activities increased with incubation time, whereas

the catalysis rate decreased (Fig. III-10; Table III-6) so that the catalysis rate was inversely correlated to the β -glucosidase activity (r^2 : 0.52; $p < 0.001$; Supplementary Fig. III-S13).

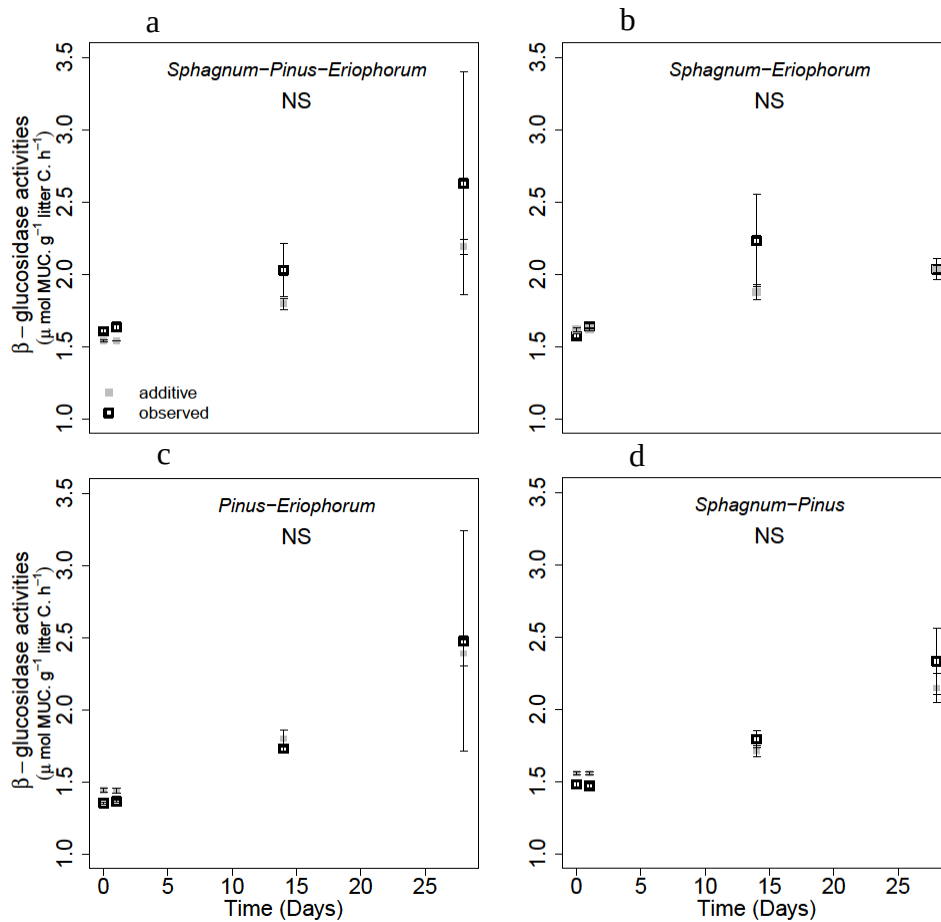


Figure III-10 Additive (■) and observed (□) β -glucosidase activities of *Sphagnum-Pinus-Eriophorum*, *Sphagnum-Eriophorum*, *Pinus-Eriophorum* and *Sphagnum-Pinus* litter mixtures ($\pm$ SD, $n=3$). Asterisks represent significant differences (NS = not significant, - $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Only values from 0 to 28 days of incubation are given because a contamination occurred for the β -glucosidase activities samples at 51 days.

III.2.4 Discussion

III.2.4.1 Occurrence of a synergistic effect

The laboratory incubation experiment clearly showed that the litter mixture of *Sphagnum-Eriophorum* as well as *Sphagnum-Pinus-Eriophorum* had a synergistic effect on mass loss and CO_2 production compared to the corresponding additive effect. Similar results were obtained with a mixture of *Sphagnum* litter and graminoid species (Hoorens et al. 2002; Gogo et al. 2016). Such synergistic interaction on decomposition has been explained by differences in litter chemistry such as N concentration (Hoorens et al. 2002). However, similar N concentration

was found in our litter types. Mixing different litters can produce both chemical diversity and microhabitat complexity so supplying an increased diversity of substrates to the decomposers (Gartner and Cardon, 2004). Also, special attention in future studies should be devoted to the improvement of microclimatic condition such as the water content of individual litter in mixture through water flow from the wettest to the driest litter. The hypothesis is that through such water flow the conditions are improved in the driest litter, without decreasing to large extent the conditions of the wettest litter (Gogo et al., 2017).

The field experiment also showed an increase of decomposition by mixing *Sphagnum* + *Eriophorum* + *Pinus* litter. *Sphagnum fallax* decomposed at a slower rate than *Pinus uncinata* and *Eriophorum vaginatum* litter as observed elsewhere by Hobbie (1996). Curiously, we expected to have higher CO₂ production in combination with higher litter mass loss, but, instead, the highest CO₂ production was measured in *Sphagnum* litter with the slowest mass loss. The high capacity of *Sphagnum* litter to maintain capillary water could have contributed to retaining water that had previously percolated through the upper photosynthetically active centimeters of the *Sphagnum* carpet. This percolating water may have been enriched in labile C that could stimulate CO₂ production. Furthermore, the capillary structure of *Sphagnum* is known to host rich microbial communities, including microbial predators, i.e. amoebae (Jassey et al., 2013) in the living apical part and we cannot exclude the possibility that this might have affected the decaying part in the long field run. This could explain the decoupling observed between mass loss and respiration rate.

Laboratory incubation was a short experiment in which environmental factors and C input and output were well controlled. Conversely, field experiments spanned over three years and thus represent litter mass loss as it occurs in natural field conditions. In both laboratory and field experiments, mixing *Sphagnum* with *Eriophorum* and *Pinus* litter had a synergistic effect on litter decomposition. Such non-additive effects have already been reported for other ecosystems (Wu et al. 2013; Zhang et al. 2014), although the reasons are still unclear. Many studies have tried to explain such an effect by nutrient exchanges between litters (Vos et al. 2013), litter chemical quality (Meier and Bowman 2010) or changes in habitat characteristics (Lecerf et al. 2011). Nevertheless, only very few studies have addressed this effect at microbial scale and established links between microbial communities and litter decomposition (Chapman et al. 2013).

III.2.4.2 Role of β -glucosidase in early C dynamics the early decomposition stages

Contrary to our hypothesis, no significant increases were noticed in β -glucosidase activity between the observed and the additive values during the laboratory experiment, suggesting that, at least in the early stages of decomposition (i.e. the first 28^h days), the synergistic mixture effect does not originate from the stimulation of this hydrolytic enzyme.

By comparing the measured enzymatic activities to the modeled catalysis rates, the *Sphagnum* litter showed values similar to those obtained by Gogo et al. (2014) and Gogo et al. (2016), with a fast rate in the early stage of decomposition, and slower but constant values thereafter ($< 0.002 \text{ gC.g}^{-1}\text{C.d}^{-1}$). Contrary to our hypothesis, a negative link was established between modeled catalysis rates and β -glucosidase activities. Such a link between litter enzyme activities and decomposition rates was already assessed with hydrolases and the results showed that this relationship was weak (Allison and Vitousek, 2004). These authors suggested that mass loss occurred independently of enzyme activities with compounds that may leached out of the litter. As this last one, the really different litter types could not allowed to connect the enzymes activities with the decomposition rates. Furthermore, fast catalysis rate in the initial decomposition stage was not related to the β -glucosidase activity but maybe more to the phenol oxidase activity particularly in the case of *Sphagnum* litter (Sinsabaugh et al. 2002). Indeed, it has been shown that phenol oxidase enzymes by degrading inhibitory phenolic compounds, allow other enzymes to act on soil organic C and as a consequence regulate the stability of a vast C store in the soil following the hypothesis of ‘enzyme latch’ mechanism (Freeman et al., 2001).

Linking microbial extracellular enzyme production and litter decomposition modeled catalysis rates could provide information on the mechanisms of decomposition and non-additive effect (Sinsabaugh et al. 2002). However, using different litter types (which can change litter quality, nutrient availability and pH) such a correlation could not be demonstrated. Enzymatic degradation is still necessary to degrade complex and insoluble litter compound and relating modeled catalysis rates and enzymatic activities are likely to provide powerful models that remains poorly understood.

III.2.4.3 Sensitivity of the WEOC compartment

Mixing *Sphagnum* with *Pinus* litters did not increase OM decomposition but affected the WEOC compartment, i.e. the dissolved C pool in the laboratory-based experiment. This

dissolved fraction described as the pool that is mostly sensitive to any modification in litter decomposition (e.g. Gogo et al. 2014) is considered as a transitory compartment between solid and gaseous pools, which contains a low C-content compared to the other pools. Thus, an increase in litter decomposition would have a strong effect on this compartment as observed for the *Sphagnum-Eriophorum-Pinus* litter mixture. The *Sphagnum-Eriophorum* mixture did not increase the WEOC content as this pool is a ‘dynamic’ compartment that is rapidly transformed into a gaseous C pool. The WEOC increase in *Sphagnum-Pinus* litter could indicate a modification in litter decomposition, which was still not perceived in the solid or gaseous compartments however.

III.2.4.4 Implication in a scenario of vegetation dynamics

Like Hoorens et al. (2002) and Gogo et al. (2016), our study showed that mixing graminoid and *Sphagnum* litters together induces a synergistic effect on decomposition. This has important implication for estimating litter decomposition rates in peatlands. These species-specific interactions appeared to be modulated by the changing climate through modifications of litter chemistry (Hoorens et al., 2002). In the context of global change and its role in causing a shift in the relative abundance of *Sphagnum* and vascular plants in peatlands (Dieleman et al., 2015), synergistic effects of mixed litters on decomposition is likely to play a critical role for the C dynamics at ecosystem level.

III.2.5 Conclusions

On the global scale, the C-sink capacity of *Sphagnum* peatlands could be affected by the litter mixture effect. This calls for further studies on non-additive effects of litter mixture, with a focus on elucidating the specific enzymatic mechanisms behind such interactions, with the ultimate goal of incorporating them in global biogeochemical models.

Acknowledgement This work was funded as part of the PEATWARM initiative through an ANR (French National Agency for Research) grant (ANR-07-VUL-010) and was also supported by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01). The authors gratefully acknowledge the financial support provided to the PIVOTS project by the Région Centre – Val de Loire (ARD 2020 program and CPER 2015 -2020). The authors are also indebted to the Regional Scientific Council of Natural Heritage of the Franche-Comte Region for permitting access to Le Forbonnet site. The authors would like to thank E. Rowley-Jolivet for revision of the English version.

References

- Allison S, Vitousek P (2004) Extracellular enzyme activities and carbon chemistry as drivers of tropical plant litter decomposition. *Biotropica* 36(3): 285-296.
- Bragazza L, Siffi C, Iacumin P, Gerdol R (2007) Mass loss and nutrient release during litter decay in peatland: the role of microbial adaptability to litter chemistry. *Soil Biol Biochem* 39(1):257-267
- Bragazza L, Buttler A, Siegenthaler A, Mitchell E (2009) Plant litter decomposition and nutrient release in peatlands. In: “Carbon cycling in Northern peatlands”, edited by: Baird A, Belyea L, Comas X, Reeve R, Slater L. *Geophysical Monograph*. 184:99-110
- Bragazza L, Buttler A, Robroek BJM, Albrecht R, Zacccone C, Jassey VEJ, Signarbieux C (2016) Persistent high temperature and low precipitation reduce peat carbon accumulation. *Glob Ch Biol* 22, 4114–4123
- Buttler A, Robroek B, Laggoun-Défarge F, Jassey V, Pochelon C, Bernard G, Delarue F, Gogo S, Mariotte P, Mitchell E, Bragazza L (2015) Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *J Veg Sci* 26(5):964-974
- Chapman S, Newman G, Hart S, Schweitzer J, Koch G (2013) Leaf litter mixtures alter microbial community development: mechanisms for non-additive effects in litter decomposition. *PLoS ONE* 8(4):e62671
- Delarue F, Laggoun-Défarge F, Buttler A, Gogo S, Jassey V, Disnar J-R (2011) Effects of short-term ecosystem experimental warming on water-extractable organic matter in an ombrotrophic *Sphagnum*-peatland. *Org Geochem* 42:1016-1024
- Dieleman, C, Branfireun B, McLaughlin J, Lindo Z (2015) Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: implications for ecosystem function and stability. *Glob Change Biol* 21(1):388-395
- Francez A-J (2000) La dynamique du carbone dans les tourbières à *Sphagnum*, de la sphaigne à l’effet de serre. *Année Biologique* 39:205-270
- Frelechoux F, Buttler A, Gillet F (2000) Dynamics of bog pine dominated mire in the Jura mountains, Switzerland: a tentative scheme based on synusial phytosociology. *Folia Geobotanica* 35(3):273-288
- Gartner, T. B., & Cardon, Z. G. (2004). Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, 104(2), 230-246.
- Gogo S, Francez A-J, Laggoun-Défarge F, Gouélibo N, Delarue F, Lottier N (2014) Simultaneous estimation of actual litter enzymatic catalysis and respiration rates with a simple model of C dynamics of *Sphagnum*-Dominated peatlands. *Ecosystems* 17(2):302-316
- Gogo S, Laggoun-Défarge F, Merzouki F, Mounier S, Guirimand-Dufour A, Jozja N, Huguet A, Delarue F, Défarge C (2016) In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* litters. *J Soils Sediments* 16(1):13-27
- Gogo S, Leroy F, Zocatelli R, Bernard-Jannin L, Laggoun-Défarge F (2017) Role of litter decomposition sensitivity to water content in non-additive litter mixture effect: theoretical demonstration and validation with a peatland litter experiment. *Geophysical Research Abstract* 19: EGU2017-12297, EGU general assembly 2017
- Gorham, E. (1991). Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecological applications*, 1(2), 182-195.
- Hobbie S (1996) Temperature and plant species control over litter decomposition in Alaska tundra. *Ecol Monogr* 66(4):503-522

- Hoorens B, Stroetenga M, Aerts R (2010) Litter mixture interactions at the levels of plant functional types are additive. *Ecosystems* 13:90-98
- Hoorens B, Aerts R, Stroetenga M (2002) Litter quality and interactive effects in litter mixtures: more negative interactions under elevated CO₂? *J Ecol* 90:1009-1016
- Hu Y, Wang S, Zeng D (2006) Effects of single Chinese fir and mixed leaf litters on soil chemical, microbial properties and soil enzyme activities. *Plant Soil* 282(1-2):379-386
- Jassey V, Chiapusio G, Binet P, Buttler A, Laggoun-Défarge F, Delarue F, Bernard N, Mitchell E, Toussaint M-L, Francez A-J, Gilbert D (2013) Above- and belowground linkages in Sphagnum-peatland: climate warming affects plant-microbial interactions. *Glob Change Biol* 19:811-823
- Kourtev P, Ehrenfeld J, Huang W (2002) Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. *Soil Biol Biochem* 34(9):1207-1218
- Krab E, Berg M, Aerts R, van Logtestijn R, Cornelissen J (2013) Vascular plant litter input in subarctic peat bogs changes Collembola diets and decomposition patterns. *Soil Biol Biochem* 63:106-115
- Laggoun-Défarge F, Gilbert D, Buttler A, Epron D, Francez, A-J, Grasset L, Guimbaud C, Mitchell E, Roy J-C (2008) Effects of experimental warming on carbon sink function of a temperate pristine mire: the PEATWARM project. *Proceedings of 13th International Peat Society Congress, June 2008, Tullamore, Ireland*, pp 599-602
- Lecerf A, Marie G, Kominoski J, Leroy C, Bernadet C, Swan C (2011) Incubation time, functional litter diversity, and habitat characteristics predict litter-mixing effects on decomposition. *Ecology* 92:160-169
- Limpens J, Berendse F, Blodau C, Canadell J, Freeman C, Holden J, Roulet N, Rydin H, Schaepman-Strub G (2008) Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications - a synthesis. *Biogeosciences* 5:1475-1491
- Meier C, Bowman W (2010) Chemical composition and diversity influence non-additive effects of litter mixtures on soil carbon and nitrogen cycling: implications for plant species loss. *Soil Biol Biochem* 42:1447-1454
- Rovira P, Rovira R (2010) Fitting litter decomposition datasets to mathematical curves: towards a generalised exponential approach. *Geoderma* 155:529-543
- Rydin H, Jeglum J, Jeglum, J (2013) *The biology of peatlands*, 2nd ed. Oxford University Press
- Salamanca E F, Kaneko N, Katagiri S (1998) Effects of leaf litter mixtures on the decomposition of *Quercus serrata* and *Pinus densiflora* using field and laboratory microcosm methods. *Ecol Eng* 10(1):53-73
- Schimel J, Weintraub, M (2003) The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biol Biochem* 35(4):549-563
- Sinsabaugh R, Carreiro M, Alvarez S (2002) Enzyme and microbial dynamics of litter decomposition. *Enzymes in the Environment, Activity, Ecology and Applications*. Marcel Dekker, New York, Basel, pp 249-265
- Strakova P, Niemi R, Freeman C, Peltoniemi K, Toberman H, Heiskanen I, Fritze H, Laiho R (2011) Litter type affects the activity of aerobic decomposers in a boreal peatland more than site nutrient and water table regimes. *Biogeosciences* 8:2741-2755
- Thormann M, Bayley S, Currah R (2004) Microcosm tests of the effects of temperature and microbial species number on the decomposition of *Carex aquatilis* and *Sphagnum fuscum* litter from southern boreal peatlands. *Canadian journal of microbiology* 50(10): 793-802.
- Turunen J, Tomppo E, Tolonen K, Reinikainen A (2002) Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland-application to boreal and subarctic regions. *The Holocene* 12:69-80

- Van Breemen N (1995) How Sphagnum bogs down other plants. Trends Ecol Evol 10:270-275
- Vos V, Van Ruijven J, Berg M, Peeters E, Berendse F (2013) Leaf litter quality drives litter mixing effects through complementary resource use among detritivores. Oecologia 173:269-280
- Wu D, Li T, Wan S (2013) Time and litter species composition affect litter-mixing effects on decomposition rates. Plant Soil 371(1-2):355-366
- Yu Z, Loisel J, Brosseau D, Beilman D, & Hunt S (2010) Global peatland dynamics since the Last Glacial Maximum. Geophys Res Lett 37(13)
- Zhang L, Wang H, Zou J, Rogers W, Siemann E (2014) Non-native plant litter enhances soil carbon dioxide emissions in an invaded annual grassland. PLoS one 9(3):e92301

Supplementary data

Table III-S7 Percentage normalized root mean square error (% NRMSE) for the solid (L), dissolved (W), gaseous (G) pools and the sum of them for the *Sphagnum* (S), *Pinus* (P), *Eriophorum* (E), *Sphagnum-Pinus* (SP), *Sphagnum-Eriophorum* (SE), *Pinus-Eriophorum* (PE) and *Sphagnum-Pinus -Eriophorum* (SPE) models of C dynamics.

Pools	Litters						
	S	P	E	SP	SE	PE	SPE
L	0.28	0.19	0.11	0.11	0.13	0.09	0.1
W	0.28	4.08	1.89	0.19	0.48	0.84	5.54
G	5.75	5.14	2.49	2.52	2.52	2.51	1.98
Sum	6.31	9.41	4.49	2.82	3.13	3.45	7.61

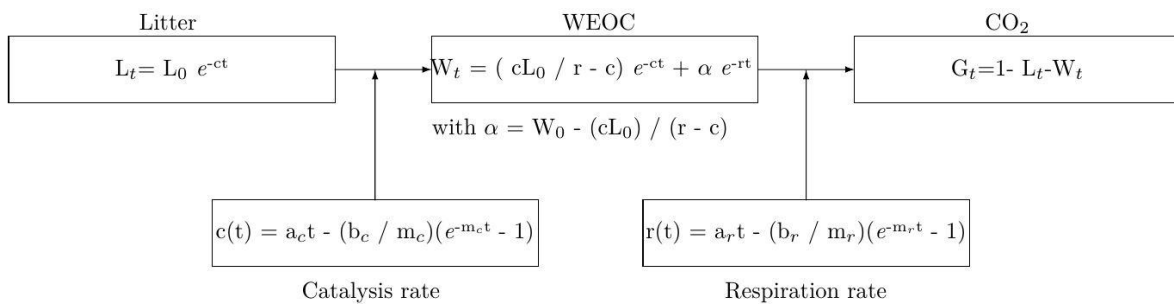


Figure III-11 Model of the C flow in the litter decomposition process. Three compartments corresponding to the solid (litter), aqueous (WEOC), and gaseous (cumulative C-CO₂ respired) forms of C are indicated. Solid lines indicate the rates of catalysis and respiration. The L pool flows into the WEOC at the catalysis rate “c” and the WEOC is respired at the rate “r” (adapted from Gogo et al. 2014).

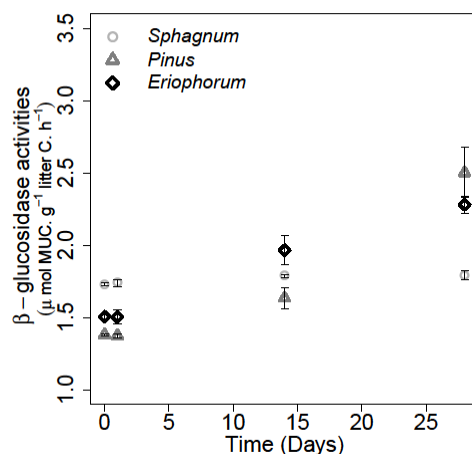


Figure III-S12 β -glucosidase activities in *Sphagnum* ($\circ$), *Pinus* (Δ) and *Eriophorum* ($\diamond$) litter during the laboratory incubation ($\pm$ SD, $n=3$). Only values from 0 to 28 days of incubation are given because a contamination occurred for the β -glucosidase activities samples at 51 days.

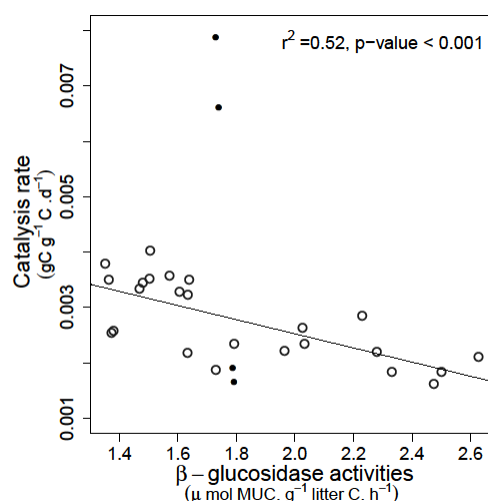


Figure III-S13 Linear regression between catalysis rates and β -glucosidase activities. Each point represents the β -glucosidase activities measured associated to the catalysis rate obtained for each litter type at a time t . The r^2 was calculated with all litters at the exception of *Sphagnum* ones ($\bullet$).

IV. Caractérisation moléculaire et dissoutes de la matière organique suite à l'invasion de *Molinia caerulea*

Préambule

Alors que l'accumulation de la tourbe est due à une faible décomposition de la matière organique, les litières des plantes vasculaires présentes au sein des tourbières affichent généralement une décomposition plus rapide que celle des sphaignes (Chap. II, Thormann et al., 2001). Ces différences de décomposition sont généralement imputées à des changements chimiques et structuraux des litières (Verhoeven et Toth, 1995). De telles modifications des litières altèrent la composition de la matière organique (MO) de la tourbe, dépendante de l'apport des litières, et peuvent également avoir de nombreuses implications sur l'environnement physique et chimique du sol et sur la dynamique et la structure des communautés végétales dans les tourbières (Facelli et Pickett 1991 ; Weltzin et al., 2005). Ainsi, les litières des plantes vasculaires constituent une source importante de C dans les tourbières pouvant affecter les processus écosystémiques. De plus, les racines des plantes vasculaires apportent du C labile, via leur exsudats racinaires, capable de fortement altérer les processus souterrains en modifiant les communautés microbiennes et la décomposition de la matière organique (Robroeck et al., 2015). De telles modifications des sources de C, via les litières ou les exsudats racinaires, liées à l'invasion des plantes vasculaires, pourraient ainsi avoir de fortes implications sur les processus régissant le fonctionnement des tourbières. Ainsi, la problématique principale de ce chapitre est de déterminer

Quelles sont les modifications provoquées par l'envahissement des tourbières par les végétaux vasculaires sur la composition chimique de la MO aérienne et souterraine (caractérisations et implications potentielles) ?

L'objectif principal de ce chapitre est d'étudier comment les nouvelles sources de substrats carbonés, apportés via les exsudats racinaires et les litières des plantes vasculaires, peuvent impacter la composition de la MO. Pour répondre à cet objectif, deux parties sont présentées dans ce chapitre :

- la première partie, intitulée «**Dynamique des 5-n-alkylresorcinols de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et leur potentiel allélopathique**», porte sur l'évolution des teneurs des 5-n-alkylresorcinols extraits des feuilles de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et leur potentiel rôle sur la croissance et la germination de la plante. Les 5-n-alkylresorcinols (ARs) sont une famille de molécules lipidiques qui ont été identifiés dans

Molinia caerulea dans le cadre des projets PRINCIPASOL¹ et ECOSMETOCENTRE² et qui ont déjà montré par ailleurs un caractère allélopathique dans deux autres poacées (*Dactylis glomerata* et *Phleum subulatum*) en induisant une autostimulation de leur germination et leur croissance (Scognamiglio et al., 2011). Dans notre cas, l'idée est de vérifier si ce caractère allélopathique peut également agir sur les graines de *Molinia caerulea* et potentiellement jouer un rôle dans sa capacité à envahir les tourbières via une autostimulation de sa germination et de sa croissance. Ainsi, les objectifs de la première partie de ce chapitre sont (i) de quantifier les teneurs en ARs contenues dans les feuilles de *Molinia caerulea*, (ii) identifier les conditions environnementales pouvant déterminer leurs concentrations (iii) et tester l'effet de ces molécules sur la germination des graines de *Molinia caerulea* et sa croissance. Pour répondre au premier objectif, des feuilles de *Molinia caerulea* provenant de la tourbière de La Guette ont été récoltées entre avril et décembre 2014 pour quantifier, en chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse, les homologues de la famille de 5-n-alkylrésorcinols. La variation de ces concentrations a été confrontée à celle des conditions environnementales (rayonnement lumineux, température de l'air et du sol et niveau de la nappe d'eau) afin de répondre au second objectif. Enfin pour répondre au troisième objectif, des graines de *Molinia caerulea* ont été récoltées dans la tourbière de La Guette pour réaliser des tests de germination en présence des principaux ARs retrouvés dans *Molinia caerulea*.

- la seconde partie de ce chapitre intitulé «**Effets des plantes vasculaires sur la composition de la matière organique dissoute des tourbières à sphaignes**» est focalisée sur l'étude de la matière organique dissoute (MOD) dans des mésocosmes à sphaignes en présence ou non de *Molinia caerulea*. En effet, le pool dissout est un pool sensible aux modifications de sources organiques et peut agir comme une sentinelle du changement de qualité et de quantité d'apport de MO en réponse à une modification des communautés végétales (Robroek et al.,

¹ PRINCIPASOL (2010-2012) est un projet collaboratif coordonné par l'ISTO (F. Laggoun) portant sur l'utilisation potentielle et raisonnée de la biodiversité locale des zones humides permettant d'avoir accès à des principes actifs innovants dans le domaine de la Cosmétique, de la Pharmacie, de l'Agro-alimentaire, voire de l'Eco-construction. Il a été financé par le Conseil général du Loiret et le FEDER.

² ECOSMETOCENTRE (2013-2016) est un projet collaboratif coordonné par l'entreprise GREENPHARMA (P. Bernard) ; l'ISTO étant un des partenaires. Le projet se situe dans la continuité de PRINCIPASOL avec l'objectif ici, outre d'identifier des principes actifs d'intérêt pour le marché de la cosmétique dans des plantes issues de milieux naturels locaux, de maîtriser la chaîne de valeurs depuis la production du principe actif jusqu'à la mise en place de la plateforme de développement pour l'industrialisation du procédé d'extraction. Il a été financé par le Ministère du Redressement productif (AAP-2012 EcoIndustries).

2015). La composition de la MOD provient de la décomposition de la tourbe et des débris végétaux, mais aussi des exsudats racinaires et de l'activité microbienne (Dieleman et al., 2016). Ainsi l'objectif de cette seconde partie est de caractériser les modifications de la MOD dans une tourbière à sphaignes suite à un envahissement par *Molinia caerulea*. Pour cela, nous avons mis en place une expérimentation en mésocosmes avec des monolithes de tourbe contenant uniquement *Sphagnum rubellum* ou contenant à la fois *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea* et opéré un suivi sur 14 mois (entre mai 2015 et juin 2016) des concentrations en carbone organique dissout ([COD]) et en azote totale grâce à des prélèvements effectués dans des piézomètres. Un second suivi de 4 mois (entre mars et 2016 et juin 2016) a permis de suivre les [COD] et en azote totale à 5 et 20 cm de profondeur à l'aide de rhizons tout en caractérisant la MOD par spectrophotométrie et spectrofluorimétrie.

IV.1 Dynamique des 5-n-alkylresorcinols de *Molinia caerulea* au cours d'une saison de végétation et leur potentiel allélopathique

IV.1.1 Introduction

L'apport des débris végétaux dans les tourbières constitue la principale source de matière organique pour la formation de la tourbe. Un changement des communautés végétales entraîne une modification de la qualité et de la quantité de ces apports et, *in fine*, des litières formant la MO de la tourbe. Les différentes espèces végétales peuvent entraîner des litières avec des compositions chimiques très différentes, régulant leur taux de décomposition et la libération de nutriments ou de composés allélopathiques dans le milieu (Dorrepaal et al., 2007). Ces processus sont particulièrement importants dans les écosystèmes avec un faible taux de décomposition et à faible apport en nutriment tel que les tourbières. L'analyse chimique de *Molinia caerulea* a permis d'identifier la présence d'une famille de composés: les 5-n-alkylresorcinols (ARs) dans les feuilles vivantes et aussi dans la litière de *Molinia caerulea* (Zocatelli, communication personnelle). Les ARs, ou 1,3-Dihydroxy-5-alkylbenzenes, sont des métabolites secondaires composés d'un noyau aromatique avec deux fonctions alcool sur les C1 et C3 et une chaîne alkyle en C5 comprenant généralement entre 17 à 15 carbones (Ross et al., 2003). Ces composés sont principalement retrouvés chez les céréales (riz, blé, orge) mais ils ont également été identifiés chez d'autres plantes et même chez des micro-organismes (Kozubek et Tyman, 1999). L'activité biologique des ARs au sein des plantes est supposée multiple. Jusqu'à maintenant, ces molécules sont principalement connues et étudiées pour leurs activités antifongiques et antimicrobiennes au sein des grandes cultures (Magnucka et al., 2014). Cependant, ces composés sont également impliqués dans des interactions allélopathiques de façon indirecte, en étant un précurseur de molécules allélopathiques telles que la sorgoleone (Weston et al., 2013), et de façon directe en agissant sur la croissance et la germination de deux poacées, *Dactylis glomerata* et *Phleum subulatum* (Scognamiglio et al., 2012). Ainsi, l'occurrence des ARs chez *Molinia caerulea*, qui est également une *Poaceae*, pourrait jouer un rôle important dans les interactions chimiques en facilitant la colonisation de cette graminée si ces molécules ont un pouvoir stimulant sur leur croissance. Cette étude a pour objectif de tester l'effet de substances actives (i.e. 5-n-alkylresorcinols ou ARs) contenues dans les feuilles de *Molinia caerulea* sur la germination et la croissance de cette poacée qui présente un caractère envahissant dans de nombreuses zones humides et particulièrement dans les tourbières. Notre approche s'est d'abord basée sur (i) l'observation in situ de la variabilité des

teneurs des ARs sur la durée d'une saison de végétation et (ii) l'identification de paramètres biotiques et/ou abiotiques du milieu pouvant influencer la variabilité des ARs. Dans un deuxième temps, des tests de germination des graines de *Molinia caerulea* ont été réalisés afin de vérifier l'effet des ARs sur la croissance et la germination de cette graminée.

IV.1.2 Matériels & Méthodes.

IV.1.2.1 Récolte et analyse du matériel

Des feuilles de *Molinia caerulea* ont été récoltées dans la tourbière de La Guette entre avril et décembre 2014 lors de sept campagnes de prélèvement. Lors de chaque campagne, des feuilles ont été prélevées à proximité de 4 placettes sur lesquelles un suivi ponctuel des paramètres environnementaux (température de l'air et du sol, niveau d'eau, rayonnement lumineux et nombre de feuilles de *Molinia caerulea*) a été réalisé dans le cadre de la thèse de B. D'Angelo (2015). Les échantillons ont été lyophilisés et broyés avant l'extraction des composés lipidiques et la quantification des ARs selon Zocatelli et al. (2014). Une première extraction de 1g d'échantillon a été réalisée avec du dichlorométhane (DCM):méthanol (9:1) et DCM:isopropanol (2:1) pour obtenir les fractions lipidiques neutres, acides et polaires. La fraction des neutres a été séparée avec de l'heptane:acétate d'éthyle (selon un gradient de concentrations) puis du méthanol. La dernière fraction des neutres contenant les 5-n-alkylresorcinols a été silylée en faisant réagir du N,O-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA) dans la pyridine à 60 °C pendant 1 h. La silylation permet de remplacer les H présents dans les groupes –OH des ARs par des groupements triméthylsilyle (–Si(CH₃)₃). L'introduction des groupes de silyle augmente la volatilité des analytes et diminue leur adsorption de surface, ce qui va améliorer les performances en GC. Les échantillons ont ensuite été injectés dans la Trace GC Ultra - Thermo Scientific. La GC a été équipée d'une colonne MS TG-5 (60 m * 0,25 mm de diamètre intérieur * 0,25 µm d'épaisseur de film, Bellefonte, PA, USA). La température était de 40°C (pendant 1 min) puis est passée à 120°C (avec une augmentation de 30°C min⁻¹) pour finalement monter à 300°C en 60 min pour s'y stabiliser pendant 70 min (Zocatelli et al., 2014). La quantification de chacun des homologues d'ARs est réalisée avec le logiciel Xcalibur à partir du pic de base avec un m/z de 268 (M), caractéristique de ces molécules (Magnucka et al., 2014). Le temps de rétention de chaque molécule était 57.4 min (M+464, pour l'ARs avec une chaîne latérale contenant 15 C, appelé C15), 61.9 min (M+492, C17), 66.3 min (M+520, C19), 68.9 min (M+534, C20), 71.92 min (M+548, C21), 75.5 min (M+562, C22), 79.7 min (M+576, C23), 84.8 min (M+590, C24) et 90.9 min (M+604, C25).

IV.1.2.2 Paramètres environnementaux

Comme indiqué précédemment, à chaque campagne de prélèvement, des feuilles de molinie, des paramètres biotiques (nombre de feuilles de *Molinia caerulea*) et abiotiques (température de l'air et du sol, le rayonnement lumineux et le niveau d'eau) ont été mesurés pour être mis en relation avec les variations de concentration des ARs. Pour prendre en compte le temps de latence entre un facteur forçant et la réponse éco-physiologique de la plante au niveau moléculaire, les conditions environnementales moyennes des 2, 12, 24 heures et de la semaine précédant la récolte ont également été mises en relation avec les concentrations d'ARs observées. Ces données ont été extrapolées des mesures ponctuelles réalisées sur chaque placette grâce à la station météo installée sur la tourbière de La Guette. Une extrapolation linéaire des données ponctuelles (acquises une fois par mois durant 2 ans) de chaque placette a été réalisée grâce aux données acquises en continues par la station météo (acquises avec un pas de temps de 15 min).

IV.1.2.3 Tests de germination de la molinie

Des graines de *Molinia caerulea* ont été prélevées dans la tourbière de La Guette en octobre 2014 et conservées en chambre froide à 4°C. Pour évaluer la germination des graines de *Molinia caerulea* selon les différents traitements, 20 graines ont été déposées sur un filtre humidifié dans une boîte Pétri (de 9 cm de diamètre) avec 3 à 5 replicats par condition testée. Les conditions de germination de *Molinia caerulea* étant très peu définies dans la littérature, plusieurs tests préliminaires ont été réalisés en commençant par une germination à température constante à 20°C. Deux traitements semblent jouer un rôle important sur la germination de la molinie : les fluctuations de température et une stratification des graines (Pons, 1989). Ces deux conditions furent donc appliquées ensemble ou séparément avec des températures variant de 25 à 15°C selon un cycle jour/nuit de 16/8h. La stratification des graines (mise à 4°C des graines de *Molinia caerulea* après dépôts sur un filtre humidifié) est réalisée avant la mise à germination des graines par mise en chambre en froide des boîtes de Pétri pendant 3 mois. Avant la mise à germination dans l'enceinte climatique, 3 mL de solvants sont ajoutés sur les graines de *Molinia caerulea* afin de pouvoir solubiliser les ARs (insoluble dans l'eau pure) avec l'ajout (i) d'eau distillée comme témoin, (ii) de diméthylsulfoxyde (DMSO) à 5% ou (iii) de méthanol à 5%.

IV.1.3 Résultats

IV.1.3.1 Variation des teneurs des ARs de *Molinia caerulea*

La quantification des ARs a permis de déterminer la présence de neuf homologues dans les feuilles de *Molinia caerulea* avec des chaînes latérales ayant entre 15 et 25 C (Fig. IV-1).

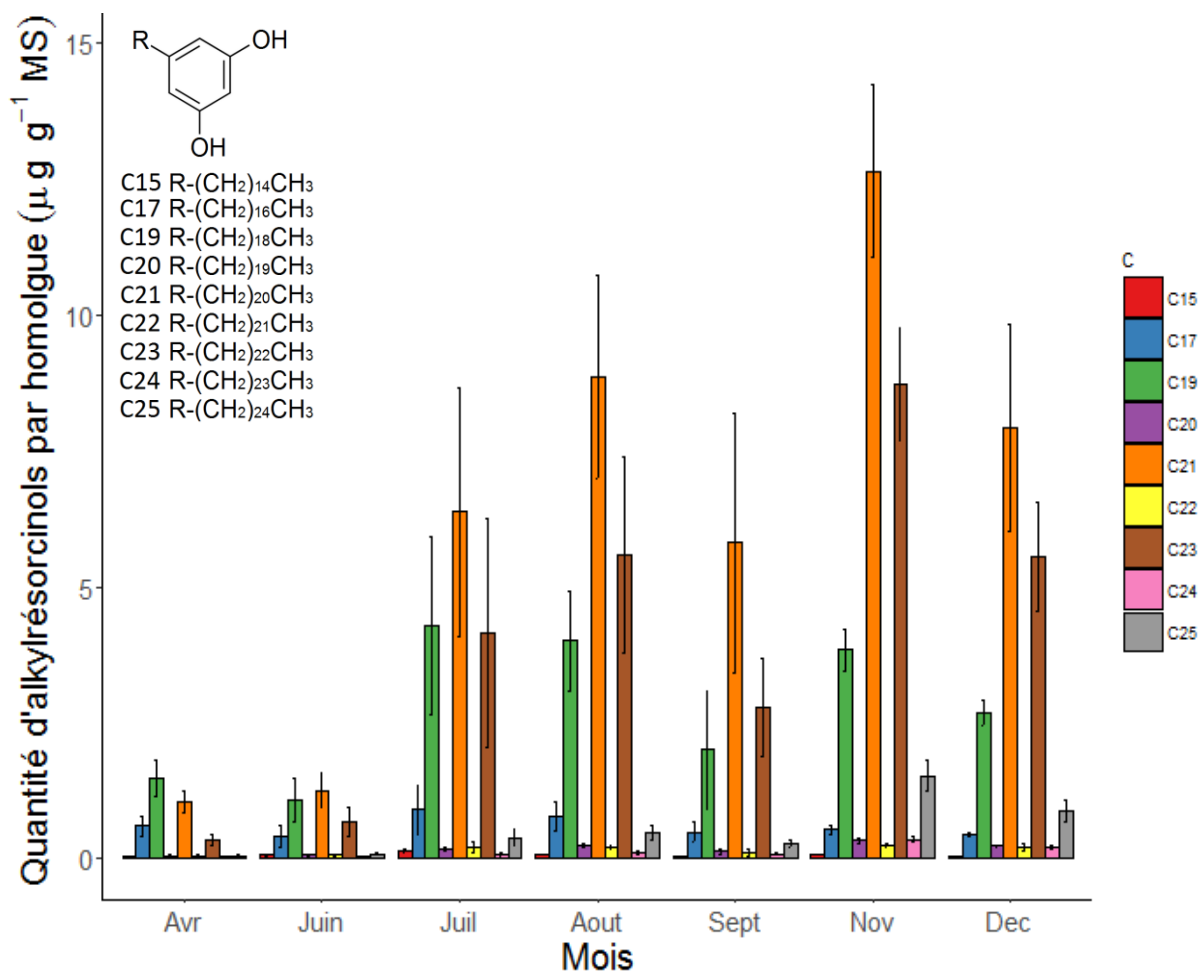


Figure IV-1 Variation des teneurs en 5-n-alkylrésorcinols par homologues (code couleur) dans les feuilles de *Molinia caerulea* entre avril et décembre 2014 (n=4)

La teneur maximale d'ARs est observée en novembre avec $30 \mu\text{g g}^{-1}$ de masse sèche (MS). Les ARs ayant une chaîne latérale avec un nombre de carbone impair sont dominants en comparaison des chaînes latérales avec un nombre de carbone pair et ce, sur l'ensemble de la saison de végétation (Fig. IV-1). Cependant, les ARs dominants varient selon la période de collecte avec une dominance des homologues en C19, C21 et C17 en avril pour aller progressivement vers une dominance des homologues en C21, C23 et C19 entre juillet et décembre (Fig. IV-2).

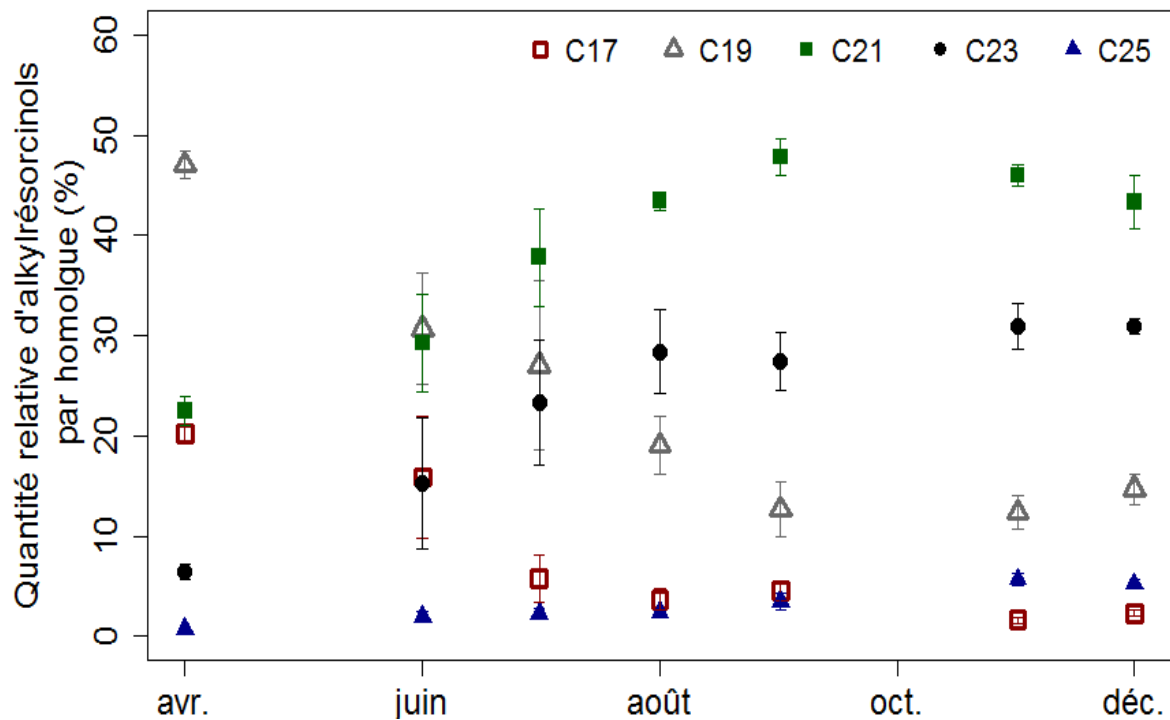


Figure IV-2 Evolution de la quantité relative des homologues impairs d'ARs en C17, C19, C21, C23 et C25 dans les feuilles de *Molinia caerulea* entre avril et décembre 2014 (n=4).

Cette variation de dominance au cours de la saison de végétation favorise les chaînes carbonées impaires les plus longues (C21, C23 et C25) au détriment de celle les plus courtes (C17 et C19). En avril, les ARs en C17 et C19 représentent plus des deux tiers de la quantité total des ARs alors que les ARs en C21, C23 et C25 ne représentent que 30% du total (Fig. IV-2). En fin d'année, ces derniers représentent 77% des ARs totaux alors que les chaînes les plus courtes ne sont plus qu'à 18% (Fig. IV-2). Ces variations sont dues à un changement des teneurs en ARs à plus longues chaînes qui augmentent au cours de la saison de végétation. Au contraire, les chaînes les plus courtes (C15 et C17) semblent avoir des concentrations similaires au cours du temps (Fig. IV-1).

IV.1.3.2 Variation des teneurs des ARs en fonction des paramètres environnementaux

Les variations des teneurs totales en ARs sont significativement et négativement corrélées à la moyenne du rayonnement photosynthétiquement actif (PAR) des 24 heures précédant le prélèvement des feuilles de molinie (Table IV-1, Fig. IV-3). Les autres paramètres biotiques (hauteur des feuilles de *Molinia caerulea*) et abiotiques (niveau d'eau, température de l'air et du sol) ne sont pas corrélés significativement avec les teneurs totales d'ARs (Table IV-1).

Table IV-1 Coefficients de détermination entre les teneurs totales des ARs et la moyenne du rayonnement photosynthétiquement actif (PAR), de la température de l'air (Ta) et du sol à 20 cm (Ts), du niveau de la nappe d'eau (WTL) et de la hauteur des feuilles de *Molinia caerulea* (Nb_{Mc}) des 2h, 12h, un jour (1j) et de la semaine (1sem) précédant la date de prélèvement. Les relations significatives positives ou négatives (test de Pearson) sont exprimées avec +/-p<0.05, respectivement.

		PAR	Ta	Ts	WTL	Nb _{Mc}
	2h	0.43	0.10	0.07	0	0.04
ARs	12h	0.43	0.07	0.09	0.03	0.04
totaux	1j	0.64-	0.14	0.09	0	0.04
	1sem	0.53	0.1	0	0.01	0.04

Les homologues C21, C23 et C25 sont significativement et négativement liés à la moyenne du rayonnement photosynthétiquement actif des 24 heures précédant le prélèvement des feuilles de molinie (Fig. IV-3). Au contraire, les homologues C17 et C19 ne sont pas significativement corrélés avec le rayonnement lumineux (Fig. IV-3).

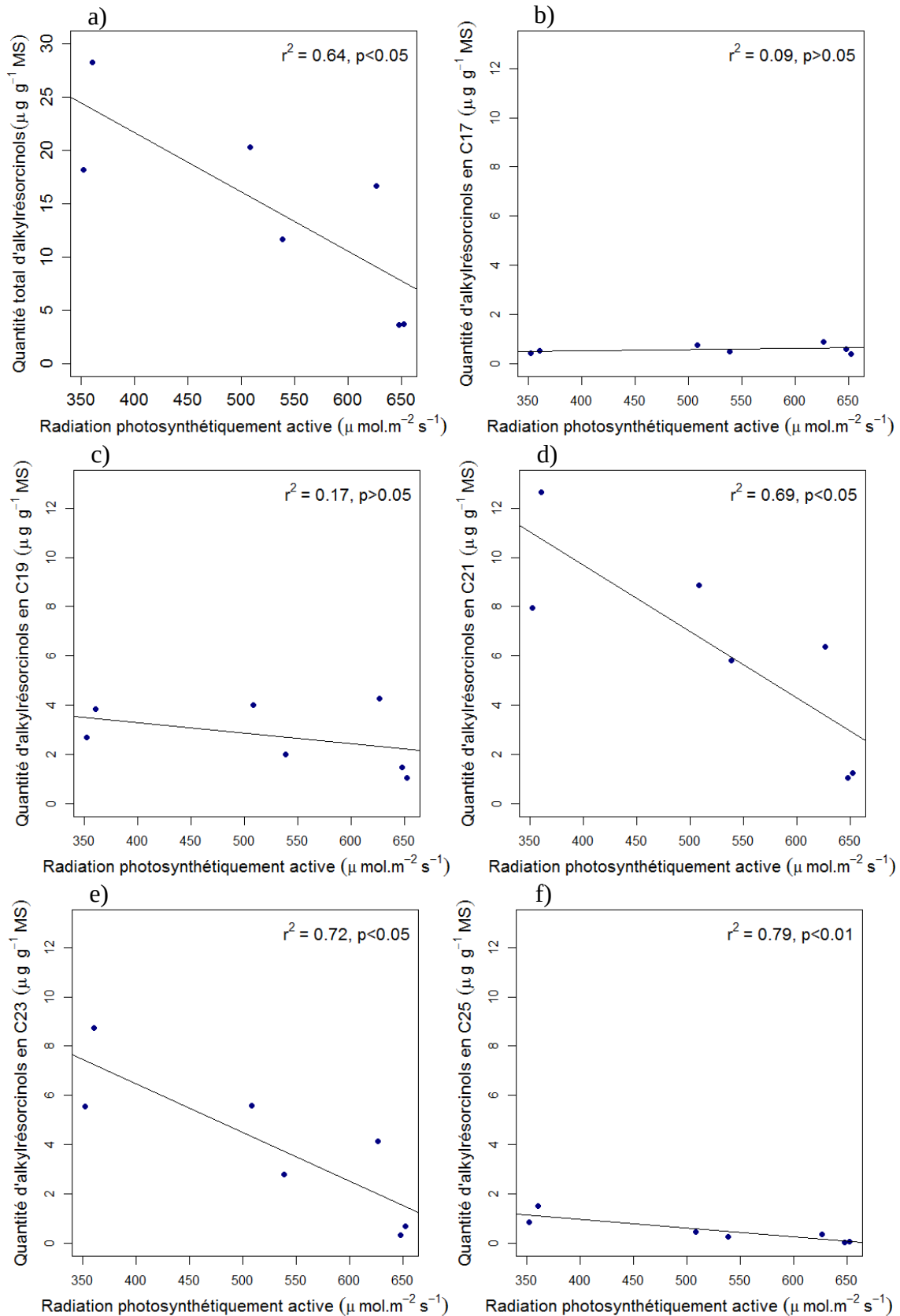


Figure IV-3 Relation entre la quantité totale d'ARs (a) et d'homologues en C17 (b), C19 (c), C21 (d), C23 (e), C25 (f) et la moyenne du rayonnement photosynthétiquement active du jour précédemment le prélèvement des feuilles de *Molinia caerulea*.

IV.1.3.3 Germination des graines de *Molinia caerulea*

Avec une température constante de 20 °C durant leur germination, les graines de *Molinia caerulea* présentent un faible taux de germination, proche de 3% (Table IV-2). Les tests initiaux montrent que, quand des fluctuations de température 25/15°C et une stratification sont réalisées indépendamment l'un de l'autre, la germination reste faible (~3%). Cependant, la combinaison de ces deux facteurs permet d'aboutir à un taux de germination allant jusqu'à 60% (Table IV-2). Les témoins, avec de l'eau distillée comme solvant, montrent un taux de germination de 60 % ($\pm 7\%$, n=4), alors qu'avec l'ajout de DMSO à 5% montre une germination de 17.5% ($\pm 6\%$, n=4). L'utilisation de méthanol entraîne des résultats similaires à ceux obtenus avec le DMSO, avec une diminution de la germination des graines de *Molinia caerulea* comparée à celle avec l'eau de distillée (Table IV-2).

Table IV-2 Pourcentage de germination des graines de *Molinia caerulea* avec une température constante à 20°C ou fluctuante entre 25 et 15°C (16/8h) avec et sans stratification et différents solvants

Conditions de germination	Solvants	Taux de germination
Température constante à 20°C	Eau distillée	~ 3%
Température fluctuante 25°C/15°C	Eau distillée	~ 3%
Stratification + Température constante	Eau distillée	~ 3%
Stratification + Température fluctuante	Eau distillée	60 $\pm$ 7%
Stratification + Température fluctuante	DMSO	17.5 $\pm$ 6 %
Stratification + Température fluctuante	Méthanol à 5%	13.8 $\pm$ 6 %

IV.1.4 Discussion

IV.1.4.1 Dynamique des ARs dans les feuilles de *Molinia caerulea*

Les 5-n alkylrésorcinols sont des composés secondaires retrouvés principalement dans des céréales de grandes cultures, notamment le blé, l'orge ou encore le riz (Ross et al., 2003). Cependant, ils ont également identifiés dans d'autres plantes (graminées ou non) et des micro-organismes (Kozubek et Tyman, 1999). La présence de ces composés dans *Molinia caerulea* provenant de la tourbière de La Guette est en cohérence avec les études ayant montré

l'occurrence de ces molécules dans d'autres Poaceae et Cyperaceae (Avsejs et al., 2002). Les teneurs en ARs retrouvées dans les feuilles de *Molinia caerulea* représentent au maximum 30 $\mu\text{g. g}^{-1}$ MS. Cette quantité est proche de celle trouvée dans les graines de *Molinia caerulea* (24 $\mu\text{g. g}^{-1}$ MS), tout comme celle trouvée dans les feuilles de *Rhynchospora alba* (46 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; Avsejs et al., 2002). Ces teneurs sont moins élevées que celles reportées chez *Eriophorum sp* (entre 139 et 240 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS; Avsejs et al., 2002) et beaucoup plus faibles (entre 10 et 100 fois) que celles mesurées dans les graines de céréales (44-3200 $\mu\text{g. g}^{-1}$, Ross et al., 2003). Les teneurs rapportées chez des jeunes pousses de seigle avoisinent celles des feuilles de *Molinia caerulea* en début de saison de végétation ($\sim 4 \mu\text{g. g}^{-1}$, Magnucka et al., 2015). Cette étude met également en évidence une augmentation des ARs à longues chaînes lors du développement des jeunes pousses de seigle ce qui est également observé ici au cours de la saison de végétation avec les ARs $\geq$ C21. Cette augmentation des ARs à longues chaînes traduit une accumulation de ces homologues dans les cires cuticulaires des plantes (Ji et Jetter, 2009 ; Magnucka et al., 2015). Il a été mis en évidence que les chaînes carbonées aliphatiques des acides gras servent de précurseurs à la biosynthèse des ARs (Suzuki et al., 2003), ayant lieu dans les plastes (Deszcz et Kozubek, 2000). Ces composés sont ensuite exportés vers la cuticule via le réticulum et la membrane plastique afin de protéger la plante des agressions extérieures (insectes, pathogènes). En plus du stade de développement, les variations temporelles des ARs observées chez *Molinia caerulea* sont liées aux conditions environnementales avec un effet négatif du rayonnement photosynthétiquement actif sur leurs concentrations. Ces résultats sont en accord avec des études conduites en laboratoire où des semis de céréales cultivées sous la lumière accumulent moins d'ARs que ceux mis à l'obscurité (Deszcz et al., 2000 ; Magnucka et al., 2014). L'action de la lumière semble être davantage liée à une altération dans la biosynthèse des ARs plutôt que dans leur photodégradation. En effet, des inhibiteurs du photosystème II vont également impacter les teneurs en ARs (Magnucka et al., 2014). Ainsi, des changements au sein des chloroplastes, liés à la lumière ou à des inhibiteurs du photosystème II, conduisent à une modification des teneurs en ARs des plantes en altérant leur biosynthèse via des mécanismes qui restent à élucider (Magnucka et al., 2015).

IV.1.4.2 Activité des ARs dans les plantes

Les activités des ARs au sein des plantes semblent multiples mais restent principalement étudiées pour leur rôle protecteur des grandes cultures face à différents pathogènes tels que des champignons ou des bactéries (e.g. Garcia et al., 1997 ; Zarnowski et al., 1999). Ces métabolites

secondaires seraient également d'importants antioxydants (Kozubek et Nienartowicz, 1995), tout comme des inducteurs de communications chimiques entre plantes-microorganismes, via le quorum-sensing (Stasiuk et Kozubek, 2010) et des interactions chimiques entre plantes-plantes. La présence des ARs chez *Molinia caerulea* au sein des tourbières pourrait ainsi jouer un rôle important dans la capacité de ces plantes à envahir ces écosystèmes. Cependant, les graines de molinie présentent fréquemment des faibles taux de germination (Brys et al., 2005), généralement dus à la non-obtention des conditions de germination ou de prétraitement appropriés (Grime et al., 1981). Les tests préliminaires montrent des faibles taux de germination, proche de 3%, avec une température constante (20°C). De nombreuses graines de Poacées, telle que *Molinia caerulea*, ont montré le besoin d'une stratification ou le besoin d'une fluctuation de température (Pons et al., 1989) pour la germination. Ces deux traitements permettraient la germination dans des conditions favorables après les périodes hivernales (Thompson & Grime 1983). Une stratification des graines (passage au froid à 4°C) associée à un différentiel de température de 25/15°C lors du cycle jour/nuit (16/8h) permet d'obtenir un taux de germination de 60%. Néanmoins, la présence d'une longue chaîne aliphatique rend les alkylrésorcinols pratiquement insoluble dans l'eau pure (Kozubek et Tyman, 1999). Ceux-ci doivent être dissout avec 5% du DMSO, supposé non-toxique (Scognamiglio, communication personnelle). Cependant, les essais d'ajout du DMSO, tout comme ceux avec du méthanol, montrent que ceux-ci ont un effet toxique sur la germination de *Molinia caerulea* et ne peuvent pas être utilisés pour solubiliser les ARs. Ainsi, malgré leurs potentielles implications sur la croissance et la germination de *Molinia caerulea*, la capacité allélopathique, tout comme leur habilité à modifier les communautés microbiennes, restent à être étudiées.

IV.1.5 Conclusion

L'évaluation des teneurs en ARs montre une variabilité saisonnière avec une dominance des ARs à chaînes latérales carbonées impaires et une quantité relative des ARs à longues chaînes de plus en plus importantes au cours du temps. Ces variations des teneurs en ARs sont négativement reliées au rayonnement lumineux ce qui, avec les observations précédentes, est en accord avec des études réalisées sur d'autres espèces végétales. Bien que le processus de biosynthèse des ARs dans les plantes reste encore sujet à de nombreuses discussions, les observations faites sur la tourbière de La Guette avec *Molinia caerulea* sont en accord avec des résultats obtenus en laboratoire et montrent un rôle du développement physiologique des plantes et de la luminosité sur les teneurs en ARs. Cependant, l'ensemble des interactions chimiques de ces derniers reste encore à être étudié, tout comme leurs potentielles implications

dans la stimulation de la croissance de *Molinia caerulea*. C'est aussi le cas de son interaction avec les microorganismes qui, en agissant sur le quorum-sensing, pourrait avoir de fortes implications sur la dynamique du C dans les tourbières.

IV.2 Effets des plantes vasculaires sur la composition de la matière organique dissoute des tourbières à sphaignes

IV.2.1 Introduction

La composition des espèces végétales au sein des tourbières influence la qualité et la quantité des apports de litières dans les tourbières (Dorrepaal et al., 2007). Des différences d'apports carbonés sont également observées au niveau souterrain, où les exsudats racinaires relâchés par les plantes vasculaires modifient les apports de matière organique (MO). Des différences d'apports en MO, via les litières et les exsudats racinaires, peuvent altérer les communautés microbiennes et font de ces deux sources de MO des régulateurs importants du taux de décomposition mais aussi des cycles biogéochimiques du C et des nutriments (N et P notamment) dans les tourbières (Normand et al., 2017). Un changement des communautés végétales pourrait donc affecter le cycle du C via des différences dans la qualité du substrat carboné dans les rhizodépositions et/ou de l'exsudats de litières (Hodgkins et al., 2016). La réponse des tourbières aux changements de végétation dépend en partie de l'effet de leurs apports en substrats carbonés sur l'activité biologique. Néanmoins, les effets des modifications des apports en substrats carbonés dû à un envahissement des plantes vasculaires restent encore peu étudiés malgré ses potentielles implications sur la dynamique du C dans les tourbières à sphaignes. De telles modifications des sources de MO pourraient d'abord affecter la composition de la matière organique dissoute (MOD) qui agit comme une sentinelle du changement d'apport en MO (Chanton et al., 2008) et est donc sensible aux modifications des communautés végétales (Robroek et al., 2015). La quantification de la variation de la qualité de la MOD en lien avec ses différentes sources pourraient permettre d'élucider le rôle des apports de substrats carbonés sur le cycle de la MO dans les tourbières. Ainsi, l'objectif de cette partie est de déterminer dans quelles mesures l'envahissement d'une tourbière par des végétaux vasculaires affecte la composition de la MOD à travers la modification des apports en substrats carbonés.

Pour répondre à notre objectif, nous avons utilisé une expérimentation en mésocosmes contenant uniquement *Sphagnum rubellum* ou contenant à la fois *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea*. Les teneurs en carbone organique dissous (COD) d'échantillons prélevés dans des piézomètres (caractéristiques de l'ensemble du mésocosme) et des rhizons à 5 cm et 20 cm ont été suivis. Ces profondeurs correspondent à des niveaux spécifiques d'apports de substrats carbonés : les rhizons à 5 cm permettent d'étudier la MOD potentiellement affectée

par les l xivats de litières et ceux à 20 cm, par les exsudats racinaires. Les eaux de prélèvement des rhizons ont été analysées pour déterminer des indices spectrométriques basés sur les propriétés optiques de la MOD afin de caractériser les sources de la MO. En particulier, les matrices d'excitation-émission de fluorescence combinées à l'analyse factorielle parallèle (EEM-PARAFAC) permettent de décomposer les différents composés de la MOD et ainsi de suivre la qualité de la MOD, sa source et sa réactivité (Tfaily et al., 2015).

IV.2.2 Matériel et méthodes

IV.2.2.1 Dispositif expérimental

Douze mésocosmes de tourbe (longueur et diamètre de 30 cm) ont été échantillonnés dans la tourbière de La Guette en mars 2015. Ces mésocosmes, entourés de tube en PVC perforés, ont été enterrés à l'extérieur du laboratoire. Le trou a été recouvert d'une b che imperméable de façon à isoler le mésocosme du sol minéral environnant. Le trou a ensuite été rempli d'eau provenant de la tourbière de La Guette. Les mésocosmes récoltés ne contenaient, en mars 2015, que *Sphagnum rubellum* avant d'être séparés en deux couverts végétales : l'un contenant uniquement *Sphagnum rubellum* (appelé mésocosmes à 'Sphaignes') et le second contenant à la fois *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea* (appelé mésocosmes à 'Sphaignes + Molinie'). Les deux communautés végétales ont été subdivisées en deux traitements dits 'Contrôle' et 'Fertilis '. Dans ce dernier, des apports r guli rs (une fois par semaine) de NH_4NO_3 ont été réalisés pour arriver à un total de $3.2 \text{ gN m}^{-2} \text{ an}^{-1}$. Ce chapitre portant sur l'effet du couvert végétal sur la dynamique de la MOD, seuls les mésocosmes 'Contrôle' des deux communautés végétales ont été utilisés pour cette étude et l'effet des apports azotés sera discuté dans le Chapt V-2.

Un suivi des conditions environnementales a été réalisé avec une station météorologique (Campbell Scientific CR800) enregistrant toutes les 15 min : le rayonnement lumineux, les précipitations et les températures de l'air et de chaque mésocosme à 5 et 20 cm.

IV.2.2.2 Echantillonnage et analyse

Des prélèvements d'eau ont été effectués dans un piézomètre installé dans chaque mésocosme entre mai 2015 et juin 2016. L'échantillon prélevé représente les caractéristiques moyennes de la colonne d'eau de chaque mésocosme. Un an après la colonisation de *Molinia caerulea* dans les mésocosmes, six campagnes ont été conduites entre mars et juin 2016 afin de

récolter l'eau dans chaque mésocosme à 5 et 20 cm de profondeur. L'échantillonnage est réalisé avec des rhizons (Rhizosphere Research Products, référence : 19.21.21) d'un diamètre de 2.5 mm avec des pores de 0.15µm. Les échantillons d'eau des piézomètres et des rhizons sont analysés avec un Shimadzu TOC-5000 pour quantifier les [COD] et la concentration en azote totale. L'indice d'aromaticité de la MOD ou $SUVA_{254}$ (Specific UltraViolet Absorbance, in L cm⁻¹ mg⁻¹) a été obtenu en mesurant l'absorbance UV à 254 nm tel que :

$$SUVA_{254} = \text{Absorbance}_{254nm} / COD$$

IV.2.2.3 Analyse de la fluorescence 3D de la MOD

La matière organique dissoute des échantillons d'eau extraits avec les rhizons a été caractérisée par fluorescence avec des matrices d'excitation-emission (EEM) allant 220 à 450 nm pour les longueurs d'excitation et de 250 à 550 nm pour celles d'émission. La vitesse du scannage était de 150nm/min avec une bande passante fixe à 10 nm pour l'excitation et 1 nm pour l'émission. Ces EEM ont été utilisées pour déterminer deux indices de fluorescence : l'HIX (Zsolnay et al., 1999) et le BIX (Huguet et al., 2009) tel que :

$$HIX = \frac{\lambda_{ex} 255 / \int_{480}^{434}}{\lambda_{em} 255 / \int_{344}^{300}} \qquad BIX = \frac{\lambda_{ex} 310/380}{\lambda_{em} 310/430}$$

L'HIX est un indice de degré d'humification de la MOD (Zsolnay et al., 1999) et le BIX est un indice de l'activité biologique (Huguet et al., 2009).

Différents groupes de composés sont ensuite identifiés grâce au logiciel PARAFAC par regroupement de plusieurs fluorophores selon leurs propriétés de fluorescence. Seuls deux groupes ont été identifiés dans les eaux des rhizons avec des domaines spectraux révélant des composés humiques appelés humiques 'A' et 'C' dont les longueurs d'onde d'émission/excitation sont, respectivement, de 400-480/230-260 nm et 420-500/320-380 (Fig. IV-4, Coble, 1996). Les composés humiques A représentent des composées plus aromatiques provenant de la décomposition de matériel récalcitrant comparé aux composés humiques C.

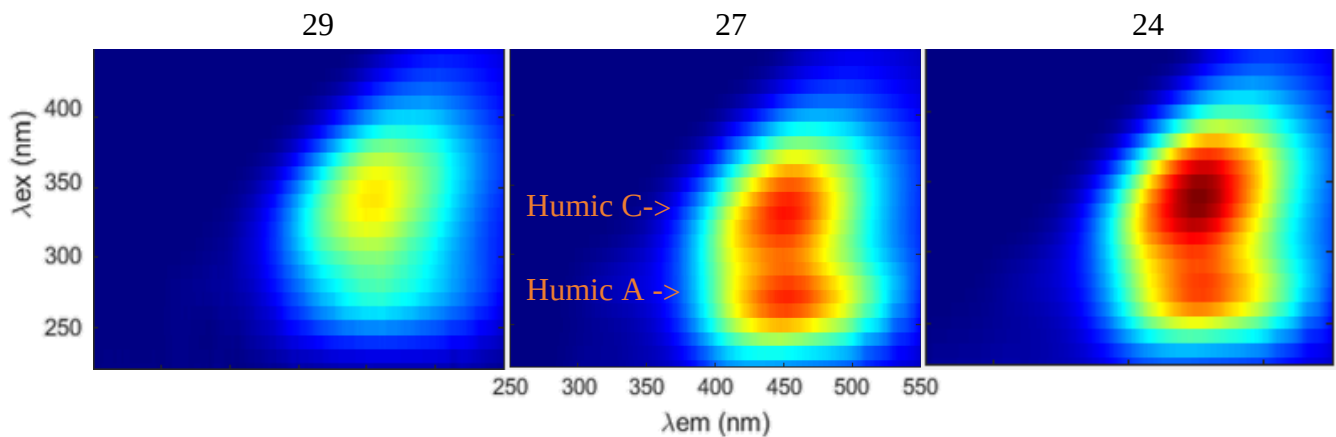


Figure IV-4 Représentation des matrices d'excitation (λ_{ex}) – émission (λ_{em}) pour le mésocosme à Sphaignes + Molinie (n°3) lors de trois dates de prélèvements. Les deux composés humiques A et C sont indiqués

IV.2.2.4 Statistiques

Les différences significatives des variables de mesure ont été analysées par des ANOVAs à trois voies à mesures répétées (par mésocosme) avec, comme effets principaux, la végétation (différence entre Sphaignes – Sphaignes + Molinie), la profondeur d'échantillonnage (5 et 20 cm) et la date de prélèvement (différence selon la saison).

IV.2.3 Résultats

IV.2.3.1 Carbone organique dissous

La présence de *Molinia caerulea* diminue significativement les concentrations en COD dans les eaux des piézomètres des mésocosmes de Sphaignes (p -value < 0.001 ; Fig. IV-5). On remarque également des variations temporelles des [COD] avec un maximum de concentration en juillet et au contraire les [COD] les plus faibles en avril. Ces variations temporelles sont significativement liées à la température de l'air ou du sol à 5 et 20 cm pour chacune des communautés végétales (Table IV-3). Il est à noter que ces concentrations sont plus faibles en mai 2016 par rapport à la même période de 2015 et ce pour les deux traitements de végétation.

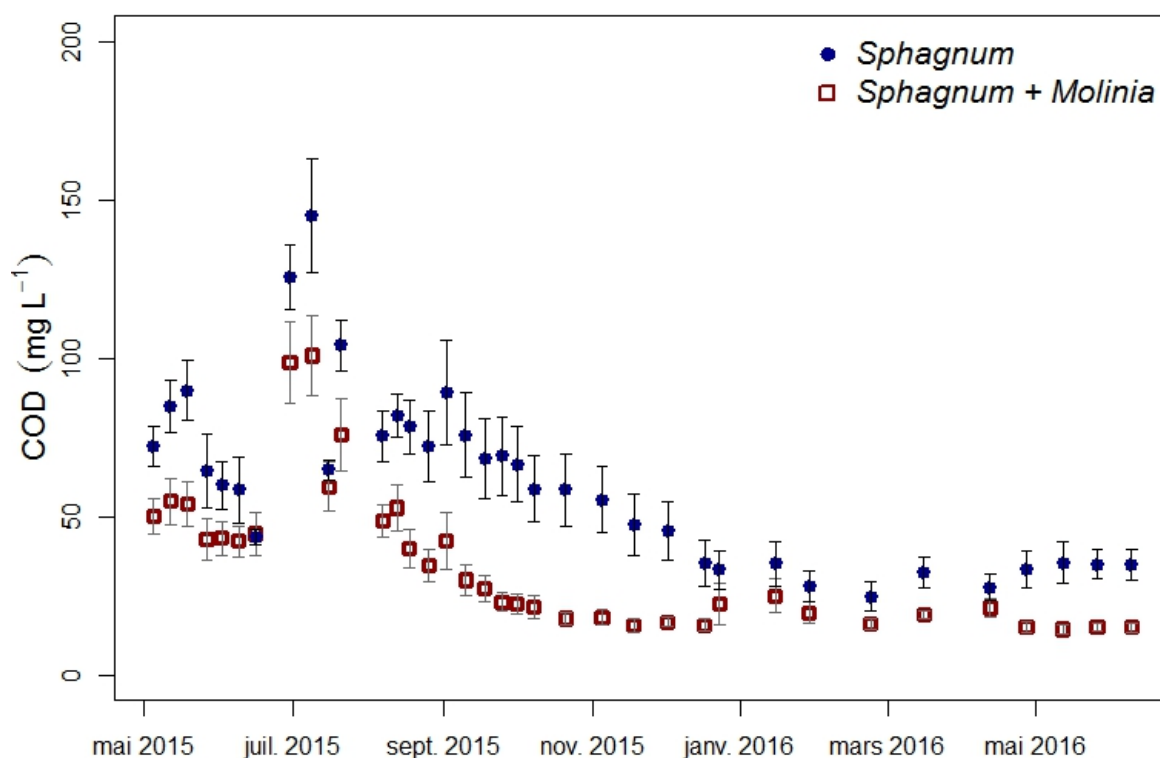


Figure IV-5 Concentrations du carbone organique dissout (COD) dans les eaux des piézomètres des mésocosmes à sphaignes et à sphaignes + molinie ($\pm$ SE, N=3) de mai 2015 à juin 2016.

Table IV-3 Coefficient de détermination (r^2) des régressions linéaires entre concentrations en carbone organique dissout ([DOC]) et température de l'air (T_a) et du sol (T_s) à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie. Les corrélations significatives sont exprimées avec $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ représentent respectivement les relations négatives ou positives.

Coefficient de détermination (r^2)	[DOC]	
	Sphaignes	Sphaignes +Molinie
T_a	0.50 ⁺⁺	0.49 ⁺⁺
T_s à 5 cm	0.11	0.52 ⁺⁺
T_s à 20 cm	0.46 ⁺⁺	0.40 ⁺⁺

Malgré les différences de [COD] observées dans les eaux des piézomètres pour les deux communautés végétales, les [COD] des eaux provenant des rhizomes à 5 et 20 cm ne présentent pas de différences significatives entre les mésocosmes de Sphaignes et ceux avec Sphaignes + Molinie (Fig. IV-6).

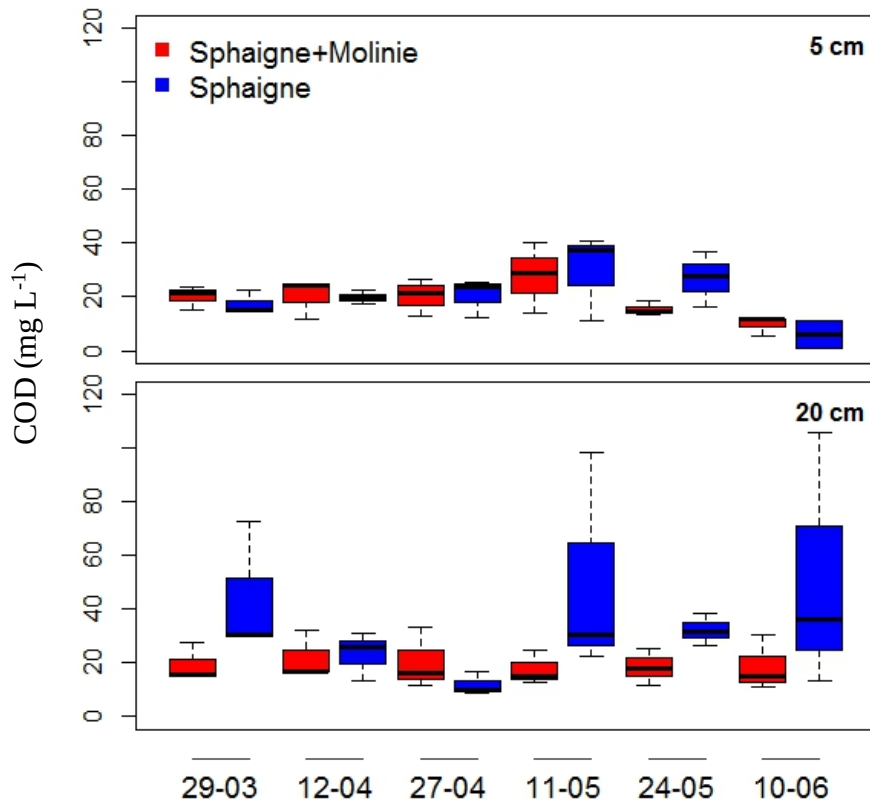


Figure IV-6 Concentration en carbone organique dissous (COD) dans les rhizons à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie (n=3) entre mars 2016 et juin 2016.

Seul l'effet principal de la profondeur affectent les [COD] dans les eaux des rhizons avec une augmentation des concentrations avec la profondeur, principalement dans les mésocosmes à Sphaignes, ce qui indique un effet d'interaction de la végétation avec la profondeur (Table IV-4). Au cours de la saison de végétation, les [COD] ne varient pas significativement selon les dates de prélèvements et ne sont pas significativement corrélées à la température dans les mésocosmes que ce soit à 5 ou 20 cm (Table IV-4). De plus, les [COD] observées dans les rhizons ne sont pas significativement corrélées à celles observées dans les piézomètres à l'exception des [COD] dans les rhizons à 20 cm dans les mésocosmes avec Sphaignes + Molinie (Table IV-4).

Table IV-4 Coefficient de détermination (r^2) des régressions linéaires entre concentration en carbone organique dissous ([COD]) et température de l'air (Ta) et du sol (Ts) à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à sphaignes et à Sphaignes + Molinie. Les corrélations significatives sont exprimées avec $-/+p < 0.05$, $--/+p < 0.01$, $---/+p < 0.001$. $-/+$ représente respectivement les relations négatives et positives.

	DOC à 5 cm		DOC à 20 cm	
	Sphaignes +Molinie	Sphaignes	Sphaignes +Molinie	Sphaignes
Ts à 5 cm	0.25	0.19	0.083	0.37
Ts à 20 cm	0.25	0.13	0.23	0.40
DOC piézomètre	0.027	0.03	0.75 ⁺⁺	0.19

IV.2.3.2 SUVA et indice de fluorescence

Comme pour la [COD], la présence de *Molinia caerulea* ne semble pas affecter la majorité des paramètres mesurés dans les eaux prélevées dans les rhizons. Seules les concentrations en azote totale et la conductivité sont affectées, avec une diminution de ces paramètres dans les mésocosmes avec Sphaignes + Molinie en comparaison des mésocosmes à Sphaignes (Table IV-5).

Table IV-5 Moyennes des mesures de carbone organique dissous (COD), azote totale (AT), conductivité, pH, SUVA₂₅₄, HIX, BIX, intensité des pics totaux, des pics humiques A et humique C et du ratio C/A dans les eaux prélevées à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie entre mars 2016 et juin 2016. Les différences significatives de l'ANOVA à trois voies à mesures répétées sont exprimées avec *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 (n = 3). Ici, seule l'interaction entre végétation et profondeur est présentée car seule cette interaction montre des différences significatives.

	Sphaignes		Sphaignes + Molinie		Significativité			Interaction
	5	20	5	20	Végétation	Profondeur	Date	Végétation * Profondeur
COD (mg.L ⁻¹)	20.10	35.69	18.94	19.42		*		*
AT (mg.L ⁻¹)	1.21	2.76	0.91	0.92	*	*		*
Conductivité	148.89	82.43	51.91	47.82	*		*	
pH	5.32	5.48	5.44	5.71		***	**	
SUVA ₂₅₄	4.71	5.37	4.23	4.52			*	
HIX	32.01	54.51	29.49	21.36				
BIX	0.34	0.35	0.36	0.44		***		***
Intensité	5.57	5.57	4.52	4.52			***	
Humique A	2.35	2.20	2.13	1.97		*	***	
Humique C	2.91	2.81	2.12	2.02			***	*
Ratio C/A	1.32	1.39	1.07	1.11		**		**

Les facteurs les plus importants affectant les paramètres et indices mesurés sont la profondeur et la date de prélèvement. En plus des [COD], les concentrations en azote totale, le pH et le BIX augmentent avec la profondeur (Table IV-5, Fig. IV-7). Les concentrations en azote et le BIX augmentent à 20 cm mais différemment selon les communautés végétales avec des concentrations en azote plus importantes dans les mésocosmes à Sphaignes et une augmentation significative du BIX dans les mésocosmes à Sphaignes + Molinie à 20 cm passant de 0.35 à 0.44. A 20 cm, le pic humique A diminue comparé à 5 cm ce qui augmente le rapport C/A. Néanmoins, ce qui influe davantage les indices de spectrométrie est la date de prélèvement avec des variations temporelles des valeurs de SUVA₂₅₄ et de l'intensité des pics A et C.

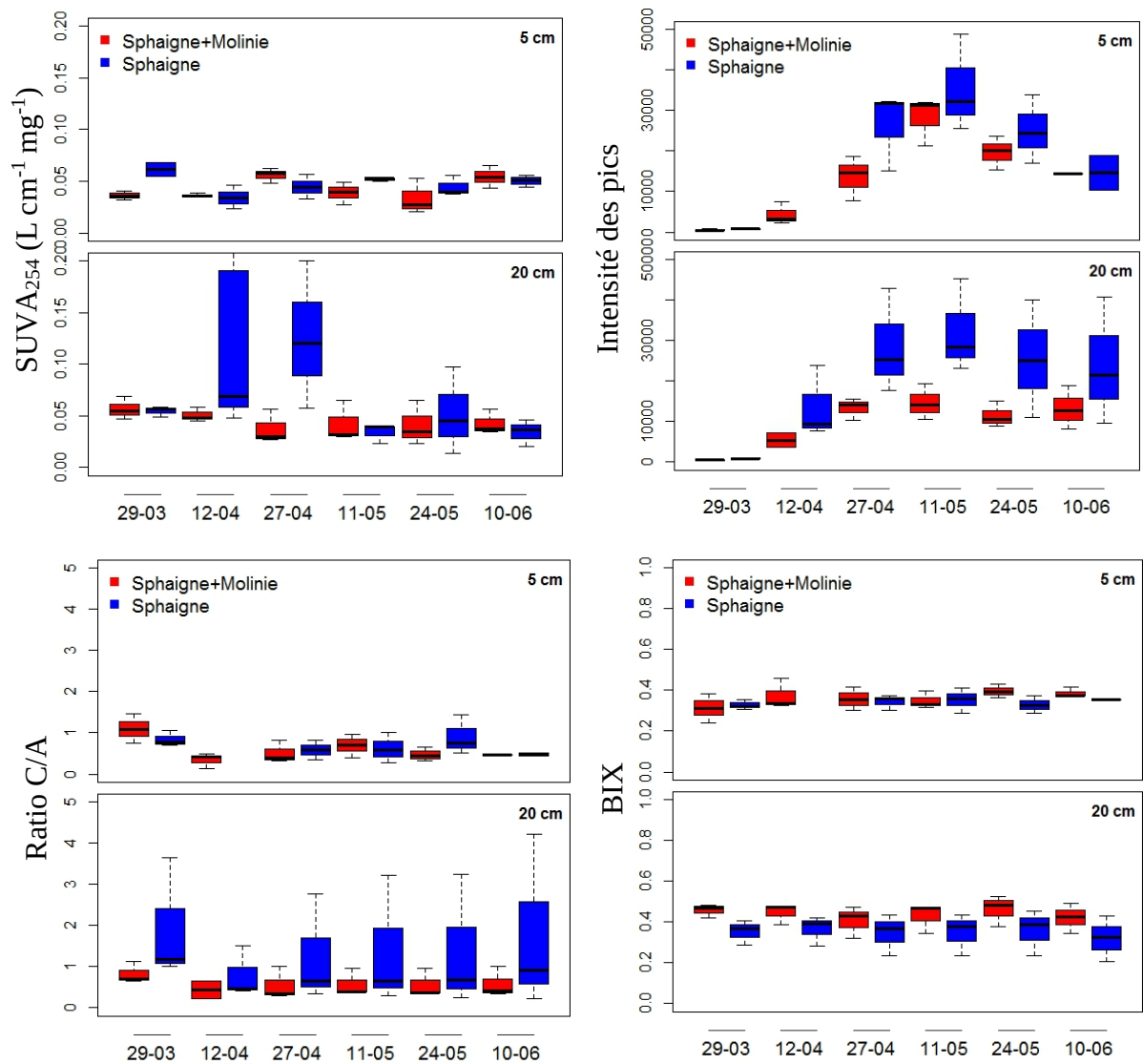


Figure IV-7 Mesures du SUVA₂₅₄, de l'intensité totale de pics, du rapport des pics humiques C/A et de l'indice de l'activité biologique (BIX) dans les rhizons à 5 et 20 cm dans les mésocosmes à Sphaignes et à Sphaignes + Molinie (n=3) entre mars 2016 et juin 2016.

IV.2.4 Discussion

IV.2.4.1 Effet de la *Molinia caerulea* sur les variations des concentrations de COD

Les [COD] dans les piézomètres diminuent significativement avec *Molinia caerulea* dans les mésocosmes de sphaignes. Cette diminution suggère que le C labile, libéré par les exsudats racinaires, stimule l'activité microbienne ce qui augmente la consommation de la MO et en particulier du COD (Freeman et al., 2004). Les variations temporelles observées dans les piézomètres sont liées à la température (Chapt VI-1). Ces différences liées à la végétation et à la température ne sont pas observées dans les rhizons à 5 et 20 cm avec des [COD] similaires

sous les deux communautés végétales et dans le temps (Table IV-5). De plus, les concentrations observées dans les rhizons à 5 cm ne sont pas corrélées à celles dans les piézomètres, probablement dû à un niveau d'eau dans les piézomètres légèrement en dessous de 5 cm de profondeur et ne reflétant pas les [COD] observées dans les rhizons à 5 cm. Les teneurs observées à 20 cm sont proches de celles observées dans les piézomètres des mésocosmes à Sphaignes + Molinie. Les deux paramètres mesurés dans l'eau des rhizons influencés par la présence de *Molinia caerulea* sont les concentrations en azote total et la conductivité qui diminuent dans les mésocosmes avec Sphaignes + Molinie en comparaison aux mésocosmes à Sphaignes. Ces diminutions peuvent être liées à la baisse des teneurs en NH_4^+ dû à son utilisation par *Molinia caerulea* comme source d'azote (Chap. V ; Troelstra et al., 1995).

IV.2.4.2 Caractérisation de la MOD

Les valeurs de SUVA_{254} observées (4.70 L cm^{-1}) sont proches de celles rapportées par Dieleman et al., (2016) mais qui, contrairement à notre étude, suggèrent une influence de la végétation sur le SUVA_{254} . Le SUVA_{254} ne varie pas non plus avec la profondeur tout comme pour le HIX, qui est supposé diminuer en profondeur avec baisse de la MOD humique dérivé des plantes (Tfaily et al., 2015). L'intensité des pics humiques A et C ne semblent pas être affectée par la présence de *Molinia caerulea* avec néanmoins un effet temporel marqué. Ces pics humiques dérivent des polymères complexes résultant de la décomposition partielle de plantes, microbes ou animaux (Tfaily et al., 2015) pouvant s'accroître avec la température. Toutes les valeurs de BIX sont < 0.5 , indiquant que la majorité de la MOD dérivent de la décomposition des débris végétaux (Huguet et al., 2009). La présence de *Molinia caerulea* induit une augmentation du BIX à 20 cm. Ces valeurs de BIX (~ 0.45) observées à 20 cm dans les mésocosmes à sphaignes + molinie sont proches de celles trouvées par Hodgkins et al. (2016) dans des 'rich fens', dominées par des *Eriophorum vaginatum* et *Carex rostrata*. Ces valeurs plus importantes sont reliées à une augmentation du chromophore β dans les échantillons d'eau (Huguet et al., 2009) et suggèrent une plus grande contribution des dérivés microbiens à la MOD de ces échantillons (Hodgkins et al., 2016). Cette augmentation du BIX dans ce compartiment pourrait ainsi montrer une modification de l'activité ou de la composition des communautés microbiennes en présence de *Molinia caerulea* (pouvant être induit par ces exsudats racinaires).

Cette augmentation des dérivés microbiens conduit généralement à des HIX plus faibles (Kalbitz et al., 2003), ce qui n'est pas constaté ici. Les valeurs de HIX restent inchangées malgré

les modifications de l'activité microbienne suggérée par les valeurs de BIX. L'accumulation des produits microbiens (peu aromatique) pourrait être contrebalancée par l'accumulation des composés aromatiques issus d'une augmentation de décomposition (par une plus forte activité microbienne, Kalbitz et al., 2003, Hodgkins et al., 2016). Ces interactions entre exsudats racinaires et communautés microbiennes peuvent indiquer un « priming effect » induit par un relargage de substrats carbonés labiles dans le sol favorisant l'activité microbienne et une stimulation de la décomposition de la MO. Cette décomposition supplémentaire a déjà été reportée avec d'autres Poaceae, telle que *Lolium perenne*, qui induisent une augmentation des émissions de CO₂ (Kuzakov et al., 2000).

IV.2.4.3 Conclusion

Un changement des communautés végétales peut influencer la dynamique du C au sein des tourbières via de nouvelles sources de substrats carbonés, apportés via les exsudats racinaires et les litières des plantes vasculaires. Ces modifications des sources carbonées semblent n'affecter que très peu les caractéristiques de la MOD dans nos mésocosmes suite à l'envahissement de *Molinia caerulea* avec néanmoins des [DOC] moindres dans les piézomètres des mésocosmes Sphaignes + Molinie en comparaison des mésocosmes Sphaignes. Cette diminution pourrait être induite par une stimulation de l'activité microbienne via les exsudats racinaires, induisant également une augmentation de l'indice de l'activité biologique (BIX) et du rapport C/A en profondeur avec la présence de *Molinia caerulea*. Ces carbonés labiles facilement décomposables affectent dans un premiers temps les communautés microbiennes qui peuvent altérer la MOD des tourbières. Des études s'intéressant à un envahissement des plantes vasculaires sur des périodes plus longues pourraient permettre d'identifier une différenciation plus marquée de la MOD et d'avoir une meilleure compréhension des mécanismes souterrains impliqués par la rhizosphère des plantes vasculaires.

References

- Bouillant, M. L., Jacoud, C., Zanella, I., Favre-Bonvin, J., & Bally, R. (1994). Identification of 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol in rice root exudates. *Phytochemistry*, 35(3), 768-771.
- Brys, R., Jacquemyn, H., & De Blust, G. (2005). Fire increases aboveground biomass, seed production and recruitment success of *Molinia caerulea* in dry heathland. *Acta Oecologica*, 28(3), 299-305.
- Chanton, J. P., Glaser, P. H., Chasar, L. S., Burdige, D. J., Hines, M. E., Siegel, D. I., Tremblay, L. B., & Cooper, W. T. (2008). Radiocarbon evidence for the importance of surface vegetation on fermentation and methanogenesis in contrasting types of boreal peatlands. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(4).

- Coble, P. G. (1996). Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine chemistry*, 51(4), 325-346.
- D'Angelo, B. (2015). Variabilité spatio-temporelle des émissions de GES dans une tourbière à Sphaignes : effets sur le bilan carbone. Thèse de l'Université d'Orléans, XXX p.
- Deszcz, L., & Kozubek, A. (2000). Higher cardol homologs (5-alkylresorcinols) in rye seedlings. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1483(2), 241-250.
- Dieleman, C. M., Lindo, Z., McLaughlin, J. W., Craig, A. E., & Branfireun, B. A. (2016). Climate change effects on peatland decomposition and porewater dissolved organic carbon biogeochemistry. *Biogeochemistry*, 128(3), 385-396.
- Dorrepaal, E., Cornelissen, J. H., & Aerts, R. (2007). Changing leaf litter feedbacks on plant production across contrasting sub-arctic peatland species and growth forms. *Oecologia*, 151(2), 251-261.
- Facelli, J. M., & Pickett, S. T. (1991). Plant litter: its dynamics and effects on plant community structure. *The botanical review*, 57(1), 1-32.
- Garcia, S., Garcia, C., Heinzen, H., & Moyna, P. (1997). Chemical basis of the resistance of barley seeds to pathogenic fungi. *Phytochemistry*, 44(3), 415-418.
- Grime, J. P., Mason, G., Curtis, A. V., Rodman, J., & Band, S. R. (1981). A comparative study of germination characteristics in a local flora. *The Journal of Ecology*, 1017-1059.
- Hodgkins, S. B., Tfaily, M. M., Podgorski, D. C., McCalley, C. K., Saleska, S. R., Crill, P. M., Rich, V., Chanton, J., & Cooper, W. T. (2016). Elemental composition and optical properties reveal changes in dissolved organic matter along a permafrost thaw chronosequence in a subarctic peatland. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 187, 123-140.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J. M., & Parlanti, E. (2009). Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry*, 40(6), 706-719.
- Kalbitz, K., Schwesig, D., Schmerwitz, J., Kaiser, K., Haumaier, L., Glaser, B., Ellerbrock, R., & Leinweber, P. (2003). Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(8), 1129-1142.
- Kozubek, A., & Nienartowicz, B. (1995). Cereal grain resorcinolic lipids inhibit H₂O₂-induced peroxidation of biological membranes. *ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION*, 42, 309-309.
- Kozubek, A., & Tyman, J. H. (1999). Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity. *Chemical Reviews*, 99(1), 1-26.
- Kuzyakov, Y., Ehrensberger, H., & Stahr, K. (2001). Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(1), 61-74.
- Ji, X., & Jetter, R. (2008). Very long chain alkylresorcinols accumulate in the intracuticular wax of rye (*Secale cereale* L.) leaves near the tissue surface. *Phytochemistry*, 69(5), 1197-1207.
- Magnucka, E. G., Pietr, S. J., Kozubek, A., & Zarnowski, R. (2014). Various effects of the photosystem II-inhibiting herbicides on 5-n-alkylresorcinol accumulation in rye seedlings. *Pesticide biochemistry and physiology*, 116, 56-62.
- Magnucka, E. G., Pietr, S. J., & Zarnowski, R. (2015). Dynamics of alkylresorcinols during rye caryopsis germination and early seedling growth. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 70(3-4), 71-73.

- Normand, A. E., Smith, A. N., Clark, M. W., Long, J. R., & Reddy, K. R. (2017). Chemical Composition of Soil Organic Matter in a Subarctic Peatland: Influence of Shifting Vegetation Communities. *Soil Science Society of America Journal*, 81(1), 41-49.
- Pons, T. L. (1989). Dormancy, germination and mortality of seeds in heathland and inland sand dunes. *Acta botanica neerlandica*, 38(3), 327-335.
- Robroek, B. J., Albrecht, R. J., Hamard, S., Pulgarin, A., Bragazza, L., Buttler, A., & Jassey, V. E. (2016). Peatland vascular plant functional types affect dissolved organic matter chemistry. *Plant and soil*, 407(1-2), 135-143.
- Ross, A. B., Shepherd, M. J., Schüpphaus, M., Sinclair, V., Alfaro, B., Kamal-Eldin, A., & Åman, P. (2003). Alkylresorcinols in cereals and cereal products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 4111-4118.
- Sampietro, D. A., Belizán, M. M., Apud, G. R., Juarez, J. H., Vattuone, M. A., Catalan, C. A., et al. (2013). Alkylresorcinols: chemical properties, methods of analysis, and potential uses in food, industry and plant protection. *Natural Antioxidants and Biocides from Wild Medicinal Plants*, 148-166.
- Suzuki, Y., Kurano, M., Esumi, Y., Yamaguchi, I., & Doi, Y. (2003). Biosynthesis of 5-alkylresorcinol in rice: incorporation of a putative fatty acid unit in the 5-alkylresorcinol carbon chain. *Bioorganic chemistry*, 31(6), 437-452.
- Stasiuk, M., & Kozubek, A. (2010). Biological activity of phenolic lipids. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(6), 841-860.
- Tfaily, M. M., Corbett, J. E., Wilson, R., Chanton, J. P., Glaser, P. H., Cawley, K. M., Jaffé, R., & Cooper, W. T. (2015). Utilization of PARAFAC-Modeled Excitation-Emission Matrix (EEM) Fluorescence Spectroscopy to Identify Biogeochemical Processing of Dissolved Organic Matter in a Northern Peatland. *Photochemistry and photobiology*, 91(3), 684-695.
- Thormann, M. N., Bayley, S. E., & Currah, R. S. (2001). Comparison of decomposition of belowground and aboveground plant litters in peatlands of boreal Alberta, Canada. *Canadian Journal of Botany*, 79(1), 9-22.
- Troelstra, S. R., Wagenaar, R., Smant, W., 1995. Nitrogen utilization by plant species from acid heathland soils: I. Comparison between nitrate and ammonium nutrition at constant low pH 1. *Journal of Experimental Botany*, 1103-1112.
- Verhoeven, J. T. A., & Toth, E. (1995). Decomposition of *Carex* and *Sphagnum* litter in fens: effect of litter quality and inhibition by living tissue homogenates. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(3), 271-275.
- Weltzin, J. F., Keller, J. K., Bridgham, S. D., Pastor, J., Allen, P. B., & Chen, J. (2005). Litter controls plant community composition in a northern fen. *Oikos*, 110(3), 537-546.
- Weston, L. A., Alsaadawi, I. S., & Baerson, S. R. (2013). Sorghum allelopathy—from ecosystem to molecule. *Journal of chemical ecology*, 39(2), 142-153.
- Zarnowski, R., Kozubek, A., & Pietr, S. J. (1999). Effect of rye 5-n-alkylresorcinols on in vitro growth of phytopathogenic *Fusarium* and *Rhizoctonia* fungi. *Bull. Pol. Acad. Sci.: Biol. Sci.*, 47(2-4), 231-235.
- Zocatelli, R., Jacob, J., Gogo, S., Le Milbeau, C., Rousseau, J., & Laggoun-Défarge, F. (2014). Spatial variability of soil lipids reflects vegetation cover in a French peatland. *Organic Geochemistry*, 76, 173-183.
- Zsolnay, A., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., & Saccomandi, F. (1999). Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*, 38(1), 45-50

V. Bilan de carbone et potentiel de réchauffement climatique d'une tourbière à sphaignes envahie par *Molinia caerulea*

Préambule

Les interactions entre les plantes vasculaires, les sphaignes et le compartiment souterrain des sols tourbeux sont multiples : interactions complexes entre plantes vasculaires et sphaignes (Chapitre III-1), effets synergiques sur la décomposition des litières (Chapitre III-2) ou encore, modifications dans les apports de substrats carbonés (Chapt IV). De tels changements sont susceptibles d'affecter la dynamique du C dans les tourbières à sphaignes. En effet, des différences de flux de CO₂ et de CH₄ ont été mises en évidence dans des sols sous différents couverts végétaux avec une plus forte absorption du CO₂ généralement mesurée dans des zones arborées ou couvertes par des graminoides (Ward et al., 2013). Cependant, une partie des produits de photosynthèse additionnels est allouée aux exsudats racinaires stimulant l'activité microbienne dans le sol. Ce carbone organique labile est rapidement minéralisé en CO₂ et peut accélérer la décomposition de la MO et engendrer ainsi de plus fortes émissions de CO₂ et de CH₄. Ainsi, les plantes vasculaires peuvent accélérer la dynamique du C dans les tourbières mais le bilan entre le gain et les pertes de C reste à élucider. Ainsi, la problématique de ce chapitre porte sur :

Comment les changements de communautés végétales affectent le bilan de C dans les tourbières à sphaignes ?

L'objectif principal de ce chapitre est donc de déterminer l'effet d'un changement de végétation sur les flux de CO₂ and CH₄ et d'estimer le bilan de C d'une tourbière à sphaignes envahie par des plantes vasculaires. Pour répondre à cet objectif, nous avons mis en place une expérimentation en mésocosmes avec des monolithes de tourbe contenant uniquement *Sphagnum rubellum* ou à la fois *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea*. Les flux de CO₂ et CH₄ ont été mesurés entre mai 2015 et juin 2016 avec un suivi des conditions environnementales dans chaque mésocosme (température du sol à 5 et 20 cm, niveau d'eau, nombre de feuilles de molinie). Ces paramètres ont été utilisés pour modéliser les flux de CO₂ et CH₄ émis par les deux communautés végétales et pour évaluer le bilan de C et leur potentiel de réchauffement climatique. Le dispositif expérimental est décrit en détail dans le chapitre II.

Les résultats des flux de gaz montrent qu'en présence de *Molinia caerulea*, l'absorption de CO₂ augmente tout comme les émissions de CO₂ et CH₄, notamment durant la période de végétation (de mai à novembre, Fig V-1). Des émissions plus fortes de CO₂ et CH₄ ont également été mesurées après la sénescence des feuilles de *Molinia caerulea* alors que

l'absorption de CO₂ est similaire pendant cette période entre les mésocosmes à *Sphagnum* et les mésocosmes à *Sphagnum* + *Molinia*. Ces fortes émissions de CO₂ et CH₄ dans les mésocosmes à *Molinia caerulea* peuvent être expliquées par l'activité métabolique de cette plante vasculaire mais aussi par ses exsudats racinaires pouvant stimuler les microorganismes et induire des émissions plus importantes de CO₂ et CH₄ (Armstrong et al., 2015). La modélisation des flux a permis d'estimer des émissions annuelles de CO₂ et de CH₄ s'élevant respectivement à 376 et à 7 gC m⁻² a⁻¹ dans les mésocosmes à *Sphagnum*, et respectivement de 1018 et de 33 gC m⁻² a⁻¹ dans les mésocosmes à *Sphagnum* + *Molinia* (Table V-4). Il en résulte qu'avec une production primaire brute évaluée à -376 et -1018 gC m⁻² a⁻¹ dans les mésocosmes à *Sphagnum* et à *Sphagnum* + *Molinia*, ces deux communautés végétales semblent agir comme des puits de C avec un stockage de -30 gC m⁻² a⁻¹ par les sphaignes et de -223 gC m⁻² a⁻¹ par les sphaignes + molinie (Table V-4). Le stockage plus important de C en présence de *Molinia caerulea* peut être utilisé pour la production des racines estimée à 1080 g m⁻² a⁻¹ (Taylor et al., 2001) ce qui représente un stockage de 486 gC m⁻² a⁻¹ (pour 0.45gC g⁻¹). Ce stockage est presque deux fois plus important que celui modélisé à partir des flux de GES et pourrait refléter une augmentation de la décomposition de la MO déjà stockée dans la tourbe. De plus, malgré cette capacité à stocker du C, les deux communautés végétales semblent avoir un effet positif sur le réchauffement climatique en libérant +195 et +547 gCO₂ eq m⁻² a⁻¹ dans les mésocosmes à *Sphagnum* et à *Sphagnum* + *Molinia*, respectivement (Table V-4). En effet, même si les émissions de CH₄ ne représentent qu'une petite partie des émissions du C gazeux (~ 3%), son fort pouvoir de réchauffement climatique engendre que les mésocosmes, avec les deux communautés végétales, agissent comme des rétroactions positives sur les changements climatiques.

CO₂ and CH₄ budgets and global warming potential modifications in *Sphagnum*-dominated peat mesocosms invaded by *Molinia caerulea*

Fabien Leroy, Sébastien Gogo, Christophe Guimbaud, Léonard Bernard-Jannin, Xiaole Yin, Guillaume Belot, Wang Shuguang, Fatima Laggoun-Défarge

Soumis le 24 août 2017 à *Science of the Total Environment*, STOTEN-D-17-06579

Abstract

Plant communities play a key role in regulating greenhouse gas (GHG) emissions in peatland ecosystems and therefore in their ability to act as carbon (C) sinks. However, in response to global change, a shift from *Sphagnum* to vascular plant-dominated peatlands may occur, with a potential alteration in their C-sink function. To investigate how the main GHG fluxes (CO₂ and CH₄) are affected by a plant community change (shift from dominance of *Sphagnum* mosses to vascular plants, i.e. *Molinia caerulea*), a mesocosm experiment was set up. Gross primary production (GPP), ecosystem respiration (ER) and CH₄ emission models were used to estimate the annual C balance and global warming potential under both vegetation covers. While the ER and CH₄ emission models estimated an output of, respectively, 376 and 7 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* mesocosms, this reached 1018 and 33 gC m⁻² y⁻¹ in mesocosms with *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea*. Annual modeled GPP was estimated at -414 and -1273 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots, respectively, leading to an annual CO₂ and CH₄ budget of -30 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* plots and of -223 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* + *Molinia* ones (i.e., a C-sink). Even if, CH₄ emissions accounted for a small part of the gaseous C efflux (ca. 3%), their global warming potential value makes both plant communities have a climate warming effect. The shift of vegetation from *Sphagnum* mosses to *Molinia caerulea* seems beneficial for C sequestration at a gaseous level. However, roots and litters of *Molinia caerulea* could provide substrates for C emissions that were not taken into account in the short measurement period studied here.

Keywords Temperate peatlands • Graminoid-dominated peatland • Greenhouse gas emissions • C budgets • *Sphagnum* mosses • Vegetation changes

V.1 Introduction

Peatlands are wetlands that act as a carbon (C) sink at a global scale. They cover only 3% of the land area but have accumulated between 473 to 621 Gt C (Yu et al., 2010) representing 30% of the global soil C. The C-sink capacity of peatlands is closely linked to environmental conditions and plant cover characteristics which limit the activity of soil decomposers. As a result, in spite of the relatively small net ecosystem production in peatlands, the imbalance between primary production and decomposition is enough to allow high organic matter (OM) accumulation as peat (Bragazza et al., 2009). The major component of peat is the accumulation of *Sphagnum* litter (Turetsky, 2003). *Sphagnum* mosses have a key role in peat accumulation by creating acidic, nutrient poor, wet and anoxic conditions and generating recalcitrant litters. Thus, *Sphagnum* species are able to outcompete vascular plants and reduce microbial decomposition (van Breemen, 1995). However, due to global change, environmental modifications (nutrient input, water table drop, warmer climate, etc.) are expected to cause a plant community shift in peatlands with an increase in vascular plants (especially graminoids) to the detriment of *Sphagnum* species (Berendse et al., 2001; Buttler et al., 2015; Dieleman et al., 2015). Vascular plant invasion could lead to a faster decomposition of peat OM due to a change in litter quality as a substrate for decomposers, thereby decreasing C-sequestration (Strakova et al., 2011). Furthermore, OM already stored in deep peat may be subject to increased decomposition through the stimulating effect of rhizospheric C input. If these losses are not compensated by an increased gross primary productivity, peatlands could shift from a sink to a source of C and could increase greenhouse gas emissions, mainly carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄). Vascular plant invasion in peatlands has mostly been studied through a change in decomposition rates (Moore et al., 2007; Gogo et al., 2016) and modification in decomposer activities (Krab et al., 2013; Strakova et al., 2011). Some studies have paid attention to CH₄ emissions with and without the presence of *Carex* or *Eriophorum* (Noyce et al., 2014; Green and Baird, 2012; Greenup et al., 2000) and to CO₂ fluxes with different plant community compositions (Neff and Hooper, 2002; Ward et al., 2013). In spite of observed changes in C fluxes, the role of vascular plant invasion on the C balance in peatlands remains to be elucidated. The aim of this study was to investigate how an invading graminoid species, *Molinia caerulea*, can affect the Greenhouse Gases C Budget (GGCB) of a *Sphagnum*-dominated peatland. CO₂ fluxes and CH₄ emissions were regularly measured in *Sphagnum*-peat mesocosms with and without *Molinia caerulea* during fourteen months and were related to biotic and abiotic factors to estimate the annual C budget.

V.2 Materials and methods

V.2.1 Experimental design, sampling and methods

Twelve cylindrical peat mesocosms (30 cm in thickness and diameter) and water were collected in La Guette peatland (France) in March 2015. The site is a *Sphagnum*-dominated transitional fen that has been invaded by *Molinia caerulea* and *Betula spp* (*Betula verrucosa* and *Betula pubescens*) promoted by hydrological disturbances and nutrient inputs (Gogo et al., 2011). The mesocosms were buried near the laboratory in mineral soil with a waterproof tarpaulin containing peat water surrounding them. Environmental conditions were monitored with a weather station including solar radiation, relative humidity, air and soil temperature at 5 and 20 cm depth every 15 minutes. The mesocosms were separated into 2 treatment groups: 6 mesocosms containing only *Sphagnum rubellum* (called '*Sphagnum*' plots), and 6 containing both *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* (called '*Sphagnum* + *Molinia*' plots). *Molinia caerulea* seedlings appeared in May and were manually removed from *Sphagnum* plots. The water table level (WTL) was measured by a piezometer installed within each mesocosm. The number and height of *Molinia caerulea* leaves were measured.

V.2.2 Greenhouse gas measurements

Measurements were performed with the static chamber method from May 2015 to June 2016. CO₂ and CH₄ fluxes were measured once or twice per week during the growing season (April-October 2015 and April-June 2016) and every two weeks during the winter (November 2015- March 2016). CO₂ concentrations were estimated using a GMP343 Vaisala probe inserted into a transparent PVC chamber (D'Angelo et al., 2016; Leroy et al., 2017). This clear chamber was used to measure the net ecosystem exchange (NEE), the balance between gross primary production (GPP; absorption of CO₂ by photosynthesis) and ecosystem respiration (ER, release of CO₂ into the atmosphere). ER was measured by placing an opaque cover on the chamber to block photosynthesis. The difference between NEE and ER corresponded to the GPP. The measurements lasted a maximum of 5 min and CO₂ concentration was recorded every 5 seconds. The slope of the relationship between CO₂ concentration and time allowed fluxes (in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) to be calculated. CH₄ emissions were measured using SPIRIT, a portable infrared laser spectrometer (Guimbaud et al., 2016), measuring CH₄ concentration in a transparent chamber. Measurements take several to twenty minutes with time resolution of 1.5 s (Guimbaud et al., 2011).

V.2.3 Carbon flux modeling

V.2.3.1 Ecosystem Respiration

The ER increased with increasing air temperature and decreasing WTL in both vegetation covers (Table V-1), as found by Bortoluzzi et al. (2006). To derive ER for the entire year, the same equation as these authors were used for *Sphagnum* plots (Eq. 1):

$$ER_{sph} = \left[a * \frac{WTL}{WTL_{ref}} + b \right] * \left(\frac{(T_a - T_{min})}{(T_{ref} - T_{min})} \right)^c \quad \text{Eq. 1}$$

ER is the ecosystem respiration flux ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). T_{ref} is the reference air temperature and T_{min} the minimum air temperature. These two parameters were set as in Bortoluzzi et al. (2006) at 15°C and -5°C, respectively. T_a refers to the measured air temperature (°C). The reference for the WTL (WTL_{ref}) was set at -15cm corresponding to the deepest WTL recorded in the mesocosms. The coefficients a, b and c (temperature sensitivity parameters) are empirical parameters.

Table V-1 Linear regression coefficient of determination (r^2) of Ecosystem Respiration (ER), Gross Primary Production (GPP) and methane emissions (CH_4) with air (T_a) and soil temperature (T_s) at 5 and 20 cm depth, water table level (WTL), photosynthetic active radiation (PAR) and the number of *Molinia caerulea* leaves. The number in bold is the highest determination coefficient for each variable in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots. Significance levels of correlation are expressed as $^{-/+}p < 0.05$, $^{--/++}p < 0.01$, $^{---/+++}p < 0.001$. $^{-/+}$ represents a negative or positive relationship, respectively.

	Determination coefficient (r^2)					
	<i>Sphagnum</i>			<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>		
	ER	GPP	CH_4	ER	GPP	CH_4
T_a	0.73 ⁺⁺⁺	0.31 ⁻⁻⁻	0	0.51 ⁺⁺⁺	0.16 ⁻⁻	0.09 ⁺
T_s at 5 cm	0.65 ⁺⁺⁺	0.19 ⁻⁻	0.25 ⁺⁺⁺	0.39 ⁺⁺⁺	0.15 ⁻	0.62 ⁺⁺⁺
T_s at 20 cm	0.47 ⁺⁺⁺	0.18 ⁻⁻	0.18 ⁺⁺	0.40 ⁺⁺⁺	0.28 ⁻	0.73 ⁺⁺⁺
WTL	0.55 ⁻⁻⁻	0.12 ⁺	0.47 ⁻⁻⁻	0.28 ⁻⁻⁻	0.11 ⁺	0.12 ⁻
PAR	0.48 ⁺⁺⁺	0.28 ⁻⁻⁻	0.15 ⁺⁺	0.28 ⁺⁺⁺	0.06	0.31 ⁺⁺⁺
<i>Molinia caerulea</i> leaves	NA	NA	NA	0.44 ⁺⁺⁺	0.80 ⁻⁻⁻	0.08 ⁺

In *Sphagnum* + *Molinia* plots, ER was significantly correlated to the number of *Molinia caerulea* leaves ($r^2=0.44$; Table V-1). Following Bortoluzzi et al. (2006) and Kandel et al. (2013), we included, in addition to WTL and temperature, a vegetation index based on the number of *Molinia caerulea* leaves in the ER model for *Sphagnum* + *Molinia* plots (Eq. 2):

$$ER_{mol} = \left[\left(a * \frac{WTL}{WTL_{ref}} \right) + (b * Mc_{leaves}) \right] * \left(\frac{(T_a - T_{min})}{(T_{ref} - T_{min})} \right)^c \quad \text{Eq. 2}$$

Mc_{leaves} is the number of *Molinia caerulea* leaves.

V.2.3.2 Gross primary production

The relationship between GPP and photosynthetic photon flux density (PPFD) is often described by a rectangular hyperbola saturation curve with:

$$GPP = \frac{i * PPFD * GPP_{max}}{i * PPFD + GPP_{max}} \quad \text{Eq. 3}$$

where i ($\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1} \text{ photon}$) is the initial slope of the hyperbola, GPP_{max} , the maximum GPP ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and PPFD, the photosynthetic photon flux density ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). This approach was modified by Mahadevan et al. (2008) and Kandel et al. (2013) to include the effect of temperature and vegetation on the GPP model. The same equation was used in this study with (Eq. 4):

$$GPP = \frac{GPP_{max} * PPFD}{k + PPFD} * RVI * T_{scale} \quad \text{Eq. 4}$$

where GPP_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) represents the GPP at light saturation, the parameter k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Eq. 4) is the half saturation value and RVI are a vegetation index to include the effect of *Molinia* leaves number on photosynthesis. T_{scale} is the temperature sensitivity of photosynthesis based on Kandel et al. (2013) and calculated as:

$$T_{scale} = \frac{(T - T_{min})(T - T_{max})}{(T - T_{min})(T - T_{max}) - (T - T_{opt})^2} \quad \text{Eq. 5}$$

where T_{min} , T_{opt} and T_{max} represent the minimum, optimum and maximum air temperature for photosynthesis and were set at 0, 20 and 40°C, respectively.

V.2.3.3 CH₄ emissions

The CH₄ emissions were significantly correlated to the soil temperature and the water table level (Table V-1). An equation similar to Eq. 1 was used to model the emissions (Eq. 6):

$$CH_4 = \left[d * \frac{WTL}{WTL_{ref}} + e \right] * \left(\frac{(T_s - T_{min})}{(T_{ref} - T_{min})} \right)^f \quad \text{Eq. 6}$$

where WTL_{ref}, T_{min}, T_{ref} and T_{min} were set as for the ER equation. T_s refers to the measured soil temperature (°C).

V.2.3.4 Greenhouse Gases C Budget and global warming potential

The net ecosystem C balance (NECB) represents the net rate of C accumulation or release in or from the ecosystem (Chapin et al., 2006) and is calculated as:

$$NECB = -GPP + ER + F_{CH_4} + F_{CO} + F_{VOC} + F_{DIC} + F_{DOC} + F_{PC} \quad \text{Eq. 7}$$

where GPP is the gross primary production (μmol m⁻² s⁻¹), ER, the Ecosystem Respiration (μmol m⁻² s⁻¹) and F_{CH₄}, F_{CO}, F_{VOC}, F_{DIC}, F_{DOC}, F_{PC}, the fluxes in μmol m⁻² s⁻¹ of methane (CH₄), C monoxide (CO), volatile organic C (VOC), dissolved inorganic C (DIC), dissolved organic C (DOC) and particulate C (PC), respectively. In this study, we used a simplified approach based on the GPP, ER and CH₄ emissions that we referred as the Greenhouse Gases C Budget (GGCB). The fluxes were computed at a 15 minutes time step using the calibrated models of GPP, ER and CH₄ emissions. The GGCB was also modeled for a variation in annual temperature from 9.8 to 13.8°C and in WTL from 2.5 to -9 cm, to stimulate increases or decreases in average temperature or WTL by about 2°C and 3 cm, respectively. The global warming potential over 100 years (GWP₁₀₀; g CO₂ eq m⁻² d⁻¹) was calculated for both plant communities by the sum of the GPP and ER and the CH₄ emissions. The radiative force of CH₄ is 34 times that of CO₂ (Myhre et al., 2013).

A simulation of the NEE for *Sphagnum* + *Molinia* plots was carried out for an elongation or shrinkage of the growing season up to 60 days. Onset and offset occurred during the period of maximum number of *Molinia caerulea* leaves and were combined with a modification in the annual temperature between – and + 2°C, for a mean air temperature between 9.8 and 13.8°C.

V.2.3.5 Statistics and model validation

The effects of *Molinia caerulea* were assessed by comparing *Sphagnum* + *Molinia* plots to *Sphagnum* plots with two-ways repeated-measure ANOVAs (with plant cover and date as factors).

Two, randomly select, thirds of the ER and CH₄ emission measurements were used to calibrate the models and the other third was used for validation. Calibration of the GPP models were done using additional measurements with nets decreasing the irradiance in order to calibrate the GPP_{max}, RVI and k parameters based on the Michaelis-Menten equation. In this ways, all measurement points were used to validate the model. Model quality was evaluated using the determination coefficient (r^2) and the Normalized Root Mean Square Error (NRMSE) calculated as:

$$NRMSE = 100 * \frac{\sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2}{n}}}{\bar{y}} \quad \text{Eq. 8}$$

where y is the measured value, $\hat{y}$ the computed value, n the number of values and $\bar{y}$ the average of the measured value. The NRMSE indicates the percentage of variance between the measured and the predicted values.

The parameters of ER (a, b and c) and CH₄ emissions (d, e and f) models were calibrated by minimizing the NRMSE using the “SANN” method of the optim function in R (R Core Team, 2016).

V.3 Results

V.3.1 Environmental conditions

The environmental conditions of our measurements did not significantly differ between *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots (Table V-2). The annual air mean temperature was 11.8°C and was lower than the average air temperature during the measurements (13.1°C, Table V-2).

Table V-2 Mean values of 14 months' measurements of net ecosystem exchange (NEE), gross primary production (GPP), ecosystem respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), photosynthetic active radiation (PAR), water table level (WTL) and air (Ta) and soil temperature (Ts) in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots. Significant differences of two-way repeated-measure ANOVAs are expressed as *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 (n = 6).

	Mean		Significativity
	<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	
GHG fluxes			
NEE (μmol m ⁻² s ⁻¹)	-1.26	-5.22	***
GPP (μmol m ⁻² s ⁻¹)	-2.49	-8.29	***
ER (μmol m ⁻² s ⁻¹)	1.23	3.08	***
CH ₄ (μmol m ⁻² s ⁻¹)	0.030	0.093	***
Environmental parameters			
WTL (cm)	-5.21	-7.05	
PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	742	718	
Ta (°C)	13.0	13.2	
Ts at 5 cm (°C)	13.9	14.0	
Ts at 20 cm (°C)	14.4	14.2	

V.3.2 Measured GHG fluxes

ER was significantly higher in *Sphagnum* + *Molinia* plots compared to *Sphagnum* ones. In both vegetation covers, the ER was maximum in July and minimum in January-February (Table V-2, Fig. IV-1a). GPP increased with the number of *Molinia* leaves, whereas in *Sphagnum* plots the GPP was relatively constant (Fig. IV-1b). After the senescence of *Molinia caerulea*, the GPP did not differ between the two treatments, unlike ER that remained higher in *Molinia* plots compared to *Sphagnum* ones. As a result, the NEE was higher in *Sphagnum* + *Molinia* plots than in *Sphagnum* ones during the growing season, but was lower the rest of the time (Fig. IV-1c). CH₄ emissions significantly increased in *Sphagnum* + *Molinia* plots with a peak of emissions in summer (June to August) and the lowest emissions in winter (Fig. IV-1d).

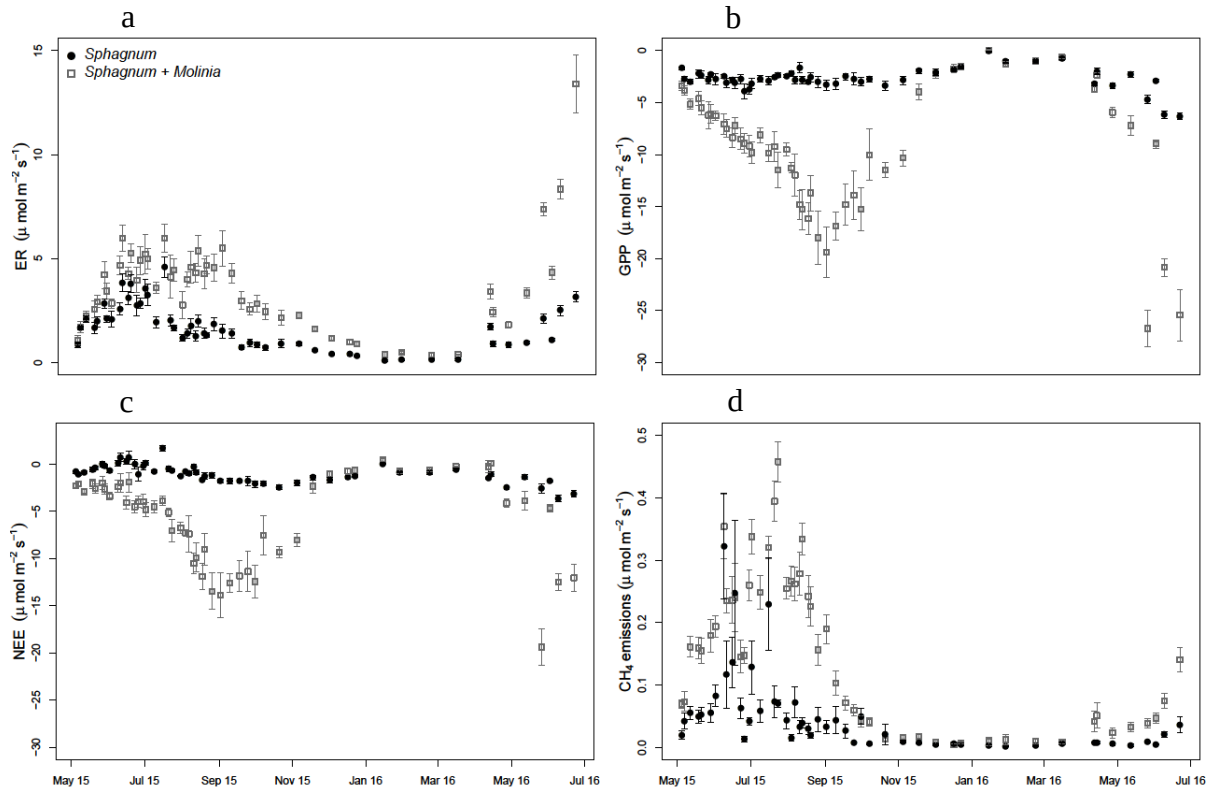


Figure V-1 Measurements of ecosystem respiration (ER; a), gross primary production (GPP, b), net ecosystem exchange (NEE, c) and CH₄ emissions (d) in *Sphagnum* and *Sphagnum + Molinia* plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to June 2016.

V.3.3 Calibration and validation of the GPP models

GPP parameters were calibrated using the photosynthesis-irradiance curves based on the Michaelis-Menten equation at four dates. The GPP_{max} increased from -4.6 to -7.4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in *Sphagnum* plots and from 7.2 in April to 25.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at the end of June in *Sphagnum + Molinia* plots.

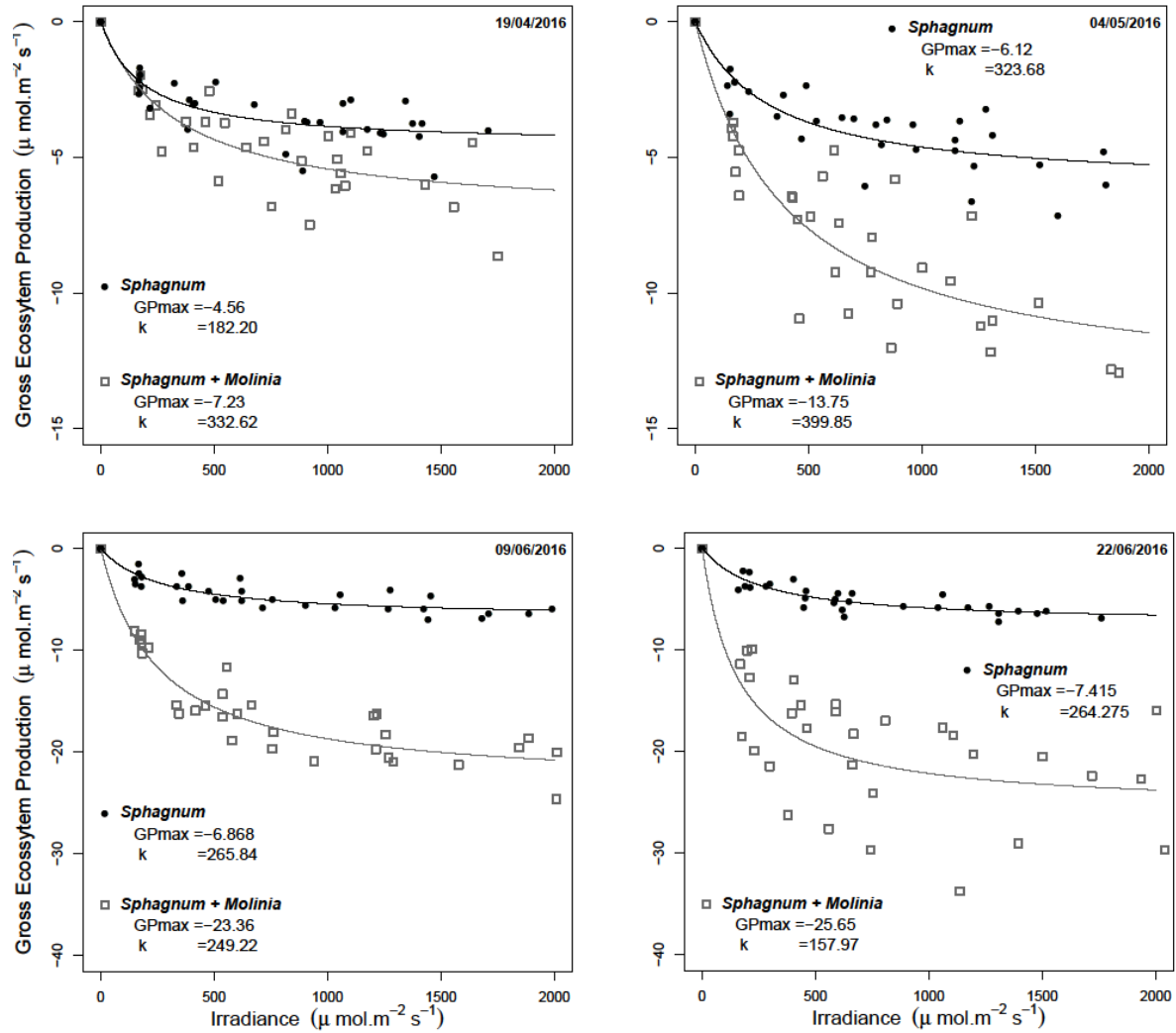


Figure V-2 Dependence of gross primary production (GPP) on irradiance at four dates. The photosynthesis-irradiance curve shows the maximum rate of photosynthesis (GPP_{max}) and the half saturation value (k).

These increases are linked to *Sphagnum* growth and the number of *Molinia caerulea* leaves, respectively (Fig. IV-3). Based on these linear relationships, the GPP_{max} is variable in time depending on these vegetation indexes. The parameter k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Eq. 4) is the half saturation value and was set at the mean k value of the four dates with a k equal to $259 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for *Sphagnum* plots and $285 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for *Sphagnum + Molinia* ones.

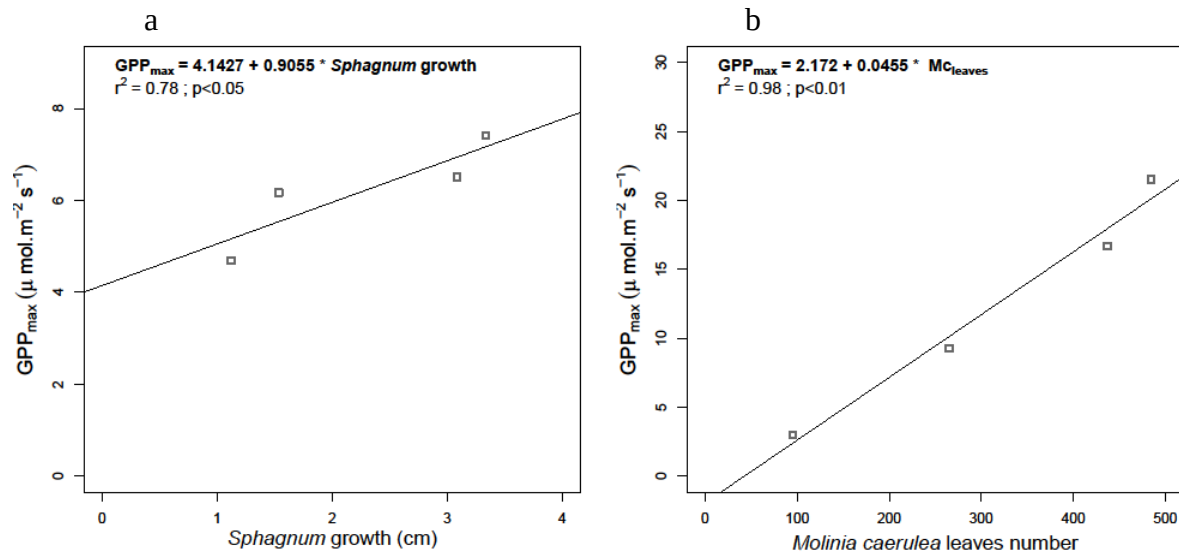


Figure V-3 Linear relationship between the Gross Primary Production maximum (GPP_{max}) calculated with the photosynthesis-irradiance curve and *Sphagnum* growth (a) and the number of *Molinia caerulea* leaves (b).

Models validations was done using all the measurements points and showed a good reproduction of the GPP measurements, even if the relatively constant GPP in *Sphagnum* plots had a NRMSE close to 70.

V.3.4 Calibration and validation of the ER and CH₄ emissions models

Calibration of the models showed a good agreement between the modeled and measured ER and CH₄ emissions with a high r^2 and low NRMSE for both plant communities (Table V-3, Fig. IV-4a and 4d). Regarding the model evaluation, the validation data represented the ER measurements well, especially in *Sphagnum* plots with a r^2 of 0.82 and a NMRSE of 46.8. However, in *Sphagnum* + *Molinia* plots, the ER model validation showed a r^2 close to 0.6 but with the higher NMRSE. The validation of the CH₄ models explained a good proportion of the variance with a r^2 of 0.66 in *Sphagnum* plots and of 0.83 in *Sphagnum* + *Molinia* plots (Table V-3, Fig. V-4c)

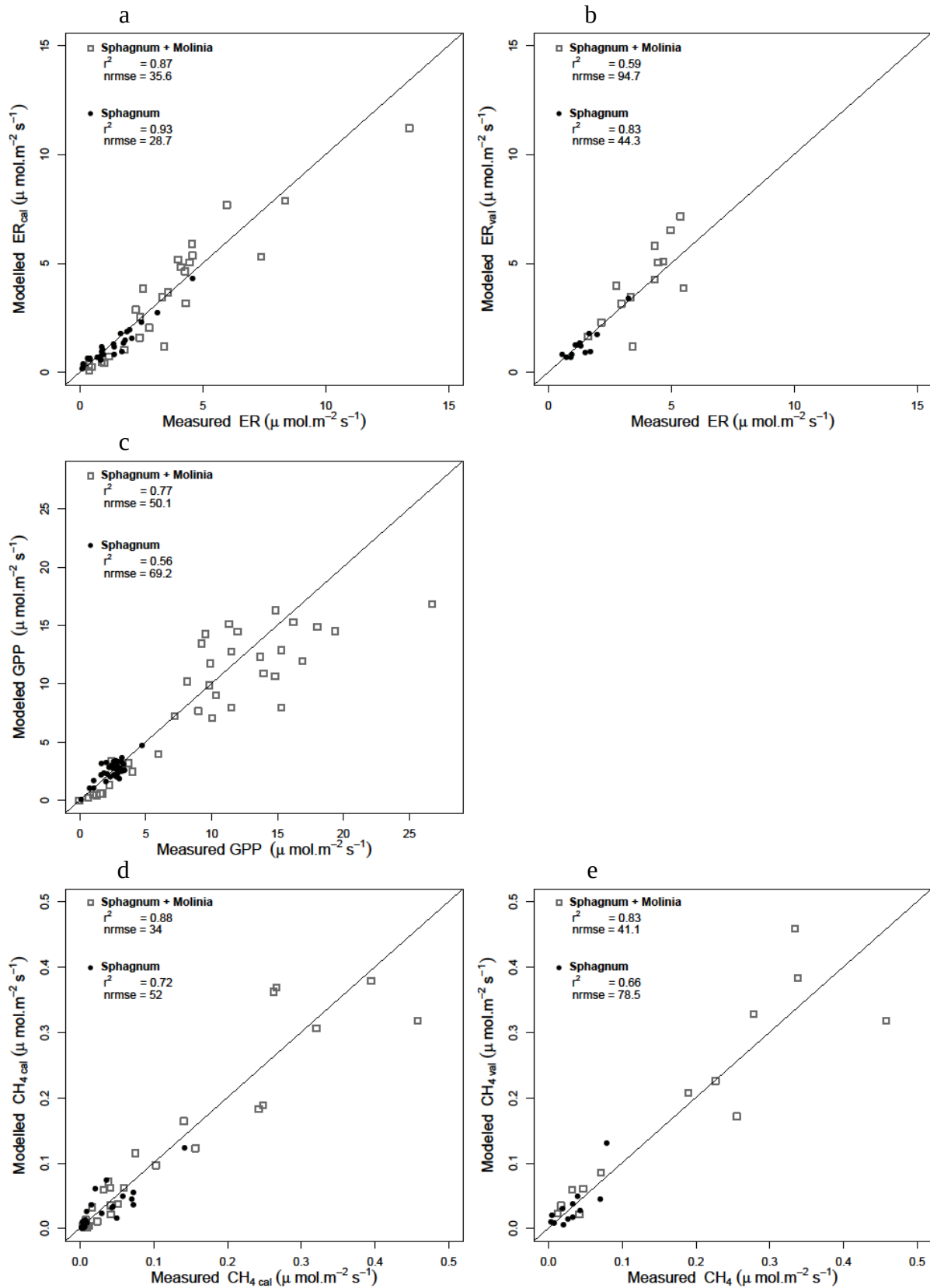


Figure V-4 Calibration and validation of the models by comparison of simulated and measured ecosystem respiration (ER; a and b), gross primary production (GPP, c), and CH₄ emissions (CH₄, d and e) in *Sphagnum* and *Sphagnum + Molinia* plots. The diagonal lines represent the 1:1.

The model parameters a and c , respectively related to WTL and temperature sensitivity for ER models, were close for both plant communities, ranging for a from 2.50 to 1.77 and for c from 1.49 to 1.43 in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots respectively (Table V-3). Concerning the parameters of the CH₄ models, d and f differed between the two treatments. The parameter d connected to WTL was positive at 0.041 in *Sphagnum* plots but negative at -0.065 in *Sphagnum* + *Molinia* plots. The f value, representing the temperature sensitivity, rose from 3.32 in *Sphagnum* plots to 5.08 in *Sphagnum* + *Molinia* plots.

Table V-3 r^2 , normalized root mean square errors (NRMSE) and adjusted model parameters for ecosystem respiration (ER), gross primary production (GPP), net ecosystem exchange (NEE) and CH₄ emissions (CH₄) in *Sphagnum* + *Molinia* and *Sphagnum* plots.

		Calibration		Validation	
		<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>
ER					
	r^2	0.93	0.87	0.82	0.59
	nrmse	28.7	35.6	46.8	94.7
	a	2.50	1.77	2.50	1.77
	b	0.33	0.0096	0.33	0.0096
	c	1.49	1.43	1.49	1.43
GPP					
	r^2	—	—	0.56	0.77
	nrmse	—	—	69.2	50.1
CH ₄					
	r^2	0.72	0.88	0.66	0.83
	nrmse	52	34	78.5	41.1
	d	0.041	-0.065	0.041	-0.065
	e	0.001	0.092	0.001	0.092
	f	3.32	5.08	3.32	5.08

The modeled annual GPP over the studied period represented an input of 414 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* plots and of 1273 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* + *Molinia* plots (Table V-4). The ER and CH₄ emissions showed, respectively, an output of 376 and 7 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* plots and of 1078 and 33 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* + *Molinia* plots (Table V-4).

Table V-4 Modeled annual gross primary production (GPP; $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$), ecosystem respiration (ER; $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$), net ecosystem exchange (NEE; $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$), CH_4 emissions (CH_4 ; $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$), greenhouse gases carbon budget (GGCB; $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$) and global warming potential over 100 years (GWP_{100} ; $\text{g CO}_2 \text{eq m}^{-2} \text{y}^{-1}$) in *Sphagnum* + *Molinia* and *Sphagnum* plots.

	GPP	ER	NEE	CH_4	GGCB	GWP_{100}
<i>Sphagnum</i>	-414	+ 376	-38	+ 7	-30	+ 195
<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	-1273	+ 1018	-255	+ 33	-223	+ 547

V.3.5 Greenhouse gases carbon budget and global warming potential

From July to December the GGCG was positive in *Sphagnum* plots which means that these plots released more C than they absorbed but the GGCB became negative from January to June (Fig. IV-5a). In contrast, the GGCB in *Sphagnum* + *Molinia* plots was mostly negative with positive values only in October and November. The annual GGCB showed that *Sphagnum* plots absorbed $30 \text{ gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$ whereas the *Sphagnum* + *Molinia* plots absorbed $223 \text{ gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Table V-4).

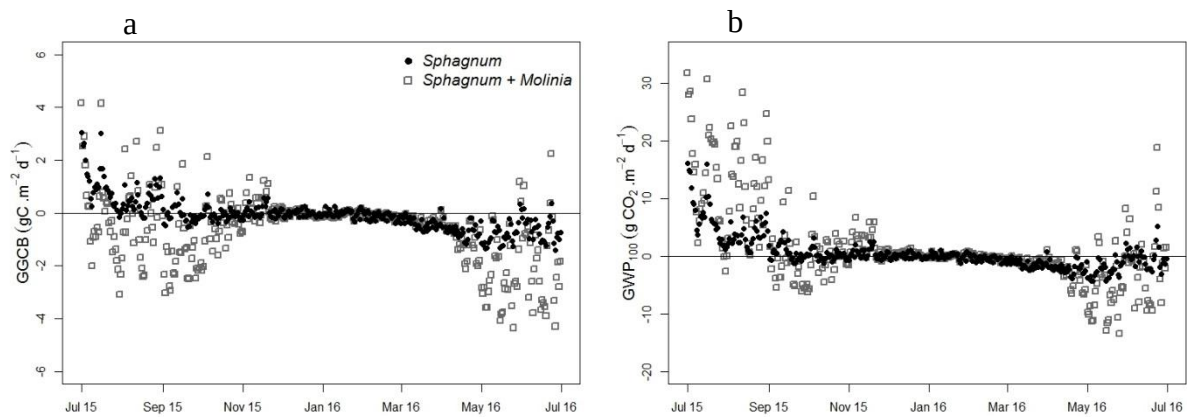


Figure V-5 Greenhouse gases carbon budget (GGCB; a) and global warming potential over 100 years (GWP_{100} ; b) average per day in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots.

The GWP_{100} for *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots was, respectively, +195 and +547 $\text{g CO}_2 \text{eq m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Table V-4). By modulating the annual WTL and temperature, respectively from -2.5 to -9 cm and from 9.8 to 13.8°C, we observed a large variation of the GGCB from -400 to +300 $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Fig. IV-6). By modelling an increase of temperature and a decrease of WTL, the GGCB increased in both plant communities (Fig. IV-6a and b), meaning more C loss, whereas high WTL and low temperature promoted high negative GGCB and thus more uptake of C in both plant communities. Increasing the temperature induced only a slight variation of

the GGCB in *Sphagnum* plots but decreasing the WTL led to a larger modification (Fig. IV-6). In *Sphagnum* + *Molinia* plots, temperature and WTL seem to impact the GGCB equally. Under both vegetation covers, the increasing temperature or decreasing WTL increased the amplitude of GGCB variation under the other abiotic factor gradient.

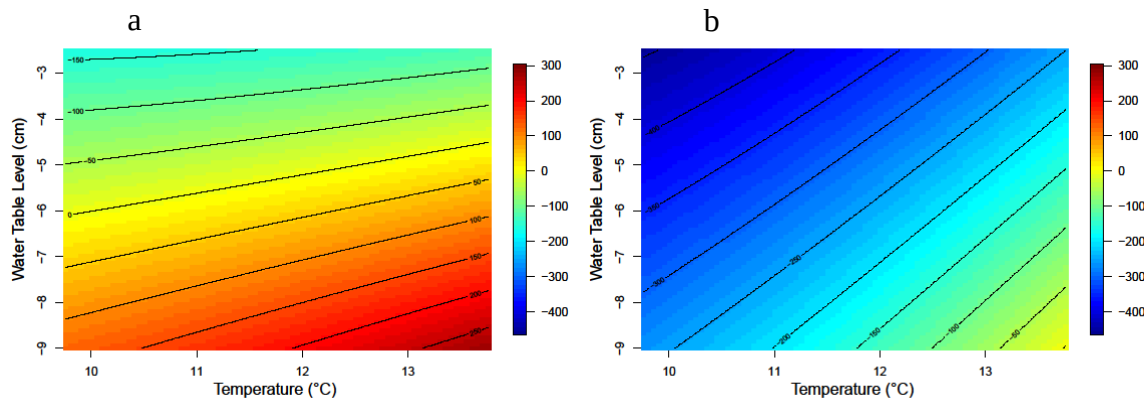


Figure V-6 Modelized greenhouse gases carbon budget (GGCB, $\text{gC m}^{-2} \text{y}^{-1}$) for annual temperature average variation from 9.8 to 13.8°C and WTL fluctuation from 2.5 to -9 cm for *Sphagnum* (a) and *Sphagnum* + *Molinia* (b) plots.

For a hypothetical strong increase of 2 months in the length of the growing season, the NEE was more negative, from -21.3 to -26.7 $\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Fig. IV-7). In comparison, an increase of two degrees in temperature caused a larger modification of NEE, from -21.3 to -10.7 $\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Fig. IV-7).

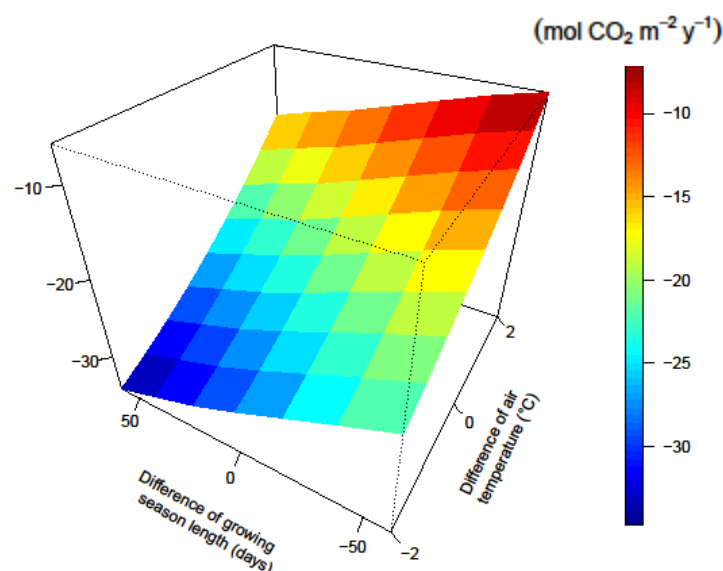


Figure V-7 Modelized greenhouse gases carbon budget (NEE) with variations of the growing season length (± 60 days) and air temperature ($\pm 2^\circ\text{C}$) for *Sphagnum* + *Molinia* plots

V.4 Discussion

V.4.1 Gaseous C emissions

The presence of *Molinia caerulea* increased the gaseous C fluxes in the *Sphagnum*-dominated peat mesocosms. Compared to the latter, the GPP was higher with *Molinia caerulea*, with a C uptake close to $1300 \text{ gC m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ against $400 \text{ gC m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ with *Sphagnum* alone. The estimated GPP of *Sphagnum* mosses are consistent with studies conducted in boreal peatlands with a GPP close to $350 \text{ gC m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (Peichl et al., 2014; Trudeau et al., 2014). The GPP calculated with *Molinia caerulea* was higher than that measured in the site at La Gnette peatland with an average of $1052 \text{ gC m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ (D'Angelo et al., in prep). Such a difference can be explained by the fact that in the field vegetation in collars contained other types of plants such as shrubs and woody chamephytes that exhibited lower GPP (D'Angelo, 2015). A higher GPP of vascular plants is expected to modify the belowground interactions that are not taken into account in the simulation. Indeed, in comparison to *Sphagnum* mosses, vascular plants have an extensive root system which are able to release C and fuel microbial communities to optimize resource allocation (Fenner et al., 2007). It has been shown that up to 40 % of photosynthates can be allocated to root exudates in peatland (Crow and Wieder, 2005), with half that can be mineralized into CO_2 in a week and promote the ER (Kuzyakov et al., 2001). The higher ER in mesocosms with *Molinia caerulea* can also be linked to the metabolism of this vascular plant itself in which leaf respiration can account for more than 40% of the total assimilated C (Kuzyakov et al., 2001). Furthermore, after *Molinia caerulea* senescence, the leaves enhance CO_2 emissions through decomposition. Higher CH_4 emissions with sedges compared to mosses or shrubs have been explained by the differences in root exudates quality and the aerenchyma of the sedges (e.g. Armstrong et al. 2015).

V.4.2 Models evaluation and sensitivities to parameters

Evaluation showed that our statistical models were efficient in representing ER and GPP for both plant communities. GPP in *Sphagnum* plots was the most difficult variable to represent (Fig. IV-4). It was quite constant in time and only a small decrease was observed in winter when the solar radiation was low. In accordance with Tuittila et al. (2004), the *Sphagnum* growth or cover controlled the photosynthesis. These authors also reported that water saturation of *Sphagnum* govern its photosynthesis capacity and could further improve GPP models (Tuittila et al., 2004).

The ER models showed a similar sensitivity in both plant communities to abiotic factors with an empirical factor related to WTL at 2.1 and a temperature sensitivity close to 1.45 (Table V-3). The parameters were similar for both plant communities and ER differences were mainly due to the contribution of *Molinia* leaves to aboveground and belowground respiration (Kandel et al., 2013). Modeling CH₄ as CO₂ emissions explained a good proportion of the variance (between 70 and 80%). The parameters of the CH₄ models differed with vegetation cover. Parameter d connected to the WTL had an opposite sign in the two vegetation covers. This difference was difficult to interpret as the large variation of parameter e shifted the relationship between parameter d and the WTL. Even so, the presence of *Molinia caerulea* increased the temperature sensitivity of CH₄ emissions. Such increase of the temperature sensitivity could result from modification of methanogenesis pathways. Acetoclastic methanogenesis often dominated in minerotrophic peatlands, as La Gnette peatland, and required less energy than hydrogenotrophic methanogenesis pathways (Beer and Blodau, 2007). Vascular plants, as *Molinia caerulea*, can influence the methane production through the introduction of roots exudates in the deep layer by providing substrate availability. Whilst roots exudates are source of acetate and thus suggested to favor acetoclastic methanogenesis (Saarnio et al., 2004), it can also stimulate the decomposition of recalcitrant organic matter favoring hydrogenotrophic methanogenesis (Hornibrook et al., 1997). Graminoids soils are colonized primarily by hydrogenotrophic methanogenesis (Kao-Kniffin et al., 2010) and Shift from acetoclastic to hydrogenotrophic methanogenesis pathways could explain the increase of the temperature sensitivity observed here. Thus, global warming will lead to higher CH₄ emissions in peatlands dominated by *Molinia caerulea* that may act as important positive feedbacks.

V.4.3 Annual C fluxes and GGCB

The shift from *Sphagnum* to *Molinia*-dominated peat mesocosms increased the C fixation through the GPP that to lead to an increase of the annual C output with CO₂ and CH₄ emissions. The gaseous C balance shows that both plant communities act as C-sinks with a storage of 30 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* plots and 223 gC m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* + *Molinia* plots. These results contrast with the assumption mentioned in the introduction, that vascular plants could lead to a decrease in C-sequestration. Nevertheless, the C-sink function of *Molinia*-dominated peat mesocosms can be questioned in view of the biomass production of *Molinia caerulea*. The root production, estimated by Taylor et al. (2001) at 1080 g m⁻² y⁻¹, was produced with current-year photosynthates, meaning that the C-allocation in roots could account for 540 g C m⁻² y⁻¹. Such an amount corresponds to a larger proportion than the C stored in *Sphagnum* + *Molinia* plots

(223 g C m⁻² y⁻¹) and could represent emission of the C already stored. Furthermore, C stored in roots, litters and leaves of *Molinia caerulea* could contribute to future C emissions by decomposition or respiration not taken into account here. Even with this C-sink function, GWP₁₀₀ is positive for both vegetation covers. Although *Sphagnum* + *Molinia* plots act more as a C sink than *Sphagnum* ones, the higher GWP₁₀₀ of CH₄ compared to CO₂ combined with the high emissions of CH₄ for *Sphagnum* + *Molinia* plots lead to a higher contribution of these plots to the greenhouse effect than in *Sphagnum* ones.

The GGCB predictions, by varying the temperature with the WTL and with the growing season length, revealed the sensitivities of the system to these three abiotic factors. Even if these predictions need to be treated with caution due to extrapolation outside the observed range of WTL and temperature, they showed the same trend in plots acting as a C-sink in the case of low temperature and high WTL and, on the contrary, as a C-source at high temperature and low WTL. More interestingly, they showed that increasing the temperature or decreasing the WTL makes the systems more sensitive to the other factor. Furthermore, a 2°C increase in temperature has a larger impact on NEE than a 2-month increase in the growing season.

The shift from *Sphagnum* to *Molinia*-dominated peatlands enhanced CO₂ uptake by photosynthesis which led to higher CO₂ and CH₄ emissions. The application of models taking air temperature, water table level and vegetation index into account described these CO₂ fluxes and CH₄ emissions well. Respiration sensitivity to the two abiotic factors (temperature and WTL) was similar in both communities. However, the presence of *Molinia caerulea* seems to increase the sensitivity of CH₄ emissions to temperature. Modeling the C balance suggested that both *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots acted as a C-sink. However, belowground C allocation as root C stocks needs further consideration due to their potential role as a substantial C source.

Acknowledgements This work was supported by the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01). The authors gratefully acknowledge the financial support provided to the PIVOTS project by the Région Centre – Val de Loire (ARD 2020 program and CPER 2015 -2020). They thank A. Menneguerre for his contribution to gas measurements and P. Jacquet and C. Robert for their assistance in SPIRIT maintenance. We also thank E. Rowley-Jolivet for revision of the English version.

References

- Armstrong, A., Waldron, S., Ostle, N. J., Richardson, H., & Whitaker, J. (2015). Biotic and abiotic factors interact to regulate northern peatland carbon cycling. *Ecosystems*, 18(8), 1395-1409. doi: 10.1007/s10021-015-9907-4
- Beer, J., & Blodau, C. (2007). Transport and thermodynamics constrain belowground carbon turnover in a northern peatland. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(12), 2989-3002.
- Berendse, F., Van Breemen, N., Rydin, H., Buttler, A., Heijmans, M., Hoosbeek, M. R., Lee, J., Mitchell, E., Saarinen, T., Vasander, H., & Wallén, B. (2001). Raised atmospheric CO₂ levels and increased N deposition cause shifts in plant species composition and production in Sphagnum bogs. *Global Change Biology*, 7(5), 591-598. doi: 10.1046/j.1365-2486.2001.00433.x
- Bortoluzzi, E., Epron, D., Siegenthaler, A., Gilbert, D., & Buttler, A. (2006). Carbon balance of a European mountain bog at contrasting stages of regeneration. *New Phytologist*, 172(4), 708-718. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01859.x
- Bragazza, L., Buttler, A., Siegenthaler, A., & Mitchell, E. A. (2009). Plant litter decomposition and nutrient release in peatlands. *Carbon Cycling in Northern Peatlands*, 99-110. doi: 10.1029/2008GM000815
- Buttler, A., Robroek, B. J., Laggoun-Défarge, F., Jassey, V. E., Pochelon, C., Bernard, G., Delarue, F., Gogo, S., Mariotte, P., Mitchell E. A., & Bragazza, L. (2015). Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *Journal of Vegetation Science*, 26(5), 964-974. doi: 10.1111/jvs.12296
- Chapin, F., Woodwell, G., Randerson, J., Lovett, G., Rastetter, E., Baldocchi, D., Clark, D., Harman, M., Schimel, D., Valentini, R., Wirth, C., Aber, J., Cole, J., Giblin, A., Goulden, M., Harden, J., Heimann, M., Howarth, R., Matson, P., McGuire, A., Melillo, J., Mooney, H., Neff, J., Houghton, R., Pace, M., Ryan, M., Running, S., Sala, O., Schlesinger, W., & Schulze, E.-D. (2006). Reconciling carbon-cycle concepts, terminology, and methods. *Ecosystems*, 9(7), 1041-1050. doi: 10.1007/s10021-005-0105-7
- Crow, S. E., & Wieder, R. K. (2005). Sources of CO₂ emission from a northern peatland: root respiration, exudation, and decomposition. *Ecology*, 86(7), 1825-1834. doi: 10.1890/04-1575
- D'Angelo, B., Gogo, S., Guimbaud, C., Le Moing, F., & Laggoun-Défarge, F. (In prep) Carbon balance and spatial variability of CO₂ fluxes in Sphagnum-dominated peatland in temperature climate.
- D'Angelo, B., Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Le Moing, F., Jégou, F., & Guimbaud, C. (2016). Soil temperature synchronisation improves representation of diel variability of ecosystem respiration in Sphagnum peatlands. *Agricultural and Forest Meteorology*, 223, 95-102. doi: 10.1016/j.agrformet.2016.03.021
- D'Angelo, B. (2015). Variabilité spatio-temporelle des émissions de GES dans une tourbière à Sphaignes: effets sur le bilan carbone (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
- Dieleman, C. M., Branfireun, B. A., McLaughlin, J. W., & Lindo, Z. (2015). Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: implications for ecosystem function and stability. *Global change biology*, 21(1), 388-395. doi: 10.1111/gcb.12643
- Fenner, N., Ostle, N. J., McNamara, N., Sparks, T., Harmens, H., Reynolds, B., & Freeman, C. (2007). Elevated CO₂ effects on peatland plant community carbon dynamics and DOC production. *Ecosystems*, 10(4), 635-647. doi: 10.1007/s10021-007-9051-x
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Merzouki, F., Mounier, S., Guirimand-Dufour, A., Jozja, N., Huguet, A., Delarue, F., & Défarge, C. (2016). In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of Sphagnum rubellum and Molinia caerulea litters. *Journal of Soils and Sediments*, 16(1), 13-27. doi 10.1007/s11368-015-1178-3. doi: 10.1007/s11368-015-1178-3
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., & Lottier, N. (2011). Invasion of a Sphagnum-peatland by Betula spp and Molinia caerulea impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106(1), 53-69. doi: 10.1007/s10533-010-9433-6
- Green, S. M., & Baird, A. J. (2012). A mesocosm study of the role of the sedge Eriophorum angustifolium in the efflux of methane—including that due to episodic ebullition—from peatlands. *Plant and Soil*, 351(1-2), 207-218. doi: 10.1007/s11104-011-0945-1

- Greenup, A. L., Bradford, M. A., McNamara, N. P., Ineson, P., & Lee, J. A. (2000). The role of *Eriophorum vaginatum* in CH₄ flux from an ombrotrophic peatland. *Plant and Soil*, 227(1), 265-272. doi: 10.1023/A:1026573727311
- Guimbaud, C., Catoire, V., Gogo, S., Robert, C., Chartier, M., Laggoun-Défarge, F., Grossel, A., Albéric, P., Pomathiod, L., Nicoullaud, B., & Richard, G. (2011). A portable infrared laser spectrometer for flux measurements of trace gases at the geosphere-atmosphere interface. *Measurement Science and Technology*, 22(7), 075601. doi: 10.1088/0957-0233/22/7/075601
- Guimbaud, C., Noel, C., Chartier, M., Catoire, V., Blessing, M., Gourry, J. C., & Robert, C. (2016). A quantum cascade laser infrared spectrometer for CO₂ stable isotope analysis: Field implementation at a hydrocarbon contaminated site under bio-remediation. *Journal of Environmental Sciences*, 40, 60-74. doi: 10.1016/j.jes.2015.11.015
- Hornibrook, E. R., Longstaffe, F. J., & Fyfe, W. S. (1997). Spatial distribution of microbial methane production pathways in temperate zone wetland soils: stable carbon and hydrogen isotope evidence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(4), 745-753.
- Kao-Kniffin, J., Freyre, D. S., & Balser, T. C. (2010). Methane dynamics across wetland plant species. *Aquatic Botany*, 93(2), 107-113. doi: 10.1016/j.aquabot.2010.03.009
- Kandel, T. P., Elsgaard, L., & Lærke, P. E. (2013). Measurement and modelling of CO₂ flux from a drained fen peatland cultivated with reed canary grass and spring barley. *Gcb Bioenergy*, 5(5), 548-561. doi: 10.1111/gcbb.12020
- Krab, E. J., Berg, M. P., Aerts, R., van Logtestijn, R. S., & Cornelissen, J. H. (2013). Vascular plant litter input in subarctic peat bogs changes Collembola diets and decomposition patterns. *Soil Biology and Biochemistry*, 63, 106-115. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.03.032
- Kuzyakov, Y., Ehrensberger, H., & Stahr, K. (2001). Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(1), 61-74. doi: 10.1016/S0038-0717(00)00115-2
- Leroy, F., Gogo, S., Guimbaud, C., Bernard-Jannin, L., Hu, Z., & Laggoun-Défarge, F. (2017). Vegetation composition controls temperature sensitivity of CO₂ and CH₄ emissions and DOC concentration in peatlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 107, 164-167. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.01.005
- Mahadevan, P., Wofsy, S. C., Matross, D. M., Xiao, X., Dunn, A. L., Lin, J. C., Gerbig, C., Munger, J. W., Chow, V. Y., & Gottlieb, E. W. (2008). A satellite-based biosphere parameterization for net ecosystem CO₂ exchange: Vegetation Photosynthesis and Respiration Model (VPRM). *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2). doi: 10.1029/2006GB002735
- Moore, T. R., Bubier, J. L., & Bledzki, L. (2007). Litter decomposition in temperate peatland ecosystems: the effect of substrate and site. *Ecosystems*, 10(6), 949-963. doi: 10.1007/s10021-007-9064-5
- Myhre, G., Shindell, D., Bréon, F. M., Collins, W., Fuglestad, J., Huang, J., Koch, D., Lamarque, J.F., Lee, D., Mendoza, B., Nakajima, T., Robock, A., Stephens, G., Takemura, T., & Nakajima, T. (2013). Anthropogenic and Natural Radiative Forcing. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group 1 to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Table, 8, 714.
- Neff, J. C., & Hooper, D. U. (2002). Vegetation and climate controls on potential CO₂, DOC and DON production in northern latitude soils. *Global Change Biology*, 8(9), 872-884. doi: 10.1046/j.1365-2486.2002.00517.x
- Noyce, G. L., Varner, R. K., Bubier, J. L., & Frolking, S. (2014). Effect of *Carex rostrata* on seasonal and interannual variability in peatland methane emissions. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 119(1), 24-34. doi: 10.1002/2013JG002474
- Peichl, M., Öquist, M., Löfvenius, M. O., Ilstedt, U., Sagerfors, J., Grelle, A., Lindroth, A., & Nilsson, M. B. (2014). A 12-year record reveals pre-growing season temperature and water table level threshold effects on the net carbon dioxide exchange in a boreal fen. *Environmental Research Letters*, 9(5), 055006. doi: 10.1088/1748-9326/9/5/055006
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rydin, H., Jeglum, J. K., & Jeglum, J. K. (2013). *The biology of peatlands*, 2e. Oxford university press.
- Strakova, P., Niemi, R. M., Freeman, C., Peltoniemi, K., Toberman, H., Heiskanen, I., Fritze, H., & Laiho, R. (2011). Litter type affects the activity of aerobic decomposers in a boreal peatland more than site nutrient and water table regimes. *Biogeosciences*, 8(9), 2741-2755. doi: 10.5194/bg-8-2741-2011

- Taylor, K., Rowland, A. P., & Jones, H. E. (2001). *Molinia caerulea* (L.) Moench. *Journal of Ecology*, 89(1), 126-144. doi: 10.1046/j.1365-2745.2001.00534.x
- Trudeau, N. C., Garneau, M., & Pelletier, L. (2014). Interannual variability in the CO₂ balance of a boreal patterned fen, James Bay, Canada. *Biogeochemistry*, 118(1-3), 371-387. doi: 10.1007/s10533-013-9939-9
- Tuittila, E. S., Vasander, H., & Laine, J. (2004). Sensitivity of C Sequestration in Reintroduced Sphagnum to Water-Level Variation in a Cutaway Peatland. *Restoration Ecology*, 12(4), 483-493.
- Turetsky, M. R. (2003). The role of bryophytes in carbon and nitrogen cycling. *The Bryologist*, 106(3), 395-409. doi: 10.1639/05
- Saarnio, S., Wittenmayer, L., & Merbach, W. (2004). Rhizospheric exudation of *Eriophorum vaginatum* L.—potential link to methanogenesis. *Plant and Soil*, 267(1), 343-355.
- van Breemen, N. (1995). How Sphagnum bogs down other plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(7), 270-275. doi: 10.1016/0169-5347(95)90007-1
- Ward, S. E., Ostle, N. J., Oakley, S., Quirk, H., Henrys, P. A., & Bardgett, R. D. (2013). Warming effects on greenhouse gas fluxes in peatlands are modulated by vegetation composition. *Ecology letters*, 16(10), 1285-1293. doi: 10.1111/ele.12167
- Yu, Z., Loisel, J., Brosseau, D. P., Beilman, D. W., & Hunt, S. J. (2010). Global peatland dynamics since the Last Glacial Maximum. *Geophysical Research Letters*, 37(13). doi: 10.1029/2010GL043584

VI. Interactions entre changements de végétation et changements globaux

Préambule

Le fonctionnement des tourbières, localisées majoritairement sous les hautes latitudes de l'hémisphère nord, va être modifié par l'élévation des températures de surface attendues pour la fin du siècle principalement sous ces latitudes (IPCC, 2007). La hausse de température peut induire une modification du couvert végétal avec une augmentation du taux de recouvrement par les plantes vasculaires et ce, au dépend des sphaignes (Ward et al., 2013). Nos travaux ont montré qu'un changement de végétation, i.e. une augmentation du taux de recouvrement par la molinie, conduit à des flux plus importants de CO₂ et de CH₄ (Chapt. V). Ces changements de communautés végétales vont interagir avec les modifications des conditions environnementales et pourraient agir comme un acteur essentiel dans la réponse des tourbières face aux changements globaux. Cependant, l'action combinée des modifications des communautés végétales et des changements des conditions environnementales restent encore inexplorée. Ainsi la problématique de ce chapitre est de déterminer

Comment les changements de communautés végétales au sein des tourbières modulent la réponse des flux de C face aux changements globaux ?

L'objectif principal de ce chapitre est donc de déterminer l'impact de la combinaison des changements de végétation et des changements globaux sur la dynamique du C dans les tourbières en s'intéressant (i) à la sensibilité des flux de C à la température dans des mésocosmes contenant uniquement *Sphagnum rubellum* ou contenant à la fois *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea* et (ii) à la dynamique du C et de l'N en réponse à une augmentation des dépôts azotés en présence de ces deux communautés végétales.

La première partie de ce chapitre intitulé « **Vegetation composition controls temperature sensitivity of CO₂ and CH₄ emissions and DOC concentration in peatlands** » fait référence à un article publié dans la revue *Soil Biology and Biochemistry* qui a pour objectif d'évaluer la sensibilité des sorties de C (émissions de CO₂ et CH₄ et [COD]) à la température en présence de deux communautés végétales (*Sphagnum rubellum* et *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*). Les émissions de CO₂ et CH₄ et [COD] ont été suivies dans des mésocosmes (protocole expérimental décrit dans le chapitre II) entre mai 2015 et avril 2016. Les émissions de GES ont été corrélées de manière exponentielle à la température afin de déterminer le Q₁₀. Le Q₁₀ permet de quantifier l'augmentation d'une vitesse de réaction (ici les émissions de CO₂ et CH₄ et [COD]) pour une augmentation de la température de 10°C. La présence de *Molinia caerulea* conduit à une augmentation des émissions de CO₂ et CH₄ comme évoqué

précédemment (Chapitre IV) mais diminue les [COD] (Fig. VI-2). Cette diminution est supposément due à une dégradation du COD accentuée par la stimulation des microorganismes via les exsudats racinaires de *Molinia caerulea*. Les variations temporelles de [COD] et des émissions de CO₂ et CH₄ sont davantage reliées (avec un r^2 plus élevée) à la température du sol à 5 cm de profondeur dans les mésocosmes à *Sphagnum* et à 20 cm de profondeur dans ceux à *Sphagnum* + *Molinia* (Table VI-2). Les émissions de CO₂ montrent une légère baisse de Q₁₀ en présence de *Molinia caerulea*, suggérant la présence d'un substrat plus labile (par les exsudats des racines) nécessitant moins d'énergie pour leur minéralisation. Au contraire, le Q₁₀ augmente pour les [COD] et les émissions de CH₄ en présence de *Molinia caerulea* (Fig. VI-2). Cette augmentation pourrait être liée à un changement des communautés et/ou de l'activité microbienne en présence de cette graminéoïde. Ainsi, les facteurs biotiques et abiotiques contrôlent les émissions de CO₂ et de CH₄ et [COD] dans nos mésocosmes et vont interagir entre eux avec des communautés végétales capables de modifier la sensibilité du système à la température.

La seconde partie de ce chapitre intitulé « **C and N cycles response's to one year of N fertilization in *Sphagnum* and *Molinia*-dominated peatlands** » fait référence à une publication soumise à *Journal of Environmental Sciences* qui a pour objectif d'évaluer la réponse des flux de C (CO₂, CH₄ et COD) mais aussi d'N (N₂O, azote total dissous, NH₄⁺, NO₃⁻) face à des apports azotés en interaction avec une modification des communautés végétales. Les apports azotés ont été réalisés de façon hebdomadaire afin d'apporter 3.2 gN m⁻² a⁻¹ dans des mésocosmes contenant *Sphagnum rubellum* ou *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea* (protocole expérimental décrit dans le chapitre II). Cette étude n'a pas permis de montrer un effet des apports azotés sur le cycle du C (CO₂, CH₄ et [COD]), sur la croissance de *Molinia caerulea* ou sur les concentrations d'N dissous (azote totale dissous, NH₄⁺, NO₃⁻ ; Table VI-3). Cette absence d'effet semble être essentiellement due à la capacité des sphaignes à retenir les dépôts azotés révélée par une augmentation importante des teneurs en N dans les sphaignes vivantes (Table VI-4). Cependant, malgré la faible quantité d'N disponible, les mésocosmes ayant reçu de NH₄NO₃ ont des émissions de N₂O plus importante que les 'Contrôle' sans apports azotés. Ces flux de N₂O sont également affectés par la présence des communautés végétales avec des émissions plus faibles dans les mésocosmes à *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea* en comparaison à ceux contenant *Sphagnum rubellum* (Fig. VI-4). L'utilisation de l'N par *Molinia caerulea*, montrée par la baisse des concentrations de NH₄⁺, pourrait limiter la disponibilité en N pour les micro-organismes dénitrifiants et ainsi entraîner une réduction des

émissions de N_2O . Ces résultats montrent que la composition des communautés végétales est un important régulateur du cycle du C mais aussi de l’N dans les tourbières. La prise en compte des modifications des espèces végétales au sein des tourbières est essentielle pour la compréhension du fonctionnement de ces écosystèmes face aux changements globaux.

VI.1 Vegetation composition controls temperature sensitivity of CO₂ and CH₄ emissions and DOC concentration in peatlands

Fabien Leroy, Sébastien Gogo, Christophe Guimbaud, Léonard Bernard-Jannin, Zhen Hu, Fatima Laggoun-Défarge

Article publié dans la revue *Soil Biology and Biochemistry* (2017)

doi: 10.1016/j.soilbio.2017.01.005

Abstract

Plant community modification may play an important role in peatlands' carbon balance. We investigated how *Molinia caerulea* altered CO₂ and CH₄ fluxes and DOC concentration as well as their sensitivity to water table level, air and soil temperature in *Sphagnum*-dominated peat mesocosms. The presence of *Molinia caerulea* significantly increased CO₂ and CH₄ emissions compared to *Sphagnum* and decreased the DOC concentration. The rise in temperature exponentially increased DOC as well as CO₂ and CH₄ emissions. *Molinia caerulea* decreased the temperature sensitivity of CO₂ emissions, suggesting the presence of a more labile substrate (root exudates), while it increased the temperature sensitivity of CH₄ emissions, suggesting a possible change in methanogenic communities. Our study highlights a strong impact of vegetation change on C dynamics in peatlands.

Keywords Ecosystem respiration • Dissolved organic matter • Soil temperature • Q₁₀ • *Molinia* • *Sphagnum* mosses

VI.1.1 Introduction

Peatlands act as a global major carbon (C) store. They contain between 15 to 30% of the world soil C in only 3% of the global land area (Turunen et al., 2002; Gorham, 1991). The C-sink function of boreal peatlands results from particular environmental conditions (waterlogging, acidic soil and low temperature) and specific vegetation, i.e. *Sphagnum* mosses. However, global change is expected to modify plant species composition in northern *Sphagnum* peatlands, with an increase in vascular plants (e.g. graminoids) to the detriment of *Sphagnum* mosses (Dieleman et al., 2015; Buttler et al., 2015). Disturbed peatlands represent a large potential source of CO₂ and CH₄ to the atmosphere and of dissolved organic carbon (DOC) export to rivers (Limpens et al., 2008). Thus, understanding the feedback between vegetation change and C fluxes in peatlands is required to predict the future of the peatland C budget. The response of CO₂ and CH₄ emissions and DOC concentration ([DOC]) to abiotic control is well documented (Clark et al., 2009; Pypker et al., 2013). Nevertheless, studies on the sensitivity of C fluxes and [DOC] to abiotic factors in a context of vegetation change are lacking. Our aim was to assess to what extent CO₂ and CH₄ emissions and [DOC] sensitivities to abiotic factors in *Sphagnum* peat mesocosms could be modulated by the occurrence of vascular plants. The presence of graminoids in *Sphagnum* mesocosms is expected to change C fluxes through a more efficient C uptake that allocates C to the above- and belowground parts of the plant. Vascular plants have an extensive root systems, in comparison to *Sphagnum* rhizoids, able to exudate newly produced labile organic compounds (e.g. glucose; Saarnio et al., 2004; Fenner et al., 2007). According to Arrhenius function, the degradation rate of these compounds has a lower sensitivity to temperature than recalcitrant organic matter (Davidson and Janssens, 2006). Thus, *Sphagnum* peat mesocosms invaded by *Molinia caerulea* was sampled to investigate the three following hypotheses:

- (i) the presence of *Molinia caerulea* will increase the [DOC] due to a higher root exudate production compared to *Sphagnum* spp.,
- (ii) these labile exudates will be rapidly consumed by microbial communities and will enhance both CO₂ and CH₄ emissions,
- (iii) as the C source will be more labile, the sensitivity to temperature of the C fluxes will decrease compared to recalcitrant C (with higher activation energies).

VI.1.2 Materials and methods

Twelve peat mesocosms (depth and diameter: 30 cm) were collected in March 2015 in La Guette peatland (France). The studied site is an acidic fen invaded by *Molinia caerulea*, a graminoid plant invading numerous peatlands (Tomassen et al., 2003; Gogo et al., 2011). The mesocosms were buried outside and surrounded with a tarpaulin containing water from the peatland. Air and soil temperature at 5 and 20 cm depth were monitored in each mesocosm. The mesocosms were separated into 2 treatments: 6 containing only *Sphagnum rubellum* ('*Sphagnum*' plots) and 6 containing *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* ('*Sphagnum* + *Molinia*' plots). *Molinia caerulea* started to grow in May and increased up to 60% of mesocosms on average until its senescence in November (see supplementary material).

Measurements were performed between two to eight times per month, from May 2015 to April 2016. Ecosystem Respiration (ER) was measured during 5 min using a closed chamber equipped with a GMP343 Vaisala (D'Angelo et al., 2016). CH₄ emissions were measured during 15 min using the SPIRIT, a portable infrared laser spectrometer (Guimbaud et al., 2011). Water table level (WTL) was manually measured in each mesocosm piezometer. Water was collected from the piezometer to measure [DOC] with a Shimadzu TOC-5000 analyzer. All measurements were performed in the same day and were related to WTL, air and soil temperature at 5 and 20 cm depth with exponential regression. R² from exponential regressions were calculated after a logarithmic transformation (linearization of the date). Temperature sensitivity was expressed through the temperature coefficient (Q₁₀; eq. 1), and energy of activation (E_a, eq. 2):

$$Q_{10} = (k_2/k_1)^{10/(T_2-T_1)} \quad \text{eq. 1}$$

k₁ and k₂ are rates at two observed temperatures T₁ and T₂.

$$k = A \cdot e^{(-E_a/RT)} \quad \text{eq. 2}$$

k is the reaction rate coefficient, A is the pre-exponential factor, R is the ideal gas constant and T is the temperature in Kelvin.

One-way ANOVAs with repeated measures were used to compare *Sphagnum* + *Molinia* to *Sphagnum* plots.

VI.1.3 Results and discussion

Throughout the measurements, environmental conditions did not differ significantly between *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots other than the WTL which was 2.4 cm higher in *Sphagnum* plots than in the *Sphagnum* + *Molinia* ones (Table VI-1). WTL ranged from 2.5 cm to 17 cm (Fig. V-1a). Air temperature ranged from 0°C in January to 30°C in July (Fig. V-1b). Soil temperature at 5 and 20 cm depth varied from 2.3°C and 5°C in January to 27.3°C and 25.7°C in July, respectively (Fig. V-1c and 1d).

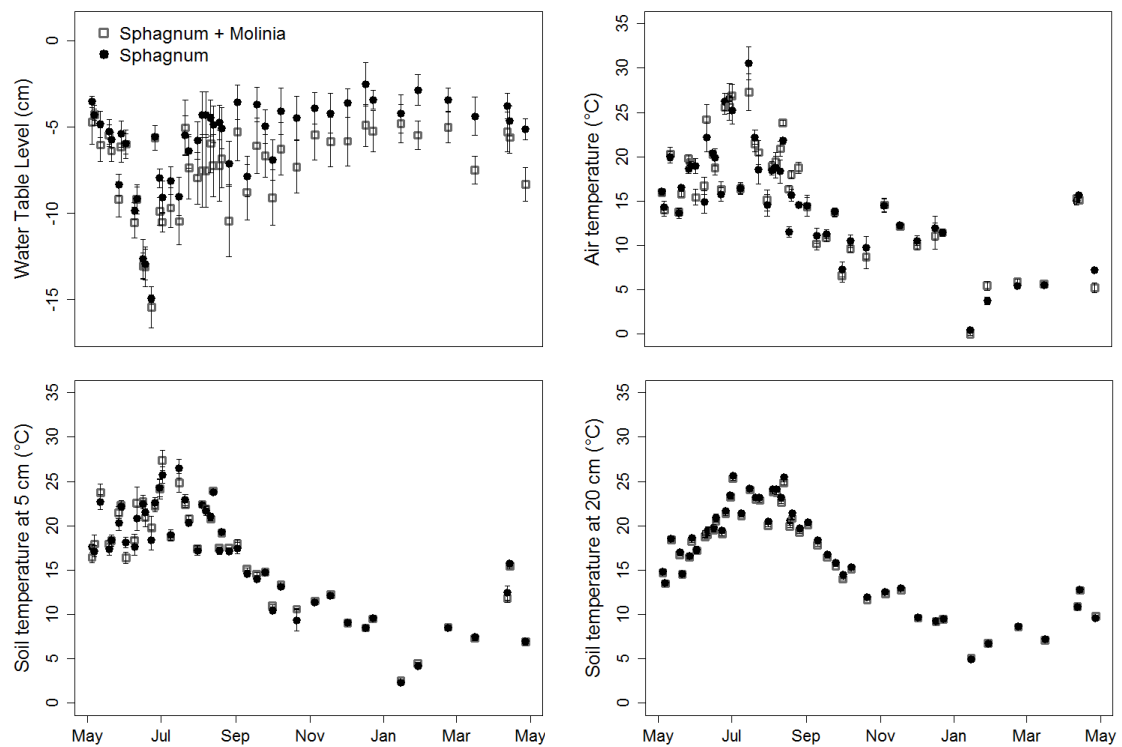


Figure VI-1 Time series of water table level (a), air (b) and soil temperature at 5 (c) and 20 cm (d) in *Sphagnum* and *Molinia* plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to April 2016. Data were collected during greenhouse gas emission measurements.

[DOC] were significantly lower in *Sphagnum* + *Molinia* plots compared to *Sphagnum* ones (Table VI-1, Fig. V-2c), which disproves our first hypothesis but supports the mechanisms proposed by Freeman et al. (2004) who suggested that labile DOC release, through root exudates, stimulates microbial activity and enhances the degradation of organic matter, in particular the DOC fraction. Mimics of roots exudates have been revealed to enhance microbial biomass in peat soil (Basiliko et al., 2012), that might, with *Molinia caerulea* occurrence, trigger a real priming effect leading to an increase of DOC consumption.

Table VI-1 Mean values of 12 months' measurements of Ecosystem Respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), Dissolved Organic Carbon (DOC), Water Table Level (WTL), photosynthetically active radiation (PAR) and air (Ta) and soil temperature (Ts) in *Sphagnum* + *Molinia* and *Sphagnum* plots. Significance levels of one way ANOVAs with repeated measured are expressed as *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 (n = 6).

	Mean		<i>Sphagnum</i>	
	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	<i>Sphagnum</i>	+ <i>Molinia</i> / <i>Sphagnum</i>	P
GHG fluxes				
ER (μmol m ⁻² s ⁻¹)	2.39	0.99	2.39	***
CH ₄ (μmol m ⁻² s ⁻¹)	0.094	0.030	3.14	*
Water compartment				
DOC (mg L ⁻¹)	31.9	55.7	0.57	***
WTL (cm)	-7.04	-4.58	1.54	***
Environmental parameters				
PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	711	741	0.96	
Ta (°C)	12.0	12.1	0.99	
Ts at 5 cm (°C)	13.1	13.1	1	
Ts at 20 cm (°C)	13.7	13.9	0.99	

Furthermore, in contradiction to our third hypothesis, the presence of *Molinia* increased the [DOC] sensitivity to soil temperature (Q₁₀, E_a, Table VI-2 and Fig. VI-2c). The Q₁₀ values obtained were higher than those found by Freeman et al. (2001; Q₁₀= 1.36) but lower than those found by Clark et al. (2009; Q₁₀= 1.84 and 3.53 under anaerobic and aerobic conditions, respectively). As postulated by the latter authors, we showed that vegetation cover plays an important role in the [DOC] and its sensitivity to soil temperature. Further studies on the DOC and vegetation relationship are essential to determine how vegetation change may alter this C pool.

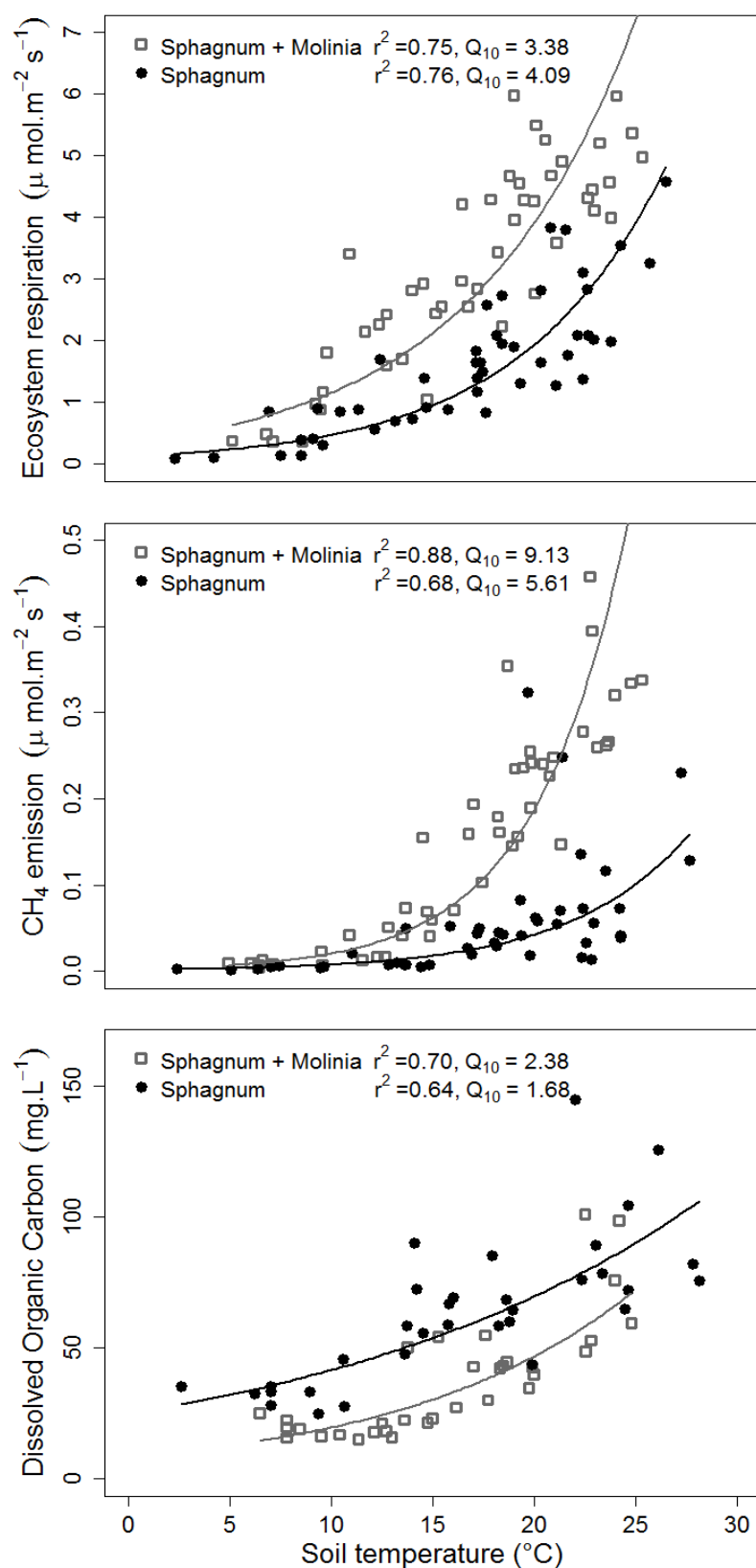


Figure VI-2 Exponential relationship between Ecosystem Respiration (a), CH_4 emissions (b), Dissolved Organic Carbon (c) and soil temperature at 5 cm for Sphagnum plots and at 20 cm for Sphagnum + Molinia plots

Table VI-2 Determination coefficient (r^2) of exponential regressions for mean values of 12 months' measurements of Ecosystem Respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), Dissolved Organic Carbon (DOC) with Water Table Level, Air and Soil Temperature at 5 and 20 cm. Bold numbers represent the highest determination coefficient for each variable in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* plots. Significance correlation are expressed as -/+p < 0.05, --/+p < 0.01, ---/+p < 0.001. -/+ represents a negative or positive relationship, respectively.

Variables		Determination coefficient (r^2)		Q ₁₀		Ea	
		<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i>	<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>	<i>Sphagnum</i>
Water Table Level	ER	0.38 ⁻⁻⁻	0.23 ⁻⁻⁻				
	CH ₄	0.49 ⁻⁻⁻	0.18 ⁻				
	DOC	0.12 ⁻	0.14 ⁻				
Air Temperature	ER	0.72 ⁺⁺⁺	0.60 ⁺⁺⁺	3.75	2.58	92.2	65.7
	CH ₄	0.00	0.01	1.00	1.01	2.3	4.7
	DOC	0.55 ⁺⁺⁺	0.46 ⁺⁺⁺	1.56	1.66	31.7	35.9
Soil Temperature at 5 cm	ER	0.76⁺⁺⁺	0.67 ⁺⁺⁺	4.09	2.86	97.6	72.9
	CH ₄	0.68⁺⁺⁺	0.86 ⁺⁺⁺	5.61	7.61	119.4	140.2
	DOC	0.64⁺⁺⁺	0.60 ⁺⁺⁺	1.68	1.91	36.0	44.5
Soil Temperature at 20 cm	ER	0.65 ⁺⁺⁺	0.75⁺⁺⁺	4.01	3.38	97.3	85.0
	CH ₄	0.59 ⁺⁺⁺	0.88⁺⁺⁺	4.05	9.13	94.6	153.1
	DOC	0.37 ⁺⁺⁺	0.70⁺⁺⁺	1.47	2.38	25.3	60.0

CO₂ and CH₄ emissions were higher in the presence of *Molinia caerulea* comparing to *Sphagnum*, showing an average increase of 2.4 and 3.1 fold, respectively (Table VI-1, Fig. VI-2a and b). Similar observations have already been reported in peatlands with graminoids (e.g. Armstrong et al. 2015). The greatest CH₄ emissions were observed with *Molinia* occurrence, at the same time with an increase of the thickness of aerobic zone, which opposes with the general association of CH₄ emissions under anaerobic conditions. Such potential effect could be compensated with the fueling of methanogens in anaerobic peat by the root exudates, already related to the difference of CH₄ production among plants species (Koelbener et al., 2010). Furthermore, variations of CH₄ emissions are also controlled by the plant community and its ability to transport CH₄ (Schimel, 1995) and their potential for rhizospheric oxidation (Ström et al., 2005). If root exudates fuel the microbial communities, the C flux sensitivity to temperature is expected to decrease (Davidson and Janssens, 2006). This hypothesis was confirmed by the ER results: the presence of *Molinia* decreased the ER sensitivity to

temperature (Table VI-2). However, this did not hold for CH₄. The temperature sensitivity of CH₄ emissions increased in the *Sphagnum* + *Molinia* plots (Table VI-2). In natural systems, acetoclastic methanogens are dominant over hydrogenotrophic methanogens (Kao-Kniffin et al., 2010). However, as reported in the latter study, graminoid soils are colonized primarily by hydrogenotrophic metabolisms. These two methanogenesis pathways require different levels of energy: 195 kJ mol⁻¹ for hydrogenotrophic methanogenesis and 50 kJ mol⁻¹ for acetoclastic methanogenesis (Beer and Blodau, 2007). Thus the increased temperature sensitivity under *Molinia caerulea* could reflect the promotion of hydrogenotrophic communities.

ER, CH₄ emissions and [DOC] were correlated to WTL and soil temperature (Table VI-2). Increased soil temperature enhanced exponentially these three C-fluxes under both plant communities (Fig. V-2). Soil temperature explained the higher amount of variability compared to the WTL, even for CH₄ emissions. Such weak correlation with the WTL could also be due to the little WTL variation over the experiment. Our best fit between ER and temperature differed with the vegetation: ER in *Sphagnum* plots was more correlated to soil temperature at 5 cm, whereas with *Molinia caerulea* ER was more influenced by soil temperature at 20 cm (Table VI-2; Fig. VI-2a). *Sphagnum* photosynthesis occurs in the first centimeters of the peat profile, whereas root exudates excreted by *Molinia* could stimulate microbial activity deeper in the peat profile. These physiological differences between *Sphagnum* and *Molinia* may explain the best fit observed for ER and also for CH₄ emission and [DOC] (Table VI-2).

In conclusion, both biotic (vegetation cover) and abiotic (mainly temperature) factors control CO₂ and CH₄ emissions and [DOC] in peat mesocosms. *Molinia caerulea* can deliver labile C stimulating microbial activity and promoting DOC consumption and CO₂ and CH₄ emissions. The increase in soil temperature enhanced [DOC] as well as CO₂ and CH₄ emissions. Moreover, our findings demonstrate that the two controlling factors interact and that vegetation modification changes the C-fluxes' sensitivities to temperature. Under global change, C-dynamics in peatlands are thus subjected to many alterations through plant community modification. This study advocates taking vegetation change into account in global models with a concomitant variation in the temperature sensitivity.

Acknowledgements This paper is a contribution to the research conducted in the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01). The authors would like to thank X. Yin, G. Belot, A. Mennequerre for their contribution to gas measurements, P. Jacquet and C. Robert for their

assistance in SPIRIT maintenance and N. Lothier for DOC analysis. We also thank E. Rowley-Jolivet for revision of the English version.

References

- Armstrong, A., Waldron, S., Ostle, N. J., Richardson, H., Whitaker, J., 2015. Biotic and abiotic factors interact to regulate northern peatland carbon cycling. *Ecosystems* 18(8), 1395-1409.
- Basiliko, N., Stewart, H., Roulet, N. T., Moore, T. R., 2012. Do root exudates enhance peat decomposition?. *Geomicrobiology Journal* 29(4), 374-378.
- Beer, J., Blodau, C., 2007. Transport and thermodynamics constrain belowground carbon turnover in a northern peatland. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71(12), 2989-3002.
- Buttler, A., Robroek, B. J., Laggoun-Défarge, F., Jassey, V. E., Pochelon, C., Bernard, G., Delarue, F., Gogo, S., Mariotte, P., Mitchell, E. A. D., Bragazza, L., 2015. Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *Journal of Vegetation Science* 26(5), 964-974.
- Clark, J., Ashley, D., Wagner, M., Chapman, P., Lane, S., Evans, C., Heathwaite, A., 2009. Increased temperature sensitivity of net DOC production from ombrotrophic peat due to water table draw-down. *Global Change Biology* 15(4), 794-807.
- D'Angelo, B., Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Le Moing, F., Jégou F., Guimbaud C., 2016. Soil temperature synchronization improves representation of diel variability of ecosystem respiration in Sphagnum peatlands. *Agricultural and Forest Meteorology* 223, 95-102.
- Davidson, E. A., Janssens, I. A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440(7081), 165-173.
- Dieleman, C., Branfireun, B., McLaughlin, J., Lindo, Z., 2015. Climate change drives a shift in peatland ecosystem plant community: Implications for ecosystem function and stability. *Global Change Biology* 21(1), 388-395.
- Fenner, N., Ostle, N. J., McNamara, N., Sparks, T., Harmens, H., Reynolds, B., Freeman, C., 2007. Elevated CO₂ effects on peatland plant community carbon dynamics and DOC production. *Ecosystems* 10(4), 635-647.
- Freeman, C., Evans, C. D., Monteith, D. T., Reynolds, B., Fenner, N., 2001. Export of organic carbon from peat soils. *Nature* 412(6849), 785-785.
- Freeman, C., Fenner, N., Ostle, N. J., Kang, H., Dowrick, D. J., Reynolds, B., Lock, M.A., Sleep, D., Hughes, S., Hudson, J., 2004. Export of dissolved organic carbon from peatlands under elevated carbon dioxide levels. *Nature* 430(6996), 195-198.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., & Lottier, N., 2011. Invasion of a Sphagnum-peatland by *Betula* spp and *Molinia caerulea* impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry* 106(1), 53-69.
- Gorham, E., 1991. Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecological Applications* 1, 182-185.
- Guimbaud, C., Catoire, V., Gogo, S., Robert, C., Chartier, M., Laggoun-Défarge, F., Grossel, A., Albéric, P., Pomathiod, L., Nicoullaud, B., Richard, G., 2011. A portable infrared laser spectrometer for flux measurements of trace gases at the geosphere-atmosphere interface. *Measurement Science and Technology* 22(7), 075601.
- Kao-Kniffin, J., Freyre, D. S., & Balser, T. C., 2010. Methane dynamics across wetland plant species. *Aquatic Botany* 93(2), 107-113.

- Koelbener, A., Ström, L., Edwards, P. J., Venterink, H. O., 2010. Plant species from mesotrophic wetlands cause relatively high methane emissions from peat soil. *Plant and Soil* 326(1-2), 147-158.
- Limpens, J., Berendse, F., Blodau, C., Canadell, J., Freeman, C., Holden, J., Roulet, N., Rydin, H., Schaepman-Strub, G., 2008. Peatlands and the carbon cycle: from local processes to global implications - a synthesis. *Biogeosciences* 5(5), 1475-1491.
- Pypker, T., Moore, P., Waddington, J., Hribljan, J., Chimner, R., 2013. Shifting environmental controls on CH₄ fluxes in a sub-boreal peatland. *Biogeosciences* 10(12), 7971-7981.
- Saarnio, S., Wittenmayer, L., Merbach, W., 2004. Rhizospheric exudation of *Eriophorum vaginatum* L.—potential link to methanogenesis. *Plant and Soil* 267(1-2), 343-355.
- Schimel, J. P., 1995. Plant transport and methane production as controls on methane flux from arctic wet meadow tundra. *Biogeochemistry* 28(3), 183-200.
- Ström, L., Mastepanov, M., & Christensen, T. R., 2005. Species-specific effects of vascular plants on carbon turnover and methane emissions from wetlands. *Biogeochemistry* 75(1), 65-82.
- Tomassen, H., Smolders, A. J., Lamers, L. P., Roelofs, J. G., 2003. Stimulated growth of *Betula pubescens* and *Molinia caerulea* on ombrotrophic bogs: role of high levels of atmospheric nitrogen deposition. *Journal of Ecology* 91(3), 357-370.
- Turunen, J., Tomppo, E., Tolonen, K., Reinikainen, A., 2002. Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland-application to boreal and subarctic regions. *The Holocene* 12, 69-80.

Supplementary material

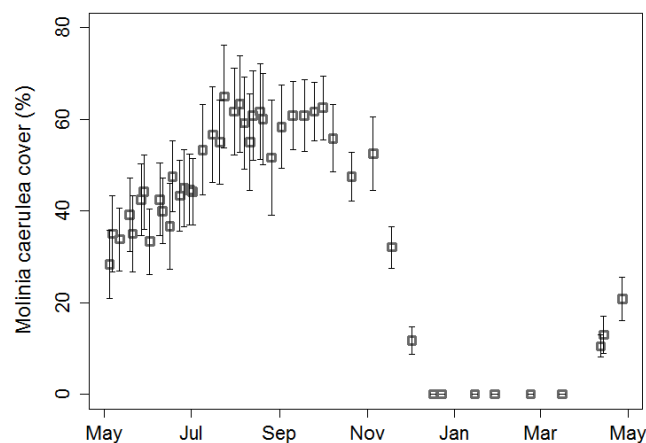


Figure VI-S3 Time series of *Molinia caerulea* cover in *Molinia* plots ($\pm$ SE, n=6) from May 2015 to April 2016. Data were collected during greenhouse gas emission measurements.

VI.2 Response of C and N cycles to N fertilization in *Sphagnum* and *Molinia*-dominated peat mesocosms

Fabien Leroy, Sébastien Gogo, Christophe Guimbaud, André-Jean Francez, Renata Zocatelli, Christian Défarge, Léonard Bernard-Jannin, Zhen Hu, Fatima Laggoun-Défarge

Soumis le 3 août à *Journal of Environmental Sciences*, JES_2017_2462

Abstract

Plant communities play an important role in the C-sink function of peatlands. However, global change and local perturbations are expected to modify peatland plant communities, leading to a shift from *Sphagnum* mosses to vascular plants. Most studies have focused on the direct effects of modification in plant communities or of global change (such as global warming, N fertilization) in peatlands without considering interactions between these disturbances that may alter peatlands' C function. We set up a mesocosm experiment to investigate how Greenhouse Gas fluxes (CO₂, CH₄, N₂O), dissolved organic carbon (DOC) and total dissolved N (TN) are affected by a shift from *Sphagnum* mosses to *Molinia caerulea* dominated peatlands combined with N fertilization. Increasing N deposition did not alter the C fluxes (CO₂ exchanges, CH₄ emissions) or DOC content. The lack of N effect on the C cycle seems due to the capacity of *Sphagnum* to efficiently immobilize N. Nevertheless, N supply increased the N₂O emissions, which were also controlled by the plant communities. The presence of *Molinia caerulea* diminished N₂O emissions in the *Sphagnum* peat mesocosms. Increasing N availability raised denitrification activity whereas it was diminished and/or modified by the presence of *Molinia caerulea*.

Keywords CO₂ and CH₄ • N₂O • Peatland • Plant community composition • *Sphagnum* moss • Graminoid

VI.2.1 Introduction

Peatlands currently act as a major long-term carbon (C) sink ecosystem. Although these wetlands cover only 3% of the land area, they have stored a third of the global soil C since the early Holocene (Turunen et al., 2002). Most peatlands (up to 80%) are located at high latitudes of the northern hemisphere in the cool temperate zone in association with waterlogged, nutrient poor conditions and the presence of *Sphagnum* mosses (e.g. Gorham, 1991). To cope with low nutrient concentrations, *Sphagnum* mosses have developed mechanisms to efficiently use nutrients thanks to their high cation exchange capacity, nutrient translocation and atmospheric interception, reducing the nutrient availability to vascular plants (e.g. Turetsky et al., 2012). However, northern temperate ecosystems receive 4 times more airborne nitrogen (N) today than 150 years ago (Holland et al., 1999; Lamarque et al., 2005). Increased N deposition leads to a progressive N saturation of *Sphagnum* mosses, thus favouring the invasion of vascular plants and reducing *Sphagnum* moss growth (Limpens et al., 2011). Such changes seem to reduce the C sequestration rates in peatlands (Bragazza et al., 2006; Gunnarsson et al., 2008), even if they increase the vascular plants' productivity (Wu et al., 2015). However, the effect of the increase in N loads on stocks and exchanges of N and C are still understudied in peatlands, although they are known to generally increase N₂O emissions to the atmosphere (e.g. Nykänen et al., 2002, Francez et al., 2011). Peatland C-storage capacity is often considered alone to assess the effects of climate change on peatlands without considering the N stored in these ecosystems that could account for a significant N₂O source and therefore act as a positive feedback to climate change (Repo et al., 2009).

The increase in vascular plant cover due to human activities such as nutrient supply, e.g. atmospheric N deposition, or drainage, increases organic matter decomposition (Gogo et al., 2016) and modulates CO₂ and CH₄ emissions in peatlands (e.g. Ward et al., 2013; Leroy et al., 2017). The combined effects of vascular plant invasion with N deposition on both C and N cycles and stocks still remain to be elucidated. N fertilization generally stimulates the vascular plant biomass, thereby contributing to higher primary production. However, it also leads to a higher decomposition rate due to a reduction in the C/N ratio and more root exudates that generate additional respiration (Wu et al., 2015). Our aim was therefore to assess the effect of N supply on both C and N dynamics in peat mesocosms collected in a *Sphagnum*-dominated peatland invaded by a vascular plant, *Molinia caerulea*. All the peat mesocosms contained *Sphagnum rubellum*, and half of them also contained *Molinia caerulea*. Half of each plant community mesocosm was subjected to an increase in N deposition by a weekly amendment to

reach an addition of $3.2 \text{ gN m}^{-2} \text{ y}^{-1}$. This amendment is higher than that currently observed in peatlands (Bragazza et al., 2004), but could reflect the N deposition expected for 2100 (Lamarque et al., 2005). Thus, the hypotheses investigated are that N deposition will lead to the following processes under the two plant communities:

- (i) Processes involving the C cycle: a) an increase in C fluxes by promoting ecosystem respiration (ER) due to a faster decomposition of plant tissues containing more N (Bragazza et al., 2006); b) stimulation of the gross primary production (GPP) by an enhancement of both *Sphagnum* mosses and graminoid biomass (e.g. Tomassen et al., 2003; Granath et al., 2009); c) a rise in CH_4 emissions through a higher OM decomposition and increase in root exudates.
- (ii) Processes involving the N cycle: a) higher concentrations of the dissolved NH_4^+ and NO_3^- and of the N stored by *Sphagnum* mosses; b) an increase in N_2O emissions under both plant communities (Roobroeck et al., 2010).
- (iii) Processes involving *Molinia caerulea* occurrence: an increase in the C fluxes in peatlands (CO_2 , CH_4) and DOC content and a decrease in the ecosystem C balance compared to *Sphagnum*-dominated peatland due to the promotion of peat decomposition (Leroy et al., 2017).

VI.2.2 Materials and methods

VI.2.2.1 Experimental design

Twelve peat mesocosms (depth and diameter: 30 cm) were collected in March 2015 at La Guette peatland, an acidic fen invaded by *Molinia caerulea* (N 47°19'44", E 2°17'04", France, Gogo et al., 2011). The mesocosms were buried outdoors (N 47°50'01", E 1°56'34", ISTO, Orléans) and surrounded with a tarpaulin containing water from the peatland. Air and soil temperature at 5 and 20 cm depth were monitored in each mesocosm at 15 min intervals. The water table level (WTL) was measured by piezometers in all the mesocosms. For each gas measurement, peat water was collected from the piezometer to analyze DOC and TN concentrations ([DOC] and [TN]) with a Shimadzu TOC-5000 analyzer. The mesocosms were first separated into 2 different plant communities: 6 containing only *Sphagnum rubellum* (called 'Sphagnum' mesocosms) and 6 containing both *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* (called 'Sphagnum + Molinia' mesocosms). *Molinia caerulea* growth started in May. The plant covered up to 60% of mesocosms until its senescence in November. Mesocosms of both plant

communities were separated into 2 treatments with (called ‘Fertilized’ mesocosms) and without (called ‘Control’ mesocosms) additions of NH_4NO_3 , commonly used as an agricultural fertilizer. N was added every week to reach $3.2 \text{ gN m}^{-2} \text{ y}^{-1}$, which represents $3.7 \text{ gN m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ during the 14 months of the experiment.

At the end of this mesocosm experiment, C and N content (%) in *Molinia* leaves and litter, *Sphagnum* capitula (0-0.5 cm), living *Sphagnum* (0.5-2.5 cm) and at 2.5-7.5, 7.5-12.5, 12.5-17.5 and 17.5-22.5 cm depth were measured for each mesocosm with an elementary analyzer (Thermo-126 FLASH 2000 CHNS/O Analyzer). For each mesocosm at the previously mentioned depth, cubes measuring 5 cm per side were prepared and oven dried at 50°C to calculate peat bulk density (g cm^{-3} , Table VI-S5) and evaluate the C and N stock in each layer.

VI.2.2.2 Greenhouse gas (GHG) measurements

GHG measurements were performed once or twice per week during the growing season (April-October 2015 and April-June 2016) and every two weeks during winter (November 2015-March 2016). CO_2 fluxes were measured during 5 min using a GMP343 Vaisala probe inserted in a transparent PVC chamber (D’Angelo et al., 2016). A clear chamber was used to measure the net ecosystem exchange (NEE), the balance between GPP (absorption of CO_2 by photosynthesis) and ER (release of CO_2 into the atmosphere). ER was measured by placing an opaque cover on the chamber to block photosynthesis (D’Angelo et al., 2016). CH_4 and N_2O emissions were measured during 15 min by using SPIRIT, a portable infrared laser spectrometer (Guimbaud et al., 2011).

VI.2.2.3 Data analysis and modeling

C fluxes ($\text{gC m}^{-2} \text{ y}^{-1}$) were modelled following Leroy et al. (in prep.) and N fluxes (concerning only N_2O emissions, $\text{gN m}^{-2} \text{ y}^{-1}$) were extrapolated from the mean values of 12 months of measurements. Three-way repeated-measure ANOVAs were used to compare C and N fluxes and differences in environmental parameters due to the main effect of ‘Vegetation’ between *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms, and ‘Nitrogen’ between the Fertilized and Control mesocosms over the measurement period (Table VI-3). Two-way ANOVAs were used to compare C and N content, peat bulk density and C and N stocks per depth for the main effect of ‘Vegetation’ between *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms, and ‘Nitrogen’ between the Fertilized and Control ones (Table VI-3, Table VI-S5, Table VI-S6).

VI.2.3 Results

VI.2.3.1 C and N fluxes

No significant differences in ER, GPP, CH₄ emissions or [DOC] were observed between the Control and Fertilized mesocosms for the two plant communities (Table VI-3). Hypothesis (i), which assumed a promotion of ER, GPP and CH₄ emissions, must therefore be rejected. Differences were driven only by the plant communities: the presence of *Molinia caerulea* increased the gaseous C fluxes (ER, GPP, CH₄ emissions) compared to *Sphagnum* mesocosms (Table VI-3). Furthermore, the number and height of *Molinia caerulea* leaves were similar between the Control and Fertilized mesocosms and no stimulation of *Molinia* growth with addition of N was observed (Table VI-3).

Table VI-3 Mean values of 12 months' measurements of Net Ecosystem Exchange (NEE), Gross Primary Production (GPP), Ecosystem Respiration (ER), CH₄ emissions (CH₄), Dissolved Organic Carbon (DOC), N₂O emissions (N₂O), Dissolved Total Nitrogen (TN), NH₄⁺ and NO₃⁻ content, air temperature (Ta), Water Table Level (WTL), number and height of *Molinia* leaves in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH₄NO₃ addition. Significant differences of repeated-measure ANOVAs are expressed as *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

	<i>Sphagnum</i>		<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>		Nitrogen	Significance	
	Control	Fertilized	Control	Fertilized		Vegetation	Interaction
C cycle							
NEE (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	1.55	1.29	6.50	7.11		***	
GPP (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	2.61	2.28	10.24	10.56		***	
ER (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	1.06	0.99	3.75	3.50		***	
CH ₄ (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	0.018	0.019	0.130	0.133		***	
DOC (mg.L ⁻¹)	58.38	41.71	35.95	24.14		*	
N cycle							
N ₂ O (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)	5.26-5	19.41	-0.89-5	2.86-5	*	*	
TN (mg.L ⁻¹)	5.27	4.01	1.70	1.14		**	
NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	5.15	4.11	0.27	0.16		**	
NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)	0.51	0.46	0.26	0.55			
Environmental parameters							
Ta (°C)	12.06	12.14	14.54	14.66			
WTL	-6.32	-3.28	-7.06	-7.25			
Molinia leaves	n. a.	n. a.	233.54	269.94		n. a.	n. a.
Molinia leaves	n. a.	n. a.	13.04	12.02		n. a.	n. a.

n. a.: not applicable

Neither NH_4^+ nor NO_3^- concentrations were significantly influenced by the increase in N deposition, refuting hypothesis ii, a), i.e. higher NH_4^+ and NO_3^- concentrations in peat water due to NH_4NO_3 additions (Table VI-3). Water in both plant communities contained low NO_3^- concentrations and NH_4^+ concentrations varied with the vegetation cover (Table VI-3, Fig. VI-5). The presence of *Molinia caerulea* significantly reduced the NH_4^+ concentrations compared to *Sphagnum* mesocosms (Table VI-3).

The only significant differences due to the NH_4NO_3 additions concerned N_2O emissions that increased in Fertilized mesocosms compared to Control ones for both plant communities. This confirms our hypothesis ii, b, i.e. that a higher N would increase N_2O emissions under both plant communities (Table VI-3, Fig. VI-4, Fig. Fig. VI-5 and VI-S8). Furthermore, N_2O emissions were also affected by the vegetation composition with a decrease in N_2O emissions in the *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms compared to the *Sphagnum* mesocosms (Table VI-3, Fig. VI-4).

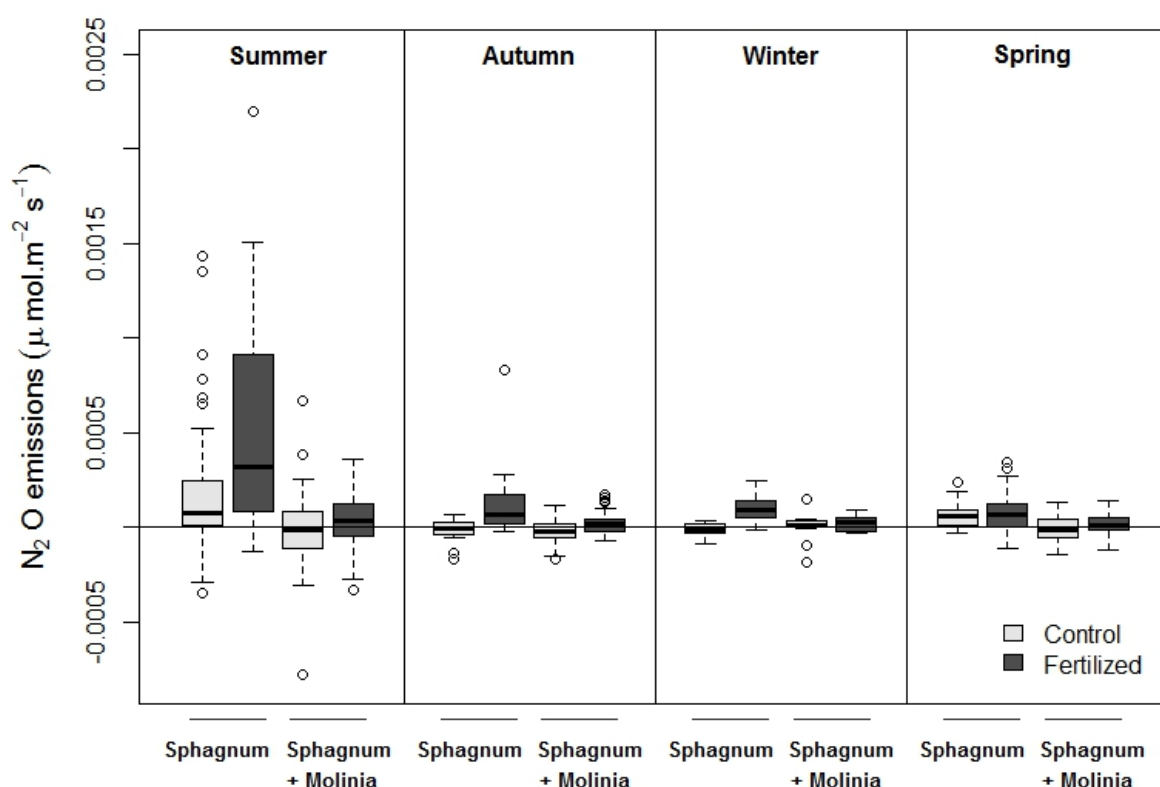


Figure VI-4 N_2O emissions measured in summer (n=19), autumn (n=8), winter (n=5) and spring (n=8) in *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition (n=3).

VI.2.3.2 C and N stocks

Increasing N deposition triggered a short-term response with an increase in N concentrations in *Sphagnum* capitula (0-0.5cm depth) and in its living tissues (0.5-2.5 cm depth) and in N₂O emissions (Table VI-3, VI-4 and Fig. VI-4).

Table VI-4 C and N content (%) of *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH₄NO₃ addition per depth (n=3; ±SE). Significant differences are expressed as 0.05 < p < 0.1, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

	<i>Sphagnum</i>		<i>Sphagnum</i> + <i>Molinia</i>		Significance		
	Control	Fertilized	Control	Fertilized	Nitrogen	Vegetation	Interaction
C cycle							
0-0.5	40.80 ± 0.39	40.41 ± 0.28	40.13 ± 0.20	39.37 ± 0.72		-	
0.5-2.5	37.60 ± 1.02	34.69 ± 3.83	39.63 ± 2.59	38.40 ± 2.32		-	
2.5-7.5	32.54 ± 3.07	31.67 ± 2.43	34.77 ± 1.70	31.42 ± 2.41			
7.5-12.5	37.91 ± 1.05	32.21 ± 2.61	38.05 ± 0.37	37.22 ± 1.95	-		
12.5-	34.87 ± 1.37	34.14 ± 2.76	37.80 ± 0.26	36.38 ± 1.05			
17.5-	37.29 ± 0.38	33.45 ± 4.37	34.58 ± 2.43	36.65 ± 0.98			
N cycle							
0-0.5	1.10 ± 0.11	2.01 ± 0.13	1.34 ± 0.05	1.73 ± 0.10	***		*
0.5-2.5	0.68 ± 0.09	0.90 ± 0.11	0.74 ± 0.06	1.14 ± 0.12	*		
2.5-7.5	0.86 ± 0.19	0.98 ± 0.07	0.67 ± 0.12	0.77 ± 0.10			
7.5-12.5	0.99 ± 0.05	1.18 ± 0.28	1.12 ± 0.07	1.51 ± 0.36			
12.5-	1.53 ± 0.08	1.31 ± 0.19	1.49 ± 0.10	1.72 ± 0.18			
17.5-	1.60 ± 0.14	1.37 ± 0.06	1.49 ± 0.05	1.64 ± 0.07			-

These effects modified the N cycles and stocks in the peat mesocosms (Table VI-S6, Fig. VI-5). Extrapolation of N₂O fluxes (in gN m⁻²y⁻¹) showed that increasing N deposition produced an increase in N₂O emissions of 0.125 gN m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* mesocosms and of 0.033 gN m⁻² y⁻¹ in *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (Fig. V-5). However, the increase in N₂O emissions represents only 4 and 1% respectively of the total N additions. Most of the NH₄NO₃ load was stored in *Sphagnum* mosses with an estimated increase of 2.9 gN m⁻² in the stocks of *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms and of 4.0 gN m⁻² in *Sphagnum* ones in the two first layers in the Fertilized mesocosms compared to the Control ones.

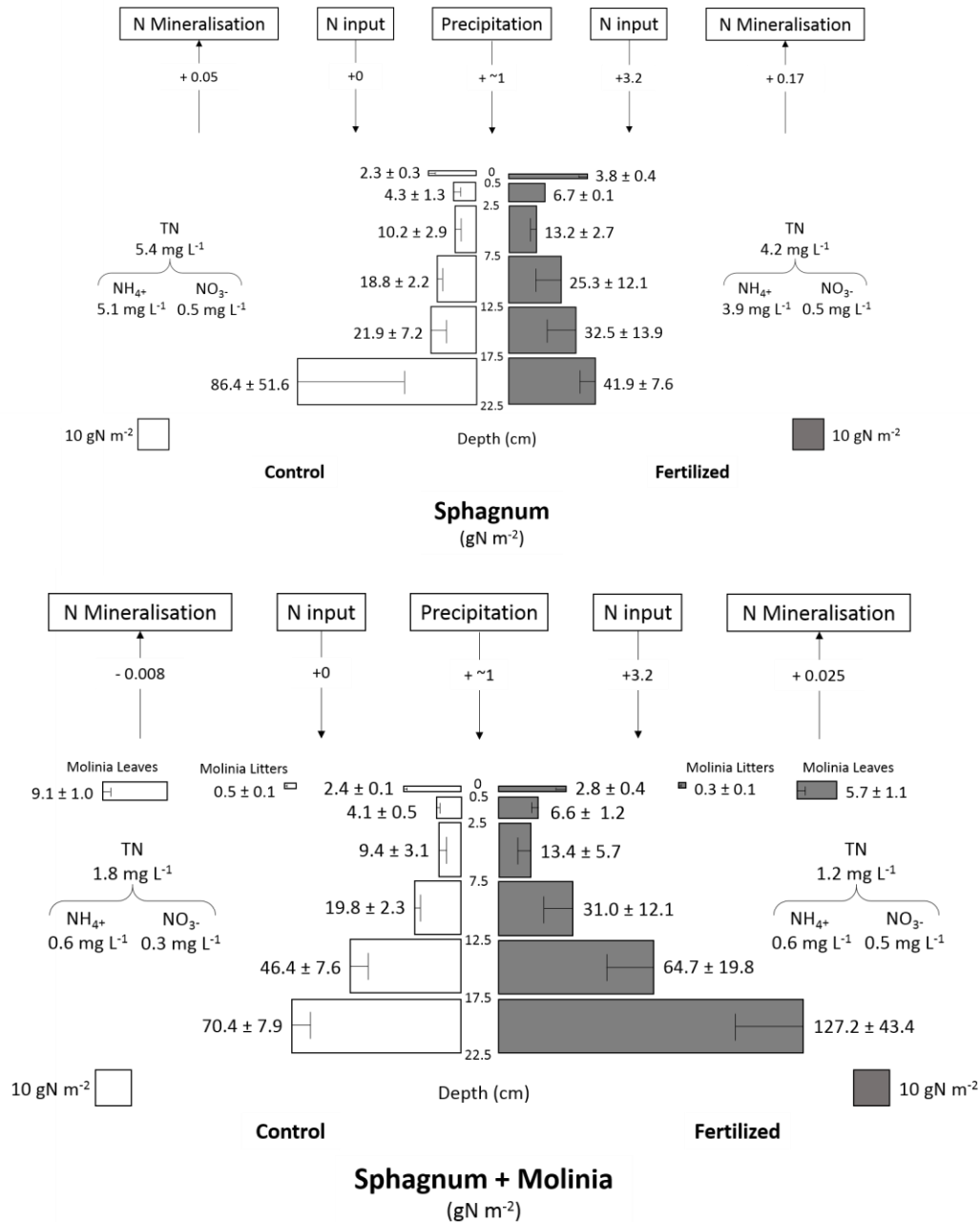


Figure VI-5 N stocks (gN m^{-2}) and fluxes ($\text{gN m}^{-2} \text{y}^{-1}$) in *Sphagnum* (a) and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$) from July 2015 to June 2016.

The NH_4NO_3 load did not significantly impact C cycles and stocks (Table VI-3, Fig. VI-6). C compartments were only affected by the vegetation cover which modified C absorption and mineralization (Fig. V-6). The shift from *Sphagnum* to *Molinia* dominated peatland increased C emissions and absorption and led to an increase in the C balance (Table VI-3, Fig. VI-6, Leroy et al., in prep.). This refutes our hypothesis (iii) which assumed a decrease in the ecosystem C balance with *Molinia caerulea* occurrence. Only the *Molinia caerulea* effect was

modelled on the C flux since it was the only significant effect observed on the CO₂ and CH₄ fluxes (Fig. V-5, Leroy et al., in prep.).

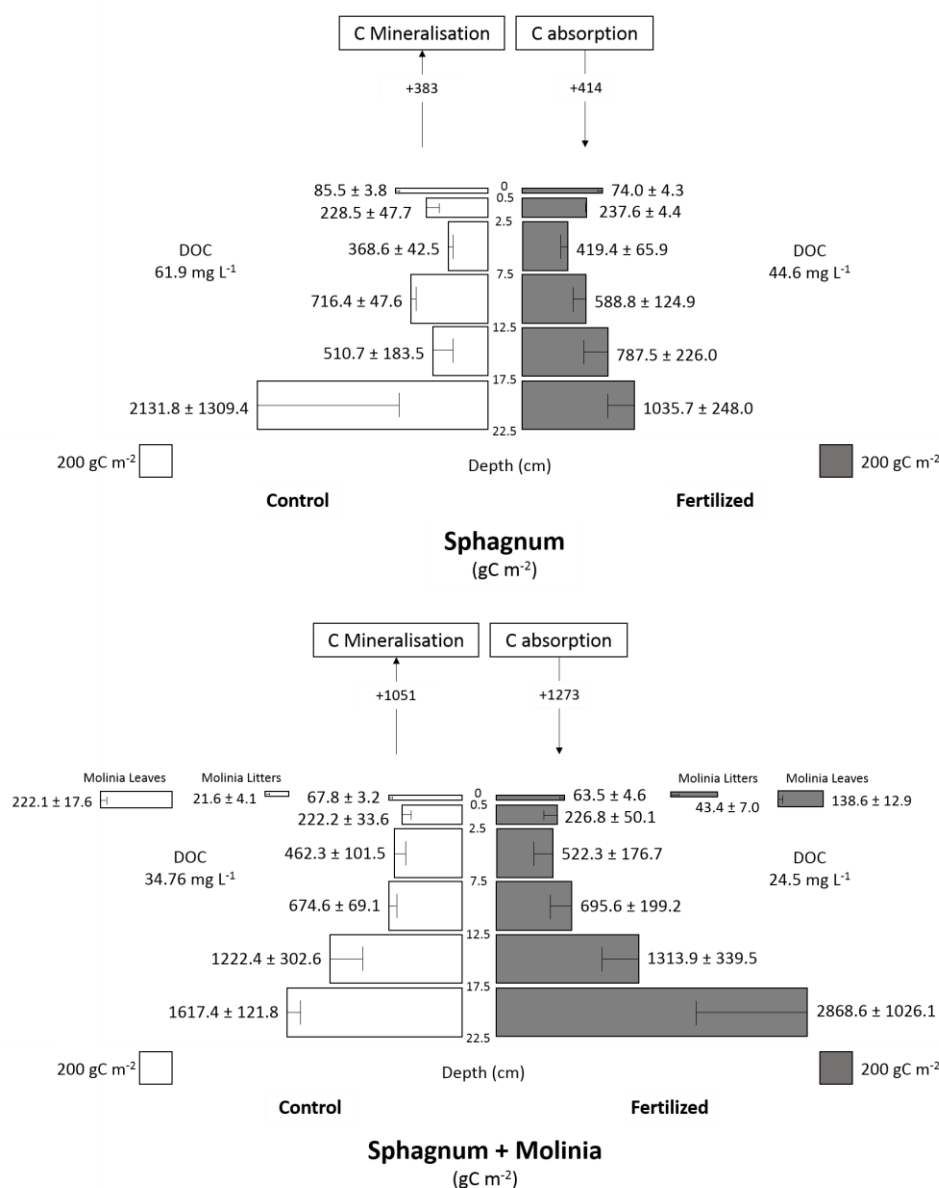


Figure VI-6 C stocks (gC m⁻²) and fluxes (black arrow, gC m⁻² y⁻¹) in *Sphagnum* (a) and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH₄NO₃ addition (±SE, n=3) from July 2015 to June 2016

C contents were similar between vegetation treatments (Table VI-4), but the density was higher in *Sphagnum* plots than in *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (Table VI-S5). Consequently, the C stock was higher in *Sphagnum* mesocosms than in *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (Table S6 and Fig. VI-6). The variability of peat density between vegetation did not affect the stoichiometry of the peat. The C/N ratio was only affected by the N treatment in

the top two layers (0-0.5 and 0.5-2.5 cm) with a lower ratio in the Fertilized plots than in the Control ones (Fig. V-7).

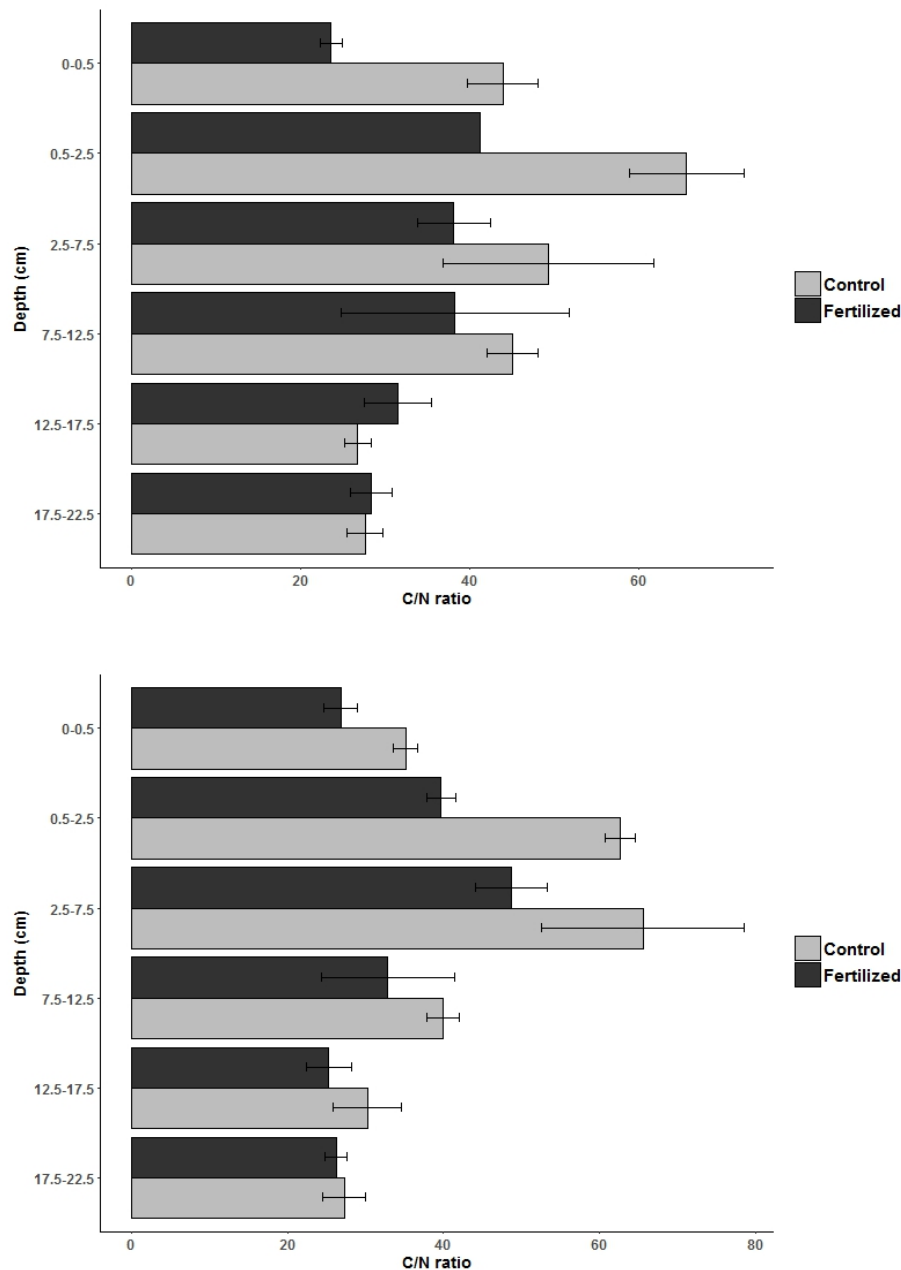


Figure VI-7 C/N ratio per layer in *Sphagnum* (a) and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition ($\pm\text{SE}$, $n=3$). Significant differences per layer are expressed as $0.05 < -p < 0.1$, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $***p < 0.001$.

VI.2.4 Discussion

VI.2.4.1 N retention by *Sphagnum*

The number and height of *Molinia caerulea* leaves were similar between the Control and the Fertilized mesocosms and no stimulation of *Molinia* growth was observed. This is in

agreement with the results of Tomassen et al. (2003) who found an effect of N addition on *Molinia caerulea* biomass only after 3 years of N input. In addition, the different forms of N dissolved in peat water were not affected by the N addition treatment (Table VI-3). However, N addition induced an increase in the concentration and stock of N in the living parts of *Sphagnum* (the first two layers of the peat mesocosms: 0-0.5 cm and 0.5-2.5 cm; Table VI-4, Fig. VI-5). Thus, the lack of a short-term effect of N fertilization on *Molinia caerulea* growth can be explained by the high capacity of *Sphagnum* mosses to retain N deposition (van Breemen, 1995). Indeed, *Sphagnum* species can capture the atmospheric N supply, limiting its availability for the surrounding vascular plants (van Breemen, 1995; Tomassen et al., 2003). Such a mechanism can have a long-term effect on OM decomposition. The N enrichment of living *Sphagnum* by increased N atmospheric deposition leads to a lower C:N ratio (Fig. V-7). Such a change in peat stoichiometry could increase the decomposition rate of *Sphagnum* litters and in the long term, could negatively affect the C balance of *Sphagnum*-dominated peatlands (Aerts et al., 1992).

Despite the N retention by *Sphagnum* mosses, increasing NH_4NO_3 inputs enhances N_2O emissions under both plant communities (Fig. V-4). When error terms are considered, the amount of N added in *Sphagnum* mesocosms (3.7 gN m^{-2}) is recovered in the amount of N found in the combined N_2O emissions and N stocks in *Sphagnum* layers (4.0 gN m^{-2} on average; Fig. V-5). No other N output or stock is required to close the N balance. These results suggest that increased N_2O emissions may be generated by a stimulation of denitrification triggered by an increase in N availability (Hayden and Ross, 2005; Francez et al., 2011). This stimulation is modulated by the vegetation.

VI.2.4.2 Effect of *Molinia caerulea* on the N cycle

Vegetation composition was also found to impact N_2O emissions (Table VI-4) with lower N_2O emissions in the presence of *Molinia caerulea* (Fig. V-4). The NO_3^- concentration (Table VI-3) and N content of living *Sphagnum* (Table VI-S5) did not differ between *Sphagnum* and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms. Furthermore, the above-ground biomass production of *Molinia caerulea* was not stimulated by N addition (Table VI-3; Fig. VI-5). The combined increase in N_2O emissions and N stocks (2.9 gN m^{-2}) in Fertilized mesocosms compared to the Control ones represents 80% of the N additions. The fraction of N lacking may have been either denitrified to N_2 (not possible to observe with our technique) or incorporated into the root biomass.

The competition between *Molinia caerulea*, a nitrophilous grass (Tomassen et al., 2004), and denitrifiers for mineral N could limit the substrate's availability for denitrification, leading to a reduction in N₂O emissions (Repo et al., 2009; Roobroeck et al., 2010). The utilization of N for biomass building by *Molinia caerulea* is supported by the reduction in NH₄⁺ concentration in presence of *Molinia caerulea*, as this plant can use NH₄⁺ as an N source (Troelstra et al., 1995). In any case, these results clearly showed that the occurrence of *Molinia caerulea* modifies the C cycle either by increasing root biomass (with further modification of the C cycle) or by modulating the denitrifier microbial communities (from N₂O to N₂ emission), or both. Further studies should thus focus on the OM dynamics associated to the *Molinia caerulea* rhizosphere.

VI.2.5 Conclusions

Increasing N deposition did not impact the C fluxes (CO₂, CH₄), [DOC], stocks or above-ground biomass of *Molinia caerulea* in this short-term experiment. This was due to the high capacity of *Sphagnum* mosses to intercept atmospheric N, limiting the N input effect. Despite the low N availability, NH₄NO₃ addition promoted N₂O emissions, which were also influenced by the vegetation composition with the lowest emissions with *Molinia caerulea* occurrence. This modification in N₂O emissions probably results from an alteration of the denitrification activity linked to the availability of mineral N. Our results indicate that N deposition alters the N cycling in peatlands with also an important regulatory role of plant communities on C and also on N dynamics. Nonetheless, peatland ecosystem reactions to N deposition should be considered in the longer term, especially in peatland with a *Sphagnum* layer N-saturated.

Acknowledgements This paper is a contribution to the research conducted in the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100-01). The authors gratefully acknowledge the financial support provided to the PIVOTS project by the Région Centre – Val de Loire (ARD 2020 program and CPER 2015 -2020). This work is also supported by the AMIS (FAte and IMpact of AtmospherIc PollutantS) project funded by the European Union, under the Marie Curie Actions IRSES (International Research Staff Exchange Scheme), within the Seventh Framework Programme FP7-PEOPLE-2011-IRSES. The authors would like to thank X. Yin, G. Belot, A. Mennequerre for their contribution to gas measurements, P. Jacquet and C. Robert for providing assistance in SPIRIT maintenance, and N. Lothier for DOC and TN analysis. We also thank E. Rowley-Jolivet for revision of the English version.

References

- Aerts, R., Wallen, B., & Malmer, N., 1992. Growth-limiting nutrients in Sphagnum-dominated bogs subject to low and high atmospheric nitrogen supply. *Journal of Ecology*, 131-140.
- Bragazza, L., Freeman, C., Jones, T., Rydin, H., Limpens, J., Fenner, N., Ellis, T., Gerdol, R., Hájek, M., Hájek, T., Iacumin, P., Kutnar, L., Tahvanainen, T., Toberman, H., 2006. Atmospheric nitrogen deposition promotes carbon loss from peat bogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(51): 19386-19389.
- Bragazza, L., Tahvanainen, T., Kutnar, L., Rydin, H., Limpens, J., Hájek, M., Grosvernier, P., Hájek, T., Hajkova, P., Hansen, I., Iacumin, P., Gerdol, P., 2004. Nutritional constraints in ombrotrophic Sphagnum plants under increasing atmospheric nitrogen deposition in Europe. *New Phytologist*, 163(3): 609-616.
- D'Angelo, B., Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Le Moing, F., Jégou, F., Guimbaud, C., 2016. Soil temperature synchronisation improves representation of diel variability of ecosystem respiration in Sphagnum peatlands. *Agricultural and Forest Meteorology*, 223: 95-102.
- Francez, A. J., Pinay, G., Josselin, N., & Williams, B. L., 2011. Denitrification triggered by nitrogen addition in Sphagnum magellanicum peat. *Biogeochemistry*, 106(3): 435-441.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., Lottier, N. 2011. Invasion of a Sphagnum-peatland by Betula spp and Molinia caerulea impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106(1): 53-69.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Merzouki, F., Mounier, S., Guirimand-Dufour, A., Jozja, N., Huguet, A., Delarue, F., Défarge, C., 2016. In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of Sphagnum rubellum and Molinia caerulea litters. *Journal of Soils and Sediments*, 16(1): 13-27.
- Gorham, E., 1991. Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecological applications*, 1(2): 182-195.
- Gunnarsson, U., Borešjö Bronge, L., Rydin, H., & Ohlson, M., 2008. Near-zero recent carbon accumulation in a bog with high nitrogen deposition in SW Sweden. *Global Change Biology*, 14(9): 2152-2165.
- Guimbaud, C., Catoire, V., Gogo, S., Robert, C., Chartier, M., Laggoun-Défarge, F., Grossel, A., Albéric, P., Pomathiod, L., Nicoullaud, B., Richard, G., 2011. A portable infrared laser spectrometer for flux measurements of trace gases at the geosphere-atmosphere interface. *Measurement Science and Technology*, 22(7): 075601.
- Granath, G., Wiedermann, M. M., Strengbom, J., 2009. Physiological responses to nitrogen and sulphur addition and raised temperature in Sphagnum balticum. *Oecologia*, 161(3): 481-490.
- Hayden, M. J., Ross, D. S., 2005. Denitrification as a nitrogen removal mechanism in a Vermont peatland. *Journal of environmental quality*, 34(6): 2052-2061.
- Holland, E. A., Dentener, F. J., Braswell, B. H., Sulzman, J. M., 1999. Contemporary and pre-industrial global reactive nitrogen budgets. *Biogeochemistry*, 46(1): 7-43.
- Lamarque, J. F., Kiehl, J. T., Brasseur, G. P., Butler, T., Cameron-Smith, P., Collins, W. D., Collins, W. J., Granier, C., Hauglustaine, D., Hess, P. G., Holland, E. A., Horowitz, L., Lawrence, M. G., McKenna, D., Merilees, P., Prather, M. J., Rasch, P. J., Rotman, D., Shindell, D., Thornton, P., 2005 Assessing future nitrogen deposition and carbon cycle feedback using a multimodel approach: analysis of nitrogen deposition. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 110(D19).

- Leroy, F., Gogo, S., Guimbaud, C., Bernard-Jannin, L., Hu, Z., Laggoun-Défarge, F., 2017. Vegetation composition controls temperature sensitivity of CO₂ and CH₄ emissions and DOC concentration in peatlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 107: 164-167.
- Leroy, F., Gogo, S., Guimbaud, C., Bernard-Jannin, L., Yin, X., Belot, G., Shuguang, W., Laggoun-Défarge, F., In prep. Carbon balance and global warming potential modifications in Sphagnum-dominated peat mesocosms invaded by *Molinia caerulea*.
- Limpens, J., Granath, G., Gunnarsson, U., Aerts, R., Bayley, S., Bragazza, L., Bubier, J., Buttler, A., Vanden Berg, L.J.L., Francez, A.J., Gerdol, R., Grosvernier, P., Heijmans, M.M.P.D., Hoosbeek, M.R., Hotes, S., Ilomets, M., Leith, I., Mitchell, E.A.D., Moore, T., Nilsson, M.B., Nordbakken, J.F., Rochefort, L., Rydin, H., Sheppard, L.J., Thormann, M., Wiedermann, M.M., Williams, B.L., Xu, B., 2011. Climatic modifiers of the response to nitrogen deposition in peat-forming Sphagnum mosses: a meta-analysis. *New Phytologist*, 191(2): 496-507.
- Nykänen, H., Vasander, H., Huttunen, J. T., Martikainen, P. J., 2002. Effect of experimental nitrogen load on methane and nitrous oxide fluxes on ombrotrophic boreal peatland. *Plant and Soil*, 242(1): 147-155.
- Repo, M. E., Susiluoto, S., Lind, S. E., Jokinen, S., Elsakov, V., Biasi, C., Virtanen, T., Martikainen, P. J., 2009. Large N₂O emissions from cryoturbated peat soil in tundra. *Nature Geoscience*, 2(3): 189-192.
- Roobroeck, D., Butterbach-Bahl, K., Brüeggemann, N., Boeckx, P., 2010. Dinitrogen and nitrous oxide exchanges from an undrained monolith fen: short-term responses following nitrate addition. *European Journal of Soil Science*, 61(5): 662-670.
- Tomassen, H., Smolders, A. J., Lamers, L. P., Roelofs, J. G., 2003. Stimulated growth of *Betula pubescens* and *Molinia caerulea* on ombrotrophic bogs: role of high levels of atmospheric nitrogen deposition. *Journal of Ecology*, 91(3): 357-370.
- Tomassen, H., Smolders, A. J., Limpens, J., Lamers, L. P., Roelofs, J. G., 2004. Expansion of invasive species on ombrotrophic bogs: desiccation or high N deposition? *Journal of applied Ecology*, 41(1): 139-150.
- Troelstra, S. R., Wagenaar, R., Smant, W., 1995. Nitrogen utilization by plant species from acid heathland soils: I. Comparison between nitrate and ammonium nutrition at constant low pH 1. *Journal of Experimental Botany*, 1103-1112.
- Turetsky, M. R., Bond-Lamberty, B., Euskirchen, E., Talbot, J., Frohling, S., McGuire, A. D., Tuittila, E. S., 2012. The resilience and functional role of moss in boreal and arctic ecosystems. *New Phytologist*, 196(1): 49-67.
- Turunen, J., Tomppo, E., Tolonen, K., & Reinikainen, A., 2002. Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland—application to boreal and subarctic regions. *The Holocene*, 12(1): 69-80.
- Van Breemen, N., 1995. How Sphagnum bogs down other plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(7): 270-275.
- Ward, S. E., Ostle, N. J., Oakley, S., Quirk, H., Henrys, P. A., Bardgett, R. D., 2013. Warming effects on greenhouse gas fluxes in peatlands are modulated by vegetation composition. *Ecology letters*, 16(10): 1285-1293.
- Wu, Y., Blodau, C., Moore, T. R., Bubier, J., Juutinen, S., & Larmola, T., 2015. Effects of experimental nitrogen deposition on peatland carbon pools and fluxes: a modelling analysis. *Biogeosciences*, 12(1): 79-101.

Supplementary material

Table VI-S5 Density (g.m^{-3}) of Sphagnum and Sphagnum + Molinia mesocosms with (Fertilized) or without (Control) NH_4NO_3 addition per depth ($\pm\text{SE}$, $n=3$). Significant differences of two-way ANOVAs are expressed as * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

	<i>Sphagnum</i>		<i>Sphagnum + Molinia</i>		Nitrogen	Significance	
	Control	Fertilized	Control	Fertilized		Vegetation	Interaction
0-0.5	0.042 $\pm$ 0.001	0.037 $\pm$ 0.003	0.035 $\pm$ 0.001	0.032 $\pm$ 0.003	-	*	
0.5-2.5	0.030 $\pm$ 0.006	0.038 $\pm$ 0.004	0.028 $\pm$ 0.004	0.030 $\pm$ 0.008			
2.5-7.5	0.023 $\pm$ 0.003	0.027 $\pm$ 0.004	0.027 $\pm$ 0.006	0.034 $\pm$ 0.012			
7.5-12.5	0.038 $\pm$ 0.003	0.038 $\pm$ 0.012	0.035 $\pm$ 0.004	0.037 $\pm$ 0.010			
12.5-17.5	0.029 $\pm$ 0.010	0.047 $\pm$ 0.014	0.064 $\pm$ 0.013	0.072 $\pm$ 0.019			
17.5-22.5	0.114 $\pm$ 0.070	0.061 $\pm$ 0.010	0.094 $\pm$ 0.008	0.154 $\pm$ 0.053			

Table VI-S6 Significant differences in C and N quantity (in gC and $\text{gN m}^{-2} \text{y}^{-1}$) per layer, expressed as $0.05 < -p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

	Significance		
	Nitrogen	Vegetation	Interaction
gC			
0-0.5	-	**	
0.5-2.5			
2.5-7.5			
7.5-12.5			
12.5-17.5		-	
17.5-22.5			
gN			
0-0.5	*		
0.5-2.5	-		
2.5-7.5			
7.5-12.5			
12.5-17.5		-	
17.5-22.5			

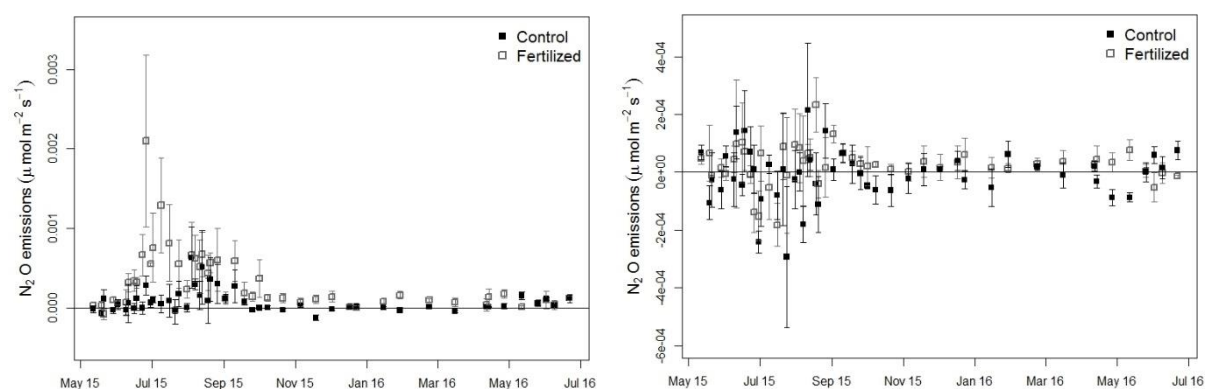


Figure VI-S8 Time series of N₂O emissions in *Sphagnum* (a) and *Sphagnum* + *Molinia* mesocosms (b) with (Fertilized) or without (Control) NH₄NO₃ addition (±SE, n=3) from May 2015 to June 2016.

VII. Conclusions générales

VII.1 Synthèse générale

Les tourbières à sphaignes sont des zones humides qui ont accumulé depuis le début de l'Holocène un stock important de C grâce à des conditions environnementales particulières et une végétation spécifique favorables à la préservation de la matière organique dans leur sol (Turunen et al., 2002). Cependant, ces écosystèmes, localisés principalement sous les hautes latitudes de l'hémisphère Nord, sont particulièrement impactés par les changements climatiques prédits plus intenses sous ces latitudes (IPCC, 2013). La question est de savoir si les changements globaux vont altérer le fonctionnement des tourbières notamment leur fonction 'puits' de carbone de par une augmentation des concentrations en CO₂, une élévation des températures ou encore des dépôts atmosphériques. Ces actions globales peuvent être accompagnées de perturbations locales comme le drainage et/ou l'exploitation de la tourbe. Une des conséquences indirectes de ces modifications environnementales est le changement du couvert végétal des tourbières, en faveur des plantes vasculaires et au détriment des sphaignes (Berendse et al., 2001; Buttler et al., 2015). Les rétroactions (positive ou négative) entre tourbières et changements globaux sont ainsi en partie liées à l'évolution du couvert végétal ainsi qu'aux interactions engendrées par ce changement entre les compartiments aériens et souterrains qui restent encore non élucidées dans ces écosystèmes. Ainsi l'objectif général de cette thèse porte sur les

Effets du changement de végétation dans les tourbières à sphaignes sur le cycle du carbone et ce, par l'étude des interactions entre plantes-rhizosphère et substrats carbonés dans les tourbières à sphaignes envahies par les plantes vasculaires.

De nombreuses interactions sont mises en place par les plantes vasculaires avec les plantes, les microorganismes ou encore les substrats carbonés au sein des tourbières. Les relations 'plante-sol' peuvent engendrer des modifications dans le fonctionnement des tourbières et altérer leur fonction de stockage de C en modifiant les flux de GES dans ces écosystèmes. C'est pourquoi une approche à différentes échelles a été utilisée dans ces travaux afin (i) d'étudier les interactions des plantes vasculaires sur le système sphaignes-tourbe et (ii) d'évaluer leurs implications sur les flux de GES dans les tourbières à sphaignes.

VII.1.1 Effets des plantes vasculaires sur le système 'plante-sol'

L'augmentation des plantes vasculaires dans les tourbières va provoquer une diminution du rayonnement photosynthétique reçu par les sphaignes. Les résultats obtenus dans ces travaux

montrent que l'interception lumineuse avait un effet bénéfique sur la production de biomasse des sphaignes (incubation au phytotron), mais également sur leur croissance (expérimentation en microcosmes). La stimulation de la croissance des sphaignes a été observée sous des ombrages importants allant jusqu'à une diminution de 84 % des radiations solaires. Les teneurs en C et N ont tendance à augmenter avec l'ombrage mais ces résultats restent à être confirmés par l'analyse élémentaire des capitulum de sphaignes dans les microcosmes. Ceci devrait fournir davantage d'informations sur les mécanismes impliqués dans l'éventuelle relocation des ressources dans les parties photosynthétiquement actives. La présence des litières des plantes vasculaires ne fournit pas davantage de nutriments (C et N) aux sphaignes. Au contraire, nous avons montré que les extraits à l'eau des litières fournissent des nutriments aux sphaignes qui vont contenir davantage de C et de N. En général, les apports en N peuvent favoriser la croissance des sphaignes lorsque celles-ci sont limitées en nutriments (Bragazza et al., 2004). Ceci n'a pas été observé lors de l'expérimentation en laboratoire. Les augmentations des teneurs en N conduisent à une diminution du C/N dans les sphaignes vivantes, pouvant par la suite entraîner une augmentation de la décomposition des litières de sphaignes (Limpens et Berendse, 2003).

L'étude de la cinétique de décomposition du mélange de litières de végétaux vasculaires et de sphaignes a été approchée par une expérimentation in situ et en laboratoire de 'litter bags'. Les résultats de l'expérience in situ montrent une augmentation du taux de décomposition dans le cas du mélange des litières de *Sphagnum fallax* - *Eriophorum vaginatum* et *Pinus uncinata* notamment dû au mélange entre *Sphagnum fallax* et *Eriophorum vaginatum*. Cela se traduit par une perte de masse plus importante dans le cas de mélange de litières par rapport à celle attendue dans les litières incubées séparément. Cette plus grande perte de masse conduit à des flux de C plus importants sous forme dissoute (COD) et gazeuse (CO₂). La compréhension des mécanismes de tels effets synergiques a été approchée par des mesures d'activités enzymatiques, notamment celle de la β -glucosidase. Des mesures d'activités enzymatiques pourraient fournir des informations sur ces effets synergiques. Dans notre cas, la β -glucosidase ne permet pas d'expliquer l'effet synergique lors du mélange des litières. D'autres enzymes pourraient donc être impliquées. Une amélioration des conditions micro-environnementales (physiques et chimiques) favorisant la décomposition et potentiellement les activités enzymatiques pourraient être une des causes de ces effets non-additifs. Des simulations prenant en compte les teneurs en eau contrastées entre des litières ont permis de soutenir cette hypothèse

et de montrer l'importance des propriétés hydriques des litières dans l'effet synergique du mélange entre *Sphagnum rubellum* et *Molinia caerulea* (Gogo et al., soumis, voir annexes).

Ces résultats montrent que la présence des plantes vasculaires stimule les flux de C associés aux sphaignes en accélérant les entrées par la photosynthèse et les sorties sous forme soluble et gazeuse par la décomposition (Fig. VI-1). Ces modifications peuvent affecter le taux d'accumulation de C dans les tourbières à sphaignes, sans ici, pouvoir déduire sa réponse face aux plantes vasculaires (Fig. VI-1).

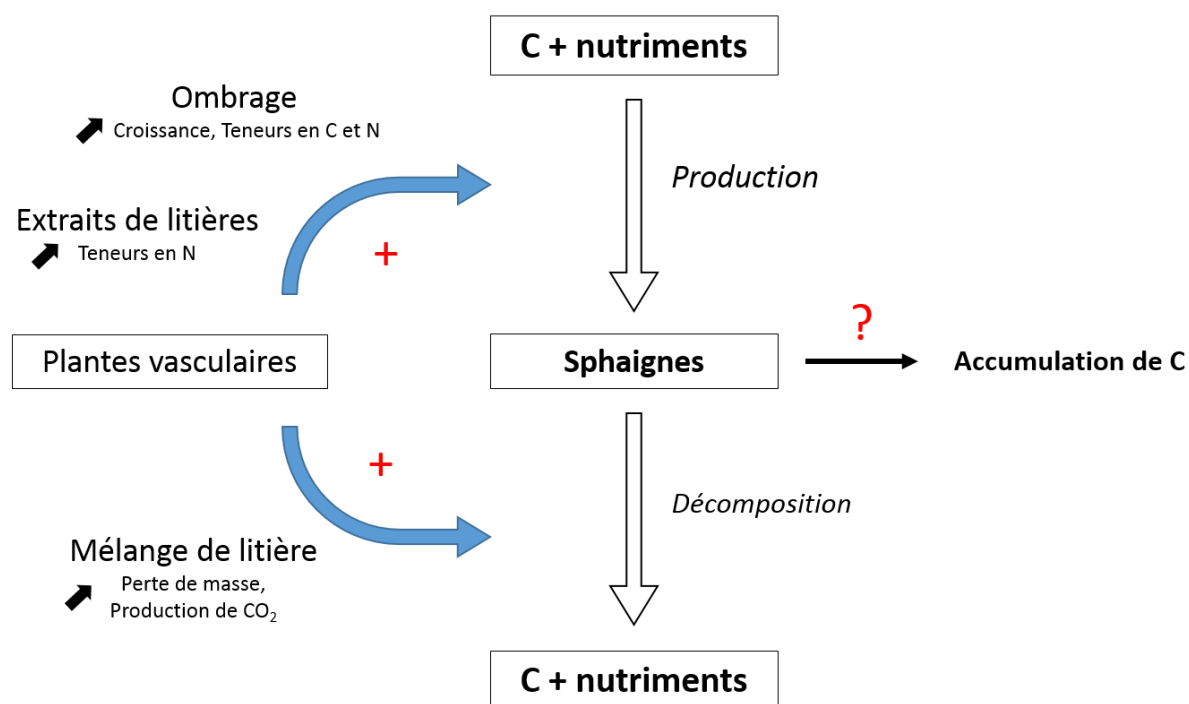


Figure VII-1 Actions des plantes vasculaires sur la croissance et la décomposition des sphaignes.

L'augmentation du recouvrement par la molinie modifie la qualité et la quantité de substrats carbonés apportés dans les tourbières. Ces différences induisent des changements dans les taux de décomposition avec des litières de *Molinia caerulea* se décomposant plus rapidement que celle de *Sphagnum rubellum* (Gogo, et al., 2016). L'analyse moléculaire des extraits lipidiques des feuilles de *Molinia caerulea* a révélé la présence de composés tels que 5-n-alkylrésorcinols (ARs). Les quantités d'ARs relevées dans *Molinia caerulea* sont moindres que celles reportées chez le riz, le blé ou encore le seigle mais sont semblables à celles reportées chez d'autres espèces végétales présentes dans les tourbières comme les linaigrettes (Avsejs et al., 2002). Un suivi réalisé sur des feuilles provenant des la tourbière de La Guette a montré que

les teneurs en ARs varient au cours de la saison de végétation avec des teneurs faibles entre avril et juin et de plus fortes teneurs entre octobre et décembre, avec une accumulation progressive des ARs à plus longues chaînes (C21 et C23). Les ARs de *Molinia caerulea* semblent également être affectés par le rayonnement lumineux avec une diminution de leurs teneurs en relation avec l'augmentation du rayonnement lumineux. Ces observations rejoignent des études menées sur différentes céréales (Magnucka et al., 2014). Néanmoins, après avoir réussi à déterminer les conditions de germination des graines de *Molinia caerulea*, le problème de solubilité des ARs n'a pas permis d'évaluer le potentiel rôle allélopathique de ces composés sur *Molinia caerulea*. Ces molécules particulièrement étudiées dans les céréales pour leur rôle de protection de grandes cultures (antimicrobiennes) et leurs implications dans l'alimentation humaine pourraient permettre à *Molinia caerulea* de communiquer avec leur environnement proche avec des relations plantes-plantes (allélopathie) et plantes-microorganismes (quorum-sensing) qui restent à approfondir.

Après un an d'expérimentation, la présence de *Molinia caerulea* dans les mésocosmes contenant *Sphagnum rubellum* ne montre que peu d'effets sur la composition de la matière organique dissoute (MOD). L'intensité de fluorescence de la MOD est similaire entre les traitements de végétation ; les seules variations observées sont liées à la date de prélèvement. Seule l'augmentation de l'indice d'activité biologique (BIX) déduit de l'analyse en fluorescence 3D de la MOD a été observée dans les mésocosmes de *Molinia caerulea* à la profondeur de 20 cm. Ceci pourrait témoigner d'une stimulation de l'activité microbienne via les exsudats racinaires de *Molinia caerulea*.

Les effets des plantes vasculaires, principalement étudié ici avec *Molinia caerulea*, sur le système 'plante-sol' conduit à une modification du fonctionnement des tourbières qui se traduisent par une modification des flux de GES et de leur fonction « puits » de C.

VII.1.2 Implications sur la dynamique du C dans les tourbières à sphaignes

Les résultats de l'expérimentation en mésocosmes conduites avec deux communautés végétales (*Sphagnum rubellum* et *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*), ont montré qu'en présence de *Molinia caerulea* les émissions de CO₂ et CH₄, mais aussi l'absorption de CO₂ sont plus élevées que dans les mésocosmes avec uniquement des sphaignes (Fig VII-2). La modélisation des flux de CO₂ et CH₄ montre que les mésocosmes avec *Sphagnum* + *Molinia* stockent -223 gC m⁻² a⁻¹ alors que ceux avec *Sphagnum* n'en stockent que -30 gC m⁻² a⁻¹ (Fig VII-2). Les litières de *Molinia caerulea* ne comptent que pour un faible pool de C (~30 gC m⁻²

²), ce sont les racines qui pourraient agir comme un réservoir important de C. En effet, la production racinaire de *Molinia caerulea* a été estimée à $1080 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ (Taylor et al., 2001) représentant ainsi un stockage potentiel de $486 \text{ gC m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ (pour 0.45 gC g^{-1}). Ce stockage est plus important que celui que nous avons modélisé par les mesures de flux de GES et pourrait refléter la capacité de *Molinia caerulea* à séquestrer du C via l'édification de sa biomasse racinaire mais aussi à augmenter la décomposition de la MO déjà stockée dans la tourbe. La libération du C accumulé dans la tourbe en présence de graminoides et avec une augmentation de température de 1°C est un constat déjà évoqué par Walter et al. (2016). Cette étude montre en effet une plus grande contribution de C 'ancien' à la respiration de l'écosystème via une stimulation de la décomposition par les apports carbonés labiles des plantes vasculaires. L'augmentation de la présence de ces nouvelles communautés végétales peut conduire à augmenter les pertes de C d'un pool auparavant stable, avec des répercussions importantes sur les changements climatiques futurs. De plus, et malgré cette capacité à stocker du C, les deux communautés végétales, à travers les flux de CH_4 , ont une rétroaction positive sur le réchauffement climatique et ce d'autant plus en présence de *Molinia caerulea* (Fig VII-2).

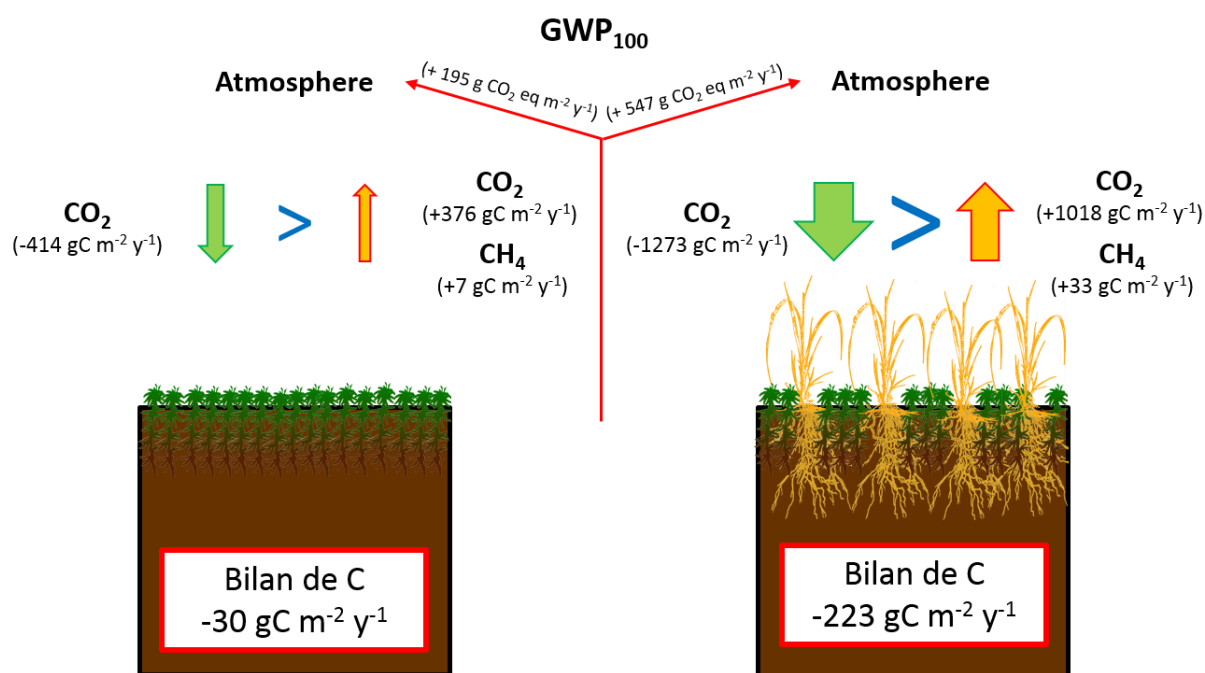


Figure VII-2 Bilan des flux de CO_2 et de CH_4 dans une tourbière à *Sphagnum rubellum* (à gauche) et à *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea*.

La modification de la dynamique du C a également été observée dans le pool dissous, avec de plus faibles [COD] dans les mésocosmes à *Sphagnum rubellum* + *Molinia caerulea* par rapport aux mésocosmes à *Sphagnum rubellum*. Même si les exsudats racinaires peuvent

contribuer à augmenter les [COD] (Yan et al., 2008), ceux-ci stimulent également l'activité microbienne aboutissant à une consommation du COD déjà présent (Freeman et al., 2004). Ces composés organiques labiles exsudés par *Molinia caerulea* engendrent une diminution de la sensibilité à la température des émissions de CO₂ due à une faible demande en énergie pour leurs dégradations par les microorganismes (Davidson et al., 2006). Au contraire, la sensibilité à la température des [COD] et des émissions de CH₄ augmente dans les mésocosmes contenant *Molinia caerulea* en comparaison avec les mésocosmes à sphaignes. Cette augmentation de la sensibilité à la température pourrait résulter de la modification des communautés des méthanogènes en passant d'une dominance des méthanogènes acétoclastes à des méthanogènes hydrogénotrophes. En effet, même si les exsudats racinaires des plantes vasculaires peuvent fournir l'acétate et favoriser la voie acétolastique (Störm et al., 2012), ces composés labiles peuvent également stimuler la décomposition de la matière organique récalcitrante et favoriser les méthanogènes hydrogénotrophes (Hornibrook et al., 1997). Il en résulte que, comme cette voie nécessite plus d'énergie que la voie acétoclastique, les systèmes dominés par des méthanogènes hydrogénotrophes sont plus sensibles à la température (Beer and Blodau, 2007)

Les interactions entre *Molinia caerulea* et les microorganismes semblent également affecter le cycle de N. En effet, nous avons observé que la présence de *Molinia caerulea* conduit à une diminution des flux de N₂O. Ceci pourrait être lié à une compétition entre *Molinia caerulea* et les micro-organismes dénitrifiants pour l'N minéral (Fig. VII-3). Cependant, l'ajout hebdomadaire d'N n'a pas stimulé la croissance de *Molinia caerulea*, plante pourtant nitrophile. De plus, l'augmentation des apports azotés n'a pas impactée la dynamique du C dans les mésocosmes. La grande capacité des sphaignes à capter les dépôts atmosphériques limite l'action de l'N sur la dynamique du C dans les tourbières. Un faible pourcentage des apports azotés est néanmoins utilisé dans la dénitrification et provoque une augmentation des émissions de N₂O (Fig. VII-3). L'immobilisation des dépôts azotés par les sphaignes et également l'utilisation de l'N par *Molinia caerulea* permettent de limiter les émissions de N₂O dans les tourbières. Un prolongement dans le temps de ces dépôts azotés pourrait induire une saturation en N des sphaignes et conduire à des émissions plus importantes de N₂O tout comme une altération du cycle du C.

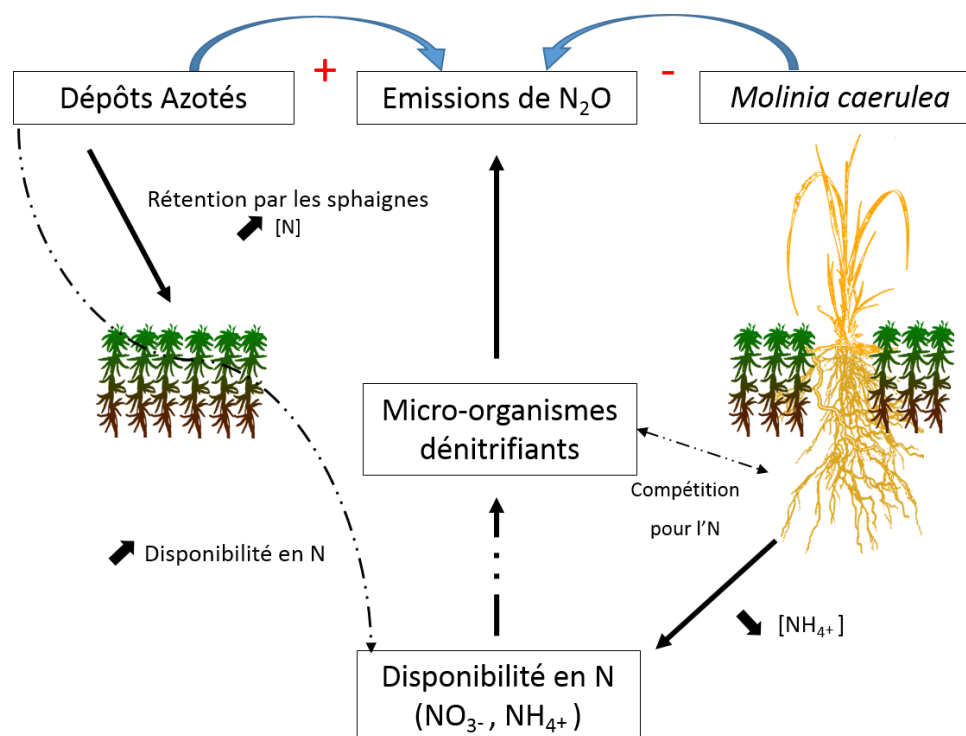


Figure VII-3 Effets des dépôts azotés et d'un changement des communautés végétales sur la dynamique de l'N dans une tourbières à sphaignes. Les flèches en pointillés représentent les hypothèses des processus impliqués dans les changements de flux de N_2O .

VII.2 Perspectives

L'envahissement des tourbières par les plantes vasculaires a, lors de ma thèse, été principalement abordé par l'invasion de *Molinia caerulea* dans des mésocosmes de sphaignes. Néanmoins, d'autres plantes vasculaires, tels que des arbustes ou des arbres, vont avoir un recouvrement de plus en plus important dans les tourbières au cours des prochaines décennies (e.g. Pearson et al., 2013). Ces différentes communautés végétales possèdent chacune leurs propres caractéristiques écophysiologiques et peuvent engendrer des effets très diverses sur la dynamique du carbone, via leur photosynthèse et la distribution du C assimilé pour les composés structuraux (par ex. lignine, polyphénols), l'exsudation racinaire ou la mise en place de symbioses (Cornelissen et al., 2003). Ces traits fonctionnels des espèces végétales est une composante clé dans la réponse des tourbières aux changements de végétation qu'il convient de bien étudier.

Une des grandes différences évoquée lors de ces travaux concerne la possibilité de *Molinia caerulea*, et des plantes vasculaires en général, à relâcher des exsudats racinaires dans le

compartiment souterrain, qui, par des modifications des communautés microbiennes, agissent sur la dynamique du C dans les tourbières. Néanmoins, les effets de ces composés labiles ne sont qu'implicites lors des travaux présentés dans cette thèse et la réponse du compartiment souterrain aux exsudats racinaires n'a pas été directement testés. Ainsi même si l'action des exsudats racinaires a bien été prospectée dans les sols minéraux, leurs effets restent encore très peu étudié dans les sols organiques, particulièrement dans les tourbières (Fan et al., 2013). La compréhension des mécanismes d'allocation des photosynthates au système 'sol' pourrait ainsi être exploré chez plusieurs espèces de plantes vasculaires présentes dans les tourbières par exposition des végétaux à des pulses de CO₂ marqué et le suivi du C marqué (¹³C ou ¹⁴C) dans la compartiment souterrain par l'analyse des (i) exsudats racinaires et de leur composition (en sucres, acides organiques et acides aminés) réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), (ii) communautés microbiennes (par l'analyse des PLFA) et (iii) émissions de CO₂ marqué. Ces études de suivi de C marqué sont non-destructives et permettent de déterminer la dynamique des récents photosynthetates et leur rôle sur les communautés microbiennes et dans la respiration de l'écosystème. Des mesures de ¹⁴C permettent également d'évaluer l'importance des différents types fonctionnels de plante sur l'âge du CO₂ respiré et du 'priming effect' sur la décomposition de la MO ancienne (Walker et al., 2016). De plus, des ajouts des substrats carbonés retrouvés dans les exsudats racinaires pourrait être déposer sur de la tourbe pour évaluer la respiration microbienne à ces différents ajouts et de produire un profil physiologiques des communautés microbiennes sous différentes communautés végétales (via MicroResp ou des tests Biolog EcoPlates, Yan et al., 2008).

La plupart des recherches explorant le rôle des changements globaux dans le cycle du C se concentrent sur des changements des conditions environnementales prise isolément. Cela permet de mettre en évidence de nombreux mécanismes s'opérant dans les tourbières. Néanmoins, comme nous avons pu le montré durant ces travaux, les communautés végétales peuvent moduler les effets des changements globaux sur le cycle du C. De récentes études montrent l'importance de la combinaison des changements de facteurs biotiques (communautés végétales et microbiennes) et abiotiques (température, niveau d'eau, disponibilité en nutriments) sur la dynamique du C et de la nécessité de prendre en compte leur interactions pour projeter les effets probables des changements environnementaux sur le fonctionnement des tourbières (Ward et al., 2013, Armstrong et al 2015, Walker et al., 2016). Ainsi, utiliser de nombreuses espèces végétales et y intégrer des variations des conditions abiotiques (augmentation de la temperature, élévation de la concentration du CO₂ atmosphérique), pour y

suivre des processus biotiques (production primaire, activité microbienne, émissions de GES) aiderait à une meilleure compréhension des retombées des variations des espèces végétales sur le fonctionnement de l'écosystème dans un contexte de changement climatique.

References

- Armstrong, A., Waldron, S., Ostle, N. J., Richardson, H., & Whitaker, J. (2015). Biotic and abiotic factors interact to regulate northern peatland carbon cycling. *Ecosystems*, 18(8), 1395-1409.
- Avsejs, L. A., Nott, C. J., Xie, S., Maddy, D., Chambers, F. M., & Evershed, R. P. (2002). 5-n-Alkylresorcinols as biomarkers of sedges in an ombrotrophic peat section. *Organic Geochemistry*, 33(7), 861-867.
- Beer, J., & Blodau, C. (2007). Transport and thermodynamics constrain belowground carbon turnover in a northern peatland. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(12), 2989-3002.
- Berendse, F., Van Breemen, N., Rydin, H., Buttler, A., Heijmans, M., Hoosbeek, M. R., et al. (2001). Raised atmospheric CO₂ levels and increased N deposition cause shifts in plant species composition and production in Sphagnum bogs. *Global Change Biology*, 7(5), 591-598.
- Bragazza, L., Tahvanainen, T., Kutnar, L., Rydin, H., Limpens, J., Hájek, M., et al. (2004). Nutritional constraints in ombrotrophic Sphagnum plants under increasing atmospheric nitrogen deposition in Europe. *New Phytologist*, 163(3), 609-616.
- Buttler, A., Robroek, B. J., Laggoun-Défarge, F., Jassey, V. E., Pochelon, C., Bernard, G., et al. (2015). Experimental warming interacts with soil moisture to discriminate plant responses in an ombrotrophic peatland. *Journal of vegetation science*, 26(5), 964-974.
- Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E., et al. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian journal of Botany*, 51(4), 335-380.
- Davidson, E. A., & Janssens, I. A. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440(7081), 165.
- Fan, Z., David McGuire, A., Turetsky, M. R., Harden, J. W., Michael Waddington, J., & Kane, E. S. (2013). The response of soil organic carbon of a rich fen peatland in interior Alaska to projected climate change. *Global change biology*, 19(2), 604-620.
- Freeman, C., Fenner, N., Ostle, N. J., & Kang, H. (2004). Export of dissolved organic carbon from peatlands under elevated carbon dioxide levels. *Nature*, 430(6996), 195.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Merzouki, F., Mounier, S., Guirimand-Dufour, A., Jozja, N., et al (2016). In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of Sphagnum rubellum and Molinia caerulea litters. *Journal of soils and sediments*, 16(1), 13-27.
- Hornibrook, E. R., Longstaffe, F. J., & Fyfe, W. S. (1997). Spatial distribution of microbial methane production pathways in temperate zone wetland soils: stable carbon and hydrogen isotope evidence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(4), 745-753.
- Limpens, J., & Berendse, F. (2003). How litter quality affects mass loss and N loss from decomposing Sphagnum. *Oikos*, 103(3), 537-547.

- Magnucka, E. G., Pietr, S. J., Kozubek, A., & Zarnowski, R. (2014). Various effects of the photosystem II-inhibiting herbicides on 5-n-alkylresorcinol accumulation in rye seedlings. *Pesticide biochemistry and physiology*, 116, 56-62.
- Pearson, R. G., Phillips, S. J., Loranty, M. M., Beck, P. S., Damoulas, T., Knight, S. J., & Goetz, S. J. (2013). Shifts in Arctic vegetation and associated feedbacks under climate change. *Nature climate change*, 3(7), 673.
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., & Midgley, P. M. (2014). *Climate change 2013: The physical science basis*.
- Ström, L., Tagesson, T., Mastepanov, M., & Christensen, T. R. (2012). Presence of *Eriophorum scheuchzeri* enhances substrate availability and methane emission in an Arctic wetland. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 61-70.
- Taylor, K., Rowland, A. P., & Jones, H. E. (2001). *Molinia caerulea* (L.) Moench. *Journal of Ecology*, 89(1), 126-144.
- Turunen, J., Tomppo, E., Tolonen, K., & Reinikainen, A. (2002). Estimating carbon accumulation rates of undrained mires in Finland—application to boreal and subarctic regions. *The Holocene*, 12(1), 69-80.
- Walker, T. N., Garnett, M. H., Ward, S. E., Oakley, S., Bardgett, R. D., & Ostle, N. J. (2016). Vascular plants promote ancient peatland carbon loss with climate warming. *Global change biology*, 22(5), 1880-1889.
- Ward, S. E., Ostle, N. J., Oakley, S., Quirk, H., Henrys, P. A., & Bardgett, R. D. (2013). Warming effects on greenhouse gas fluxes in peatlands are modulated by vegetation composition. *Ecology letters*, 16(10), 1285-1293.
- Yan, W., Artz, R. R., & Johnson, D. (2008). Species-specific effects of plants colonising cutover peatlands on patterns of carbon source utilisation by soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(2), 544-549.

VIII. Annexes

Determinism of non-additive litter mixture effect on decomposition: role of the hydric properties of litters.

Gogo Sébastien, Leroy Fabien, Zocatelli Renata, Bernard-Jannin Léonard, and Laggoun-Défarge Fatima

Soumis dans *Functionnal Ecology*

Abstract

1 The mechanisms behind the plant litter mixture effect on decomposition are still difficult to disentangle. To address this issue, we used a simple model to specify the role of the litter hydric properties.

2 Our model predicts that when two litters interact in terms of water flow, the difference of evaporation rate between two litters can trigger a non-additive mixture effect on decomposition.

3 Water flows from the wettest to the driest litter, changing the reaction rates without changing the overall litter water content. The reaction rate of the litter receiving the water increases relatively more than the decrease in the reaction rate of the litter supplying the water, leading to a synergistic effect.

4 When applied to experimental data (*Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* litters), the model is able to reproduce and quantify the fraction of the synergistic effect caused by the litters' hydric properties.

Keywords Litter water content • litter decomposition • Non-additive effect • *Molinia caerulea* • *Sphagnum* • peatland.

VIII.1.1 Introduction

Litter decomposition is a key process of ecosystem functioning as it affects the amount of soil organic matter (SOM) and the availability of nutrients for hetero- and autotrophic organisms (Berg & McClaugherty 2008). The diversity and biomass of decomposers, climate and litter quality are the main factors controlling SOM decomposition (Couteaux, Bottner & Berg 1995). Plant diversity is also a determining factor (Gartner & Cardon 2004; Hättenschwiler, Tiunov & Scheu 2005). The different plant species produce litters that decompose *in situ* in mixture. The mass loss of litters in mixture can be equal to the average mass loss of each litter decomposing in monoculture, weighted by their contribution to the mixture. This is referred to as an additive effect. In other cases called non-additive, litter mixing increases (synergistic effect) or decreases (antagonistic effect) the decomposition rate compared to what can be expected from litters decomposing in monoculture. The mechanisms of non-additive mixture effect can be triggered by the transfer of nutrients (Salamanca, Kaneko & Katagiri 1998; Schimel & Hättenschwiler 2007) and organic compounds (Schimel, Cates & Ruess 1998), a change in the behaviour of soil organisms (Hättenschwiler & Bretscher 2001) and improvement of micro-environmental conditions (IMC; Wardle *et al.* 2003; Makkonen *et al.* 2013). Among all these mechanisms, IMC related to water may be the most directly impacted by climate change through expected changes in drought length and precipitation amount (Stocker *et al.* 2013). As hydric properties differ from one litter to another (Makkonen *et al.* 2013), litters may not behave in the same way towards changes in soil moisture regime. Thus, the role of such properties in explaining the litter mixture effect should be examined in detail.

In this context, we have demonstrated that a synergistic litter mixture effect on decomposition occurs *in situ* when *Sphagnum rubellum* litter decomposes with *Molinia caerulea* litter (Gogo *et al.* 2016). In a laboratory experiment, the authors tested the hypothesis that *Sphagnum rubellum* litter could promote decomposition through its water holding capacity. Some mosses such as *Sphagnum* moss and feather moss are known to be efficient in holding water with a potential effect on decomposition of the mixture (Hoorens, Aerts & Stroetenga 2002; Hoorens, Stroetenga & Aerts 2010; Wardle *et al.* 2003). Although the non-additive effect was reproduced in the lab, no significant difference was found between expected and observed whole mixture water content, ruling out the role of the total mixture water content in the non-additive effect (Gogo *et al.* 2016). However, if we consider that water can be transferred from the wettest litter to the driest one, then the water content of the whole mixture can remain the

same, while the wettest litter becomes drier and the driest litter becomes wetter. Depending on the sensitivity of the decay rate to litter water content (LWC) of each species, the decay rate of the whole mixture can be modified compared to the "no interaction" scenario, i.e. with no water flow. Thus, depending on the physical and biological characteristics of each decomposing litter in a mixture, a non-additive effect could be expected with exchange of water. These characteristics are: i) OM decay sensitivity to water content, ii) initial water content and iii) litter evaporation rate. Departure from the expected result would mean that other factor than water alone is playing a role (e.g. nutrients, organic compounds).

The first objective of this study was to test theoretically if the hydric properties of decomposing litter in a mixture can produce non-additive litter mixture effects. Water availability is compulsory for biological activity, but water saturation reduce dramatically oxygen diffusion. We hypothesised that the ambivalent effect of water content could be at the origin of non-additive effect on decomposition. The second objective was to compare modelled data to experimental observations. The second goal comprised two steps: 1) calibration of the model with data from two litters decomposing alone (*Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea*), and 2) calculation of the remaining masses in mixture by using the parameters obtained with the calibration and comparison of the modelled data to the observations (validation). To do so, published data documenting the non-additive mixture effect on litter decomposition of these two peatland plants were used (Gogo *et al.* 2016). The results of the simulations and the experiment support the IMC theory, although some specific combinations could be unfavourable to decomposition and lead to antagonistic effect. The method proposed here enables the relative importance of the IMC effect to be quantified and, thus, shows whether other mechanisms are at work or not.

VIII.1.2 Materials and methods

VIII.1.2.1 Equations

To model the decomposition of OM with time, equation 1 was used (discretisation of the negative exponential decay model), with parameter k as the decomposition rate.

$$M_{t+1} = M_t - k M_t \quad (1)$$

with M_{t+1} the mass of litter at time $t + 1$ day, M_t the mass of litter at time t and k the decomposition rate. Concretely, k is the fraction of litter mass present at time t that was lost between time t and $t + 1$.

To account for the effect of the hydric properties of litter on the decomposition rate, the relationship between k and litter water content (LWC) was modeled, as well as the evaporation rate. In a first step, two models of OM decomposition, which incorporate sensitivity to water content in different ways, were compared. The first one was derived from (Moyano, Manzoni & Chenu 2013; equation 2), which models soil OM, and not specifically litter. The second one was proposed by Bunnell *et al.* (1977) and was applied only to litter OM (equation 3). Both models used two Michaelis-Menten equations to account for the simultaneous dependence of the biological processes on water and oxygen. The more water available, the less oxygen, and vice versa. The two models differ by their representation of the relationship to oxygen. The Moyano, Manzoni & Chenu (2013) model assumes no biological activity at water saturation, while the Bunnell *et al.* (1977) model allows it. The former uses oxygen as a substrate. The latter derives from a Michaelis-Menten equation a coefficient with LWC , describing how the gas exchange is not inhibited (Bunnell *et al.* 1977). This coefficient is maximal at low LWC , but is not necessarily equal to zero at saturation.

$$k_{Moyano} = k_{max} \times \frac{LWC}{a+LWC} \times \frac{O_a}{b+O_a} \quad (2)$$

$$k_{Bunnell} = k_{max} \times \frac{LWC}{c+LWC} \times \frac{d}{d+LWC} \quad (3)$$

O_a was represented as follows:

$$O_a = \frac{LWC_{max}-LWC}{LWC_{max}} \quad (4)$$

with LWC_{max} the maximum water content for a specific litter (water saturation), a , b , c and d are the Michaelis-Menten constants (the LWC when the reaction rates are equal to half of the k_{max}). Finally, to represent LWC with time, we used a discrete negative exponential decay model, with parameter e as the rate at which water is lost (the fraction of water present at time $t-1$ lost between time $t-1$ and t , equation 5).

$$LWC_t = LWC_{t-1} - eLWC_{t-1}$$

VIII.1.2.2 Numerical experiments

The numerical experiments consisted in virtually making a relation, or not, between two decomposing litters in mixture by allowing the wettest litter to moisten the driest one and thus change the decomposition rate through a change in the LWC at the individual litter level. At the start of each experiment, the LWC of each litter was set at its maximum (LWC_{max}). At the beginning of each time step, LWC was allowed to change depending on the evaporation rate e (equation 5), which differed, or not, between litters. The calculated LWC was then injected into equations 3 and 4 to calculate $k_{Bunnell}$ and O_a , respectively. The parameters of the equations differed, or not, between litters. O_a was used to calculate k_{Moyano} (equation 2). Each k was then injected into equation 1 to obtain the remaining mass at the end of each time step for each litter and for each model type. A diagram in supplementary materials (Figure VIII-S5) synthesises the relationship between the equations.

In the mixture with "no interaction", litters 1 and 2 decomposed without any transfer of water from the wettest to the driest litter. In the mixture with "interaction", it was assumed that water flowed from the wettest litter to the driest one. As long as the wettest litter remained the wettest, it "filled" the driest litter till its LWC_{max} (cf Figure VIII-S6 for illustration). After the two litters reached the same LWC, the average LWC between the two litters, after specific evaporation, was attributed to both litters (cf Figure VIII-S6 for illustration).

In the first numerical experiment (Ex1), the litter decomposition rate of the two litters was simulated using the Moyano et al. (2013; Ex1 Sim1) and the Bunnell et al. (1977; Ex1 Sim2) approaches. For the simulations, we used the scenarios presented in Fig. VIII-1A and D, with the parameters listed in Table VIII-1. The same sensitivity to LWC and the same initial water content (LWC_{max}) were used for both litters. Only the evaporation rate differed between litter 1 (slow evaporation) and litter 2 (fast evaporation).

For clarity, the second numerical experiment (Ex2) was performed with one type of model. As the validation is made with a litter decomposition experiment, the model that best represents the LWC sensitivity in this kind of material should be used. The exchange surface with air in litter is much higher than in soil and, thus, a significant amount of oxygen can be available. The model that allowed the microbial biomass to be active at saturation, the Bunnell et al. (1977) approach, was thus preferred. The two litters in mixture had a decomposition rate with a different sensitivity to LWC and a different initial water content (LWC_{max}) that did not change

between the three simulations tested. Litter 1 had a higher initial water content, lower k_{max} and a higher c coefficient than litter 2 (Table VIII-1). Only the evaporation rate changed between the 3 simulations. In the first case (Ex2 Sim1), the two litters had the same evaporation rate (Fig. VIII-2A), then litter 2 evaporated faster than litter 1 (Fig. VIII-2D, Ex2 Sim2) and finally, litter 1 evaporated faster than litter 2 (Fig. VIII-2G, Ex2 Sim3).

VIII.1.2.3 Calibration

Equations 1, 3 and 5 were fitted to the data obtained by Gogo et al. (2016) for two litters decomposing alone: *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea*. The equations were optimised using the solver function in Excel. For equation 5, LWC_{max} were given for each litter (3 for *Molinia caerulea* and 22 for *Sphagnum rubellum*). To avoid issues of non-convergence or unrealistic values, the maximum possible c and d parameters were set at the LWC_{max} of each litter. The parameters obtained are listed in Tab. 2 and were used in the validation. To assess the goodness of fit of the calibration, the adjusted R^2 and the normalised random mean square error (NRMSE) were calculated.

VIII.1.2.4 Validation

With the parameters obtained with the litters decomposing in monoculture, we predicted the output of mixing the two litters with and without interaction, or in other words, with or without allowing water to flow from the wettest litter to the driest one. The predicted remaining masses were compared to the measurements made in the laboratory. To quantify the fraction of any synergistic effect caused by water exchange, we calculated the ratio of the difference between the modelled remaining mass with no interaction and the modelled remaining mass with interaction to the difference between the expected remaining mass and the observed remaining mass in the mixture (multiplied by 100 to give a percentage). A value of 100% would mean that the totality of the observed synergistic effect could be attributed to the hydric properties included in the model, whereas a value below 100% would mean that other factors are involved and have to be taken into account. To assess the goodness of fit of the validation, the adjusted R^2 and the normalised random mean square error (NRMSE) were calculated.

VIII.1.3 Results

VIII.1.3.1 Numerical experiment

In the first experiment (Fig. VIII-1), litter 1 evaporated at a slower rate than litter 2, the sensitivity of the decomposition rate to the LWC was the same for the two litters in each simulation and two different models representing this sensitivity were used (Fig. VIII-1A to C: simulation 1 with the model from Moyano *et al.*, 2013, Fig VIII-1D to F: simulation 2 with the model from Bunnell *et al.*, 1977; Table VIII-1). In this context, allowing the water to flow from the wettest litter to the driest one maintained wet conditions in both litters. After 40 days, the decomposition rate of litter 1 (k_1) without interaction was higher than with interaction (Fig VIII-1B, E). However, the decrease was small compared to the increase in the decomposition rate of litter 2, caused by the water flow from litter 1 (Fig. VIII-1B, E). Thus, allowing the water to flow from the wettest to the driest litter led to a synergistic effect on litter decomposition, compared to the mixture with no interaction (Fig. VIII-1C, F). This was observed with the two models tested (Fig. VIII-1C, F).

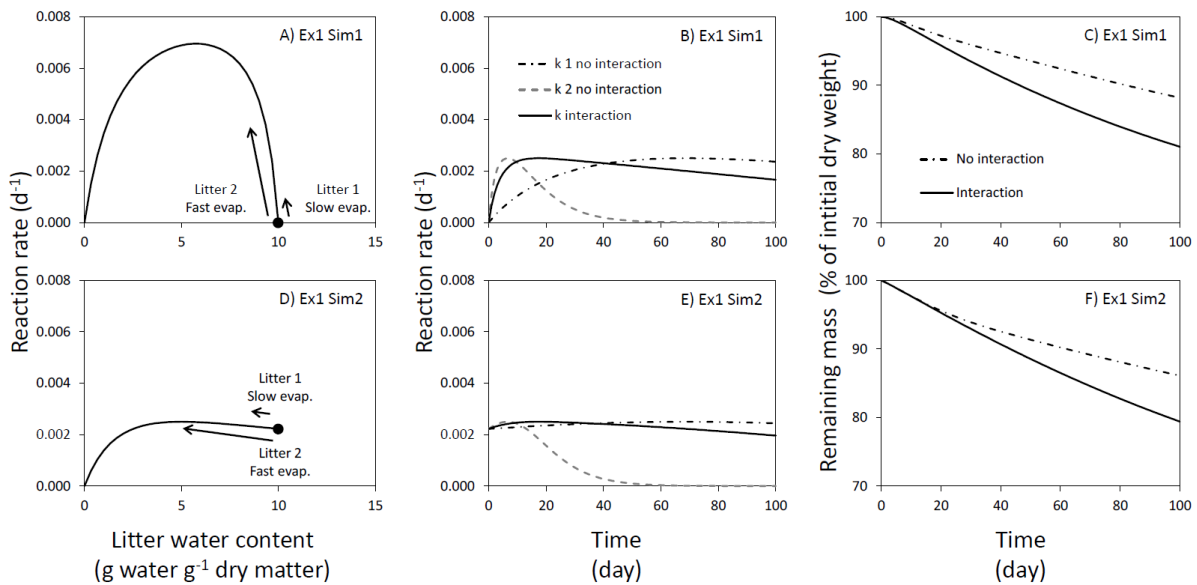


Figure VIII-1: Litter water content (LWC), reaction rate (k) and remaining mass from experiment 1 simulation 1 (A, B, C; Ex1 Sim1) and simulation 2 (C, D, E; Ex1 Sim2). To represent the relationship between the reaction rate and the LWC, equations from Moyano *et al.* (2013; eqs 2 and 4) and from Bunnell *et al.* (1977; eq 3) were used in Ex1 Sim1 and Ex1 Sim2, respectively. In A, D the black dot represents the initial LWC of the simulations, which corresponds to the LWC_{max} of each litter, and the length of the arrows is proportional to the evaporation rate.

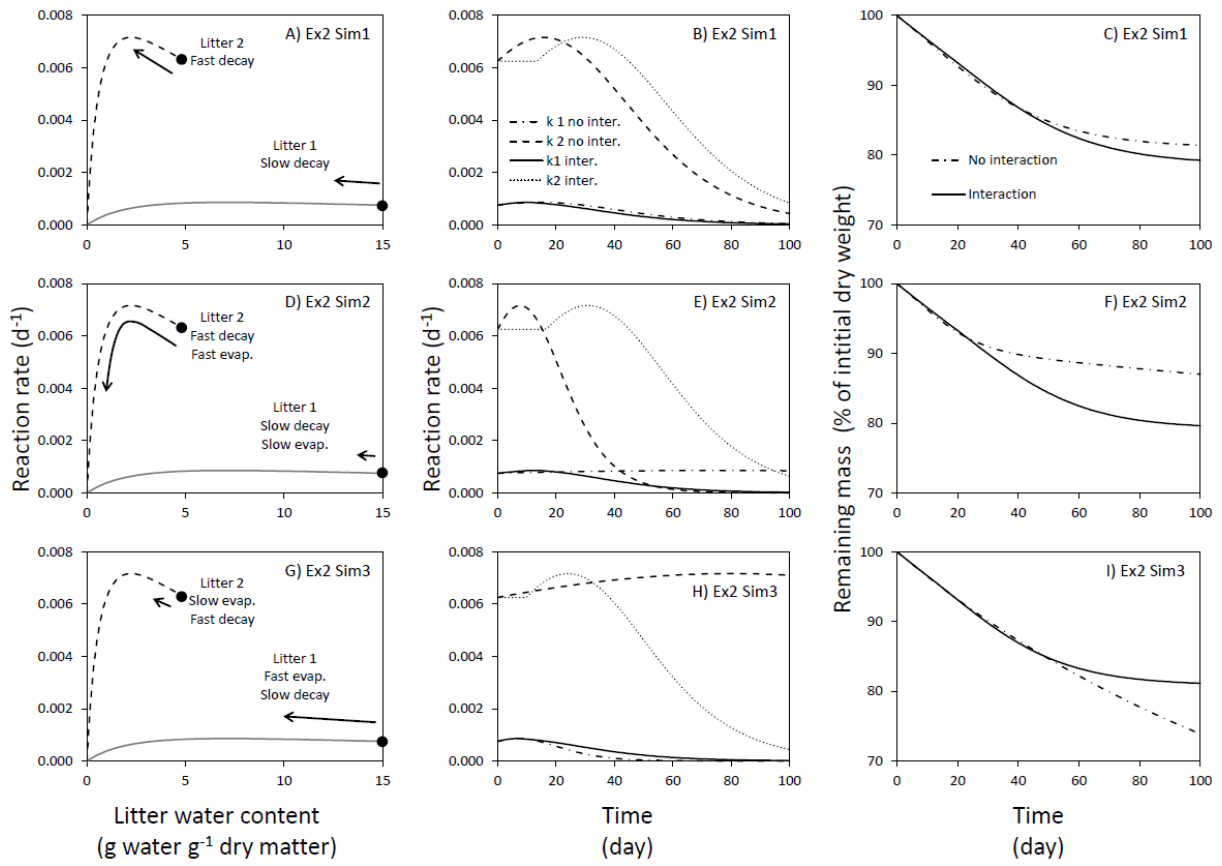


Figure VIII-2: Litter water content (LWC), reaction rate (k) and remaining mass from experiment 2 simulation 1 (A, B, C; Ex2 Sim1), simulation 2 (Fig. C, D, E; Ex2 Sim2) and simulation 3 (F, G, I; Ex2 Sim3). To represent the relationship between the reaction rate and the LWC, equation 3 from Bunnell *et al.* (1977) was used in all simulations. In Fig. A, D, G, the black dots represent the initial LWC of the simulations, which corresponds to the LWC_{max} of each litter, and the length of the arrows is proportional to the evaporation rate.

In the second experiment (Fig. VIII-2), litter 1 had a higher LWC_{max} and a lower k_{max} than litter 2 (Fig. VIII-2A, D and G; Table VIII-1). In the first simulation, the evaporation rates were the same for both litters (Fig. VIII-2A). In the second simulation, litter 1 evaporated more slowly than litter 2 (Fig. VIII-2 D). In the third simulation, litter 1 evaporated faster than litter 2 (Fig. VIII-2 G). For litter 2 in the first simulation, a shift in time of the maximum reaction rate was observed in the mixture with interaction, while the reaction rate in litter 1 decreased slightly (Fig. VIII-2 B). Consequently, the difference in mass loss after 100 days of decomposition was the smallest observed among all the simulations undertaken (Fig. VIII-2C compared to Fig. VIII-2F and I). In the second simulation, litter 1 evaporated slowly, while litter 2 lost water at a faster rate (Fig. VIII-2D; Table VIII-1).

Table VIII-1: Values of the parameters used in the numerical experiment ($LWC_{\max}$ = maximum litter water content in g of water g^{-1} of dry mass, $k_{\max}$ and e in d^{-1} , a , b , c and d in g of water g^{-1} of dry mass; L1 and L2 refer to litter 1 and litter 2 respectively, n.a. = not applicable).

Parameter	Experiment 1				Experiment 2					
	Ex1 Sim1		Ex1 Sim2		Ex2 Sim1		Ex2 Sim2		Ex2 Sim3	
	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2	L1	L2
$LWC_{\max}$	10	10	10	10	15	5	15	5	15	5
$k_{\max}$	0.01	0.01	0.01	0.01	0.005	0.015	0.005	0.015	0.005	0.015
a	5	5	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
b	0.5	0.5	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
c	n. a.	n. a.	5	5	10	1	10	1	10	1
d	n. a.	n. a.	5	5	5	5	5	5	5	5
e	0.01	0.1	0.01	0.1	0.05	0.05	0.01	0.1	0.1	0.01

When interaction was allowed, the water rapidly lost by litter 2 was replaced by water from litter 1. As a result, the LWC of litter 2 was kept in a water content domain where the reaction rates remained high compared to the situation with no interaction (Fig. VIII-2E). This reaction rate increase in litter 2 largely compensated the reaction decrease in litter 1 caused by the more rapid loss of water compared to the "no interaction" situation (Fig. VIII-2E). Consequently, the remaining mass in the mixture with interaction was lower than in the mixture with no interaction, highlighting a synergistic effect of mixing the two litters (Fig. VIII-2F). Finally, in the third simulation, litter 1 evaporated faster than litter 2 (Fig. VIII-2G). In the mixture with interaction, the small water stock contained within litter 2 was quickly consumed to fill the rapidly evaporating litter 1. Consequently, the reaction rate of litter 2 decreased rapidly in the mixture with interaction, while the reaction rate remained high throughout the simulation when water flow was not allowed (Fig. VIII-2H). The decrease in the decomposition rate of litter 2 was not compensated by the relative increase of litter decomposition rate in the mixture with interaction (Fig. VIII-2H). Thus, the remaining mass in the mixture was higher than in the mixture without interaction, highlighting an antagonistic effect of mixing the two litters (Fig. VIII-2I).

VIII.1.3.2 Calibration

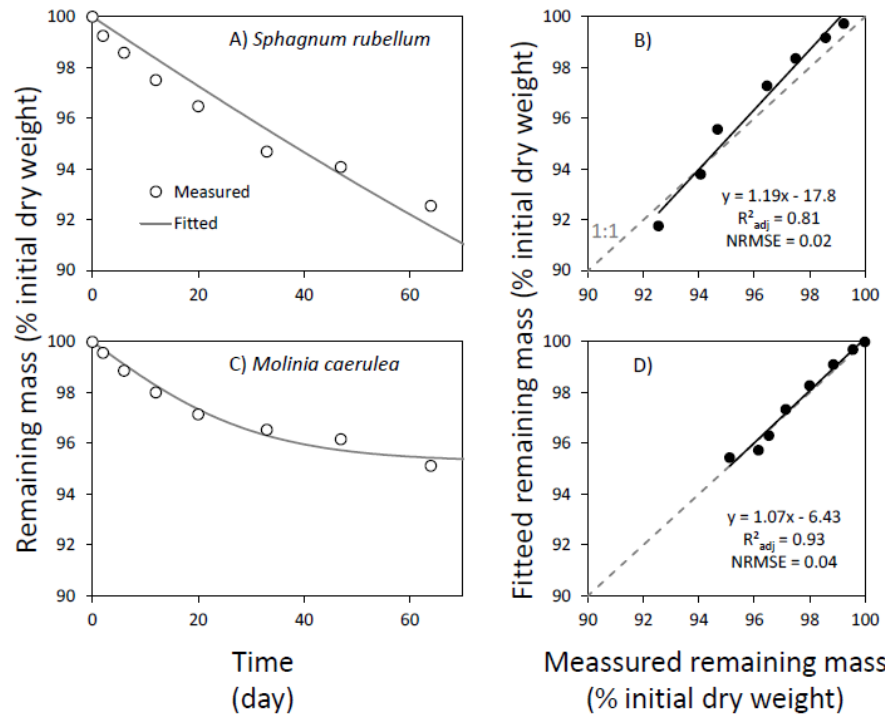


Figure VIII-3: Observed (white dots) and calibrated (grey lines) remaining mass for *Sphagnum rubellum* (A) and *Molinia caerulea* (B) litter. R^2_{adj} = adjusted R square, NRMSE = normalised root mean square error.

Fitting the equations (version of Bunnell *et al.*, 1977) to the results obtained by Gogo *et al.* (2016) showed that *Molinia caerulea* litter evaporated faster than *Sphagnum rubellum* (Table VIII-2). Furthermore, k_{max} of *Molinia caerulea* was higher than that of *Sphagnum rubellum* (Table VIII-1). However, as *Sphagnum rubellum* was wetter and evaporated more slowly than *Molinia caerulea* litter, the decomposition rate of the gramineae litter decreased faster than in the bryophyte litter. Thus, the remaining mass of *Molinia caerulea* was higher than that of *Sphagnum rubellum* (Fig. VIII-3).

Table VIII-2: Values of the parameters set (LWC_{max} = maximum litter water content in g of water g^{-1} of dry mass) and obtained (k_{max} and e in d^{-1} , c and d in g of water g^{-1} of dry mass) by fitting the model to the experimental data of the decomposition of *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* alone.

Litter	LWC_{max}	k_{max}	c	d	e
<i>Sphagnum rubellum</i>	22	0.0055	22	22	0.010
<i>Molinia caerulea</i>	3	0.0060	3	3	0.061

VIII.1.3.3 Validation

There was a good agreement between the calculated non-additive remaining mass results from the experiment (gray triangles; Fig. VIII-4A) and the simulation assuming no interactions ($R^2 = 0.96$, NRMSE = 0.01; Fig. VIII-4A). The modelled mass loss assuming interaction underestimated the measured mass loss in mixture (white dots; $R^2 = 0.78$, NRMSE = 0.04; Fig. VIII-4A). As in the numerical experiment, the decrease of reaction rate in the *Sphagnum rubellum* litter (Fig. VIII-4B) was overcompensated by the increase of reaction rate in the *Molinia caerulea* litter in the "interaction" situation compared to the "no interaction" case. The delta between expected and measured mass loss in the experiment was higher than what was predicted with the model assuming water flow from the wettest to the driest litter (in this specific case, from *Sphagnum rubellum* to *Molinia caerulea*) (Fig. VIII-4A). However, the fraction of the observed synergistic effect explained by the litter hydric properties increased with time (Fig. VIII-4C).

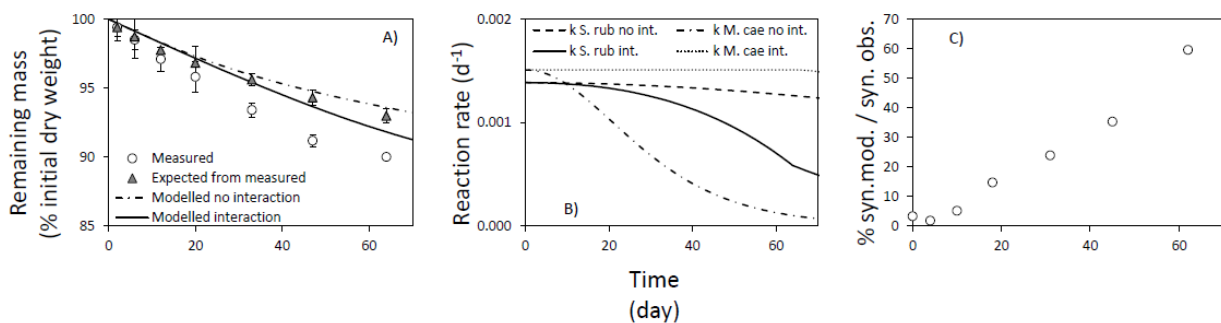


Figure VIII-4: A: Remaining mass in mixture measured (white dots), expected from litter decomposing alone (additive, grey triangle), modelled with interaction (full line) and modelled without interaction (dotted-dashed line). B: Modelled decomposition rate for the *Sphagnum rubellum* (S. rub) litter with (full grey line) and without interaction (dotted-dashed grey line), and modelled decomposition rate for the *Molinia caerulea* (M. cae) litter with (full black line) and without interaction (dotted-dashed black line). C: proportion (in %) of the observed synergistic effect that could be explained by the model proposed in this study.

VIII.1.4 Discussion

VIII.1.4.1 Support for the IMC hypothesis and implications

Soil and litter water content is one of the most important factors, along with temperature, in determining the rate at which OM is broken down in ecosystems (Couteaux *et al.* 1995; Chapin, Matson & Mooney 2002). Litter physical traits related to water content should therefore be used

to better understand the mechanisms behind the litter mixture effect (Santonja *et al.* 2015a). Soil biological activity needs water as well as compounds dissolved in water such as C substrates and nutrients. However, oxygen, which supports aerobic respiration (the most efficient catabolic pathway), decreases as water content increases. This ambivalent effect of water content on soil biological activity is taken into account in models of soil and litter respiration, with an optimal water content set between total desiccation and saturation ((Bunnell *et al.* 1977; Moyano *et al.* 2013; Sierra *et al.* 2015). In this study, we hypothesised that this ambivalent effect could be at the heart of a mechanism triggering a non-additive mixture effect on litter decomposition. If litter hydric characteristics were found to be different between interacting litters, this means that water flow between litters can occur that changes the rate at which each litter decomposes. Mixing the two litters could either maintain an optimal water content for the two litters around the peak of activity or increase the departure from it.

The numerical simulations showed that a non-additive effect of mixing litters on decay rate is expected in specific cases depending on the litter hydric properties. First, when the two litters have the same initial LWC and the same sensitivity to LWC, a synergistic effect can be triggered by different evaporation rates (Fig. VIII-1). The gradient of LWC between the two litters can generate a flow of water from the wettest litter to the driest one. This maintains both litters in a domain of LWC that sustains a higher decomposition rate than when no water is allowed to flow. This was observed in both representations of the dependence of biological activity on oxygen (Fig. VIII-1). Second, differences in the dependence of decomposition rate on LWC can also produce a non-additive effect. When the two litters have the same evaporation rate, a small synergistic effect was seen (Fig. VIII-2A, B and C). This was amplified when the litter with the fastest decay rate evaporated at a higher pace than the litter with the lower decomposition rate (Fig. VIII-2D, E and F). When a wet and a rapidly decaying litter was allowed to evaporate faster than the other litter (dry and slowly decaying litter), the non-additive effect was antagonistic (Fig. VIII-2G, H and I). So far, water holding capacity was the main physical trait taken into account (Wardle *et al.* 2003; Makkonen *et al.* 2013; Santonja *et al.* 2015a). Our results showed that the litter mixture effect on decomposition can be theoretically triggered and modulated by the litter evaporation rate and the sensitivity of litter decomposition to LWC. As a high water holding capacity may not automatically imply a low evaporation rate, these traits should be used and tested in future empirical studies in addition to water holding capacity.

The calibration showed that, of the two litters studied experimentally, *Molinia caerulea* litter evaporated (coefficient e) and potentially decayed faster (k_{max}) than *Sphagnum rubellum* litter (Table VIII-2). Furthermore, measurement showed that the gramineae litter had a lower water holding capacity than the bryophyte litter. With such characteristics, theory predicts that a non-additive synergistic effect on decomposition is possible in the mixture of these two litters. Indeed, the empirical observation confirmed the theoretical prediction as mixing *Molinia caerulea* and *Sphagnum rubellum* produced a non-additive synergistic effect on remaining mass (Fig. VIII-4). It is thus probable that water flows from the *Sphagnum rubellum* litter to the *Molinia caerulea* litter. This would induce a decrease in the decomposition rate of *Sphagnum rubellum* litter that was, in proportion to the "no interaction" decomposition rate, lower than the increase of decomposition in the *Molinia caerulea* litter. The decrease of the decomposition rate in *Sphagnum rubellum* was overcompensated by the increase of the decomposition rate of *Molinia caerulea* (see Fig. VIII-2E).

The fact that the water evaporation rate from litter is a determinant in explaining the mixture effect has important implications in the present context of climate change. Temperature is increasing leading to more evaporation. Simultaneously, the water regime becomes more and more erratic with an increase in drought periods and intense rainfall episodes, leading to modifications of the soil moisture regime. Such changes can affect the litter mixture effect. Previous studies have indeed shown that a synergistic effect on decomposition could be modulated and even be switched to an antagonistic effect by periods of drought in a Mediterranean forest (Santonja *et al.* 2015b) and in a temperate grassland (Schuster *et al.* 2016). Conversely, regular (Iqbal *et al.* 2015) or increased (Schuster 2016) rainfall could limit the dessication period and promote decomposition, which could trigger synergistic effects so far unknown. Finally, as vegetation diversity changes with current disturbances, litter interactions are changing as well as microenvironmental conditions with effects on litter decomposition (Joly *et al.* 2017). Consequently, in the context of direct (rainfall intensity, drought period) and indirect (diversity change) effects of climate change on litter decomposition, more attention should be paid to the effect of litter drying/wetting cycles on litter mixture decomposition.

VIII.1.4.2 Complementary mechanisms of non-additive effect of mixture on litter decomposition

The validation process showed that the modelled remaining mass from the "no interaction" case fitted well the observed non-additive expected data from the litter decomposing alone. This

suggests that the calibration was good enough to predict experimental data. However, the fit was not as good for the modelled mixture with interaction and the measured mixture remaining mass (Fig. VIII-4). Although the fraction of the mixture effect explained by the model increased with time, it never reached 100 %. This shows that the IMC does not explain the whole synergistic effect observed in these litters. Other factors may have to be taken into account. When two litters mix, nutrients can flow from one litter to another. For example, in a *Quercus serrata* and *Pinus densiora* mixture, a synergistic effect was triggered by a transfer of nutrients from the nutrient-rich *Quercus serrata* litter (0.62 % N) to the nutrient-poor *Pinus densiflora* litter (0.32 % N; Salamanca *et al.* 1998). However, such a mechanism could not be generalised to all litter types. By using a vast panel of litters it was shown that two litters with different nutrient contents would not necessarily trigger a non-additive effect (Hoorens, Aerts & Stroetenga 2003). In a mixture of two decomposing leaves, N flows in both direction (Schimel & Hättenschwiler 2007). In two mixtures out of the three tested in this study, N flows from high-N litter to low-N litter. In the third case, the high-N litter, richer in non-structural carbohydrates than the other high-N litters, exhibited a high respiration rate and relatively low transfer of N to low-N litter. Schimel & Hättenschwiler (2007) suggested that as C is not limiting, N will be used by the microbial biomass before being released. Such a "source control" rather than a "gradient control" on N transfer could explain the lack of correlation between N content difference and observed litter mixture effect (Hoorens *et al.* 2003). The gradient of water between two litters may also be involved in the invalidation of the "gradient control" hypothesis on N transfer. If in a mixture of two litters the driest litter is also the N richer, N transfer from the N-rich to the N-poor litter may be less likely to occur as the water flows from the opposite direction. In the studied case, *Sphagnum rubellum* (the wettest litter) contains more N than *Molinia caerulea* (the driest litter; Gogo *et al.* 2011). Water content and N gradients are in the same direction. Such an effect could occur in this mixture. It would be interesting to carry out further studies involving litter mixtures with different litter N and water content gradients (e.g. mixture of litter with gradients in the same direction and in opposite direction) in order to show how different simultaneous water and N content gradients could combine to affect the non-additive mixture effect. The Schimel & Hättenschwiler (2007) results also point out the need to pay attention to C substrate availability.

To cover their C substrate needs, microbial biomass "invests" in exo-enzymes that solubilise solid OM (Schimel & Weintraub 2003). This soluble C substrate from one litter can feed the microbial biomass present in the other one and trigger a priming effect on this second litter

depending on the microbial communities. In the specific case of *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* interactions such a mechanism could occur. At the beginning of the experiment, *Sphagnum* litter can contain a higher amount of soluble monosaccharides than *Molinia caerulea* litter (Gogo *et al.* 2014). The water flowing from the *Sphagnum rubellum* litter to the *Molinia caerulea* litter may have contained a significant amount of monosaccharides that may have triggered a priming effect on the microbial biomass dwelling in the *Molinia caerulea* litter. Such an effect, as suggested by (Hoorens *et al.* 2010) could occur in the early stage of decomposition.

Another aspect of C substrate quality deserves more attention in further studies: the litter chemical diversity differences between interacting litters. A more diverse chemical composition leads to an increased probability of compounds and interaction of compounds with a non-additive effect on biological processes (Meier & Bowman 2008; Chen *et al.* 2017). As chemical diversity increases, probability of inhibiting compounds being present also increases (Schimel *et al.* 1998; Fierer *et al.* 2001), leading to an antagonistic effect. Conversely, one litter can provide resources (e.g. N and P) that complement those of the other litter leading to the alleviation of a limiting factor. In this situation, increasing chemical diversity leads to a synergistic effect on decomposition (Vos *et al.* 2013). *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* litters differs in terms of hydrogen and oxygen content (Gogo *et al.* 2011) and lipid content (more specifically in terms of some pentacyclic triterpenyl ketones; Zocatelli *et al.* 2014). Whether these compounds can affect microbial activities remains to be tested.

The chemical diversity of a litter and thus the quality of the C substrate changes with time (Berg & McClaugherty 2008), which can lead to an antagonistic effect (Butenschoen *et al.* 2014). Factors controlling decomposition shift with time (García-Palacios *et al.* 2016). Depending on the litter types and decomposing environment, the pattern of change of the litter chemistry in the course of decomposition could differ. Three hypothetical controls explaining litter chemical diversity and change were proposed by Wickings *et al.* (2012): H1 - the chemical convergence between two chemically distinct litters due to the fact that common metabolic pathways of distinct microbial communities may lead to a common chemistry, H2 - the consistent chemical distinction between two litters due to the "heritage" of the initial litter quality and H3 - the chemistry of a litter could diverge with time due to the occurrence of different microbial communities (Wickings *et al.* 2012). In the context of litter mixture effect, the H3 - the decomposer control hypothesis is particularly pertinent as microbial communities

can be different between litters and could be transferred from one litter to another. Mixtures of litter exhibiting a synergistic effect on decomposition are good candidates to test such hypotheses. It is important to take such changes in C substrate availability into account. Moyano *et al.* (2013) have shown that the sensitivity to water content of the microbial activity changes with the availability of substrate. Such a characteristic has to be taken into account in future modelling efforts.

VIII.1.5 Conclusion

Our simulations and observations support the IMC theory that differences in litter hydric properties, and especially the evaporation rate are important factors in accounting for the non-additive litter mixture effect on decomposition. It is proposed that water flows from the wettest to the driest litter, changing the decay rate of the overall mixture. Our model can be used as a tool to quantify the contribution of litter hydric properties in mixture effect. This may be valuable for the understanding of ecosystems functioning in a changing environment. For the specific case studied (mixture of *Molinia caerulea* and *Sphagnum rubellum*), other factors should be taken into account. Future models and experiments to explore the mechanisms behind the litter mixture effect on decomposition should be focused 1) on the interaction between litter hydric properties and the chemical (inhibiting compounds, C substrate, mineral nutrients) and microbial diversity, and 2) on the effect of *in situ* drying/wetting cycle frequency and intensity on decomposition.

Acknowledgements This paper is a contribution of the Labex VOLTAIRE (ANR-10-LABX-100- 01) and of the PIVOTS project (ARD 2020 of the Centre Val de Loire region, CPER and FEDER). CETRAHE is supported by the DRRT (Délégation Régionale à la Recherche et à la Technologie Centre) and the Centre Val de Loire region, through the Cellule R&D programme of the CPER. This study was undertaken in the framework of the Service National d'Observation Tourbières (French Peatland Observatory), accredited by the INSU/CNRS.

References

- Berg, B. & McClaugherty, C. (2008) Plant Litter. Springer, Berlin.
- Bunnell, F.L., Tait, D.E.N., Flanagan, P.W. & Van Clever, K. (1977) Microbial respiration and substrate weight loss—I. Soil Biology and Biochemistry, 9, 33–40.
- Butenschoen, O., Krashevskaya, V., Maraun, M., Marian, F., Sandmann, D. & Scheu, S. (2014) Litter mixture effects on decomposition in tropical montane rainforests vary strongly with time and turn negative at later stages of decay. Soil Biology and Biochemistry, 77, 121–128.

- Chapin, F.S., Matson, P.A. & Mooney, H.A. (2002) *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer, New York.
- Chen, Y., Ma, S., Sun, J., Wang, X., Cheng, G. & Lu, X. (2017) Chemical diversity and incubation time affect non-additive responses of soil carbon and nitrogen cycling to litter mixtures from an alpine steppe soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 109, 124–134.
- Couteaux, M.-M., Bottner, P. & Berg, B. (1995) Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology & Evolution*, 10, 63–66.
- Fierer, N., Schimel, J.P., Cates, R.G. & Zou, J. (2001) Influence of balsam poplar tannin fractions on carbon and nitrogen dynamics in Alaskan taiga floodplain soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1827–1839.
- García-Palacios, P., Shaw, E.A., Wall, D.H. & Hättenschwiler, S. (2016) Temporal dynamics of biotic and abiotic drivers of litter decomposition. *Ecology letters*, 19, 554–563.
- Gartner, T.B. & Cardon, Z.G. (2004) Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. *Oikos*, 104, 230–246.
- Gogo, S., Francez, A.-J., Laggoun-Défarge, F., Gouélibo, N., Delarue, F. & Lottier, N. (2014) Simultaneous Estimation of Actual Litter Enzymatic Catalysis and Respiration Rates with a Simple Model of C Dynamics in Sphagnum-Dominated Peatlands. *Ecosystems*, 17, 302–316.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F. & Lottier, N. (2011) Invasion of a Sphagnum-peatland by *Betula* spp and *Molinia caerulea* impacts organic matter biochemistry. Implications for carbon and nutrient cycling. *Biogeochemistry*, 106, 53–69.
- Gogo, S., Laggoun-Défarge, F., Merzouki, F., Mounier, S., Guirimand-Dufour, A., Jozja, N., Huguet, A., Delarue, F. & Défarge, C. (2016) In situ and laboratory non-additive litter mixture effect on C dynamics of *Sphagnum rubellum* and *Molinia caerulea* litters. *Journal of Soils and Sediments*, 16, 13–27.
- Hättenschwiler, S. & Bretscher, D. (2001) Isopod effects on decomposition of litter produced under elevated CO₂, N deposition and different soil types. *Global Change Biology*, 7, 565–579.
- Hättenschwiler, S., Tiunov, A. & Scheu, S. (2005) Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 191–218.
- Hoorens, B., Aerts, R. & Stroetenga, M. (2002) Litter quality and interactive effects in litter mixtures: more negative interactions under elevated CO₂? *Journal of Ecology*, 90, 1009–1016.
- Hoorens, B., Aerts, R. & Stroetenga, M. (2003) Does initial litter chemistry explain litter mixture effects on decomposition? *Oecologia*, 137, 578–586.
- Hoorens, B., Stroetenga, M. & Aerts, R. (2010) Litter mixture interactions at the level of plant functional types are additive. *Ecosystems*, 13, 90–98.
- Iqbal, A., Aslam, S., Alavoine, G., Benoit, P., Garnier, P. & Recous, S. (2015) Rain regime and soil type affect the C and N dynamics in soil columns that are covered with mixed-species mulches. *Plant and soil*, 393, 319–334.
- Joly, F.-X., Milcu, A., Scherer-Lorenzen, M., Jean, L.-K., Bussotti, F., Dawud, S.M., Müller, S., Pollastrini, M., Raulund-Rasmussen, K. & Vesterdal, L. (2017) Tree species diversity affects decomposition through modified micro-environmental conditions across European forests. *New Phytologist*, 214, 1281–1293.
- Makkonen, M., Berg, M.P., van Logtestijn, R.S., van Hal, J.R. & Aerts, R. (2013) Do physical plant litter traits explain non-additivity in litter mixtures? A test of the improved microenvironmental conditions theory. *Oikos*, 122, 987–997.

- Meier, C.L. & Bowman, W.D. (2008) Links between plant litter chemistry, species diversity, and below-ground ecosystem function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 19780–19785.
- Moyano, F.E., Manzoni, S. & Chenu, C. (2013) Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: An exploration of processes and models. *Soil Biology and Biochemistry*, 59, 72–85.
- Salamanca, E.F., Kaneko, N. & Katagiri, S. (1998) Effects of leaf litter mixtures on the decomposition of *Quercus serrata* and *Pinus densiflora* using field and laboratory microcosm methods. *Ecological Engineering*, 10, 53–73.
- Santonja, M., Baldy, V., Fernandez, C., Balesdent, J. & Gauquelin, T. (2015a) Potential shift in plant communities with climate change: outcome on litter decomposition and nutrient release in a Mediterranean oak forest. *Ecosystems*, 18, 1253–1268.
- Santonja, M., Fernandez, C., Gauquelin, T. & Baldy, V. (2015b) Climate change effects on litter decomposition: intensive drought leads to a strong decrease of litter mixture interactions. *Plant and Soil*, 393, 69–82.
- Schimel, J.P., Cates, R.G. & Ruess, R. (1998) The role of balsam poplar secondary chemicals in controlling soil nutrient dynamics through succession in the Alaskan taiga. *Biogeochemistry*, 42, 221–234.
- Schimel, J.P. & Hättenschwiler, S. (2007) Nitrogen transfer between decomposing leaves of different N status. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1428–1436.
- Schimel, J.P. & Weintraub, M.N. (2003) The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 549–563.
- Schuster, M.J. (2016) Increased rainfall variability and N addition accelerate litter decomposition in a restored prairie. *Oecologia*, 180, 645–655.
- Schuster, M.J., Kreyling, J., Berwaers, S., Walter, J., De Boeck, H.J., Dengler, J., Nijs, I. & Jentsch, A. (2016) Drought inhibits synergistic interactions of native and exotic litter mixtures during decomposition in temperate grasslands. *Plant and Soil*, 1–12.
- Sierra, C.A., Trumbore, S.E., Davidson, E.A., Vicca, S. & Janssens, I. (2015) Sensitivity of decomposition rates of soil organic matter with respect to simultaneous changes in temperature and moisture. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems*, 7, 335–356.
- Stocker, T.F., Qin, D., Plattner, G.K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, B. & Midgley, B.M. (2013) IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press.
- Vos, V.C., van Ruijven, J., Berg, M.P., Peeters, E.T. & Berendse, F. (2013) Leaf litter quality drives litter mixing effects through complementary resource use among detritivores. *Oecologia*, 173, 269–280.
- Wardle, D.A., Nilsson, M.-C., Zackrisson, O. & Gallet, C. (2003) Determinants of litter mixing effects in a Swedish boreal forest. *Soil biology and biochemistry*, 35, 827–835.
- Wickings, K., Grandy, A.S., Reed, S.C. & Cleveland, C.C. (2012) The origin of litter chemical complexity during decomposition. *Ecology letters*, 15, 1180–1188.
- Zocatelli, R., Jacob, J., Gogo, S., Le Milbeau, C., Rousseau, J. & Laggoun-Défarge, F. (2014) Spatial variability of soil lipids reflects vegetation cover in a French peatland. *Organic Geochemistry*, 76, 173–183.

Supplementary material

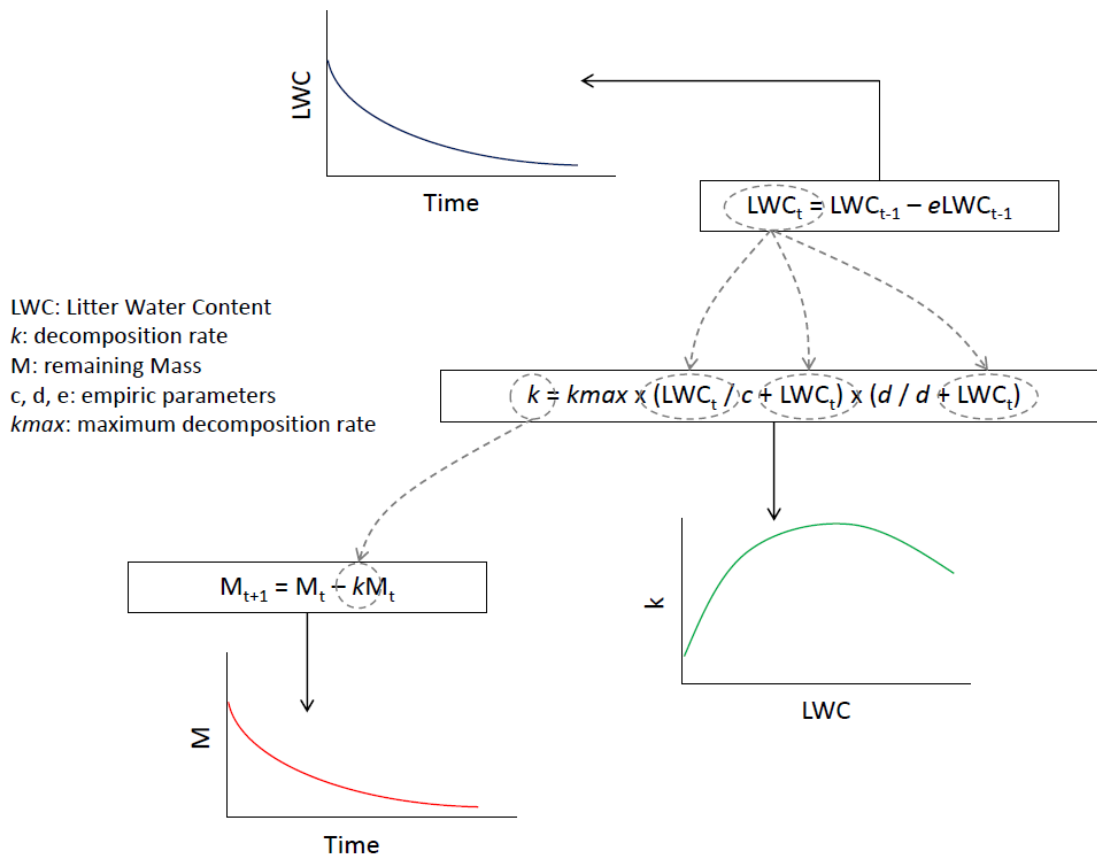
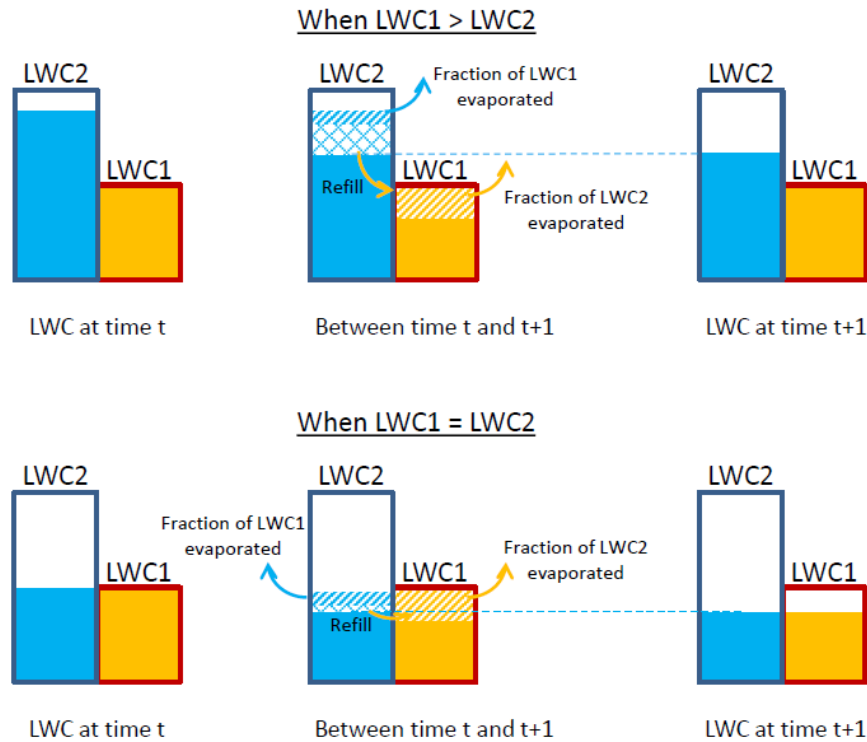


Figure VIII-S5: Schematic diagram showing the model relating litter water content to evaporation rate, the reaction rate to the litter water content and the remaining mass to the change of reaction rate with time.



LWC: Litter Water Content

1: litter 1

2: litter 2

Boxes represent the maximum water content for each litter

Figure VIII-S6: Schematic diagram showing the interaction scenario between two litters with different hydric properties. Litter 1 has a high LWC and a low evaporation rate. Litter 2 has a low LWC and a high evaporation rate. The flows of water are shown when LWC1 is greater than LWC2 and when it is equal.

Fabien LEROY

Effets du changement de végétation dans les tourbières à sphaignes sur le cycle du C

Les tourbières ont stocké un tiers du carbone organique des sols mondiaux (C) malgré une superficie ne représentant que 3% de la surface terrestre. Cependant, en réponse aux changements globaux, les tourbières boréales et tempérées, majoritairement dominées par des sphaignes, peuvent être envahies par des plantes vasculaires susceptibles de modifier la dynamique du C dans ces écosystèmes. Cette thèse vise à étudier comment la présence des plantes vasculaires affecte le cycle du C des tourbières à sphaignes. Ces travaux ont porté principalement sur une plante envahissante de nombreuses tourbières, *Molinia caerulea*, via une étude en mésocosmes. Les expérimentations montrent que les plantes vasculaires sont à la fois favorables à la croissance des sphaignes et à la décomposition des litières. *In fine*, les résultats montrent que la présence de *Molinia caerulea* augmente la capacité de stockage du C dans les mésocosmes de sphaignes (30 to 220 gC stock m⁻² an⁻¹), probablement liée à la forte productivité racinaire de cette plante. Cependant, cela semble s'opérer au détriment du C déjà stocké dans la tourbe avec une stimulation des microorganismes à travers la production d'exsudats racinaires. Ces derniers semblent également, d'une part promouvoir la consommation du C organique dissous et les émissions de CO₂ et de CH₄ observées en présence de *Molinia caerulea*, et d'autre part être responsables de la modification de la sensibilité à la température des exports de C via des changements des communautés microbiennes. L'impact de *Molinia caerulea* sur les microorganismes va aussi altérer ceux impliqués dans le cycle du N et entraîner une diminution des émissions de N₂O.

Mots clés: Bilan de carbone, flux de CO₂ et CH₄, invasion des plantes vasculaires, tourbière à sphaignes

Effect of vegetation change in *Sphagnum* dominated peatland on the C cycle

Peatlands have stored a third of the soil organic Carbon (C) in only 3% of the land area. However, in response to global change, boreal and temperate peatlands may shift from *Sphagnum* to vascular plant-dominated peatlands that may alter their C-sink function. This thesis aims at providing a better understanding of the vascular plants interactions in a *Sphagnum* dominated peatland and their implications on the C cycle. This work mainly focus on the invasion of a graminoid plant, *Molinia caerulea*, through a mesocosm experiment. Results from experiments show that vascular plants are both able to promote the growth of *Sphagnum* mosses as well as the decomposition of their litter. *Molinia caerulea* occurrence appears to increase the C sink capacity of *Sphagnum* peat mesocosms passing of 30 to 220 gC stock m⁻² y⁻¹. This capacity of *Molinia caerulea* to store C is probably due to it high roots productivity. However, it also seems to stimulate the decomposition of 'old' C, stored as peat, by stimulating microorganisms activity through roots exudates. These latter also promote the dissolved organic C consumption and CO₂ and CH₄ emissions observed with *Molinia caerulea* occurrence, as well as the temperature sensitivity of C exports by altering the microbial communities. *Molinia caerulea* impacts on microorganisms also affect N cycle conducting to a decrease of N₂O emissions in these ecosystems.

Keywords: Carbon balance, CO₂ and CH₄ fluxes, *Sphagnum*-dominated peatland, vascular plants invasion



Institut des Sciences de la Terre d'Orléans

1A rue de la Férollerie,

45100 Orléans

