

**NUTRITION ET PHYSIOLOGIE DE *PICEA MARIANA* EN RÉGÉNÉRATION
SUIVE À L'ENVAHISSEMENT PAR LE *KALMIA ANGUSTIFOLIA***

par

Philippe LeBel

mémoire présenté au Département de biologie en vue
de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, Mars 2011



Library and Archives
Canada

Published Heritage
Branch

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Direction du
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-79817-1
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-79817-1

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

Le 23 mars 2011

*le jury a accepté le mémoire de Monsieur Philippe Lebel
dans sa version finale*

Membres du jury

Professeur Robert L. Bradley
Directeur de recherche
Département de biologie

Monsieur Nelson Thiffault
Codirecteur de recherche
Ministère des Ressources naturelles et de la Faune

Madame Alison Munson
Membre externe
Université Laval

Professeur John-William Shipley
Président rapporteur
Département de biologie

SOMMAIRE

L'aménagement forestier durable dépend d'une connaissance fiable des facteurs qui affectent la croissance des semis suite à une coupe forestière. Ce mémoire propose d'approfondir les connaissances qui portent sur la nutrition, la physiologie ainsi que la croissance de l'épinette noire suite à une coupe forestière dans le contexte de l'envahissement par les éricacées. Dans les forêts de l'est du Canada, la stagnation de la croissance de la régénération de *Picea mariana* (Mill.) BSP. (se réfèrera à épinette noire par la suite) associée à un couvert de *Kalmia angustifolia* L. (se réfèrera à *Kalmia* par la suite) a souvent été observée suite à une perturbation. Le *Kalmia* est une plante arbustive qui se retrouve sous le couvert forestier dominé par l'épinette noire. Les pratiques forestières visant à minimiser la perturbation des sols et de la régénération, telles la CPRS (coupe avec protection de la régénération et des sols) au Québec et la CLAAG («careful logging around advanced growth») en Ontario, peuvent promouvoir une invasion rapide du *Kalmia* sur les parterres de coupe. La présence du *Kalmia* est associée à une accumulation de la couche morte au sol et dans des cas extrêmes, la persistance du *Kalmia* résulterait en une lande improductive là où une forêt productive était autrefois présente.

La chlorose des aiguilles d'épinette noire observée sur le terrain, indique que ce ralentissement de croissance serait d'ordre nutritionnel. Des études suggèrent que la grande surface spécifique du système racinaire des éricacées, leurs composés allélopathiques et leur production d'une litière récalcitrante à la décomposition, seraient des facteurs qui leur confèrent une habilité compétitive. Cependant, ces études ne consistaient qu'en des manipulations en laboratoire ou des observations faites sur le terrain. En l'absence d'une étude contrôlée effectuée sur le terrain, une question demeure sans réponse claire : la relation entre la présence d'éricacées et une pauvre croissance des semis de conifère est-elle causale ou n'est-elle qu'une simple corrélation? Autrement dit, y a-t-il vraiment interaction compétitive entre le *Kalmia* et l'épinette noire? Aussi, quelle est l'importance de la

compétition directe versus indirecte sur la croissance de l'épinette noire? Le premier chapitre de ce mémoire présente les résultats d'une étude effectuée sur un site dominé par les éricacées où nous avons testé l'effet de deux facteurs expérimentaux – (1) la présence/absence de *Kalmia* et (2) la fertilisation – sur les propriétés biochimiques du sol et sur la croissance des semis d'épinette noire. La fertilisation et l'éradication des éricacées ont accru la croissance confirmant l'effet délétère du *Kalmia*. L'éradication des éricacées a accru la minéralisation nette de l'azote indiquant un changement dans les processus biochimiques des sols suite à cette éradication.

Les fonctions physiologiques et la croissance des épinettes noires sont susceptibles d'être altérées par la compétition directe et indirecte des éricacées pour l'N ainsi que pour l'eau du sol. Mais jusqu'à ce jour, les études ne se sont intéressées qu'aux conditions édaphiques et à la disponibilité de l'N sous l'influence des éricacées qu'ils ont corrélées avec la diminution de croissance des conifères. Le deuxième chapitre de ce mémoire propose d'aborder l'interaction compétitive entre l'épinette noire et le *Kalmia* par une approche écophysiological. Cette approche permet donc d'évaluer quelle ressource du sol limite le plus la croissance de l'épinette noire sous l'influence d'une compétition avec le *Kalmia*. Plus spécifiquement, je me suis intéressé à l'acclimatation physiologique et morphologique de l'épinette noire face aux contraintes nutritionnelles et hydriques que j'ai corrélées avec ses taux de croissance relatifs («relative growth rate» se réfèrera à RGR par la suite). D'abord, j'ai montré une corrélation négative entre la surface foliaire spécifique («specific leaf area» se réfèrera à SLA par la suite) et le RGR sur les parcelles où le *Kalmia* a été éradiqué. Les semis d'épinettes noires s'acclimateraient donc morphologiquement au stress hydrique en diminuant leur SLA de façon à accroître leur efficacité d'utilisation de l'eau durant la photosynthèse («water use efficiency» se réfèrera à WUE par la suite). Ensuite, j'ai montré une corrélation positive entre le SLA et le RGR sur les parcelles où le *Kalmia* était maintenu. Les semis d'épinettes noires s'acclimateraient donc morphologiquement au stress en N en augmentant leur SLA de façon à accroître leur efficacité d'utilisation de l'azote durant la photosynthèse («photosynthetic nitrogen use efficiency» se réfèrera à PNUE par la suite).

Toutefois, une hausse du PNUE n'était observée que lorsque le feuillage était réhydraté. Ceci suggérait donc qu'en plus d'imposer un stress nutritionnel, le *Kalmia* peut aussi imposer un stress hydrique sur le terrain. Les variations intraspécifiques dans la relation entre le SLA et le RGR sont donc dues à l'importance relative de la déficience en N versus la déficience en eau du sol.

REMERCIEMENTS

Je remercie mon directeur de mémoire, le Dr. Robert L. Bradley pour m'avoir permis d'effectuer une maîtrise dans son laboratoire. Merci aussi au Dr. Nelson Thiffault pour son accueil au Ministère des ressources naturelles et de la faune durant l'année passé là-bas. Tout deux m'ont ouvert au monde de la recherche et encouragés à participer à des congrès. Merci aussi à mes conseillers de recherche, les Drs. Bill Shipley et Alison Munson.

Un merci spécial à toutes les personnes qui m'ont aidé sur le terrain et en laboratoire. D'abord, à Jacques Carignan pour son professionnalisme et son amitié. Viennent ensuite, Alexandre Anctil et Mélanie Bergeron, tous deux étudiants-stagiaires.

Je remercie aussi les Drs. Gilles Joanisse et Bill Parsons pour les discussions et échanges scientifiques fructueux et enrichissants. Bonne retraite au Dr. Al Mitchell qui croyait en moi déjà quand j'étais étudiant au baccalauréat.

À ma famille et surtout mes parents qui m'ont supporté à travers toutes les étapes de mes études.

À Marie-Claude qui m'apporte la sérénité et qui remplit ma vie de bonheur!

Le financement de ce projet de recherche provient d'une subvention du CRSNG remise au Dr. Robert Bradley et fait partie du projet no. 112310031 du MRNF.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
REMERCIEMENTS.....	vi
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES	x
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1	14
L'ÉRADICATION DU <i>KALMIA</i> AUGMENTE LA DISPONIBILITÉ DES NUTRIMENTS ET LA CROISSANCE DES SEMIS D'ÉPINETTES NOIRES: UN EFFET QUE LA FERTILISATION NE REPRODUIT PAS.....	14
1.1 Abstract	16
1.2 Introduction	17
1.3 Materials and methods	19
1.4 Results	23
1.5 Discussion	26
1.6 Conclusion.....	29
1.7 Acknowledgments	29
1.8 Reference.....	30

CHAPITRE 2	34
L'IMPORTANCE RELATIVE DU STRESS HYDRIQUE VERSUS LE STRESS EN AZOTE DIRIGE LA VARIATION INTRASPÉCIFIQUE DANS LA RELATION SLA-RGR : UNE ÉTUDE DE CAS DE L'ÉPINETTE NOIRE CROISSANT AVEC LE <i>KALMIA ANGUSTIFOLIA</i>	34
2.1 Abstract	36
2.2 Introduction	37
2.3 Materials and methods	38
2.4 Results	43
2.5 Discussion	47
2.6 Acknowledgments	52
2.7 References	52
CONCLUSION.....	56
BIBLIOGRAPHIE.....	58

LISTE DES TABLEAUX

1. Humus nutrient concentrations and respirometry measurements that were significantly affected by the removal of *Kalmia*; values are means (\pm S.E.) pooled across fertilizer treatments and dates (n=36). Values on the same line followed by different lower case letters differ significantly ($p < 0.05$) according to Tukey HSD test..... 24
2. Average seedling height (\pm S.E.) of each treatment in October 2005 and 2006, as well as relative growth rate (RGR), average needle mass and needle P concentrations in 2006. Values on the same line followed by different lower case letters differ significantly ($p < 0.05$) according to Tukey HSD test..... 25
3. Height, specific leaf area (SLA), and water-use efficiency (WUE) of *Picea mariana* seedlings planted in 2000 on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Data were pooled across sampling dates in each year. Mean values (\pm SE) within each line followed by a different lower case letter are significantly different ($P < 0.05$) according to Tukey's HSD test. 44

LISTE DES FIGURES

1. Boucles de rétroactions positives générant la dominance d'une espèce ou d'un individu sur un autre (modifié de Keddy, 1989)..... 5
2. The relationship between relative growth rate (RGR) measured in October and average year specific leaf area (SLA) of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Data are pooled across fertilizer treatments sampling years (2006 and 2007)..... 45
3. Net photosynthesis as a function of needle N concentration of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Frame (A) presents data from 2006 whereby gas exchange measurements were made directly on the seedlings; frame (B) presents data from 2007 whereby twigs were excised and rehydrated prior to gas exchange measurements. Data are pooled across fertilizer treatments and sampling dates..... 46
4. Soil volumetric water content and daily rainfall during the 2006 growing season on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Arrows indicate sampling dates for gas exchange measurements..... 48
5. The relationship between net photosynthesis and stomatal conductance of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Frame (A) presents data from 2006 whereby gas exchange measurements were made directly on the seedlings; frame (B) presents data from 2007 whereby twigs were excised

and rehydrated prior to gas exchange measurements. Data are pooled across
fertilizer treatments and sampling dates..... 49

INTRODUCTION

La forêt boréale couvre 11% de la superficie du globe et se répartit sur une bande circumpolaire continue de près de 10 000 km formant ainsi le plus vaste biome terrestre. Au Québec seulement, cette forêt occupe une étendue d'environ 560 000 km² et est la principale zone de végétation de la province. Sa répartition spatiale est fonction des conditions climatiques qui y prévalent et celles-ci se caractérisent par des hivers longs, secs et très froids et par des étés courts, humides et frais. La forêt boréale a un couvert forestier dominé par les conifères dont le renouvellement est lié à des feux et des épidémies d'insectes de fréquences variables. Le sapin baumier, l'épinette noire, l'épinette blanche, le pin gris et le mélèze en sont les principales essences (Saucier *et al.*, 2009).

Les inquiétudes de la société québécoise face à la pérennité des ressources forestières ont mené à la mise en place de la « Commission d'étude sur la gestion de la forêt publique ». À la lumière des analyses et des consultations, la Commission en est venue à la conclusion qu'il y a eu surexploitation des forêts au Québec et spécialement en forêt résineuse où elle a constaté que «l'ensemble des facteurs de prélèvement du bois ont dépassé l'intérêt ligneux que les forêts résineuses sont en mesure de produire». La Commission a également identifié des lacunes dans les méthodes actuellement utilisées pour mesurer l'état des forêts et pour estimer la possibilité ligneuse sur le territoire. Elle a donc fait des recommandations précises pour apporter des correctifs, de façon à ce que celles-ci soient intégrées dans les prochains plans d'aménagements forestiers du Québec. La Commission recommande que :

«le niveau maximal de récolte [...] soit déterminé à la lumière de divers intrants [...] et établi en fonction d'une hypothèse d'aménagement de base (remise en production du site récolté avec plein boisement) qui n'anticipe pas automatiquement l'effet de possibilité de la stratégie d'aménagement sans en

considérer les risques et en évaluer les impacts»
(recommandation 6.1) (Coulombe *et al.*, 2004).

Par cette recommandation, la Commission stipule qu'il est primordial de valider si la remise en production suit la croissance prédite par les modèles et les plans d'aménagement. Pour ce faire, nous devons peaufiner les modèles et donc améliorer les connaissances fondamentales de la dynamique des forêts en régénération et de la résilience des écosystèmes forestiers face aux perturbations naturelles ou anthropiques.

Les perturbations naturelles de grande ampleur ont toujours fait partie intégrante de la dynamique de renouvellement des peuplements dans la forêt boréale québécoise. Mais depuis plus d'un siècle, les pratiques forestières sont venues s'ajouter aux facteurs jouant un rôle déterminant dans la dynamique des écosystèmes forestiers boréaux nord-américains (Apsey *et al.*, 2000). La suppression des régimes naturels de feux au détriment des espèces qui en dépendent, l'enfeuillement des forêts et l'envahissement par des espèces compétitives, notamment, par les éricacées, sont des phénomènes issus des pratiques forestières qui affectent la résilience des forêts (Grondin et Cimon, 2003). Les problèmes de régénération forestière sont aussi abordés par la Commission qui recommande «que le Ministère instaure une politique de plein boisement après récolte [...] en fonction de la qualité des sites et des caractéristiques biophysiques du milieu» (recommandation 6.5) (Coulombe *et al.*, 2004). La recherche doit donc développer des stratégies sylvicoles qui permettront le plein rendement de ces sites tout en visant la régénération en essences désirées.

Échecs à la régénération : l'envahissement par les éricacées

Suite à une perturbation, certaines stations de la forêt boréale voient leur régénération compromise par l'envahissement d'une communauté d'éricacées dominée par le *Kalmia angustifolia* L. en association avec *Rhododendron groenlandicum* (Oeder) Kron et Judd et *Vaccinium spp.* (La communauté d'éricacée dominée par le *Kalmia* se réfèrera à *Kalmia* par la suite) (Thiffault et Grondin, 2003). La récolte des tiges dominantes permet aux éricacées de profiter d'une abondance de lumière pour envahir rapidement le site et empêcher la régénération naturelle de s'établir (Mallik, 1995; Thiffault et Grondin, 2003). La présence à long terme d'un couvert de *Kalmia* a été lié à la formation d'une épaisse couche d'humus et dans quelques cas extrêmes, le *Kalmia* persiste et forme une lande improductive là où antérieurement une forêt productive était établie (Damman, 1971).

Plusieurs mécanismes liés aux ressources du sol expliqueraient la faible performance de l'épinette noire en présence de *Kalmia*. Des études suggèrent que la grande surface spécifique du système racinaire du *Kalmia* (Mallik, 1993) confère à celui-ci un avantage dans la compétition directe pour les ressources du sol. D'autres études soulignent des mécanismes de compétition indirecte, comme le relâchement de composés allélopathiques (Inderjit et Mallik, 1996) et la production d'une litière récalcitrante à la décomposition (Damman, 1971). L'association à un type de mycorhize spécifique permettrait aux éricacées d'accéder plus efficacement aux ressources séquestrées par les tannins dans le sol (Read, 1984) ce qui leur confèrerait un avantage dans l'acquisition des ressources dans ces milieux. Cependant, ces études ne consistaient qu'en des manipulations de laboratoire ou des observations faites sur le terrain. En l'absence de manipulations expérimentales effectuées sur le terrain, l'importance relative de la compétition directe pour les ressources versus la compétition indirecte demeure irrésolue. Une première approche serait d'éradiquer le *Kalmia* là où un envahissement par celui-ci a eu lieu afin d'isoler adéquatement ses effets des autres facteurs

pouvant limiter la croissance. Ceci permettrait de déterminer si cette éradication du *Kalmia* résulte en des changements fondamentaux dans la dynamique de l'écosystème.

Compétition, allélopathie et modification des processus édaphiques par les éricacées

Les écologistes ont longtemps été préoccupés par les interactions compétitives entre les différentes espèces végétales, car elles façonnent grandement la structure des communautés, ainsi que la succession écologique (e.g. Gleason, 1926; Tansley, 1935; Whittaker, 1953; Schoener, 1983). La compétition se définit généralement comme l'influence négative d'un organisme sur un autre par la consommation (compétition par exploitation ou compétition directe) ou le contrôle de l'accès d'une ressource (compétition par interférence ou compétition indirecte) qui n'est disponible qu'en quantité limitée. La dominance d'une espèce sur une autre débute par une compétition asymétrique qui est constamment augmentée par les des rétroactions positives, telles qu'illustrées à la figure 1. La compétition par exploitation survient lorsque l'espèce dominante est plus efficace dans l'acquisition des ressources, diminuant ainsi la disponibilité des ressources pour l'espèce subordonnée. La compétition par interférence inclut l'habileté d'une espèce dominante à monopoliser une ressource ou sa capacité à causer des dommages à l'espèce subordonnée (i.e. allélopathie). L'importance relative des deux types de compétition varie selon les situations et dans la plupart des cas, leurs effets ne peuvent être observés séparément (Keddy, 1989). Les situations de compétition interspécifiques ont été abondamment étudiées, mais les études ne s'attardent principalement qu'à la question de son occurrence et ne considèrent généralement que la compétition par exploitation en ne s'intéressant que peu à la compétition par interférence (Goldberg et Barton, 1992; Shoener, 1983). La difficulté de distinguer entre les deux types de compétition est qu'elles surviennent en même temps et qu'elles agissent bien souvent en synergie. Les composés allélopathiques peuvent, par exemple, produire des changements dans la compétition par exploitation en diminuant l'absorption racinaire ou en interférant avec les mycorhizes du subordonné (Reigosa *et al.*, 1999).

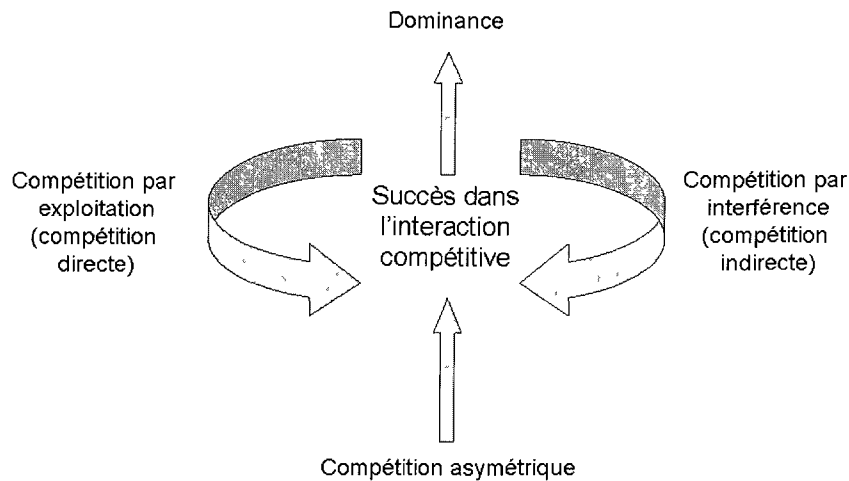


Figure 1. Boucles de rétroactions positives générant la dominance d'une espèce ou d'un individu sur un autre (modifié de Keddy, 1989).

Compétition directe par le Kalmia

Plusieurs mécanismes liés aux ressources du sol expliqueraient la faible performance de l'épinette noire en présence de *Kalmia*. Le *Kalmia* peut développer un système racinaire de avec une grande surface spécifique (Mallik, 1993) et couvrir une étendue considérable (Hall *et al.*, 1973). Les racines de *Kalmia* prolifèrent dans la couche organique du sol (Mallik, 1993) où il y puise efficacement son eau et ses nutriments. Une expérience de compétition directe menée par Thiffault *et al.* (2004) a d'ailleurs montré une plus grande absorption de $^{15}\text{NH}_4^+$ par le *Kalmia* par unité de surface de sol, malgré une plus grande efficacité d'absorption de l'épinette noire par unité de masse racinaire. Ceci suggère une plus grande biomasse racinaire de *Kalmia* que d'épinette noire sur ces parcelles. Il peut être déduit que

cette caractéristique du *Kalmia* en fait un compétiteur direct de l'épinette noire pour les ressources du sol comme l'eau et les minéraux.

Compétition indirecte : allélopathie

Le terme « allélopathie » a été utilisé pour la première fois par Molisch (1937(traduit en 2001)) pour décrire l'ensemble des interactions biochimiques néfastes et bénéfiques entre les plantes. Dans sa monographie sur l'allélopathie, Rice (1984) renforcera cette vision et énoncera une définition plus large de l'allélopathie : «tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante (incluant les microorganismes) sur une autre, par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement». La «International Allelopathy Society» (1996) définit l'allélopathie comme «tout processus qui implique un métabolite secondaire produit par une plante, une algue, une bactérie et un champignon qui influence la croissance et le développement des systèmes biologiques et agricoles». Mais cette définition trouve peu d'écho dans la littérature, car elle est aussi très large et imprécise quant au type de composé et à la direction de ses effets. Par exemple, plusieurs métabolites secondaires des plantes se retrouvant dans la rhizosphère incluent des polysaccharides simples, des acides aminés et d'autres acides organiques qui ne sont pas considérés comme des composés allélopathiques (Bertin *et al.*, 2003). De plus, les exemples d'effets positifs des composés dits allélopathiques sont rares et s'observent souvent à des faibles concentrations de composés (Rice, 1984). Il n'y a pas encore eu consensus formel sur la définition à donner à l'allélopathie, mais la plupart des auteurs soutiennent que l'allélopathie est l'effet négatif d'un composé chimique relâché par une plante sur la croissance et la reproduction d'une autre (e.g. Fitter, 2003; Inderjit et Callaway, 2003; Wardle *et al.*, 1998). Dans ce mémoire, l'emploi du terme allélopathie se limitera donc à cette définition moins large et plus précise.

Les composés chimiques impliqués dans les relations allélopathiques sont appelés composés allélochimiques. Ces composés sont présents dans pratiquement tous les tissus de la plante; des fruits, des fleurs, des feuilles, des tiges et des racines. Dans certaines circonstances, ces composés agissent comme phytotoxines en inhibant des processus biochimiques ou physiologiques. Le relâchement de ces composés dans l'environnement par volatilisation, lixiviation, exsudation racinaire ou par décomposition des résidus de la plante peuvent nuire au développement des autres plantes. Parmi ces composés, on trouve notamment des acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes et des glucosinolates. Les interactions allélopathiques sont souvent le résultat d'une synergie entre plusieurs de ces composés (Reigosa *et al.*, 1999). Les éricacées, principalement le *Kalmia*, ont une teneur élevée en acides phénoliques dans leur feuille (Joanisse *et al.*, 2007) lesquels sont relâchés dans l'environnement en grande quantité.

Reigosa (1999) souligne que les composés allélochimiques relâchés dans l'environnement peuvent inhiber ou altérer la croissance des racines de la plante cible en agissant sur l'activité des hormones de croissance, sur l'élongation et sur la division cellulaire. Peterson (1965) a été le premier à montrer que des extraits aqueux de feuilles de *Kalmia* inhibaient la croissance racinaire de plantules d'épinettes noires. Mallik (1987) a aussi montré une inhibition significative de la croissance primaire des racines des germinants par l'ajout d'extraits aqueux de feuilles, de racines et de litière de *Kalmia*. Cette inhibition a été associée aux composés phénoliques contenus dans les extraits de feuilles de *Kalmia* (Zhu et Mallik, 1994). Reigosa (1999) rapporte aussi que les composés allélochimiques peuvent diminuer l'absorption racinaire en altérant la perméabilité membranaire, en altérant les fonctions ATP-ases des cellules corticales, en inhibant les mycorhizes associés aux racines de la plante cible ou même en provoquant des fuites de minéraux. Bien que ces effets n'aient pas été confirmés sur le terrain, ces effets combinés de baisse de la croissance racinaire et de diminution de l'absorption racinaire de l'épinette noire pourraient expliquer une partie du déficit nutritionnel et de l'échec des plantations observées sur les sites envahis par le *Kalmia*.

Compétition indirecte : modification des processus édaphiques par le Kalmia

La litière est le principal réservoir de nutriment pour les semis d'épinette noire. La vitesse de décomposition de la couche morte et le cycle des nutriments dépendent des propriétés chimiques de la litière. Les plantes exercent donc des effets importants sur l'activité biologique du sol et sur la disponibilité des nutriments (Chapman *et al.*, 2006). Ainsi, par la modification du cycle des nutriments via des mécanismes de compétition indirecte, certains groupes végétaux, comme les éricacées, pourraient avoir développé des stratégies évolutives leur permettant de maintenir leur dominance dans certains écosystèmes (van Breemen et Finzi, 1998).

Les éricacées sont reconnues pour produire une litière ayant une forte concentration en composés phénoliques (ex : tannins) produisant ainsi une litière récalcitrante à la décomposition (Inderjit et Mallik, 1996). La présence d'éricacées est d'ailleurs souvent associée à une accumulation de couche morte (Krause, 1998; Prescott *et al.*, 2000), ainsi qu'à une faible croissance des conifères par l'induction d'un syndrome nutritionnel (Damman, 1971; Yamasaki *et al.*, 1998). La modification de la dynamique des nutriments dans les sols est d'ailleurs le premier impact soupçonné des tannins dans les écosystèmes. Les mécanismes par lesquels les tannins influencent cette dynamique sont multiples et peuvent survenir simultanément. Les tannins peuvent diminuer la décomposition 1) en étant eux-mêmes résistants à la décomposition, 2) en séquestrant les protéines et les acides aminés, 3) en couvrant d'autres composés comme la cellulose et 4) en complexant ou en désactivant les exo-enzymes microbiennes (voir Kraus *et al.*, 2003 et références).

Il a été observé que les humus sous un couvert de *Kalmia* minéralisent peu d'N (Damman, 1971). Cette diminution du cycle de l'N a été associée à une haute efficacité de séquestration de l'N par les tannins (Bradley *et al.*, 1997). L'ajout de tannins condensés extraits des feuilles de *Kalmia* a d'ailleurs diminué la minéralisation de l'N dans les humus par la création de complexes protéines-tannins (Bradley *et al.*, 2000a). Récemment, Joannis *et al.* (2007) ont aussi démontré une inhibition significative de plusieurs enzymes du sol impliquées dans la dégradation de la matière organique par l'addition de tannins purifiés de *Kalmia* et par la litière de *Kalmia*. Ces études menées en laboratoire suggèrent que le *Kalmia* a le potentiel d'interférer indirectement avec l'épinette noire en modifiant les cycles des nutriments. Ces expériences se sont par contre penchées uniquement sur les réponses des propriétés du sol à l'addition de litière, d'extraits foliaires ou de tannins purifiés provenant du *Kalmia*. Dans ce mémoire, je propose de faire le suivi d'un dispositif expérimental sur lequel une éradication du *Kalmia* a été effectuée. Cette éradication devrait résulter en un plus grand apport nutritif pour les épinettes (i.e. enlèvement de la compétition directe pour les ressources), mais elle devrait aussi résulter en une amélioration de la qualité chimique de la couche morte (i.e. enlèvement de la compétition indirecte).

Nutrition et physiologie de l'épinette noire dans le contexte d'envahissement par les éricacées

Face aux contraintes environnementales, les végétaux ont développés diverses stratégies d'acclimatation qui font appel à la plasticité phénotypique d'un individu dans un environnement donné. Ces ajustements surviennent par des changements morphologiques, comme par exemple, la surface foliaire spécifique (SLA) ou des changements dans l'activité ou la synthèse de constituants biochimiques comme les enzymes qui interviennent dans des processus spécifiques comme la photosynthèse, la respiration, les taux de croissance, etc. (Lambers *et al.*, 1998). Dans cette section du mémoire, j'aborderai la question des performances et de l'acclimatation de l'épinette noire face aux contraintes

environnementales, telles les contraintes hydriques et nutritionnelles. Ces connaissances seront intégrées dans le contexte de l'invasion par les éricacées.

Acclimatation et réponses physiologiques aux contraintes hydriques

L'épinette noire acquiert la majorité de son eau dans les couches de surface du sol (Nilsson et Örlander, 1999), là où les racines de la végétation compétitive abondent et y retirent d'importante quantité d'eau (Grossnickle, 2000). L'épinette noire a aussi des taux de croissance racinaires relativement faibles, comparativement à ses principaux compétiteurs, la rendant ainsi très sensible à la compétition pour l'eau du sol (Bernier, 1993). En comparaison, le *Kalmia* possède un système racinaire plus dense que l'épinette noire et produirait des composés secondaires qui diminueraient la croissance racinaire de l'épinette noire (Zhu et Mallik, 1994). Ces mécanismes de compétition directe et indirecte pourraient alors provoquer un stress hydrique à l'épinette noire. En présence du *Kalmia*, on devrait donc observer une baisse fréquente du potentiel hydrique dans les sols (Ψ_{sol}) et dans les semis (Ψ_{tige}) d'épinette noire. L'ouverture des stomates étant inversement corrélée avec la turgescence des cellules de garde, une diminution de la conductance des stomates (g_s) devrait donc être observée lorsque le Ψ_{tige} diminue (Grossnickle, 2000). Ce mécanisme de fermeture des stomates permet aux végétaux d'éviter de trop grandes pertes d'eau ou même le dessèchement (Lambers *et al.*, 1998). Lorsque le Ψ_{tige} est sous la barre des -2,0 MPa, il peut y avoir perte de conductivité hydraulique par la cavitation des éléments du xylème (Borghetti *et al.*, 1989). En réponse à la cavitation, les épinettes fabriquent de nouveaux éléments de xylème, mais ce mécanisme ne s'opère que si la teneur en eau du sol est suffisante pour l'élongation cellulaire. Ainsi, le phénomène de cavitation peut résulter en un accroissement de la résistance hydraulique à long terme (Grossnickle, 2000).

La fermeture des stomates diminue les pertes en eau, mais provoque du même coup une baisse de la capacité photosynthétique par une diminution du flux de carbone à l'intérieur de la feuille (Lambers *et al.*, 1998). Pour l'épinette noire, les limitations de la photosynthèse ne s'observent par contre qu'à des faibles taux de conductance des stomates (Stewart *et al.*, 1995) et la fermeture complète des stomates s'observe à des Ψ_{tige} de -1,3 MPa à -2,0 MPa (Lamhamedi et Bernier, 1994). Ainsi, une limitation en eau du sol provoque une baisse des échanges gazeux. L'ouverture des stomates et la capacité photosynthétique des épinettes sont d'ailleurs corrélées avec le potentiel hydrique pré-aube (Ψ_{pa}) (Grossnickle, 2000). La diminution du Ψ_{tige} ne limite pas uniquement la capacité photosynthétique, mais elle limite aussi fortement la croissance et la division cellulaire (Lambers *et al.*, 1998). La compétition du *Kalmia* pour l'eau du sol devrait donc diminuer la capacité photosynthétique ainsi que la croissance de l'épinette noire.

L'une des composantes importante de la résistance aux stress hydriques est l'efficacité d'utilisation de l'eau instantanée (WUE_{inst}), mesurée par le ratio du carbone assimilé sur la quantité d'eau perdue par transpiration lors de la photosynthèse. Le WUE_{inst} procure donc des informations ponctuelles sur les capacités d'une plante à balancer les gains en C et les pertes en eau. Le WUE_{inst} peut s'accroître par la baisse de la conductivité des stomates qui provoque, proportionnellement, une plus grande baisse de la transpiration que de la photosynthèse (Grossnickle, 2000). Les feuilles peuvent aussi s'ajuster morphologiquement à une longue exposition au stress hydrique en diminuant leur SLA, puisqu'un SLA faible est considéré comme un trait de conservation de l'eau (Letts *et al.*, 2009). Ainsi, un SLA faible diminue la surface exposée à la transpiration par rapport au volume total de la feuille. Un stress hydrique prolongé provoquera alors une diminution du SLA (Niinemets, 2001) qui mènera à une hausse du WUE à long terme (Hultine et Marshall, 2000).

Les recherches concernant l'interférence de la végétation compétitive pour l'eau du sol sur les semis d'épinette en régénération sont abondantes (e.g. Grossnickle, 2000), mais peu

d'études ont, à ce jour, étudié l'importance du phénomène dans un site envahi par les éricacées. Plusieurs auteurs ont souligné l'importance du système racinaire des éricacées et de leur potentiel à puiser efficacement l'eau du sol (Mallik, 1993, Titus *et al*, 1995, Thiffault et Grondin, 2003). Thiffault *et al* (2004) soulignent d'ailleurs que le *Kalmia* avait constamment un Ψ_{pa} plus élevé que l'épinette noire, ce qui indique une meilleure capacité de résistance du *Kalmia* aux stress hydriques. Dans le but d'approfondir les conséquences de la compétition pour l'eau du sol par les éricacées et d'en évaluer sa contribution à la diminution de la croissance de l'épinette noire, ce mémoire propose de mesurer des variables morphologiques tel le SLA et des variables physiologiques telles la conductance des stomates, la transpiration, ainsi que la photosynthèse et le WUE_{inst} , qui sont des indices importants de la relation qu'entretient la plante avec l'eau du sol.

Acclimatation et réponses physiologiques aux contraintes nutritionnelles

L'azote est le principal constituant des protéines et des acides nucléiques qui sont étroitement impliqués dans les mécanismes physiologiques de la plante. Plus de la moitié du budget en N est d'ailleurs utilisé dans la machinerie photosynthétique chez les végétaux (Lambers *et al*, 1998). Des plus grandes concentrations foliaires en N sont associées à des plus hauts taux de photosynthèse chez les épinettes (Grossnickle, 2000). Cette hausse est attribuée à une plus grande concentration en chlorophylle et en caroténoïdes (Chandler et Dale, 1995). La hausse en N augmente aussi la capacité de carboxylation durant la phase sombre de la photosynthèse (Centritto et Jarvis, 1999).

Pour s'ajuster à la faible disponibilité en N, l'épinette noire pourrait augmenter son efficacité d'utilisation de l'N lors de la photosynthèse (Pons *et al*, 1994). Une acclimatation physiologique des feuilles peut survenir suite à une exposition prolongée au stress en N et ceci se traduira par une augmentation du SLA. Un SLA élevé résulte en un ombrage interne

réduit et en une faible résistance à la diffusion interne du CO₂ (Reich *et al.*, 1998) dans la feuille, ce qui augmente le taux de photosynthèse net par unité d’N (i.e. PNUE; « photosynthetic nitrogen use efficiency »).

Croissance et contraintes environnementales

Les fonctions physiologiques et la croissance des épinettes noires sont donc susceptibles d’être altérées par la compétition par les éricacées pour l’eau du sol ainsi que pour l’N. Mais jusqu’à ce jour, les études ne se sont intéressées qu’aux conditions édaphiques et à la disponibilité de l’N sous l’influence des éricacées, qu’elles ont corrélées avec la diminution de croissance des conifères. Une approche écophysologique pourrait nous permettre d’évaluer quelle ressource du sol limite le plus la performance de l’épinette noire sous l’influence d’une compétition avec les éricacées. De façon à augmenter son taux de croissance relatif (RGR), les semis d’épinette noire devraient s’acclimater aux déficits en N et en eau en augmentant leur PNUE (Pons *et al.*, 1994) et leur WUE (Letts *et al.*, 2009) respectivement. Conformément au modèle développé par Bloom *et al.* (1985), une plante devrait s’ajuster physiologiquement à la plus limitante des deux ressources, soit l’eau ou l’N, lesquels ont des effets opposés sur le SLA. J’é mets donc l’hypothèse d’un compromis entre le WUE et le PNUE et que celui-ci se traduit par une variation morphologique du SLA. Dans un cas où l’N est la ressource la plus limitante, une augmentation du SLA devrait se traduire par une augmentation du RGR. Dans un cas où c’est l’eau qui est la ressource la plus limitante, une diminution du SLA devrait se traduire par une augmentation du RGR. Entre les espèces, le RGR est habituellement positivement corrélé avec le SLA (e.g. Lambers et Poorter, 1992), mais la démonstration à l’échelle intraspécifique n’est pas aussi robuste. É lucider le mécanisme qui contrôle les différences dans la relation SLA-RGR est important pour comprendre comment une espèce s’acclimate dans les gradients environnementaux.

CHAPITRE 1

L'ÉRADICATION DU *KALMIA* AUGMENTE LA DISPONIBILITÉ DES NUTRIMENTS ET LA CROISSANCE DES SEMIS D'ÉPINETTE NOIRE: UN EFFET QUE LA FERTILISATION NE REPRODUIT PAS.

Référence : LeBel, P., Thiffault, N., Bradley, R.L. *Kalmia* removal increases nutrient supply and growth of black spruce seedlings: an effect fertilizer cannot emulate (publié dans *Forest Ecology and Management*).

Plusieurs mécanismes, incluant l'allélopathie, la réduction de la minéralisation de l'N, l'inhibition des enzymes du sol et la compétition directe pour les ressources du sol ont été proposés pour expliquer la faible croissance de l'épinette noire en présence du *Kalmia*. Toutefois, l'importance relative de la compétition directe versus la compétition indirecte demeure irrésolue. L'objectif de cette étude était donc d'isoler adéquatement l'effet du *Kalmia* des autres facteurs environnementaux et de déterminer si l'enlèvement du *Kalmia* résulterait en des changements fondamentaux dans les processus biochimiques des sols. L'expérience a permis de confirmer que l'éradication du *Kalmia* sur six années n'a pas seulement accru la croissance des épinettes noires, mais a aussi résulté en des changements fondamentaux dans les propriétés des sols. J'ai aussi démontré qu'en plus de la compétition directe pour les ressources du sol, le *Kalmia* interfère indirectement avec l'épinette noire en modifiant le cycle des nutriments ainsi que les flux d'énergie dans les sols.

En échantillonnant les sols ainsi que la croissance des arbres sur un dispositif expérimental établi six ans plus tôt (2000) en Abitibi, j'ai évalué comment l'éradication du *Kalmia* ainsi

qu'une fertilisation lors de la plantation influençait la disponibilité des nutriments, l'activité microbienne, ainsi que la croissance des épinettes noires. J'ai réalisé les extractions chimiques ainsi que les mesures d'activité microbienne avec l'aide d'un stagiaire (Alexandre Anctil, Université de Sherbrooke). J'ai réalisé une partie des analyses chimiques à l'Université de Sherbrooke dans le laboratoire d'écologie des sols et une autre partie a été faite au Laboratoire de chimie organique et inorganique du Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec. J'ai personnellement compilé les données et j'ai effectué toutes les analyses statistiques sous les conseils du Dr. Bill Shipley. J'ai réalisé la rédaction du manuscrit en collaboration avec mon directeur, le Dr. Robert Bradley, ainsi que mon co-directeur, le Dr. Nelson Thiffault.

1.1 Abstract

In Canada's eastern boreal forest, the stagnant growth of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) BSP) seedlings is often observed in the presence of ericaceous shrubs such as *Kalmia angustifolia* L. Many mechanisms, including allelopathic interference, reduced soil N mineralization, soil enzymes inhibition, and direct resource competition have been proposed to explain poor spruce growth in the presence of *Kalmia*. However, the relative importance of direct competition versus indirect interference remains unclear. Our objective was thus to adequately isolate the “*Kalmia* effect” from other growth-limiting factors and to determine if removal of *Kalmia* also resulted in fundamental changes in the biochemical properties of the forest floor. By sampling plots established in 2000, we evaluated how *Kalmia* eradication and spot fertilization influenced soil nutrient availability, N mineralization rates, microbial basal respiration and biomass, as well as planted black spruce seedling growth, dimensions, and foliar nutrient concentrations 6 years later. We measured higher extractable-P, mineralizable-N, seedling dimensions and growth rates, as well as lower extractable-K, total-K, basal respiration and microbial biomass, in plots without *Kalmia* than in those where *Kalmia* had been maintained from 2000 to 2006. Our results thus confirmed that *Kalmia* eradication over 6 years not only improved the growth and nutrition of black spruce seedlings, but also resulted in fundamental changes in the biochemical properties of the forest floor. We demonstrated that along with direct competition for resources, *Kalmia* interferes indirectly with black spruce by modifying nutrient cycling and energy fluxes in soil. Higher indices of available C in plots with *Kalmia* corroborates that *Kalmia* tannins or rhizodeposition may reduce N mineralization by stimulating microbial immobilization, a relation that however needs to be confirmed with longer term laboratory incubations. Our results indicated that although it had a positive influence on seedling growth, the fertilization effect was confined to the first few years following treatment application, and failed to influence soil processes as did *Kalmia* eradication. Further monitoring will indicate if the

increased litterfall in fertilized plots will eventually initiate a second wave of fertilizer-induced changes to soil processes, as observed in other ecosystems.

1.2 Introduction

Sustainable forest management is predicated on reliable knowledge of the factors affecting the growth of seedlings after forest harvesting. In Canada's eastern boreal forest, the stagnant growth of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) BSP) seedlings is often observed in the presence of ericaceous shrubs such as *Kalmia angustifolia* L. (hereafter referred to as *Kalmia*). *Kalmia* is an understory species that occurs in patches beneath mature black spruce forest canopies. Forest harvesting techniques that attempt to minimize soil disturbance, such as Quebec's CPRS (Cutting with Protection of Regeneration and Soils) or Ontario's CLAAG (Careful Logging Around Advanced Growth), can promote a rapid invasion of cutovers by *Kalmia* through rhizomatous growth. The long-term presence of *Kalmia* on disturbed sites has been linked to the formation of thick forest floors and, in extreme cases, the persistence of *Kalmia* results in the formation of unproductive heathlands where productive forests had once stood (Damman, 1971).

Many mechanisms related to soil resources have been proposed to explain poor spruce growth in the presence of *Kalmia*. Mallik (1987) suggested allelopathic interference of root development in black spruce seedlings from compounds found in *Kalmia* leaf litter and leaf litter leachates. Yamasaki *et al.* (1998) found that black spruce seedlings growing close to *Kalmia* have lower rates of mycorrhizal colonization, suggesting an allelopathic interference of *Kalmia* on soil microbial communities. *Kalmia* litter contains high concentrations of secondary compounds, such as tannins and other polyphenols, which form stable complexes with protein thereby reducing soil N mineralization (Bradley *et al.*, 2000a). This, in turn, may give a competitive advantage to *Kalmia* since mycorrhizae associated with ericaceous shrubs

are ostensibly able to uptake such sequestered forms of N (Read, 1996). Joannis *et al.* (2007) have recently shown the significant inhibition of several soil enzymes involved in the breakdown of organic matter due to the addition of purified *Kalmia* tannins or *Kalmia* litter. Humus accumulating in the presence of *Kalmia* may also reduce soil temperature (Thiffault *et al.*, 2004), which in turn reduces root growth of conifer seedlings (Kaspar and Bland, 1992). Finally, *Kalmia* may interfere with black spruce growth simply through resource competition, that is, by directly capturing available soil nutrients more efficiently. Evidence of this was provided by Thiffault *et al.* (2004) who performed nutrient competition studies in field-grown *Kalmia*-black spruce plots, which showed significantly higher recovery rates of fertiliser $\text{NH}_4\text{-}^{15}\text{N}$ by *Kalmia* per soil surface area, despite higher recovery rates per unit root weight by black spruce. This suggests a much greater belowground biomass of *Kalmia* than black spruce in such plots.

Laboratory studies investigating *Kalmia*'s interference on black spruce growth have focused mainly on the response of soil properties, or the response of seedling growth, to the addition of *Kalmia* components such as litter (Joannis *et al.*, 2007), leaf leachates (Mallik, 1987) or purified tannins (Bradley *et al.*, 2000a). Field studies, on the other hand, have either been observational (e.g., Yamasaki *et al.*, 2002) or silvicultural (e.g. Thiffault and Jobidon, 2006) in nature, and have thus failed to confirm cause and effect relationships. In the absence of manipulative field experiments, the relative importance of direct competition versus indirect interference remains unclear. The experimental removal of *Kalmia* should result in greater nutrient supply for black spruce seedlings (i.e. removal of direct competition), however the depressed nutritional quality of the humus that previously built up under *Kalmia* may linger for many years (i.e. sustained indirect interference). For example, a field study (Bradley *et al.*, 2000b) conducted on Canada's west coast involving salal (*Gaultheria shallon* Pursh.), another invasive ericaceous shrub, and two native conifer species (western redcedar, *Thuja plicata* Donn. and western hemlock, *Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg.), demonstrated higher growth rates of regenerating trees in both fertilized and salal-eradicated plots, but improvement of nutritional site quality (i.e., nutrient cycling, microbial biomass, etc.) on

fertilized plots only. We suspect, however, that the salal-eradication treatment of that study was imperfect because (1) grubbing was performed only once, 13 years before soil nutritional quality was assessed, and (2) triclopyr herbicide treatments that were applied 1 and 5 years after plot establishment did not control re-invasion of salal. Here, we report on a study where we compared the effect of slow-release N–P–K fertilizer and/or above-ground *Kalmia* removal on soil nutritional quality and growth of black spruce seedlings. *Kalmia* was first eradicated with glyphosate herbicide, and any re-growth was clipped each year for 7 years. Our objective was to adequately isolate the “*Kalmia* effect” from other growth-limiting factors and to determine if removal of *Kalmia* also resulted in fundamental changes in the biochemical properties of the forest floor.

1.3 Materials and methods

Study area

The study was conducted on a clearcut site near the Town of Senneterre, Quebec (48°29'N, 76°55'W), in the balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.)–white birch (*Betula papyrifera* Marsh.) bioclimatic domain (Saucier *et al.*, 2009). Mean annual temperature is 2.5 °C, mean annual precipitation is 950 mm, and the growing season is typically 150–160 days long. The soil is classified as a Humo-Ferric Podzol (Soil Classification Working Group, 1998) formed on a moderately well-drained fluvio-glacial deposit. It is characterized by a forest floor humus layer (8 cm) overlying surface mineral horizons of loamy sand texture. The previous stand originated from wildfire and was mainly composed of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) BSP) and jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.). It was clearcut in the summer of 1999 at age 70 years. The remnant vegetation was dominated by *Kalmia*. Other ericaceous shrubs (*Vaccinium* spp.) and lichens (*Cladina* spp.) were also present.

Experimental design

The effects of *Kalmia* removal (main plot factor) and spot fertilization (sub-plot factor) were tested using a split-plot factorial design that covered approximately 0.2 ha (see Thiffault *et al.* (2004) for details). *Kalmia* removal was initiated in August 1999, with the application of glyphosate (2% v/v in water) herbicide (Monsanto Canada Inc., Winnipeg) combined with Sylgard 309® (0.25% v/v in water), a silicone surfactant (Dow Corning Canada Inc., Mississauga). From 2000 to 2006, *Kalmia* re-sprouting on these plots was manually clipped and removed. The second main plot treatment was untreated control, with vegetation left undisturbed ($18 \pm 2\%$ *Kalmia* ground cover in 2006). These two main plot treatments were replicated in six complete blocks. In June 2000, we planted 20 containerized black spruce seedlings, at 1 m spacing, in each main plot. On average, seedlings measured 28.7 cm in height and 3.3 mm in ground-level diameter. Each main plot was divided into two subplots, one receiving mineral fertilizer at time of planting, the other left unfertilized. Fertilization consisted of applying 9 g of polymer-coated slow-release N–P–K (26–12–6) contained in a fertilizer bag (i.e., “Silva-Pak”) (RTI, Salinas, CA) and buried 5 cm deep and 2 cm to the side of each seedling. Five seedlings in each subplot were tagged for long-term growth measurements, the other five for destructive measurements and humus sampling near the base.

Forest floor sampling and nutrient analyses

In 2006, we collected forest floor humus samples in all subplots on three dates (June 5, July 10, and September 10). At each sampling date, three humus cores (10 cm dia.) were collected near the base of each untagged seedling, these were sieved to remove roots and coarse debris, composited into one sample per subplot, and kept at 4 °C until analyses began within 1 week of sampling.

Sub-samples (10 g fresh wt.) were weighed, dried at 65 °C for 96 h, and reweighed to calculate moisture content. The dried humus was ground to pass a 20 mesh screen, and a 200 mg aliquot was digested at 340 °C in a H₂SO₄/H₂O₂/Se mixture. The digests were measured for total P, K, Ca, and Mg using a model ICPA-9000 Inductively Coupled Plasma Analyzer (Thermo Instruments Inc., Franklin, MA). A second aliquot (1.00 g) of dried ground humus from each plot was extracted in Melhlich-3 solution (Mehlich, 1984) and analyzed for extractable P, K, Ca, and Mg by ICPA.

Forest floor N fertility in each plot was compared based on net N mineralization rates following aerobic incubations. A first set of fresh humus subsamples were weighed (20 g fresh wt.) into 500 mL Mason jars, and extracted in 100 mL of 2 M KCl solution. Extracts were filtered (Whatman No. 5) and analyzed colorimetrically for NH₄⁺-N and NO₃⁻-N using a FIA Quickchem spectrophotometer. A second set of fresh humus subsamples were weighed (20 g fresh wt.) into 500 mL Mason jars, covered with a polyethylene film to prevent desiccation and allow gas exchanges, and kept in an incubator that provided constant temperature (22 °C) and humidity (85%) for 30 days. Jars were weighed weekly and moisture content adjusted as necessary with distilled water. Following the incubation, the humus subsamples were extracted in KCl as before, and net N mineralization rates were calculated by subtracting initial from final mineral N concentrations.

Forest floor respirometry

Microbial basal respiration (BR) and microbial biomass (MB) were measured in two separate sets of fresh humus subsamples, each equivalent to 8.00 g dry weight. For BR, the subsamples were transferred to 125 mL gas sampling jars, covered and left for 2 d to

condition to ambient temperature. We then flushed the headspace with ambient air for 5 min and sealed the jars with air-tight lids equipped with rubber septa. Four hours later, we sampled the air inside the sealed jar with a needle and syringe, and measured CO₂ concentration using a Micro-GC (Chrompack Inc., Middelburg) equipped with a TCD and He as carrier gas. Room temperature was monitored throughout the assay period, and ambient CO₂ concentration was measured each time a sampling jar was sealed. For each jar, ambient CO₂ concentration was subtracted from sampled CO₂ concentration and the difference was adjusted according to Ideal Gas Laws and centered at 22 °C using $Q_{10} = 2$. We estimated MB by substrate-induced respirometry (SIR). The second set of humus subsamples were transferred into 500 mL plastic containers and amended with ground and sieved (65 µm) glucose (1000 µg C g⁻¹) (Bradley and Fyles, 1995). The amendments were applied with talc as 500 mg mixtures that were dispersed throughout the humus subsamples using a kitchen handmixer with one beater. Subsamples were then transferred into 125 mL gas sampling jars and left uncovered for 100 min to reach optimum SIR rates (Anderson and Domsch, 1978). Subsamples were then flushed for 5 min with ambient air, sealed for 30 min, and headspace air was analysed for CO₂ concentration using a GC (as described). SIR rates were converted to MB using equations derived by Anderson and Domsch (1978).

Seedling growth and foliar nutrient concentrations

Seedling height and ground-level diameter of tagged seedlings were measured immediately after planting (June 2000), and again in October 2005 and 2006. From these measurements, we calculated the relative growth rate (RGR) of seedlings from 2005 to 2006. In October 2006, we collected current-year needles from the upper third portion of untagged seedlings. Samples were a composite of needles from three terminal branchlets collected from three seedlings in each sub-plot. Samples were freeze-dried, a subsample of 250 needles was weighed, ground to pass a 40 mesh screen, and a 200 mg subsample was digested at 340 °C in a H₂SO₄/H₂O₂/Se solution (Walinga *et al.*, 1995). Digests were analyzed colorimetrically

for total Kjeldhal-N using a FIA Quickchem spectrophotometer (Lachat instruments Inc., Milwaukee, WI), and for total P, K, Ca, and Mg by ICPA, as described.

Statistical analysis

Forest floor data were analyzed using three-way ANOVA based on mixed model procedures. We considered presence/absence of *Kalmia*, presence/absence of fertilizer, and sampling date as fixed effect variables, whereas blocks were considered a random effect variable. Based on the Shapiro–Wilk's statistic ($p < 0.05$), we used natural-log (mineralized N and Melhlich-3 extractable K) or square-root (basal respiration rate) transformations to meet assumptions of normality. Given that no interaction was found between sampling date and the other experimental factors, data were pooled across dates and re-analyzed, along with foliar nutrient concentrations and seedling measurements, using two-way ANOVAs for mixed models. The Tukey HSD test was used to separate treatment means when ANOVAs showed significant effects ($p < 0.05$). We performed all analyses using the NLME and STATS packages of the R software (R Development Core Team, Vienna).

1.4 Results

Two-way ANOVAs and subsequent pairwise comparisons revealed significantly higher extractable-P ($p < 0.05$) and mineralizable-N ($p < 0.001$), as well as significantly lower extractable-K ($p < 0.001$), total-K ($p < 0.001$), basal respiration ($p < 0.001$) and microbial biomass ($p < 0.01$), in plots without *Kalmia* than in those where *Kalmia* had been maintained for 6 years (Table 1). NO_3^- -N concentrations were below our instrument's detection limit. Fertilization had no effect on humus nutrient concentrations.

Table 1. Humus nutrient concentrations and respirometry measurements that were significantly affected by the removal of *Kalmia*; values are means (\pm S.E.) pooled across fertilizer treatments and dates (n=36). Values on the same line followed by different lower case letters differ significantly ($p < 0.05$) according to Tukey HSD test.

Humus variable	<i>Kalmia</i> maintained	<i>Kalmia</i> removal
Extractable-P ($\mu\text{g g}^{-1}$)	36.1 (1.4) b	40.8 (1.7) a
Extractable-K ($\mu\text{g g}^{-1}$)	363 (11) a	301 (9) b
Total-K ($\mu\text{g g}^{-1}$)	761 (16) a	670 (13) b
Mineralizable NH_4^+ -N ($\mu\text{g g}^{-1}$)	4.5 (0.8) b	19.4 (2.2) a
Basal respiration ($\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{h}^{-1}$)	2.2 (0.2) a	1.4 (0.2) b
Microbial biomass ($\text{mg CO}_{\text{mic}} \text{g}^{-1}$)	7.9 (0.5) a	5.6 (0.5) b

Height of seedlings in October 2005 and 2006, as well as relative growth rates in 2006, are given in Table 2. Seedlings in fertilized plots were significantly taller than in control plots ($p < 0.05$), but their relative growth rates in 2006 did not differ significantly. Seedlings in plots where *Kalmia* had been removed (with or without fertilization) were significantly taller ($p < 0.001$), and their relative growth rates higher ($p < 0.001$), than in fertilized and control treatment plots. Accordingly, needle mass was significantly ($p < 0.001$) higher in plots where *Kalmia* had been removed (Table 2). The combination of fertilization and *Kalmia* removal

Table 2. Average seedling height (\pm S.E.) of each treatment in October 2005 and 2006, as well as relative growth rate (RGR), average needle mass and needle P concentrations in 2006. Values on the same line followed by different lower case letters differ significantly ($p < 0.05$) according to Tukey HSD test.

Variable	Control	Fertilized	<i>Kalmia</i> removal	Fertilized + <i>Kalmia</i> removal
Height 2005 (cm)	54 (3) c	73 (4) b	132 (7) a	149 (4) a
Height 2006 (cm)	57 (4) c	76 (5) b	147 (10) a	167 (6) a
RGR ($\times 10^2$)	4.7 (1.0) b	4.9 (0.6) b	10.3 (2.3) a	11.1 (2.2) a
Needle mass (mg)	1.09 (0.06) b	1.13 (0.09) b	1.54 (0.13) a	1.50 (0.06) a
Needle P (mg g^{-1})	1.22 (0.05) b	1.29 (0.06) b	1.39 (0.04) ab	1.45 (0.04) a

resulted in significantly ($p < 0.05$) higher needle P concentrations than in the fertilized or control treatments (Table 2). Treatments had no significant effects on the concentration of the remaining nutrients.

1.5 Discussion

Our study showed that *Kalmia* cover as low as 18% could significantly and substantially reduce black spruce growth. Taken collectively, our results also confirmed that the eradication of this *Kalmia* over 6 years not only improved the growth and nutrition of black spruce seedlings, but also resulted in fundamental changes in the biochemical properties of the forest floor. This suggests that *Kalmia* not only competes directly for resources with black spruce, but also interferes indirectly with black spruce by modifying nutrient cycling and energy fluxes in soil. From a forest management standpoint, it is notable that these indirect effects do not linger many years after *Kalmia* has been eradicated. Our results also showed an improvement of black spruce growth with fertilization, without the same attendant effects on soil processes.

The eradication of *Kalmia* resulted in bigger seedlings with higher concentrations of foliar P. The mechanisms by which *Kalmia* interferes with the P nutrition of black spruce seedlings may be numerous. Our soil tests showed, for example, that the concentrations of extractable P in the forest floor were lower in the presence of *Kalmia*, suggesting direct root competition for this nutrient. This is corroborated by studies that have shown much greater root biomass and nutrient uptake (per unit area) by *Kalmia* compared to black spruce (Thiffault *et al.*, 2004). While our study did not specifically test for indirect interference of *Kalmia* in controlling P supply to black spruce seedlings, past studies have provided evidence that this may also be the case. For example, Yamasaki *et al.* (1998) provided evidence that *Kalmia* could inhibit mycorrhizal colonization of black spruce roots and concomitantly reduce P

uptake by the seedlings (Read *et al.*, 2004). Nierop *et al.* (2006) suggested that *Kalmia*-induced N deficiency reduced microbial P uptake, resulting in lower P mineralization. Lastly, Joannis *et al.* (2007) showed compelling evidence that tannins released by *Kalmia* litter could significantly reduce the activity of acid phosphatase enzyme in the forest floor.

The presence of *Kalmia* increased the concentration of extractable K in the forest floor. In contrast to P, K is a very mobile nutrient that cycles rapidly through the soil–plant system in simple ionic form. Extractable K in the forest floor is, therefore, dependent on the flux of litter, regardless of species. Given that needle longevity of black spruce varies between 5 years (Reich *et al.*, 1999) and 13 years (Hom and Oechel, 1983), very little litter had actually fallen on the forest floor in plots where *Kalmia* had been eradicated, at time of sampling (i.e., 6 years after planting). It is, therefore, possible that once spruce trees attain a certain age and size on these plots, that we see a shift towards higher extractable K on *Kalmia*-eradicated plots.

Measuring net N mineralized in the absence of roots is a means of comparing forest floor samples solely on the basis of differences in their chemical quality. Hence, the aerobic incubation assay allowed us to determine that *Kalmia* exerted indirect interference on seedling N uptake. As soil N is often cited as the growth-limiting nutrient in boreal forests (e.g. Aber and Melillo, 2001), it is plausible that the higher growth rates of seedlings in *Kalmia*-eradicated plots were related to the forest floor's ability to supply N. Although needle N concentrations in these plots were not significantly different from other treatment plots, the needle mass of each seedling was much larger, thus more N was available to seedlings per unit volume of soil. Lower N mineralization rates in the presence of *Kalmia* is often explained as the result of litter tannins binding to, and sequestering, soil proteins that would otherwise be mineralized (Bradley *et al.*, 2000a), or litter tannins inhibiting important soil enzymes such as amidase, that are involved in the mineralization of N (Joannis *et al.*, 2007). However, this may not be the only plausible explanation, as Kraus (2002) reported, certain litter tannins may also act as C substrates for microbial growth. If such was the case, then

Kalmia tannins would reduce N mineralization by stimulating microbial immobilization. The fact that we found higher indices of available C (i.e., BR and MB) in plots with *Kalmia* corroborates this explanation. On the other hand, both Bradley *et al.* (2000a) and Joannis *et al.* (2008) provided evidence that *Kalmia* tannins do not increase soil available C. The higher indices of available C in the presence of *Kalmia* could, therefore, be simply attributed to a more developed root system leading to higher rhizodeposition rates. The way to test whether soil available C controlled soil N mineralization on our sites is to try to detect a negative correlation between indices of available C and mineral N during long-term (e.g. 12 months) laboratory incubations (e.g., Hart *et al.*, 1994).

Although seedlings on fertilized plots were significantly taller than on control plots, fertilization did not have a significant effect on soil processes nor on seedling nutrient status, which suggests that the effect of fertilization was confined to the first few years following treatment application. Although slow release fertilizers are intended to prolong the period of nutrient release, Rose and Ketchum (2003) showed that the period in which they confer a growth advantage to tree seedlings is limited to the first few years following planting. This is corroborated by measurements of relative growth rates (i.e., RGR = the slope of growth increments) in 2006, which were similar in both the fertilized and control plots. Perhaps once the trees on fertilized plots attain a certain age and start contributing significantly to annual litterfall, we may then begin to see a second wave of fertilizer-induced changes to soil processes with a positive feedback loop onto RGR. This was shown to be the case, for example, with soil and needle material in regenerating western redcedar–western hemlock stands that were sampled 13-y after fertilization (Bradley *et al.*, 2000b) to counter the effects of salal, another invasive ericaceous shrub. In that study, fertilizer was broadcast applied, whereas here we used buried fertilizer bags. It is possible that high fertilizer salt concentrations in the rhizosphere increased water stress to seedlings (Jacobs *et al.*, 2004), thereby mitigating growth and, by implication, any positive feedback onto soil properties.

1.6 Conclusion

Our study has provided some insight into the mechanisms responsible for *Kalmia*-induced growth check of black spruce seedlings. We confirmed reduced humus quality (measured by NH_4^+ -N mineralization and extractable-P) when *Kalmia* was present, compared to when it was completely eradicated. Thus, eradication of *Kalmia* changed humus biochemical cycles, nutrient status, and growth rates of seedlings, and those effects were still perceptible 6 years after the treatment. Given that these positive effects depend not only on the eradication of *Kalmia*, but also on the maintenance of that eradication, it is possible that the modest *Kalmia* cover (9% at time of planting and 18% 6 years later) required to substantially reduce black spruce seedling growth could have been restored if we not manually clipped the plots each year. Our results suggest, therefore, that the periodic use of herbicides could be foreseen as a possible means of restoring adequate growth rates on these sites, as suggested by English and Titus (2000). The Government of Quebec prohibits, however, that application of herbicides on forest cutovers. Building from Thiffault *et al.* (2005), a forthcoming paper will address, therefore, mechanical means for staving off the negative effects of *Kalmia* on the growth of regenerating black spruce seedlings.

1.7 Acknowledgments

We thank J. Carignan, S. Lemay, É. Gaillard, A. Anctil, and M. Bergeron for technical assistance. We acknowledge the collaboration of F. Colas and the staff of the Laboratoire de chimie organique et inorganique of the Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec (MRNF). This study was funded by a NSERC Discovery Grant awarded to R. Bradley and is part of MRNF project no 112310031.

1.8 Reference

Aber, J.D., and Melillo, J.M. (2001). *Terrestrial Ecosystems* (New York: Harcourt Academic Press).

Anderson, J.P.E., and Domsch, K.H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215-221.

Bradley, R.L., and Fyles, J.W. (1995). A kinetic parameter describing soil available carbon and its relationship to rate increase in C mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 27, 167-172.

Bradley, R.L., Titus, B.D., and Preston, C.M. (2000a). Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1227-1240.

Bradley, R.L., Titus, B.D., Preston, C.M., and Bennett, J. (2000b). Improvement of nutritional site quality 13 years after single application of fertiliser N and P on regenerating cedar-hemlock cutovers on northern Vancouver Island, BC. *Plant Soil* 223, 195-206.

Damman, A.W.H. (1971). Effect of vegetation changes on the fertility of a Newfoundland forest site. *Ecol. Monogr.* 41, 253-270.

English, B., and Titus, B.D. (2000). Controlling *Kalmia* with a Vision + Sylgard 309 Mixture (Corner Brook: Newfoundland Forest Service, Silviculture and Research Division).

Hart, S.C., Nason, G.E., Myrold, D.D., and Perry, D.A. (1994). Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest-the carbon connection, *Ecol.* 75, 880-891.

Hom, J.L., and Oechel, W.C. (1983). The photosynthetic capacity, nutrient content, and nutrient-use efficiency of different needle age-classes of black spruce (*Picea mariana*) found in interior Alaska, *Can. J. For. Res.* *13*, 834-839.

Jacobs, D.F., Rose, R., Haase, D.L., and Alzugaray, P.O. (2004) Fertilization at planting impairs root system development and drought avoidance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings, *Ann. For. Sci.* *61*, 643-651.

Joanisse, G.D., Bradley, R.L., Preston, C.M., and Munson, A.D. (2007) Soil enzyme inhibition by condensed litter tannins may drive ecosystem structure and processes: the case of *Kalmia angustifolia*. *New Phytol.* *175*, 535-546.

Joanisse, G.D., Bradley, R.L., and Preston, C.M. (2008). Do tannin-rich plant communities occurring on highly acidic soils increase the DON:DIN ratio? *Biol. Fert. Soils.* *44*, 903-907.

Kaspar, T.C., and Bland, W.L. (1992). Soil temperature and root growth. *Soil Sci.* *154*, 290-299.

Kraus, T.E.C. (2002). Tannins and nutrient dynamics in forest soils: plant-litter-soil interactions. Ph.D. thesis, University of California, Davis.

Mallik, A.U. (1987). Allelopathic potential of *Kalmia angustifolia* to black spruce (*Picea mariana*). *For. Ecol. Manage.* *20*, 43-51.

Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 soil test extractant: a modification of Mehlich 2, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* *15*, 1409-1416.

Nierop, K.G.J., Verstraten, J.M., Tietema, A., Westerveld, J.W., and Wartenbergh, P.E. (2006). Short- and long-term tannin induced carbon, nitrogen and phosphorus dynamics in Corsican pine litter. *Biogeochem.* *79*, 275-296.

Read, D.J. (1996). The structure and function of the ericoid mycorrhizal root. *Ann. Bot.* 77, 365-374.

Read, D.J., Leake, J.R., and Perez-Moreno, J. (2004). Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Can. J. Bot.* 82, 1243-1263.

Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Walters, M.B., Vose, J.M., Gresham, C., Volin, J.C., and Bowman, W.D. (1999). Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes, *Ecol.* 80, 1955-1969.

Rose, R., and Ketchum, J.S. (2003). Interaction of initial seedling diameter, fertilization and weed control on Douglas-fir growth over the first four years after planting. *Ann. For. Sci.* 60, 625-635.

Saucier, J.P., Grondin, P., Robitaille, A., Gosselin, J., Morneau, C., Richard, P.J.H., Brisson, J., Sirois, L., Leduc, A., Morin, H., *et al.* (2009). *Écologie forestière. Manuel de foresterie*, 2nd Edn., Ordre des ingénieurs forestiers du Québec (Québec: Éditions Multimondes), pp. 165-316.

Soil Classification Working Group. (1998). *The Canadian System of Soil Classification*, 3rd ed. Agriculture and Agri-Food Canada Publ. 1646. (Ottawa: NRC Research Press).

Thiffault, N., Titus, B.D., and Munson, A.D. (2004) Black spruce seedlings in a *Kalmia-Vaccinium* association: microsite manipulation to explore interactions in the field. *Can. J. For. Res.* 34, 1657-1668.

Thiffault, N., Titus, B.D., and Munson, A.D. (2005). Silvicultural options to promote seedling establishment on *Kalmia-Vaccinium*-dominated sites. *Scand. J. For. Res.* 20, 110-121.

Thiffault, N., and Jobidon, R. (2006) How to shift unproductive *Kalmia-Rhododendron* heath to productive conifer plantation. *Can. J. For. Res.* 36, 2364-2376.

Walinga, I., van der Lee, J.J., Houba, V.J.G., van Vark, W., and Novozamsky, I. (1995). Plant Analysis Manual (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers).

Yamasaki, S.H., Fyles, J.W., and Titus, B.D. (2002) Interactions among *Kalmia angustifolia*, soil characteristics, and the growth and nutrition of black spruce seedlings in two boreal Newfoundland plantations of contrasting fertility. *Can. J. For. Res.* 32, 2215-2224.

Yamasaki, S.H., Fyles, J.W., Egger, K.N., and Titus, B.D. (1998) The effect of *Kalmia angustifolia* on the growth, nutrition, and ectomycorrhizal symbiont community of black spruce, *For. Ecol. Manage.* 105, 197-207.

CHAPITRE 2

L'IMPORTANCE RELATIVE DU STRESS HYDRIQUE ET DU STRESS EN AZOTE DIRIGE LA VARIATION INTRASPÉCIFIQUE DANS LA RELATION SLA-RGR : UNE ÉTUDE DE CAS DE L'ÉPINETTE NOIRE CROISSANT AVEC LE *KALMIA ANGUSTIFOLIA*.

Référence : LeBel, P., Thiffault, N., Bradley, R.L. Relative importance of water versus nitrogen stress drives the intraspecific variation in the SLA-RGR relationship: a case study of *Picea mariana* growing with *Kalmia angustifolia*. (en préparation)

Une approche écophysiological permet d'évaluer quelle ressource du sol limite le plus la croissance de l'épinette noire sous l'influence d'une compétition avec le *Kalmia*. Je me suis donc intéressé à l'acclimatation physiologique et morphologique de l'épinette noire face aux contraintes nutritionnelles et hydriques que j'ai corrélées avec le RGR.

La corrélation négative entre le SLA et le RGR sur les parcelles où le *Kalmia* a été éradiqué indique que les semis d'épinette noire s'acclimatent morphologiquement au stress hydrique en diminuant leur SLA de façon à accroître leur WUE. La corrélation positive entre le SLA et le RGR sur les parcelles où le *Kalmia* était maintenu indique que les semis d'épinette noire s'acclimatent morphologiquement au stress en N en augmentant leur SLA de façon à accroître leur PNUE. Une hausse du PNUE n'était toutefois observée que lorsque le feuillage était réhydraté. Ceci suggère donc qu'en plus d'imposer un stress nutritionnel, le *Kalmia* peut aussi imposer un stress hydrique sur le terrain. Globalement, l'interprétation de ces résultats est que les variations intraspécifiques dans la relation entre la SLA et le RGR seraient dues à l'importance relative de la déficience en N et de la déficience en eau du sol.

J'ai échantillonné la croissance des arbres ainsi que les échanges gazeux des semis d'épinette noire sur un dispositif expérimental établi sept ans plus tôt (2000) en Abitibi. J'ai fait la préparation des échantillons foliaires ainsi que les extractions chimiques avec l'aide de deux stagiaires (Alexandre Anctil et Mélanie Bergeron, Université de Sherbrooke). Le Laboratoire de chimie organique et inorganique du Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec a réalisé les analyses chimiques. J'ai compilé les données et j'ai effectué toutes les analyses statistiques sous les conseils du Dr. Bill Shipley. La rédaction du manuscrit a été réalisée en collaboration avec mon directeur, le Dr. Robert Bradley, ainsi que mon co-directeur, le Dr. Nelson Thiffault. Le Dr. Bill Shipley, le Dr. Al Mitchell et la Dre. Alison Munson ont apporté des commentaires et des suggestions à une version préliminaire de ce manuscrit.

2.1 Abstract

- We measured specific leaf area (SLA), gas exchanges and nitrogen content of current year needles of black spruce seedlings growing on a *Kalmia* dominated site. From these measurements, we determined photosynthetic nitrogen (PNUE) and water use (WUE) efficiencies.
- We made leaf gas exchange measurements directly on the seedlings as well as on rehydrated twigs to alleviate the influence of water stress (low Ψ) on stomatal conductance. We also measured the relative growth rate (RGR) and SLA of needles in order to elucidate the mechanisms that control the acclimation of black spruce seedlings to water and nutrient stress.
- The experimental design consisted of black spruce seedlings that had been growing for 7–8 years on a clearcut site, using plots ($n = 6$) where *Kalmia* had either been removed or maintained.
- We showed a negative correlation between SLA and RGR on plots where *Kalmia* had been removed and showed a positive correlation between SLA and RGR on plots where *Kalmia* had been maintained.
- We conclude that seedlings grown on plots without *Kalmia* have acclimated morphologically to a size-related water stress by decreasing SLA in order to increase their WUE. We also conclude that seedlings grown on *Kalmia* plots have acclimated morphologically to nitrogen stress by increasing SLA in order to increase their PNUE. However, we observed higher PNUE only on rehydrated twigs. This suggests that while *Kalmia* may impose a nitrogen stress, it may also affect seedlings growth by creating a significant water stress.

2.2 Introduction

Variations in a given plant trait can be attributed to interspecific differences arising from natural selection, or to intraspecific variations arising from phenotypic plasticity in response to environmental conditions. As a general rule, species that compete well in resource-poor environments have lower relative growth rates (RGR) than those that grow in resource-rich environments (Aerts, 1999). This is because leaf attributes that favour leaf longevity and nutrient conservation also tend to diminish specific leaf area (SLA). Although there is some debate as to whether SLA directly affects RGR (Osone *et al.*, 2008), the positive correlation between these two traits remains consistent across species (e.g. Lambers and Poorter, 1992). Within a given species, however, the relationship between RGR and SLA does not appear to be as robust, as studies have either found negative (Li *et al.*, 1998), positive (Meerts and Garnier, 1996), or an absence of direct relationships (Biere, 1996) between these two traits. Elucidating the mechanisms that control intraspecific differences in the SLA-RGR relationship is important for understanding how species acclimate across environmental gradients.

For many plant species, the environmental gradients that most affect RGR are the variations in soil nitrogen (N) or soil water availability. Plants respectively acclimate to N or moisture deficiencies by increasing photosynthetic nitrogen use efficiency (PNUE) (Pons *et al.*, 1994) or water use efficiency (WUE) (Letts *et al.*, 2009). High SLA results in low internal shading and low CO₂ diffusion limitations (Reich *et al.*, 1998) in the leaf, which increases PNUE. Hence, individuals growing in nitrogen poor environments can improve RGR by increasing SLA. However, higher SLA results in greater leaf transpiration (E), thereby increasing sensitivity to water stress. Water limitations thus tend to reduce SLA (Niinemets, 2001), which leads to a greater WUE (Hultine and Marshall, 2000). Hence, individuals growing in

water deficient environments can improve RGR by decreasing SLA. We thus hypothesize that intraspecific variations in the SLA-RGR relationship are due to the relative importance of soil N versus water stress.

In order to test this hypothesis, we performed an experiment where we measured leaf gas exchange and SLA of black spruce seedlings that had been growing in the presence or absence of *Kalmia angustifolia* (referred to hereafter as *Kalmia*) for 6-7 years. Previous work on these plots had shown that *Kalmia* induced severe N deficiencies in black spruce seedlings (LeBel *et al.*, 2008). We also monitored soil water content and compiled nutritional and measuremental data. In order to corroborate our hypothesis, gas measurements were made directly on the trees, as well as on twigs that had been re-hydrated to alleviate the influence of water stress (low Ψ) on stomatal conductance.

2.3 Materials and methods

Study area

The study was conducted on a clearcut site near Senneterre, Québec (48°29'N, 76°55'W), in the balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) – paper birch (*Betula papyrifera* Marsh.) bioclimatic domain described by Saucier *et al.* (2009). Mean annual temperature is 2.5 °C, mean annual precipitation is 950 mm, and the growing season is typically 150–160 days long. The soil is a Humo-Ferric Podzol (Soil Classification Working Group, 1998), which formed on a well drained fluvioglacial deposit. A forest floor humus layer (~8 cm) overlays the loamy-sand mineral horizon. The previous stand, mainly composed of black spruce and jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.), originated from a wildfire and was 70 years old when

harvested in the summer of 1999. *Kalmia* dominated the remnant vegetation, which also included other ericaceous shrubs (*Vaccinium* spp.) and lichens (*Cladina* spp.).

Experimental design

The effects of *Kalmia* eradication (main plot factor) and fertilization at the time of planting (subplot factor) were tested in a complete block, six times replicated split-plot experimental layout over a 0.2 ha area. In June 2000, we planted 20 containerized one year old black spruce seedlings (28.7 cm \pm 4.2 cm height; 3.3 mm \pm 0.5 mm dia.) at 1 m spacings (complete grid of 4 rows of 5 seedlings) in each main plot (30 m²). *Kalmia* eradication was initiated in August 1999 with the application of a 2% (v/v) aqueous glyphosate herbicide solution (Monsanto Canada Inc., Winnipeg, Manitoba), combined with a 0.25% (v/v) Sylgard 309® silicone surfactant (Dow Corning Canada Inc., Mississauga, Ontario). From 2000 to 2007, we manually removed *Kalmia* resprouting in these plots by clipping. *Kalmia* was kept undisturbed in the other main plot. Each main plot was equally divided into two subplots (15 m²), one that received mineral fertilizer at time of planting and the other left unfertilized. We applied fertilizer as 9 g of polymer-coated slow-release N-P-K (26-12-6) that was contained in a Silva-Pak teabag (Reforestation Technologies International, Salinas, CA) buried 5 cm deep and 2 cm to the side of each seedling. Five seedlings in each subplot were tagged for long-term growth measurements; remaining seedlings were used for destructive sampling (see below).

Soil water content and precipitation

From June to October 2006, volumetric soil water content was monitored using CS615 time domain reflectometry (TDR) probes (Campbell Scientific, Edmonton, Alberta). One TDR

probe per block was disposed in five of the six replicate blocks in the centre of each main plot, along the boundary of the two subplots. TDR probes were inserted at a 30° angle, with waveguides completely inserted into the uppermost 15 cm of mineral soil. Measurements were made every 15 min and data were averaged on an hourly basis. Daily precipitation was monitored using a TE 525M tipping bucket rain gauge (Texas Electronics, Dallas, TX) located in the centre of the experimental site. Data were recorded with a CR10 data logger (Campbell Scientific, Edmonton, Alberta). For logistical and technical considerations, volumetric soil water content values measured in 2007 could not be used in this study.

Seedling growth and foliar analyses

In October 2005, 2006, and 2007, we measured the height and ground-level stem diameter of tagged seedlings in each of the 24 subplots. From these measurements, we calculated the relative growth rate ($RGR = (\ln \text{height}_{[X]} - \ln \text{height}_{[X-1]}) / (\text{time}_{[X]} - \text{time}_{[X-1]})$) (Hunt, 1990) of seedlings for 2006 and 2007. In October 2006 and 2007, one twig of current year needles was collected from the upper third portion of three untagged seedlings in each subplot. We determined needle total surface area, length and width with a WinSeedle optical image analysis system (Régent Instruments, Quebec City, Québec). Needles were then weighed for fresh mass, freeze-dried and reweighed for dry mass. Specific leaf area (SLA) was calculated by dividing leaf area by the dry mass. Samples were ground to pass through a 40-mesh screen, and a 200 mg subsample was digested at 340 °C in a H₂SO₄/H₂O₂/Se mixture (Walinga *et al.*, 1995). Total Kjeldahl-N in the digests was determined colorimetrically using a Lachat Quichem flow-injection analyzer (Zwellenger Instruments Inc., Milwaukee, WI).

Needle gas exchange

Needle gas exchange measurements under saturating light conditions ($1000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) were performed with a portable LCpro+ open-path photosynthetic system (ADC BioScientific Ltd., Great Amwell, UK). Light was provided by mixed red/blue light emitting diodes (LED) within a chamber specifically designed for conifer needles. Average ambient CO_2 concentration was $378 \pm 2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ in all sampling dates. On three dates in 2006 (10 July, 7 August, 12 September), we performed gas exchange measurements on current year needles of one twig located in the upper third portion of one seedling in each subplot. Measurements were carried out between 8:30 and 11:30 a.m. under sunny or partially cloudy conditions. Shoots were immediately clipped and measured for xylem water potential (Ψ) using a pressure bomb PMS 610 (PMS Instrument Co., Albany, NY).

On the same subject, we performed a second gas exchange experiment on three dates in 2007 (3 July, 7 August, 6 September) using excised and rehydrated shoots prior to measurements as described by Mitchell and Hinckley (1993) to alleviate the influence of water stress (low Ψ) on stomatal conductance. One twig was clipped from the upper one-third portion of one seedling in each subplot. Shoots were placed in water filled vials and left to rehydrate for 30 minutes following excision. Gas exchange measurements were performed on current year needles of the shoots within 15 minutes following rehydration. We conducted preliminary tests using excised and rehydrated shoots to confirm that they consumed water contained in the vials and maintained optimal gas exchange for 2 hours at a Ψ of -0.5 MPa.

For all sampling dates, ambient temperatures were in the optimal range for black spruce (18 to 24 °C) (Lamhamedi and Bernier, 1994) and vapour pressure deficit (VPD) ranged from 0.3 to 0.9 KPa, which is below the critical values for spruce species (Grossnickle, 2000). For all seedlings in both years, water use efficiency (WUE) was calculated by dividing net

photosynthesis (A) by transpiration (E), while stomatal conductance for CO_2 (g_c) was calculated according to Farquhar and Sharkey (1982). All needles used for gas exchange measurements were kept at 4 °C until analyzed for specific leaf area. We report A , g_c and E on a dry mass basis.

Statistical analyses

We tested the effects of *Kalmia* removal on soil water content using ANOVA for repeated measures, assuming a first-order autoregressive covariance structure (Cressie, 1991). The effects of presence/absence of *Kalmia*, presence/absence of fertilizer and sampling date (when applicable) and their interaction terms, on seedling height, Ψ , WUE, SLA and foliar N concentration were tested for each year using two or three-way ANOVAs based on mixed model procedures. In both experiments, we tested the equality of slopes and intercepts with analysis of covariance (ANCOVA) using mixed models for the relationships between A vs foliar N, and A vs g_c . We used the same approach to test the relationship between average year SLA and RGR, with data pooled over both years and fertilization treatments. In all analyses, we considered blocks and sampling dates (when applicable) as random effect variables. Seedling height was used as a covariate in the models to control for allometrically related leaf traits. When no significant interactions were found between sampling dates and seedling height, data were pooled across date. Post hoc comparisons of significantly different means were performed using Tukey's HSD test.

Before each analysis, we checked ANOVA assumptions using Shapiro-Wilk's normality test and standard graphical approaches. We performed all analyses using the NLME and MULTCOMP packages of the R statistical software (R Development Core Team, Vienna). Unless otherwise stated, $P < 0.05$ was used as the threshold of significance.

2.4 Results

Seven- and eight-year-old seedlings growing in fertilized plots were significantly taller than seedlings established in non-fertilized plots where *Kalmia* had been maintained, but significantly shorter than those in plots where *Kalmia* had been removed (Table 3). In both years, SLA was significantly lower in plots where *Kalmia* had been removed, compared to plots where *Kalmia* was maintained (Table 3), whereas treatments had no effect on foliar N concentration (data not shown). When gas exchange measurements were made directly on the trees (2006), we found no treatment effect on WUE. *Kalmia* removal and fertilization had no effect on Ψ , with values (-1.5 to -2.5 Mpa) in the range of critical water potentials for black spruce (Lamhamedi and Bernier, 1994). When twigs were rehydrated prior to gas exchange measurements (2007), WUE was significantly higher in plots where *Kalmia* had been removed, compared to plots where *Kalmia* was maintained (Table 3).

When data were pooled over both years, we found a significant negative relationship between average annual SLA and RGR in plots where *Kalmia* had been removed, but a significant positive relationship between these two variables in plots where *Kalmia* had been maintained (Fig. 2).

In both gas exchange trials, there was a significant positive linear relationship between A and foliar N concentration (Fig. 3). When measured directly on trees, ANCOVA revealed no significant differences in the slopes and the intercepts for plots where *Kalmia* had been maintained and those where *Kalmia* had been removed (Fig. 3A). When twigs were rehydrated, ANCOVA revealed significantly higher slope and lower intercept for plots where *Kalmia* had been maintained compared to those where *Kalmia* had been removed (Fig. 3B).

Table 3. Height, specific leaf area (SLA), and water-use efficiency (WUE) of *Picea mariana* seedlings planted in 2000 on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Data were pooled across sampling dates in each year. Mean values (\pm SE) within each line followed by a different lower case letter are significantly different ($P<0.05$) according to Tukey's HSD test.

	<i>Kalmia</i> maintained	Fertilized	<i>Kalmia</i> removed	Fert. + <i>Kalmia</i> removed
<i>Directly on tree (2006)</i>				
Height (cm)	57 (4) c	76 (5) b	147 (10) a	167 (6) a
SLA (cm ² ·g ⁻¹)	58.2 (2.0) a	56.4 (1.1) a	50.8 (2.2) b	46.7 (1.9) b
WUE (mmol CO ₂ ·mol H ₂ O ⁻¹)	4.4 (0.5) a	4.6 (0.6) a	5.1 (0.5) a	4.8 (0.5) a
<i>Rehydrated twigs (2007)</i>				
Height (cm)	64 (4) c	84 (7) b	156 (17) a	174 (10) a
SLA (cm ² ·g ⁻¹)	64.8 (2.4) a	65.7 (1.4) a	55.2 (2.3) b	51.4 (1.7) b
WUE (mmol CO ₂ ·mol H ₂ O ⁻¹)	3.5 (0.4) b	3.1 (0.3) b	4.2 (0.3) a	4.0 (0.2) a

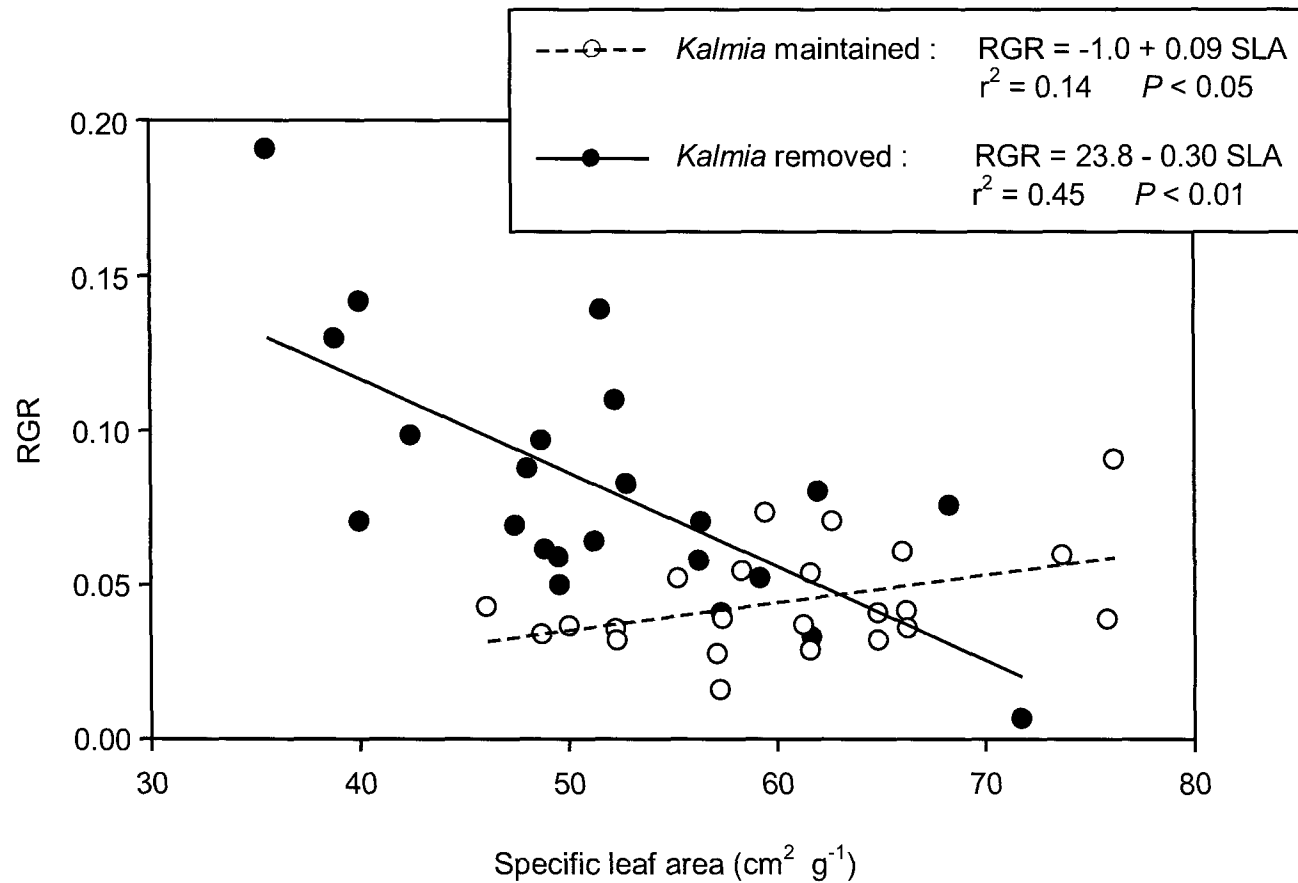


Figure 2. The relationship between relative growth rate (RGR) measured in October and average year specific leaf area (SLA) of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Data are pooled across fertilizer and treatments sampling years (2006 and 2007).

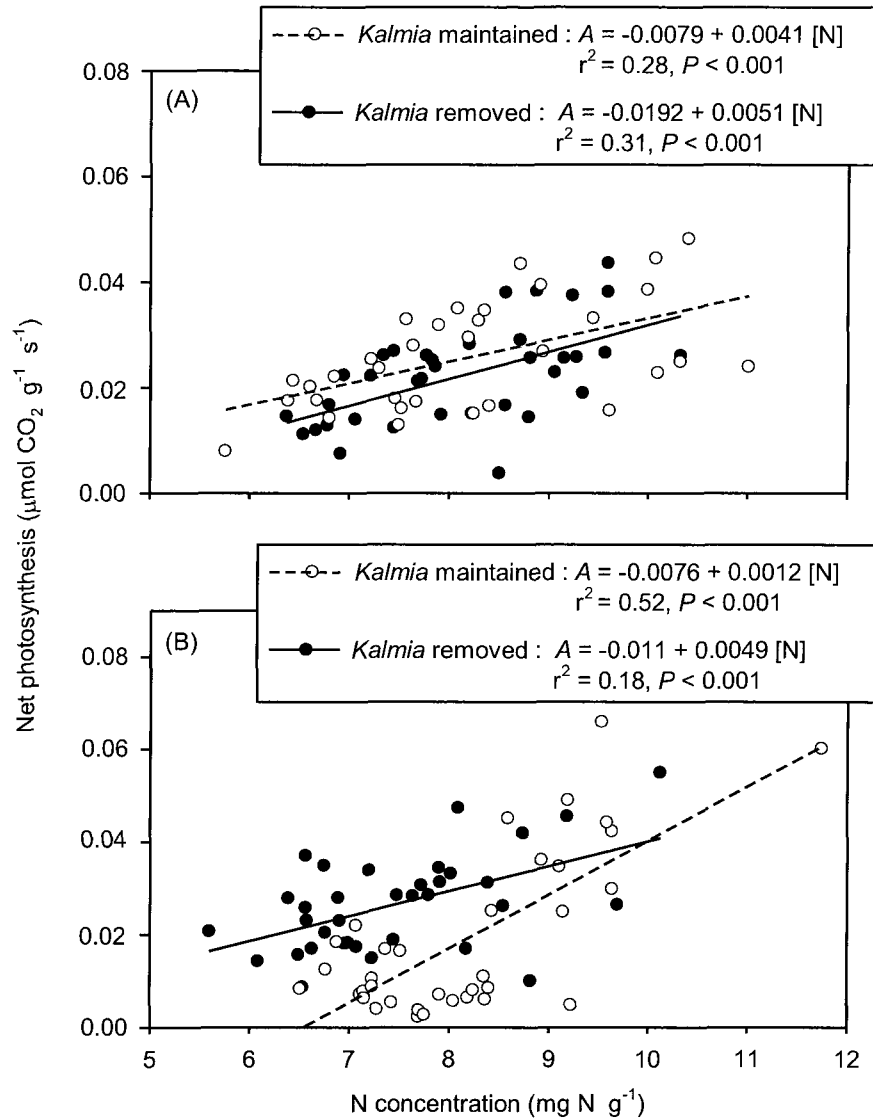


Figure 3. Net photosynthesis as a function of needle N concentration of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Frame (A) presents data from 2006 whereby gas exchange measurements were made directly on the seedlings; frame (B) presents data from 2007 whereby twigs were excised and rehydrated prior to gas exchange measurements. Data are pooled across fertilizer treatments and sampling dates.

Repeated measures analysis of variance confirmed that soil water content in 2006 was significantly ($P = 0.04$) higher in plots where *Kalmia* had been removed (Fig. 4). The difference between treatments was especially marked in the second half of the growing season; moisture content in plots where *Kalmia* had been removed was consistently 20-30% higher than in plots where *Kalmia* had been maintained.

In both gas exchange experiments, there was a significant positive linear relationship between A and g_c (Fig. 5). When measured directly on trees, ANCOVA revealed a significantly higher slope for plots where *Kalmia* had been removed compared to those where *Kalmia* had been maintained (Fig. 5A). The opposite occurred in the 2007 experiment, when shoots were rehydrated; significantly higher slope and lower intercept were observed for plots where *Kalmia* had been maintained compared to those where *Kalmia* had been removed (Fig. 5B).

2.5 Discussion

Our data show that the relationship between SLA and RGR at an intraspecific level depends on environmental conditions in which the plant grows. The eradication of *Kalmia* resulted in bigger black spruce seedlings, probably as a result of increased N availability (LeBel *et al.*, 2008). Bigger seedlings should result in greater water stress because of higher total water demand and transpiring surface area (Stewart and Bernier, 1995). According to the model developed by Bloom *et al.* (1985), plants growing in an environment with relatively higher N availability than soil moisture availability, would be primarily moisture limited. In fact, bigger seedlings tended to have lower needle SLA (Table 3) presumably as a mean to increase instantaneous WUE (Letts *et al.*, 2009). The advantage of a reduced SLA on eradicated plots resulted in a negative SLA-RGR relationship in this competition-free environment (Fig. 2).

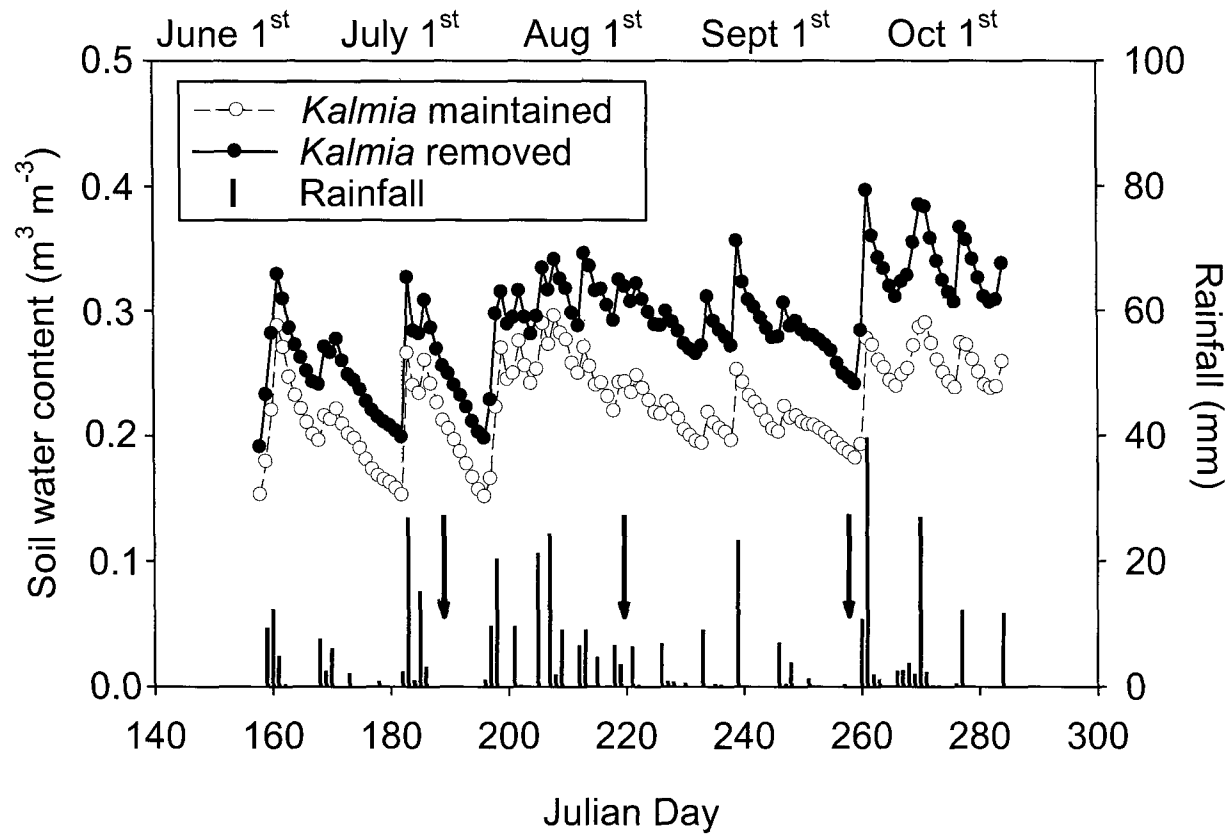


Figure 4. Soil volumetric water content and daily rainfall during the 2006 growing season on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Arrows indicate sampling dates for gas exchange measurements.

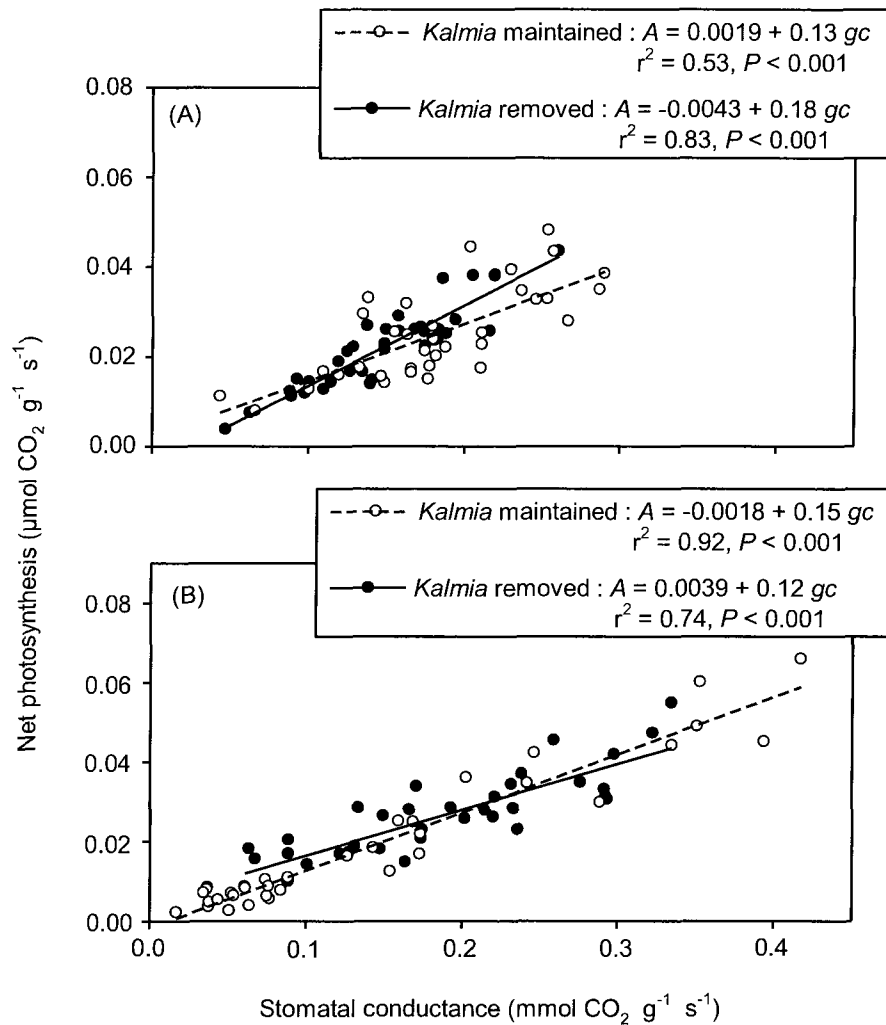


Figure 5. The relationship between net photosynthesis and stomatal conductance of *Picea mariana* seedlings growing in the presence (open circles and dashed line) or absence (bold circles and solid line) of *Kalmia angustifolia* on a clearcut site in Northwestern Quebec (Canada). Frame (A) presents data from 2006 whereby gas exchange measurements were made directly on the seedlings; frame (B) presents data from 2007 whereby twigs were excised and rehydrated prior to gas exchange measurements. Data are pooled across fertilizer treatments and sampling dates.

Seedlings that were kept in check by *Kalmia* were smaller and did have higher SLA presumably as a mean to increase its PNUE (Reich *et al.*, 1998). However, when we performed the gas exchange experiment directly on the trees, we failed to explain the positive SLA-RGR relationship by a higher PNUE (Fig. 3A). We observed, as expected, higher PNUE for seedlings growing with *Kalmia* only on rehydrated twigs (Fig. 3B). This suggests that while *Kalmia* may impose a nutrient stress to newly planted conifer seedlings, it may also affect their growth by creating a significant water-stress. Spruce seedlings acquire most of their water from the organic layer (Nilsson and Örlander, 1999) where roots of *Kalmia* proliferate. Thus, *Kalmia* would not only compete for soil N, but could also compete directly for other essential resources such as water. Indeed, soil moisture content during the 2006 growing season was constantly higher in plots where *Kalmia* had been removed (Fig. 4).

When we performed gas exchange experiment directly on the trees, we observed a greater limitation of g_c on A for seedlings growing in the presence of *Kalmia* (i.e. lower slope of regression lines in Fig. 5A). However, a higher SLA for gas exchange and mesophyll CO_2 conductance may allow the smaller trees growing in the presence of *Kalmia* a lower limitation of g_c on A (i.e. higher slope of regression lines in Fig. 5B) under ample water availability. Thus, the seedlings may adjust physiologically to *Kalmia* related water stress by reducing stomatal conductance in order to maximize WUE at the expense of PNUE (Lambers *et al.*, 1998). This conclusion may however be tenuous as the differences in slopes shown in Fig. 4, while being statistically different, may not be biologically significant. Nevertheless, the drop in instantaneous WUE in *Kalmia*-invaded plots relative to eradicated plots, following the rehydration of twigs (Table 3), corroborates this interpretation. We conclude that the costs of having high SLA during periods of water stress are offset by the benefits under ample water availability, such as following snowmelt or after rainfall. The advantage of maintaining a high SLA for seedlings growing with *Kalmia* resulted in a positive relationship between SLA and RGR (Fig. 2).

SLA: a trade-off between WUE and PNUE

Studies have shown that RGR positively correlates with SLA across species and authors attributed this relationship to irradiance acclimation (Reich *et al.*, 1998). In our study, it is clear that irradiance cannot explain variations in SLA, since all seedlings have grown for seven and eight years in a similar light environment. Although change in irradiance certainly accounts for variations in SLA, compelling evidences show that irradiance would not solely control SLA at an intraspecific level (Marshall and Monserud, 2003; Koch *et al.*, 2004). Based on our results, we offer an alternative hypothesis that involves the plasticity of SLA to a trade-off between N and water deficiencies to increase their efficiency of use. In order to increase RGR, black spruce seedlings must acclimate physiologically to the most limiting of these two resources, each of which impart opposite effects on SLA. In wet boreal ecosystems typical of Northeastern Québec and the Maritime provinces (Saucier *et al.*, 2009), N should tend to be the most limiting resource for growth even if *Kalmia* is absent. Because plants would tend to favour their PNUE, we should thus observe a positive relationship between SLA and RGR on most sites. However, a negative relationship between SLA and RGR may be observed on well drained sites where soil nitrogen is relatively less limiting for growth than soil moisture. The establishment of a manipulative field experiment along an east-west precipitation gradient in Eastern Canada would be a good means to explore the relative importance of water and nutrient availability on intraspecific variations in the SLA-RGR relationship. Understanding how the SLA varies at an intraspecific level, and how this functional trait relates to RGR, is important giving the central role of SLA in forest process models (e.g. Landsberg *et al.*, 2003).

2.6 Acknowledgments

We thank J. Carignan, S. Lemay, É. Gaillard, A. Anctil, and M. Bergeron for technical assistance. We acknowledge the collaboration of the staff of the Laboratoire de chimie organique et inorganique of the Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec (MRNF). This study was funded by a NSERC Discovery Grant awarded to R. Bradley and is part of MRNF project no 112310031.

2.7 References

- Aerts, R. (1999). Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant–soil feedbacks. *J. Exp. Bot.* *50*, 29-37.
- Biere, A. (1996). Intra-specific variation in relative growth rate: impact on competitive ability and performance of *Lychnisflos cuculi* in habitats differing in soil fertility. *Plant Soil* *182*, 313-327.
- Bloom, A.J., Chapin III, F.S., and Mooney, H.A. (1985). Resource limitation in plants - an economic analogy. *Ann. Rev. Sys.* *16*, 363-392.
- Cressie, N.A.C. (1991). *Statistics for spatial data.* (New York: John Wiley & Sons, Inc.).
- Farquhar, G.D., and Sharkey, T.D. (1982). Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* *33*, 317-345.
- Grossnickle, S.C. (2000). *Ecophysiology of Northern spruce species: the performance of planted seedlings* (Ottawa: NRC Research Press).

Hultine, K.R., and Marshall, J.D. (2000). Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecol.* 123, 32-40.

Hunt R. (1990). *Basic growth analysis.* (London: Unwin Hyman).

Koch, G.W., Sillett, S.C., Jennings, G.M., and Davis, S.D. (2004). The limits to tree height. *Nature* 428, 851-854.

Lambers, H., Chapin III, F.S., and Pons, T.L. (1998). *Plant physiological ecology* (New York Springer).

Lambers, H., and Poorter, H. (1992). Inherent variation in growth rate between higher plants-a search for physiological causes and ecological consequences. *Adv. Ecol. Res.* 23, 187-261.

Lamhamedi, M.S., and Bernier, P.Y. (1994). Ecophysiology and field performance of black spruce (*Picea mariana*) - a review. *Ann. For. Sci.* 51, 529-551.

Landsberg, J.J., Waring, R.H., and Coops, N.C. (2003). Performance of the forest productivity model 3-PG applied to a wide range of forest types. *For. Ecol. Manage.* 172, 199-214.

LeBel, P., Thiffault, N., and Bradley, R.L. (2008). *Kalmia* removal increases nutrient supply and growth of black spruce seedlings: an effect fertilizer cannot emulate. *For. Ecol. Manage.* 256, 1780-1784.

Letts, M.G., Nakonechny, K.N., Van Gaalen, K.E., and Smith, C.M. (2009). Physiological acclimation of *Pinus flexilis* to drought stress on contrasting slope aspects in Waterton Lakes National Park, Alberta, Canada. *Can. J. For. Res.* 39, 629-641.

Li, B., Suzuki, J.-I., and Hara, T. (1998). Latitudinal variation in plant size and relative growth rate in *Arabidopsis thaliana*. *Oecol.* *115*, 293-301.

Marshall, J.D., and Monserud, R.A.. (2003). Foliage height influences specific leaf area of three conifer species. *Can. J. For. Res.* *33*, 164-170.

Meerts, P., and E. Garnier. (1996). Variation in relative growth rate and its components in the annual *Polygonum aviculare* in relation to habitat disturbance and seed size. *Oecol.* *108*, 438-445.

Mitchell, A.K., and Hinckley, T.M. (1993). Effects of foliar nitrogen concentration on photosynthesis and water-use efficiency in Douglas fir. *Tree Physiol.* *12*, 403-410.

Niinemets, U. (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecol.* *82*, 453-469.

Nilsson, U., and Örländer, G. (1999). Water uptake by planted *Picea abies* in relation to competing field vegetation and seedling rooting depth on two grass-dominated sites in southern Sweden. *Scand. J. For. Res.* *14*, 312-319.

Osone, Y., Ishida, A., and Tateno, M. (2008). Correlation between relative growth rate and specific leaf area requires associations of specific leaf area with nitrogen absorption rate of roots. *New Phytol.* *179*, 417-427.

Pons, T.L., Van der Werf, A. et Lambers, H. (1994). Photosynthetic nitrogen use efficiency of inherently slow- and fast-growing species: Possible explanations for observed differences. A whole-plant perspective of carbon-nitrogen interactions, J. Roy et E. Garnier, eds. (La Haye: SPB Academic Publishing), pp. 61-77.

Reich, P.B., Tjoelker, M.G., Walters, M.B. Vanderklein, D.W., and C. Bushena. (1998). Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedlings of nine boreal tree species grown in high and low light. *Funct. Ecol.* *12*, 327-338.

Saucier, J.P., Grondin, P., Robitaille, A., Gosselin, J., Morneau, C., Richard, P.J.H., Brisson, J., Sirois, L., Leduc, A., Morin, H., *et al.* (2009). *Écologie forestière. Manuel de foresterie*, 2nd Edn., Ordre des ingénieurs forestiers du Québec (Québec: Éditions Multimondes), pp. 165-316.

Soil Classification Working Group. (1998). *The Canadian System of Soil Classification*, 3rd ed. Agriculture and Agri-Food Canada Publ. 1646. (Ottawa: NRC Research Press).

Stewart, J.D., and Bernier, P.Y. (1995). Gas exchange and water relations of 3 sizes of containerized *Picea mariana* seedlings subjected to atmospheric and edaphic water-stress under controlled conditions. *Ann. For. Sci.* 52, 1-9.

Walinga, I.J., van der Lee, J., Houba, V.J.G., van Vark W., and Novozamsky I. (1995). *Plant Analysis Manual* (Dordrecht Kluwer Academic Publishers).

CONCLUSION

Le premier objectif de mon mémoire était de déterminer si l'éradication du *Kalmia* résultait en des changements fondamentaux dans les processus biochimiques des sols. L'expérience a confirmé une augmentation notable de la qualité chimique de l'humus (mesurée par la minéralisation de l' NH_4^+ -N et le P extractible) résultant en une croissance accrue de l'épinette noire par l'éradication du *Kalmia*. De façon plus importante encore, cette différence était toujours perceptible six ans suivant l'application du traitement. De cette façon, j'ai démontré que l'interaction compétitive entre le *Kalmia* et l'épinette noire était en bonne partie due à une compétition indirecte pour les ressources du sol. La fertilisation lors de la plantation a eu pour effet d'augmenter la taille des semis après six ans, mais l'augmentation de la croissance relative (RGR) n'était confinée qu'aux premières années suivant la fertilisation. Bien que la fertilisation n'ait eu aucun effet sur les processus biochimiques des sols, il est possible que la chute future des aiguilles d'épinette noire sur ces parcelles induise une rétroaction positive sur la croissance des semis. Seul un suivi à long terme de ces parcelles pourrait permettre d'affirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Le second objectif de mon mémoire était d'aborder la problématique de l'interaction compétitive entre l'épinette noire et le *Kalmia* par une approche écophysiological. Je me suis donc intéressé à l'acclimatation physiologique et morphologique de l'épinette noire face aux contraintes nutritionnelles et hydriques que j'ai corrélées avec les RGR. Généralement, le RGR est corrélé négativement avec le SLA et les études attribuaient cela à l'acclimatation à de la disponibilité de la lumière. Néanmoins, il était clair que les différences de luminosité n'expliquaient pas les variations dans le SLA puisque tous les semis croissaient à une même intensité lumineuse sur cette station. Cette étude suggérait donc une hypothèse alternative impliquant la plasticité du SLA dans le compromis entre les déficiences en eau et en N pour accroître l'efficacité d'utilisation de ces ressources. De plus, l'étude montre que l'augmentation de la taille des semis ainsi que la compétition avec le *Kalmia* causaient un

stress hydrique sur cette station sèche. Ceci indique qu'une limite de croissance pour les semis croissant avec le *Kalmia* pourrait être atteinte après quelques années. À force de croître, ces semis devront s'acclimater autant au stress hydrique dû à l'augmentation de leur taille et à la compétition du *Kalmia* pour les ressources du sol. Dans ce cas-ci, seule une étude à long terme pourrait permettre de confirmer ou de contredire cette hypothèse.

Ce mémoire permet d'ajouter des connaissances utiles à la sylviculture sur les parterres de coupe envahis par le *Kalmia*. L'élimination du *Kalmia* par l'application d'herbicide avant la plantation pourrait être un bon moyen pour favoriser une croissance adéquate de l'épinette noire sur ces sites. Par contre, son utilisation est interdite au Québec et d'autres stratégies doivent être envisagées pour remettre en production les sites envahis par le *Kalmia*. Entre autre chose, ce mémoire supporte l'application de pratiques sylvicoles adaptées aux conditions régionales. Par exemple, la gestion de la régénération de l'épinette noire sur les sites envahis par le *Kalmia* dans les écosystèmes boréaux plus humides, typiques du Nord-est québécois et des Maritimes, devraient se concentrer sur des pratiques sylvicoles qui augmentent la disponibilité de l'azote telle la fertilisation. D'un autre côté, la gestion de la régénération de l'épinette noire sur les sites envahis par le *Kalmia* dans le Nord-ouest québécois et de l'Ontario, où le climat est plus sec, devrait se concentrer sur des stratégies d'élimination du *Kalmia* dans le but d'augmenter la disponibilité de l'eau et de l'azote. L'établissement d'un dispositif expérimental à travers le gradient Est-Ouest de précipitation dans l'Est-canadien serait une bonne façon d'explorer l'importance relative du stress hydrique et nutritionnel sur la régénération de l'épinette noire sur les sites envahis par le *Kalmia*.

BIBLIOGRAPHIE

Apsey, M., Laishey, D. Nordin, V., et Peillé, G. (2000). The perpetual forest: using lessons from the past to sustain Canada's forests in the future. *For. Chron.* 76, 29-53.

Bernier, P.Y. (1993). Comparing natural and planted black spruce seedlings. 1. Water relations and growth. *Can. J. For. Res.* 23, 2427-2434.

Bertin, C.B, Yang, X. et Weston, L.A. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil* 256, 67-83.

Bloom, A.J., Chapin III, F.S. et Mooney, H.A. (1985). Resource limitation in plants - an economic analogy. *Ann. Rev. Sys.* 16, 363-392.

Borghetti, M., Raschi, A. et Grace, J. (1989). Ultrasound emission after cycles of water stress in *Picea abies*. *Tree Physiol.* 5, 229-237.

Bradley, R.L., Fyles, J.W. et Titus, B. (1997). Interactions between *Kalmia* humus quality and chronic low C inputs in controlling microbial and soil nutrient dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 29: 1275-1283.

Bradley, R.L., Titus, B.D. et Preston, C.P. (2000). Changes to mineral N cycling and microbial communities in black spruce humus after additions of (NH₄)₂SO₄ and condensed tannins extracted from *Kalmia angustifolia* and balsam fir. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1227-1240.

Centritto, M. et Jarvis, P.G. (1999). Long-term effects of elevated carbon dioxide concentration and provenance on four clones of sitka spruce (*Picea stichensis*). II. Photosynthetic capacity and nitrogen use efficiency. *Tree Physiol.* 19, 807-814.

Chandler, J.W. et Dale, J.E. (1995). Nitrogen deficiency and fertilization effects on needle growth photosynthesis in Sitka spruce (*Picea stichensis*). *Tree Physiol.* *15*, 813-817.

Chapman, S.K., Langley, J.A., Hart, S.C. et Koch, G.W. (2006). Plants actively control nitrogen cycling: uncorking the microbial bottleneck. *New Phytol.* *169*, 27-34.

Coulombe, G., Huot, J., Arsenault, J., Bauce, É., Bernard, J.-H., Bouchard, A., Liboiron, M.A. et Szaraz, G. (2004). Rapport de la Commission d'étude sur la gestion de la forêt publique québécoise (Québec: Gouvernement du Québec)

Damman, A.W.H. (1971). Effect of vegetation changes on the fertility of a Newfoundland forest site. *Ecol. Monogr.* *41*, 253-270.

Fitter, A. (2003). Making allelopathy respectable. *Science* *301*, 1337-1338.

Gleason, H.A. (1926). The individualistic concept of the plant association. *Bull. Torrey Bot. Club* *53*, 7-26.

Goldberg, D.E. et Barton, A.M. (1992). Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities - a review of field experiments with plants. *Am. Nat.* *139*, 771-801.

Grondin, P. et Cimon, A. (2003). Les enjeux de biodiversité relatifs à la composition forestière (Québec : Ministère des ressources naturelles, de la Faune et des Parcs, Direction de la recherche forestière et Direction de l'environnement forestier).

Grossnickle, S.C. (2000). *Ecophysiology of northern spruce species - The performance of planted seedlings* (Ottawa: NRC Research Press).

Hall, I.V., Jackson, L.P. et Everett, C.F. (1973). The biology of Canadian weeds 1. *Kalmia angustifolia* L. Can. J. Plant Sci. 53, 865-873.

Hultine, K.R. et Marshall, J.D. (2000). Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. Oecol. 123, 32-40.

Inderjit et Callaway, R.M. (2003). Experimental designs for the study of allelopathy. Plant Soil 256, 1-11.

Inderjit et Mallik, A.U. (1996). The nature of interference potential of *Kalmia angustifolia*. Can. J. For. Res. 26, 1899-1904.

Joanisse, G.D., Bradley, R.L., Preston, C.M., Munson, A.D. (2007). Soil enzyme inhibition by condensed litter tannins may drive ecosystem structure and processes: the case of *Kalmia angustifolia*. New Phytol. 175, 535-546.

Keddy, P.A. (1989). Competition (New York: Chapman and Hall).

Krause, H. (1998). Forest floor mass and nutrients in two chronosequences of plantations - jack pine vs. black spruce. Can. J. Soil Sci. 78, 77-83.

Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A. et Zasoski, R.J. (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. Plant Soil 256, 41-66.

Lambers, H., Chapin III, F.S. et Pons, T.L. (1998). Plant physiological ecology (New York: Springer).

Lambers, H. et Poorter, H. (1992). Inherent variation in growth rate between higher plants - a search for physiological causes and ecological consequences. Adv. Ecol. Res. 23, 187-261.

Lamhamedi, M.S. et Bernier, P.Y. (1994). Ecophysiology and field performance of black spruce (*Picea mariana*) - a review. *Ann. Sci. For.* 51, 529-551.

Letts, M.G., Nakonechny, K.N., Van Gaalen, K.E. et Smith, C.M. (2009). Physiological acclimation of *Pinus flexilis* to drought stress on contrasting slope aspects in Waterton Lakes National Park, Alberta, Canada. *Can. J. For. Res.* 39, 629-641.

Mallik, A.U. (1987). Allelopathic potential of *Kalmia angustifolia* to Black Spruce (*Picea mariana*). *For. Ecol. Manage.* 20, 43-51.

Mallik, A.U. (1993). Ecology of a forest weed of newfoundland - Vegetative regeneration strategy of *Kalmia angustifolia*. *Can. J. Bot.* 71, 161-166.

Mallik, A.U. (1995). Conversion of temperate forests into heaths: role of ecosystem disturbance and ericaceous plants. *Environ. Manage.* 19, 675-684.

Molisch, H. (2001). The influence of one plant on another : allelopathy. (version de 1937 traduite par L.J. La Fleur et M.A.B. Mallik, S.S. Narwal, eds.) (Jodhpur: Scientific Publishers).

Niinemets, U. (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecol.* 82, 453-469.

Nilsson, U. et Örlander, G. (1999). Water uptake by planted *Picea abies* in relation to competing field vegetation and seedling rooting depth on two grass-dominated sites in southern Sweden. *Scand. J. For. Res.* 14, 312-319.

Peterson, E.B. (1965). Inhibition of black spruce primary roots by a water soluble substance in *Kalmia angustifolia*. *For. Sci.* 11, 473-479.

Pons, T.L., Van der Werf, A. et Lambers, H. (1994). Photosynthetic nitrogen use efficiency of inherently slow- and fast-growing species: Possible explanations for observed differences. A whole-plant perspective of carbon-nitrogen interactions, J. Roy et E. Garnier, eds. (La Haye: SPB Academic Publishing), pp. 61-77.

Prescott, C.E., Vesterdal, L., Pratt, J., Venner, K.H., de Montigny, L.M. et Trofymow, J.A. (2000). Nutrient concentrations and nitrogen mineralization in forest floors of single species conifer plantations in coastal British Columbia. *Can. J. For. Res.* *30*, 1341-1352.

Read, D.J. (1984). Interactions between ericaceous plants and their competitors with special reference to soil toxicity. *Asp. Appl. Biol.* *5*, 195-209.

Reich, P.B., Tjoelker, M.G., Walters, M.B., Vanderklein, D.W. et C. Bushena. (1998). Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedlings of nine boreal tree species grown in high and low light. *Funct. Ecol.* *12*, 327-338.

Reigosa, M. J., Sanchez-Moreiras, A. et Gonzalez, L. (1999). Ecophysiological approach in allelopathy. *Crit. Rev. Plant Sci.* *18*, 577-608.

Rice, E.L. (1984). *Allelopathy, Second Edition* (Orlando Academic Press).

Saucier, J.P., Grondin, P., Robitaille, A., Gosselin, J., Morneau, C., Richard, P.J.H., Brisson, J., Sirois, L., Leduc, A., Morin, H., *et al.* (2009). *Écologie forestière. Manuel de foresterie*, 2nd Edn., Ordre des ingénieurs forestiers du Québec (Québec: Éditions Multimondes), pp. 165-316.

Schoener, T.W. (1983). Field experiment on interspecific competition. *Am. Nat.* *122*, 240-285.

Stewart, J.D., Zine El Abidine, A., Bernier, P.Y. (1995). Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in black spruce seedlings during multiple cycles of drought. *Tree Physiol.* *15*, 57-64.

Tansley, A.G. (1935). The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecol.* 16, 284-307.

Thiffault, N., et Grondin, P. (2003). Envahissement des parterres de coupe par les éricacées. Dans : Les enjeux de biodiversité relatifs à la composition forestière, Grondin, P., et Cimon, A., coordonnateurs. (Québec : Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs, Direction de la recherche forestière et Direction de l'environnement forestier), pp. 103-130.

Thiffault, N., Titus, B.D. et Munson, A.D. (2004). Black spruce seedlings in a *Kalmia-Vaccinium* association: microsite manipulation to explore interactions in the field. *Can. J. For. Res.* 34, 1657-1668.

Titus, B.D., Sidhu, S.S. et Mallik, A.U. (1995). A summary of some studies on *Kalmia angustifolia* L.: a problem species in Newfoundland forestry, (St. John's: Canadian Forest Service).

Van Breemen, N. et Finzi, A.C. (1998). Plant soil interactions - Ecological aspects and evolutionary implications. *Biogeochem.* 42, 1-19.

Wardle, D.A., Nilsson, M.-C., Gallet, C. et Zackrisson, O. (1998). An ecosystem-level perspective of allelopathy. *Biol. Rev.* 73, 305-319.

Whittaker, R.H. (1953). A consideration of climax theory: the climax as a population and pattern. *Ecol. Monogr.* 23, 41-78.

Yamasaki, S.H., Fyles, J.W., Egger, K.N. et Titus, B.D. (1998). The effect of *Kalmia angustifolia* on the growth, nutrition, and ectomycorrhizal symbiont community of black spruce. *For. Ecol. Manage.* 105, 197-207.

Zhu, H. et Mallik, A.U. (1994). Interactions between *Kalmia* and black spruce - Isolation and identification of allelopathic compounds. *J. Chem. Ecol.* 20, 407-421.