

PLASTICITÉ PHÉNOTYPIQUE DE LA VITESSE SPÉCIFIQUE DE CROISSANCE ET
DE SES COMPOSANTES APRÈS UNE DIMINUTION DANS LA DISPONIBILITÉ
D'AZOTE

par

Antonio Useche-Casas

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, septembre 2008



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence
ISBN: 978-0-494-49625-1
Our file Notre référence
ISBN: 978-0-494-49625-1

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.

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.

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

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

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

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

■ ■ ■
Canada

Le 7 octobre 2008

le jury a accepté le mémoire de M. Antonio Useche Casas dans sa version finale.

Membres du jury

M. William Shipley
Directeur
Département de biologie

M. Robert Bradley
Membre
Département de biologie

Mme Colette Anseau
Président-rapporteur
Département de biologie

SOMMAIRE

La disponibilité des nutriments du sol peut varier fortement en peu de temps, donc à des échelles temporelles très réduites. Ceci implique que tout changement adaptatif du phénotype d'une plante doit atteindre une certaine ampleur et le faire à une vitesse appropriée. Ici, on s'intéresse aux traits phénotypiques que sont la vitesse spécifique de croissance (VSC) et ses composantes: la surface spécifique des feuilles (SSF), le taux net d'assimilation (TNA) et la proportion de biomasse allouée aux feuilles (FMF). Dans cette étude, on a examiné comment, à la suite d'une diminution dans la disponibilité d'azote, la plante modifie l'évolution ontogénique de ces composantes (SSF, TNA et FMF) et aussi comment ces changements affectent la courbe ontogénique de la VSC. On a abordé plus spécifiquement les questions qui suivent . (i) Est-ce que, en général, le niveau de plasticité d'une espèce est relié positivement à la vitesse spécifique de croissance maximale de l'espèce (VSCmax)? De quelle façon la plasticité de la VSC peut-elle être reliée aux patrons de plasticité de ses composantes? (iii) Les réponses de plasticité dans l'évolution ontogénique des composantes de la VSC sont-elles coordonnées de façon à réduire l'ampleur de la plasticité dans l'évolution ontogénique de la VSC? Pour répondre à ces questions, on a cultivé des individus appartenant à 44 espèces herbacées dans deux conditions expérimentales. Les séries de contrôle étaient composées de plantes exposées pendant 28 jours à une solution hydroponique constante ayant une concentration en azote de 1mM. Les séries de traitement étaient composées des mêmes espèces et les plantes ont été cultivées dans la même solution pendant les 12 premiers jours puis soumises ensuite à une diminution de la concentration d'azote de la solution hydroponique de 100 fois (0.01 mM). Pour les deux séries, on a effectué des récoltes journalières du 7^e au 28^e jour. La VSCmax est reliée positivement au niveau de plasticité de la VSC. Par contre, la VSCmax n'est reliée, pour ce qui est de la plasticité à aucune des composantes de la VSC. Le degré de plasticité de la VSC est relié négativement au degré de plasticité de la FMF et positivement au degré de plasticité du TNA. Dans le cadre de cette étude, on peut donc dire que les espèces qui montrent une forte plasticité de la FMF montrent aussi une faible plasticité de la VSC, et aussi que les espèces qui présentent une forte plasticité

du TNA présentent également une forte plasticité de la VSC. Il n'y a pas eu des évidences de corrélations négatives entre les composants de la VSC qui auraient pu amortir le degré de plasticité de la VSC. On n'a pas observé de corrélations négatives entre les composantes de la VSC qui auraient pu amortir le degré de plasticité de la VSC.

REMERCIEMENTS

Je remercie mon directeur de recherche, le professeur Bill Shipley. Il m'a fait connaître les bases de l'écologie fonctionnelle des plantes, éléments essentiels pour pouvoir construire ce projet de recherche. J'aimerais exprimer toute ma reconnaissance à J.-M. Lalonde, B. Mercier, L. M. Thériault, S. Mounirattinam, P. Garcia-Cournoyer, C. Tremblay et I. Nault pour leur aide dans les manipulations expérimentales. Je veux aussi exprimer ma gratitude aux professeurs Don Thomas et Robert Bradley qui, en tant que membres de mon comité des conseillers, ont toujours fait des critiques constructives et des suggestions pertinentes. Je remercie également la professeure Colette Anseau qui a fait des corrections importantes sur le texte final. Ce travail a reçu le support financier du CRSNG.

TABLE DE MATIÈRES

SOMMAIRE.....	i
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1.....	9
Mise en contexte.....	9
Summary.....	9
Introduction.....	10
Materials and methods.....	14
Growth conditions and plant harvests.....	14
Growth analysis and estimation of plasticity parameters.....	16
Results.....	18
Plasticity in the ontogenetic trajectory of growth components after a decrease in nitrogen supply.....	18
Is the level of plasticity positively related with the RGRmax of the species?.....	19

Plasticity in RGR in relation to plasticity of its underlying components.....	21
Discussion.....	21
Plasticity in the ontogenetic trajectory of growth components after a decrease in nitrogen supply.....	21
Is the level of plasticity positively related with the RGRmax of the species?.....	23
Are the plastic responses in the ontogenetic trajectories of the components of RGR coordinated in a way that buffer the level of plasticity in the ontogenetic trajectory of RGR?.....	24
Acknowledgements.....	25
References.....	25
 CONCLUSION.....	 28
Signification des résultats obtenus.....	28
Résultats non expliqués, questions ouvertes et nouvelles expériences pour les traiter.....	29
 ANNEXE	 31
Fonction d'estimation des paramètres de changement ontogénique de la VSC	31
Fonction d'estimation des paramètres de changement ontogénique du TNA	34

Fonction d'estimation des paramètres de changement ontogénique de la SSF et de la FMF.....	36
BIBLIOGRAPHIE	39

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ANOVA	Analyse de variance (ANalysis Of VAriance)
FMF	Fraction de Masse Foliaire
TNA	Taux Net d'Assimilation
SSF	Surface Spécifique des Feuilles
VSC	Vitesse Spécifique de Croissance

LISTE DES FIGURES

1A	Mesures de changement ontogénique estimées à partir des valeurs prédites de la VSC et de chacune de ses composantes	17
1B	Illustration didactique de plasticité dans une courbe ontogénique hypothétique d'un trait exposé à deux environnements différents	17
2A	Relation entre la VSCmax et la valeur prédite de la VSC au moment de sa vitesse maximale de changement	20
2B	Relation entre la vitesse maximale de changement de la FMF et le pourcentage de diminution de la VSC au moment de sa vitesse maximale de changement	20
3A	Relation entre le \log_{10} de la valeur prédite du TNA à la fin de l'expérience et le pourcentage de diminution de la VSC au moment de sa vitesse maximale de changement	22
3B	Relation entre le \log_{10} de la valeur prédite du TNA à la fin de l'expérience et le pourcentage de diminution de la VSC à la fin de l'expérience	22

INTRODUCTION

La plasticité phénotypique est la capacité qu'a un génotype donné d'exprimer des phénotypes différents en réponse à des variations de l'environnement. La série particulière de phénotypes qui sont produits par un génotype donné en réponse à une séquence d'environnements est appelée « norme de réaction ». Les organismes qui possèdent une certaine capacité de mouvement peuvent répondre aux variations de l'environnement par des déplacements de façon, par exemple, à aller vers des environnements plus favorables ou à fuir des milieux défavorables. Chez les plantes, la capacité de déplacement est extrêmement réduite et ne dépasse pas l'échelle du volume occupé par son système racinaire et par sa canopée. Les plantes sont donc contraintes de développer des réponses au niveau de la structure et du fonctionnement de leur propre organisme, donc des réponses morphologiques, physiologiques ou d'allocation des ressources.

Chez les plantes, la théorie de l'utilisation optimale des ressources (Aikio et Markkola, 2002) prévoit que les ressources destinées à la croissance doivent se diriger vers l'organe qui est susceptible d'acquérir la ressource la plus limitante pour la croissance. Ainsi, les feuilles et les racines se développent en proportions telles que la plante est limitée de façon égale par la disponibilité des nutriments et par la lumière. Cependant, en plus d'ajuster le taux d'allocation de biomasse aux feuilles ou aux racines, la plante peut également ajuster l'acquisition et l'utilisation des ressources en modifiant la morphologie et la physiologie (Aikio et Markkola, 2002). Ce modèle prévoit donc que, de cette façon, la plante pourra atteindre une vitesse de croissance maximale.

Au niveau historique, certaines idées sur le phénomène de la plasticité phénotypique chez les plantes, qui avaient été développées il y a longtemps, n'ont été réexaminées que tout récemment. Schlichting (2002) souligne, en effet, que les études de plasticité ont subi un ralentissement dans les années 1970 et 1980, au moment où la recherche était concentrée principalement sur les variations génotypiques plutôt que sur l'interaction entre le génotype et

l'environnement, c'est-à-dire sur la plasticité phénotypique d'un même génotype. Et ce n'est que dans les années 1990 que les écologistes ont manifesté, dans leurs recherches, leur intérêt pour cette interaction entre le génotype, et l'environnement, et pour les variations du phénotype en général. Il faut préciser que la notion d'« environnement » comprend ici l'ensemble des facteurs abiotiques (lumière, température, eau et nutriments) qui influent sur l'expression du génotype. À ces études se sont ajoutées ensuite des recherches sur l'influence des facteurs biotiques tels que les compétiteurs, les prédateurs et les pollinisateurs, puis sur la valeur adaptative et les conséquences écologiques des patrons de plasticité phénotypique. On a alors commencé à porter une plus grande attention aux liens entre la régulation génétique, les mécanismes physiologiques et la plasticité morphologique et on commence maintenant à se questionner sur les signaux environnementaux qui déclenchent la réponse de plasticité et sur la façon dont la plante les détecte. Schlichting (2002) souligne aussi un certain regain d'intérêt pour les aspects écologiques et évolutifs qui influent sur le développement de l'individu, des recherches maintenant qualifiées d' « eco-devo ».

Un des paramètres environnementaux les plus importants pour la survie et la performance d'une plante est la disponibilité des ressources que sont la lumière, l'eau et les minéraux nutritifs. Ces derniers contribuent au niveau de fertilité du sol et la fertilité du sol est considérée comme un des facteurs environnementaux qui permettent le mieux d'expliquer et de prévoir la distribution géographique et écologique des espèces, ou mieux des génotypes, aussi bien que des communautés végétales (Grime, 1977; Wijesinghe et John, 2005).

Quelques études ont été faites en comparant les individus ou génotypes d'une même espèce ou d'un même génotype soumis à différents niveaux de nutriments, ces niveaux restant constants dans le temps (Meziane et Shipley, 1999). Dans la nature, toutefois, les ressources varient non seulement dans l'espace mais aussi dans le temps et ce, à différentes échelles (Cain *et al*, 1999). Donc, les plantes doivent répondre à ces variations de la disponibilité des nutriments non seulement avec une certaine intensité mais aussi avec une certaine vitesse. Les travaux qui ciblent les variations temporelles de la disponibilité des nutriments sont très rares et limités à

des dispositifs expérimentaux comportant de brefs épisodes d'augmentation dans la concentration des nutriments fournis (Campbell and Grime, 1989; Fransen *et al.*, 1999). En milieu naturel, on sait toutefois que la disponibilité des nutriments pour la plante, peut augmenter ou diminuer, qu'il s'agisse de la teneur en nutriments du sol ou de la proportion qui en est réellement disponible pour la plante (Hagedorn *et al.*, 2000). Les réponses des plantes face à une diminution dans la disponibilité d'azote est le sujet de recherche de la présente étude.

Parmi les différents éléments nutritifs, l'azote est fréquemment le minéral limitant pour la croissance des plantes dans de nombreux écosystèmes (Aerts et Chapin, 2000). La concentration des diverses formes d'azote du sol peut varier fortement sur des périodes temporelles aussi courtes qu'une semaine ou même un jour (Cui et Caldwell, 1997), aussi bien qu'à l'échelle d'un mois ou d'une saison (Jamieson *et al.*, 1998). Par exemple, dans une forêt de *Picea abies* (L.) Karst et *Vaccinium* sp. (L.), Hagedorn *et al.* (2000) rapportent des niveaux de variation moyens des nitrates du sol de 39 % ($\pm 59,2$ SD) par heure et est de 30,1 % (± 31 SD) dans une prairie de *Poa trivialis* L. et *Carex ferruginea* Scop.

La disponibilité des ressources peut avoir différents effets sur différentes espèces. Si on considère un environnement constant, on s'attend à ce que les espèces qui ont une grande vitesse spécifique de croissance potentielle soient favorisées par une grande disponibilité des ressources, mais ce patron peut être modifié par la distribution spatiale des individus et donc des ressources. Dans une situation où la disponibilité des ressources est très faible et constante, ce seront les espèces à faible vitesse de croissance potentielle qui auront du succès (Grime, 1977). Par contre, dans un environnement où la disponibilité des ressources change dans le temps, il est possible que ce ne soient plus les valeurs maximales des traits de l'espèce, ici la VSC, mais plutôt la plasticité dans ces traits qui déterminent sa capacité à s'ajuster à cette disponibilité variable. En effet, Grime et Mackey (2002) ont trouvé qu'il y avait des différences interspécifiques dans les patrons de plasticité. De fait, une augmentation ou une diminution dans la disponibilité des ressources a des implications physiologiques différentes

pour la plante. Et s'il y a bien quelques études sur des réponses de plasticité à des augmentations dans la disponibilité des nutriments, nous ne connaissons aucune étude qui ait examiné l'effet des diminutions.

Dans une expérience de terrain, Sher et al. (2004) ont manipulé la périodicité et la quantité totale d'eau ajoutée à des milieux secs. Ils ont trouvé que les taux de survie et de croissance des plantes étaient influencés plus par la durée des intervalles entre les arrosages que par la quantité totale d'eau ajoutée. De tels résultats montrent que, pour une période déterminée, la variation temporelle dans la disponibilité des ressources peut être aussi importante que la quantité totale disponible de ces ressources pour la performance des plantes. Ils ont trouvé également que les réponses face aux dynamiques temporelles pouvaient varier d'une espèce de plante à l'autre. Étant donné, donc, que les variations interspécifiques peuvent dépendre des variations temporelles de la disponibilité des ressources plus que de leur disponibilité totale ou moyenne, on peut conclure que les patrons temporels dans la disponibilité des ressources jouent un rôle important sur la structure et la dynamique des communautés des plantes, mais ce rôle est encore peu étudié.

L'étude présentée dans ce mémoire cible spécifiquement les réponses de différentes (14) espèces de plantes à une variation temporelle dans la disponibilité de l'azote, une ressource qui est limitante pour la croissance des plantes dans de nombreux écosystèmes. Bien qu'il s'agisse d'une étude de laboratoire, ce travail est un premier pas pour déterminer les patrons de plasticité associés à la variation interspécifique dans la performance des plantes, et plus spécifiquement dans leur vitesse spécifique de croissance (VSC ou RGR : relative growth rate) lorsque la disponibilité des ressources présente des variations temporelles. Cette étude constitue le premier travail de comparaison interspécifique (14 espèces) de la réponse, en termes de plasticité phénotypique, à une diminution dans la disponibilité d'azote.

Comme on l'a mentionné plus haut, la vitesse de croissance d'une espèce détermine partiellement sa distribution écologique en fonction de la disponibilité et de la distribution

spatiale des ressources. La vitesse spécifique de croissance (VSC) est en fait le taux de production de nouvelle biomasse à partir d'une biomasse existante. Cette VSC est donc une mesure de l'efficacité de croissance d'une plante et elle est reliée à la persistance et à l'abondance relative de l'espèce dans des sites avec de niveaux de perturbation et de stress différents (Grime, 1977). La vitesse de croissance maximale, qui est atteinte en conditions optimales (VSCmax), est donc aussi un trait qui permet de séparer les espèces de plantes en différents groupes fonctionnels. Ainsi, si on veut étudier comment les fluctuations dans la disponibilité des ressources influent sur la performance de différentes espèces, un bon point de départ est d'examiner les réponses de plasticité des traits qui déterminent la VSC et la façon dont ces réponses varient en fonction de la VSCmax.

On sait que la variation dans la VSC dépend des variations de plusieurs traits morphologiques, physiologiques et d'allocation des ressources, traits qui déterminent l'acquisition, l'utilisation et la rétention des ressources par la plante. Étudier la plasticité de la VSC correspond donc à étudier un phénomène multivarié et il est donc aussi nécessaire de décortiquer la variation de la VSC en ses principales composantes. La VSC peut être décomposée, donc factorisée mathématiquement, en différents traits reliés à la croissance, ces traits constituant les composantes de la VSC. Cette factorisation mathématique est connue comme la « décomposition classique de la VSC ». Dans cette factorisation, toute variation de la VSC dans le temps (t) est corrélée à la variation dans le temps (t) de ses composantes qui sont la surface spécifique des feuilles (SSF), le taux net d'assimilation (TNA) et la fraction de masse foliaire (FMF) et on peut donc écrire :

$$VSC(t) = (SSF)(t).(TNA)(t).(FMF)(t)$$

La surface spécifique des feuilles est une composante morphologique qui correspond à la surface totale des feuilles de la plante divisée par la masse totale de ces feuilles. Le taux net d'assimilation est une composante physiologique qui traduit le taux de production de nouvelle biomasse par unité de surface de feuille. La fraction de masse foliaire correspond à la

proportion de biomasse allouée aux feuilles par rapport à la biomasse allouée au reste de la plante. En fait, la reconnaissance et l'étude de la nature multivariée du phénomène de plasticité phénotypique chez les plantes représentent, en soi, une avancée dans les recherches sur la plasticité phénotypique (Shipley, 2004).

Parmi les nombreuses études qui ont comparé la plasticité de plantes cultivées dans des niveaux de ressources différents, ces niveaux restant constants dans le temps, très peu ciblent les réponses de plasticité liées à la VSC. Shipley (1988) a montré que les espèces dont la VSC_{max} est la plus élevée montrent une plus grande plasticité de leur VSC en réponse à des niveaux de nutriments contrastants. Il y aurait donc une relation positive entre la VSC_{max} et le degré de plasticité de la VSC. Les études qui ont examiné la plasticité au niveau des composantes de la VSC sont encore plus rares (Meziane et Shipley, 1999). Ces auteurs ont montré que la variation interspécifique de la VSC était corrélée faiblement mais significativement à la variation interspécifique des composantes de la VSC (la SSF, la TNA et la FMF). Ces auteurs ont aussi trouvé des corrélations négatives entre certaines de ces composantes. De cette façon, la variation interspécifique des composantes de la VSC aurait comme résultat un effet tampon sur la variation interspécifique de la VSC. À partir de ce constat, il est logique d'envisager que ces compromis déterminent quelles sont les espèces susceptibles de coexister dans une aire avec niveau donné de fertilité. Il s'agit d'un progrès théorique dans l'étude du problème central que constitue l'explication de la diversité et l'abondance des végétaux. La présente étude sur les compromis entre les réponses de plasticité de différentes espèces face à une fluctuation dans la disponibilité d'azote est une contribution aux connaissances des mécanismes permettant d'expliquer les différences de performance de divers types fonctionnels face à une fluctuation de l'environnement, ici, un environnement artificiel.

Étant donné que les réponses aux variations temporelles de disponibilité des nutriments sont peu étudiées, le présent travail vise des questions nouvelles en écologie. Que peut-on attendre du comportement de la VSC si des espèces, ayant différentes valeurs de VSC_{max}, sont

exposées à une diminution dans la disponibilité d'une ressource au cours de leur croissance? Est-ce que dans des situations où la disponibilité d'une ressource diminue subitement, il y a une relation positive entre la variation de la VSC_{max} des espèces et leur degré de plasticité? On ne connaît pas d'études qui aient déjà exploré ces questions. Par contre, au niveau théorique, Alpert et Simms (2002) ont déjà examiné la question, assez critique; de savoir « à quel moment est-ce approprié pour une plante de faire des ajustements de plasticité? ». Ces auteurs émettent l'hypothèse que la plasticité d'un trait peut être avantageuse seulement si ce trait s'ajuste au nouvel environnement à une vitesse plus rapide que celle du changement environnemental. Cependant, il ne faut pas oublier que le phénomène de plasticité est généralement, et surtout dans le cas de la VSC, de nature multivariée (ShIPLEY, 2004). Donc, la variation dans la VSC face à une fluctuation de l'environnement dépendra de la façon dont ses composantes sont coordonnées dans le temps lors de leur propre réponse de plasticité. Cette coordination entre les réponses de différents traits est possible seulement lorsqu'il s'agit des traits qui présentent une plasticité de type réversible. On parle aussi de « flexibilité du phénotype » et la recherche sur ce type de plasticité prend actuellement de plus en plus d'importance (Piersma et Drent, 2003).

Les études de plasticité en réponse aux fluctuations de l'environnement présentent de nouvelles exigences, mais également des avantages au niveau méthodologique. Premièrement, il faut considérer que même dans un environnement constant, les traits d'un organisme ne sont pas supposés demeurer constants au cours du développement de l'individu. Pour une plante, on peut s'attendre à ce que chaque trait suive un patron de variation particulier, donc une courbe ontogénique spécifique, au cours du développement de la plantule puis au cours des phases reproductives et végétatives de la plante adulte. Pour cette raison, l'étude des patrons de plasticité d'un trait, en réponse aux fluctuations de l'environnement, risque de confondre plasticité et simples variations du trait visé le long de la courbe ontogénique de croissance présentée dans un environnement constant. Afin de pouvoir étudier des patrons de plasticité d'un trait en réponse aux fluctuations de l'environnement, il faut comparer la courbe ontogénique présentée par ce trait dans un environnement constant avec la

courbe ontogénique présentée après chaque fluctuation. Trouver des différences significatives entre les paramètres des courbes, lorsqu'on les compare, serait une preuve certaine de l'existence d'une plasticité ontogénique. Dans ce domaine, il y a quelques études au niveau de l'influence de l'environnement sur les variations du cycle de vie de l'organisme (Sultan, 2007). Mais chez les plantes, on ne connaît pas d'études interspécifiques concernant des cas de plasticité ontogénique réversible. Ceci est le sujet de notre étude.

Dans cette recherche on explore comment, après une diminution dans la disponibilité d'azote, la plante modifie la trajectoire ontogénique des composantes de la VSC, et on examine comment les changements dans la trajectoire ontogénique de ces composantes affectent la courbe ontogénique de la VSC.

CHAPITRE I

PLASTICITY IN RGR AND ITS UNDERLYING COMPONENTS AFTER A DECREASE IN NITROGEN AVAILABILITY

Mise en contexte

Le sujet abordé par la présente étude a une grande importance en écologie végétale : il s'agit de comparaisons interspécifiques des patrons de plasticité de la vitesse spécifique de croissance (VSC). Ce travail est novateur en ce qu'il traite d'une question complètement inexplorée à savoir les réponses de plasticité le long de la courbe ontogénique de la VSC et de ses composantes en réponse à une diminution dans l'approvisionnement en azote. Les auteurs de cette étude sont Antonio Useche et Bill Shipley. Le premier auteur a élaboré et appliqué le protocole expérimental. Il a aussi réalisé les analyses statistiques, interprété les résultats et rédigé le présent manuscrit, grâce au support et à l'expertise du deuxième auteur. Ce manuscrit correspond au chapitre unique de ce mémoire et il a été soumis à la revue scientifique *Functional Ecology*.

Summary

1. Nutrient availability varies greatly over short time scales, and this requires that a well-adapted plant modify its phenotype by an appropriate amount but also at a certain speed.
2. We examined how, following a decrease in nitrogen availability, the plant modifies the ontogenetic trajectory of relative growth rate (RGR) and its underlying components (specific leaf area (SLA), net assimilation rate (NAR) and leaf weight ratio (LWR)), and how such changes in the ontogenetic trajectory of the underlying components affects the ontogenetic curve of RGR. Specifically we addressed the following questions: (i) Is the level of plasticity

positively related with the maximum growth rate of the species (RGR_{max})? (ii) Independent of RGR_{max} , how will plasticity in RGR depend on the plasticity patterns of the underlying components? (iii) Are the plastic responses in the ontogenetic trajectories of the components of RGR coordinated in such a way that they buffer the plasticity in the ontogenetic trajectory of RGR?

3. Individuals from 14 herbaceous species were grown under two experimental conditions. The control series involved plants that were exposed to a constant hydroponic solution over 30 days with 1mM nitrogen and harvested daily from the 7th to 28th days. The treatment series involved the same species; plants were grown in the same solution for the first 12 days, at which time the nitrogen concentration was reduced 100 times (0.01 mM) and plants were again continuously harvested until day 28.

4. RGR_{max} was positively related with plasticity in RGR. However, RGR_{max} was not significantly related with the level of plasticity of any component of RGR.

5. Plasticity in RGR was negatively related with plasticity in LWR and positively related to plasticity in NAR . Thus species highly plastic in LWR were less plastic in RGR while species highly plastic in NAR were more plastic in RGR.

6. There was no evidence of negative correlations in the plasticity among the underlying components of RGR that could buffer plasticity in RGR.

Keywords: leaf weight ratio, LWR, net assimilation rate, NAR, nutrient stress, ontogenetic plasticity, RGR, specific leaf area, SLA

Introduction

The ability of the same genotype to express different phenotypes in the face of varying environments (i.e. phenotypic plasticity) is especially important to sedentary organisms like plants. Such phenotypic plasticity is particularly critical when the environmental change is

related to resource supplies, which is the topic of this paper. Research in this area has mostly concentrated on only one aspect of plasticity: the amount of phenotypic change induced by a given change in the resource. However, resource levels and supply rates can change over many temporal and spatial scales, and so the speed with which a plant can change its phenotype is also important.

Besides the amount and speed of plasticity, one must also consider its multivariate nature (Meziane & Shipley 1999; Shipley 1999, 2000; Meziane & Shipley 2001). Since many different phenotypic traits can express plastic responses at the same time, since the ecological outcome will often be determined by all of these plastic changes in interaction, and since some plastic responses can mitigate or accentuate the effects of other plastic responses, it is also important to decompose the overall change in phenotype into its component parts.

The amount and speed of plastic responses in relative growth rate (RGR) and interactions between the determinants of RGR following changes in nutrient availability are the topic of the current research. RGR is the rate of production of new dry mass per unit of existing dry mass per unit time. It is a measure of the growth efficiency of the plant, is related to typical levels of disturbance and fertility, and thus with persistence and abundance of the species or genotype in different habitats (Grime & Hunt 1975; Poorter & Garnier 1999). From the classical decomposition of RGR (Blackman & Wilson 1951; Grime & Hunt 1975) it is known that variation in RGR at time t is mathematically linked with variation in its underlying components, the specific leaf area (SLA), the net assimilation rate (NAR) and the leaf weight ratio (LWR): $RGR(t) = NAR(t) \times SLA(t) \times LWR(t)$. SLA, a morphological component, is the total leaf area divided by total leaf mass. The net assimilation rate (NAR), a physiological trait, is the rate of increase in biomass per unit of leaf area. The leaf weight ratio (LWR) is the proportion of biomass allocated to leaves relative to the rest of the plant.

Most research on the ecological importance of RGR and its components has concentrated on average interspecific differences in these attributes when compared in constant environments.

Interspecific levels of plasticity in RGR and its components, i.e. the degree to which different environments induce changes in these attributes, have not received much attention. There is some evidence showing that species with a high maximum potential RGR are more sensitive to decreases in nutrient supply (Shipley 1988). Furthermore, Meziane & Shipley (1999) found that when species are grown under different but constant resource availabilities, interspecific variation in RGR was weakly but significantly correlated with variation in its underlying components such that interspecific variation in RGR was buffered by negative correlations among some of its underlying components. If so, then the decreased plasticity in RGR of some species could be the result of negative correlations between the degrees of plasticity of some of these underlying components. In fact, there is some evidence indicating that, among species typical from fertile or unfertile environments, there is a trade-off in the level of plasticity presented by different traits related with resource foraging, and consequently, with plasticity in growth rate (Campbell *et al.* 1991).

These patterns have been obtained from experiments that do not take into account temporal variation in resource supply. However, there are questions about plastic responses which are specific to this time dimension, and which present new ecological and evolutionary implications. A plastic response will be advantageous only if the timing of the phenotypic change appropriately tracks the timing of the environmental fluctuation. In fact, Campbell *et al.* (1991) found that a slow-growing species gained a greater advantage (in terms of its growth rate) from short pulses of nutrient enrichment than did a fast-growing species. Moreover, when plasticity of a trait is generated by a multivariate relationship, the change over time of a given trait will depend on the coordination in time between it and those other traits to which it is linked. This is the case for RGR and its underlying components.

On other hand, even within a constant environment, the traits of a plant are not expected to remain constant throughout its development, each trait following a pattern of variation during ontogeny. Thus, phenotypic plasticity after a fluctuation in the environment can be confounded with changes in the dynamics of the ontogenetic curve (i.e., variations in the

rapidity and magnitude of change along the curve). Given this, when studying the plasticity of a trait in response to temporal fluctuations in the environment, one must consider that this corresponds to comparing the changes in the ontogenetic curve of the trait, in comparison with the curve observed in a constant environment.

What would happen if species with different values of RGR_{max} were exposed to a decrease in the availability of a resource during their growth trajectories? In situations when the availability of a resource decreases suddenly, is there a positive relationship between variation in the RGR_{max} of different species and their level of plasticity? These questions have rarely been studied. The only interspecific study of which we are aware (Shipley 2000) involved a change in light intensity during the growth trajectory rather than nutrient supply and involved only two species, thus preventing any generalizable interspecific conclusions. Since relative growth rate is more affected by variation in nutrient supply than by variation in light intensity (Poorter & Van Der Werf 1998) one might expect rather different conclusions with respect to temporal changes in nutrient availability.

This study will concentrate on plastic responses to temporal variation in nitrogen supply that affect the entire root system. This will be done by measuring changes in RGR and its underlying components during a control treatment where 14 plant species were exposed to a constant nitrogen supply, and during a stress treatment where the same species were exposed to a sudden reduction in the nitrogen supply during their growth trajectory. We examine how, following a decrease in nitrogen availability, the plant modifies the ontogenetic trajectory of the underlying components of RGR, and how such changes in the ontogenetic trajectory of the underlying components affects the ontogenetic curve of RGR. Specifically we addressed the following questions: (1) Is the level of plasticity positively related with the RGR_{max} of the species? (2) Independent of the RGR_{max} , how will plasticity in RGR depend of the plasticity patterns of the underlying components of RGR? (3) Are the plastic responses in the ontogenetic trajectories of the components of RGR negatively related and coordinated in such a way that they buffer the level of plasticity in the ontogenetic trajectory of RGR?

Materials and methods

Forty-four plants in each of 14 species were grown under each of two experimental conditions. Individuals in a control experiment were exposed to a constant hydroponic solution (see below), for which the nitrogen concentration was 1 mM, over four weeks. In a nutrient stress experiment (the treatment), individuals from the same species were grown in this solution for the first 12 days, after which the nitrogen concentration was reduced 100 times and maintained at this level until the end of the four weeks period. All plants remained in the vegetative phase during the experiment. The 14 species used corresponded to herbaceous species typical of open habitats and representing a wide range of growth rates and ecological types. Species used were: *Aquilegia canadensis* Munz, *Aster novae-angliae* L., *Carex crinita* Lam., *Coreopsis lanceolata* L., *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Epilobium glandulosum* Lehm., *Hypericum pyramidatum* Aiton, *Lycopus americanus* Muhl., *Mentha arvensis* L., *Penthorum sedoides* L., *Rudbeckia hirta* L., *Scutellaria lateriflora* L., *Silene niveae* (Nutt.) Muhl. ex Otth, *Solidago nemoralis* Aiton..

GROWTH CONDITIONS AND PLANT HARVESTS

Plants were grown in a growth chamber with an irradiance of $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, 16/8 (light/dark) hours photoperiod and a 22/18 °C temperature cycle for both the treatment and control series. Germination was timed in order to provide sufficient individuals per species having a similar size and large enough to allow transplantation into the hydroponic system. The hydroponic system consisted of a 148 cm x 66 cm x 26 cm container placed within the growth chamber and filled with 279L of nutrient solution. This container was covered with a lid having a grid of 220 equidistant holes. The plants were placed in these holes and randomly positioned on the cover. Since the growth chamber could only hold 220 plants (thus 5 species), both the control and the treatment series were split in three sets of five species at a time. The same combination of species per set was used for the treatment and the control. A fan below the container ensured air circulation and a homogeneous air temperature within the chamber.

The nutrient solution was maintained in movement and was continuously aerated by two water and two air pumps. The solution used during the control consisted of 1/3 mM KNO₃, 1/4 mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, 1/12 mM (NH₄)₂SO₄, 5/3 mM K₂SO₄, 5/4 CaCl₂, 2 mM MgSO₄·7H₂O, 1 mM KH₂PO₄, 10 μM MnSO₄·H₂O, 1 μM Na₂MoO₄·4H₂O, 46 μM H₃BO₃, 1 μM ZnSO₄·7H₂O, 1 μM CuSO₄, 68.1 μM Fe-EDTA, which made a total nitrogen concentration of 1 mM. The same hydroponic solution was used during the first 12 days of the treatment. During day 12 the nitrogen concentration was reduced 100 times and maintained at this level until the end of the experiment. To obtain this nutrient solution with 0.01 mM of total nitrogen, the concentrations of some components were modified as follows: $1/3 \times 10^{-2}$ mM KNO₃, $1/4 \times 10^{-2}$ mM Ca(NO₃)₂·4H₂O, $1/12 \times 10^{-2}$ mM (NH₄)₂SO₄. In order to maintain the potassium and calcium concentrations as in the control series, the concentrations of K₂SO₄ and CaCl₂ were adjusted to 1.996 mM and 1.497 mM respectively. The pH was monitored daily and adjusted to 5.85. The solution was completely renewed every five days for both the control and the treatment.

The harvest schedule began on day 8 following transplantation into the growth chamber. In order to be able to detect sudden plastic responses, for both experimental conditions, the harvest program was characterized by a more intensive harvest frequency bracketing day 12 (the day when the reduction in nitrogen availability was imposed in the treatment) as follows: On average 1.79 plants per species (range: 0.50 to 3.25) were harvested each day from days 8 to 11. From days 12 to 15, an average of 2.22 plants per species per day (range: 1.25 to 2.75) were harvested. From day 16 to day 20, an average of 1.95 plant per species per day (range: 1.00 to 2.80) were harvested. From day 21 until the end of the experiment, an average of 1.47 plants per species per day (range: 0.83 to 2.50) were harvested. Plants were chosen for harvest based on a random draw. At each harvest the individual was separated into leaves, roots and “support” tissues (stems, petioles and leaf sheaths). Water was removed from the surface of each plant part with absorbent paper, and its fresh weight was measured. Total one-sided leaf area of the plant was measured by image analysis with WinFolia2001a for Windows (Regent Instruments Inc.). Plant parts were then oven-dried for at least 48 hours at 80° C before obtaining dry weights.

GROWTH ANALYSIS AND ESTIMATION OF PLASTICITY PARAMETERS

From these measures the observed values of SLA were calculated as the whole plant leaf area divided by whole-plant leaf dry mass. LWR corresponded to whole-plant leaf dry mass divided by whole-plant dry mass. The predicted values and 95% confidence intervals of these growth components as well as of NAR and RGR were estimated using cubic-spline smoothers. Cubic-spline smoothers do not impose any functional relationships on the data and have been shown to detect even subtle changes in complicated nonlinear growth trajectories (Shipley & Hunt 1996). The predicted values of RGR were estimated as the derivative with respect to time of the natural logarithm of plant dry mass. Predicted values of NAR were obtained from the product of RGR and whole plant dry mass divided by total leaf area. The predicted values through time of RGR and each of its components correspond to a curve describing the ontogenetic trajectory followed by each trait.

To test whether plants show plasticity in the ontogenetic trajectory of the growth components after a reduction in nitrogen availability, we need measures of the strength and rapidity of change that the growth component would follow during ontogeny in each environment. For this purpose, the following parameters were calculated from the curve of each growth component of each species in each treatment series: (i) the maximum rate of change (either positive or negative), (ii) the time at which this maximum rate occurs (with reference to day 12.7, i.e. the time when the nitrogen stress began during the treatment), (iii) the percentage change in the growth component at the time of maximum change compared to the mean value before day 12.7, (iv) the percentage change at the end of the experiment compared to the mean value before day 12.7, (v) the predicted value at time when the maximum rate of change occurred, and (vi) the predicted value at end of the experiment (Fig. 1A). Cubic-spline smoothers were fit using the `smooth.spline` function in R (R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>). All other statistical analyses were done using SPSS 13 for Windows computer package. The degree of plasticity for each ontogenetic parameter

corresponds to the absolute value of the difference between the two environments in the value of the ontogenetic parameter (Fig. 1B).

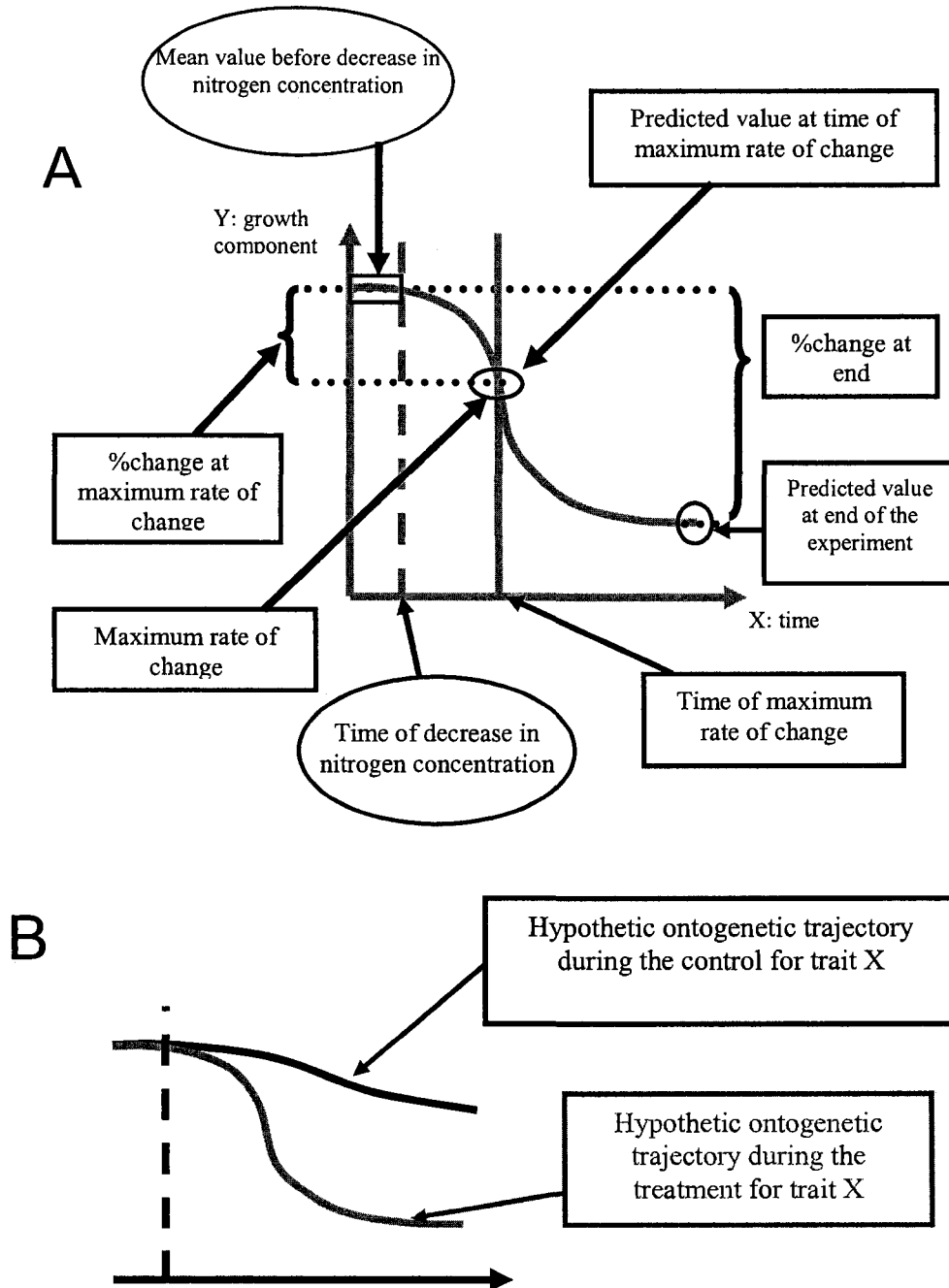


Figure 1. (A) Parameters of ontogenetic change (text in rectangles) calculated from the predicted values (curved line) of RGR and each of its components. (B) Plasticity between hypothetical ontogenetic trajectories followed during each experimental condition

In order to have comparable measures of plasticity among the different variables, we used the percentage of the absolute value of the difference. T-tests were conducted without assuming equality of variances between groups, resulting in Welch (or Satterthwaite) approximations to the degrees of freedom.

Results

In the control, in which the nitrogen concentration of the nutrient solution remained constant and high, the instantaneous RGR_{max} varied from $0.141 \text{ g g}^{-1}\text{d}^{-1}$ (*Hypericum pyramidatum*) to $0.320 \text{ g g}^{-1}\text{d}^{-1}$ (*Lycopus americanus*) with an average interspecific value of $0.238 \text{ g g}^{-1}\text{d}^{-1}$. At the end of the experiment (mean = 29.6 days) RGR values decreased from their maxima for the majority of species (12 of 14) being, on average, 12.33% lower than the mean value before day 12.7 (i.e. the time at which the nitrogen concentration of the solution was decreased during the treatment). On average, comparing across species, SLA decreased by $18.68\% \pm 17.98 \text{ SD}$, NAR decreased by $3.14\% \pm 25.32 \text{ SD}$ and LWR decreased by $6.09\% \pm 16.23 \text{ SD}$.

In the treatment, but before the nitrogen concentration of the solution was decreased, the values of RGR components were comparable to those observed in the control. In general, RGR started to decrease within the first three days after decreasing the nitrogen concentration of the solution at day 12.7. The interspecific RGR at the end of the experiment (mean = 28.62 days) was, on average, 63.34% lower than the mean value before day 12.7. At the end of the experiment and comparing across species, SLA decreased by $25.59\% \pm 14.94 \text{ SD}$ over time, NAR decreased by $28.13\% \pm 55.97 \text{ SD}$ and LWR decreased by $24.44\% \pm 14.32 \text{ SD}$.

PLASTICITY IN THE ONTOGENETIC TRAJECTORY OF GROWTH COMPONENTS
AFTER A DECREASE IN NITROGEN SUPPLY

Plasticity in the ontogenetic trajectory of a growth component corresponds to significant differences between the control and the treatment in any of the measures of change calculated from the ontogenetic curve followed by that trait in each environment (figure 1). After day 12.7, the maximum rate of change of RGR ($t_{22.042} = 3.292$, $p = 0.003$), NAR ($t_{17.540} = -2.466$, $p = 0.024$) and LWR ($t_{24.033} = -3.427$, $p = 0.002$), but not SLA ($t_{24.170} = -1.288$, $p = 0.210$) were significantly more negative in the treatment than in the control, i.e., these three growth components decreased more rapidly during the treatment than during the control.

In contrast, the time to attain this maximum rate of change did not differ significantly between the control and treatment for RGR ($t_{22.142} = -0.944$, $p = 0.356$), NAR ($t_{23.748} = -0.607$, $p = 0.549$), or LWR ($t_{23.080} = -1.536$, $p = 0.138$), although, during the treatment plant species took less days to reach the time at which SLA was decreasing at its maximum rate of change in comparison with the control ($t_{18.230} = 2.106$, $p = 0.049$).

Regarding the degree of ontogenetic change, NAR and SLA were not plastic in their percentage change either at time of their maximum rate of change ($t_{18.215} = -1.275$, $p = 0.218$ for NAR; $t_{25.964} = -0.603$, $p = 0.551$ for SLA), or at the end of the experiment ($t_{18.107} = -1.522$, $p = 0.145$ for NAR; $t_{25.152} = -1.107$, $p = 0.279$ for SLA). In contrast, in comparison with the control, both RGR and LWR showed a significantly higher reduction in this percentage change in the treatment, both at the time of their maximum rate of change ($t_{19.790} = -3.849$, $p = 0.001$ for RGR; $t_{25.981} = -3.931$, $p = 0.001$ for LWR) and at the end of the experiment ($t_{24.703} = -4.794$, $p = 6 \times 10^{-5}$ for RGR; $t_{25.603} = -3.173$, $p = 0.004$ for LWR).

IS THE LEVEL OF PLASTICITY POSITIVELY RELATED WITH THE RGRMAX OF THE SPECIES?

The maximum potential growth rate was positively related with the level of plasticity in the predicted value in RGR at time of its maximum rate of change (Fig. 2A). However, RGR_{max} was not related with the level of plasticity of any component of RGR.

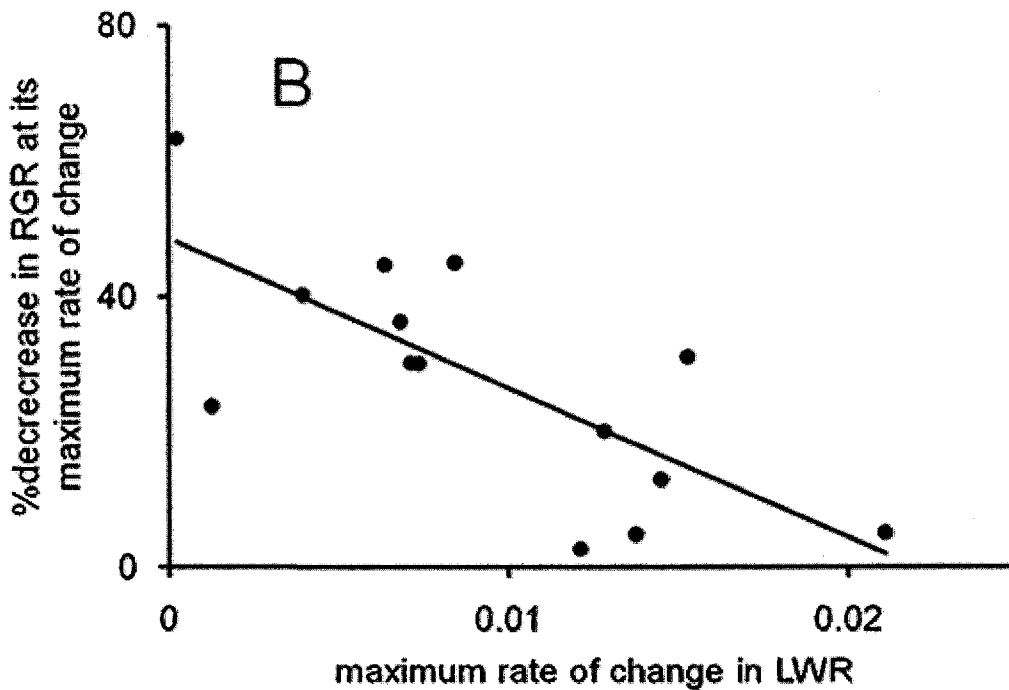
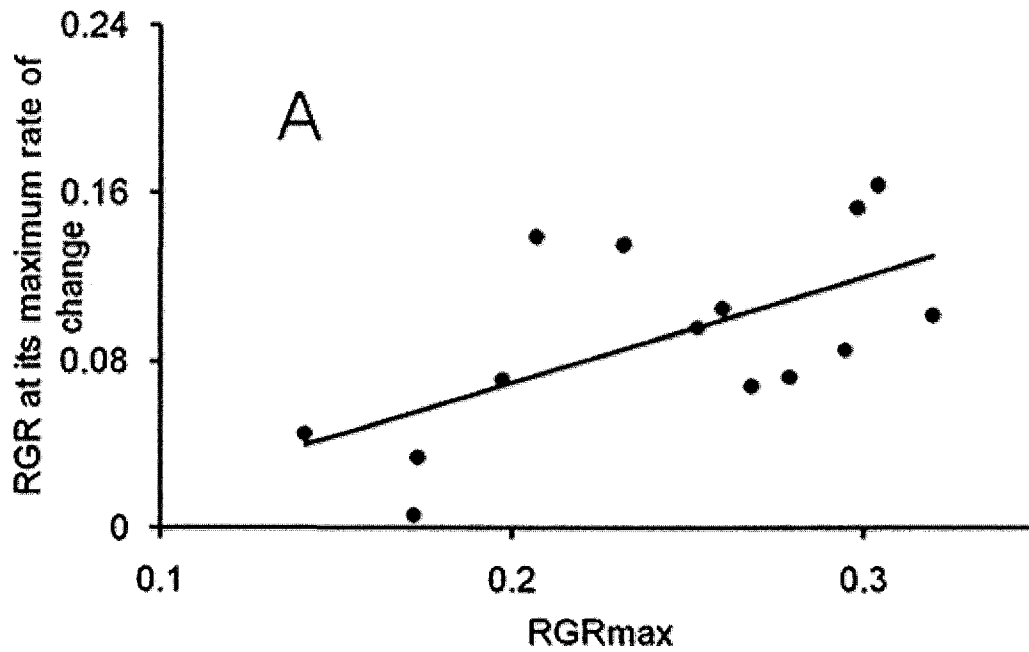


Fig. 2 (A). Relationship between RGR_{max} and the predicted value of RGR at time of its maximum rate of change ($r^2 = 0.38$, $P = 0.018$). (B) Relationship between the maximum rate of change in LWR and the percentage decrease in RGR at its time of maximum rate of change ($r^2 = 0.53$, $p = 0.003$)

PLASTICITY IN RGR IN RELATION TO PLASTICITY OF ITS UNDERLYING COMPONENTS

The level of plasticity in RGR was negatively related with the level of plasticity showed by one ontogenetic parameter of biomass allocation. Specifically, the percentage decrease in RGR at the time of its maximum rate of change was negatively related with the maximum rate of change of LWR (Fig. 2B). In contrast, the (\log_{10} transformed) predicted value of NAR at end of the experiment was positively related with the percentage change in RGR both at the time of its maximum rate of change (Fig. 3A) and at the end of the experiment (Fig. 3B). There was no evidence of negative correlations in the plasticity among the underlying components of RGR which plasticity was correlated with the plasticity in RGR.

Discussion

PLASTICITY IN THE ONTOGENETIC TRAJECTORY OF GROWTH COMPONENTS AFTER A DECREASE IN NITROGEN SUPPLY

The significant differences that were detected between traits in the control and treatment conditions constitute a clear indication of plasticity in such traits. The fact that we are comparing ontogenetic trajectories (including the curves of RGR) makes unnecessary any experimental control for a possible effect of size on the observation of plastic responses (Semchemko & Zobel 2005).

In general, SLA did not respond to the decrease in the supply of nitrogen. This is unexpected, since SLA showed strong and rapid responses to changes in irradiance (Shipley 2000). There are at least two possible explanations for this. First, Shipley (2006) found that the importance of SLA on RGR decreased with increasing irradiance, especially at the levels used in our experiment. Second, the rapid change in SLA in Shipley (2000) was likely due to the decrease in levels of non-structural carbohydrates from leaves when irradiance decreased. Since our

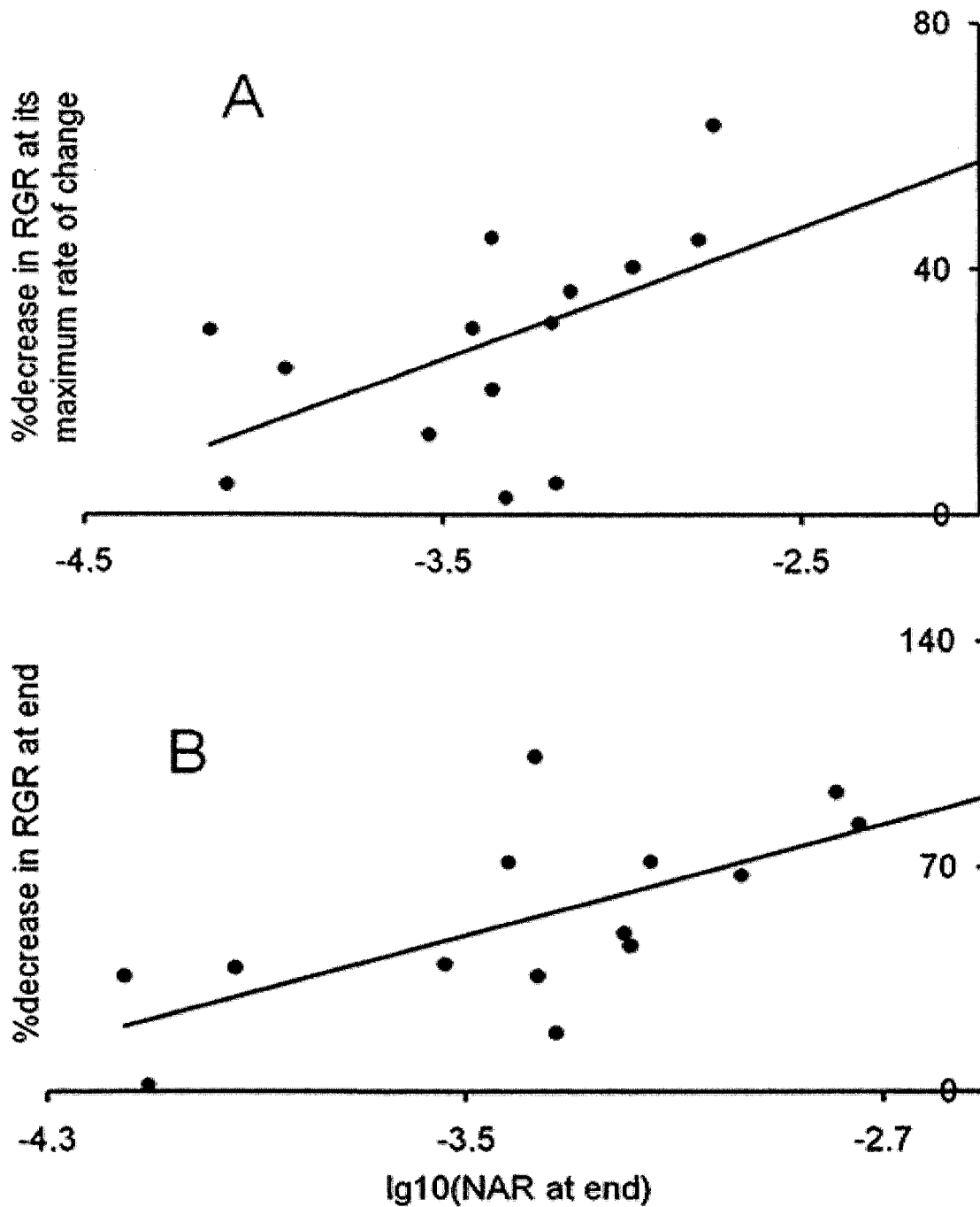


Figure 3. (A) Relationship between the log10 transformed predicted value of NAR at end and the percentage decrease in RGR at time of its maximum rate of change ($r^2 = 0.29, p = 0.049$). (B). Relationship between the log10 transformed predicted value of NAR at end and the percentage decrease in RGR at end ($r^2 = 0.44, p = 0.010$)

experiment was conducted at higher constant irradiance levels, and since there is no reason to expect a decrease in nutrient availability to change levels of non-structural carbohydrates, it appears that plasticity in SLA is not strongly induced by changes in nutrient levels. However, following the nutrient decrease, plants took significantly fewer days to reach the time at which SLA was decreasing at its maximum rate of change in comparison with the control. This suggests that SLA responded very quickly to the treatment but in amounts too small to be detected by our sample procedures.

The interspecific maximum rate of change of NAR was significantly more negative in the treatment than in the control, i.e., NAR decreased more rapidly during the treatment than during the control. However, this higher rate of decrease in NAR was not reflected in a higher percentage decrease at the end of the experiment (i.e., there was no plasticity in the percentage decrease at the end of the experiment). This is possible only if, after the time NAR reached its maximum negative rate of change, there was a strong deceleration in this rate of change for most of the species. In other words, NAR recovered after an initial fall caused by nitrogen stress.

The time to attain the maximum rate of change did not differ significantly between the control and treatment for RGR, NAR, or LWR. However, since some species responded very rapidly after the decrease in nitrogen concentration, and since the ability to accurately measure this time is limited by the harvest schedule used, the inability to detect significant changes could be due to these experimental limitations. Perhaps more frequent harvests are necessary.

IS THE LEVEL OF PLASTICITY POSITIVELY RELATED WITH THE RGR_{max} OF THE SPECIES?

We found some evidence indicating that fast growing species present a higher plasticity after a decrease in nitrogen availability. RGR_{max} was positively related with the level of plasticity in the predicted value of RGR at time of its maximum rate of change. This is in agreement with

the results from constant but different environments made by Shipley (1988) and Meziane & Shipley (1999). However, RGR_{max} was not related to the level of plasticity of any single component of RGR. Perhaps some of the underlying components of RGR at the root level (specific root area, net nutrient uptake rate and root weight ratio) presented plastic responses to the treatment of nitrogen stress. Whether this possible plasticity in root traits is related with the growth rate of the species is a question that deserves to be explored.

ARE THE PLASTIC RESPONSES IN THE ONTOGENETIC TRAJECTORIES OF THE COMPONENTS OF RGR COORDINATED IN A WAY THAT BUFFER THE LEVEL OF PLASTICITY IN THE ONTOGENETIC TRAJECTORY OF RGR?

In contrast to the results from Meziane & Shipley (1999), there was no evidence of negative correlations in the plasticity among the underlying components of RGR whose plasticity was correlated with the plasticity in RGR. However, we found support for our initial hypothesis about opposite effects among the plasticity of the components of RGR on the plasticity of RGR: the level of plasticity in RGR was negatively related with the level of plasticity showed by one ontogenetic parameter of LWR. In contrast, the predicted value of NAR at end of the experiment was positively related to the percentage change in RGR both at the time of its maximum rate of change and at the end of the experiment. In general, species highly plastic in LWR were less plastic in RGR while species highly plastic in NAR were more plastic in RGR. These opposite effects on RGR between NAR and LWR support the hypothesis about a trade-off between the effects that the plasticity of the components of RGR can have on the plasticity of RGR (Meziane & Shipley 1999, Grime & MacKey 2002). These findings are also in agreement with Meziane & Shipley (1999) and Shipley (2000) who proposed that plasticity in RGR is buffered by plasticity in some of its underlying components. This occurs because of the multivariate nature of plasticity in RGR, and many other plant traits.

Although in general the studied species presented a decreasing trend in RGR, NAR and LWR over time, there was high interspecific variation in the shapes of their ontogenetic trajectories

as is reflected by the high values of standard deviations in all the parameters measured from the ontogenetic trajectories. NAR, in particular, presented very large interspecific differences. One possible cause for this strong variation in NAR can be the patterns of plasticity that occurred at the root level which could influence not only variation in RGR but also variation in the rate of production of biomass per unit of leaf area.

Acknowledgements

We thank à J.-M. Lalonde, B. Mercier, L. M. Thériault, S. Mounirattinam, P. Garcia-Cournoyer, C. Tremblay and I. Nault for help in the experimental manipulations. This study was financially supported by NSERC (Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada) .

References

- Blackman, G. E., and G. L. Wilson. (1951). Physiological and ecological studies in the analysis of plant environment. VII. An analysis of the differential effects of light intensity on the net assimilation rate, leaf-area ratio, and relative growth rate of different species. *Annals of Botany*, **15**, 373-408.
- Campbell, B. D., J. P. Grime, and J. M. L. Mackey. (1991). A Trade-Off between Scale and Precision in Resource Foraging. *Oecologia*, **87**, 532-538.
- Grime, J. P., and R. Hunt. (1975). Relative growth rate: its range and adaptive significance in a local flora. *Journal of Ecology*, **63**, 393-422.
- Grime, J. P. and J. M. L. MacKey. 2002. The role of plasticity in resource capture by plants. *Evolutionary Ecology*, **16**, 299–307

- Meziane, D., and B. Shipley. (1999). Interacting components of interspecific relative growth rate: constancy and change under differing conditions of light and nutrient supply. *Functional Ecology*, **13**, 611-622.
- Meziane, D., and B. Shipley. (2001). Direct and indirect relationships between specific leaf area, leaf nitrogen and leaf gas exchange. Effects of irradiance and nutrient supply. *Annals of Botany*, **88**, 915-927.
- Poorter, H., and A. Van Der Werf. (1998). Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. *Inherent variation in plant growth*. (eds H. Lambers, H. Poorter & M. I. Van Vuuren) Pp. 309-336. Backhuys, Leiden.
- Poorter, H., and E. Garnier. (1999). Ecological significance of inherent variation in relative growth rate and its components. *Handbook of Functional Plant Ecology*. (eds F.I. Pugnaire & F. Valladares) Pp 82-120. Marcel Dekker, NY.
- Semchemko, M. and K. Zobel 2005. The effect of breeding on allometry and phenotypic plasticity in four varieties of oat (*Avena sativa* L.). *Field Crops Research*, **93**, 151–168.
- Shipley, B. (1988). The relationship between relative growth rate and sensitivity to nutrient stress in twenty-eight species of emergent macrophytes. *Journal of Ecology*, **76**, 1101-1110.
- Shipley, B. (1999). Testing causal explanations in organismal biology: causation, correlation and structural equation modelling. *Oikos*, **86**, 374-382.
- Shipley, B. 2000. Plasticity in relative growth rate and its components following a change in irradiance. *Plant, Cell and Environment*, **23**, 1207-1216.
- Shipley, B. 2006. Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Functional Ecology*, **20**, 565-574.

Shipley, B. and R. Hunt (1996). Regression smoothers for estimating parameters of growth analyses. *Annals of Botany*, **78**, 569-576.

CONCLUSION

Signification des résultats obtenus

Comme prévu, cette étude a montré l'existence de plasticité phénotypique dans la vitesse spécifique de croissance (VSC) et dans ses composantes de la VSC lors d'une diminution dans la disponibilité d'azote. En plus, cette étude montre que la plasticité ontogénique est réversible donc que le phénotype est plastique (Piersma et Drent, 2003) puisqu'on a fait une comparaison entre certains paramètres de la courbe ontogénique des traits pendant le contrôle et pendant le traitement. Tant la plasticité dans la fraction de masse des feuilles que la plasticité dans le taux net d'assimilation est reliée significativement au degré de plasticité de la VSC. Ce résultat confirme la nature multivariée du phénomène de plasticité dans le cas de la VSC (Shipley, 2004). Le fait que les espèces présentant une grande plasticité de la fraction de masse des feuilles aient une faible plasticité de la VSC et que simultanément les espèces ayant une grande plasticité du taux net d'assimilation aient une grande plasticité de la VSC montre que les plasticités ontogéniques des composantes de la VSC sont coordonnées de façon à amortir la plasticité de la VSC. Donc, cette étude sur les compromis entre les réponses de plasticité des différentes espèces face à une fluctuation dans la disponibilité d'azote est une contribution aux connaissances des mécanismes permettant d'expliquer la performance similaire ou contrastante de différents types fonctionnels face à une fluctuation de l'environnement.

Certains patrons observés sont inattendus. On a en effet trouvé une relation entre la VSCmax et le degré de plasticité dans la VSC mais pas entre la VSCmax et la plasticité des composantes de la VSC prises séparément. Et ce, malgré le fait qu'on ait démontré la nature multivariée de la VSC. D'autre part, cette étude a montré que la réponse de plasticité évoluait dans le temps pour atteindre la vitesse de changement maximale dans la surface spécifique des feuilles (SSF). Elle n'a toutefois montré aucun signe évident de plasticité, ni dans la vitesse de changement elle-même, ni dans l'ampleur du changement de la SSF. Dans une situation de stress en nutriments, on se serait attendu à ce que la SSF diminue parallèlement à une augmentation de la densité des tissus des nouvelles feuilles produites après le traitement (i.e.,

des feuilles plus résistantes). Bien s'il s'agisse d'une réponse plutôt lente, toutes les espèces ont produit des nouvelles feuilles après le traitement (Useche, observation personnelle)

Résultats non expliqués, questions ouvertes et nouvelles expériences pour les aborder

Un résultat surprenant de l'étude est qu'il existe une relation entre la VSCmax et le degré de plasticité dans la VSC, mais non entre la VSCmax et la plasticité des composantes de la VSC. Comme on l'a mentionné dans l'article, ce résultat peut s'expliquer si on considère que la VSC peut aussi être décomposé mathématiquement (factorisée) aussi au niveau des traits reliés à la captation des nutriments. Dans cette factorisation, toute variation de la VSC dans le temps (t) est reliée à la variation dans le temps (t) de ses composantes au niveau des racines. On peut donc se demander : (1) Quelle est la relation entre la VSCmax et le degré de plasticité dans la trajectoire ontogénique des composantes de la VSC au niveau des racines? (2) Est-ce que la plasticité dans la trajectoire ontogénique de la VSC est reliée à deux ou trois des ses composantes au niveau des racines? (3) Si c'est le cas, est-ce que les réponses de ces composantes sont coordonnées de façon à amortir la plasticité dans la VSC? (4) Quelles seraient alors les relations de causalité entre la plasticité des composantes et la plasticité de la VSC? Pour aborder cette dernière question il faudrait se servir des analyses des pistes ou d'analyses avec des équations structurelles.

Une autre question qu'il serait important d'examiner est de savoir s'il existe une plasticité de réallocation des minéraux entre différents tissus végétaux. Comment réagit la teneur en azote des différents tissus, jeunes ou vieux, de la plante après une diminution dans le supplément de ce minéral? Par exemple, est-ce que la concentration d'azote des feuilles, qui ont été produites par la plante après la diminution d'azote, est inférieure à celle des feuilles produites avant la diminution d'azote? Est-ce que, une fois l'expérience terminée, on peut voir une récupération de cette concentration d'azote? Pour vérifier cela, on devrait premièrement faire des estimations de la teneur d'azote organique des feuilles, des racines et des structures de support séchées après avoir estimé leur poids et surface. Deuxièmement, on peut supposer *a priori* que la courbe ontogénique de la teneur en azote diminuera à un moment donné. Donc pour estimer

le degré de récupération de cette teneur en azote, on devrait programmer, dans la fonction utilisée dans le logiciel R, une estimation du taux de changement minimal qui soit restreinte à la période après que le taux de changement négatif maximal ait été atteint.

Est-ce que lors du traitement de diminution de la disponibilité d'azote il y aurait translocation d'azote des vieilles feuilles vers les tissus, ou les feuilles, jeunes? Expérimentalement il faudrait se limiter à se demander si les vieilles feuilles ont toujours une plus faible concentration d'azote que les feuilles jeunes et si cette différence est plus grande dans le traitement de diminution d'azote que dans le contrôle.

Parmi les réponses possibles en termes de rétention des nutriments, on pourrait examiner si la durée de vie des tissus augmente après la diminution d'azote. Il faudrait faire des expériences de croissance plus longues et marquer les feuilles. Le logiciel d'analyse d'images des racines WinRizo 2002a (Regent Instruments) pourrait être utilisé pour identifier des racines mortes.

Il a été rapporté que des espèces annuelles présentent des traits au niveau de racines qui sont mieux adaptés pour l'acquisition de nutriments que chez les espèces pérennes (Roumet 2006). Donc on pourrait se demander si cette tendance se maintient au niveau des patrons de plasticité face à une diminution d'azote. Il faudrait tout simplement refaire l'expérience avec un nombre suffisant d'espèces de chaque groupe et confronter, par une ANOVA, les plantes traitées avec les plantes contrôle et les annuelles avec les pérennes.

ANNEXE

FONCTIONS UTILISÉES DANS LE LOGICIEL R POUR ESTIMER LES PARAMÈTRES DE CHANGEMENT ONTOGÉNIQUE DE LA VITESSE SPÉCIFIQUE DE CROISSANCE (VSC) ET DE SES COMPOSANTES.

FONCTION D'ESTIMATION DES PARAMÈTRES DE CHANGEMENT ONTOGÉNIQUE DE LA VSC :

```
rgr.plasticity
function (biomass, time, DF = NA, treatment.start = 12.7)
{
  sel <- !is.na(biomass) & !is.na(time)
  time <- time[sel]
  y <- log(biomass[sel])
  ord <- order(time)
  time <- time[ord]
  y <- y[ord]
  if (length(time) != length(y))
    return("time and biomass not same length")
  if (is.na(DF))
    fit <- smooth.spline(x = time, y = y)
  if (!is.na(DF))
    fit <- smooth.spline(x = time, y = y, df = DF)
  pred <- predict(fit, time)
  t.crit <- qt(0.975, length(time) - fit$df)
  SE.y <- sqrt(diag(G.matrix(time, fit$df))$S %*% t(G.matrix(time,
```

```

fit$df)$S)) * fit$cv.crit)
rgr <- predict(fit, fit$x, deriv = 1)
h <- (1/length(y)) + ((time - mean(time, na.rm = T))^2)/sum(time^2)
studentized.residuals <- abs(y - fit$y)/(SE.y * sqrt(1 -
  h))
prob.resid <- 2 * (1 - pt(studentized.residuals, df = (length(fit$x) -
  fit$df)))
SE.rgr <- sqrt(diag(G.matrix(time, fit$df)$G %*% t(G.matrix(time,
  fit$df)$G)) * fit$cv.crit)
change.rgr <- predict(fit, fit$x, deriv = 2)
last.time <- max(time, na.rm = T)
max.change <- min(change.rgr$y, na.rm = T)
time.max.change <- change.rgr$x[change.rgr$y == max.change]
rgr.at.end <- rgr$y[rgr$x == last.time]
rgr.at.max.change <- predict(fit, x = time.max.change, deriv = 1)$y
mean.rgr.before.treatment <- mean(rgr$y[rgr$x <= treatment.start],
  na.rm = T)
percent.decrease.rgr.at.end <- 100 * (mean.rgr.before.treatment -
  rgr.at.end)/mean.rgr.before.treatment
percent.decrease.rgr.at.max.change <- 100 * (mean.rgr.before.treatment -
  rgr.at.max.change)/mean.rgr.before.treatment
par(mfrow = c(1, 2))
min.y <- min(c(pred$y - t.crit * SE.y, biomass), na.rm = T)
max.y <- max(c(pred$y + t.crit * SE.y, biomass), na.rm = T)
plot(time, y, xlab = "Time", ylab = "Ln(biomass)", ylim = c(min.y,
  max.y))
lines(x = fit$x, y = fit$y)
lines(x = pred$x, pred$y - t.crit * SE.y, lty = 2)
lines(x = pred$x, pred$y + t.crit * SE.y, lty = 2)

```

```

min.rgr <- min(rgr$y - t.crit * SE.rgr, na.rm = T)
max.rgr <- max(rgr$y + t.crit * SE.rgr, na.rm = T)
plot(x = rgr$x, y = rgr$y, ylim = c(min.rgr, max.rgr), type = "l",
     lwd = 2, xlab = "Time", ylab = "RGR")
lines(x = rgr$x, rgr$y - t.crit * SE.rgr, lty = 2)
lines(x = rgr$x, rgr$y + t.crit * SE.rgr, lty = 2)
lines(x = c(treatment.start, treatment.start), y = c(min.rgr,
     max.rgr), lwd = 3)
lines(x = c(time.max.change, time.max.change), y = c(min.rgr,
     max.rgr), lty = 2)
par(mfrow = c(1, 1))
ord <- order(studentized.residuals, decreasing = TRUE)
n <- length(ord)
outliers <- data.frame(time = time[ord], time.fit = fit$x[ord],
     obs.y = fit$y[ord], pred.y = fit$y[ord], studentized.residuals =
studentized.residuals[ord])
list(mean.rgr.before.treatment = mean.rgr.before.treatment,
     max.change = max.change, rgr.at.max.change = rgr.at.max.change,
     rgr.at.end = rgr.at.end, percent.decrease.rgr.at.max.change =
percent.decrease.rgr.at.max.change,
     percent.decrease.at.end = percent.decrease.rgr.at.end,
     time.of.max.change = time.max.change, fit.summary = fit,
     outliers = outliers)
}

```

FONCTION D'ESTIMATION DES PARAMÈTRES DE CHANGEMENT ONTOGÉNIQUE
DU TNA :

nar.plasticity

```
function (time, plant.mass, leaf.area, DF.mass = NA, DF.nar = NA,  
  treatment.start = 12.7, omit.lines = NA)  
{  
  if (length(omit.lines) > 1) {  
    time <- time[-omit.lines]  
    plant.mass <- plant.mass[-omit.lines]  
    leaf.area <- leaf.area[-omit.lines]  
  }  
  else if (!is.na(omit.lines)) {  
    time <- time[-omit.lines]  
    plant.mass <- plant.mass[-omit.lines]  
    leaf.area <- leaf.area[-omit.lines]  
  }  
  else NULL  
  par(mfrow = c(3, 2))  
  sel <- !is.na(time) & !is.na(plant.mass) & !is.na(leaf.area)  
  time <- time[sel]  
  plant.mass <- plant.mass[sel]  
  leaf.area <- leaf.area[sel]  
  if (is.na(DF.mass))  
    fit.plant <- smooth.spline(time, log(plant.mass))  
  if (!is.na(DF.mass))  
    fit.plant <- smooth.spline(time, log(plant.mass), df = DF.mass)  
  dlnM.dt <- predict(fit.plant, fit.plant$x, deriv = 1)  
  plot(time, log(plant.mass), xlab = "Time", ylab = "Ln(plant mass)")
```

```

lines(fit.plant$x, fit.plant$y)
lines(x = c(treatment.start, treatment.start), y = c(min(log(plant.mass),
  na.rm = T), max(log(plant.mass), na.rm = T)))
title(paste("DF= ", as.character(round(fit.plant$df, 2))))
plot(dlnM.dt$x, dlnM.dt$y, xlab = "Time", ylab = "RGR", type = "l")
nar <- dlnM.dt$y * (plant.mass/leaf.area)
if (is.na(DF.nar))
  fit.nar <- smooth.spline(time, nar)
if (!is.na(DF.nar))
  fit.nar <- smooth.spline(time, nar, df = DF.nar)
plot(time, plant.mass/leaf.area, xlab = "Time", ylab = "Plant mass/leaf area")
lines(c(treatment.start, treatment.start), c(min(log(leaf.area),
  na.rm = T), max(log(leaf.area), na.rm = T)))
plot(time, nar, xlab = "Time", ylab = "NAR")
lines(c(treatment.start, treatment.start), c(min(nar, na.rm = T),
  max(nar, na.rm = T)))
lines(fit.nar$x, fit.nar$y)
title(paste("DF= ", as.character(round(fit.nar$df, 2))))
resid <- abs(nar - fit.nar$y)
ord <- order(resid)
n <- length(ord)
outliers <- cbind(time[ord[(n - 3):n]], nar[ord[(n - 3):n]])
nar.before.treatment <- mean(nar[time <= treatment.start],
  na.rm = T)
nar.at.end <- nar[time = max(time, na.rm = T)]
dnar.dt <- predict(fit.nar, fit.nar$x, deriv = 1)
plot(dnar.dt$x, dnar.dt$y, xlab = "Time", ylab = "dNAR/dt",
  type = "l")
lines(c(treatment.start, treatment.start), c(min(dnar.dt$y,

```

```

na.rm = T), max(dnar.dt$y, na.rm = T)))
max.change <- max(abs(dnar.dt$y), na.rm = T)
time.max.change <- time[dnar.dt$y == max.change]
percent.at.max.change <- 100 * (nar.before.treatment - nar[time =
time.max.change])/nar.before.treatment
percent.at.end <- 100 * (nar.before.treatment - nar.at.end)/nar.before.treatment
list(time = time, nar = nar, fit.plant = fit.plant, fit.nar = fit.nar,
outliers = outliers, nar.before.treatment = nar.before.treatment,
nar.at.end = nar.at.end, time.max.change = time.max.change,
max.change.nar = max.change, percent.decrease.nar.at.max.change =
percent.at.max.change,
percent.decrease.nar.at.end = percent.at.end)
}

```

FONCTION D'ESTIMATION DES PARAMÈTRES DE CHANGEMENT ONTOGÉNIQUE
DE LA SSF ET DE LA FMF :

```

any.plasticity
function (y, time, DF = NA, treatment.start = 12.7)
{
sel <- !is.na(y) & !is.na(time)
time <- time[sel]
y <- y[sel]
ord <- order(time)
time <- time[ord]
y <- y[ord]
if (length(time) != length(y))
return("time and y not same length")
}

```

```

if (is.na(DF))
  fit <- smooth.spline(x = time, y = y)
if (!is.na(DF))
  fit <- smooth.spline(x = time, y = y, df = DF)
SE.y <- sqrt(diag(G.matrix(time, fit$df)$S %*% t(G.matrix(time,
  fit$df)$S)) * fit$cv.crit)
h <- 1/length(y) + ((time - mean(time, na.rm = T))^2)/sum(time^2)
studentized.residuals <- abs(y - fit$y)/(SE.y * sqrt(1 -
  h))
t.crit <- qt(0.975, length(time) - fit$df)
y.pred <- predict(fit, fit$x)
x.time <- time[time > treatment.start]
change.y.pred <- predict(fit, fit$x, deriv = 1)
change.y.pred.after.treatment <- predict(fit, x.time, deriv = 1)
last.time <- max(time, na.rm = T)
max.change <- max(abs(change.y.pred.after.treatment$y), na.rm = T)
time.max.change <- change.y.pred.after.treatment$x[abs(change.y.pred.after.treatment$y)
==
  max.change]
y.at.end <- y.pred$y[y.pred$x == last.time]
y.at.max.change <- predict(fit, x = time.max.change)$y
mean.y.before.treatment <- mean(y.pred$y[y.pred$x <= treatment.start],
  na.rm = T)
percent.decrease.y.at.end <- 100 * (mean.y.before.treatment -
  y.at.end)/mean.y.before.treatment
percent.decrease.y.at.max.change <- 100 * (mean.y.before.treatment -
  y.at.max.change)/mean.y.before.treatment
par(mfrow = c(1, 2))
min.y <- min(c(y.pred$y - t.crit * SE.y, y), na.rm = T)

```



```

max.y <- max(c(y.pred$y + t.crit * SE.y, y), na.rm = T)
plot(time, y, xlab = "Time", ylab = "Y", ylim = c(min.y,
  max.y))
lines(x = fit$x, y = fit$y)
lines(x = y.pred$x, y.pred$y - t.crit * SE.y, lty = 2)
lines(x = y.pred$x, y.pred$y + t.crit * SE.y, lty = 2)
lines(x = c(treatment.start, treatment.start), y = c(min.y,
  max.y), lwd = 3)
lines(x = c(time.max.change, time.max.change), y = c(min.y,
  max.y), lty = 2)
plot(x = change.y.pred$x, y = change.y.pred$y, type = "l",
  lwd = 2, xlab = "Time", ylab = "Change in Y")
lines(x = c(treatment.start, treatment.start), y = c(min(change.y.pred$y),
  max(change.y.pred$y)), lwd = 3)
lines(x = c(time.max.change, time.max.change), y = c(min(change.y.pred$y),
  max(change.y.pred$y)), lty = 2)
par(mfrow = c(1, 1))
ord <- order(studentized.residuals, decreasing = T)
n <- length(ord)
outliers <- cbind(time = time[ord], y.obs = y[ord], y.pred = y.pred$y[ord],
  studentized.residuals = studentized.residuals[ord])
list(mean.y.before.treatment = mean.y.before.treatment, max.change = max.change,
  y.pred.at.max.change = y.at.max.change, y.pred.at.end = y.at.end,
  percent.decrease.y.at.max.change = percent.decrease.y.at.max.change,
  percent.decrease.at.end = percent.decrease.y.at.end,
  time.of.max.change = time.max.change, fit.summary = fit,
  outliers = outliers)
}

```

BIBLIOGRAPHIE

- Aerts, R. and Chapin, F. III. (2000). The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advan. Ecol. Res.* 30, 1-67.
- Aikio, S. and Markkola, A.M. (2002). Optimality and phenotypic plasticity of shoot-to-root ratio under variable light and nutrient availabilities. *Evol. Ecol.* 16, 67-76.
- Alpert, P. and Simms, E.L. (2002). The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: when is it good for a plant to adjust? *Evol. Ecol.* 16, 285-297.
- Cain, M.L., Subler, S, Evans, J.P. and Fortin, M-J. (1999). Sampling spatial and temporal variation in soil nitrogen availability. *Oecologia* 118, 397-404.
- Campbell, B. and Grime, J.P. (1989). A comparative study of plant responsiveness to the duration of episodes of mineral nutrient enrichment. *New Phytol.* 112, 261-267.
- Cui, M.Y. and Caldwell, M.M. (1997). A large ephemeral release of nitrogen upon wetting of dry soil and corresponding root responses in the field. *Plant Soil* 191, 291-299.
- Fransen, B., Blijenberg, J. and de Kroon, H. (1999). Root morphological and physiological plasticity of perennial grass species and the exploitation of temporal and spatial heterogeneous nutrient patches. *Plant Soil* 211, 179-189.
- Grime, J.P. (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *Am. Nat.* 111, 1169-1194.
- Grime, J.P. and Mackey, J.L.M. (2002). The role of plasticity in resource capture by plants. *Evol. Ecol.* 16, 299-307.
- Hagedorn, F., Schleppei, P., Waldner P., and Fluhler, H. (2000). Export of dissolved organic carbon and nitrogen from Gleysol dominated catchments - the significance of water flow paths. *Biogeochemistry* 50, 137-161.
- Jamieson, N., Barraclough, D., Unkovich, M. and Monaghan, R. (1998). Soil N dynamics in a natural calcareous grassland under a changing climate. *Biol. Fert. Soils* 27, 267-273.
- Meziane, D., and Shipley, B. (1999). Interacting components of interspecific relative growth rate: constancy and change under differing conditions of light and nutrient supply. *Funct. Ecol.* 13, 611-622.

- Piersma, T. and Drent, J. (2003). Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends Ecol. Evol.* *18*, 228-233.
- Roumet, C., Urcelay, C. and Diaz, S. (2006). Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytol.* *124*, 1-11.
- Schlichting, C.D. (2002). Phenotypic plasticity in plants. *Plant Species Biol.* *17*, 85-88.
- Sher, A.A., Goldberg, D.E. and Novoplansky, A. (2004). The effect of mean and variance in resource supply on survival of annuals from Mediterranean and desert environments. *Oecologia* *141*, 353-362.
- Shipley, B. (1988). The relationship between relative growth rate and sensitivity to nutrient stress in twenty-eight species of emergent macrophytes. *J. Ecol.* *76*, 1101-1110.
- Shipley, B. (2004). Analyzing the allometry of multiple interacting traits. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* *6*, 235-241.
- Sultan, S.E. (2007). Development in context: the timely emergence of eco-devo. *Trends Ecol. Evol.* *22*, 575-582.
- Via, S., Gomulkiewicz, R., De Jong, G., Scheiner, S.M., Schlichting, C.D., Van Tienderen, P.H. (1995). Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends Ecol. Evol.* *10*, 212-217.
- Wijesinghe, D.K., John, E.A. and Hutchings, M.J. (2005). Does pattern of soil resource heterogeneity determine plant community structure? An experimental investigation. *J. Ecol.* *93*, 99-112.