

Thèse de doctorat

Présentée par

Etienne Baron

En vue de l'obtention du grade de

Docteur en Sciences de l'Université de Lille 1

Discipline : Biologie Evolutive et Ecologie

Numéro d'ordre : 41665

Génomique écologique de la réponse à la compétition chez *Arabidopsis thaliana*

Soutenance prévue le 17 Décembre 2014, devant le jury composé de :

Juliette de Meaux, Professeur, Université de Münster – Allemagne Rapporteur
Irène Till-Bottraud, Directrice de Recherche, CNRS – LECA – Grenoble Rapporteur
Denis Vile, Chargé de Recherche, INRA/SUPAGRO – LEPSE – Montpellier Examineur
Cyrille Violle, Chargé de Recherche, CNRS – CEFÉ – Montpellier Examineur
Joël Cuguen, Professeur, Université de Lille 1 – GEPV Examineur
Fabrice Roux, Chargé de Recherche, CNRS – Université de Lille 1 – GEPV Directeur
Laurent Amsellem, Maître de Conférences, Université de Lille 1 – GEPV... Codirecteur ; Invité

Remerciements

Puisque durant quelques lignes il m'est autorisé de remercier, je tiens à en profiter.

Ce n'est pas évident pour tout le monde de donner de l'argent pour la transformer en énergie scientifique ayant pour but de comprendre de quoi la biodiversité est-elle faite et de soutenir la recherche publique. Alors même si mes travaux ne sont qu'une micro-goutte dans un océan de découvertes, je remercie gracieusement l'Université de Lille 1 et la Région Nord-Pas-de-Calais d'avoir financé mes trois années de thèse.

Merci à ceux qui dédient leur quotidien à la compréhension du fonctionnement de Dame Nature. Parmi eux, je remercie particulièrement les membres de mon jury de thèse : Juliette de Meaux, Irène Till-Bottraud, Denis Vile et Cyrille Violle. J'ajoute également les membres de mes comités de thèse, Christine Dillman, Valérie Le Corre, Emmanuelle Porcher et Jacqui Shykoff. Merci beaucoup pour vos critiques et suggestions. J'y associe l'ensemble des acteurs de la recherche au sein du GEPV à Lille et du LIPM à Toulouse que j'ai pu côtoyer, qu'ils soient techniciens, ingénieurs, chercheurs, doctorants ou post-doctorants, avec en chef de file respectif Joël Cuguen et Xavier Vekemans ainsi que Dominique Roby. J'ai eu la chance d'évoluer dans un cadre scientifique optimal. En particulier, merci Joël pour la mobilité internationale que tu développes auprès des doctorants.

Optimal, est aussi l'adjectif que j'associe à mon encadrement. En me donnant les graines de la population TOU-A lors de mes premiers jours de thèse, j'ai vraiment eu l'impression que l'un de tes messages Fabrice, était : « voilà, tu fais ce que tu veux avec ça ». J'ai pris ça comme un privilège. Un grand merci pour m'avoir ouvert les portes de ton jardin pour faire parler les plantes et en particulier le modèle *Arabidopsis*, qui au premier abord manque d'une certaine poésie exotique pour les rêveurs écologues, mais qui offre un pouvoir d'exploration incroyable. Il est clair que grâce à toi, je vois les plantes différemment et que le monde végétal est à mes yeux encore plus fascinant. Et heureusement que tu étais là pour m'éviter plus d'une bêtise. J'y associe Laurent, lui aussi à l'initiative du projet. Ton recul sur les choses m'a été très bénéfique. Pour tous les deux, votre patience, votre écoute, vos conseils, votre réconfort, votre optimisme... n'ont d'égal que votre humour. Un extraordinaire merci.

J'y associe l'équipe CGENECO et la *thaliana* team. Nina et Yves, nous allons réussir à écrire une chouette histoire avec la manip à Wimereux. Je remercie grandement mes deux prédécesseurs Benjamin et Romain. Vos travaux en amont et vos ingéniosités scriptiques m'ont énormément apporté. Merci Benjamin pour ton accueil avec Meriem. Chicago restera une ville idyllique en partie grâce à vous. Merci Romain pour le soutien quotidien. Georges te va bien, et Lieselot aussi !

J'en profite pour remercier Joy Bergelson, l'ensemble de son laboratoire et Chip Ferguson pour leur accueil en terres états-uniennes. Cette expérience a été l'un des moments forts de ces trois années. Et tant qu'on est aux États-Unis, une pensée particulière pour le mémorable *Goat Power* californien de l'ESA composé d'Emily, Michelle, Rachel, Chris, Luka et Nash.

Merci aussi à mes compagnons de manip. A Cédric, l'étalon de Gwada, Angélique la skateuse biobio et Elise qui, quand elle ne connaît pas, ne reconnaît pas. Vous avez été trop forts. Votre aide m'a été indispensable et m'a fourni de chouettes rigolades. Merci à Nathalie et à Eric qui ont su s'armer de patience face à mes gaffes. Merci au forestier Maxime de s'être lancé avec moi dans une manip, te voilà associé à *thaliana* et aux brassinostéroïdes ! Tu es aussi ma plus rocambolesque histoire de covoit' !

Merci aux génomiciens de la plateforme GetPlaGe, aux bio-infos toulousains Sébastien Carrère et Jérôme Gouzy ; et à leur homologue lilloise Sophie Gallina pour le travail que je n'aurais jamais été capable de faire (en express en plus !).

Merci à mes collègues de bureau Aurélie et Virginie puis Claudia et Léa qui auront su bien féminiser les bureaux lillois puis toulousain. Merci les runneuses pour votre soutien des derniers jours. Léa, je te passe le témoin, je te souhaite de jolies expériences scientifiques et humaines lors de ta thèse. Un check à Diala, résistante de la communauté de l'anneau du M2R au sein du GEPV.

Merci à Julien, pour son investissement lors de la première manip et aux stagiaires que j'ai encadré par la suite: Audrey, Charlotte, Abel, Denis, Florent, Moussa, Quentin. Mention spéciale pour Clément et Tanguy qui n'ont pas hésité à jouer les prolong' et surtout à Juliana. Le travail qu'on a réalisé lors de ton M2, m'a beaucoup apporté. Tu feras une chouette prof violette et rose et jaune et pourpre...

Merci à l'équipe DRYM et aux Non-Perms du LIPM pour la bonne ambiance de travail créée lors de ma troisième année toulousaine au labo et en dehors du labo. Merci en particulier à Alice, Gaëlle et Pierre pour les discussions échappatoires méridiennes, puis aux grimpeurs fous Quentin et Jérôme pour l'escalade et ce fameux Tap-Free-Kick.

Et puis à côté du monde de la recherche, il y a les personnes qui constituent un autre monde, qui même si pour la grande majorité n'ont foulé ni les couloirs de labo, ni les terrains expérimentaux, jouent un rôle important dans les moments clefs de projets comme celui-ci.

Je remercie donc mes colocs lillois pour le chouette quotidien hors labo, à Mery et Marie (les grandes), à Marie (la un peu moins grande), à Jonathan et à mon compère d'entraînements, Damien. Merci à Pascale et Guy pour leur chaleureux accueil et leurs délicieux carburants.

Parmi mes bienveillants, je pense à la clique d'Hotmilk. Vos virées toulousaines et lilloises étaient des preuves de soutien stimulantes et surtout bien marrantes. Merci à chacun d'entre vous. Mention spéciale pour mon acolyte accrodéoniste Guil et à sa muse Clervie, pour les Eperviers triathlètes-raiders Fred et Ren pour les gouttes de sueurs qui font du bien, pour les potos-frères Andy, Benoit, Hasim, Nino et Seb, pour les compagnons d'aventures PE et Fla, et puis tous les autres éternels compères de délires qui font de ce groupe une bombe amicale.

Je pense aussi à la Chaïzé team. Hélène, Laura, Lorelei, Andreaz, Guillaume, Ronan et Thomas vous constituez pour moi un poumon d'insouciance cultivateur de rêveries en tout genre. Que l'Aventure du Guy Projet commence !

Je pense aux Tijou et aux Baron. Même si pour certains il est difficile de comprendre l'intérêt de travaux comme celui-ci, vos attentions sont une richesse. Mention spéciale pour Cyrille, Catherine, Mimi et Bernard, votre soutien me touche beaucoup. Un remerciement particulier pour Papi Hilaire et Papi Lili, éternels jardiniers à qui j'ai souvent pensé quand j'avais le nez dans mes rangées de plantes. Merci la famille.

Enfin, merci à mon trésor, à Los Norabes : à mes frangines Eva et Daphné, à Maman notre cantatrice et Papa notre champion olympique. J'y associe Claire, ma complice de projets et de bêtises en tout genre. Vous étiez avec moi dans cette aventure et je vous dois beaucoup. Je vous souhaite d'aller encore plus loin, vous êtes la musique qui me fait avancer, vous êtes trop d'la bonne !

« Des signes prouvent qu'elles n'ont pas capitulé devant le goudron. De minuscules tiges en crèvent ici et là la croûte. Certaines germent dans les égouts et montent, rectilignes, à la verticale de plaques de fonte pour chercher la lumière dans le trou de serrure qui laisse passer le jour. D'autres tapissent le fond de minuscules cavités [...]. Des lierres commencent à cascader des ponts métalliques.

Des simples poussent à la base des façades d'immeubles, à l'angle qu'ils dessinent avec les trottoirs comme si elles voulaient les soulever par effet de levier. Et le comble c'est que personne n'y prend garde. On se fout des herbes folles. Jamais un regard accordé aux frémissements du végétal. Pourtant, on devrait prendre garde.

Ces présences à peines visibles attendent peut-être leur heure. Il est possible qu'elles occupent le terrain avant le grand assaut et qu'un jour elles déchaînent leurs forces pour reconquérir la ville qui les a spoliées du ciel. Le raz-de-marée de sève engloutira alors les habitations. Et le prochain règne sera végétal. »

Sylvain Tesson, *Petit traité sur l'immensité du monde*, Paris, Edition des Equateurs, 2005.



Sommaire

Introduction générale

I. LES INTERACTIONS PLANTE-PLANTE : UNE DYNAMIQUE ECO-EVOLUTIVE DES COMMUNAUTES	1
1. Qu'est-ce qu'une dynamique éco-évolutive ?	2
2. La dynamique éco-évolutive des interactions plante-plante	3
II. L'IMPORTANCE DE LA VARIATION INTRASPECIFIQUE DANS LE ROLE DE DYNAMIQUE ECO-EVOLUTIVE DES INTERACTIONS PLANTE-PLANTE.....	6
1. Comment définir la variation intraspécifique ?	6
2. Importance de la variabilité intraspécifique	8
3. Importance de la composante génétique de la variabilité intraspécifique dans les interactions plante-plante	10
III. LES MECANISMES DE LA COMPETITION	14
1. Mécanismes moléculaires impliqués dans la compétition : détection des plantes voisines et stratégies de réponse	14
2. Une espèce modèle pour étudier les mécanismes moléculaires de la compétition : <i>Arabidopsis thaliana</i>	18
3. Comment identifier les gènes sous-jacents aux mécanismes de la compétition ?	25
IV. ENJEUX DE LA THESE.....	31
1. Estimation de la variation génétique naturelle de la capacité compétitrice d'une population locale d' <i>A. thaliana</i>	31
2. Identification des stratégies optimales de réponse phénotypique d'une population locale d' <i>A. thaliana</i> à la compétition	32
3. Identification de bases génétiques associées à la variation naturelle de la capacité compétitrice d'une population locale d' <i>A. thaliana</i>	33
4. Présentation du modèle biologique	34
5. Plan de la thèse	36

Chapitre I : Etude de la réponse à la compétition monospécifique dans une population locale d'*Arabidopsis thaliana*

INTRODUCTION	39
THE GENETICS OF INTRA- AND INTERSPECIFIC COMPETITIVE RESPONSE AND EFFECT IN A LOCAL POPULATION OF AN ANNUAL PLANT SPECIES ...	43
THE GENETIC VARIABILITY OF RESPONSE TO A LAG OF GERMINATION TIME OF COMPETITORS LEADS TO DIFFERENT ADAPTIVE PHENOTYPIC AND GENOMIC STRATEGIES IN A LOCAL POPULATION OF AN ANNUAL PLANT SPECIES	85
CONCLUSION	130

Chapitre II : Etude de la réponse à la compétition plurispécifique dans une population locale d'*Arabidopsis thaliana*

INTRODUCTION	134
PREDICTION ET EVOLUTION DE LA REPOSE A LA COMPETITION PLURISPECIFIQUE DANS UNE POPULATION NATURELLE D' <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>	139
THE ADAPTIVE POTENTIAL OF A NATURAL POPULATION OF AN ANNUAL PLANT SPECIES TOWARD AN INVASIVE SPECIES DEPENDS ON ITS SURROUNDING COMMUNITY AND WARMING	183
CONCLUSION	227

Chapitre III : Impact de l'intensité de la compétition sur la dynamique adaptative in-natura de populations expérimentales d'*Arabidopsis thaliana* 232 |

Conclusions et perspectives générales..... 259 |

Bibliographie..... 267 |

Articles: les articles marqués d'une étoile sont directement reliés à mes travaux de thèse.

- *1. **Baron E.**, Richirt J., Villoutreix R., Amsellem L. & Roux F. The genetics of intra- and interspecific competitive response and effect in a local population of the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *Submitted to Functional Ecology*.
- *2. **Baron E.**, Cailleret M., Roux F. & Amsellem L. The variability of response of a local population of *Arabidopsis thaliana* to a germination time lag with a competitive species involves different phenotypic and genomic strategies. *To be submitted once the previous study is accepted for publication*.
- *3. **Baron E.**, Roux, F. & Amsellem L. The adaptive potential of a natural population in response to an invasiveness species depends on its surrounding community assembly and warming. *To be submitted soon*.
4. Villoutreix R., Le Corre V., **Baron E.**, Amsellem L. & Roux F. Rapid phenotypic evolution and fine-grained spatial heterogeneity in a natural population of *Arabidopsis thaliana*: a resurrection study. *Re-submitted to Journal of Evolutionary Biology*.

Communications associées a cette thèse:

1. **Baron E.**, Amsellem L., & Roux F. December 2014. The genetics of interspecific competitive response and effect in a local population of an annual plant. BES/SFE annual meeting 2014. Lille. COMMUNICATION ORALE.
2. **Baron E.**, Lenglet J., Amsellem L., & Roux F. August 2014. Prediction and evolution of response to pluri-specific competition in a polymorphic local population of *Arabidopsis thaliana*. 99th ESA annual meeting, ESA2014. Sacramento, US. COMMUNICATION ORALE.
3. **Baron E.**, Lenglet J., Amsellem L., & Roux F. April 2014. Prédiction et évolution de la réponse à la compétition plurispécifique d'une population locale d'*Arabidopsis thaliana*. Xème congrès francophone d'écologie des communautés végétales ECOVEG10. Lyon. COMMUNICATION ORALE.

4. **Baron E.**, Amsellem L., & Roux F. November 2013. Adaptive dynamics of *Arabidopsis thaliana* in response to competition. Bergelson Lab seminar. Chicago, US. COMMUNICATION ORALE.
5. **Baron E.**, Richirt J., Amsellem L. & Roux F. August 2012. Identification of genomic bases associated with adaptation to competition in *Arabidopsis thaliana*. XXXIVème Réunion annuelle du Groupe de Biologie et Génétique des Populations : Le Petit Pois Dérivé 2012. Avignon. POSTER.
6. **Baron E.**, Richirt J., Amsellem L. & Roux F. July 2012. Identification of genomic bases associated with adaptation to competition in *Arabidopsis thaliana*. XXIIIth International Conference on *Arabidopsis* Research. Vienna, Austria. POSTER.
7. **Baron E.**, Richirt J., Amsellem L. & Roux F. Mars 2012. Mise en évidence des bases génétiques de l'adaptation à la compétition chez *Arabidopsis thaliana*. Journée des doctorants IRePSE, Villeneuve d'Ascq. COMMUNICATION ORALE.

Introduction générale

I. LES INTERACTIONS PLANTE-PLANTE : UNE DYNAMIQUE ECO-EVOLUTIVE DES COMMUNAUTES

Dans le contexte des changements globaux, où les écosystèmes naturels sont soumis à de nouvelles pressions environnementales abiotiques et biotiques, l'un des enjeux majeurs de l'écologie évolutive est de prédire les réponses des espèces à de tels changements. Notamment, étant donné que les interactions plante-plante représentent une part importante des mécanismes gouvernant la réponse des communautés à ces changements environnementaux (Thorpe *et al.* 2011), et que ces interactions sont soumises aux changements drastiques d'aire de répartition d'espèces et d'assemblages des communautés liés aux changements globaux (Bachelet *et al.* 2001, Liancourt *et al.* 2013, Thompson *et al.* 2013, Baldwin *et al.* 2014), il est important de comprendre comment les interactions plante-plante peuvent jouer un rôle de dynamique éco-évolutive des populations vis-à-vis des changements environnementaux.

Parmi les six types d'interactions plante-plante (Tableau 1), la compétition est un processus fondamental dans les communautés végétales, et est largement reconnue comme étant un facteur principal déterminant la structure (Golberg & Barton 1992), la diversité (Chesson *et al.* 2000) et la dynamique (Tilman 1985) des communautés végétales.

Tableau 1. Les six types d'interactions plante-plante

Interaction	Espèce		Nature de l'interaction
	A	B	
Compétition	-	-	Chaque espèce a un effet négatif sur l'autre espèce
Parasitisme	+	-	L'espèce A exploite l'espèce B
Mutualisme	+	+	L'interaction est favorable pour les deux espèces
Commensalisme	+	0	L'espèce A bénéficie de l'interaction alors que B n'est pas affectée
Amensalisme	-	0	L'espèce A est inhibée alors que l'espèce B n'est pas affectée
Neutralisme	0	0	Aucune des deux espèces n'affecte l'autre

La compétition est caractérisée par un effet négatif sur chacune des espèces participant à l'interaction. La compétition et l'ensemble des interactions plante-plante sont des processus locaux. Chaque plante, individuellement, n'interagit qu'avec ses voisins sur des distances limitées. On définit la capacité compétitrice d'une plante par deux composantes : sa réponse à la compétition, et l'effet qu'elle produit sur les individus situés dans son environnement

proche. La réponse à la compétition détermine la capacité d'une plante à tolérer la présence d'un compétiteur. L'effet de la compétition est la capacité d'une plante à réduire la valeur sélective d'une autre plante compétitrice (Dudley *et al.* 2013).

1. Qu'est-ce qu'une dynamique éco-évolutive ?

Il est reconnu que des changements environnementaux peuvent entraîner des processus évolutifs sur de courtes durées, allant de quelques années à quelques décennies selon le temps de génération des espèces concernées. Le fait que l'évolution puisse s'observer sur des laps de temps très brefs suggère que les mécanismes évolutifs impliqués peuvent parfois modifier de manière continue des processus que les écologues observent dans les écosystèmes naturels. Par exemple, à l'échelle individuelle, l'évolution affectant les gènes d'une espèce peut entraîner un changement de phénotype d'un individu (Fig. 1).

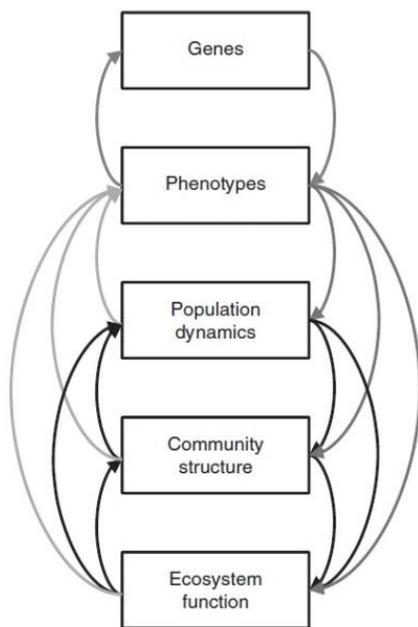


Figure 1. *Diagramme théorique décrivant les éléments sous-jacents aux dynamiques éco-évolutives* (Hendry 2013, à partir de Bailey *et al.* 2009)

A l'échelle de la population, cette évolution phénotypique peut moduler la taille de la population ou son taux de croissance. La variation intra-populationnelle - qu'elle soit phénotypique ou génétique - peut influencer d'une part la structure de communautés (Hughes *et al.* 2008), mais également, d'autre part, les services écosystémiques comme les vitesses et qualités de la décomposition de la matière organique et la productivité primaire nette (Whitham *et al.* 2006, Bailey *et al.* 2012). En retour, les services écosystémiques peuvent influencer sur la structure des communautés, puis sur la dynamique des populations, entraînant

ainsi des changements phénotypiques à l'échelle individuelle, pouvant être associés à une sélection naturelle s'opérant sur des gènes (Fig. 1).

Inversement, des mécanismes écologiques — comme les interactions biotiques — peuvent moduler l'évolution des traits phénotypiques, et, par effet rétroactif, cette évolution peut influencer sur ces mécanismes écologiques. De ce fait, les processus qui opèrent dans des contextes à la fois écologique et évolutif s'affectent l'un et l'autre (Post & Palkovacs 2009), et constituent des dynamiques dites éco-évolutives (Pelletier *et al.* 2009).

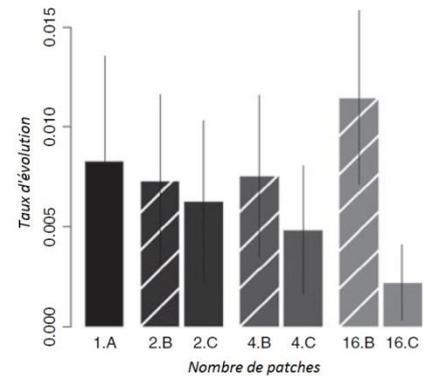
Plusieurs types d'interactions biotiques avec des rôles de dynamiques éco-évolutives ont déjà été ciblées, comme la prédation ou les interactions hôtes-parasites. Cependant, les interactions plante-plante ont reçu moins d'attention (Thorpe *et al.* 2011). Par exemple, il existe encore des débats importants sur le rôle de ce type d'interactions biotiques sur les processus écologiques et évolutifs des communautés (Ricklefs 2009 ; Brooker *et al.* 2009).

2. La dynamique éco-évolutive des interactions plante-plante

Les interactions plante-plante peuvent ralentir l'évolution des espèces

Certaines études ont démontré que des interactions plante-plante comme la compétition pouvaient ralentir les réponses évolutives d'espèces végétales à un changement environnemental. Par exemple, Mazancourt *et al.* (2008) ont montré que, grâce à l'utilisation d'un modèle classique d'évolution phénotypique (version modifiée du modèle de Levene, 1953), lorsque le nombre d'espèces — et donc la diversité d'interactions entre les individus — augmente dans une communauté cela peut inhiber leur taux d'évolution en réponse à un changement environnemental (Fig. 2). En effet, la présence sympatrique de plusieurs espèces augmente la probabilité d'avoir des espèces pré-adaptées aux nouvelles conditions, ce qui restreint l'opportunité de voir survenir des réponses évolutives chez les autres. Dans ce cas, un changement environnemental tend plutôt à sélectionner des changements dans l'abondance des espèces, plutôt qu'à entraîner des changements phénotypiques au sein de chaque espèce.

Figure 2. Le taux d'évolution des espèces qui survivent à un changement environnemental décroît avec la biodiversité d'un écosystème. Sur l'axe des abscisses, les numéros correspondent au nombre de patches présents dans un système en métapopulation. Les lettres indiquent 3 traitements différents : chaque espèce est seule dans un milieu uniforme (A), une seule espèce est présente dans un système constitué de plusieurs patches (B), et plusieurs espèces compétitrices sont présentes dans le système (C). Les traitements B sont hachurés pour les distinguer des traitements C.



De plus, Johansson (2008) suggère que lorsque les ressources disponibles pour une espèce sont limitées par la compétition, sa taille efficace diminue ce qui peut ainsi affecter son taux d'adaptation à d'éventuels changements environnementaux stochastiques. Le ralentissement de ces processus évolutifs peut être d'autant plus marqué pour des communautés composées d'un grand nombre d'espèces sympatriques, où la compétition est plus importante que dans des communautés avec un nombre plus réduit d'espèces.

Les interactions plante-plante peuvent entraîner une stabilisation de l'évolution des espèces

D'autres études suggèrent que les interactions de compétition entre des espèces sympatriques favoriseraient une évolution caractérisée par une sélection stabilisante et la conservation de niches (Ackerly 2003 ; Ackerly 2004). En effet, certaines espèces, y compris certaines plantes, ont tendance à disperser en réponse à la compétition, afin d'occuper de nouveaux patches présentant les ressources nécessaires pour atteindre leur phénotype optimal initial, plutôt que de s'adapter au changement dans leur patch originel. Des milieux riches en interactions compétitives entre espèces tendent donc à promouvoir la sélection stabilisante sur des traits écologiques, inhibant alors les réponses évolutives au sein des espèces et menant à de la conservation de niche, c'est-à-dire à avoir tendance à conserver leurs traits écologiques et leurs distributions environnementales ancestrales.

Les interactions plante-plante peuvent stimuler l'évolution des espèces

En revanche, d'autres études ont montré que les interactions plante-plante peuvent faciliter des réponses évolutives adaptatives d'espèces végétales à un changement environnemental. Notamment, des interactions compétitives peuvent permettre à certaines plantes congénères de mieux tolérer une compétition ou des stress abiotiques ultérieurs. Par exemple, Novoplansky et Goldberg (2001) ont montré chez deux espèces de graminées

pérennes (*Scleropogon brevifolius*, Poaceae et *Sporobolus airoides*, Poaceae), que la présence de congénères compétiteurs durant la période où l'eau est disponible pouvait augmenter de manière considérable leur survie lors d'une sécheresse ultérieure. En effet, les jeunes plantules de *S. brevifolius* augmentent drastiquement leur allocation dans les racines lorsqu'elles sont en compétition avec des plantules de *S. airoides*, ce qui leur permet plus tard de tolérer plus facilement la compétition pour l'eau et de survivre plus longtemps durant une période de sécheresse importante.

L'arrivée d'une plante non-native peut également affecter positivement l'évolution d'espèces natives. Par exemple, Leger (2008) a démontré que des populations d'*Elymus multisetus* (Poaceae), présentaient un meilleur développement végétatif et une croissance plus rapide en présence de l'espèce invasive *Bromus tectorum* (Poaceae) reconnue pour germer et pré-empter les ressources très rapidement.

De même à une plus grande échelle temporelle, Valiente-Banuet *et al.* (2006) ont montré par une étude pluridisciplinaire intégrant une approche de paléobotanique, de biogéographie et d'écologie que de nombreuses espèces habituées originellement au climat humide de l'Ere Tertiaire ont résisté au climat sec de l'Ere Quaternaire, grâce à l'effet "nurse" de nouvelles espèces apparues au début de cette dernière. Ces espèces étant adaptées aux climats arides ont réussi à coloniser des paysages ouverts, et à constituer des zones refuges pour les espèces du Tertiaire moins adaptées à la sécheresse. Ces phénomènes de facilitation ont ensuite permis un maintien de ces espèces dans de nombreuses zones avec un climat méditerranéen.

L'ensemble de ces études indique que les interactions plante-plante comme la compétition ou la facilitation agissent entre plusieurs espèces comme une dynamique éco-évolutive des plantes. Mais, pour mieux comprendre ces processus d'évolution des espèces associée aux interactions plante-plante, une autre composante est importante à intégrer : la variation intraspécifique des populations. Un regain d'intérêt a récemment été porté sur l'importance de la variation intraspécifique négligée dans de nombreuses études citées précédemment, et se focalisant sur des mécanismes liés aux interactions plante-plante et leurs dynamiques éco-évolutive.

II. L'IMPORTANCE DE LA VARIATION INTRASPECIFIQUE DANS LE ROLE DE DYNAMIQUE ECO-EVOLUTIVE DES INTERACTIONS PLANTE-PLANTE

1. Comment définir la variation intraspécifique ?

La variation intraspécifique peut être décomposée en trois ensembles majeurs (Albert *et al.* 2011) :

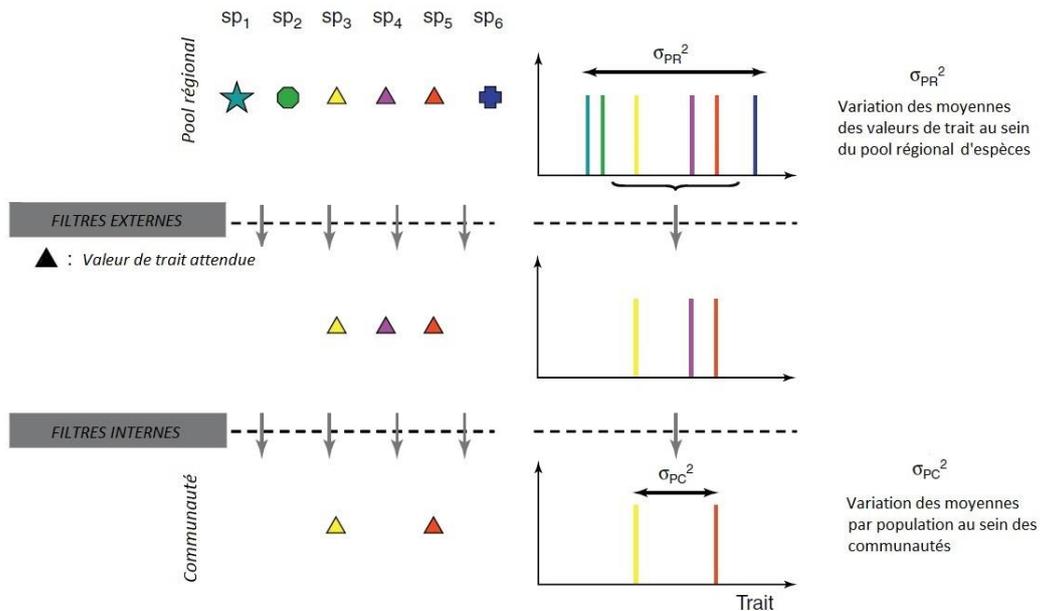
(1) La variabilité à l'échelle de la population : on observe des différences de valeurs de traits entre les populations d'une même espèce. Elles peuvent être dues à des compositions génotypiques différentes entre les populations, mais également à une plasticité phénotypique des génotypes vis-à-vis de différentes conditions environnementales.

(2) La variabilité entre les individus : elle correspond à la variabilité des traits au sein d'une population donnée (Bolnick *et al.* 2003). Elle peut être due à la coexistence de différents génotypes, mais également à des différences dans la plasticité phénotypique de ces génotypes vis-à-vis de conditions environnementales locales biotiques (comme la compétition) ou abiotiques (comme la disponibilité des ressources).

(3) La variabilité au sein d'un individu : une valeur de trait peut en effet varier au sein d'un même individu (par exemple différences de morphologies foliaires au sein d'un même individu). Ceci peut être par exemple dû à une hétérogénéité spatiale des ressources (par exemple : certaines feuilles reçoivent plus de lumière que d'autres).

Intégrer cette variation intraspécifique permet de mieux interpréter les assemblages de communautés, en intégrant une diversité plus importante au sein des communautés que la théorie traditionnelle de l'assemblage des communautés (Fig. 3, Violle *et al.* 2012). Notamment, intégrer cette notion de diversité est primordial car elle est bien souvent sous-jacente à la survie, à la croissance et à la reproduction des espèces végétales sous de nouvelles conditions environnementales (Joshi *et al.* 2001). Elle influence donc la réponse et l'évolution des populations concernées par des changements environnementaux, et les communautés qui leurs sont associées (Albert *et al.* 2010).

(a) Approche par la moyenne des espèces d'un pool régional



(b) Approche intégrant la variabilité intraspécifique des espèces d'un pool régional

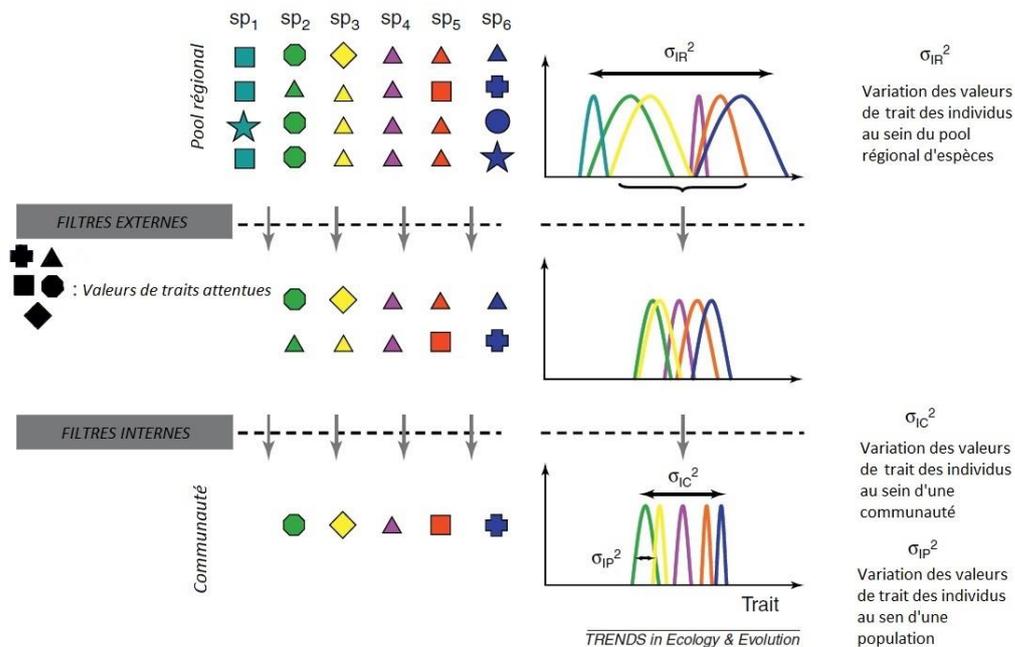


Figure 3. Variabilité intraspécifique et théorie de l'assemblage des communautés (d'après Violle *et al.* 2012). Chaque couleur représente une espèce et chaque symbole une valeur de trait donnée. Les pointillés représentent les filtres internes et externes. (a) La théorie de l'assemblage des communautés était traditionnellement ancrée dans la théorie des moyennes : seules les valeurs moyennes de traits des espèces présentes dans le pool régional sont considérées. Les espèces parviennent à entrer dans la communauté si les valeurs moyennes de leurs traits correspondent aux conditions fixées par les filtres environnementaux locaux. Dans les communautés établies, les espèces qui possèdent des valeurs de traits trop similaires ne peuvent pas coexister. (b) Violle *et al.* (2012) proposent une théorie d'assemblage des communautés révisée, en se basant sur le fait qu'une communauté est constituée d'espèces présentant une variabilité intraspécifique régionale conditionnée par les filtres environnementaux locaux. Dans les communautés établies, on s'attend à ce que la diversité soit plus importante que dans la théorie des moyennes de traits, car les espèces affichant une variabilité intraspécifique peuvent échapper à l'exclusion compétitive, aux pressions de prédateurs, ou peuvent occuper d'avantage de microsites.

2. Importance de la variabilité intraspécifique

Albert *et al.* (2010) ont mis en évidence chez les plantes que la variabilité intraspécifique contribue en moyenne à 30% de la variabilité fonctionnelle globale des traits (étude réalisée sur 13 espèces des écosystèmes alpins, Fig. 4). Bien que plus faible que la variabilité interspécifique, cette variabilité intraspécifique apparaît donc comme loin d'être négligeable. Ces résultats sur les écosystèmes alpins corroborent des résultats obtenus par Hulshof & Swenson (2010), qui ont observé le même ordre de grandeur de la contribution de la variabilité intraspécifique pour des traits foliaires, incluant la SLA (*Specific Leaf Area*) et le contenu en eau de la feuille — soit le complément de la LDMC (*Leaf Dry Matter Content*) — dans une forêt tropicale sèche.

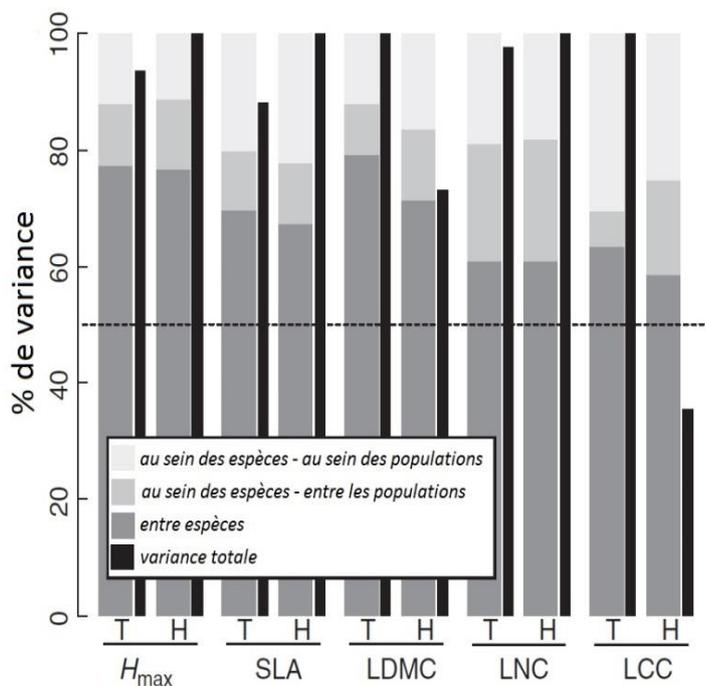


Figure 4. *Décomposition des contributions de la variance inter- et intraspécifique pour différents traits.* La variance d'un trait est décomposée en différents niveaux : entre espèces, entre populations et au sein des populations. Les différents niveaux (résultant de modèles mixtes) sont données pour cinq traits mesurés sur 13 espèces végétales communes présentant des traits d'histoire de vie contrastés (H_{max} : hauteur de la plante ; SLA: *Specific Leaf Area* ; LDMC: *Leaf Dry Matter Content* ; LNC: *Leaf Nitrogen Concentration* ; LCC: *Leaf Carbon Concentration*). La variance de chaque trait est donnée pour les 13 espèces (T) et pour les herbacées seules (H) (Albert *et al.* 2010).

En partitionnant la variance de deux traits fonctionnels-clés (la LMA : "*Leaf Mass Area*" et la LDMC) au niveau de six échelles écologiques emboîtées dans les forêts tropicales humides (site, plot, espèces, arbre, strate et feuille), Messier *et al.* (2010) ont mis en évidence que la variabilité intraspécifique était comparable à la variabilité interspécifique (Fig. 5).

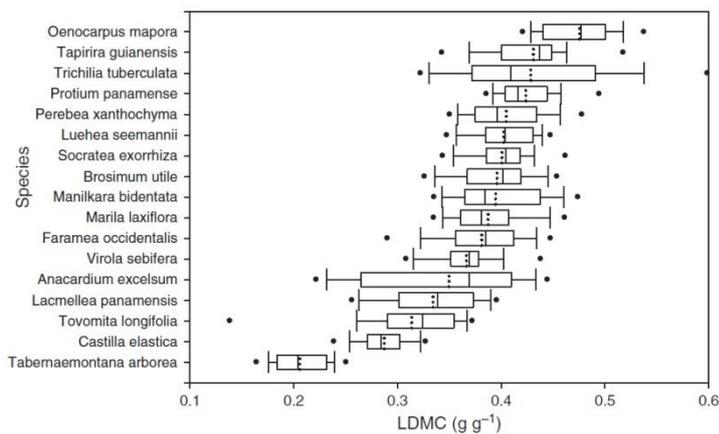


Figure 5. Boxplot de la LDMC (Leaf Dry Matter Content) pour 17 espèces d'arbres. Les pointillées représentent les valeurs moyennes des traits.

Décider si la variabilité intraspécifique peut ou non être considérée comme négligeable dépendra du système étudié, des traits et espèces sélectionnés, ainsi que du but de l'étude. L'étude du fonctionnement d'un écosystème tolérera probablement la représentation des espèces par leurs valeurs moyennes de traits, car seule la distribution globale des traits est nécessaire et les propriétés moyennes des communautés montrent une faible sensibilité à la variabilité intraspécifique (Lavorel *et al.* 2008) ; alors que l'étude des patrons d'assemblage des communautés ou des processus évolutifs nécessitera probablement une connaissance préalable de la distribution des traits pour chacune des espèces sympatriques.

Il y a de plus en plus d'évidences que cette variabilité intraspécifique peut avoir des effets significatifs sur la dynamique d'une communauté, en modulant des mécanismes de différenciation de niches (Courbaud *et al.* 2012) et/ou en pouvant provoquer des chevauchements de performances individuelles entre les espèces (Clark *et al.* 2004 ; Lichstein *et al.* 2007). De ce fait, en considérant le degré d'interaction d'une population comme étant le nombre de liens qu'elle a avec les autres populations au sein de ce réseau, la variabilité intraspécifique de ces traits peut modifier le nombre et la force de ses interactions interspécifiques avec les autres populations, changeant alors la topologie et la dynamique des réseaux d'interactions. De ce fait, une population plus variable interagit avec plus de populations en élargissant son champs de connectivité (hypothèse d'"*Increased degree*", Boldnick 2011). Une telle variabilité intraspécifique peut donc également affecter les interactions entre individus (Fridley *et al.* 2007). Ainsi, certaines études ont montré que considérer cette variabilité intraspécifique au niveau des traits s'avère essentiel pour prendre en compte les effets des interactions entre individus. Par exemple, dans une étude réalisée sur des arbres des forêts tropicales humides, Paine *et al.* (2011) ont comparé des résultats obtenus en utilisant soit des valeurs moyennes de traits par espèce, soit des valeurs individuelles. Les

analyses prenant en compte la variabilité intraspécifique se présentaient comme étant beaucoup plus sensibles à la différenciation de niche (qui résulte des interactions entre congénères), et aux mécanismes de filtres écologiques (qui résultent de l'interaction des plantes avec leur environnement abiotique). En revanche, les analyses utilisant des valeurs moyennes sous-estimaient les interactions entre arbres, et celles entre les arbres et leur environnement affectant l'assemblage des communautés.

3. Importance de la composante génétique de la variabilité intraspécifique dans les interactions plante-plante

La variabilité intraspécifique des traits influençant les réponses des espèces aux changements environnementaux et leurs effets sur leur environnement peuvent être dû à de la plasticité phénotypique, mais peuvent aussi être d'origine génétique. En effet, de nombreuses études ont montré que les génotypes des individus d'une espèce, mais également les génotypes des individus interagissant avec eux, pouvaient agir sur la structure de la communauté (Whitlock *et al.* 2011). Par exemple, Genung *et al.* (2012) ont montré que la variabilité génotypique dans le voisinage d'une plante affecte à la fois les traits aériens et souterrains de cette plante, et que les interactions génotype-génotype entre des plantes voisines peuvent avoir un impact sur les communautés associées de pollinisateurs (Fig. 6). Ces résultats concordent avec ceux obtenus à partir d'un large éventail de plantes, et qui ont montré que la variabilité génétique intraspécifique peut affecter les traits au niveau de la population, de la communauté et des niveaux trophiques supérieurs (Schweitzer *et al.* 2004 ; Crutsinger *et al.* 2006 ; Johnson *et al.* 2006 ; Whitham *et al.* 2006). Ces processus impliquent des effets génétiques indirects (IGE, *Indirect Genetic Effect*), qui se produisent lorsque le phénotype d'un individu-cible change selon l'identité génétique de l'individu avec lequel il interagit (Bailey *et al.* 2014). Au sein de ces IGEs, on peut distinguer les effets génétiques indirects interspécifiques (IIGEs, *Interspecific Indirect Genetic Effects*) qui sont observés lorsque le phénotype de l'individu-cible change selon l'identité génétique d'un individu d'une autre espèce (dit "hétérospécifique") avec lequel il interagit (Fig. 6). Les IIGEs peuvent donc être considérés comme une unité fondamentale des processus d'évolution des communautés *via* les interactions plante-plante. Par exemple, il a déjà été montré que des génotypes de *Solidago altissima* (Asteraceae) peuvent affecter différemment la décomposition de la litière après la senescence de la plante focale en modulant les concentrations d'azote et de phosphore, affectant ensuite la croissance des individus de l'espèce voisine *S. gigantea* (Genung *et al.* 2011).

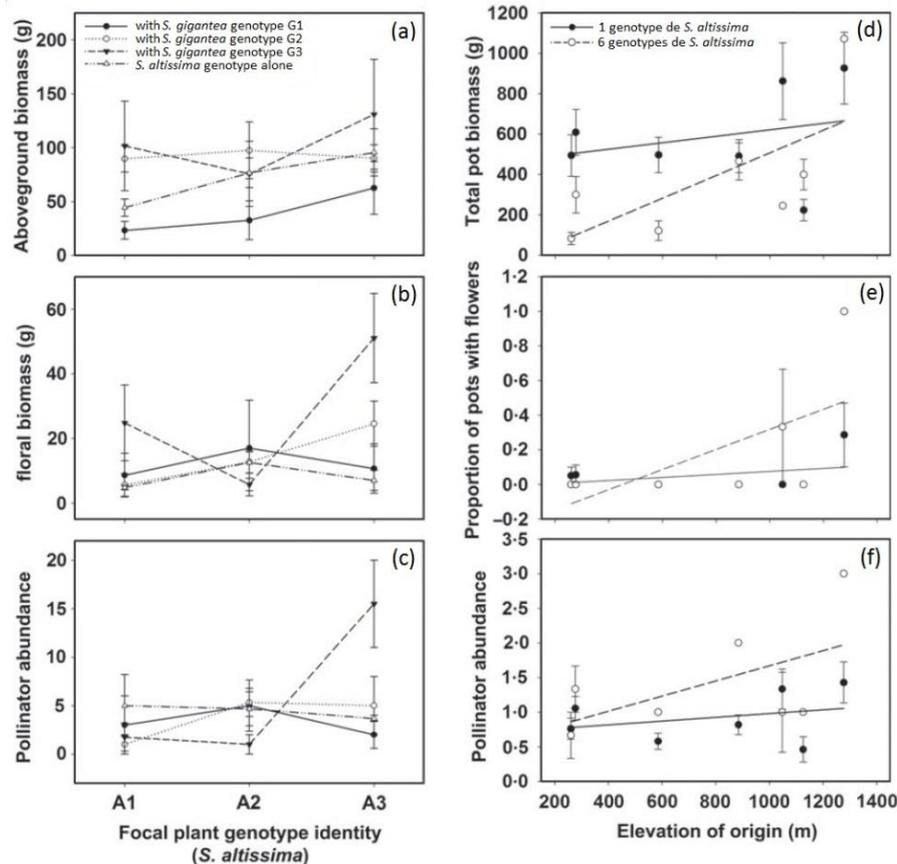


Figure 6. Illustrations d'IIGEs. Les graphiques (a-c) montrent que lorsque l'on change le génotype des deux espèces en interaction *Solidago altissima* (génotypes A1-A3) et *Solidago gigantea* (génotype G1-G3), les traits de réponse de la plante focale *S. altissima* (a-b), de même que l'abondance associée des pollinisateurs (c) changent. Les graphiques (d-f) montrent que l'effet de la variation génétique d'une population de plusieurs génotypes de *S. altissima* par rapport à une population d'un seul génotype change selon un gradient environnemental lié à l'altitude. Le fait que les traits de réponse de la population génétiquement diversifiée de *S. altissima* (d-e) et de la communauté associée de pollinisateurs (f) augmentent avec l'altitude suggère que les interactions entre génotypes deviennent plus facilitatrices avec l'altitude (Genung *et al.* 2012 ; Bailey *et al.* 2014).

Dans ce sens, de nombreuses études ont démontré que dans des contextes d'interaction plante-plante, la capacité compétitrice d'un individu-cible variait selon le génotype de l'autre compétiteur. Par exemple, il a été mis en évidence une variation génétique dans la capacité compétitrice chez *Trifolium repens* (Fabaceae) et *Lolium perenne* (Poaceae) (Turkington & Harper 1979, Aarssen & Turkington 1985, Lüscher *et al.* 1992), *Danthonia spicata* (Poaceae) et *Anthoxanthum odoratum* (Poaceae) (Kelley & Clay, 1987), *Trifolium pratense*, *Phleum pratense* (Poaceae) et *Agropyron repens* (Poaceae) (Taylor & Aarssen, 1990), *Taraxacum officinale* (Asteraceae) (Vavrek 1998), *Koeleria macrantha* (Poaceae) et *Carex caryophylla* (Poaceae) (Fridley *et al.* 2007). De plus, il a été montré par une expérimentation de

transplantation réciproque que des génotypes de *Bromus erectus* (Poaceae) issus d'habitats situés au pied de chémotypes de *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) qui ne sécrètent pas de composés phénoliques (molécules à activité allélopathique), se développaient moins bien que d'autres qui croissent dans des habitats situés au pied de chémotypes de *T. vulgaris* qui en sécrètent. Les génotypes des populations *B. erectus* cultivés en interaction avec les chémotypes de *T. vulgaris* sécrétant des composés phénoliques, montraient des réponses de tolérance aux composés phénoliques (Ehlers & Thompson 2004). Cet exemple démontre qu'au sein d'une espèce, des génotypes peuvent développer des adaptations par des mécanismes de tolérance liés à la compétition, telle l'allélopathie.

Le fait que le résultat de la compétition puisse être génotype-spécifique a mené à l'hypothèse de "*Competitive Combining Ability*", selon laquelle les interactions interspécifiques entre différents ensembles de génotypes à une échelle locale peuvent mener à des résultats alternatifs de compétition interspécifique. Par exemple, une espèce peut être plus compétitrice qu'une autre dans un premier habitat, et inversement dans un second ; amenant ainsi à une hiérarchie compétitive intransitive entre les génotypes (Aarssen 1989). En d'autres termes, aucun génotype ne possède la meilleure performance dans tous les environnements où ont lieu des interactions compétitives.

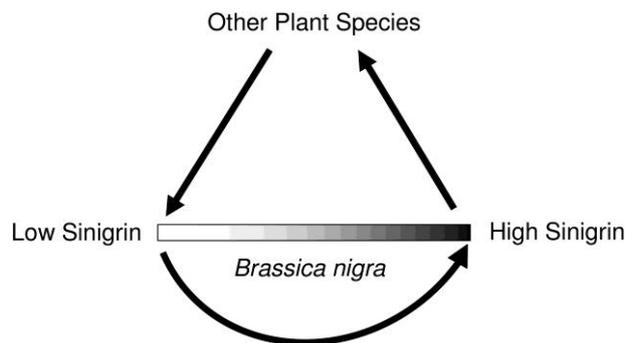
La variabilité génétique intraspécifique s'avère donc un support de mécanismes éco-évolutifs des espèces en réponse aux interactions plante-plante, notamment dans le cadre de la compétition (Hersch-Green *et al.* 2011). En effet :

(1) Elle permet aux espèces de répondre rapidement aux pressions de sélection, notamment à celles imposées par la compétition. Cette dernière peut résulter en une convergence ou une divergence fonctionnelle entre les populations d'une espèce et le reste de la communauté, en fonction des valeurs de traits phénotypiques des individus au niveau de la niche écologique avant les interactions de compétition (Vellend 2006).

(2) Elle possède un fort effet positif sur la diversité spécifique des communautés (Booth *et al.* 2003 ; Lankau *et al.* 2007 ; Fridley *et al.* 2007; Whitlock *et al.* 2007). L'augmentation de la diversité génétique intraspécifique aurait un effet positif sur la coexistence des espèces compétitrices (Vellend 2006). Plusieurs études qui se sont focalisées sur les interactions à l'échelle de la communauté entre Légumineuses et Poaceae ont suggéré que les interactions entre plantes pouvaient générer des phénomènes de coévolution qui maintiendraient un équilibre dans les capacités compétitrices de chacune des espèces (Turkington & Harper 1979, Aarssen & Turkington 1985), permettant ainsi une certaine

stabilité de la communauté considérée (Turkington 1979). De même, Lankau (2009) ont mis en évidence qu'une variabilité génétique dans la concentration d'un composé allélopathique chez la Moutarde noire (*Brassica nigra*, Brassicaceae) était nécessaire pour la coexistence de cette espèce avec ses compétiteurs ; la variabilité génétique favorisant ainsi la coexistence de *B. nigra* avec ses compétiteurs (Fig. 7).

Figure 7. Modèle conceptuel décrivant les interactions entre *B. nigra*, espèce présentant une variation génétique dans sa capacité allélopathique via la sinigrine, et ses espèces compétitrices (Lankau 2009). Les flèches indiquent l'espèce (ou le génotype) dominante en conditions de compétition par paire (le point de départ de la flèche indique la plante dominante alors que la pointe de la flèche indique la plante subordonnée). La barre ombrée indique un gradient de concentration de sinigrine de *B. nigra* (blanc : faible concentration vs. noir : forte concentration). Une hiérarchie intransitive dans la compétition s'observe car les génotypes de *B. nigra* présentent une variation continue pour la production de sinigrine. En effet, les génotypes situés à la droite du gradient dominent les autres espèces, alors que les génotypes à gauche sont dominés dans un contexte de compétition interspécifique. Mais la sinigrine affecte aussi la compétition intraspécifique, car les génotypes situés à gauche du gradient sont dominants dans la compétition intraspécifique avec les génotypes situés à droite.



(3) Elle permet de diminuer l'intensité de compétition entre les espèces. En se basant sur des modèles décrivant les interactions par paire entre les espèces, Fridley & Grime (2010) ont montré que la diversité génétique diminuait l'intensité de la compétition entre les espèces (dans une communauté constituée de quatre espèces), en facilitant des interactions complémentaires entre les individus. Ceci favorise ainsi l'équivalence compétitive et augmente l'équitabilité entre les espèces (comme décrit dans le cas (b) de la Fig.3).

(4) Elle peut également inhiber la colonisation d'espèces de plantes non-natives en favorisant l'expansion de niches des populations natives, et en réduisant les ressources disponibles pour les colonisateurs. Cette diversité génétique peut alors agir comme une barrière à la colonisation par de nouvelles espèces (Crutsinger *et al.* 2008).

Pour illustrer le début de cette introduction portant sur la dynamique éco-évolutive des interactions plante-plante, je me suis appuyé sur de nombreux exemples liés à la compétition. En effet, la compétition agit comme une importante dynamique éco-évolutive de manière directe et indirecte *via* différents mécanismes, depuis l'échelle individuelle jusqu'à celle de

l'écosystème, en affectant les processus écologiques et évolutifs à la fois des populations et des communautés (Thorpe et *al.* 2011). Mais quels sont les mécanismes sous-jacents aux interactions plante-plante qui rendent la compétition un facteur majeur de la dynamique éco-évolutive des communautés ? Comprendre ces mécanismes semble primordial pour pouvoir prédire et comprendre les dynamiques adaptatives et les trajectoires évolutives des communautés, notamment dans des contextes de changements globaux.

III. LES MECANISMES DE LA COMPETITION

Les plantes sont limitées dans leurs mouvements et donc dans leur possibilité de choisir leurs compétiteurs, ce qui met l'accent sur l'importance pour elles d'être plastiques (*i.e.* montrer de la plasticité phénotypique), pour augmenter leur probabilité de survie sous différents régimes de compétition. Elles peuvent :

(1) Minimiser les rencontres avec les compétiteurs en évitant leurs voisins (Novoplansky *et al.* 1990).

(2) Maximiser leurs effets compétitifs vis-à-vis de leurs voisins (Fetene 2003).

(3) Tolérer les effets compétitifs de leurs voisins, comme par exemple en ayant la capacité de croître dans des conditions chroniquement appauvries par les effets de la compétition (Novoplansky *et al.* 2009).

Lorsque des plantes se retrouvent en compétition sans qu'elles ne se détectent et ne présentent de réaction à la présence de leurs plantes voisines, les interactions sont alors déterminées par la manière dont chacune modifie les ressources disponibles dans le milieu et par les réponses passives des plantes situées à proximité. En revanche, si les plantes détectent la présence de plantes voisines, cela conduit à au développement actif de stratégie de réponse adaptée *via* diverses voies moléculaires.

1. Mécanismes moléculaires impliqués dans la compétition : détection des plantes voisines et stratégies de réponse

La détection de la présence d'une plante compétitrice peut s'effectuer *via* différents types de signaux, comme la réflexion de la lumière infra-rouge, l'émission de composants biogéniques volatiles (par exemple l'éthylène impliqué aussi dans la défense contre l'herbivorie), des phénomènes d'ombre, des variations de concentrations en nutriments et d'exsudats racinaires solubles (par exemple les composés allélopathiques) (Fig. 8).

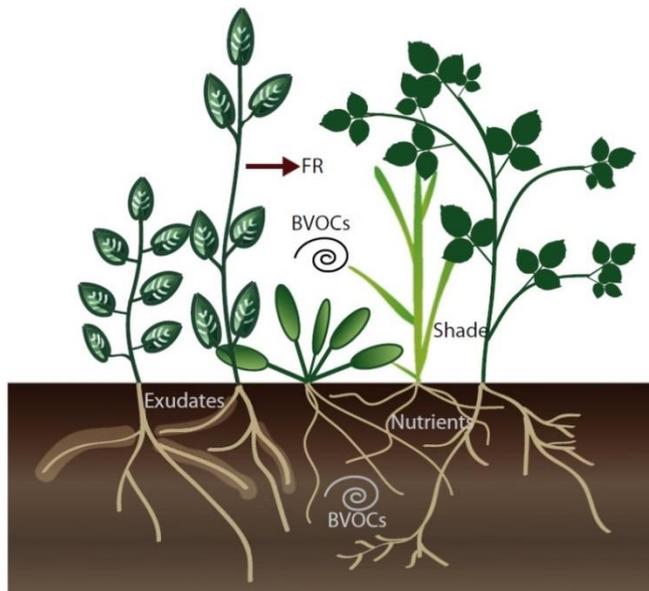


Figure 8. La détection d'une plante compétitrice s'effectue grâce à différents types de signaux, comme la réflexion de lumière infra-rouge (FR), l'émission de composants biogéniques volatiles (BVOCs), des phénomènes d'ombre (Shade), des variations de concentrations en nutriments (Nutrients) et d'exsudats racinaires solubles (Exudates) (Pierik *et al.* 2013).

La perception de ces signaux induit par la suite une réponse de la plante par différents mécanismes moléculaires, que ce soit dans les parties aériennes ou souterraines. Par exemple, si l'on considère dans un premier temps des mécanismes liés aux parties aériennes, dans des milieux très compétitifs, le rayonnement infra-rouge est fortement reflété par les plantes (Fig. 9). En conséquence, une plante dans cet habitat percevra beaucoup plus de rayonnement infra-rouge (IR) que les autres types de rayonnement rouge (R) et bleu (B) qu'elle a l'habitude d'absorber par ses feuilles. En réponse à un rapport R/IR capté faible, un processus d'évitement de l'ombre peut alors être activé. Les plantes captent les rayonnements R et IR par des photorécepteurs de type phytochromes, et les rayonnements B par des photorecepteurs de type cryptochromes. Ces deux types de récepteurs régulent des hormones comme les gibbérélines, l'auxine et les brassinostéroïdes, et interagissent *via* des facteurs d'interactions de phytochromes (PIFs). En réponse à de forts taux d'IR par rapport aux R et B, la régulation de ces phytochromes va induire des phénomènes d'hyponastie (mouvements de feuilles) et d'allongements des tiges et pétioles de manière à permettre l'évitement de l'ombre pour mieux capter la lumière (Fig. 9).

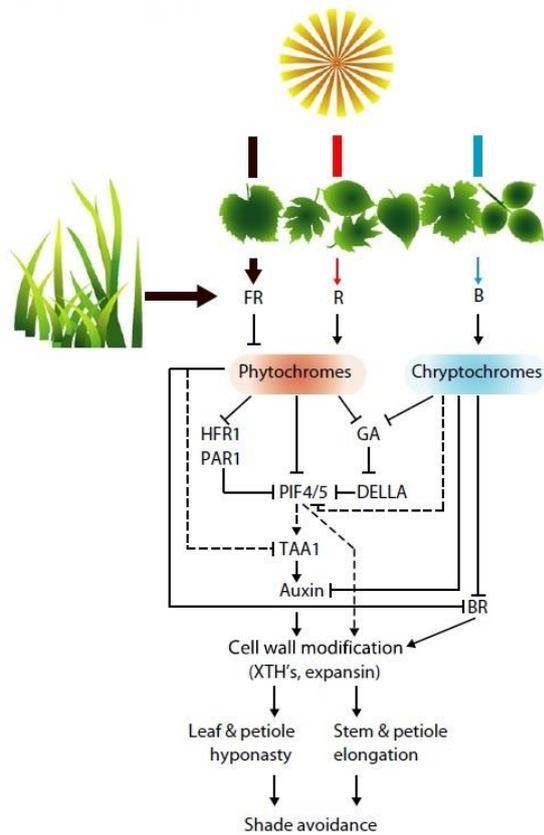


Figure 9. Mécanismes moléculaires impliqués dans l'évitement de l'ombre, réponse commune des plante à de la compétition pour la lumière. FR : rayons infra-rouges, R : rayons rouges, B : rayons bleus, GA : gibbérélines, Auxin : auxine, BR : brassinostéroïdes, PIFs : facteurs d'interactions de phytochromes (Pierik *et al.* 2013).

Dans un second temps, au niveau racinaire, la répartition hétérogène de nitrates (NO_3^-) dans le sol (comme c'est le cas dans des milieux très compétitifs) peut par exemple entraîner une prolifération de racines latérales préférentiellement dans les patches riches en nitrates (Fig. 10). En effet, dans des sols appauvris en nitrates, le récepteur et transporteur de nitrates NRT1.1 en transporte peu mais facilite surtout le transport d'auxine des *primordia* des racines latérales vers la racine principale, réprimant ainsi la croissance des racines latérales et permettant ainsi une recherche plus en profondeur des nutriments. Toutefois, dans des sols où les concentrations en nitrates sont élevées, NRT1.1 en transporte de plus grandes quantités et moins d'auxine, permettant à cette hormone de s'accumuler dans les *primordia* des racines latérales et d'induire ainsi une élévation de ces racines latérales (Krouk *et al.* 2010).

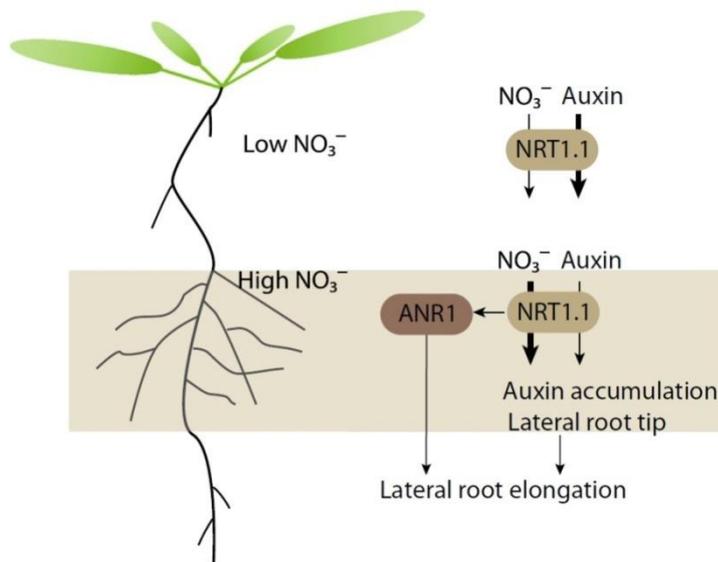


Figure 10. *Mécanismes moléculaires impliqués chez A. thaliana dans la prolifération des racines latérales dans des sols présentant une hétérogénéité de ressources.* NRT1.1 et ANR 1 sont des transporteurs d'hormones comme l'auxine (Auxin) et d'éléments minéraux comme les nitrates (NO₃⁻) (Pierik *et al.* 2013).

Divers mécanismes moléculaires semblent donc impliqués dans la réponse à la compétition. Ces différents mécanismes sont par ailleurs connus pour interagir notamment avec d'autres voies de défense contre d'autres types de stress pour la plante (pathogènes, herbivorie, carences minérales...), amenant à des compromis ("*Trade-offs*") (Pierik *et al.* 2013) où, face à la présence simultanée de plusieurs stress, l'allocation des ressources par la plante pour répondre à l'un d'entre eux se fera souvent au détriment des réponses aux autres. Dans ce contexte, ces mécanismes moléculaires de réponse à la compétition sont souvent régulés au cours du cycle de vie d'une plante.

Bien que les principales voies de détection de la présence d'un compétiteur et les principales voies de réponse associées soient relativement bien définies, les gènes sous-jacents à ces mécanismes moléculaires impliqués dans la compétition, et plus généralement aux interactions plante-plante, restent encore très mal connus. Pour identifier ces gènes, il est nécessaire de se focaliser sur un modèle biologique pour lequel non seulement les outils moléculaires et les ressources génétiques sont importantes, mais aussi pour lequel la compétition est écologiquement pertinente et régulièrement rencontrée dans ses populations naturelles. Située à l'interface de la génétique, de l'évolution et de l'écologie, *Arabidopsis thaliana* apparaît donc comme un modèle de choix pour étudier ces différents aspects.

2. Une espèce modèle pour étudier les mécanismes moléculaires de la compétition : *Arabidopsis thaliana*

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh (Arabette des Dames, Fig. 11), est une plante annuelle de la famille des Brassicaceae. Elle est toujours considérée chez les plantes comme l'espèce-modèle en génomique fonctionnelle, biologie moléculaire et physiologie en raison de sa facilité de culture, son cycle de vie court (en conditions de serre), sa petite taille, ainsi que sa capacité à s'autoféconder, permettant ainsi de maintenir des lignées homozygotes et de les phénotyper un nombre de fois infini (Weigel & Nordborg 2005). Ces caractéristiques, combinées à la petite taille de son génome (5 chromosomes, ~125 Mb), ont conduit à son séquençage complet — le premier chez les plantes supérieures — achevé en 2000 (accession Col-0, The Arabidopsis Genome Initiative 2000). La séquence de référence a permis d'annoter tous les gènes. Actuellement, la base de données TAIR 9 (The Arabidopsis Information Resource ; <http://www.arabidopsis.org>) compte 33 602 gènes dont 27 416 codant pour des protéines.

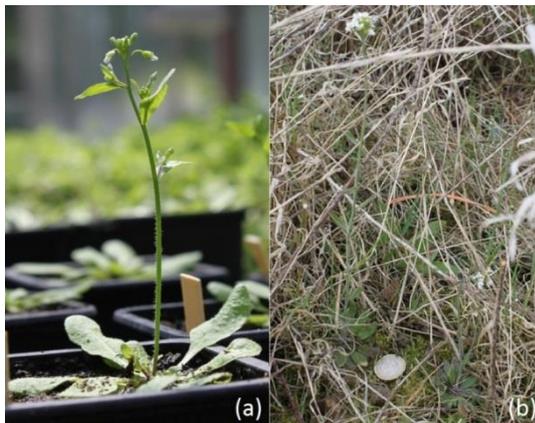
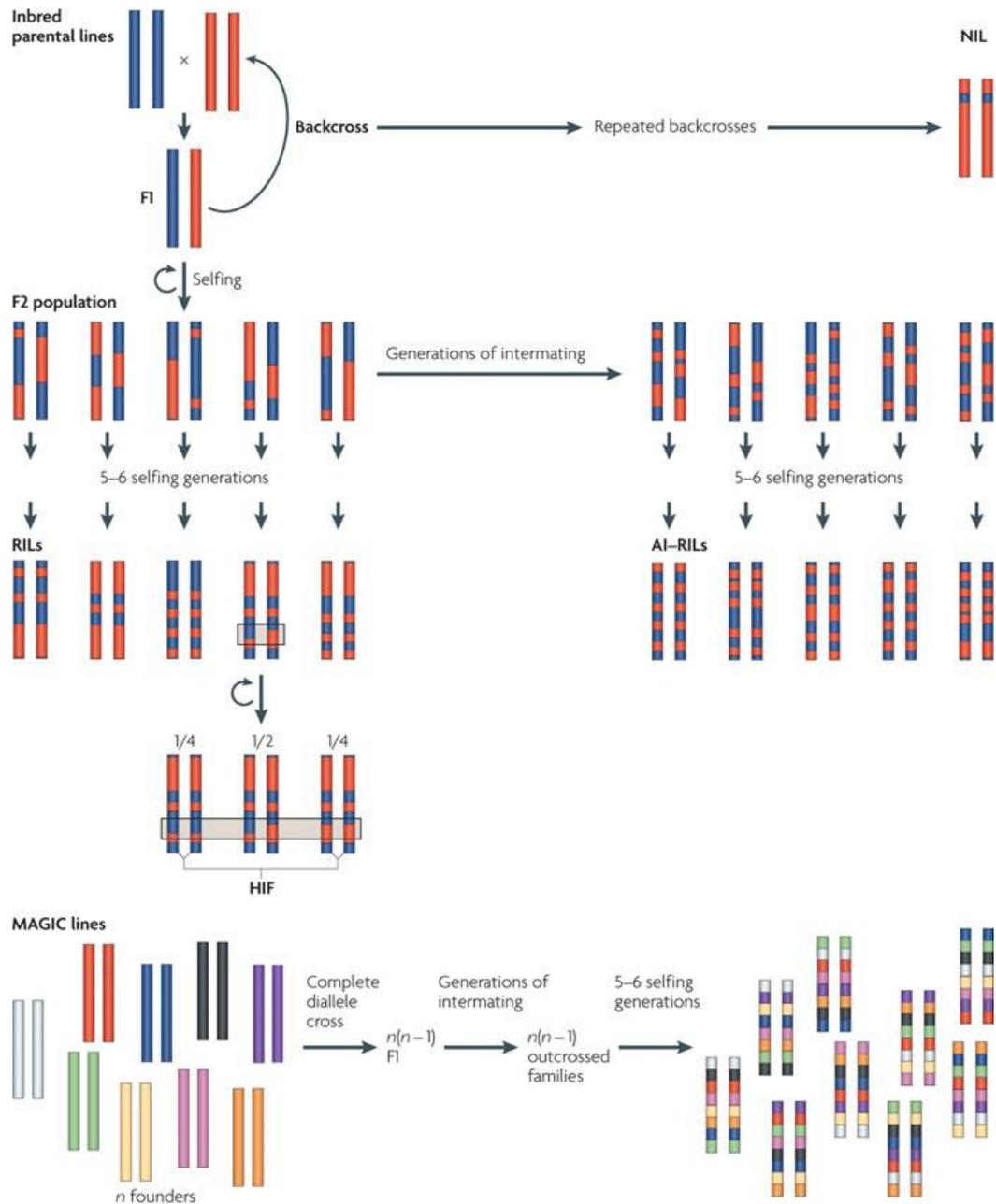


Figure 11. *A. thaliana*. (a) Espèce modèle en génétique facilement cultivable en serre. (b) Espèce sauvage capable de se maintenir dans un milieu naturel avec une forte intensité de compétition (Mont-de-l'Enclus, Belgique, 50° 45.400'N, 3° 28.480'E).

L'effort commun de plusieurs laboratoires travaillant sur *A. thaliana* a permis de créer des ressources génétiques importantes. En rendant ces ressources publiques et disponibles *via* des centres de ressources, la communauté scientifique en a fait un modèle unique pour étudier la variation phénotypique et ses bases génétiques :

- **Lignées artificielles** (altération ou perturbation aléatoire des gènes : mutagenèse Ethyl Methanesulfonate EMS, mutants T-DNA; altération ou perturbation spécifique de gènes : *gene silencing* par amiRNA) (Alonso & Ecker 2006, O'Malley & Ecker 2010).

- **Population expérimentales:** de la population F₂ classique jusqu'aux lignées *Multiparent Advanced Generation Inter-Cross* (MAGIC) pour les plus récemment développées (Fig. 12), le but commun de ces populations expérimentales est de cartographier les QTLs (*Quantitative Trait Loci*) associés à la variation phénotypique naturelle présente entre 2 ou plusieurs accessions naturelles. Etant donné l'homozygotie complète des lignées recombinantes consanguines (*Recombinant Inbred Lines*), ces populations RILs permettent d'avoir des réplicats d'un même génotype au sein d'une expérience et/ou entre plusieurs conditions environnementales et demeurent donc le type de population expérimentale le plus couramment utilisé chez *A. thaliana*.
- **Accessions naturelles :** plusieurs milliers d'accessions mondiales sont publiquement disponibles. Depuis quelques années, un effort considérable a été mis en place pour caractériser génétiquement ces accessions naturelles. Ainsi, afin d'obtenir une meilleure précision dans la localisation des bases génétiques associées à la variation naturelle phénotypique (*i.e.* obtenir un accès direct aux mutations causales), le séquençage complet du génome d'environ 1200 accessions naturelles d'*A. thaliana* a été réalisé *via* un consortium international (<http://www.1001genomes.org>).



Nature Reviews | Genetics

Figure 12. *Utilisation de populations expérimentales de cartographie d’A.thaliana pour identifier des QTLs associés à la variation phénotypique naturelle.* La résolution de cartographie et la diversité génétique dans les populations de cartographie dépendent du nombre de fondateurs, de générations issues d’allofécondation et de générations issues d’autofécondation. RILs: *Recombinant Inbred Lines*, AI-RILs: *Advanced Intercross-Recombinant Inbred Lines*, HIF: *Heterogeneous Inbred Family*, NIL: *Near-Isogenic Line*, MAGIC lines: *Multiparent Advanced Generation Inter-Cross*.

Récemment, *A. thaliana* est aussi devenue une espèce modèle en écologie évolutive (Gaut 2012). Native d'Eurasie, elle a aujourd'hui une répartition mondiale et est rencontrée sur des habitats très contrastés aussi bien au niveau biotique qu'abiotique (Mitchell-Olds & Scmitt 2006, Shindo *et al.* 2007), et ce même à une échelle très locale (Brachi *et al.* 2013). *Arabidopsis thaliana* est principalement retrouvée dans des habitats ouverts et/ou perturbés, dont les sols plutôt pauvres sont à tendances sableuses ou limoneuses (Al-Shehbaz & O'Kane 2002). Le fort taux d'autogamie de cette espèce a longtemps laissé penser que les populations naturelles étaient majoritairement monomorphes. Or, il a déjà été mis en évidence que des populations peuvent être très polymorphes génétiquement et phénotypiquement (Le Corre 2005, Kronholm *et al.* 2012, Brachi *et al.* 2013); et que notamment le taux d'allogamie pouvait atteindre 20% dans certaines populations (Bomblies *et al.* 2010, Platt *et al.* 2010).

D'un point de vue écologique, *A. thaliana* est considérée comme une espèce rudérale-stress tolérante (Grime *et al.* 2007), et montre un développement rapide se terminant par une importante production de graines souvent associée à un fort taux de germination. Si l'on considère que la compétition est de moindre importance pour les espèces rudérales comme le décrivent Grime *et al.* (2007), l'écologie d'*A. thaliana* ne semble pas suggérer une forte capacité compétitrice pour cette espèce. Cependant, trois types d'évidence indiquent qu'*A. thaliana* a une forte capacité compétitrice et présente une forte variabilité intraspécifique pour cette capacité (Fig. 11b).

Premièrement, j'ai relevé pas moins de 30 études se focalisant sur la réponse et/ou l'effet de la compétition chez *A. thaliana*, dont notamment 18 qui ciblent la compétition intraspécifique (Tableau 2) et 12 qui ciblent celle interspécifique (Tableau 3). Tout d'abord, différents signaux associés à la détection de compétiteurs ont été observés chez *A. thaliana*. Par exemple, plusieurs études ont démontré que l'effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs pouvait être conditionné par son activité allélopathique. Ces composés allélopathiques peuvent varier qualitativement et quantitativement selon les accessions (Tomita-Yokotani *et al.* 2003, Biedrzycki *et al.* 2010, Pedersen *et al.* 2013), démontrant notamment dans le cadre de la compétition intraspécifique qu'une accession est capable de percevoir le degré d'apparement qu'elle a avec une autre plante compétitrice.

Tableau 2. Etudes répertoriées sur la compétition intraspécifique chez *A. thaliana*

Accessions d' <i>A. thaliana</i> étudiées	Principaux résultats	Etude
36 accessions issues de 4 populations américaines	Les plantes qui montent et fleurissent plus tôt et qui ont plus de feuilles sont favorisées à forte densité. La plasticité n'est pas adaptative pour la densité.	Dorn <i>et al.</i> 2000
5 accessions issues de populations situées autour de Paris	En concentration normale de CO ₂ , les accessions produisent plus de graines en condition de compétition intra-accession qu'inter-accession. L'inverse se produit à concentration de CO ₂ plus élevée. Variation génétique dans la réponse aux concentrations de CO ₂	Andalo <i>et al.</i> 2001
2 accessions mondiales (Col-0 & Was) et 2 mutants pour étudier l'effet de l'acide salicylique ; 1 accession (Col) et 1 mutant pour étudier l'effet de l'acide jasmonique	Variation selon les lignées des réponses chimiques et de la valeur sélective en fonction de traitements d'hormones (acide salicylique et acide jasmonique). Pas d'interaction entre les traitements de compétition et les traitements hormonaux. La compétition est coûteuse mais n'a pas d'effet sur la magnitude de ce coût.	Cipollini 2002
Col-0 et deux mutants	Effets significatifs de la densité et de l'accession sur des traits sous-jacents à la valeur sélective. Variation génétique dans la réponse à différentes densités de compétition	Alwerdt <i>et al.</i> 2005
Col-0 et 10 mutants	Variation génétique dans les effets compétitifs et dans la réponse (estimateur de valeur sélective) à la compétition	Cahill <i>et al.</i> 2005
12 accessions issues de populations situées aux Etats-Unis	Relation densité dépendante pour des traits liés à la dispersion des graines et la valeur sélective qui peut réduire ou augmenter les contraintes évolutives sur ces traits	Wender <i>et al.</i> 2005
411 RILs issues d'un croisement entre deux accessions mondiales	Identification de 15 QTLs associés à des effets directs et 13 QTLs associés à des effets indirects en réponse à la compétition	Wolf & Mutic 2007
360 RILs issues d'un croisement entre Col-0 et une accession inconnue, semées à une densité de 4.5 plantes par cm ² lors d'une première génération, puis 20 d'entre elles ont été ressemées lors d'une deuxième génération	La sélection est dépendante d'une forte densité. Sur deux générations, un seuil de densité doit être atteint avant que la sélection de groupe s'opère. En dessous de ce seuil, la sélection affecte plus le phénotype au niveau individuel. La sélection multi-niveau peut contribuer à une évolution phénotypique et à des phénomènes démographiques.	Weining <i>et al.</i> 2007
4 accessions issues d'une population allemande et 3 lignées (dont une complétement par un transgène)	La valeur sélective d' <i>A. thaliana</i> en réponse à la compétition racinaire intraspécifique dépend du gène <i>BRX</i>	Shindo <i>et al.</i> 2008
8 accessions issues de populations nord-américaines	Les accessions d' <i>A. thaliana</i> exposées à des exsudats racinaires produits par d'autres accessions produisent plus de racines qu'en contact avec leurs propres exsudats	Biedrzycki <i>et al.</i> 2010
14 accessions issues de populations européennes	La distance génétique entre deux accessions en compétition n'affecte pas la biomasse et l'estimateur de valeur sélective de l'accession cible. Selon les accessions, la performance est plus affectée par de la compétition intragénotype qu'intergénotype et inversement. Ces résultats suggèrent une importante variation naturelle dans la capacité compétitrice.	Masclaux <i>et al.</i> 2010
23 RILs issues d'un croisement entre Col-0 et une accession inconnue	Variation génétique de la réponse à la compétition et de l'effet compétitif. Les accessions les plus tolérantes à la compétition sont aussi celles qui induisent le plus fortement des exclusions compétitives. Le fait qu'une accession focale soit meilleure compétitrice en conditions de compétition intra-accession et inter-accession varie selon l'identité de l'accession compétitrice.	Willis <i>et al.</i> 2010
4 accessions mondiale (Col; Cvi; Ler; Rld)	Les communautés microbiennes du sol varient d'une accession à l'autre, mais toutes les communautés du sol des différentes accessions testées n'affectent pas la croissance des autres accessions. Dans des processus de compétition intraspécifique, la sensibilité aux communautés du sol de certaines accessions congénères n'est pas la même d'une accession cible à une autre.	Aguilera <i>et al.</i> 2011
1 accession nord-américaine et Col-0	Trois gènes associés aux transporteurs ABC semblent être impliqués chez <i>A. thaliana</i> dans la reconnaissance par les racines d'individus apparentés.	Biedrzycki <i>et al.</i> 2011
1 accession nord-américaine et Col-0	Des analyses transcriptomiques montrent que 29 catégories de gènes sont différemment exprimés selon si la plante se trouvait exposée à des exsudats racinaires produits par d'autres accessions ou par la même accession. Pour des accessions exposées à des exsudats racinaires d'autres accessions, des gènes associés à la défense contre des pathogènes sont surexprimés.	Biedrzycki <i>et al.</i> 2011
Col-0	La stratégie de survie d' <i>A. thaliana</i> en condition de compétition intraspécifique semble différente par rapport à des phénomènes de privation de ressources sans événement de compétition. <i>A. thaliana</i> répond à la compétition en régulant fortement les gènes associés à la photosynthèse lorsqu'il y a absence de pathogènes.	Geisler <i>et al.</i> 2012
Col-0	Des analyses transcriptomiques montrent que 75 gènes sont différemment exprimés selon la présence ou l'absence de compétition intraspécifique. Ces gènes sont des gènes de réponse aux limitations en azote, potassium et phosphore, à la qualité de la lumière perçue et à d'autres stress abiotiques et biotiques comme l'herbivorie. L'impact de l'herbivorie par l'insecte généraliste (<i>Spodoptera littoralis</i> , Noctuidae) est réduit en milieu de compétition dense, suggérant que les plantes soumises à une importante intensité de compétition résistent mieux à l'herbivorie.	Masclaux <i>et al.</i> 2012
2 accessions mondiales (Col & Ler)	Pour chaque accession, les individus ont orienté leurs racines vers une zone où se trouvaient les racines d'individus appartenant à la même accession pour éviter les racines des individus de l'autre accession. Ces stratégies ont disparues lorsque le phosphore était très limité. Il y a un rôle direct des métabolites secondaires présents dans les exsudats racinaires dans la réponse à la présence de la plante voisine	Caffaro <i>et al.</i> 2013

Tableau 3. Etudes répertoriées sur la compétition interspécifique chez *A. thaliana* (d'après Bartheleimer *et al.* 2015)

Accessions d' <i>A. thaliana</i> étudiées	Espèces compétitrices étudiées	Principaux résultats	Etude
Col-0	<i>Brachypodium distachyon</i>	Réduction de biomasse induite par la présence du compétiteur. Effet non significatif d' <i>A. thaliana</i> sur la biomasse du compétiteur, mais effet significatif sur des traits d'allocation de ressource. L'empreinte métabolique d' <i>A. thaliana</i> ne change pas en présence de <i>B. distachyon</i> , mais celle de <i>B. distachyon</i> change en présence d' <i>A. thaliana</i>	Gidman <i>et al.</i> 2003
1 accession japonaise	<i>Celosia cristata</i>	La germination des graines de <i>C. cristata</i> est stimulée par une action allélopathique de la germination des graines d' <i>A. thaliana</i>	Tomita-Yokotani <i>et al.</i> 2003
Col-0	<i>Phragmites australis</i>	La survie d' <i>A. thaliana</i> est considérablement réduite en présence de <i>P. australis</i> .	Rudrappa <i>et al.</i> 2007
3 accessions espagnoles, 1 néerlandaise et 1 suédoise	<i>Senecio vulgaris</i> et <i>Anagallis arvensis</i>	Hierarchie de capacité compétitrice (<i>Senecio</i> > <i>Arabisopsis</i> > <i>Anagallis</i>). Les réponses et effets compétitifs d' <i>A. thaliana</i> dépendent des accessions. Variation naturelle dans la réponse à la compétition chez <i>A. thaliana</i> caractérisée par des normes de réactions croisées.	Bossdorf <i>et al.</i> 2009
19 accessions d'origine inconnue	<i>Bromus inermis</i> et <i>Andropogon gerardii</i>	La pression de compétition exercée par <i>B. inermis</i> et <i>A. gerardii</i> est plus faible sur la valeur sélective d' <i>A. thaliana</i> lorsque la concentration en CO ₂ est élevée. Variation génétique dans la réponse à la compétition.	Lau <i>et al.</i> 2010
Col-0	<i>Capsella rubella</i>	La quantité de protéines secrétées par les racines pour se défendre est significativement plus élevée en compétition avec <i>C. rubella</i> qu'en compétition avec d'autres génotypes d' <i>A. thaliana</i> .	Badri <i>et al.</i> 2012
Lignée recombinantes de Col-0 et Ri-0	<i>Poa annua</i>	La compétition avec <i>P. annua</i> retarde la floraison, réduit le temps de floraison, la durée de la phase reproductive et la valeur sélective d' <i>A. thaliana</i> , et ces effets sont d'autant plus importants que l'intensité de la compétition est forte.	Brachi <i>et al.</i> 2012
8 accessions d'origine inconnue	Communautés artificielles de graminées et autres herbacées et de légumineuses	Le taux de germination est plus important dans les communautés dominées par les graminées que dans les communautés dominées par des herbacées autres que des graminées.	Hovick <i>et al.</i> 2012
Col-0 et 2 mutants	<i>Hieracium pilosella</i> , <i>Aira caryophylla</i> , <i>Conya canadensis</i> , <i>Deschampsia flexuosa</i> , <i>Hieracium pilosella</i> , <i>Rumex acetosella</i>	Variation phénotypique racinaire dans l'effet compétitif sur différentes espèces compétitrices, mais pas de variation dans la réponse d' <i>A. thaliana</i> aux différents compétiteurs	Müller & Bartheleimer 2013
Nombre et origine des accessions testées inconnues	<i>Trifolium repens</i>	L'interaction d' <i>A. thaliana</i> avec <i>T. repens</i> affecte le nombre et le type de métabolites racinaires des deux espèces, suggérant que la compétition entre ces deux espèces affecte leur activité allélopathique.	Pedersen <i>et al.</i> 2013
Col-0	<i>Hieracium pilosella</i>	Importantes réactions transcriptomiques induites par la présence d' <i>H. pilosella</i> . Certains changements d'expression de gènes sont semblables à ceux observés en réponse à des attaques de pathogènes	Schmid <i>et al.</i> 2013
Col-0 et 2 mutants	<i>Trifolium pratense</i> , <i>Lolium multiflorum</i>	La croissance d' <i>A. thaliana</i> est significativement réduite en présence des espèces <i>T. pratense</i> et <i>L. multiflorum</i> , notamment lorsque ces espèces sont hôtes des mycorhizes <i>Rhizophagus irregularis</i> capable de réduire de plus de 50% la croissance d' <i>A. thaliana</i> .	Veiga <i>et al.</i> 2013

Ceci suggère donc des processus de sélection de parentèle mis en jeu dans la compétition intraspécifique chez *A. thaliana* (Caffaro *et al.* 2013, Badri *et al.* 2012). De même, il a été démontré que certaines accessions pouvaient être sensibles à la communauté microbienne du sol d'autres accessions d'*A. thaliana* congénères (Aguilera *et al.* 2011). Ensuite, il a clairement été observé différentes stratégies de réponse à la compétition *via* la germination (Tomita-Yokotani *et al.* 2003, Brachi *et al.* 2012, Hovick *et al.* 2012), la phénologie (Brachi *et al.* 2012) et les traits de dispersion (Alwerdt *et al.* 2005, Wender *et al.* 2005). Généralement, la variation de réponse à la compétition chez *A. thaliana* est très marquée selon les conditions de compétition, comme l'atteste les variations associées de l'estimateur de valeur sélective à la fois dans le cadre des compétitions intraspécifique (Andalo *et al.* 2001, Cippolini 2002, Alwerdt *et al.* 2005, Cahill *et al.* 2005, Masclaux *et al.* 2010, Willis *et al.* 2010) et interspécifique (Gidman *et al.* 2003, Rudrappa *et al.* 2007, Bossdorf *et al.* 2009, Brachi *et al.* 2012, Müller & Bartelheimer 2013, Veiga *et al.* 2013). Egalement, il est notamment intéressant de noter qu'*A. thaliana* peut présenter un fort effet sur ses compétiteurs en affectant significativement la performance de ses congénères, et ce à la fois en compétition intraspécifique (Cahill *et al.* 2005, Biedrzycki *et al.* 2010, Willis *et al.* 2010) et interspécifique (Gidman *et al.* 2003, Bossdorf *et al.* 2009, Müller & Bartelheimer 2013, Pedersen *et al.* 2013) grâce notamment à l'efficacité de sa croissance racinaire et de sa reproduction. Enfin, il a été démontré une variation génétique dans la réponse à la compétition à la fois dans un contexte de compétition intraspécifique (Andalo *et al.* 2001, Cippolini 2002, Alwerdt *et al.* 2005, Cahill *et al.* 2005, Wender *et al.* 2005) et interspécifique (Bossdorf *et al.* 2009, Lau *et al.* 2010), et que la compétition pouvait affecter l'évolution de populations expérimentales lorsqu'une certaine densité de congénères est atteinte (Weining *et al.* 2007).

Deuxièmement, lors de diverses prospections de populations naturelles d'*A. thaliana* en France réalisées par notre équipe depuis 2009, nous l'avons régulièrement observé dans des milieux très compétitifs, et ceci sur plusieurs années (Fig. 10b).

Troisièmement, à partir d'une caractérisation écologique de 49 populations naturelles françaises d'*A. thaliana* (climat, sol et intensité des compétitions inter- et intraspécifique), une étude corrélative récemment menée au sein de l'équipe a suggéré que la compétition interspécifique pouvait être une importante pression de sélection agissant sur des traits phénologiques, telle la date de floraison (Brachi *et al.* 2013).

Tous ces arguments suggèrent qu'*A. thaliana* est un bon modèle pour l'étude des mécanismes de la compétition.

3. Comment identifier les gènes sous-jacents aux mécanismes de la compétition ?

Deux types de méthodes non-exclusives peuvent être utilisés chez *A. thaliana* pour identifier les gènes sous-jacents à une réponse phénotypique à un environnement donné. Le premier type de méthodes repose sur l'utilisation d'un seul fond génétique (i) soit par une analyse de mutants de laboratoires (**approche 1**) où le phénotype d'une lignée génétique sauvage et de mutants de laboratoire issus de cette lignée sauvage est mesuré dans un environnement contrôlé et dans un environnement où un facteur biotique ou abiotique a été modifié, (ii) soit par une approche de transcriptomique (**approche 2**) où l'expression de la majorité des gènes présents sur le génome est mesurée chez une lignée génétique à la fois dans un environnement contrôlé et dans un environnement où un facteur biotique ou abiotique a été modifié. Bien que très pertinentes et largement utilisées, ces méthodes ne nous renseignent en rien (i) sur l'architecture génétique (nombres, effets, et positions des QTLs le long du génome) du trait phénotypique étudié, et (ii) sur les variants génétiques naturels associés à ce phénotype et présents dans les populations naturelles, et donc potentiellement retenus par la sélection naturelle. Le deuxième type de méthodes vise donc à identifier les QTLs associés à la variation naturelle de la réponse phénotypique à un environnement donné, et repose sur la variation génétique intra-spécifique. Deux approches seront mentionnées ci-dessous : (i) l'approche par cartographie QTL traditionnelle (**approche 3**) basée sur des populations expérimentales illustrées sur la Figure 11. Bien que largement utilisée chez *A. thaliana*, cette cartographie traditionnelle reste grossière avec des régions QTL recouvrant encore des centaines de gènes (Bergelson & Roux 2010). Une alternative pour finement cartographier les QTLs est le *Genome-Wide Association* (GWA) mapping (**approche 4**), méthode récemment développée chez *A. thaliana* (Atwell *et al.* 2010). Cette méthode utilise le déséquilibre de liaison (*Linkage Disequilibrium*, LD) présent dans les populations naturelles d'*A. thaliana* pour identifier les polymorphismes génétiques qui sont associés avec la variation naturelle. Ci-dessous, des exemples relatifs à la capacité compétitrice chez *A. thaliana* sont décrits pour chacune des 4 méthodes.

(1) Approche 1 : une approche par analyse de mutants de laboratoire.

Utilisée notamment par Alwerdt *et al.* (2005), ces auteurs ont trouvé que les mutants EMS

sddl1-2 et *tmm1-1* d'*A. thaliana* montraient une réponse différente à la compétition intraspécifique. Ce contraste entre les mutants montre que les interactions compétitives peuvent être affectées par seulement quelques gènes dont la fonction est impliquée dans des mécanismes liés à la compétition (dans le cas présent, dans le développement foliaire). Cela supporte le fait que de faibles différences génétiques entre les individus peuvent avoir des implications au niveau de la population, en affectant les réponses des plantes à la compétition intraspécifique. Ce même genre d'approche a été utilisé pour trois gènes associés aux transporteurs ABC impliqués dans la reconnaissance par les racines d'individus apparentés (Biedrzycki *et al.* 2011).

(2) **Approche 2 : une approche transcriptomique** (Biedrzycki *et al.* 2011, Geisler *et al.* 2012, Masclaux *et al.* 2012, Schmid *et al.* 2013). Par cette méthode, ces auteurs ont constaté à l'aide de puces ADN que le niveau d'expression de certains gènes chez des plantes soumises à des conditions de compétition changeait par rapport à des plantes placées dans un contexte dépourvu de compétition. Notamment, par cette approche, Masclaux *et al.* (2012) ont montré que les gènes dont l'expression était affectée par la compétition au sein des racines étaient différents de ceux dont l'expression était affectée dans les feuilles. Les gènes dont le niveau d'expression est régulé par la compétition intraspécifique sont ceux impliqués dans diverses voies biologiques comme le métabolisme, le transport des minéraux, la réponse à des stress biotiques et abiotiques, la réponse à l'évitement de l'ombre, la production d'hormones et l'activité photosynthétique. Certains patrons d'expression de gènes sont semblables à ceux observés en réponse à des attaques de pathogènes (Schmid *et al.* 2012). Ce type d'approche a aussi été réalisé sur d'autres espèces qu'*A. thaliana*, comme *Solanum nigrum* (Solanaceae), où des gènes impliqués dans la signalisation de stress et de voie de défense ont été révélés chez cette espèce en réponse à de la compétition intraspécifique (Schmidt & Baldwin 2006).

(3) **Approche 3 : Identification des variants naturels associés à la capacité compétitrice : approche de cartographie QTL traditionnelle (QTL mapping)**. Les études de QTL mapping portant sur la capacité compétitrice d'une espèce végétale sont très rares. J'ai pu en identifier deux, toutes concernant *A. thaliana*. Wolf & Mutic (2007) ont utilisé 411 RILs issues d'un croisement entre les accessions Bay-0 (Pays-Bas) et Shahdara (Tadjikistan) d'*A. thaliana*. Chaque RIL a été mise en compétition avec l'accession Landsberg (Pologne). A partir de traits liés à la taille, le développement et la production de graines des plantes focales RILs. Au total 15 QTLs de réponse à la compétition intraspécifique (DGEs, *Direct Genetic Effects*) ont pu être détectés, dont un QTL expliquant jusqu'à 34% de la variance

phénotypique. De plus, les auteurs ont mesuré les mêmes traits phénotypiques sur les individus compétiteurs Landsberg, de manière à considérer des IGEs (*Indirect Genetic Effects*) liés aux mécanismes de compétition intraspécifique. Sur les 15 QTLs de réponse à la compétition, 13 d'entre eux ont été identifiés comme étant impliqués dans les effets de la compétition des RILs sur les plantes voisines Landsberg. Wolf & Mutic (2007) ont donc montré qu'il pouvait exister une architecture génétique complexe liée aux interactions intraspécifiques, et ont suggéré une relation pléiotropique entre les loci sous-jacents aux DGEs et IGEs dans un contexte de compétition intraspécifique.

A partir d'une famille RIL issue d'un croisement entre les accessions Uk-1 (Allemagne) et Sav-0 (République Tchèque), Mouchel *et al.* (2004) ont dans un premier temps validé fonctionnellement le gène *BREVIS RADIX (BRX)* comme sous-jacent à un QTL majeur contrôlant la prolifération et l'élongation cellulaire dans la zone de croissance de l'apex racinaire. Par la suite, Shindo *et al.* (2008) ont utilisé l'accession contrôle Sav-0 et une lignée *brx^S* correspondant à une introgression de l'allèle perte-de-fonction *brx* de l'accession Uk-1 dans l'accession Sav-0. Ils ont démontré que la perte de fonctionnalité de *BRX* entraînait une réduction de la performance de la plante. De plus, le fait de compléter la lignée *brx^S* avec un transgène contenant un allèle fonctionnel de *BRX* a confirmé que l'effet direct de la perte de fonction de cet allèle diminue la performance d'*A. thaliana* dans un contexte de compétition intraspécifique.

(4) **Approche 4 : Le GWA mapping** : est-ce une méthode prometteuse pour identifier des variants naturels associés à la variation naturelle de la capacité compétitrice ? Tout comme le QTL mapping traditionnel, le GWA mapping vise à identifier des QTLs associés à la variation naturelle d'un trait phénotypique. Elle vise à associer statistiquement une variation phénotypique à une variation génétique pour identifier des régions du génome impliquées dans la variation d'un trait qui a été mesurée. Contrairement à l'analyse de QTL mapping traditionnelle basée sur le phénotypage d'individus issus la plupart du temps d'un croisement entre deux accessions, le GWA mapping se base sur un échantillonnage de lignées génétiques issues de populations naturelles. Cette méthode tire ainsi bénéfice des événements de recombinaison qui se sont accumulés au cours de l'histoire de l'espèce (généralement sur plusieurs centaines de milliers d'années). Ainsi, les régions génomiques identifiées comme associées à la variation naturelle d'un phénotype sont donc relativement étroites comparées aux études de QTL mapping traditionnelles (Fig. 13, Mitchell-Olds & Schmitt 2006).

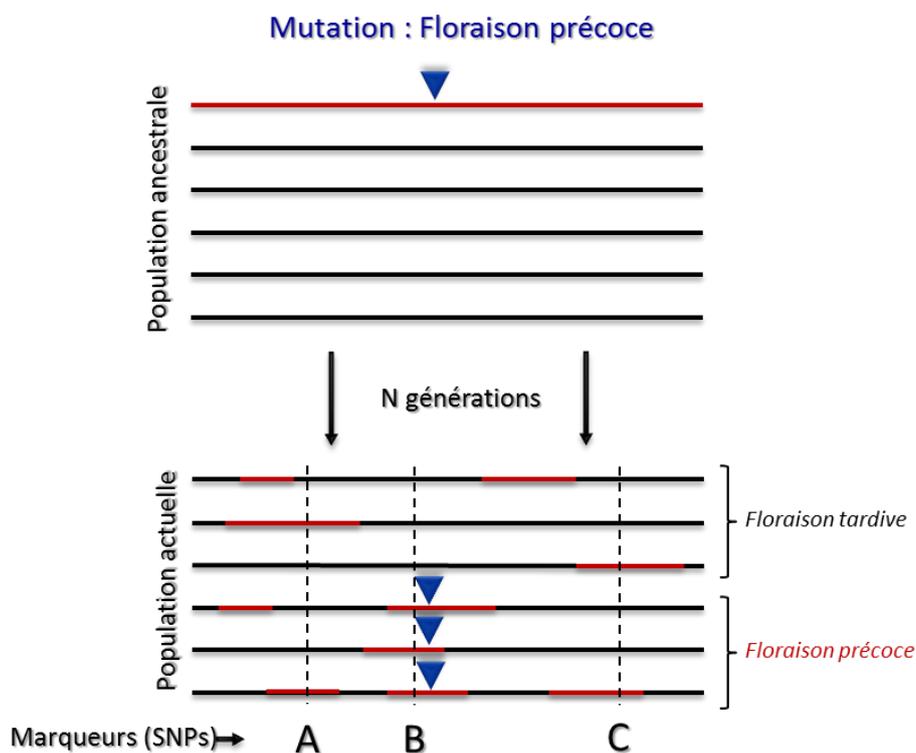


Figure 13. Principe du Genome-Wide Association mapping. (Adapté de Mitchell-Olds & Schmitt 2006). Une population ancestrale contient plusieurs individus qui ont soit un génome noir, soit un génome rouge. Une nouvelle mutation (triangle bleu) conférant par exemple la précocité de floraison est localisée sur le génome rouge. Après des milliers de générations d'évènements de recombinaison, la population actuelle contient des génomes qui sont un réarrangement de petites régions génomiques dérivées de la population ancestrale. Les marqueurs moléculaires permettant de génotyper les individus de la population actuelle sont figurés par les lettres A, B et C, ainsi que par les lignes verticales pointillées en noir. Contrairement aux marqueurs A et C, le marqueur B est en déséquilibre de liaison avec la mutation causale sous-jacente à la précocité de floraison, et est donc significativement associé à la variation de la date de floraison au sein de la population considérée.

La précision des régions génomiques identifiées dépend de deux paramètres. Le premier est la distance physique sur laquelle décroît le déséquilibre de liaison (LD) dans la population considérée (*i.e.* la distance à partir de laquelle l'influence du génotype à un site polymorphe sur la probabilité du génotype à un autre site polymorphe devient non-significative). Plus le nombre d'évènements de recombinaison augmente et plus la distance génétique entre un marqueur et la mutation causale sous-jacente à la variation naturelle d'un trait phénotypique est courte, et donc plus les régions QTL où se trouve la mutation causale sont précises (Mitchell-Olds & Schmitt 2006). Le second paramètre est la densité de marqueurs génétiques disponibles. Si le LD décroît rapidement, une forte densité de marqueurs est nécessaire pour espérer identifier des régions génomiques où se trouvent les polymorphismes causaux. Aujourd'hui, la disponibilité en ressources génétiques pour

certaines espèces comme *A. thaliana* permet de couvrir le génome entier avec des marqueurs moléculaires de type *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), et de réaliser des tests d'association tout au long du génome. Ce scan génomique est donc un approche en aveugle qui permet (i) d'identifier les bases génétiques de la variation phénotypique naturelle, sans connaissance *a priori* des gènes candidats potentiellement impliqués dans la variation du trait étudié et (ii) d'avoir une précision de la cartographie des QTLs à une échelle de quelques gènes.

Néanmoins, plusieurs contraintes sont à considérer dans ces analyses. Notamment, les modèles statistiques utilisés pour tester les associations entre variation phénotypique et variation génétique doivent intégrer l'effet de la structure des populations. Cette structure peut en effet créer du déséquilibre de liaison à longue distance (voire entre chromosomes), et générer ainsi de fausses associations 'phénotype – variant génétique' appelées "faux positifs". Mais cette prise en compte de l'effet de la structure des populations peut en retour augmenter le nombre de "faux négatifs" (Fig. 14, Bergelson & Roux 2010). Comme solution, une combinaison QTL mapping – GWA mapping permet de diminuer significativement le taux de faux positifs et le taux de faux négatifs (Fig. 14, Brachi *et al.* 2010).

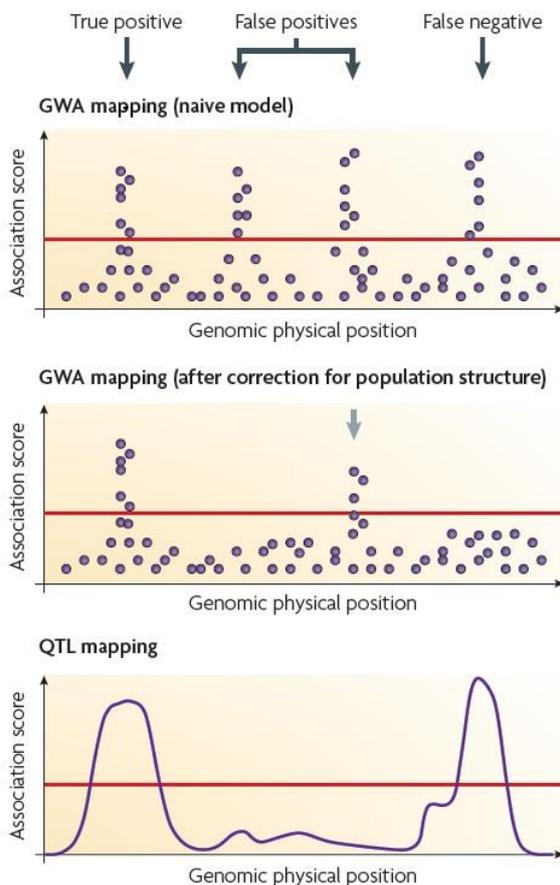


Figure 14. Intégration des approches de génétique d'association. (Bergelson & Roux 2010). Les polymorphismes considérés comme de "vrais positifs" correspondent à la région recouverte par les deux QTLs détectés. Les "faux positifs" identifiés en génétique d'association sont dus à la structure des populations, et les faux négatifs à la correction de l'effet de cette structure. Notons que la correction de la structure des populations ne corrige pas tous les "faux positifs". La ligne rouge correspond au seuil de détection d'association.

Le GWA mapping présente aussi des limites. Tout d'abord, il ne permet pas d'identifier les allèles rares dans la population ciblée (Manolio *et al.* 2009). Ensuite, les cas (i) d'hétérogénéité génétique où la même valeur phénotypique entre différentes lignées génétiques peut être obtenue par différents gènes (Fig. 15a), et d'hétérogénéité allélique où la même valeur phénotypique entre différentes lignées génétiques peut être obtenue par différents allèles à un même gène (Fig. 15b), rendent difficile l'identification des QTLs (Bergelson & Roux 2010).

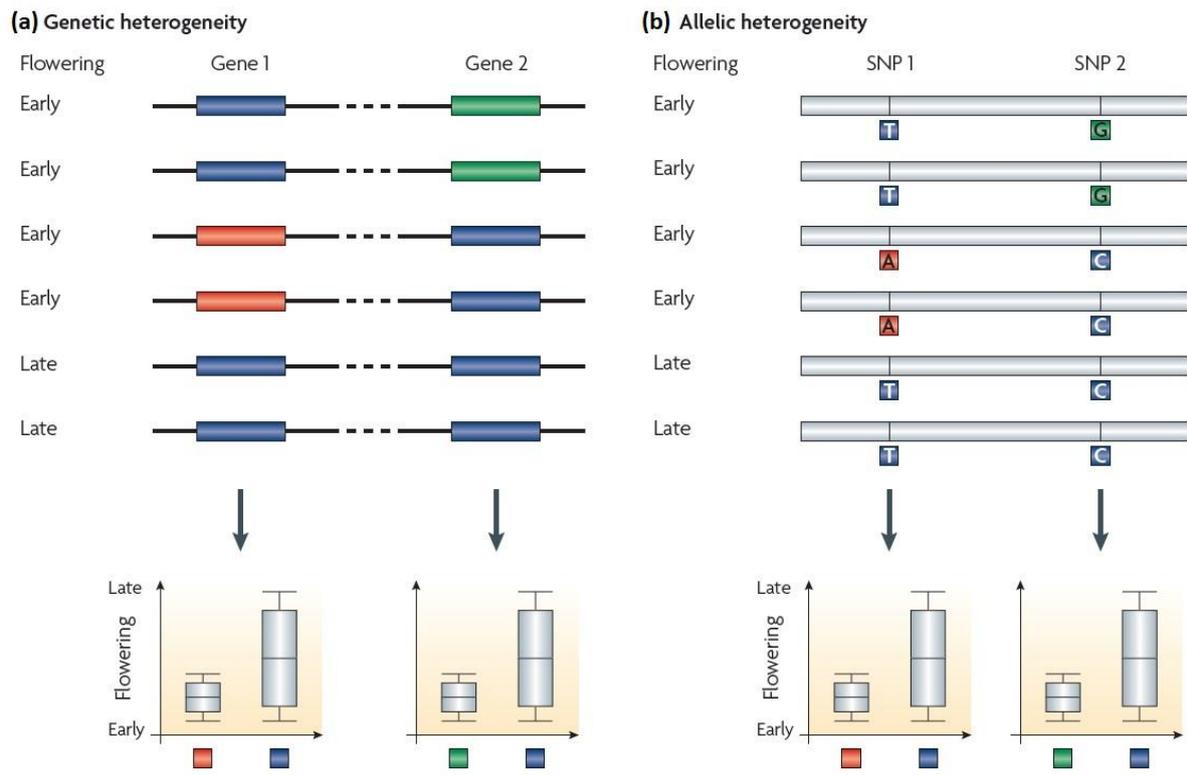


Figure 15. (a) *Hétérogénéité génétique* et (b) *hétérogénéité allélique*. L'hétérogénéité génétique est définie lorsque plusieurs gènes confèrent le même phénotype et perturbent l'identification des effets des gènes. Ici, les allèles verts et rouges sont des allèles de précocité de floraison. L'hétérogénéité allélique est définie si plusieurs allèles du même gène confèrent le même phénotype, tel l'exemple illustré en (b) où le SNP1 rouge et le SNP2 vert sont impliqués dans la précocité de floraison. Les effets des gènes (a), ou des SNP (b), sur la date de floraison sont indiqués dans les graphiques associés (Bergelson & Roux 2010).

Bien que plusieurs études utilisant le GWA mapping ont réussi à identifier précisément les régions génomiques impliquées dans des interactions biotiques, et plus particulièrement dans les interactions plante-pathogènes impliquant *A. thaliana* et le mildiou (Nemri *et al.* 2010), la sharka (*Plum pox virus*, Pagny *et al.* 2012), les bactéries pathogènes *Pseudomonas viridiflava* et *P. syringae* (Atwell *et al.* 2010) et *Xanthomonas campestris*

(Huard-Chauveau *et al.* 2013), aucune étude à notre connaissance n'a été publiée sur l'utilisation du GWA mapping pour identifier des QTLs associés à la variation naturelle de la capacité compétitrice chez *A. thaliana*.

IV. ENJEUX DE LA THESE

A l'heure où :

(i) l'écologie des communautés a mis en évidence l'importance de la compétition dans l'assemblage des communautés et le fonctionnement des écosystèmes ;

(ii) l'écologie évolutive a démontré que la compétition agit comme une dynamique éco-évolutive auprès des communautés, des populations et des individus ;

(iii) la biologie moléculaire et la physiologie suggèrent de multiples mécanismes associés à la compétition mais pour lesquels les variants naturels sous-jacents sont quasiment inconnus ;

la génétique sous-jacente à cette dynamique éco-évolutive affectant les processus locaux (interactions plantes-plantes) jusqu'à des processus à plus grande échelle (services écosystémiques) est encore trop peu connue. Même s'il semble clair que la compétition peut affecter la structure génétique des populations (Whitham *et al.* 2006, Matesanz *et al.* 2011), trop peu d'attention a en effet été portée sur la génétique de la compétition, notamment à une échelle locale. En particulier, trois points que sont (i) la variation génétique naturelle de la capacité compétitrice, (ii) l'identité des traits sous sélection génotypique dans des contextes de compétition et (iii) les bases génétiques de la capacité compétitrice restent à éclaircir.

1. Estimation de la variation génétique naturelle de la capacité compétitrice d'une population locale d'*A. thaliana*

Bien qu'une variation génétique a été observée pour la capacité compétitrice d'*A. thaliana* dans certaines études qui se sont intéressées à la compétition intraspécifique (Andalo *et al.* 2001, Cippolini 2002, Alwerdt *et al.* 2005, Cahill *et al.* 2005, Wender *et al.* 2005) ou à la compétition interspécifique (Bossdorf *et al.* 2009, Lau *et al.* 2010), ces études n'ont utilisé qu'un nombre limité de génotypes, qui de plus étaient généralement issus de populations très éloignées géographiquement ou d'origine inconnue. La variabilité génétique utilisée n'était donc pas représentative de la variation génétique que l'on peut retrouver dans les populations naturelles locales. Egalement, il est fort probable que dans les expériences portant sur la compétition intraspécifique, les génotypes utilisés n'aient jamais été en interaction *in-natura* ;

tout comme dans les expériences portant sur la compétition interspécifique où il n'a jamais été considéré si les génotypes d'*A. thaliana* coexistaient dans leur habitat d'origine avec les espèces compétitrices utilisées lors de ces expériences.

C'est pourquoi, étant donné que la compétition concerne des interactions entre plantes ayant lieu sur des distances relativement courtes (Purves & Law 2002), je propose dans cette thèse d'étudier la variation génétique de la réponse et de l'effet de la compétition à l'échelle d'une population locale, en intégrant l'ensemble de la variation génétique de cette population afin d'identifier son potentiel adaptatif à la compétition.

2. Identification des stratégies optimales de réponse phénotypique d'une population locale d'*A. thaliana* à la compétition

Identifier les stratégies optimales de réponse à la compétition est primordial pour déterminer si les mécanismes impliqués dans la compétition varient d'un contexte à un autre. De plus, déterminer à l'échelle d'une population qu'il existe différentes stratégies optimales de réponse à la compétition permettrait de suggérer qu'elle participe au maintien de la diversité fonctionnelle au sein de cette population. Ce maintien de diversité fonctionnelle se traduirait entre autres par une expansion de niche de la population considérée (Agashe & Bolnick 2010) pouvant permettre de réduire l'intensité de compétition intraspécifique en limitant les chevauchements de niche à l'échelle populationnelle.

Plusieurs méthodes existent pour identifier les traits phénotypiques sous sélection dans un environnement donné. Développons deux d'entre elles. Une première méthode assez largement utilisée chez les plantes concerne l'estimation de gradients de sélection, méthode appelée à l'origine "Analyse de sélection naturelle" (Lande & Arnold 1983). Basée sur l'analyse de régressions multiples, elle vise à expliquer la variance de la valeur sélective relative observée dans un groupe d'individus par la variance de plusieurs traits phénotypiques mesurés sur ces mêmes individus. Pour limiter les biais dus aux covariances environnementales entre les traits et la valeur sélective, il est préférable d'utiliser les valeurs génotypiques obtenues pour chaque lignée génétique phénotypée dans une expérience plutôt que les valeurs phénotypiques : on parle alors dans ce cas de gradients de sélection génotypique (Rausher 1992). Dans un contexte de compétition, Dudley & Schmitt (1996) ont démontré en utilisant cette méthode que chez *Impatiens capensis* (Balsaminaceae) les plantes présentant de longues tiges étaient celles qui présentaient une plus forte valeur sélective à forte densité de compétition. En revanche, les plantes présentant des tiges courtes mais

produisant plus de feuilles étaient sélectionnées à faible densité de compétition. Chez *A. thaliana*, Dorn *et al.* (2000) ont montré avec cette méthode qu'une précocité de montaison et de floraison, et un nombre plus important de feuilles sur la rosette, étaient favorisés à forte densité. De même, Mercer *et al.* (2011) ont montré que chez *Helianthus annuus* (Asteraceae), les plantes germant plus tôt et avec une plus grande taille survivaient mieux que les plantes à germination tardive en conditions de compétition avec un ensemble d'espèces sauvages rudérales. Une deuxième méthode appelée 'approche de résurrection' a récemment émergé comme un moyen pour distinguer les rôles relatifs de la plasticité et de l'évolution adaptative, en réponse à un changement environnemental (Franks *et al.* 2008, Franks *et al.* 2014). En cultivant dans les mêmes conditions environnementales des génotypes collectés dans une même population sur plusieurs générations, cette approche permet de quantifier un changement évolutif des traits phénotypiques sur une courte échelle de temps. Bien que très performante, cette méthode n'a malheureusement jamais été utilisée pour tester si des traits phénotypiques avaient évolué très rapidement au sein d'une population locale située dans un habitat avec une forte intensité de compétition.

De ce fait, étant donné qu'on ne connaît (i) ni les traits sous sélection en réponse à différentes conditions de compétition à l'échelle d'une population locale d'*A. thaliana*, (ii) ni l'intensité et le type de sélection (directionnelle, disruptive ou stabilisante) agissant sur ces traits, cet axe de recherche constituera le second objectif de cette thèse en me basant soit sur l'étude de gradients de sélection génotypique soit en adoptant une approche de résurrection.

3. Identification de bases génétiques associées à la variation naturelle de la capacité compétitrice d'une population locale d'*A. thaliana*

Identifier les bases génétiques associées à la variation naturelle de la capacité compétitrice est reconnu comme étant une étape importante pour comprendre et prédire la dynamique adaptative et les trajectoires évolutives des communautés de plantes (Pierik *et al.* 2013). Cependant, comme précédemment énoncé dans l'approche 3 (approche par QTL mapping), nous n'avons identifié que deux études (toutes espèces végétales confondues) portant sur l'identification de QTLs associés à la compétition. Bien que représentant une première étape importante, ces deux études ne se sont focalisées que sur la compétition intraspécifique. A ce jour, aucun QTL associé à la compétition interspécifique n'a été identifié. Par conséquent, le clonage d'aucun gène lié à la réponse d'une espèce-cible à la compétition interspécifique et/ou lié à l'effet d'une espèce-cible sur une espèce compétitrice n'a été publié pour l'instant. Par ailleurs, bien que la compétition soit un processus local avec

des interactions plante-plante se produisant sur de courtes distances, ces deux études se sont basées sur des croisements entre deux accessions mondiales dont la probabilité de rencontre dans un habitat naturel est très faible, pour ne pas dire nulle. Dans le but d'identifier des QTLs associés à la capacité compétitrice dans des conditions proches de celles rencontrées par une espèce en milieu naturel, il apparaît donc nécessaire de (i) considérer plusieurs espèces compétitrices, et (ii) d'utiliser une échelle appropriée aux interactions plante-plante (*i.e.* au sein d'une population locale). A l'ère de la génomique écologique, j'ai choisi d'utiliser la méthode du GWA mapping pour identifier les QTLs associés à la capacité compétitrice d'*A. thaliana* dans un contexte de compétition interspécifique, et ceci en utilisant des lignées génétiques d'une population locale.

4. Présentation du matériel biologique

Ces trois points (la variation génétique naturelle, l'identité des traits phénotypiques sous sélection génotypique et l'identité des bases génétiques) ont été simultanément abordées dans cette thèse, en me focalisant principalement sur une population naturelle d'*A. thaliana*.

Cette population, nommée "TOU-A", a été échantillonnée sur une longueur de 350m sous une clôture électrique séparant deux prairies permanentes, dans le village de Toulon-sur-Arroux (Bourgogne, France, 46°38'53.80"N - 4° 7'22.65"E, Fig. 16a). Le long de cette clôture, *A. thaliana* a été trouvée en compétition avec de nombreuses espèces (Fig. 16b). Les graines ont été collectées en 2002 selon un protocole d'échantillonnage permettant de prendre en compte la densité hétérogène des plantes le long d'un transect sous la clôture (Fig. 16c) : (i) à partir du point 0, les graines de la première plante rencontrée ont été collectées, (ii) si cette plante était au début d'un patch de plusieurs plantes, la plante suivante chez qui des graines ont été collectées se situait à 50 cm de la précédente (cette étape a été répétée jusqu'à la fin du patch), (iii) sinon, en absence de patch de plantes, la prochaine plante pour laquelle les graines ont été collectées correspondait à la plante suivante rencontrée le long du transect.



Figure 16. *La population TOU-A.* (a) Habitat de la population naturelle TOU-A échantillonnée le long d'un transect signalé par la flèche blanche. (b) *Arabidopsis thaliana* en compétition avec deux autres espèces : *Veronica arvensis* et *Poa annua*. (c) Chaque trait représente la position des 83 accessions d'*A. thaliana* échantillonnées le long du transect (photographies : F. Roux).

A l'issue de cet échantillonnage, les graines de 83 plantes (*i.e.* représentant individuellement des accessions) ont été collectées. Ces 83 lots de graines ont par la suite été envoyés en 2003 au professeur Joy Bergelson (Université de Chicago) afin de constituer en serre des stocks de graines conséquents pour chacune d'elle. A partir du génotypage de ces 83 accessions avec 149 SNPs (Platt *et al.* 2010), nous avons identifié 51 haplotypes différents et avons conséquemment choisi 51 accessions représentatives individuellement de ces haplotypes. Elles ont été par la suite génotypées pour 214 051 SNPs (densité moyenne le long du génome = 1 SNP tous les 500bp ; Horton *et al.* 2012). En 2011, les effets maternels de ces 51 accessions ont été réduits en cultivant les individus en conditions contrôlées sous serre (photopériode de 16h à 20°C), à l'Université de Lille 1. Trois accessions ayant été par la suite décrites comme des possibles contaminants (résultant potentiellement d'échanges de graines entre laboratoires, Anastasio *et al.* 2011), la variabilité génétique de la population TOU-A est donc au final représentée par 48 accessions.

Des études précédentes réalisées au sein de l'équipe ont permis (i) non seulement de mettre en évidence une forte variation génétique entre les 48 accessions pour 6 traits phénologiques (Brachi *et al.* 2013), ainsi que pour la résistance quantitative à la bactérie pathogène vasculaire *X. campestris* (Huard-Chauveau *et al.* 2013), (ii) mais aussi que cette

taille de population était suffisante pour cartographier très précisément (*i.e.* à une échelle de quelques kilo bases) des QTLs avec de forts effets associés à la variation naturelle phénotypique (Brachi *et al.* 2013, Huard-Chauveau *et al.* 2013).

Finalement, l'observation annuelle au sein de la population TOU-A de la présence de plusieurs centaines d'individus sur **une période de 10 ans** suggère que cette population a pu se maintenir dans un habitat où l'intensité de la compétition pouvait être considérée comme forte pour l'espèce qu'est *A. thaliana*.

5. Plan de la thèse

Par une approche de génomique écologique, je me suis intéressé à l'étude de la génétique (variation génétique naturelle, identité des traits phénotypiques sous sélection génotypique et identité des bases génétiques) de la capacité compétitrice d'*A. thaliana* à une échelle locale ; avec toujours le souci d'augmenter le degré de réalisme écologique au fil de mes études, pour me rapprocher au maximum des conditions naturelles et donc de la complexité des interactions plante-plante dans une communauté végétale (Fig. 17).

Dans un premier chapitre, je me suis focalisé sur l'étude de la génétique associée à la capacité compétitrice de la population locale d'*A. thaliana* TOU-A en conditions de compétition interspécifique monospécifique. Autrement dit, je me suis intéressé à des interactions de compétition par paires de plantes en intégrant deux espèces, l'une étant considérée comme focale (*i.e.* *A. thaliana*) et l'autre comme compétitrice. J'ai (i) caractérisé la variation génétique naturelle, (ii) identifié les traits sous sélection, et (iii) identifié les bases génétiques impliqués dans la capacité compétitrice de cette population locale dans des conditions de compétition. Ces conditions ont varié dans un premier temps selon l'identité spécifique de la plante compétitrice, et dans un deuxième temps selon la date de germination de l'espèce compétitrice par rapport à la plante focale (Fig. 17).

Dans un second chapitre, je me suis encore intéressé à génétique de la capacité compétitrice au sein de la population TOU-A. Toutefois, dans le but de me rapprocher d'avantage des conditions rencontrées *in natura*, je me suis replacé dans un contexte de compétition plurispécifique. En effet, dans un milieu naturel, une plante interagit rarement avec seulement une autre espèce mais généralement de manière simultanée avec plusieurs autres. Par exemple, Wilson *et al.* (2012) ont identifiés 89 espèces sur un seul mètre carré dans une prairie argentine. Une première étude a consisté à étudier la variation génétique de la

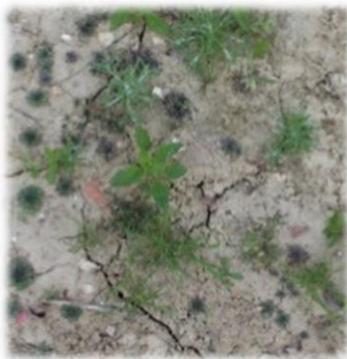
capacité compétitrice de la population TOU-A selon différents assemblages d'espèces, et à déterminer si la réponse à la compétition plurispécifique pouvait être prédictible à partir des réponses individuelles à la compétition monospécifique. A noter qu'au cours de cette étude, des accessions issues d'une autre génération échantillonnée en 2010 au sein de cette même population TOU-A ont été utilisées (mêmes protocoles d'échantillonnage et de production de graines). Ainsi, en adoptant une approche de résurrection, j'ai pu étudier l'évolution phénotypique de la capacité compétitrice de la population TOU-A sur une période de huit générations. Puis, dans une seconde étude, je me suis intéressé au potentiel adaptatif de la population TOU-A face à l'arrivée d'une espèce invasive dans un contexte de compétition associé aux changements globaux, en intégrant dans les expérimentations une hausse de température, une modification dans la composition spécifique des communautés ainsi qu'un appauvrissement spécifique des communautés (Fig. 17).

Dans un troisième chapitre, j'ai étudié la dynamique adaptative sur 3 générations de populations expérimentales cultivées en conditions naturelles selon deux degrés de complexité d'interactions entre plantes. Pour cette expérimentation, j'ai effectué simultanément des suivis démographique, phénologique et génomique de ces populations afin de comprendre leur potentiel adaptatif vis-à-vis de la compétition à une échelle locale dans des conditions écologiques les plus réalistes possibles (Fig. 17).

Réalisme écologique des conditions de compétition

CHAPITRE III

Conditions naturelles



Suivis de populations expérimentales dans des conditions de faible et forte intensité de compétition



CHAPITRE II

Compétition plurispécifique contrôlée



Différents assemblages d'espèces compétitrices



Arrivée d'espèces invasive dans différentes communautés



CHAPITRE I

Compétition monospécifique contrôlée



Identité spécifique du compétiteur



Décalage de germination du compétiteur

Figure 17. Plan de la thèse.

Chapitre I

Etude de la réponse à la compétition monospécifique dans une
population locale d'*Arabidopsis thaliana*

Introduction du Chapitre I

Dans le but de caractériser le potentiel adaptatif d'une population locale à la compétition, trois axes complémentaires sont à considérer. Tout d'abord, il est essentiel de décrire la variation génétique naturelle de la réponse de cette population à différentes conditions de compétition, en vue de démontrer en quoi ce type d'interaction biotique peut permettre le maintien de la diversité génétique à une échelle spatiale très fine, en impliquant notamment des phénomènes de spécialisation biotique. Ensuite, il est important de tester si les stratégies phénotypiques optimales de réponse à la compétition diffèrent suivant l'espèce compétitrice considérée. Si les traits phénotypiques sous sélection sont différents entre plusieurs espèces compétitrices, cela pourrait (i) amener à un maintien d'une diversité fonctionnelle intraspécifique à l'échelle d'une communauté végétale locale, et (ii) suggérer que les bases génétiques sous-jacentes aux stratégies phénotypiques optimales diffèrent elles aussi selon les espèces compétitrices considérées. Ainsi, le dernier axe porte sur l'identification des QTLs associés à la variation naturelle de la réponse à la compétition. Combiné à l'accès à des données génomiques sans précédent *via* le développement récent de technologies de séquençage haut-débit (*Next-Generation Sequencing*, NGS), les approches de GWA (*Genome Wide Association*) mapping devraient permettre d'établir une cartographie fine des régions génomiques majeures associées à la variation naturelle de la réponse à différentes conditions de compétition. Cette étape est primordiale pour proposer des gènes candidats sous-jacents aux mécanismes moléculaires liés aux stratégies de réponses à la compétition. Car rappelons le, aucun gène associé à la variation naturelle de la réponse à la compétition n'a été validé à ce jour.

Ces trois approches ont été simultanément abordées dans ce chapitre, au sein de deux études qui se focalisent sur l'aptitude compétitrice d'*A. thaliana* en conditions de compétition monospécifique. De ce fait, seules les interactions entre deux plantes ont été considérées. Les interactions plante-plante se produisant principalement sur de courtes distances physiques, j'ai décidé d'adapter mon matériel végétal à cette fine échelle spatiale. Je me suis ainsi focalisé sur une population locale d'*A. thaliana* située en Bourgogne (Platt *et al.* 2010), appelée "TOU-A", et dont l'habitat correspond à une prairie permanente dominée par les graminées (Villoutreix *et al.* manuscrit soumis). Plus précisément, la population TOU-A est constituée de 48 accessions (i) choisies afin de maximiser sa diversité génétique (Platt *et al.* 2010), et (ii) qui ont été génotypées pour 168 503 SNPs ("*Single Nucleotide Polymorphism*", Horton *et al.* 2012). La taille de cette population a été démontrée être suffisante pour identifier de manière très précise par GWA mapping les régions génomiques associées aux variations naturelles (i)

de traits phénologiques (Brachi *et al.* 2013) et (ii) de résistance quantitative à la bactérie pathogène *Xanthomonas campestris* (Huard-Chauveau *et al.* 2013). J'ai donc eu la volonté de replacer une approche de GWA mapping dans un contexte écologique proche de la variation phénotypique et génétique observée au sein d'une population naturelle.

Etude de la réponse à la compétition monospécifique dans une population locale d'A. thaliana : effet de l'identité de l'espèce compétitrice

La première étude présentée vise à caractériser la variation naturelle, les stratégies phénotypiques optimales et les bases génétiques de la réponse et de l'effet de la compétition chez cette population locale selon l'identité de l'espèce compétitrice considérée. Pour ce faire, j'ai semé sur un terrain expérimental les 48 accessions de la population TOU-A dans six environnements de compétition: absence de compétition, en condition de compétition intraspécifique et sous quatre conditions différentes de compétition interspécifique en relation avec les espèces compétitrices suivantes: *Poa annua* (Poaceae), *Stellaria media* (Caryophyllaceae), *Trifolium repens* (Fabaceae) et *Veronica arvensis* (Plantaginaceae). Ces quatre espèces compétitrices sont naturellement retrouvées dans les communautés végétales d'*A. thaliana* en France, et présentent différents types de port végétatif suggérant une variation dans leur stratégie compétitrice. Afin d'étudier la réponse d'*A. thaliana* à la compétition (*i.e.* effets génétiques directs), j'ai mesuré neuf traits phénotypiques liés à la phénologie, l'accumulation de ressources, l'architecture et la production totale de graines (un estimateur de la valeur sélective) sur chaque plante d'*A. thaliana*. Afin d'étudier l'effet d'*A. thaliana* sur la performance de ses compétiteurs aussi bien en conditions de compétition intraspécifique que sous différentes conditions de compétition interspécifique (*i.e.* effets génétiques indirects), j'ai mesuré la biomasse sèche de l'appareil végétatif aérien des compétiteurs vis-à-vis de chaque accession d'*A. thaliana*.

Dans un premier temps, j'ai observé des normes de réaction croisées entre les six environnements de compétition pour la production totale de graines (réponse d'*A. thaliana* à la compétition), mais aussi pour la biomasse sèche aérienne des compétiteurs (effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs). Ces résultats suggèrent (i) une spécialisation biotique de certaines accessions d'*A. thaliana* pour une espèce compétitrice donnée, spécialisation qui maintien de la variation génétique d'*A. thaliana* à une fine échelle sp spécialisation qui devrait promouvoir un maintien de la variation génétique d'*A. thaliana* à une fine échelle

spatiale, et (ii) un rôle de l'effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs dans la coexistence entre espèces à l'échelle d'une communauté locale.

Dans un second temps, en estimant des gradients de sélection génotypique basés sur les 8 traits phénotypiques liés à la phénologie, l'accumulation de ressources et l'architecture, j'ai démontré que les traits sous sélection étaient dépendants de l'identité de l'espèce compétitrice. Notamment, la stratégie optimale de réponse d'*A. thaliana* en présence de *S. media* correspond à une stratégie d'échappement où les accessions avec les tiges principales les plus hautes ont produit le plus de graines. A l'inverse, en présence de *P. annua*, la stratégie optimale de réponse d'*A. thaliana* semble correspondre à une stratégie de recouvrement du compétiteur où les accessions avec les rosettes les plus larges ont produit le plus de graines.

Dans un troisième temps, j'ai montré par une approche de GWA mapping que les régions génomiques associées aussi bien à la réponse d'*A. thaliana* à la compétition (effet génétique direct) qu'à l'effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs (effets génétiques indirects) étaient fortement dépendantes de l'espèce compétitrice considérée. Pour la première fois, à ma connaissance, j'ai détecté onze QTLs liés à des effets génétiques directs ou indirects dans un contexte de compétition interspécifique et j'ai proposé trois gènes candidats potentiellement impliqués dans des mécanismes moléculaires liés aux interactions plante-plante.

Etude de la réponse à la compétition monospécifique dans une population locale d'A. thaliana selon le décalage de semis par rapport à une espèce compétitrice

La seconde étude présentée dans ce chapitre considère la compétition comme un processus biologique, dont la dynamique structure les communautés non seulement au niveau spatial mais aussi au niveau temporel. En me basant sur la même population locale TOU-A, cette seconde étude visait à caractériser la variation naturelle, les stratégies phénotypiques optimales et les bases génétiques de la réponse à la compétition selon un décalage de la date de germination d'*A. thaliana* par rapport à une espèce compétitrice. J'ai semé les 48 accessions de la population TOU-A dans quatre environnements en conditions contrôlées sous serre: un traitement sans compétition et trois traitements en compétition avec *S. media* (*A. thaliana* semée deux semaines avant, en même temps et deux semaines après le compétiteur).

J'ai choisi l'espèce compétitrice *S. media* car elle est fréquemment associée à *A. thaliana* dans les communautés naturelles françaises, et l'étude précédente réalisée en terrain expérimental indique une forte aptitude compétitrice de cette espèce. Les quatre environnements testés constituent un gradient d'intensité de compétition. Là encore, j'ai mesuré neuf traits phénotypiques incluant un estimateur de *fitness* (*i.e.* production totale de graines) pour chaque plante d'*A. thaliana*. J'ai quantifié la performance de *S. media* en estimant la longueur moyenne des tiges qui s'avère être un bon estimateur de la production foliaire.

Dans un premier temps, j'ai trouvé que l'identité des accessions ayant la valeur sélective la plus élevée ainsi que leur position dans un espace phénotypique déterminé par 8 traits phénotypiques (liés à la phénologie, l'accumulation de ressources et l'architecture) variait de manière importante selon le gradient d'intensité de compétition. Ce résultat suggère des phénomènes de spécialisation biotique au décalage de germination d'*A. thaliana* par rapport à *S. media*, expliquant potentiellement le maintien de la diversité génétique au sein de la population TOU-A.

Dans un second temps, en estimant des gradients de sélection génotypique, j'ai démontré que les stratégies phénotypiques optimales dépendent de l'écart de la date de germination entre *A. thaliana* et *S. media*. J'ai notamment observé que les stratégies optimales d'allocation des ressources (nombre et type de branches) étaient fonction de l'augmentation du gradient d'intensité de compétition, et donc de la diminution de la disponibilité en ressources pour *A. thaliana*. Alors que les accessions avec le plus grand nombre de branches basales produisent le plus de graines quand l'intensité de la compétition est absente ou faible, les accessions avec les tiges principales les plus hautes produisent le plus de graines quand la compétition est intense.

Dans un troisième temps, j'ai montré par une approche de GWA mapping que les régions génomiques associées à la variation naturelle de la réponse à la compétition sont dépendantes du décalage de semis entre *A. thaliana* et *S. media*. Parmi les quatorze QTLs majeurs détectés, j'ai identifié six gènes candidats impliqués dans des voies moléculaires potentiellement liées à des mécanismes de réponse à la compétition, comme par exemple la biosynthèse et la signalisation des brassinostéroïdes (hormone clé impliquée à la fois dans l'immunité et la croissance de la plante).

**The genetics of intra- and interspecific competitive
response and effect in a local population of an
annual plant species**

Etienne Baron, Julien Richirt, Romain Villoutreix, Laurent Amsellem and Fabrice Roux

Submitted to *Functional Ecology*

The genetics of intra- and interspecific competitive response and effect in a local population of an annual plant species

Etienne Baron^{1,2,3}, Julien Richirt¹, Romain Villoutreix¹, Laurent Amsellem¹ and Fabrice Roux^{1,2,3}

¹*Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France*

²*INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

³*CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France.*

***Corresponding author:** Fabrice Roux

CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France. E-mail: fabrice.roux@toulouse.inra.fr

Phone number: +33 (0)5 61 28 54 59

Fax number: +33 (0)5 61 28 50 61

Running title: The genetics of plant – plant interactions

Summary

1. While competition is recognized as a major factor responsible for plant community dynamics, the genetics of intra- and interspecific competitive ability (*i.e.* level of intra-population genetic variation, identity of phenotypic traits under selection and genetic bases) remains poorly understood.
2. In this study, we tested whether the genetics of competitive response and effect in *Arabidopsis thaliana* was dependent on the competition environment at both the intraspecific and interspecific levels. Because plants interact with neighbors over short distances, we focused on a mapping population of 48 accessions (i) that maximize the genetic diversity of a local population of *A. thaliana* and (ii) that have been genotyped for 168 503 Single Nucleotide Polymorphisms.
3. In a common garden experiment, those 48 accessions were grown in six competition environments: absence of competition, intraspecific competition and interspecific competition with four species frequently associated with *A. thaliana* in natural plant communities (*i.e.* *Poa annua*, *Stellaria media*, *Trifolium repens* and *Veronica arvensis*). A suite of nine phenotypic traits, including a proxy of fitness, were scored on each *A. thaliana* target plant and the above-ground dry biomass of its corresponding competitor was estimated.
4. We first showed that crossing reaction norms of competitive response (*A. thaliana* fitness) and effect (competitor biomass) might promote maintenance of genetic variation in a local population of *A. thaliana* and species co-existence at a fine spatial scale. By estimating genotypic gradients of selection, we then demonstrated that the optimal phenotypic strategies in response to competition depend on the identity of the competitor species. Finally, a Genome-Wide Association mapping approach highlighted that genomic regions associated with direct genetic effects were (i) dependent on the competitor species and (ii) different from genomic regions associated with interspecific indirect genetic effects.
5. While a first step, this study highlighted the power of adding genomics to ecology in *A. thaliana* to identify genetic bases underlying micro-geographic adaptation to competition. Next-generation sequencing technologies will undoubtedly facilitate the discovery of

molecular and genetic mechanisms underlying competitive ability in other plant species, and thereby the prediction of evolutionary trajectories of plant communities.

Keywords: competition, ecological genomics, fitness-related traits, gradient of natural selection, GWA mapping, reaction norms.

Introduction

Among the processes described in community assembly theories (Martorell & Freckleton 2014), competition is recognized as a major factor responsible for plant community structure (Golberg & Barton 1992), diversity (Chesson *et al.* 2000) and dynamics (Tilman 1985) by governing coexistence between species. Competition may affect metacommunity-level dynamics in interaction with evolutionary forces (Urban *et al.* 2006). For instance, resources available for one plant can be limited by competition, which may decrease effective size of the population and thus its rate of adaptation to a potentially new or changing environment (Johansson 2008), like global change (Lau *et al.* 2014).

While the integration of both ecology and evolution appears as a priority to understand adaptive dynamics of local populations in presence of competition (Post & Palkovacs 2009), three intertwined points related to the genetics of competition (*i.e.* level of intra-population genetic variation, identity of phenotypic traits under selection and genetic bases) still deserves a deeper investigation. First, competitive response (target plant performance as a function of a neighbor plant) and effect (influence of target plant on performance of a neighbor) have been shown to be highly genotype-dependent at both the intraspecific and interspecific levels (Ehlers & Thompson 2004; Gustafson *et al.* 2004; Cahill, Kembel & Gustafson 2005; Bossdorf, Shuja & Banta 2009; Willis, Brock & Weining 2010). However, despite the short distance within which plants interact with neighbors (Purves & Law 2002), only a handful of studies considered genotypes collected in the same local community (Turkington & Harper 1979; Aarssen & Turkington 1985; Kelley & Clay 1987; Aarssen 1989; Taylor & Aarssen 1990; Lüscher, Connolly & Jacquard 1992; Vavrek 1998; Fridley, Grime & Biton 2007). While informative, these studies were however generally based on few genotypes (up to ten; Taylor & Aarssen 1990) and/or few interacting species. By growing, in presence of several competitor species, genotypes that maximize the genetic diversity of a local population, one can estimate the extent of natural variation for competitive response and effect, which may in turn help to fully estimate the adaptive potential of this local population in its local community.

Second, the identity of genotypes with the best fitness may depend on both the presence of intra- and interspecific competition and the identity of the competitor species (Vavrek *et al.* 1998; Dorn, Hammond Pyle & Schmitt 2000; Weinig *et al.* 2006; Fridley *et al.* 2007; Bossdorf *et al.* 2009; Brachi *et al.* 2012), suggesting the presence of genotypes that are

well adapted to interactions with neighbor plants as well as biotic specialization of some genotypes to a given competitor species. It remains to test at the genotypic level whether the identity of the traits under selection in a natural plant population – as well as the strength and nature of selection acting on those traits – vary between competition environments. If reaction norms for fitness of target genotypes cross between competition environments, variation in the identity of the traits under selection should favor the maintenance of genetic diversity of functional traits in local plant populations.

Third, identifying genes associated with natural variation of intra- and interspecific competitive response and effect is recognized as an important step to predict and understand adaptive dynamics and evolutionary trajectories of plant communities (Pierik, Mommer & Voeselek 2013). While molecular mechanisms of plant competition started to be elucidated by lab mutant analysis in model species like the mouse-ear cress *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Pierik *et al.* 2013), identification of natural genetic variants associated with competitive ability offers both (i) a complementary approach to unravel molecular mechanisms associated with either neighbor detection or response strategies and (ii) an exciting opportunity to further study the traces of selection acting on those variants (Bergelson & Roux 2010). However, only few studies have dealt with the identification of Quantitative Trait Loci (QTL) involved in plant – plant interactions. Notably, by growing a mapping population of 411 Recombinant Inbred Lines (RILs) of *A. thaliana*, Mutic & Wolf (2007) detected that most QTLs directly associated with the response of *A. thaliana* target plants (Direct Genetic Effects, DGEs) to intraspecific competition also had an indirect effect on the expression of developmental traits of their neighbor plants (Indirect Genetic Effects, IGEs). This suggests a pleiotropic relationship between DGE and IGE loci in a conspecific neighborhood. To our knowledge, no study has been designed to identify QTLs underlying plant – plant interactions in a natural population at a community scale. Whether QTLs associated with DGEs in the target species are identical to QTLs having an indirect effect on the phenotypic expression of neighbors in a heterospecific context (Interspecific Indirect Genetic Effects, IIGEs) remains an open question. Because Genome-Wide Association (GWA) mapping has been demonstrated to be an efficient tool to finely map genes involved in plant – pathogen interactions (Atwell *et al.* 2010; Nemri *et al.* 2010; Pagny *et al.* 2012; Huard-Chauveau *et al.* 2013), GWA mapping may appear promising to identify molecular underpinnings of other biotic interactions like intra- and interspecific competitive response and effect (Bergelson & Roux 2010).

In this study, we tested whether the genetics of competitive response and effect (*i.e.* level of genetic variation, identity of traits under selection and genetic bases) in *A. thaliana* was dependent on the competition environment at both the intraspecific and interspecific levels. As previously advised, mapping populations used to identify genomic regions associated with ecologically relevant traits should be chosen according to the scale of adaptive phenotypic variation (Bergelson & Roux 2010, Brachi *et al.* 2013). Because plants interact with neighbors over short distances (*i.e.* the adaptive spatial scale should be small), we focused on a mapping population of 48 accessions (i) that maximize the genetic diversity of a local population of *A. thaliana* (Platt *et al.* 2010) and (ii) that have been genotyped for 168 503 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs; Horton *et al.* 2012).

In a common garden experiment, those 48 accessions were grown in six competition environments: absence of competition, intraspecific competition and interspecific competition with four species with different growth forms and frequently associated with *A. thaliana* in natural plant communities (*i.e.* *Poa annua*, *Stellaria media*, *Trifolium repens* and *Veronica arvensis*). *A. thaliana* target plants were phenotyped for a suite of nine phenotypic traits, including seed production as a proxy for plant fitness; while performance of competitors was estimated by above-ground dry biomass. Specifically, we first tested for biotic specialization by describing the ‘accession x competition environment’ interactions for both seed production of *A. thaliana* target plants and performance of competitors. Then, by estimating genotypic gradients of selection, we tested whether the identity of traits under selection in our local population of *A. thaliana* as well as the strength and nature of selection acting on them vary between competition environments. Finally, by a GWA mapping approach, we tested whether genomic regions associated with DGEs (i) were dependent on the competition environment and/or (ii) were identical to genomic regions associated with IIGEs.

Materials and methods

PLANT MATERIAL

We focused on a set of 48 accessions of *A. thaliana* collected in 2002 in the TOU-A population, located under a 350m electric fence separating two permanent meadows that experience cycles of periodic grazing by cattle. These accessions represent as many different

haplogroups (based on the genotyping at 149 SNPs; Platt *et al.* 2010), and have been genotyped for 168 503 SNPs evenly spaced across the genome (51.7% of these 168 503 SNPs having a Minor Allele Relative Frequency (MARF) > 0.2; Horton *et al.* 2012; <http://bergelson.uchicago.edu/regmap-data>). The size of this local GWA mapping population has been demonstrated to be powerful enough to finely map (i) the flowering time candidate gene *FRIGIDA* (with the most associated SNPs located within *FRIGIDA*; Brachi *et al.* 2013), and (ii) the *RKSI* gene conferring quantitative resistance to the bacterial pathogen *Xanthomonas campestris* (with a unique association peak overlapping with *RKSI*; Huard-Chauveau *et al.* 2013).

We used four competitor species commonly associated with *A. thaliana* in natural plant communities in France (<http://junon.u-3mrs.fr/msc41www/PSHTM/PS2135.htm>) and detected in the TOU-A plant community (F. Roux, personal observation). These species are the meadow grass *Poa annua* (Poaceae) with a low spreading growth form, the haresfoot clover *Trifolium arvense* (Fabaceae) with an erect bearing, the chickweed *Stellaria media* (Caryophyllaceae) and the speedwell *Veronica arvensis* (Scrophulariaceae) both with a crawling growth form. Seeds for these four species have been ordered to the company Herbiseeds (<http://www.herbiseed.com/home.aspx>).

COMMON GARDEN EXPERIMENT

An experiment of 1,152 target plants was set up at the University of Lille 1 (North, France) in March 2011 using a split-plot design arranged as a randomized complete block design (RCBD) with six treatments nested within four blocks (Fig. S1). The six treatments correspond to (i) one control treatment without competition (treatment C), (ii) four interspecific competition treatments using the four species *P. annua*, *S. media*, *T. arvense* and *V. arvensis*; hereafter named treatments P, S, T and V, respectively, and (ii) one intraspecific competition treatment (treatment A). The latter treatment was included in the experiment to test whether the differences observed between the absence of competition and the treatments of interspecific competition were not solely due to the presence of a neighbor plant, but were rather dependent on the identity of the competitor species. With respect to the passive mode and short distance of seed dispersal in *A. thaliana* (Wender, Polisetty & Donohue., 2005; Weinig *et al.*, 2006), intra-genotypic competition was simulated for the intraspecific

competition treatment. Each 'block x treatment' combination was represented by 48 pots (9 cm x 9 cm x 9.5 cm, vol. ~480 cm³; TEKU MQC) filled with damp standard culture soil (Huminsubstrat N3, Neuhaus), each pot corresponding to one of the 48 TOU-A accessions.

The 3rd of March 2011 (day 0), a minimum of ten *A. thaliana* seeds were sown in the central position of each pot. Seeds were stratified four days at 4°C in a cold chamber to promote germination, and then placed in a frost-free greenhouse without additional light or heating. In order to have similar germination timing between *A. thaliana* and the four other competitor species, seeds from *P. annua*, *S. media* and *T. arvense* were sown the 7st of March 2011, while *V. arvensis* seeds were sown 3 weeks earlier (*i.e.* the 14st of February 2011). Seeds from the competitor species were sown on 22 cm x 17 cm x 5 cm trays filled with damp standard culture soil (Huminsubstrat N3, Neuhaus) and placed in the same frost-free greenhouse than *A. thaliana*. To reduce micro-environmental variation, pots and trays were rotated daily in the greenhouse.

On day 21, *A. thaliana* pots were thinned to five-six seedlings. On day 26, for the interspecific competition treatments, three competitor seedlings were transplanted from trays to each *A. thaliana* pot. The three competitor seedlings were evenly spaced, 3 cm away from the *A. thaliana* target plant. For the intraspecific competition treatment, the three competitor *A. thaliana* seedlings were transplanted from the central position of the *A. thaliana* pots. On day 33, central *A. thaliana* target seedlings were thinned to one per pot. The three competitor seedlings surrounding the central *A. thaliana* target seedling were also thinned to one per pot, by keeping competitor seedlings with a similar size among the pots in a given competition treatment.

To estimate the growth behavior of *P. annua*, *S. media*, *T. arvense* and *V. arvensis* in absence of *A. thaliana*, we additionally transplanted on day 26 three seedlings for each species from trays to the central position of 10 pots (9 cm x 9 cm x 9.5 cm, vol. ~480 cm³; TEKU MQC) filled with damp standard culture soil (Huminsubstrat N3, Neuhaus). Central competitor seedlings were thinned to one per pot on day 33.

On day 34, all pots were transported outside to a common garden located at the University of Lille 1 (Fig. S1). Soil had been tilled so that all pots were buried. Plants were protected from herbivory by vertebrates, slugs and the insect *Myzus persicae* as described in

Brachi *et al.* (2010). To avoid competition with weeds growing among pots, the common garden was regularly mechanically weeded during the course of the experiment.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION

A total of nine phenotypic traits related to phenology ($n = 3$), resource acquisition ($n = 1$), architecture and seed dispersion ($n = 3$), response strategy to competition ($n = 1$) and total seed production ($n = 1$) were scored on each *A. thaliana* target plant:

- As described in Brachi *et al.* (2012), bolting time (BT), flowering interval (INT) and the reproductive period (RP) were scored as the time interval between germination date and bolting date, between bolting date and flowering date and between flowering date and date of maturation of the last fruit, respectively. BT, INT and RP were scaled in photothermal units (PTU) using a phenological model integrating both photoperiod length and temperature as described in Brachi *et al.* (2010).
- At the start of flowering, the maximum diameter of the rosette measured at the nearest millimeter was used as a proxy for plant size (FT_diam; Weinig *et al.* 2006).
- After maturation of the last fruit, the above-ground portion was harvested and stored at room temperature until further phenotyping. Individuals were then phenotyped for the following architectural and seed-dispersal related traits: number of basal branches (RAMBB), number of primary branches with fruits on the main stem (RAMPB_S) and height from soil to the first fruit on the main stem (H1S).
- To quantify the strategy adopted by *A. thaliana* in response to competition, we calculated the ratio HD as $H1S/FT_diam$. High and low values of HD would correspond to an escape and aggressive strategy, respectively.
- Total seed production was approximated by total fruit length (FITTOT) as described in Roux, Gao & Bergelson (2010). FITTOT has been shown to be a good proxy of lifetime fitness for a selfing annual species like *A. thaliana* (Roux, Gasquez & Reboud 2004).

At the time when an *A. thaliana* target plant was harvested, the above-ground dry biomass of its corresponding competitor (COMP) was estimated by drying the aboveground

portion for two days at 60°C. A given COMP value was divided by the period (expressed in PTU) between the germination date and the date of maturation of the last fruit of the corresponding target plant. At the end of the experiment, we used the same protocol to estimate the above-ground dry biomass of plants of *P. annua*, *S. media*, *T. arvense* and *V. arvensis* grown in absence of *A. thaliana*.

DATA ANALYSIS

Natural variation and reaction norms

To explore the genetic variation of competitive response among the 48 TOU-A accessions, we used the following statistical model (PROC MIXED procedure, REML method, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$Y_{ijk} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i + \text{competition}_j + \text{block}_i \times \text{competition}_j + \text{accession}_k + \text{competition}_j \times \text{accession}_k + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

where ‘*Y*’ is one of the nine phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants, ‘ μ ’ is the overall phenotypic mean; ‘block’ accounts for differences in micro-environment among the four experimental blocks; ‘competition’ corresponds to effect of the six competition treatments (C, A, P, T, S and V); ‘accession’ measures the effect of 48 accessions; interaction term ‘competition x accession’ accounts for genetic variation in reaction norms across the six competition treatments; and ‘ ε ’ is the residual term. Model (1) was also run to explore the genetic variation of competitive effect of *A. thaliana* on competitor species, with ‘*Y*’ corresponding to the COMP trait and ‘competition’ that only considers the treatments A, P, S, T and V.

All factors were treated as fixed effects because levels of no factor were random samples from a population to which we intended to extrapolate. In particular, we considered the ‘accession’ factor as fixed for several reasons. First, the 48 accessions have been chosen to maximize the genetic diversity of the TOU-A population and are therefore not a random

sample of accessions. Second, considering the ‘accession’ factor as random would have led to the calculation of Best Linear Unbiased Predictors (BLUPs) to estimate genotypic values of the accessions. Because there are inherent problems of analyzing BLUPs for random effects (Hadfield *et al.* 2010), running GWA mapping based on BLUPs might have been misleading. Third, several experimental evidences suggest that it might be too risky to extrapolate genetic results from one population to other populations: (i) the genomic regions associated with phenotypic variation in *A. thaliana* can clearly differ between local populations separated by less than 150 kilometers (Brachi *et al.* 2013), and (ii) the level of genetic variation as well as the coefficients of correlations among traits can differ among natural plant populations (Franks & Weis 2008).

Given the split-plot design used in this study, terms were tested over their appropriate denominators for calculating *F*-values. In particular, *F*-values for the terms ‘block_{*i*}’ and ‘competition_{*j*}’ were calculated using the mean-squares of the term ‘block_{*i*} x competition_{*j*}’ as denominator. Two phenotypic traits HD and COMP were log transformed to satisfy the normality and equal variance assumptions of linear regression.

For each treatment, least-square means (LSmeans) for each phenotypic trait were obtained for each accession using the following model in the *R* environment (R Development Core Team 2014).

$$Y_{ik} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i + \text{accession}_k + \varepsilon_{ik} \quad (2)$$

Because *A. thaliana* is a highly selfing species, LSmeans correspond to genotypic values of accessions. For the competition treatments A, P, S, T and V, the relationship between competitive response and competitive effect was tested by estimating a non-parametric Spearman coefficient of correlation between FITTOT and COMP.

To quantify phenotypic plasticity of the 48 accessions across the six treatments, a coefficient of variation $CV_{\delta_{\text{treatments}}}$ was calculated for each ‘accession x phenotypic trait’ combination based on genotypic values (Valladares, Sanchez-Gomez & Zavalo, 2006).

Genotypic gradients of selection in A. thaliana

To identify the traits under linear and non-linear selection in each of the six treatments, we run genotypic selection analyses (Rausher 1992) based on genotypic values with the following polynomial regression (PROC GLM procedure, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\text{Relative fitness}_i = \mu_{\text{relative fitness}} + \text{trait1}_i + \text{trait1}_i^2 + \dots + \text{trait8}_i + \text{trait8}_i^2 + \varepsilon_i \quad (3)$$

where ‘Relative fitness’ is the relative fitness within each treatment computed as the fitness estimate divided by the mean fitness estimate within that treatment, ‘ μ ’ is the constant, ‘trait1’ to ‘trait8’ correspond to the eight phenotypic traits (BT, INT, RP, FT_diam, H1S, HD, RAMPB_S and RAMBB) standardized within each treatment, and ε is the residual term. Linear selection gradients were estimated by linear partial regression coefficients, whereas quadratic regression coefficients were doubled to correctly estimate non-linear selection gradients (Stinchcombe *et al.* 2008).

For each treatment, in order to discriminate between different types of non-linear selection (*i.e.* curvilinear and stabilizing/disruptive selection), the point of inflection was calculated for each trait with a significant quadratic regression coefficient:

$$\text{Point of inflection} = \frac{-a}{2b} \quad (4)$$

where ‘a’ and ‘b’ correspond to the linear and quadratic regression coefficients of the trait in equation (3), respectively. If the point of inflection was contained within the 95% interval genotypic distribution of the trait of interest, selection acting on a trait was considered disruptive and stabilizing for a significant positive and negative ‘b’ value, respectively. Otherwise, selection was considered curvilinear.

Differences in linear and non-linear selection gradients between the six treatments were tested using the following model (PROC GLM procedure; SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\text{Relative fitness}_i = \mu_{\text{relative fitness}} + \text{treatment} + \text{trait1}_i + \text{trait1}_i^2 + \dots + \text{trait8}_i + \text{trait8}_i^2 + \text{trait1}_i \times \text{treatment} + \text{trait1}_i^2 \times \text{treatment} + \dots + \text{trait8}_i \times \text{treatment} + \text{trait8}_i^2 \times \text{treatment} + \varepsilon_i \quad (5)$$

To test whether the intensity and/or the sign of selection differs (i) between each competition treatment and the control treatment and (ii) between each interspecific competition treatment and the intraspecific competition treatment, we conducted several pairwise comparisons within this regression model after adjusting for other factors in the model ('Contrast' statement in PROC GLM in SAS 9.3). Significant 'trait x treatment' and 'trait² x treatment' interactions indicate varying linear and non-linear selection between treatments, respectively.

Genome-wide association mapping

Phenotype-genotype associations were tested at each SNP by linear regression based on LSmeans. Given the number of accessions (n = 48), linear regression was run at each SNP with a minor allele relative frequency (MARF) > 0.2 (n = 87 160). Because no excess of low *P*-values due to confounding by population structure was detected in the TOU-A population for twelve phenotypic traits scored in greenhouse conditions (Brachi *et al.* 2013), as well as for the phenotypic traits scored in this study (data not shown), no genetic kinship matrix accounting for genome-wide patterns of relatedness among the accessions was added in the linear regression. To determine whether the excess of low *P*-values obtained for a given trait was significant, we followed the protocol described in Alkorta-Aranburu *et al.* (2012), by comparing the distribution of observed *P*-values from the linear regression tests to a null distribution obtained by permuting 100 times phenotypes across the 48 accessions and running the same linear model. Quantile-Quantile (QQ) plots were used to visualize whether an excess of strong associations with a phenotype was observed relative to the 95% confidence intervals (CI) obtained by permutations.

In the vicinity of the most associated significant SNPS (*i.e.* within 20kb; Brachi *et al.* 2010), we searched for candidate genes belonging to one of the four following biological processes: light-quality signals, nutrient levels, soluble root exudates and volatile organic compounds (Pierik *et al.* 2013).

Results

NATURAL GENETIC VARIATION WITHIN THE TOU-A POPULATION

Competitive response

A significant ‘competition treatment’ effect was detected for four phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants, including total seed production (Table 1, Fig. 1). TOU-A accessions produced on average less seeds in presence than in absence of competition (except in presence of *T. arvense*; Fig. 1). Based on total seed production, the competitive hierarchy was: *S. media* > *A. thaliana* > *V. arvensis* > *P. annua* > *T. arvense* (Fig. 1).

Highly significant genetic variation was found for the nine traits scored on *A. thaliana* target plants (Table 1). More importantly, as evidenced by highly significant ‘Competition x Accession’ interactions, strong genetic variation of reaction norms was found for most traits (Table 1), like bolting time and total seed production (Fig. 2a and 2b). Interestingly, for each trait, we identified both genotypes with high phenotypic plasticity across the six competition treatments and genotypes with a nearly flat reaction norm for response to competition (Fig. 2a and 2b). In addition, the ranking of accessions for total seed production differed with competition treatment (Fig. 2b and 2c), with some accessions producing more seeds in competition with either *P. annua*, *T. arvense* or *V. arvensis* than in absence of competition (Fig. 2b). Based on genotypic values, the cross-environment Pearson coefficient of genetic correlation for total seed production ranged from 0.04 (CI: -0.26, 0.33) for the ‘Control – *P. annua*’ environments to 0.41 (CI: 0.13,0.63) for the ‘*A.thaliana* – *S. media*’ environments.

Competitive effect

For each interspecific competitor species, above-ground dry biomass was on average reduced by the presence of *A. thaliana*, suggesting a potentially strong competitive effect of the target plants on neighbor plants (Fig. 2d). In addition, a significant "Competition x Accession" interaction effect was detected for the effect of *A. thaliana* target plants on neighbor competitors (Table 1), with the ranking of accessions for their effect on above-ground dry biomass that largely differed with competitor species (Fig. 2d). Similarly to competitive response, we identified accessions with a high phenotypic plasticity for competitive effect. In this case, some accessions with almost no competitive effect on *S. media* were among the accessions with the strongest competitive effect on both *T. arvense* and *V. arvensis* (Fig. 2d).

Relationships between competitive response and competitive effect

While a slightly positive relationship between competitive response and competitive effect was found for the intraspecific competition treatment (Spearman $\rho = 0.33$, $P = 0.023$), no significant relationship between competitive response and competitive effect was found in the four interspecific competition treatments (*P. annua*: Spearman $\rho = 0.11$, $P = 0.443$; *S. media*: Spearman $\rho = 0.13$, $P = 0.399$; *T. arvense*: Spearman $\rho = -0.02$, $P = 0.882$; *V. arvensis*: Spearman $\rho = -0.01$, $P = 0.929$).

GENOTYPIC GRADIENTS OF SELECTION

The identity of the traits under selection as well as the strength and nature of selection acting on them largely differed between the six competition treatments (Table 2). First, different optimal phenotypic strategies were identified between absence and presence of competition. For instance, while a longer reproductive period is favored in absence of competition, no significant relationship between the length of the reproductive period and relative fitness was detected in the intraspecific, *P. annua* and *T. arvense* competition treatments. In contrast, while a significant stabilizing selection was observed for the interval between bolting and flowering in the *P. annua* competition treatment, no significant

relationship between the interval between bolting and flowering and relative fitness was detected in absence of competition.

Second, we identified different optimal phenotypic strategies between intraspecific and interspecific competition treatments (Table 2). While early-flowering was favored in the intraspecific competition treatment, a higher number of basal branches and a smaller height from soil to the first fruit on the main stem were favored in the *P. annua* and *S. media* competition treatments, respectively.

Finally, the optimal strategy of *A. thaliana* was also found to depend on the identity of the competitor in a heterospecific context (Table 2). For instance, opposite response strategies were favored between the *P. annua* and *S. media* competition treatments. While an escape strategy (high HD value) was favored in presence of *S. media*, accessions with an aggressive strategy (low HD value) were favored in presence of *P. annua* (contrast test; $F = 10.56$, $P = 0.001$).

IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH NATURAL VARIATION OF COMPETITIVE RESPONSE AND EFFECT

From the permuting scheme adopted in this study, we identified five genomic regions significantly associated with competitive response, that is, DGEs (Fig. S2). The first association peak located at the bottom of chromosome IV was shared across the six competition treatments and was associated with bolting time variation, with the most significant SNPs located in the vicinity of the candidate gene *FRIGIDA* (Fig. S3a). In contrast, the second and third association peaks were specific to one specific ‘trait x competition treatment’ combination; that is, SNP 1_14164428 on chromosome I for the height from soil to the first fruit on the main stem scored in absence of competition and SNP 5_3021231 on chromosome V for the number of basal branches scored in competition with *P. annua* (Fig. S3b and S3c). While no obvious candidate gene was identified in the vicinity of SNP 1_14164428, the closest candidate gene to SNP 5_3021231 (*i.e.* 751 bp apart) encodes the histone acetyltransferase *HAM2* (*AT5G09740*). Interestingly, the fourth and fifth association peaks were both identified for the length of reproductive period, but were located in two separate genomic regions on chromosome V and were specific to an interspecific competition treatment (Fig. 3a). SNP 5_9317055 explains 39.2% of natural variation of the

reproductive period length in presence of *S. media* but has no detectable effect in the other competition treatments (Fig. 4a). SNP 5_26491091 explains 43.4% of natural variation of the reproductive period length in presence of *V. arvensis* but has almost no detectable effect in the other competition treatments (Fig. 4b). The closest candidate gene to SNP 5_9317055 (*i.e.* 1.2 kb apart) encodes a pectinacetyltransferase (*AT5G26670*), while the closest candidate gene to SNP 5_26491091 (*i.e.* 13.3 kb apart) encodes a SHI (for Short Internodes) protein (*AT5G66350*).

We identified a single significant association peak located on chromosome II that was associated with competitive effect of *A. thaliana* on above-ground dry biomass of neighbor competitors; that is, IIGEs (Fig. 3b). SNP 2_4537845 in *A. thaliana* explains 45.5% of above-ground dry biomass of *T. arvense* but has no detectable indirect effect on the other competitor species (Fig. 4c). No obvious candidate gene was identified in the vicinity of SNP 2_4537845.

Discussion

CROSSING REACTION NORMS OF COMPETITIVE RESPONSE AND EFFECT MIGHT PROMOTE MAINTENANCE OF GENETIC VARIATION IN *A. THALIANA* AND SPECIES CO-EXISTENCE

Competition is known to promote the maintenance of genetic diversity in local plant populations (Fridley *et al.* 2007; Matesanz *et al.* 2011) through biotic specialization and ultimately co-evolution in a restricted neighborhood (Turkington 1989; Vellend 2006). Because (i) habitat preferences related to competition are clearly different among the 48 accessions used in this study, with no accession that is maximally fit across the five competitor species, and (ii) *A. thaliana* shows a weak dispersion distance (Wender *et al.* 2005) that may prevent maladaptive gene dispersion, micro-geographic adaptation to competition may be suggested in the local TOU-A population.

In agreement with Cahill *et al.* (2005), we found that competitive response may evolve independently from competitive effect in *A. thaliana*, especially in a heterospecific neighborhood. In addition, while *A. thaliana* is considered as a ruderal species, we found crossing reaction norms for competitive effect which might (i) promote coexistence among species by the use of different resources (Urban 2006; Lankau & Strauss 2007; Johnson *et al.*

2008; Fridley *et al.* 2007; Matesanz *et al.* 2011) and (ii) facilitate phenotypic evolution in response to selection by different competitors (Vellend 2006; Johnson *et al.* 2008) in the local TOU-A plant community.

OPTIMAL PHENOTYPIC STRATEGY DEPENDS ON THE IDENTITY OF THE COMPETITOR SPECIES

The difference between the six competition environments in the identity of the traits under selection as well as the strength and nature of selection acting on them may result from the different growth forms of the competitor species. We observed an escape strategy in response to *S. media* with a crawling growth form and an aggressive response strategy to *P. annua* with a low spreading growth form. While a crawling growth form may have led to an increased competition for light in *A. thaliana*, we cannot rule out that optimal phenotypic strategies estimated on above-ground traits did not result from below-ground plant – plant interactions (Bossdorf *et al.* 2009). The presence of different optimal phenotypic strategies between the six competition environments suggests that competition can maintain functional diversity in *A. thaliana* at a small spatial scale and consequently, increase the phenotypic space associated with a niche expansion of the local population studied here (Agashe & Bolnick 2010). Numerous studies already demonstrated that both intraspecific and interspecific competitions allow niche expansion of a local population, by favoring the use of novel resources (Bolnick *et al.* 2010), and by facilitating genetic variation within the population (Agashe & Bolnick 2010). As a positive feedback, intra-population genetic variation of response to different competitors may reduce intraspecific competition, which will in turn increase biotic specialization at a micro-spatial scale (Johnson *et al.* 2008; Whitlock *et al.* 2011). Because plants are often surrounded by multiple species, it remains to test in the local TOU-A population whether optimal strategies in a multispecific context may be predicted by the additivity of optimal strategies observed in a monospecific context, and thereby whether a generalist or specialist strategy will be favored.

DIFFERENT GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH COMPETITIVE ABILITY IN *A. THALIANA*

To our knowledge, this study is the first report of QTLs associated with either DGE or IGE in an interspecific neighborhood in a wild plant species. The dependence on the competitor species identity of the genomic regions associated with competitive ability is in line with the maintenance of genetic variation in *A. thaliana* due to biotic specialization in the context of plant – plant interactions.

In a mapping population of 411 RILs of *A. thaliana*, Mutic *et al.* (2007) detected many small QTLs associated with competitive response to intraspecific competition and suggested a pleiotropic relationship between DGE and IGE loci. In contrast, in our study, we identified one major association peak for either competitive response or competitive effect, and no pleiotropic relationship between DGE and IGE loci. This discrepancy between the two studies may originate from the type of mapping population (RIL family *vs.* natural accessions), the nature of competition (conspecific *vs.* mainly heterospecific) and, more likely, the number of genetic lines in the mapping population (411 RILs *vs.* 48 local accessions). For the latter point, although the size of the TOU-A population may have impeded the discovery of small QTLs in this study, the number of QTLs was found similar between a set of ~200 worldwide accessions and two local GWA mapping populations (including the TOU population) for either phenological variation (Brachi *et al.* 2013) or quantitative resistance to the bacterial species *X. campestris* (Huard-Chauveau *et al.* 2013). We should also note that the number of QTLs can dramatically change from one RIL family to another RIL family. For instance, the number of QTLs for flowering time ranged from 2 to 8 across 13 *A. thaliana* RIL families (mean size per family ~ 336 RILs) phenotyped in the same common garden (Brachi *et al.* 2010). Other QTL mapping studies are clearly required to fully describe the genetic architecture of competitive ability as well as the relationship between DGE and IGE loci in *A. thaliana*.

Several candidate genes overlapped by significant association peaks have been detected in this study. For the number of basal branches in presence of *P. annua*, the histone acetyltransferase HAM2 (*AT5G09740*) is known to regulate the expression of *FLOWERING LOCUS C* (Xiao *et al.* 2013), a flowering time repressor gene which also regulates branching patterns in *A. thaliana* (Huang *et al.* 2013). For the length of reproductive period, we identified two candidate genes with different molecular mechanisms. The pectinacetyltransferase

gene *AT5G26670* detected in presence of *S. media* is a cell wall modification gene regulated by volatile organic compounds (VOC) emitted by the rhizobacteria *Bacillus subtilis* (Zhang *et al.* 2007). VOCs are now well-established as reliable signals for neighbor detection (Pierik *et al.* 2013). The SHI (for Short Internodes) protein (*AT5G66350*) detected in presence of *V. arvensis* is involved in the perception of or in the response to gibberellin (Fridborg *et al.* 1999), a growth-promoting hormone typically enhanced in shade conditions. While informative, these candidate genes remain speculative until functional validations based on mutant and transgenic approaches are performed to identify true ‘genetic variant – phenotypic variation’ associations.

Because plants interact with neighbor over short distances, we focused on a local GWA mapping population of *A. thaliana*. Whether the genetics of competitive ability (*i.e.* level of intra-population genetic variation, identity of phenotypic traits under selection and genetic bases) is similar in other natural populations of *A. thaliana* remains an open question. Because plant communities largely differ among natural populations of *A. thaliana* (Brachi *et al.* 2013), we hypothesize that the genetics of competitive ability should be different in other local populations. In any case, the cloning of a gene associated with competitive ability in a local plant community represents the next step (i) to better disentangle the molecular mechanisms of plant competition and (ii) to provide information for understanding and predicting evolutionary trajectories of plant communities.

Acknowledgments

Special thanks are given to Cédric Glorieux, Nathalie Faure and Angélique Bourceaux for their assistance during the common garden experiment. This work was funded by a PhD fellowship from the University of Lille 1 – Région Nord-Pas-de-Calais to EB, PhD fellowship from the University of Lille 1 to RV and a Région Nord-Pas-de-Calais grant (project Bio-impact : Impacts des changements globaux sur la distribution de la Biodiversité en Région Nord-Pas-de-Calais). This study was also supported by the LABEX TULIP (ANR-10-LABX-41; ANR-11-IDEX-0002-02).

Data accessibility

Phenotypic data will be available in the Dryad database: doi:10.5061/dryad.XXX.

References

- Aarssen, L.W. & Turkington, R. (1985) Biotic specialization between neighboring genotypes in *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a permanent pasture. *Journal of Ecology*, **73**, 605–614.
- Aarssen, L.W. (1989) Competitive ability and species coexistence: a ‘plant’s-eye’ view. *Oikos*, **56**, 386-401.
- Agashe, D. & Bolnick, D.I. (2010) Intraspecific genetic variation and competition interact to influence niche expansion. *Proceedings of the Royal Society B*, **277**: 2915-2924.
- Alkorta-Aranburu, G., Beall, C.M., Witosky, D.B., Gebremedhin, A., Pritchard, J.K. & Di Rienzo, A. (2012) The genetic architecture of adaptations to high altitude in Ethiopia. *PLoS Genetics*, **8**, e1003110.
- Atwell, S., Huang, Y.S., Vilhjalmsón, B.J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A.M., Hu, T.T., Jiang, R., Mulyati, N.W., Zhang, X., Amer, M.A., Baxter, I., Brachi, B., Chory, J., Dean, C., Debieu, M., de Meaux, J., Ecker, J.R., Faure, N., Kniskern, J.M., Jones, J.D.G., Michael, T., Nemri, A., Roux, F., Salt, D.E., Tang, C., Todesco, M., Traw, M.B., Weigel, D., Marjoram, P., Borevitz, J.O., Bergelson, J. & Nordborg, M. (2010) Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, **465**, 627-631.
- Bergelson, J., Roux, F. (2010) Towards identifying genes underlying ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Review Genetics*, **11**, 867-879.
- Bolnick, D.I., Ingram, T., Stutz, W.E., Snowberg, L.K., Lau, O.L. & Paul, J.S. (2010) Ecological release from interspecific competition leads to decoupled changes in population and individual niche width. *Proceedings of the Royal Society B*, **277**, 1789-1797.

- Bossdorf, O., Shuja, Z. & Banta, A. (2009) Genotype and maternal environment affect belowground interactions between *Arabidopsis thaliana* and its competitors. *Oikos*, **118**, 1541-1551.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Nautekète, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. & Roux, F. (2013) In vestigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4223-4240.
- Brachi, B., Aimé, C., Glorieux, C., Cuguen, J. & Roux, F. (2012) Adaptive value of phenological traits in stressful environments: predictions based on seed production and laboratory natural selection. *PLoS One*, **7**, e32069.
- Brachi, B., Faure, N., Horton, M., Flahauw, E., Vazquez, A., Nordborg, M., Bergelson, J., Cuguen, J. & Roux F. (2010) Linkage and association mapping of *Arabidopsis thaliana* flowering time in nature. *PLoS Genetics*, **6**, e1000940.
- Cahill, J.F., Kembel, S.W. & Gustafson, D.J. (2005) Differential genetic influences on competitive effect and response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology*, **93**, 958-967
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annuals Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **31**, 343-66.
- Dorn, L.A., Hammond Pyle, E. & Schmitt J. (2000) Plasticity to light cues and resources in *Arabidopsis thaliana*: testing for adaptative value and cost. *Evolution*, **54**, 1982-1994.
- Ehlers, B.K. & Thompson, J. (2004) Do co-occurring plant species adapt to one another? The response of *Bromus erectus* to the presence of different *Thymus vulgaris* chemotypes. *Oecologia* **141**, 511-518.
- Franks, S.J. & Weis, A.E. 2008. A change in climate causes rapid evolution of multiple life-history traits and their interactions in an annual plant. *Journal of Evolutionary Biology*, **21**, 1321-1334.
- Fridborg, I., Kuusk, T., Moritz, T. & Sundberg, E. (1999) The *Arabidopsis* dwarf *shi* exhibits reduced gibberelin responses conferred by overexpression of a new putative zinc finger protein. *The Plant Cell*, **11**, 1019-1031.

- Fridley, J.D., Grime, J.P. & Bilton, M. (2007) Genetic identity of interspecific neighbours mediates plant responses to competition and environmental variation in a species-rich grassland. *Journal of Ecology*, **95**, 908-915.
- Golberg, D.E. & Barton, A.M. (1992) Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities : a review of field experiments with plants. *American Naturalist*, **139**, 771-801.
- Gustafson, D.J., Gibson, D.J. & Nickrent, D.L. (2004) Competitive relationships of *Andropogon gerardii* Big Bluestem from remnant and restored native populations and select cultivated varieties. *Functional Ecology*, **18**, 451-457.
- Hadfield, J.D., Wilson, A.J., Garant, D., Sheldon, B.C. & Kruuk, L.E.B. (2010) The misuse of BLUP in ecology and evolution. *American Naturalist*, **175**, 116-125.
- Horton, M.W, Hancock, A.M., Huang, Y.S., Toomajian, C., Atwell, S., Auton, A., Mulyati, N.W., Platt, A., Sperone, F.G., Vilhjalmsson, B.J., Nordborg, M., Borevitz, J.O. & Bergelson, J. (2012) Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel. *Nature Genetics*, **44**, 212-216.
- Huang, X., Ding, J., Effgen, S., Turck, F. & Koornneef, M. (2013) Multiple loci and genetic interactions involving flowering time genes regulate stem branching among natural variants of *Arabidopsis*. *New Phytologist*, **199**, 843-857.
- Huard-Chauveau C., Percepied L., Debieu M., Rivas S., Kroj T., Kars I., Bergelson J., Roux F. & Roby D. (2013) An atypical kinase under balancing selection confers broad-spectrum disease resistance in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, **9**, e1003766.
- Johansson, J. (2008) Evolutionary responses to environmental changes: how does competition affect adaptation. *Evolution*, **62**, 421-435.
- Johnson, M.T.J., Dinnage, R., Zhou, A.Y. & Hunter, M.D. (2008) Environmental variation has stronger effects than plant genotype on competition among plant species. *Journal of Ecology*, **96**, 947-955.
- Kelley, S.E. & Clay, K. (1987) Interspecific competitive interactions and the maintenance of genotypic variation within two perennial grasses. *Evolution*, **41**, 92-10.

- Lankau, R.A. & Strauss, S.Y. (2007) Mutual feedbacks maintain both genetic and species diversity in a plant community. *Science*, **317**, 1561-1563.
- Lau, J.A., Shaw, R.G., Reich, P.B. & Tiffin, P. (2014) Indirect effects drive evolutionary responses to global change. *New Phytologist*, **201**, 335-343.
- Lüscher, A., Connolly, J. & Jacquard, P. (1992) Neighbor specificity between *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a natural pasture. *Oecologia*, **91**, 404-409.
- Martorell, C. & Freckleton, R.P. (2014) Testing the roles of competition, facilitation and stochasticity on community structure in a species-rich assemblage. *Journal of Ecology*, **102**, 74–85.
- Matesanz, S., Gimeno, T.E., de la Cruz, M., Escudero, A. & Valladares, F. (2011) Competition may explain the fine-scale spatial patterns and genetic structure of two co-occurring plant congeners. *Journal of Ecology*, **99**, 838–848.
- Mutic, J.J. & Wolf, J.B. (2007) Indirect genetic effects from ecological interactions in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **16**, 2371-2381.
- Nemri, A., Atwell, S., Tarone, A., Huang, Y., Zhao, K., Studholme, D., Nordborg & M., Jones, J. (2010) Genome-wide survey of *Arabidopsis* natural variation in downy mildew resistance using combined association and linkage mapping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 10302-10307.
- Pagny, G., Paulstephenraj, P.S., Poque, S., Sicard, O., Cosson, P., Eyquard, J.P., Caballero, M., Chague, A., Gourdon, G., Negrel, L., Candresse, T., Mariette, S. & Decroocq, V. (2012) Family-based linkage and association mapping reveals novel genes affecting Plum pox virus infection in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, **196**, 873-886.
- Pierik, R., Mommer, L. & Voesenek, L.A.C.J. (2013) Molecular mechanisms of plant competition neighbour detection and response strategies. *Functional Ecology*, **27**, 841-853.
- Platt, A., Horton, M., Huang, Y.S., Li, Y., Anastasio, A.E., Mulyati, N.W., Ågren, J., Bossdorf, O., Byers, D., Donohue, K., Dunning, M., Holub, E. B., Hudson, A., Le Corre, V., Loudet, O., Roux, F., Warthmann, N., Weigel, D., Rivero, L., Scholl, R., Nordborg,

- M., Bergelson, J. & Borevitz, J., O. (2010) The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **6**, e1000843.
- Post, D.M. & Palkovacs, E.P. (2009) Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.
- Purves, D.W. & Law, R. (2002) Fine-scale spatial structure in a grassland community: quantifying the plant's-eye view. *Journal of Ecology*, **90**, 121-129.
- Rausher, M.D. 1992. The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, **46**, 616-626.
- Roux, F., Gao, L. & Bergelson, J. (2010) Impact of initial pathogen density on resistance and tolerance in a polymorphic disease resistance gene system in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, **185**, 283-291.
- Roux, F., Gasquez, J. & Reboud, X. (2004) The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics*, **166**, 449-460.
- Stinchcombe, J.R., Agrawal, A.F., Holenlohe, P.A., Arnold, S.J. & Blows, M.W. (2008) Estimating-nonlinear-selection gradients using quadratic regression coefficients double or nothing ? *Evolution*, **62**, 2435-2440.
- Taylor, D.R. & Aarssen L.W., (1990) Complex competitive relationships among genotypes of three perennial grasses: Implications for species coexistence. *American Naturalist*, **136**, 305-327.
- Tilman, D. (1985) The resource ratio hypothesis of succession. *American Naturalist*, **125**, 827-852.
- Turkington, R. & Harper, J.L. (1979) The Growth, Distribution and Neighbour Relationships of *Trifolium repens* in a Permanent Pasture: IV. Fine-scale biotic differentiation. *Journal of Ecology*, **67**, 245-254.
- Turkington, R. (1989) The growth, distribution and neighbor relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture. V. The Coevolution of Competitors. *Journal of Ecology*, **77**, 717-733.

- Urban, M.C. (2006) Maladaptation and Mass Effects in a Metacommunity : Consequences for Species Coexistence. *American Naturalist*, **168**, 28–40.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M.A. (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, **94**, 1103–1116.
- Vavrek, M.C. (1998) Within-population genetic diversity of *Taraxacum officinale* Asteraceae : differential genotype response and effect on interspecific competition. *American Journal of Botany*, **85**, 947-954.
- Vellend, M. (2006) The consequences of genetic diversity in competitive communities. *Ecology*, **87**, 304–311.
- Weinig, C., Johnston, J., German, Z.M. & Demink, L.M. (2006) Local and global costs of adaptive plasticity to density in *Arabidopsis thaliana*. *American Naturalist*, **167**: 826-836.
- Wender, N.J., Polisetty, C.R. & Donohue, K. (2005) Density dependent processes influencing the evolutionary dynamics of dispersal: a functional analysis of seed dispersal in *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany*, **92**, 960–971.
- Whitlock, R.A.J., Bilton, M., Grime, J.P. & Burke, T. (2011) Fine-scale community and genetic structure are tightly linked in species-rich grasslands. *Proceedings of the Royal Society B*, **366**, 1346-1357.
- Willis, C.G., Brock, M.T. & Weinig, C. (2010) Genetic variation in tolerance of competition and neighbour suppression in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.
- Xiao, J., Zhang, H., Xing., L., Xu, S., Liu, H., Chong, K. & Xu., Y. (2012) Requirement of histone acetyltransferase HAM1 and HAM2 for epigenetic modification of FLC in regulating flowering in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology*, **170**, 444-453.
- Zhang, H., Mi-Seong, K., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y, Grimson, M., Farag, M. A., Ryu, C. M., Allen, R., Melo, I. S. & Paré, P. W. (2007) Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta*. **226**, 839-851.

Supporting information

Figure S1 Experimental split-plot design arranged as a randomized complete block design (RCBD) with six treatments nested within four blocks. For each ‘block x treatment’ combination, the 48 pots were arranged according to a grid of 3 lines and 16 columns, with a distance of 30 cm between two successive pots. The distance between two successive treatments within a block was 40 cm while the distance between two successive blocks was 80 cm. In each plot with competition, pots were placed in such a way that the competitor plant was on the South side of the *A. thaliana* target plant. For the competitor seedlings growing alone in a pot, the 10 pots for each species were split into two blocks located in the same common garden and then randomized within each block.

Figure S2 Quantile-Quantile plots of p -values (negative logarithm) representing the excess of strong associations for (a) and (b) the length of reproductive period (RP, treatments S and V), (c) the above-ground dry biomass of competitors (COMP, treatment T), (d) the number of basal branches (RAMBB, treatment P), (e) the height from soil to the first fruit on the main stem (HIS, treatment C) and (f) – (k) bolting time (BT, treatment C, A, P, S, T and V) in the TOU-A population. Solid black line: expected, dashed black line: observed, solid grey lines: 95% confidence intervals (see methods).

Figure S3 Genomic regions associated with phenotypic variation in each of the six competition treatments (C, A, P, S, T and V). (a) Bolting time (BT). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The brown dot indicates the region of the most associated SNPs with BT natural variation in the competition treatments Control, intraspecific, *S. media*, *T. arvense*, and *V. arvensis* (SNP_4_286905, SNP_4_287481, SNP_4_288749, SNP_4_300821) and the pink dot indicates the region of the most associated SNPs with BT natural variation in the *P. annua* competition treatment (SNP_4_246531, SNP_4_256073, SNP_4_269188). Right panel: Zoom on the most associated SNP with BT natural variation (plotting window 0.35Mb). The red line indicates the genomic position of the *FRIGIDA* flowering-time gene. The brown-red gradient dots indicate the most associated SNP with BT natural variation in the competition treatments Control, intraspecific, *S. media*, *T. arvense*, and *V. arvensis* (SNP_4_286905, SNP_4_287481, SNP_4_288749, SNP_4_300821) and the purple-pink gradient dots indicate the most associated SNP with BT natural variation in the *P. annua* competition treatment (SNP_4_246531, SNP_4_256073, SNP_4_269188). (b) Height from soil to the first fruit on

the main stem (H1S). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The red dot indicates the most associated SNP with H1S natural variation when *A. thaliana* accessions were grown in absence of competition (SNP_1_4164428). Right panel: Zoom on the most associated SNP with H1S natural variation in each treatment (plotting window 0.3Mb). (c) Number of basal branches (RAMBB). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The red dot indicates the most associated SNP with RAMBB natural variation in the *P. annua* competition treatment (SNP_5_3021231). Right panel: Zoom on the most associated SNP with RAMBB natural variation in each treatment (plotting window 0.24Mb).

Figure legends

Figure 1 Violin plots (*i.e.* box-and-whisker plot overlaid with a kernel density plot) of genetic natural variation across the six competition treatments (C, A, P, S, T and V) for total seed production (FITTOT), maximum rosette diameter at flowering (FT_diam), the ratio ‘height from soil to the first fruit on the main stem / maximum rosette diameter at flowering’ (HD) and the number of basal branches (RAMBB). For each trait, different letters indicate different groups after pairwise comparisons using a *P*-value threshold of 0.01.

Figure 2 Natural genetic variation of reactions norms of the 48 TOU-A accessions. (a) Bolting time (BT). (b) Total seed production (FITTOT). (c) Heatmap of total seed production of each accession according to the six competition treatments (package gplot R). Each line corresponds to one of the 48 accessions. For each accession, the six competition treatments (C, A, P, S, T and V) were ranked according to FITTOT, with the light red and light green squares indicating the treatments with the lowest and the highest seed production, respectively. (d) Above-ground dry biomass of competitors (COMP). For each trait (BT, FITTOT and COMP), the five accessions with the highest phenotypic plasticity across the competition treatments and the five accessions with the lowest phenotypic plasticity across the competition treatments are represented by blue and red reaction norms, respectively. In panel ‘d’, crosses indicate the mean above-ground dry biomass of competitors grown in absence of *A. thaliana*.

Figure 3 Genomic regions associated with phenotypic variation in each of the six competition treatments (C, A, P, S, T and V). (a) Length of reproductive period (RP). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). Red and green dots indicate the most associated SNPs with RP natural variation when *A. thaliana* accessions were grown in presence of *S. media* (SNP_5_9317055) and *V. arvensis* (SNP_5_26491091), respectively. Mid-panel: Zoom on the most associated SNP with RP natural variation in the *S. media* treatment (plotting window 200kb). Right panel: Zoom on the most associated SNP with RP natural variation in the *V. arvensis* treatment (plotting window 1Mb). (b) Above-ground dry biomass of competitor (COMP). Left panel: Manhattan plot of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The blue dot indicates the most associated SNP with above-ground dry biomass of *T. arvense* in response to 48 *A. thaliana* accessions (SNP_2_4537845). Right panel: Zoom on the most associated SNP with

above-ground dry biomass of *T. arvense* in response to 48 *A. thaliana* accessions (plotting window 100kb).

Figure 4 Box-plots illustrating for each competition treatment the effects of three top SNPs individually identified in a specific competition treatment. (a) SNP_5_9317055 (polymorphism A/G). Effects of the most associated SNP with natural variation of the length of reproductive period when *A. thaliana* accessions were grown in presence of *S. media*. (b) SNP_5_26491091 (polymorphism A/G). Effect of the most associated SNP with natural variation of the length of reproductive period when *A. thaliana* accessions were grown in presence of *V. arvensis*. (c) SNP_2_4537845 (polymorphism C/G). Effect of the most associated SNP with above-ground dry biomass of *T. arvense* in response to 48 *A. thaliana* accessions. ns : non-significant, * : $P < 0.05$, *** : $P < 0.001$.

Table 1 Natural variation of nine phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants and one trait scored on competitors.

Model terms	<i>A. thaliana</i> target plants																		Competitors	
	FITTOT		BT		INT		RP		FT_diam		H1S		HD		RAMBB		RAMPB_S		COMP	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Bloc	9.43	<0.001	0.80	0.514	6.76	0.004	1.99	0.158	14.24	<0.001	14.19	<0.001	11.08	0.004	7.56	0.002	0.29	0.829	6.47	0.007
Competition	12.12	<0.001	0.88	0.519	0.66	0.658	0.93	0.490	4.29	0.013	0.61	0.691	4.95	0.006	23.58	<0.001	0.66	0.656	162.24	<0.001
Accession	3.47	<0.001	64.14	<0.001	5.45	<0.001	2.80	<0.001	32.51	<0.001	8.62	<0.001	10.60	<0.001	11.6	<0.001	7.55	<0.001	1.42	0.040
Competition x Accession	1.35	0.004	1.39	<0.001	1.24	0.021	1.08	0.236	1.46	<0.001	1.32	0.006	1.30	0.008	1.48	<0.001	1.36	0.003	1.32	0.008

FITTOT: total seed production, BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: reproductive period, FT_diam: maximum rosette diameter at flowering, H1S: height from soil to the first fruit on the main stem, HD: ratio H1S/FT_diam, RAMBB: number of basal branches, RAMP_BS, number of primary branches with fruits on the main stem, COMP: above-ground dry biomass of competitor.

Table 2 Genotypic selection analysis with linear (β) and non-linear (γ) selection gradients for eight phenotypic traits in each competition treatment.

Traits		Competition treatments											
		C		A		P		S		T		V	
		E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P
Linear selection gradients (β)	BT	-0.40	*	-0.23	*	-0.07	ns	-0.24	**	-0.36	***	-0.15	n
	INT	-0.11	n	-0.05	n	0.05	ns	-0.06	ns	-0.04	n	-0.07	n
	FT_diam	0.38	n	-0.01	n	-0.32	ns	0.38	**	0.23	n	0.23	n
	RP	0.20	*	-0.04	n	0.02	ns	0.10	*	0.00	n	0.09	n
	RAMBB	0.21	*	-0.04	n	<i>0.19</i>	***	0.06	ns	<i>0.11</i>	*	0.06	n
	RAMPB_S	0.01	n	0.02	n	0.03	ns	0.12	**	-0.16	*	0.09	*
	H1S	-0.06	n	0.18	n	0.63	*	-0.57	**	0.02	n	-0.16	n
	HD	0.17	n	-0.15	n	-0.59	*	<i>0.78</i>	**	0.15	n	0.19	n
Non-linear selection gradients (γ)	BT ²	-0.32	n	0.03	n	-0.03	ns	0.21	ns	-0.08	n	-0.03	n
	INT ²	0.13	n	-0.08	n	-0.11	S **	-0.05	ns	-0.05	n	0.04	n
	FT_diam	0.24	n	0.02	n	0.14	D *	-0.12	ns	0.04	n	0.01	n
	RP ²	0.05	n	-0.04	n	-0.01	ns	-0.21	S *	-0.18	S *	-0.20	S *
	RAMBB ²	-0.19	n	0.05	n	-0.08	ns	-0.10	ns	-0.11	n	-0.13	n
	RAMPB_S ²	0.04	n	-0.03	n	-0.14	S **	0.09	ns	0.13	n	0.08	n
	H1S ²	0.08	n	-0.10	n	-0.14	C *	-0.14	ns	-0.06	n	0.00	n
	HD ²	-0.14	n	0.11	n	0.17	D *	-0.03	ns	0.00	n	-0.07	n

BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: reproductive period, FT_diam: maximum rosette diameter at flowering, H1S: height from soil to the first fruit on the main stem, HD: ratio H1S/FT_diam, RAMBB: number of basal branches, RAMP_BS, number of primary branches with fruits on the main stem. ‘S’ and ‘D’ denote stabilizing ($\gamma < 0$) and disruptive ($\gamma > 0$) selection, respectively. Curvilinear selection was notified as ‘C’. Bold values indicate a significant difference with the control treatment. Italic values indicate a significant difference with the intraspecific competition treatment.

Figure 1

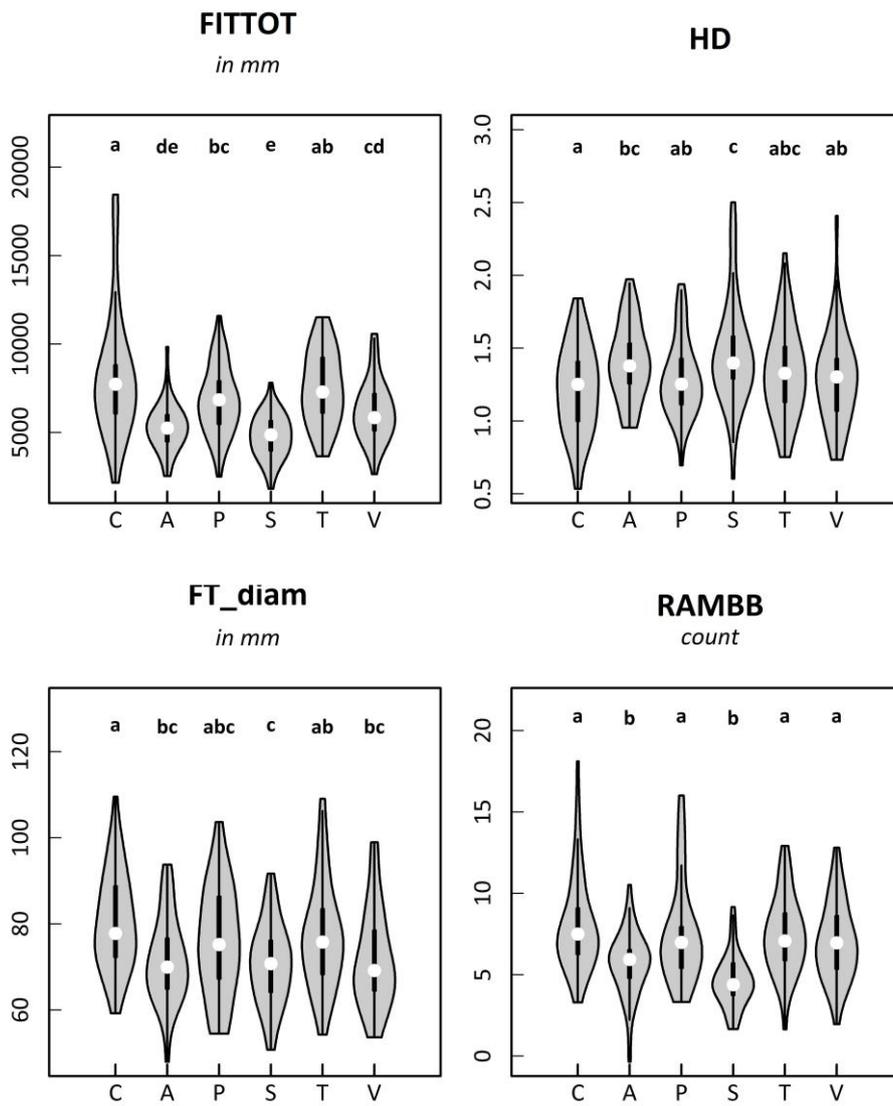


Figure 2

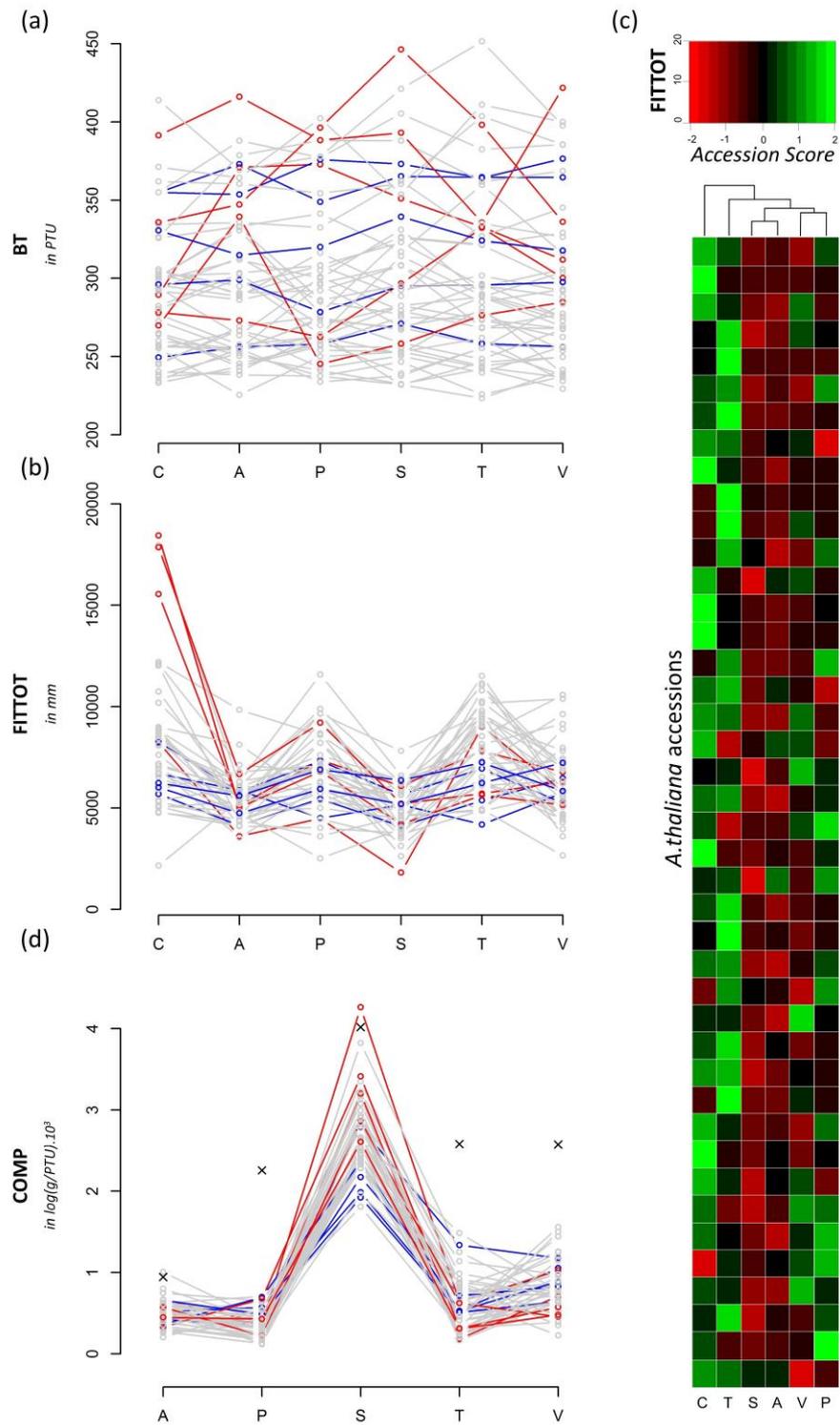


Figure 3

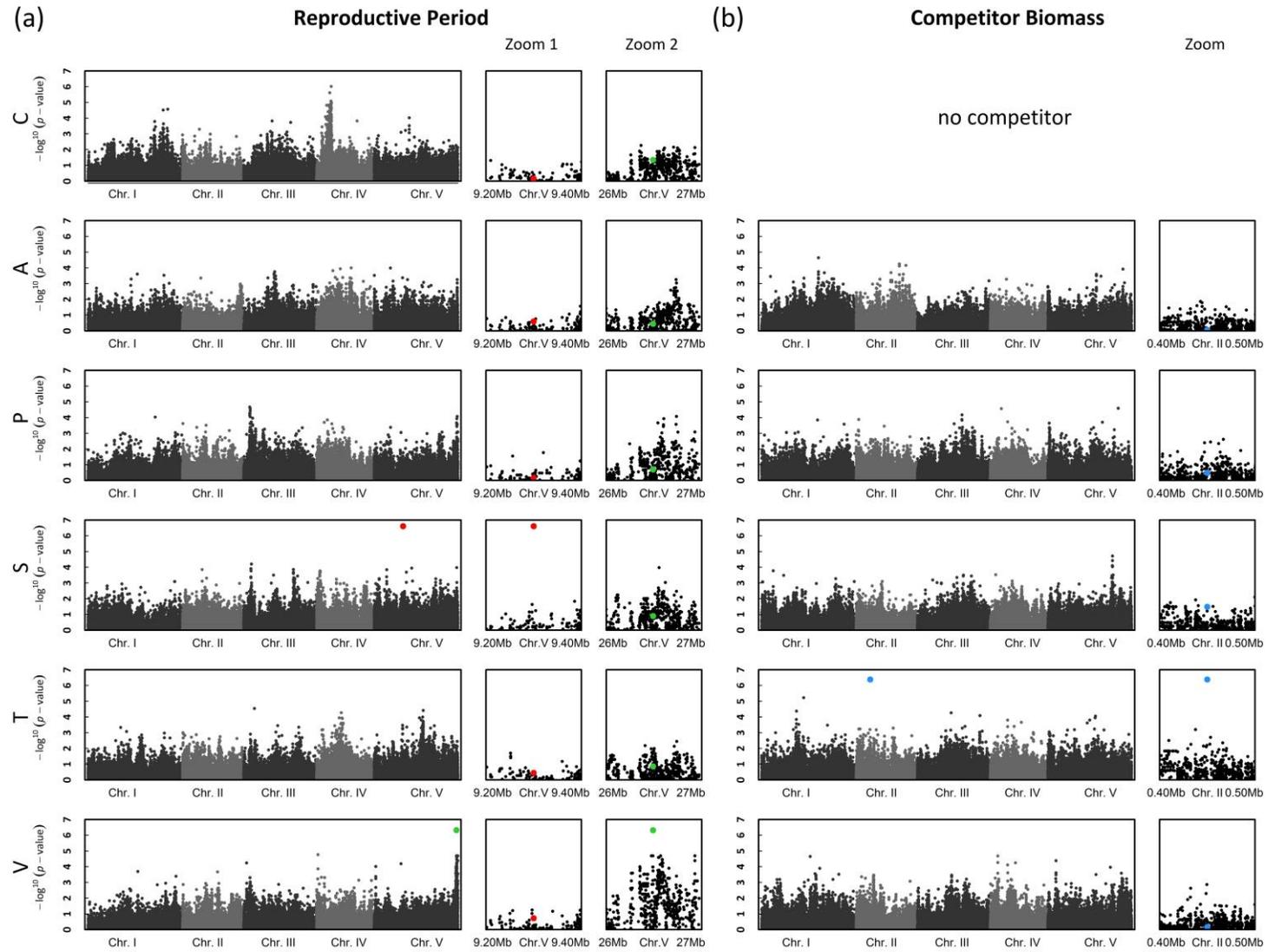
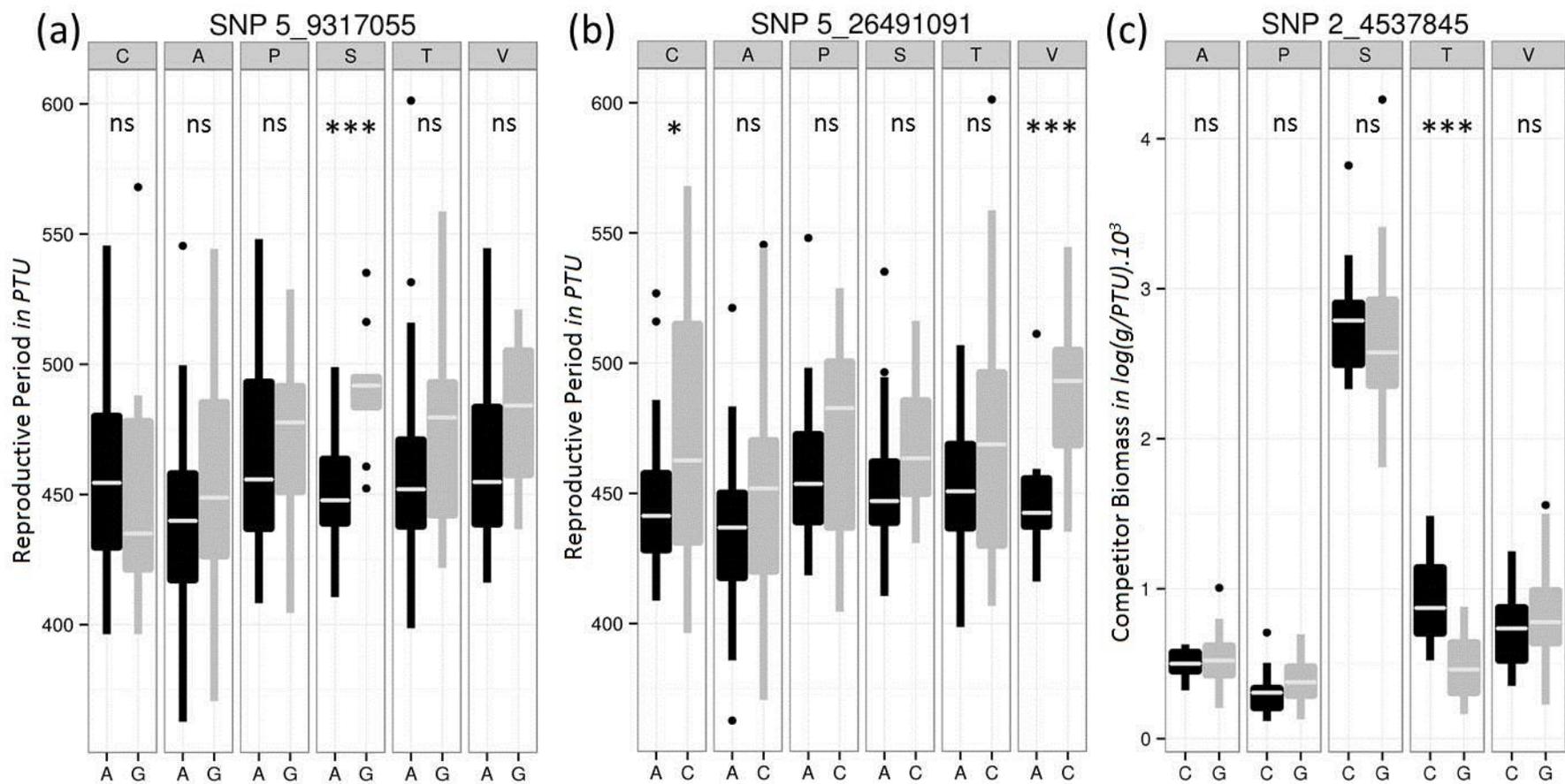


Figure 4



**The genetics of intra- and interspecific competitive response and
effect in a local population of an annual plant species**

Supporting Information

Figure S1 Experimental split-plot design arranged as a randomized complete block design (RCBD) with six treatments nested within four blocks. For each ‘block x treatment’ combination, the 48 pots were arranged according to a grid of 3 lines and 16 columns, with a distance of 30 cm between two successive pots. The distance between two successive treatments within a block was 40 cm while the distance between two successive blocks was 80 cm. In each plot with competition, pots were placed in such a way that the competitor plant was on the South side of the *A. thaliana* target plant. For the competitor seedlings growing alone in a pot, the 10 pots for each species were split into two blocks located in the same common garden and then randomized within each block.

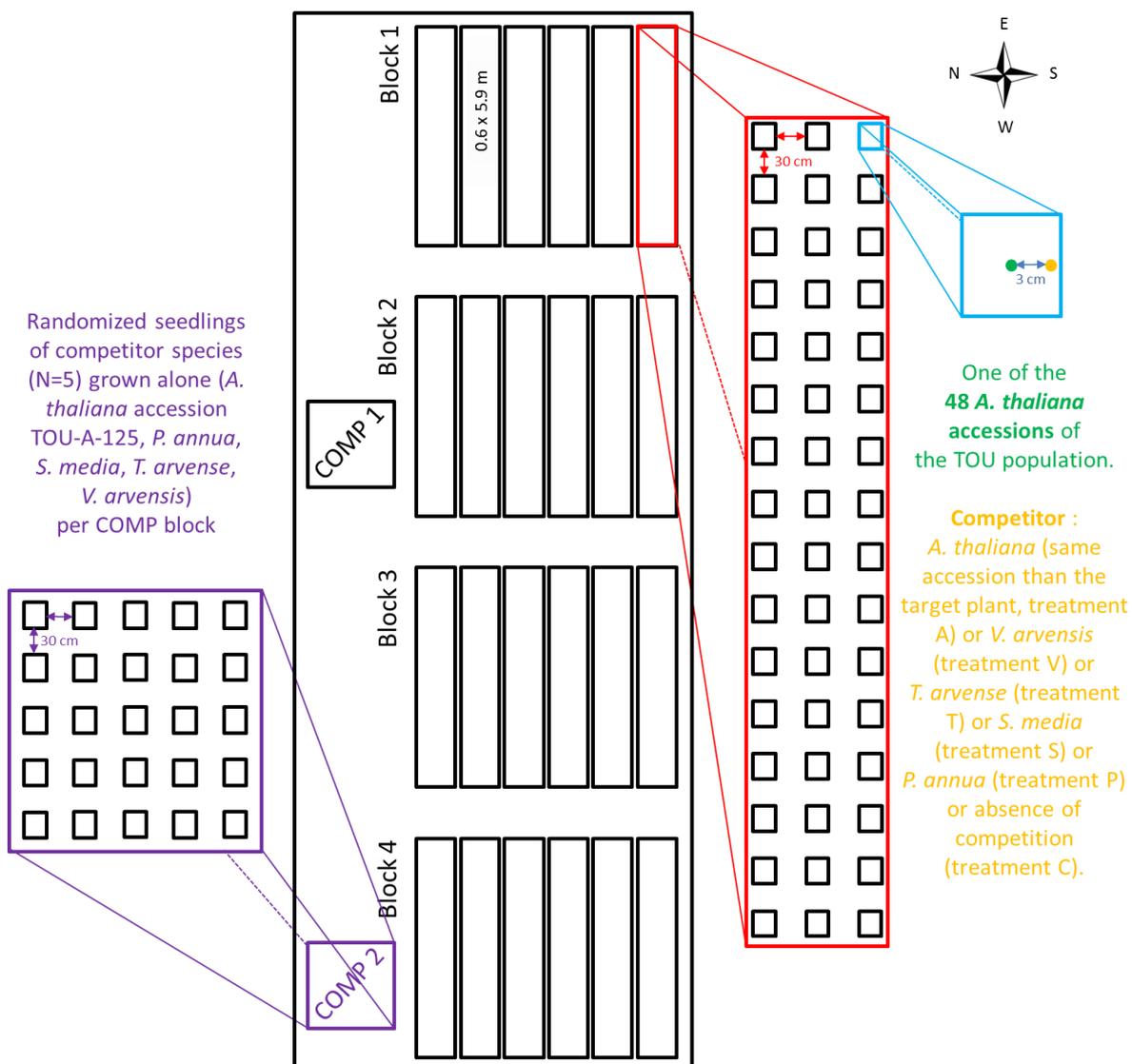


Figure S2 Quantile-Quantile plots of p -values (negative logarithm) representing the excess of strong associations for (a) and (b) reproductive period (RP, treatments S and V), (c) above-ground dry biomass of competitors (COMP, treatment T), (d) number of basal branches (RAMBB, treatment P), (e) height from soil to the first silique on the main stem (HIS, treatment C) and (f) – (k) bolting time (BT, treatment C, A, P, S, T and V) in the TOU-A population. Solid black line: expected, dashed black line: observed, solid grey lines: 95% confidence intervals (see methods).

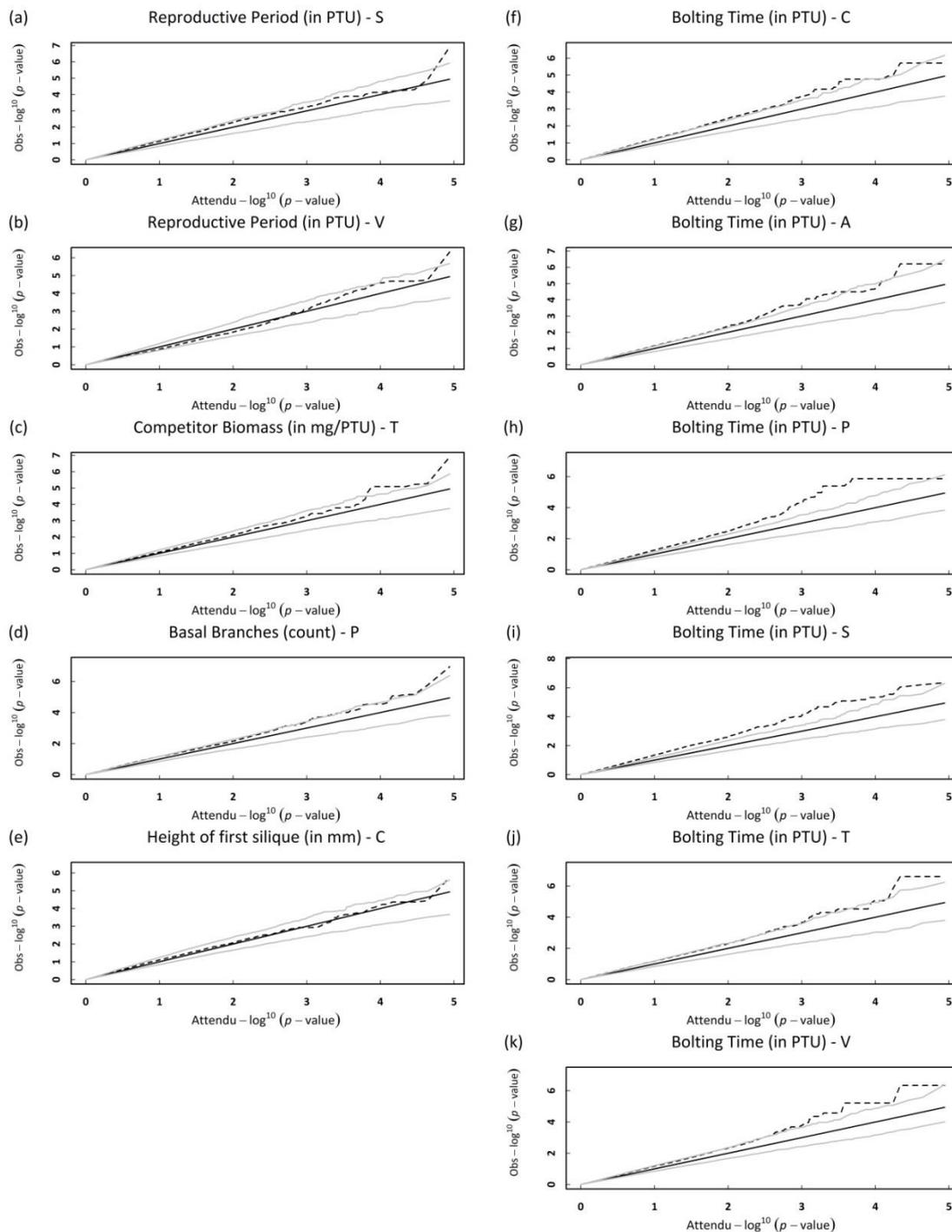
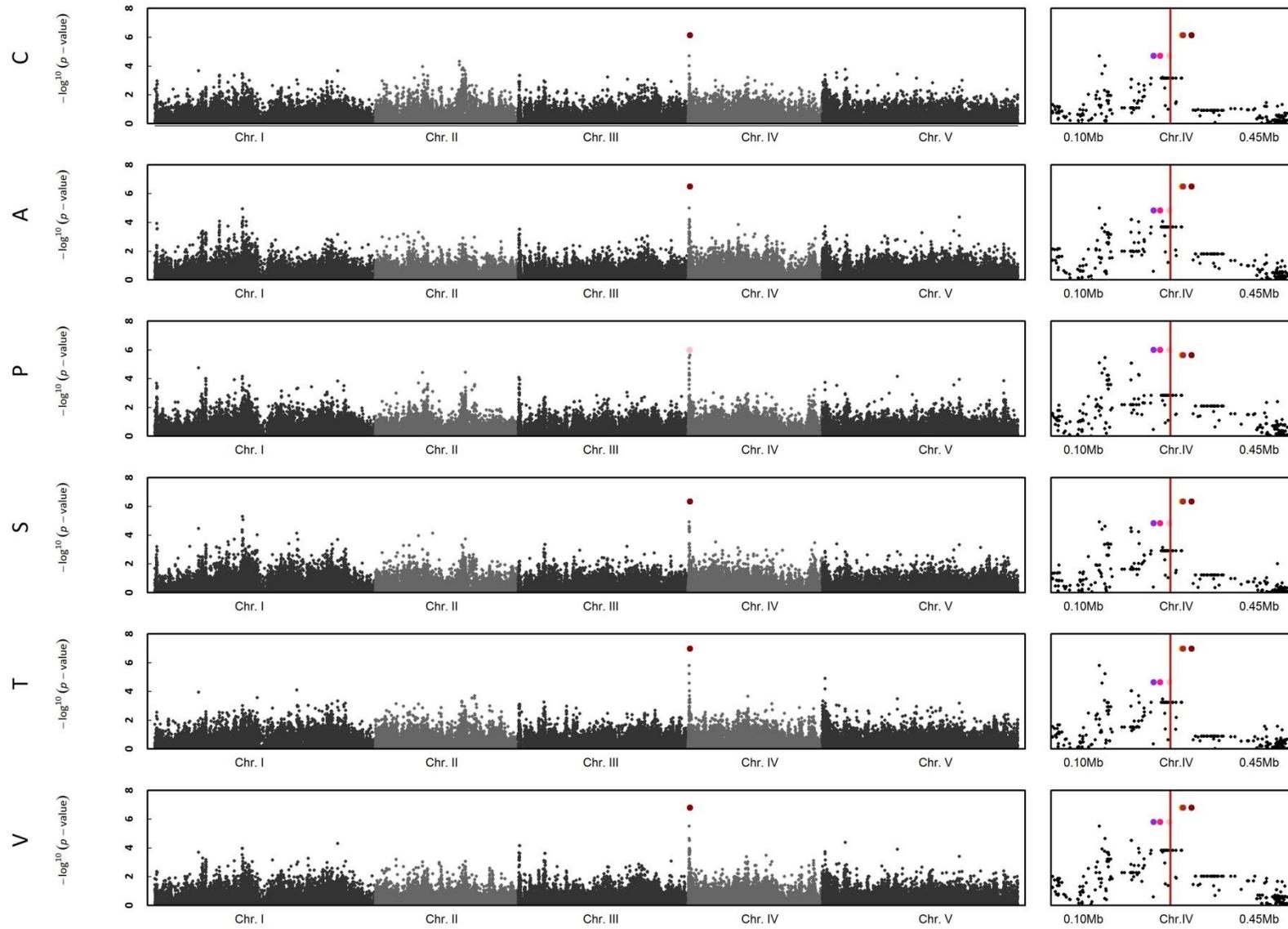


Figure S3 Genomic regions associated with phenotypic variation in each of the six competition treatments (C, A, P, S, T and V). (a) Bolting time (BT). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The brown dot indicates the region of the most associated SNPs with BT natural variation in the competition treatments Control, intraspecific, *S. media*, *T. arvense*, and *V. arvensis* (SNP_4_286905, SNP_4_287481, SNP_4_288749, SNP_4_300821) and the pink dot indicates the region of the most associated SNPs with BT natural variation in the *P. annua* competition treatment (SNP_4_246531, SNP_4_256073, SNP_4_269188). Right panel: Zoom on the most associated SNP with BT natural variation (plotting window 0.35Mb). The red line indicates the genomic position of the *FRIGIDA* flowering-time gene. The brown-red gradient dots indicate the most associated SNP with BT natural variation in the competition treatments Control, intraspecific, *S. media*, *T. arvense*, and *V. arvensis* (SNP_4_286905, SNP_4_287481, SNP_4_288749, SNP_4_300821) and the purple-pink gradient dots indicate the most associated SNP with BT natural variation in the *P. annua* competition treatment (SNP_4_246531, SNP_4_256073, SNP_4_269188). (b) Height from soil to the first silique on the main stem (H1S). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The red dot indicates the most associated SNP with H1S natural variation when *A. thaliana* accessions were grown alone (SNP_1_4164428). Right panel: Zoom on the most associated SNP with H1S natural variation in each treatment (plotting window 0.3Mb). (c) Number of basal branches (RAMBB). Left panel: Manhattan plots of the genome-wide association mapping results (MARF > 20%). The red dot indicates the most associated SNP with RAMBB natural variation in the P treatment (SNP_5_3021231). Right panel: Zoom on the most associated SNP with RAMBB natural variation in each treatment (plotting window 0.24Mb).

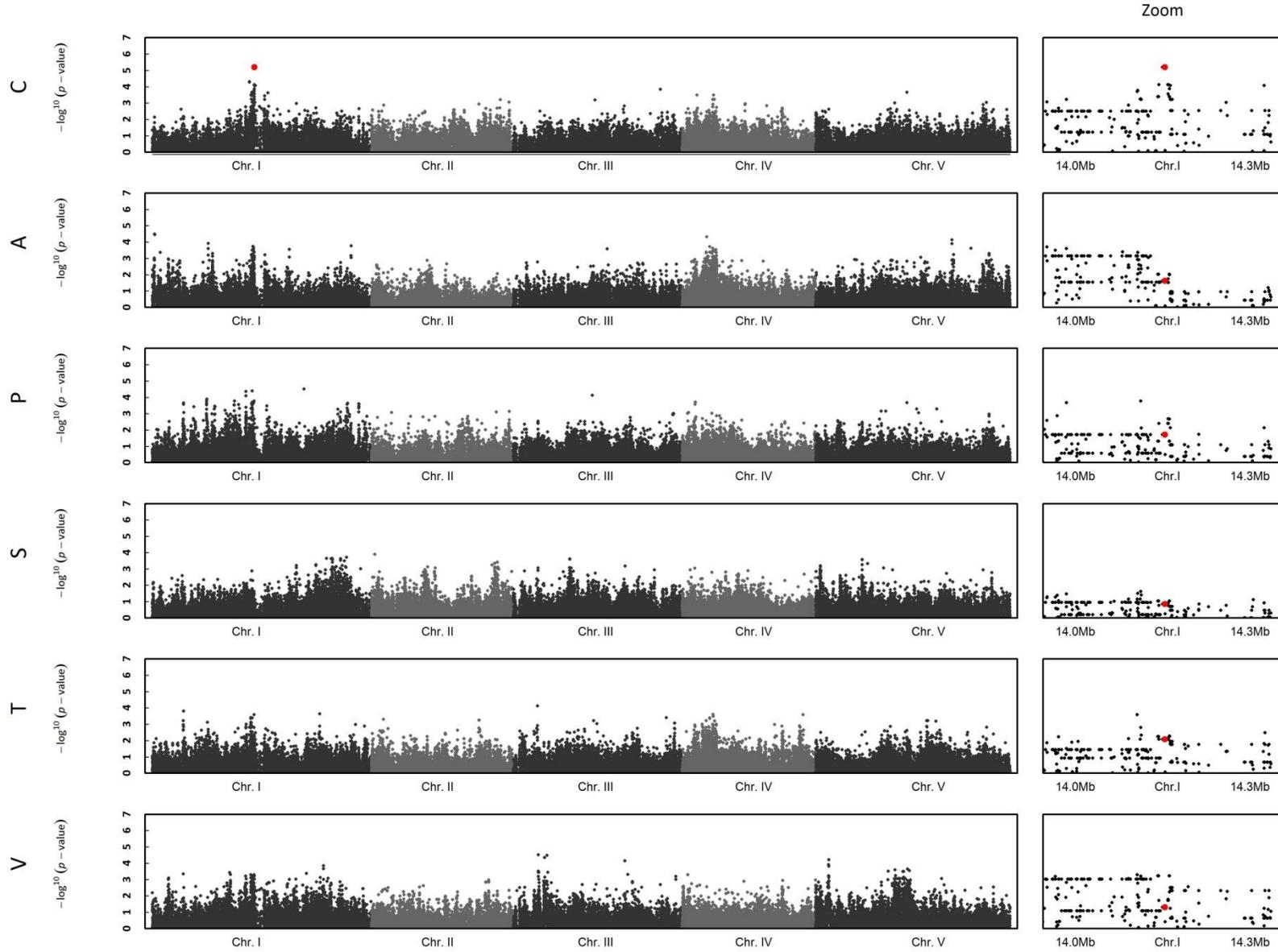
(a)

Bolting time



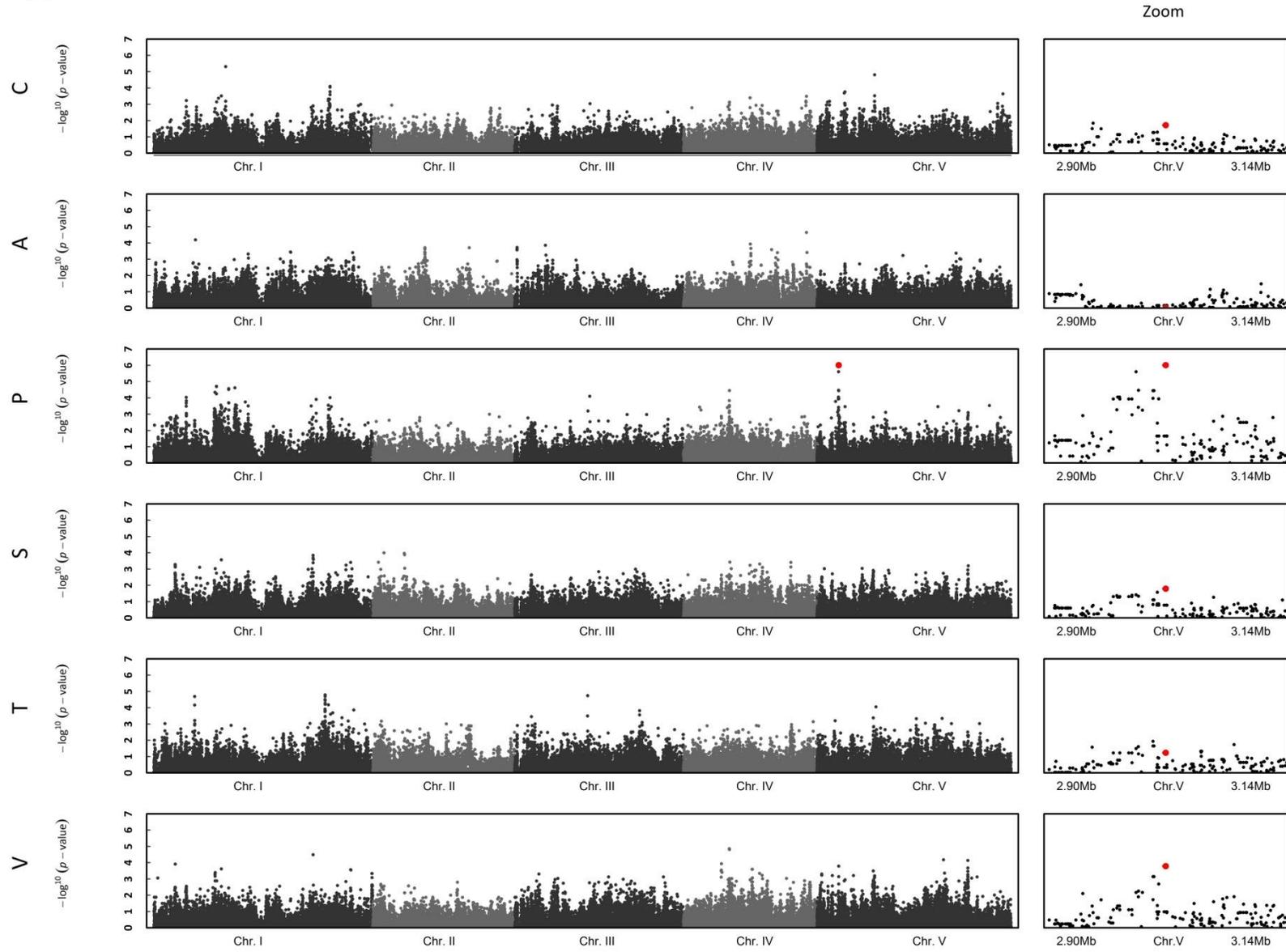
(b)

Height from soil to the first silique on the main stem



(c)

Number of Basal Branches



The genetic variability of response to a lag of germination time of competitors leads to different adaptive phenotypic and genomic strategies in a local population of an annual plant species

Etienne Baron, Maxime Cailleret, Cédric Glorieux, Fabrice Roux and Laurent Amsellem

To be submitted once the previous study is accepted for publication

The genetic variability of response to a lag of germination time of competitors leads to different adaptive phenotypic and genomic strategies in a local population of an annual plant species.

Etienne Baron^{1,2,3}, Maxime Cailleret¹, Cédric Glorieux¹, Fabrice Roux^{1,2,3} and Laurent Amsellem¹

¹*Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France*

²*INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

³*CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France.*

***Corresponding author:** Laurent Amsellem

Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France

E-mail: laurent.amsellem@univ-lille1.fr

Phone number: +33 (0)3 20 43 49 91

Fax number: +33 (0)3 20 43 69 79

Running title: ecological genomics of plant-plant interactions

Summary

1. We are still at the beginnings of understanding the genetics of plant-plant interactions (*i.e.* level of intraspecific genetic variation, identity of phenotypic traits under genotypic selection and genetic bases) underlying the adaptive dynamics and evolutionary trajectories of plant communities. Notably, while competition is well-known to temporally shape plant communities, studies on the genetics of response to temporally fluctuating competitor presence are scarce, not to say absent.
2. In this study, we tested whether the genetics of the response to competition in *Arabidopsis thaliana* was dependent on a lag of germination time of an interspecific competitor. We focused on a local mapping population of 48 accessions (i) that have been genotyped for 168 503 Single Nucleotide Polymorphisms and (ii) that have been demonstrated to show an extensive genetic variation for the response to interspecific competition.
3. The 48 accessions were grown in absence of competition and in presence of the chickweed *Stellaria media* by simulating three lags of germination time: *A. thaliana* sown two weeks after *S. media*, *A. thaliana* and *S. media* sown synchronously, and *A. thaliana* sown two weeks before *S. media*, leading to a steep gradient of competition intensity. Nine phenotypic traits, including a proxy of fitness, were scored on each *A. thaliana* target plant. The mean branch length of *S. media* was used as a competitor performance.
4. The fittest accessions of *A. thaliana* clearly differed between the four considered competition treatments, suggesting specialization to a specific lag of germination time of *S. media*. Accordingly, the optimal phenotypic strategy strongly differed along the gradient of competition intensity. Our results suggest that biotic specialization to a lag of germination time of *S. media* and its underlying associated optimal phenotypic strategy should promote the maintenance of both genetic and functional diversities at a very small spatial scale. Based on a Genome Wide Association approach, we detected several Quantitative Trait Loci whose pleiotropic effects were clearly related to the gradient of competition intensity. We identified six *de novo* candidate genes related to different biological pathways (including brassinosteroid biosynthesis and signaling) that may pave the way of identifying molecular mechanisms underlying response to interspecific competition.

5. This study — at the frontier between evolutionary ecology and genomics — seems promising to make progress both in understanding biotic specialization to temporally fluctuating competitor presence, and in identifying molecular mechanisms involved in response to interspecific competition. Transferring this multidisciplinary approach to other plant species will undoubtedly facilitate the discovery of new genetic basis underlying molecular underpinnings of plant-plant interactions and will help to understand evolutionary trajectories of plant communities.

Keywords: competition, germination time lag, fitness-related traits, phenotypic space, gradient of natural selection, GWA mapping.

Introduction

Plant-plant interactions lead to ecological and evolutionary processes that deeply influence community patterns (Urban *et al.* 2006; Whitham *et al.* 2006; Post & Palkovacs 2009). Studying the mechanisms underlying such interactions appears as a key-feature to understand community structure and its functioning, which may in turn help to predict ecosystem responses to global change (Martorell & Freckleton 2014). While this exciting challenge calls for a multidisciplinary approach at the frontier between evolutionary ecology and genomics (Whitham *et al.* 2006; Whitham 2011; Hendry 2013), we are still at the beginnings of understanding the genetics of plant-plant interactions underlying the adaptive dynamics and evolutionary trajectories of plant communities (Bailey *et al.* 2006; Genung *et al.* 2011). These are : estimating the level of intra-specific genetic variation (Albert *et al.* 2012; Violle *et al.* 2012), identifying phenotypic traits under genotypic selection (Baron *et al.*, submitted manuscript) and identifying the genetic and molecular variants involved in plant–plant interactions (Pierik *et al.* 2013).

Competition is recognized as one of the main factor responsible for plant community structure (Golberg & Barton 1992), diversity (Chesson *et al.* 2000) and dynamics (Tilman 1985). However, only few studies have been focused on the genetics of interspecific competition in plants, especially on the identification of Quantitative Trait Loci (QTLs, Wolf & Mutic 2007). Based on a local mapping population of the annual plant species *Arabidopsis thaliana* phenotyped for its competitive ability in presence of four competitor species (*i.e.* *Poa annua*, *Stellaria media*, *Trifolium repens* and *Veronica arvensis*), Baron *et al.* (submitted manuscript) recently found that the reaction norms for a proxy of fitness (*i.e.* total seed production) crossed between the four competition treatments, suggesting biotic specialization to a specific competitor species. The authors further demonstrated (i) that the optimal phenotypic strategy differed between the four competitor species, and (ii) accordingly, based on a Genome Wide Association (GWA) mapping approach (Bergelson & Roux 2010) that the genomic regions (and their underlying candidate genes) associated with competitive response were dependent on the identity of the competitor species (Baron *et al.* submitted manuscript). By putting this study of competition in an ecological genomics framework, these results seem promising to make progress both in understanding species coexistence and in identifying molecular mechanisms involved in competitive ability.

However, Baron *et al.* (submitted manuscript) only considered the spatial component of competition in dynamically shaping the niche expansion of *A. thaliana* at the population and community scales. Yet, competition is also well known to be a non-constant dynamic variable that temporally shapes plant communities. For instance, (i) dominant species within a plant community clearly vary according to different time scales (*i.e.* within season, between seasons, between years, ...; Trinder *et al.* 2012) and (ii) interactions between two plant species can switch from competition to facilitation along the life cycle of the plants (Trinder *et al.* 2013). In addition, because the competitive ability of a plant species depends on the developmental stage of its competitor species, the effect of interspecific competition on plant communities is hypothesized to be mediated by the lag of germination time among competitor species (Vavrek 1998). It is well established that seed germination time affects the expression of post-germinating life-history traits and plant fitness (Donohue 2002; Orrock & Christopher 2010), which in turn may affect biotic interactions (Rice & Dyer 2001), and population dynamics (Turkington *et al.* 2005). In response to temporally fluctuating competitor presence in local communities, we may therefore wonder whether different genotypes from a given species are specialized to a specific lag of germination time of a competitor species. If so, we may then question about the phenotypic and genomic strategies underlying this biotic specialization to temporally fluctuating competitor presence. In this context, three points need to be addressed: (i) describing the genetic variation of response to different lags of germination time of an interspecific competitor; (ii) distinguishing the traits under selection at the genotypic level between the responses to different lags of germination time of an interspecific competitor; and (iii) identifying the genetic bases involved in response to a specific lag of germination time of an interspecific competitor.

In this study, we aimed at studying the genetics of *A. thaliana* in response to different lags of germination time of a competitor species. Because plants interact with neighbors over short distances, we followed the approach conducted in Baron *et al.* (submitted manuscript) by focusing on a local mapping French population of 48 *A. thaliana* natural accessions. This local population showed an extensive genetic variation for phenology (Brachi *et al.* 2013), quantitative disease resistance to bacterial pathogens (Huard-Chauveau *et al.* 2013) and, more importantly, response to interspecific competition (Baron *et al.* submitted manuscript). The 48 accessions were grown in competition with the chickweed *S. media* (Caryophyllaceae) which is commonly associated with *A. thaliana* in French natural plant communities. Three treatments were considered, each simulating a different lag of germination time: *A. thaliana*

was sown two weeks after *S. media*, *A. thaliana* and *S. media* were sown synchronously, and *A. thaliana* was sown two weeks before *S. media*. As a control treatment, the 48 accessions were grown in absence of *S. media*. A suite of nine phenotypic traits related to phenology, architecture, resource acquisition and seed production (*i.e.* a fitness proxy) were scored on each *A. thaliana* target plant. The performance of *S. media* was estimated by calculating the mean branch length. First, we estimated the extent of genetic variation of phenotypic response of *A. thaliana* between the four competition environments. We specifically tested for biotic specialization to different lags of germination time of *S. media* by estimating the extent of crossing reaction norms for total seed production of *A. thaliana*. Second, by estimating genotypic gradients of selection, we tested whether the optimal phenotypic strategies in this local population of *A. thaliana* differed between the four competition environments. Third, since the 48 accessions have been genotyped for 168 503 SNPs (Horton *et al.* 2012), we used a GWA mapping approach to identify major QTLs underlying these optimal phenotypic strategies. Finally, we proposed a list of candidate genes that may be relevant for further dissection of the molecular pathways involved in interspecific competition.

Materials and methods

PLANT MATERIAL

In this study, we used the local *A. thaliana* mapping population TOU-A1 which has been demonstrated powerful enough to finely map genomic regions associated with (i) phenological variation (Brachi *et al.* 2013), (ii) quantitative resistance to the bacterial pathogen species *Xanthomonas campestris* (Huard-Chauveau *et al.* 2013), and (iii) more importantly, response to interspecific competition (Baron *et al.* submitted manuscript). The local mapping population TOU-A1 consists of 48 *A. thaliana* accessions sampled in 2002 along a transect under an electric fence separating two permanent meadows (Platt *et al.* 2010). The 48 accessions represent as many different haplogroups based on the genotyping of 149 SNPs (Platt *et al.* 2010). Each accession has been genotyped for 168 503 SNPs evenly spaced across the genome, with 87 160 SNPs having a Minor Allele Relative Frequency (MARF) > 0.2 (Horton *et al.* 2012; <http://bergelson.uchicago.edu/regmap-data>).

We chose the chickweed *Stellaria media* (Caryophyllaceae) as a competitor species because it is commonly associated with *A. thaliana* in natural plant communities in France

(<http://junon.u-3mrs.fr/msc41www/PSHTM/PS2135.htm>) as well as in the TOU-A plant community (F. Roux, personal observation). Seeds of *S. media* were provided by the company Herbiseeds (<http://www.herbiseed.com/home.aspx>).

EXPERIMENTAL DESIGN AND GROWTH CONDITIONS

From April 2012 to July 2012, an experiment of 816 target plants was conducted according to a split-plot design arranged as a Randomized Complete Block Design (RCBD) with four competition treatments nested within four experimental blocks in a greenhouse at the University of Lille 1 (North, France). The four competition treatments correspond to (i) three lags of germination time between *A. thaliana* and *S. media*: *A. thaliana* sown two weeks after *S. media* (hereafter named ‘T after S’), *A. thaliana* and *S. media* sown synchronously (hereafter named ‘T = S’), and *A. thaliana* sown two weeks before *S. media* (hereafter named ‘T before S’); and (ii) a control treatment (hereafter named ‘C’) where each *A. thaliana* target individual was grown in absence of competition. Each ‘block x treatment’ combination was represented by 48 pots (7cm x 7 cm x 7 cm, vol. ~343 cm³; TEKU MQC) filled with damp standard culture soil (Huminsubstrat N3, Neuhaus) and disposed in staggered rows, each pot corresponding to one of the 48 accessions TOU-A.

The 13th of April 2012 (day 0), a maximum of ten *S. media* seeds were sown in the 192 pots (= 48 pots x 4 blocks) of the ‘T after S’ treatment. On day 14, (i) a maximum of ten *A. thaliana* seeds were sown in each of the 192 pots sown two weeks earlier with *S. media* (*i.e.* ‘T after S’ treatment); (ii) a maximum of ten *S. media* seeds and ten *A. thaliana* seeds were sown in the 192 pots of the ‘T = S’ treatment; (iii) a maximum of ten *A. thaliana* seeds were sown in the 192 pots of the ‘T before S’ treatment and in the 192 pots of the ‘C’ treatment. On day 28, a maximum of ten *S. media* seeds were sown in each of the 192 pots sown two weeks earlier with *A. thaliana* (*i.e.* ‘T before S’ treatment). *S. media* and *A. thaliana* seeds were sown in the top left corner and in the bottom right corner of the pots, respectively. Seedlings of each species were thinned to one per pot 7 days after sowing. For the three competition treatments with *S. media*, the distance between two plants within a pot was an average 5cm. Plants were grown at 20°C under natural light supplemented by artificial light to provide a 16-hr photoperiod.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION

A total of nine phenotypic traits related to phenology (n = 4), resource acquisition (n = 1), architecture and seed dispersal (n = 3), and total seed production (n = 1) were scored on each *A. thaliana* target plant:

- As previously described in Brachi *et al.* (2012), bolting time (BT), flowering interval (INT), the length of reproductive period (RP) and the end of life cycle (END) were scored as the time interval between germination and bolting dates, between bolting and flowering dates, between flowering date and date of maturation of the last fruit, and between germination date and date of maturation of the last fruit, respectively. BT, INT, RP and END were expressed in days.
- Plant size was approximated by the maximum diameter of the rosette measured at the nearest millimeter at the start of flowering (DIAM ; Weinig *et al.* 2006).
- At senescence, we harvested and stored at room temperature the above-ground portion of each *A. thaliana* target plant. Individuals were then phenotyped for three traits related to architecture and seed dispersal (Wender *et al.* 2005); that is, number of basal branches (RAMBB), number of primary branches with fruits on the main stem (RAMPB_S) and maximum height of the plant (HMAX).
- Total seed production being a good proxy of lifetime fitness for a selfing annual like *A. thaliana* (Roux *et al.* 2004), total seed production was approximated by total fruit length (FITTOT) as described in Roux *et al.* (2010).

For the ‘T after S’, ‘T = S’ and ‘T before S’ treatments, at the time when an *A. thaliana* target plant flowered, we measured the length of the three main branches of the associated *S. media* competitor plant and we calculated the mean branch length (COMP) per target plant. Because the branch length in *S. media* is a good proxy of the number and the length of leaves (Supplementary method), the trait COMP was used as an estimate of the response of *S. media* to *A. thaliana* (*i.e.* competitive effect of *A. thaliana* on *S. media*). Because COMP values may depend on the date *A. thaliana* target plants were flowering, each COMP value was divided by the flowering time (number of days between the germination date and the date of flowering) of the corresponding *A. thaliana* target plant.

DATA ANALYSIS

Natural genetic variation of competitive response and effect

We used the following statistical model (1) (PROC MIXED procedure, REML method, SAS 9.3, SAS Institute Inc) to study the genetic variation of competitive response between the 48 TOU-A accessions:

$$Y_{ijk} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i + \text{competition}_j + \text{block}_i \times \text{competition}_j + \text{accession}_k + \text{competition}_j \times \text{accession}_k + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

where ‘*Y*’ is one of the nine phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants, ‘ μ ’ is the overall phenotypic mean; ‘block’ accounts for differences in micro-environment between the four experimental blocks; ‘competition’ corresponds to effect of the four competition treatments (i.e. ‘C’, ‘T before S’, ‘T = S’, and ‘T after S’); ‘accession’ measures the effect of the 48 accessions; the interaction term ‘competition x accession’ accounts for genetic variation in reaction norms between the four competition treatments; and ‘ ε ’ is the residual term. Model (1) was also run to explore the genetic variation of competitive effect of *A. thaliana* on *S. media* between the three lags of germination time, with ‘*Y*’ corresponding to the COMP trait and ‘competition’ which only considers the treatments ‘T before S’, ‘T = S’ and ‘T after S’.

As previously justified in Baron *et al.* (submitted manuscript), all factors were treated as fixed effects because levels of no factor were random samples from a population to which we intended to extrapolate. Terms were tested over their appropriate denominators for calculating *F*-values. In particular, given the split-plot design used in this study, the mean-square of the term ‘block_{*i*} x competition_{*j*}’ was used as a denominator for calculating the *F*-value for the terms ‘block_{*i*}’ and ‘competition_{*j*}’.

For each phenotypic trait, least-square means (LSmeans) were estimated for each accession within each treatment by using the model (2) in the *R* environment (R Development Core Team 2014). Because *A. thaliana* is a highly selfing species (Platt *et al.* 2010), LSmeans correspond to genotypic values of accessions.

$$Y_{ik} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i + \text{accession}_k + \varepsilon_{ik} \quad (2)$$

To visualize in a phenotypic space the relative position of the population TOU-A1 between the four competition environments, we conducted a principal component analysis (PCA, ade4 R package, 2007) based on the genotypic values of all phenotypic traits (with the exception of the proxy of fitness FITTOT).

For the competition treatments ‘T before S’, ‘T = S’ and ‘T after S’, the relationship between competitive response and competitive effect was tested by estimating a non-parametric Spearman coefficient of correlation between FITTOT and COMP.

Genotypic gradients of selection in A. thaliana

In order to identify the traits under linear selection in *A. thaliana* in each of the four treatments, we run genotypic selection analyses based on genotypic values (Rausher 1992) with the following polynomial regression (3) (PROC GLM procedure, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\text{Relative fitness}_i = \mu_{\text{relative fitness}} + \text{trait1}_i + \dots + \text{trait8}_i + \varepsilon_i \quad (3)$$

where ‘Relative fitness’ is the relative fitness within each treatment computed as the fitness estimate divided by the mean fitness estimate within that treatment, ‘ μ ’ is the constant, ‘trait1’ to ‘trait8’ correspond to the eight phenotypic traits (BT, INT, RP, END, DIAM, HMAX, RAMPB_S and RAMBB) standardized within each treatment, and ε is the residual term. Linear selection gradients were estimated by linear partial regression coefficients (Stinchcombe *et al.* 2008).

Then, differences in linear selection gradients between the four treatments were tested using the following model (PROC GLM procedure; SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\text{Relative fitness}_i = \mu_{\text{relative fitness}} + \text{treatment} + \text{trait1}_i + \dots + \text{trait8}_i + \text{trait1}_i \times \text{treatment} + \dots + \text{trait8}_i \times \text{treatment} + \varepsilon_i \quad (4)$$

To test whether the intensity and/or the sign of selection differs (i) between either ‘T before S’ or ‘T after S’ or ‘T = S’ and the control treatment and (ii) between either ‘T before S’ or ‘T after S’ and ‘T = S’, we conducted several pairwise comparisons within this regression model after adjusting for other factors in the model (‘Contrast’ statement in PROC GLM in SAS 9.3). Significant ‘trait x treatment’ interactions would indicate varying linear selection between treatments.

Genome-Wide Association mapping

To identify genomic regions associated with phenotypic variation with each competition treatment, we run GWA mapping based on LSmeans using a mixed-model approach implemented in the software EMMAX (Efficient Mixed-Model Association Expedited; Kang *et al.* 2010). To control for population structure, this model includes a genetic kinship matrix K accounting for genome-wide patterns of relatedness between the 48 accessions (*i.e.* identity-by-state). Because of bias due to rare alleles, phenotype-genotype associations were tested at each SNP with a $\text{MARF} > 0.2$ ($n = 87\,160$). After identification of significant association peaks (*i.e.* SNPs significantly associated with phenotypic natural variation at the Bonferroni threshold), we searched for candidate genes located in the vicinity of the most associated significant SNPS (*i.e.* within 20kb; Brachi *et al.* 2010).

Results

NATURAL GENETIC VARIATION OF PHENOTYPIC RESPONSE OF *A. THALIANA* TO DIFFERENT LAGS OF GERMINATION TIME OF *S. MEDIA*

A highly significant ‘competition treatment’ effect was detected for total seed production (FITTOT; Table 1). In agreement with the expected gradient of competition intensity experienced by the *A. thaliana* target plants (*i.e.* 'T before S' > 'T = S' > 'T after S' > 'C'), the later *A. thaliana* was sown compared to *S. media*, the more its total seed production was reduced (Fig. 1). Accordingly, the mean branch length of *S. media* (COMP) was significantly reduced in the ‘T before S’ treatment in comparison with the ‘T after S’ treatment (Table 1, Fig. 1).

The two first factors of a PCA performed on eight phenotypic traits scored on *A. thaliana* (not including FITTOT) explained more than 75 % of the phenotypic variance (Fig. 2). While PC1 was mainly dominated by traits related to resource acquisition, architecture and seed dispersal, PC2 was mainly dominated by phenological traits (Fig. 2a). A gradual shift in the phenotypic space was observed between the two more extreme competition treatments (*i.e.* from the ‘C’ treatment to the ‘T after S’ treatment), with a reduction of all trait values (with the exception of the flowering interval; Fig. 2).

A highly significant ‘Competition x Accession’ effect was found for six out of the eight phenotypic traits scored on *A. thaliana* (flowering interval, length of the reproductive period, length of the life cycle, rosette diameter at flowering time, number of primary branches and number of basal branches, Table 1). Similar results were obtained by considering only the three treatments with *S. media* (Table S1). This strong genetic variation of phenotypic response between the four competition treatments is well illustrated by the relative position of each accession within the phenotypic space that depends on the competition treatment; that is, by crossing reaction norms in the global phenotypic space (Fig. 2). Importantly, a highly significant ‘Competition x Accession’ effect was also found for total seed production (Table 1), with accessions with the highest total seed production differing between the four competition treatments (Fig. 2). In addition, a highly significant ‘Competition x Accession’ effect was found for the competitive effect of *A. thaliana* on *S. media*, with a different ranking of the 48 accessions for the mean branch length of *S. media* between the three treatments ‘T after S’, ‘T = S’ and ‘T before S’ (Fig. 2c, d, e).

While the competitive response (FITTOT) was not significantly correlated with the competitive effect (COMP) for the ‘T after S’ (Spearman $\rho = 0.15$, $P = 0.314$) and ‘T = S’ (Spearman $\rho = -0.13$, $P = 0.393$) treatments, the correlation between FITTOT and COMP was highly significant in the ‘T before S’ treatment (Spearman $\rho = -0.48$, $P = 0.001$). Indeed, in the latter treatment, accessions with the highest seed production correspond to the ones with the highest competitive effect, *i.e.* inducing the smallest mean branch length in *S. media* (Fig 2c).

GENOTYPIC GRADIENTS OF SELECTION

The identity of the traits under selection and the strength with which selection was acting on them differed between the four competition treatments (Table 2, Fig. 2). First, the presence of *S. media* led to an optimal phenotypic strategy that was significantly different from the control treatment (Fig. 2). For instance, while no significant relationship between the length of life cycle and the relative total seed production was detected in the ‘C’ treatment, accessions with a longer life cycle were favored when *A. thaliana* was sown two weeks after *S. media*.

Second, in comparison with the ‘T = S’ treatment, the optimal phenotypic strategy in the population TOU-A was significantly affected by a lag of germination time of *S. media* (Fig. 2). Notably, while no significant relationship was detected in the ‘T = S’ treatment between the relative total seed production and either the length of reproductive period or the number of basal branches, accessions with a longer reproductive period and an increased number of basal branches were favored in the ‘T before S’ treatment (Table 2). Similarly, the sign of the relationship between the relative total seed production and the number of primary branches significantly switched from positive in the ‘T = S’ treatment to negative in the ‘T after S’ treatment (Table 2).

Third, the optimal phenotypic strategy was significantly dependent on the direction of the lag of the germination time of *S. media* (Fig. 2). In particular, the relationship between the relative total seed production and three phenological traits (*i.e.* bolting time, length of the reproductive period and length of the life cycle) significantly differed between the ‘T before S’ and ‘T after S’ treatments. Indeed, in the ‘T before S’ treatment, accessions with a delay for

bolting time (contrast test; $F = 10.52$, $P = 0.0015$) and a longer reproductive period ($F = 6.98$, $P = 0.0091$) were favored in comparison with the 'T after S' treatment.

Finally, while the resource acquisition related trait DIAM was not detected under selection in each competition treatment, we observed that the type of branches the most significantly associated with the relative total seed production differed between the three competition treatments including *S. media*. While accessions with a higher number of basal branches were favored in the 'T before S' treatment, accessions with a higher number of primary branches and taller accessions were favored in the 'T = S' and 'T after S' treatments, respectively.

IDENTIFICATION OF GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH NATURAL VARIATION OF RESPONSE TO DIFFERENT LAGS OF GERMINATION OF TIME OF *S. MEDIA*

After controlling for the effect of population structure (Fig. S1), we identified 14 SNPs significantly associated with phenotypic natural variation at the Bonferroni threshold ($> -\log_{10}(p\text{-value}) = 6.24$), hereafter named 'top SNPs'. Those 14 top SNPs were all identified as major QTLs underlying natural variation of phenological traits. While association peaks were also found for either traits related resource acquisition, architecture, seed dispersal and total seed production in *A. thaliana* or mean branch length of *S. media*, no significant SNP underlying those association peaks were detected at the Bonferroni threshold.

The 14 top SNPs associated with phenological variation fall in three sets of SNPs. First, we identified three physically close SNPs whose pleiotropic effects depends on the competition treatment (Fig. 3). These three top SNPs are located in a 2kb region on the top arm of chromosome I, with SNP 1_12093888 (C/G polymorphism) being the most significant (Fig. 3a). While the effect of SNP 1_12093888 was consistent between the four competition treatments for (i) BT with the C/G polymorphism explaining between 34.3% and 52.5% of bolting time variation and (ii) INT with no significant effect of the C/G polymorphism, this effect was dependent on the competition intensity concerning the length of reproductive period and the end of life cycle (Fig. 3b). Indeed, the effect of SNP 1_12093888 on the length of reproductive period decreased with competition intensity (Fig. 3b). In contrast, for the end of the life cycle, while no effect of SNP 1_12093888 was detected in absence of competition,

its effect was consistent between the three treatments involving *S. media*, with the C/G polymorphism explaining between 37.7% and 53.6% of END variation (Fig. 3b). Interestingly, we also noted that the direction of the effect of SNP 1_12093888 was reversed between bolting time and the length of reproductive period in the two treatments with the lowest competition intensities (Fig. 3b). SNP 1_12093888 is located within a 20kb region of the candidate gene *BRN1* (*At1g33280*) involved in the cellular maturation of root cap.

Second, we identified six top SNPs, all located in a 130kb region on the top of chromosome IV, for which the sign of the relationship between the level of statistical significance and the competition intensity was reversed between bolting time and the end of the life cycle (Fig. 4). For instance, while the effect of those six SNPs on bolting time decreased with the competition intensity (from 32.7%-38.9% in absence of competition to 17.0%-20.2% for the 'T after S' treatment; Fig. S2 and S3), their effect on the end of life cycle increased with the competition intensity (from 8.3%-10.6% in absence of competition to 35.2%-40.3% for the T after S treatment; Fig. S2 and S3). Interestingly, the six SNPs are located in the vicinity of three genes related to brassinosteroids (BR). SNPs 4_170579 and 4_178820, which are in complete linkage disequilibrium (LD), are located within 20kb of the candidate gene *CYP86A2* (*At4g00360*) encoding a cytochrome P450 involved in BR biosynthesis. SNPs 4_286905, 4_287481 and 4_288749 which are in complete LD are located 4.7kb apart the candidate gene *BSK3* (*At4g00710*), encoding a kinase involved in the signaling of BR. Finally, SNP 4_300821 is located 1.5kb apart from the candidate gene *ANL2* (*At4g00730*) involved in anthocyanin biosynthesis.

Third, we identified five top SNPs, each being specific to one 'phenological trait x competition treatment with *S. media*' combination (Fig. 5). In the 'T before S' treatment, SNPs 2_8640484, 2_8646214 and 2_8649766 that are in complete LD in a 9kb region on the top arm of chromosome II, significantly explained 45.4% of the observed flowering interval variation (Fig. S4). The closest candidate gene located 8.4kb apart from the three SNPs corresponds to *HBT* (*At2g20000*), involved in cell division and cell differentiation in meristems. In the 'T = S' treatment, SNP 2_5675174 located on the top arm of chromosome II significantly explained 47.7% of natural variation of the length of the reproductive period (Fig. S4). No obvious candidate gene was found in the vicinity of this SNP. In the 'T after S' treatment, SNP 1_21340764 located on the bottom arm of chromosome I significantly explained 46.1% of natural variation of the end of life cycle (Fig. S4). The closest candidate

gene located 10.4kb apart from SNP 1_21340764 corresponds to *At1g57600*, which encodes a membrane bound O-acyl transferase (MBOAT).

Discussion

BIOTIC SPECIALIZATION AND OPTIMAL PHENOTYPIC STRATEGIES OF *A. THALIANA* TO DIFFERENT LAGS OF GERMINATION TIME OF *S. MEDIA*

In this study, we grew 48 accessions belonging to the local TOU-A natural population either in absence of competition and in presence of *S. media*, by simulating three lags of germination time. These four treatments led to a gradient of competition intensity: the later *A. thaliana* was sown in comparison with *S. media*, the stronger the competition experienced by *A. thaliana* target plants was. Interestingly, the identity of the fittest accessions clearly differed along this gradient of competition intensity, suggesting specialization to a specific lag of germination time of *S. media*. In a previous study based on the same local population (Baron *et al.* submitted manuscript), we found micro-geographic adaptation to competition to four competitor species (*i.e.* *P. annua*, *S. media*, *T. repens* and *V. arvensis*). In agreement with environmental heterogeneity that can lead to fine-scaled genetic structure even at micro-geographic scale (Hereford 2009; Richardson *et al.* 2014), the observed biotic specialization to both spatial and temporal variations of interspecific competition may explain the maintenance of the high genetic variation observed in the local TOU-A population (Villoutreix *et al.* submitted manuscript) and, therefore, of the adaptive potential to new changing environments.

This biotic specialization to the lag of germination time of *S. media* is supported by a high level of phenotypic plasticity of the *A. thaliana* target population, with a gradual shift in the phenotypic space. Accordingly, the optimal phenotypic strategy strongly differed along the gradient of competition intensity. Notably, the identity of the resource allocation related traits under selection and the strength of selection acting on them, largely differed between the four competition treatments. Contrary to the optimal architectural strategy consisting in producing more basal branches when *A. thaliana* target plants are not limited by resource acquisition (*i.e.* either in the 'C' and 'T before S' treatments), the optimal architectural strategy exhibited when resources are limited by competition (as shown in the 'T = S' treatment) is to

produce more primary branches. When *A. thaliana* target individuals experienced a high competition intensity ('T after S' treatment), producing primary branches was shown to be maladaptive, and accessions that maximized their apical growth were favored in this case. Because the crawling growth form of *S. media* constituted a dense canopy that decreased the amount of light available for *A. thaliana* target plants, this difference in optimal architectural strategy according to the time lag of germination time appears relevant to the shade avoidance syndrome, characterized by seeking for a better light capture (Ciolfi *et al.* 2013). However, it is well known that some plant species can inhibit germination and root growth of congeners by secreting allelopathic substances (Pierik *et al.* 2013). Because *S. media* produces water soluble phenolic compounds with allelopathic actions in the soil (Dakshini 1998), we cannot rule out the possibility that the observed difference in optimal phenotypic strategy is related to the allelopathic effects of *S. media* on *A. thaliana* seedlings.

Altogether, our results suggest that biotic specialization to a lag of germination time of *S. media*, and its underlying associated optimal phenotypic strategy, should promote the maintenance of both genetic and functional diversities in *A. thaliana* at a very small spatial scale. This maintenance of genetic and functional diversity may participate in the coexistence over time of several genotypes in the local population TOU-A of *A. thaliana* by reducing intraspecific competition (Baron *et al.* submitted manuscript), but also at the community level by the use of different temporal niches (Lankau & Strauss 2007; Matesanz *et al.* 2011).

MAPPING OF *DE NOVO* CANDIDATE GENES IN *A. THALIANA* PAVES THE WAY OF IDENTIFYING MOLECULAR MECHANISMS UNDERLYING GENOMIC STRATEGIES THAT DEPEND ON THE LAG OF GERMINATION TIME OF *S. MEDIA*

Identifying the genes associated with natural variation of response to interspecific competition is recognized as an important step to predict and understand the adaptive dynamic and evolutionary trajectory of a focal species in a plant community (Pierik *et al.* 2013). However, less than a handful of studies aimed at identifying QTLs associated with natural variation in plant–plant interactions (Mutic & Wolf 2007). Using the power of GWA mapping to finely map genomic regions associated with natural phenotypic variation (Bergelson & Roux 2010), Baron *et al.* (submitted manuscript) recently demonstrated that most major QTLs involved in response to interspecific competition in *A. thaliana* were strongly dependent on

the identity of the competitor species, highlighting the presence of strong 'gene x environment' interactions associated with interspecific competition in a local population of *A. thaliana*. In contrast, we found few QTLs in this study that showed to be specific to a competition treatment. Instead, we identified several QTLs whose pleiotropic effects on phenological traits were dependent on the competition treatment. Interestingly, the four *de novo* candidate genes underlying those pleiotropic QTLs seem to be involved in different biological pathways.

First, the *BRN1* gene (*At1g33280*) situated within a 20 kb region of the top SNP 1_12093888 is involved in the cellular maturation of root cap, which has a central role in root growth by determining its trajectory into the soil (Bennett *et al.* 2010). This gene may have an important role in resource accumulation, thus explaining why the effect of the C/G polymorphism found at this position dramatically varied according to both phenological traits and the intensity of competition. For instance, we observed two phenological strategies when the 48 accessions were grown in absence of competition (Fig. 3b). The accessions exhibiting the allele C bolted late and had a short reproductive period. This first strategy may correspond to an increased resource acquisition in vegetative tissues like rosette, and then to a fast resource allocation in making seeds. In contrast, the accessions with the allele G were early bolting and had a long reproductive period. This second strategy may correspond to an overlapping process of acquisition – allocation of resources. As a consequence, these two strategies associated with the polymorphism C/G at the SNP 1_12093888 lead to an equal length of the life cycle. The phenological strategy associated with the allele C seems not affected by the presence of *S. media*. On the other hand, the more the competition intensity is, the more the accessions with the allele G seem unable to continuously accumulate resources due to resource limitation imposed by *S. media*. Thereby, for the accessions with the allele G, the total amount of resources allocated to seed production may have decreased, overall leading to a short life cycle.

Second, interestingly, we have identified three genes related to brassinosteroids (BR), whose pleiotropic effects on bolting time and the end of the life cycle were dependent on the intensity of competition with *S. media*. The gene *BSK3* (*At4g00710*) encodes for a kinase involved in the signaling of BR (Tang *et al.* 2008; Sreeramulu *et al.* 2013). The gene *CYP86A2* (*At4g00360*) encodes a cytochrome p450 protein (Lisso *et al.* 2005), which is involved in BR biosynthesis (Bancos *et al.* 2002). Finally, the gene *ANL2* (*At4g00730*) is involved in anthocyanin biosynthesis (Kubo & Hayashi 2011; Nadakuduti *et al.* 2012). It is

recognized that BR lead to jasmonate-induced anthocyanin accumulation in all plant tissues, by regulating the ‘late’ anthocyanin biosynthesis genes (Peng *et al.* 2011). On the one hand, BR are involved in the hypocotyl growth, petiole elongation and stem regulation (Yin *et al.* 2002; Kozuka *et al.* 2010), notably in response to shade from competitors (Keuskamp *et al.* 2011). On the other hand, BR modulate plant immunity at multiple levels (Wang *et al.*, 2012). If we consider that both pathogens and interspecific competitors correspond to non-self organisms (Williams & Novoplansky 2013), it is tempting to speculate that the observed pleiotropic phenological effect whose direction is reversed between the absence of competition and the presence of strong competition ('T after S' treatment) is due to the BR-dependent trade-off between steroid-mediated growth and innate immunity in plants. In absence of competition (*i.e.* conditions favoring rapid growth), QTLs related to BR are mainly associated with early developmental traits like bolting time. In contrast, when *A. thaliana* perceives the presence of *S. media*, BR might be preferentially reprogrammed to a role of defense to the detriment of early developmental traits. Because the competition intensity exerted by *S. media* increased along the life cycle of *A. thaliana*, BR might be progressively reprogrammed from defense to rapid growth in order to ensure seed production. This would explain why QTLs related to BR were significantly associated with the end of the plant life cycle in presence of strong competition intensity. It would be interesting to test whether this putative trade-off between response to interspecific competition and growth is also mediated by BZR1 (BRASSINAZOLE RESISTANT 1) and HBI1, two bHLH transcription factors that have recently been shown to mediate the trade-off between plant immunity against microbes and growth (Lozano-Duran *et al.* 2013; Fan *et al.* 2014).

In this study, we also identified two *de novo* candidate genes that were specific to a ‘phenotypic trait x competition treatment’ combination. The first candidate gene was found for flowering interval when *A. thaliana* was sown two weeks before *S. media* and corresponds to the *HBT* gene. This gene encodes a homolog of the CDC27 anaphase-promoting complex/cyclosome subunit, which is both essential for postembryonic development (Serralbo *et al.* 2006) and responsible for cell division and cell differentiation in meristems (Blilou *et al.* 2002). The second candidate gene was found for its putative role during the end of the life cycle, and corresponds to the gene *At1g57600*. It encodes a membrane bound O-acyl transferase that belongs to the MBOAT family, and is involved in mediating the transfer of organic acids in ester or thioester forms to hydroxyl groups of membrane-embedded acyl, notably in the biosynthesis of phytosterol esters (Chen *et al.* 2007). Sterols are precursors of

minute amounts of biologically active widespread molecules such BR (Fujioka & Yokota 2003), for which related *de novo* candidate genes were identified in this study (see above).

While the small size of the mapping population used in this study impedes a full description of the genetic architecture underlying the phenotypic strategies observed in *A. thaliana* in response to a lag of germination time of *S. media*, the identification of major QTLs still paved the way of identifying molecular mechanisms involved in interspecific competition. To better disentangle these underlying molecular mechanisms, the next step will be to functionally validate the candidate genes identified in this study. With the lofty goal of understanding the adaptive dynamics of plants from the molecular to the community scales, it will be necessary to extend the multidisciplinary approach used in this study (i) to other local populations of *A. thaliana*, (ii) to competitor species which exhibit different growth strategy and port than *S. media*, and (iii) to other target plant species.

Acknowledgements

Special thanks are given to Angélique Bourceaux, Nathalie Faure and Eric Schmitt for their assistance during the common garden experiment. We also thank Dominique Roby and Susana Rivas for helpful discussions on the *de novo* candidate genes. This work was funded by a PhD fellowship from the University of Lille 1 – Région Nord-Pas-de-Calais to EB (project Bio-impact: Impacts des changements globaux sur la distribution de la Biodiversité en Région Nord-Pas-de-Calais). This study was also supported by the LABEX TULIP (ANR-10-LABX-41; ANR-11-IDEX-0002-02).

Data accessibility

Phenotypic data will be available in the Dryad database: doi:10.5061/dryad.XXX.

References

- Albert, C. H., de Bello, F., Boulangéat, I., Pellet, G., Lavorel, S., & Thuiller, W. (2011) On the importance of intraspecific variability for the quantification of functional diversity. *Oikos*, **121**, 116-126.
- Bailey, J., K., Wooley, S., C., Lindroth, R., L. and Whitham, T., G. (2006) Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic-level interactions. *Ecology Letters*, **9**, 78–85.
- Bancoş, S., Nomura, T., Sato, T., Molnár, G., Bishop, G. J., Koncz, C., Yokota, T., Nagy, F. & Szekeres, M. (2002) Regulation of Transcript Levels of the *Arabidopsis* Cytochrome P450 Genes Involved in Brassinosteroid Biosynthesis. *Plant Physiology*, **130**, 504-513.
- Baron, E., Richirt, J., Amsellem, L. Roux F. (2014) The genetics of intra- and interspecific competitive response and effect in a local population of an annual plant species. submitted manuscript in *Functional Ecology*.
- Bennett, T., van den Toom, A., Sanchez-Perez, G. F., Campilho, A., Willemsen, V., Snel, B., & Scheres, B. (2010) SOMBRERO, BEARSKIN1, and BEARSKIN2 Regulate Root Cap Maturation in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, **22**, 640-654.
- Bergelson, J., Roux, F. (2010) Towards identifying genes underlying ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Review Genetics*, **11**, 867-879.
- Blilou, I., Frugier, F., Folmer, S., Serralbo, O., Willemsen, V., Wolkenfelt, H. Eboy, B. E., Ferreira, P. C. G., Weisbeek, P. & Scheres, B. (2002) The *Arabidopsis* *HOBBIT* gene encodes a CDC27 homolog that links the plant cell cycle to progression of cell differentiation. *Genes & Development*, **16**, 2566-2575.
- Brachi, B, Villoutreix, R., Faure, N., Nautekète, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. & Roux, F. (2013) In vestigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4223-4240.

- Brachi, B., Aimé, C., Glorieux, C., Cuguen, J. & Roux, F. (2012) Adaptive value of phenological traits in stressful environments: predictions based on seed production and laboratory natural selection. *PLoS One*, **7**, e32069.
- Brachi, B., Faure, N., Horton, M., Flahauw, E., Vazquez, A., Nordborg, M., Bergelson, J., Cuguen, J. & Roux F. (2010) Linkage and association mapping of *Arabidopsis thaliana* flowering time in nature. *PLoS Genetics*, **6**, e1000940.
- Chen, Q., Steinhauer, L., Hammerlindl, J., Keller, W., & Zou, J. (2007) Biosynthesis of phytosterol esters: identification of a sterol o-acyltransferase in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, **145**, 974-984.
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annuals Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **31**, 343–66.
- Ciolfi, A., Sessa, G., Sassi, M., Possenti, M., Salvucci, S., Carabelli, M., Morelli, G. & Ruberti, I. (2013) Dynamics of the Shade-Avoidance Response in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, **163**, 331-353.
- Dakshini, K. M. M. (1998) Allelopathic interference of chickweed, *Stellaria media* with seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*). *Canadian Journal of Botany*, **76**, 1-5.
- Donohue, K. (2002) Germination timing influences natural selection on life-history characters in *Arabidopsis thaliana*. *Ecology*, **83**, 1006–1016.
- Fan, M., Bai, M. Y., Kim, J. G., Wang, T., Oh, E., Chen, L., Park, C. H., Son, S. H., Kim, S. K., Mudgett, M. B. & Wang, Z. Y. (2014) The bHLH Transcription Factor HBI1 Mediates the Trade-Off between Growth and Pathogen-Associated Molecular Pattern-Triggered Immunity in *Arabidopsis*. *The Plant cell*, **26**, 828-841.
- Fujioka, S., & Yokota, T. (2002) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annual review of plant biology*, **54**, 137-164.
- Genung, M.A., Schweitzer, J.A., Ubeda, F., Fitzpatrick, B.M., Pregitzer, C.C., Felker-Quinn, E. et al. (2011) Genetic variation and community change – selection, evolution, and feedbacks. *Functional Ecology*, **25**, 408–419.

- Golberg, D.E. & Barton, A.M. (1992) Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities : a review of field experiments with plants. *The American Naturalist*, **139**, 771-801.
- Hereford, J (2009). A Quantitative Survey of Local Adaptation and Fitness Trade-Offs. *The American Naturalist*, **173**, 579–588.
- Horton, M.W, Hancock, A.M., Huang, Y.S., Toomajian, C., Atwell, S., Auton, A., Mulyati, N.W., Platt, A., Sperone, F.G., Vilhjalmsson, B.J., Nordborg, M., Borevitz, J.O. & Bergelson, J. (2012) Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel. *Nature Genetics*, **44**, 212-216.
- Huard-Chauveau C., Percepied L., Debieu M., Rivas S., Kroj T., Kars I., Bergelson J., Roux F. & Roby D. (2013) An atypical kinase under balancing selection confers broad-spectrum disease resistance in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, **9**, e1003766.
- Keuskamp, D. H., Sasidharan, R., Vos, I., Peeters, A. J., Voeselek, L. A., & Pierik, R. (2011) Blue-light-mediated shade avoidance requires combined auxin and brassinosteroid action in *Arabidopsis* seedlings. *The Plant Journal*, **67**, 208-217.
- Kozuka, T., Kobayashi, J., Horiguchi, G., Demura, T., Sakakibara, H., Tsukaya, H., & Nagatani, A. (2010) Involvement of Auxin and Brassinosteroid in the Regulation of Petiole Elongation under the Shade. *Plant Physiology*, **153**, 1608-1618
- Kubo, H. & Hayashi, K. (2011) Characterization of root cells of anl2 mutant in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Science*, **180**, 679-685.
- Lankau, R.A. & Strauss, S.Y. (2007) Mutual feedbacks maintain both genetic and species diversity in a plant community. *Science*, **317**, 1561-1563.
- Lisso, J., Steinhauser, D., Altmann, T., Kopka, J., & Müssig, C. (2005) Identification of brassinosteroid-related genes by means of transcript co-response analyses. *Nucleic acids research*, **33**, 2685-2696.
- Lozano-Durán, R., Macho, A. P., Boutrot, F., Segonzac, C., Somssich, I. E., & Zipfel, C. (2013) The transcriptional regulator BZR1 mediates trade-off between plant innate immunity and growth. *eLife*, **2**.

- Martorell, C. & Freckleton, R.P. (2014) Testing the roles of competition, facilitation and stochasticity on community structure in a species-rich assemblage. *Journal of Ecology*, **102**, 74–85.
- Matesanz, S., Gimeno, T.E., de la Cruz, M., Escudero, A. & Valladares, F. (2011) Competition may explain the fine-scale spatial patterns and genetic structure of two co-occurring plant congeners. *Journal of Ecology*, **99**, 838–848.
- Mutic, J.J. & Wolf, J.B. (2007) Indirect genetic effects from ecological interactions in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **16**, 2371–2381.
- Nadakuduti, S. S., Pollard, M. R., Kosma, D. K., Allen, C., Ohlrogge, J., & Barry, C. (2012) Pleiotropic phenotypes of the sticky peel (pe) mutant provide new insight into the role of CUTIN DEFICIENT 2 in epidermal cell function in tomato. *Plant Physiology*, **159**, 945–960.
- Orrock J., L. & Cory, C. C. (2010) Density of intraspecific competitors determines the occurrence and benefits of accelerated germination. *American Journal of Botany*, **97**, 694–699.
- Peng, Z., Han, C., Yuan, L., Zhang, K., Huang, H. & Ren C. (2011) Brassinosteroid Enhances Jasmonate-Induced Anthocyanin Accumulation in *Arabidopsis* Seedlings. *Journal of integrative plant biology*, **53**, 632–640.
- Pierik, R., Mommer, L. & Voesenek, L.A.C.J. (2013) Molecular mechanisms of plant competition neighbour detection and response strategies. *Functional Ecology*, **27**, 841–853.
- Platt, A., Horton, M., Huang, Y.S., Li, Y., Anastasio, A.E., Mulyati, N.W., Ågren, J., Bossdorf, O., Byers, D., Donohue, K., Dunning, M., Holub, E. B., Hudson, A., Le Corre, V., Loudet, O., Roux, F., Warthmann, N., Weigel, D., Rivero, L., Scholl, R., Nordborg, M., Bergelson, J. & Borevitz, J., O. (2010) The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **6**, e1000843.
- Post, D.M. & Palkovacs, E.P. (2009) Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629–1640.

- Rausher, M.D. (1992) The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, **46**, 616-626.
- Rice, K., and Dyer, A. R. (2001) Seed aging, delayed germination and reduced competitive ability in *Bromus tectorum*. *Plant Ecology*, **155**, 237-243.
- Richardson, J. L., Urban, M. C., Bolnick, D. I. & Skelly, D. K. (2014) Microgeographic adaptation and the spatial scale of evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, **29**, 165-176.
- Roux, F., Gao, L. & Bergelson, J. (2010) Impact of initial pathogen density on resistance and tolerance in a polymorphic disease resistance gene system in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, **185**, 283-291.
- Roux, F., Gasquez, J. & Reboud, X. (2004) The dominance of the herbicide resistance cost in several *Arabidopsis thaliana* mutant lines. *Genetics*, **166**, 449-460.
- Serralbo, O., Pérez-Pérez, J. M., Heidstra, R., & Scheres, B. (2006) Non-cell-autonomous rescue of anaphase-promoting complex function revealed by mosaic analysis of HOBBIT, an *Arabidopsis* CDC27 homolog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 13250-13255.
- Sreeramulu, S., Mostizky, Y., Sunitha, S., Shani, E., Nahum, H., Salomon, D., Hayun, L. B., Gruetter, C., Rauh, D., Ori, N. & Sessa, G. (2013) BSKs are partially redundant positive regulators of brassinosteroid signaling in *Arabidopsis*. *The Plant journal*, **74**, 905-919.
- Stinchcombe, J.R., Agrawal, A.F., Holenlohe, P.A., Arnold, S.J. & Blows, M.W. (2008) Estimating-nonlinear-selection gradients using quadratic regression coefficients double or nothing ? *Evolution*, **62**, 2435-2440.
- Tang, W., Kim, T.W., Oses-Prieto, J.A., Sun, Y., Deng, Z., Zhu, S., Wang, R., Burlingame, A. L., Wang, Z.Y. (2008) BSK mediate signal transduction from the receptor kinase BII1 in *Arabidopsis*. *Science*, **321**, 557-560.
- Tilman, D. (1985) The resource ratio hypothesis of succession. *The American Naturalist*, **125**, 827-852.

- Trinder, C., J., Brooker, R., W. & Robinson, D. (2013) Plant ecology's guilty little secret: understanding the dynamics of plant competition. *Functional Ecology*, **27**, 918-929.
- Trinder, C.J., Brooker, R.W., Davidson, H. & Robinson, D. (2012) Dynamic trajectories of growth and nitrogen capture by competing plants. *New Phytologist*, **193**, 948–958.
- Turkington, R., Goldberg, D.E., Olsvig-Whittaker, L. Dyer, A. R. (2005) Effects of density on timing of emergence and its consequences for survival and growth in two communities of annual plants. *Journal of Arid Environments*, **61**, 377-396.
- Ungerer, M. C., Halldorsdottir, S. S., Modliszewski, J. L., Mackay, T. F. C. & Purugganan M. D. (2002) Quantitative Trait Loci for Inflorescence Development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, **160**, 1133-1151.
- Urban, M.C. (2006) Maladaptation and Mass Effects in a Metacommunity: Consequences for Species Coexistence. *The American Naturalist*, **168**, 28–40.
- Vavrek, M.C. (1998) Within-population genetic diversity of *Taraxacum officinale* Asteraceae: differential genotype response and effect on interspecific competition. *American Journal of Botany*, **85**, 947-954.
- Violle, C., Enquist, B., J., McGill, B., J., Jiang, L., Albert, C., H., Hulshof, C., Jung, V., and Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, **27**, 244-252 doi:10.1016/j.tree.2011.11.014
- Wang, Z. Y. (2012) Brassinosteroids modulate plant immunity at multiple levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 7-8.
- Weinig, C., Johnston, J., German, Z.M. & Demink, L.M. (2006) Local and global costs of adaptive plasticity to density in *Arabidopsis thaliana*. *The American Naturalist*, **167**, 826-836.
- Wender, N.J., Polisetty, C.R. & Donohue, K. (2005) Density dependent processes influencing the evolutionary dynamics of dispersal: a functional analysis of seed dispersal in *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany*, **92**, 960–971.
- Whitham, T., G., Bailey, J., K., Schweitzer, J., A., Shuster, S., M., Bangert, R., K., LeRoy, C., J., Lonsdorf, E., V., Allan, G., J., DiFazio, S., P., Potts, B., M., Fischer, D., G., Gehring,

- C., A., Lindroth, R., L., Marks, J., C., Hart, S., C., Wimp, G., M. and Wooley, S., C. (2006) A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature*, **7**, 510-523.
- Whitlock, R.A.J., Bilton, M., Grime, J.P. & Burke, T. (2011) Fine-scale community and genetic structure are tightly linked in species-rich grasslands. *Proceedings of the Royal Society B*, **366**, 1346-1357.
- Williams, M. & Novoplansky, A. (2013) Plant-plant interactions. *The Plant Cell*. **5**, tpc.113.tt0513.
- Willis, C.G., Brock, M.T. & Weinig, C. (2010) Genetic variation in tolerance of competition and neighbour suppression in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.
- Xiao, J., Zhang, H., Xing., L., Xu, S., Liu, H., Chong, K. & Xu., Y. (2012) Requirement of histone acetyltransferase HAM1 and HAM2 for epigenetic modification of FLC in regulating flowering in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology*, **170**, 444-453.
- Yin, Y., Wang, Z., Mora-Garcia, S., Li, J., Yoshida, S., Asami, T., & Chory, J. (2002) BES1 Accumulates in the Nucleus in Response to Brassinosteroids to Regulate Gene Expression and Promote Stem Elongation. *Cell*, **109**, 181-191.
- Zhang, H., Mi-Seong, K., Krishnamachari, V., Payton, P., Sun, Y, Grimson, M., Farag, M. A., Ryu, C. M., Allen, R., Melo, I. S. & Paré, P. W. (2007) Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Planta*, **226**, 839-851.

Supporting information

Figure S1. Quantile-Quantile plots of p -values (negative logarithm) representing the excess of strong associations for the traits BT, INT, RP and END, for each competition treatment ('C', 'T before S', 'T = S' and 'T after S'). Solid line: expected, dashed line: observed.

Figure S2. Box-plots illustrating for each competition treatment the effects on bolting time (BT) and the end of life cycle (END) of the four top SNPs 4_286905, 4_287481, 4_288749 (physically close to the *de novo* candidate gene BSK3) and 4_300821 (physically close to the *de novo* candidate gene ANL2). Because these four SNPs are in complete linkage disequilibrium, only the effect of the SNP 4_286905 with a C/G polymorphism is illustrated. Box-plots surrounded by a solid purple line correspond to 'competition treatment x phenological trait' combinations for which the effect of SNP 4_286905 is significant at the Bonferroni threshold (see Fig. 4). Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the top SNP 4_286905.

Figure S3. Box-plots illustrating for each competition treatment the effects on bolting time (BT) and the end of life cycle (END) of the two top SNPs 4_170579 and 4_178820 (physically close to the *de novo* candidate gene CYP86A2). Because these two SNPs are in complete linkage disequilibrium, only the effect of the SNP 4_170579 with a C/G polymorphism is illustrated. Box-plots surrounded by a solid blue line correspond to 'competition treatment x phenological trait' combinations for which the effect of SNP 4_170579 is significant at the Bonferroni threshold (see Fig. 4). Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the top SNP 4_170579.

Figure S4. Box-plots illustrating the effects of SNPs that are specific to one 'phenological trait x competition treatment with *S. media*' combination. Left panel: Effects on INT of the SNPs 2_8640484, 2_8646214 and 2_8649766 (in complete linkage disequilibrium, polymorphism C/T of SNPs 2_8640484 illustrated on this figure), physically close to the *de novo* candidate gene HBT. Mid-panel: Effects on RP of the SNP 2_5675174 (polymorphism A/G). Right panel: Effects on END of the SNP 1_21340764 (polymorphism A/G), physically close to the *de novo* candidate gene *Atlg57600*. . Box-plots surrounded by a solid green line correspond to 'competition treatment x phenological trait' combinations for which the effect of SNPs 2_8640484, 2_5675174 and 1_21340764 is significant at the Bonferroni threshold

(see Fig. 5). *Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the corresponding top SNP.*

Figure legends

Figure 1. Violin plots (*i.e.* box-and-whisker plot overlaid with a kernel density plot) of genetic natural variation between the 48 accessions for total seed production of *A. thaliana* (FITTOT) and mean branch length of *S. media* (COMP). ‘C’: control treatment (absence of competition), ‘T before S’: *A. thaliana* was sown two weeks before *S. media*, ‘T = S’: *A. thaliana* and *S. media* were sown synchronously, ‘T after S’: *A. thaliana* was sown two weeks after *S. media*. Different letters indicate different groups after pairwise comparisons using a *P*-value threshold of 0.01.

Figure 2. Natural genetic variation between the 48 *A. thaliana* accessions in the phenotypic space determined by the four competition environments. (a) Factor loading plot resulting from principal component analysis procedure on eight phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants (not including FITTOT). Factors 1 and 2 explained 50.85% and 24.73% of phenotypic variance, respectively. BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: length of reproductive period, END: end of the life cycle, DIAM: maximum rosette diameter at flowering, HMAX: maximum height of the plant, RAMBB: number of basal branches, RAMPB_S, number of primary branches with fruits on the main stem. (b) Phenotypic space of the TOU-A local population grown in absence of competition (*i.e.* environment ‘C’). (c) Phenotypic space of the TOU-A local population in the environment ‘T before S’. (d) Phenotypic space of the TOU-A local population in the environment ‘T = S’. (e) Phenotypic space of the TOU-A local population in the environment ‘T after S’. For (b), (c), (d) and (e): (I) the intersection between the two dotted line indicates the means of factors 1 and 2; (II) the brightness of the kernels indicate the density of accessions (the brighter, the more dense); (III) Numbers indicate the location of the 48 accessions, with the accessions labeled 1 and 48 corresponding to the accessions with the highest and lowest FITTOT value in the treatment ‘C’, respectively. Within each competition environment, the bigger the number size, the higher the relative FITTOT value. For (c), (d) and (e): the brightness of the green font color corresponds to the ranking of the 48 accessions for the mean branch length of *S. media*. The brighter the

accession number is, the longer the mean branch of the corresponding competitor is, the less competitive effect the *A. thaliana* target accession has.

Figure 3 QTL located on chromosome I whose pleiotropic effects on phenological traits depend on the competition treatment ('C', 'T after S', 'T = S' and 'T before S'). BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: length of reproductive period, END: end of the life cycle. (a) Manhattan plots of the GWA mapping results (MARF > 20%) for a 3.2Mb region located on chromosome I. Colored dots indicate the three top SNPs located in a 2kb region, with SNP 1_12093888 (red dot) being the most significant across the 16 'competition treatment x phenological trait' combinations (SNPs 1_12093928 and 1_12095567 are colored in orange). Dotted line represents the $-\log_{10}(P\text{-value})$ of the Bonferroni threshold. (b) Box-plots illustrating the effects of the top SNP 1_12093888 (polymorphism C/G, physically close to the *de novo* candidate gene *BRNI*) for each 'competition treatment x phenological trait' combination. Box-plots surrounded by a solid and dashed red line correspond to 'competition treatment x phenological trait' combinations for which the effect of SNP 1_12093888 is significant and barely significant at the Bonferroni threshold, respectively (see Fig. 3a). Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the top SNP 1_12093888.

Figure 4 Genomic regions at the beginning of the chromosome IV whose pleiotropic effects on bolting time (BT) and the end of the life cycle (END) depend on the competition treatment ('C', 'T after S', 'T = S' and 'T before S'). Manhattan plots of the GWA mapping results (MARF > 20%) for a 0.34Mb region located on chromosome IV. Blue, purple and pink dots corresponds respectively to (i) SNPs 4_170579 and 4_178820 physically close to the *de novo* candidate gene *CYP86A2* (*At4g00360*); (ii) SNPs 4_286905, 4_287481 and 4_288749 physically close to the *de novo* candidate gene *BSK3* (*At4g00710*) and (iii) SNPs 4_300821 physically close to the *de novo* candidate gene *ANL2* (*At4g00730*). The dotted lines represent the $-\log_{10}(P\text{-value})$ of the Bonferroni threshold.

Figure 5 QTLs associated with phenological variation and specific to a competition treatment ('C', 'T after S', 'T = S' and 'T before S'). Left panel: Manhattan plots of the GWA mapping results (MARF > 20%) for a 0.5Mb region located on the top arm of chromosome II. Green dots indicate the top SNPs 2_8640484, 2_8646214 and 2_8649766 physically close to the *de novo* candidate gene *HBT* (*At2g20000*), and associated with natural variation of flowering interval (INT). Mid- panel: Manhattan plots of the GWA mapping results (MARF > 20%) for a 2Mb region located on the top arm of chromosome II. The green dot corresponds to the top

SNP 2_5675174 associated with natural variation of the length of reproductive period (RP). Left panel: Manhattan plots of the GWA mapping results (MARF > 20%) for a 5Mb region located on the bottom arm of chromosome I. The green dot corresponds to the top SNP 1_21340764 physically close to a *de novo* gene belonging to the MBOAT family (*At1g57600*) and associated with natural variation of the end of the life cycle (END). The dotted lines represent the $-\log_{10}(\text{value})$ of the Bonferroni threshold.

Table 1 Natural variation of nine phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants between the four competition treatments and of one phenotypic trait scored on *S. media* competitor plants ('T after S', 'T = S', 'T before S').

	<i>A. thaliana</i> target plants																		<i>S. media</i>	
	FITTOT		BT		INT		RP		END		DIAM		HMAX		RAMBB		RAMPB_S		COMP	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Block	0.54	0.6671	2.40	0.135	0.18	0.9064	2.80	0.1010	1.46	0.2895	3.01	0.0871	2.30	0.1464	0.06	0.9784	1.13	0.3866	0.46	0.7180
Competition	194.73	<.0001	9.16	0.0043	1.41	0.3019	62.93	<.0001	74.16	<.0001	306.26	<.0001	277.79	<.0001	359.08	<.0001	481.46	<.0001	703.99	<.0001
Accession	3.74	<.0001	41.32	<.0001	9.14	<.0001	11.59	<.0001	15.28	<.0001	7.83	<.0001	5.43	<.0001	5.13	<.0001	3.58	<.0001	1.15	0.2352
Competition x Accession	1.39	0.0004	1.07	0.3023	1.52	0.0004	1.81	<.0001	1.73	<.0001	2.76	<.0001	1.06	0.3297	2.57	<.0001	1.95	<.0001	2.41	<.0001

'Competition' corresponds to the effect of the four competition treatments (i.e. 'C', 'T before S', 'T = S', and 'T after S'). FITTOT: total seed production, BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: length of reproductive period, END: end of the life cycle, DIAM: maximum rosette diameter at flowering, HMAX: maximum height of the plant, RAMBB: number of basal branches, RAMPB_S, number of primary branches with fruits on the main stem, COMP: mean branch length of *S. media*. NB: similar results were obtained by considering only the three treatments with *S. media* (Table S1).

Table 2 Genotypic selection analysis with linear selection gradients (β) for eight phenotypic traits in each competition treatment.

Traits	Competition treatments								
	C		T before S		T = S		T after S		
	β	<i>P</i>	β	<i>P</i>	β	<i>P</i>	β	<i>P</i>	
Linear selection gradients	BT	0.04	ns	0.62	*	-0.04	ns	-0.24	ns
	INT	0.02	ns	0.19	*	-0.03	ns	-0.01	ns
	RP	0.12	ns	<i>0.55</i>	**	-0.01	ns	0.04	ns
	END	0.01	ns	-0.23	ns	0.05	ns	0.34	*
	DIAM	0.01	ns	0.05	ns	0.08	ns	0.13	ns
	RAMBB	0.11	**	0.12	**	0.01	ns	0.03	ns
	RAMPB_S	0.02	ns	0.04	ns	0.12	**	-0.07	*
	HMAX	0.13	**	0.12	*	0.10	ns	0.20	***

BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: length of reproductive period, END: end of the life cycle, DIAM: maximum rosette diameter at flowering, HMAX: maximum height of the plant, RAMBB: number of basal branches, RAMPB_S, number of primary branches with fruits on the main stem. Bold values indicate significant difference with the control treatment, while italic values indicate a significant difference with the 'T = S' treatment. * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

Figure 1

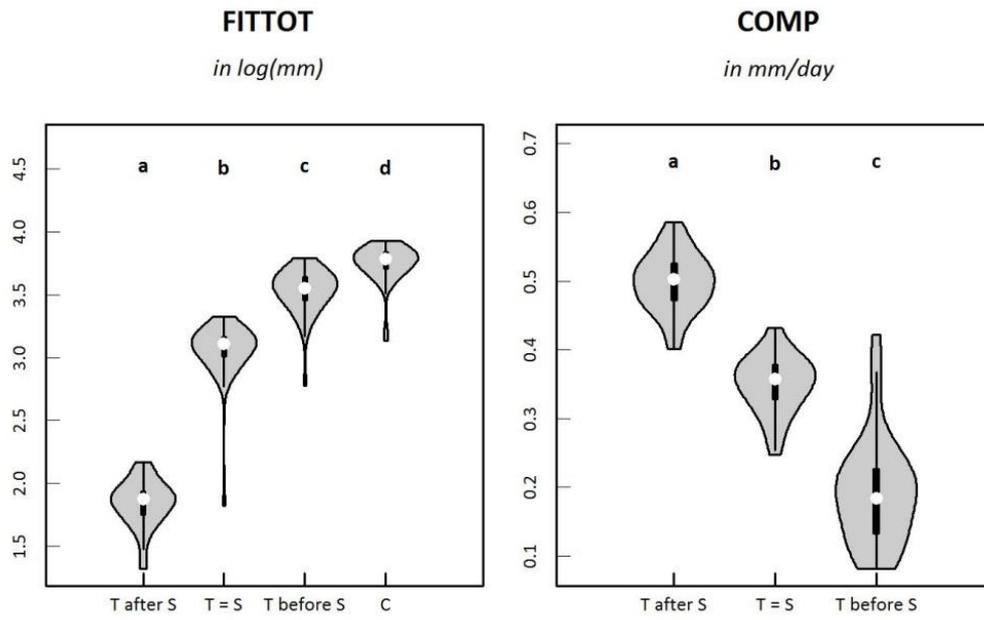


Figure 2

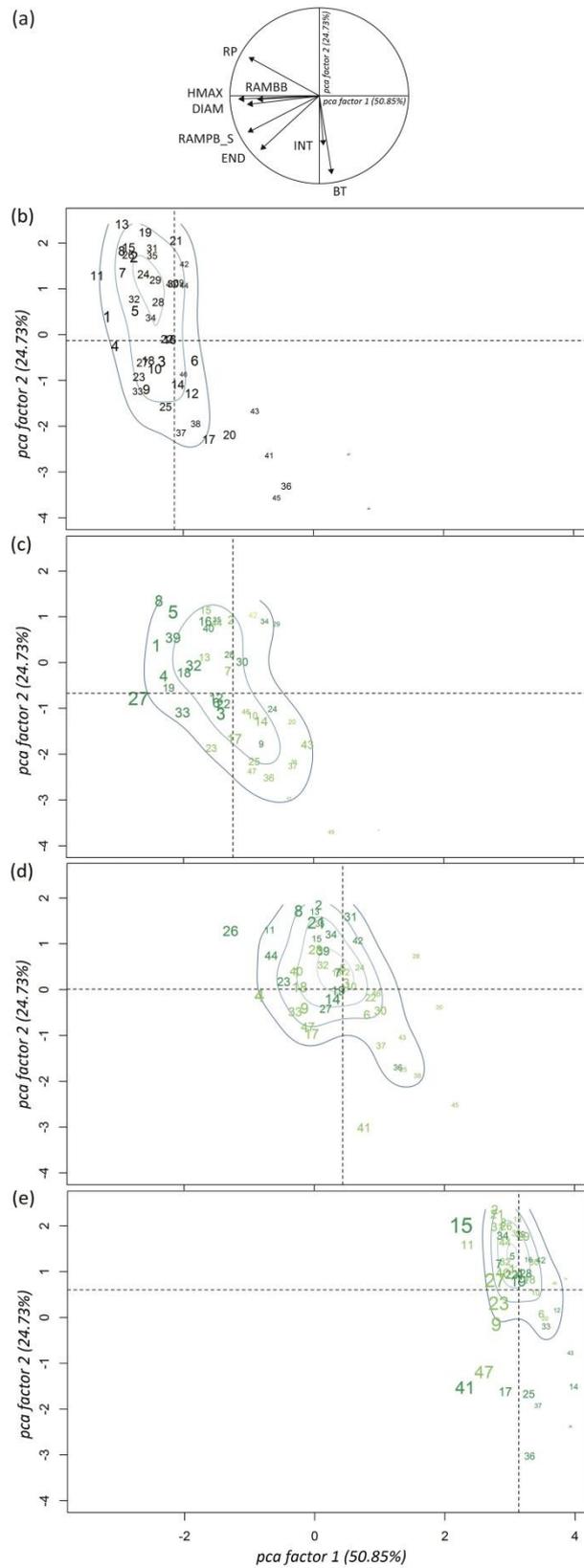


Figure 3

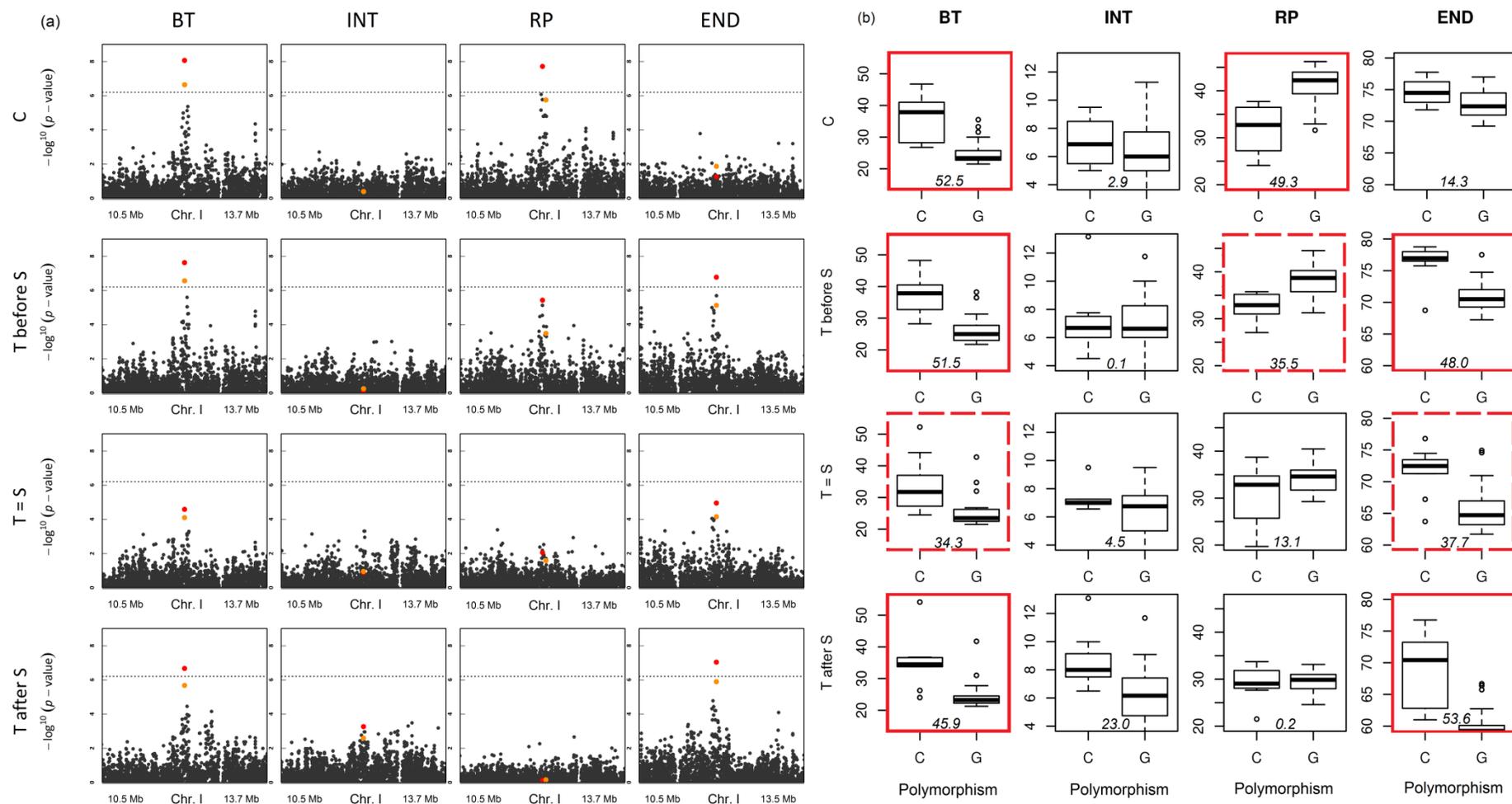


Figure 4

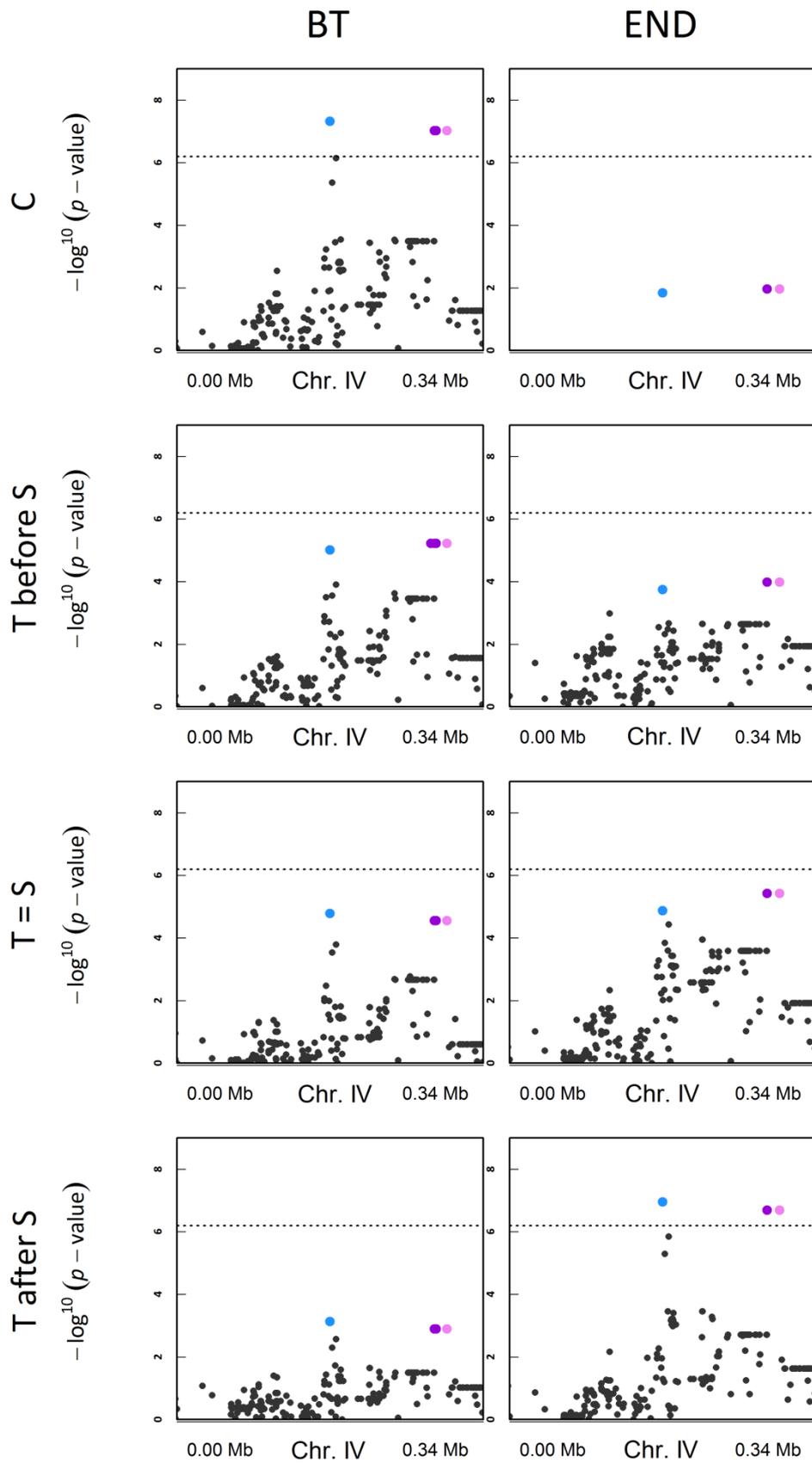
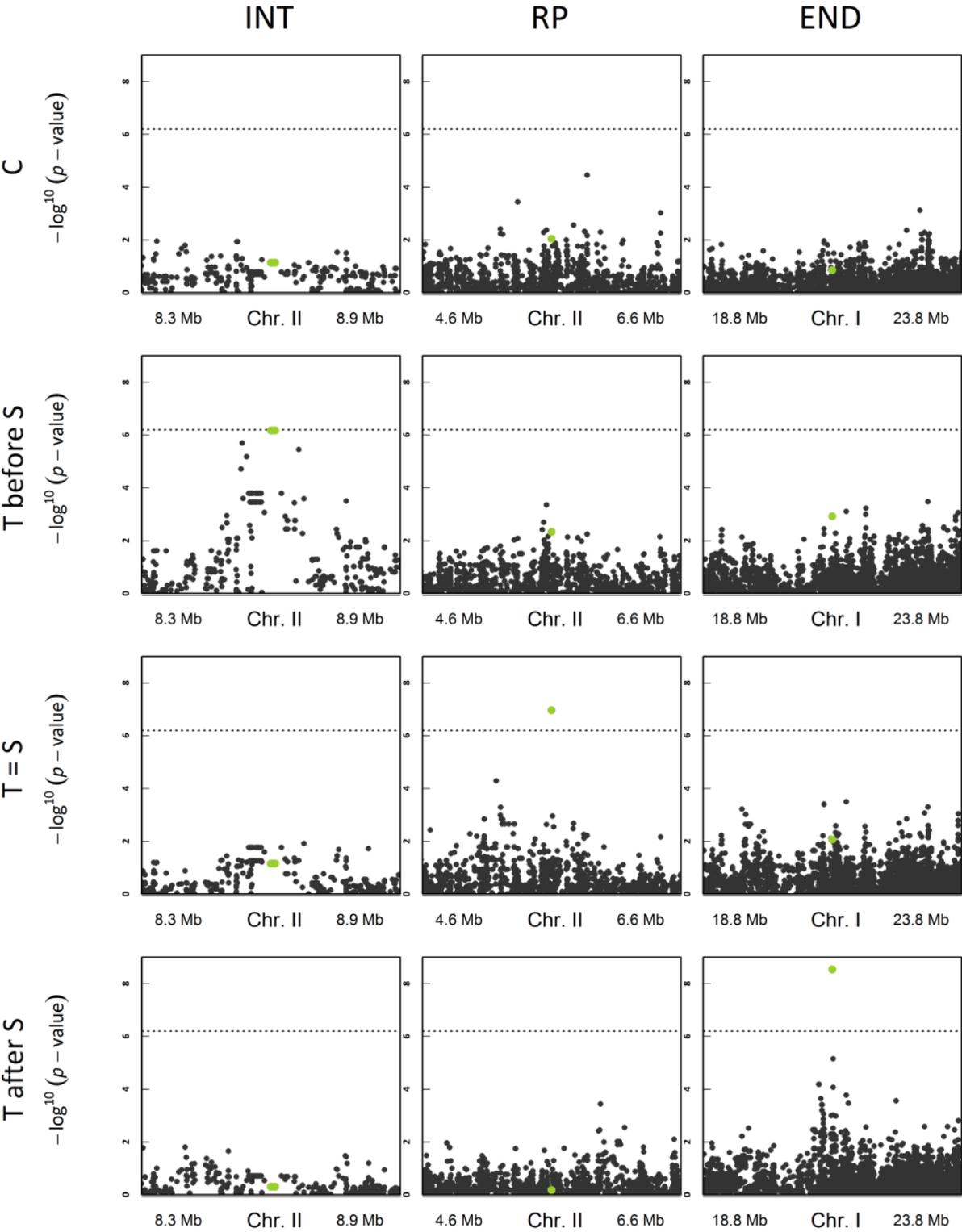


Figure 5



The genetic variability of response to a lag of germination time of competitors leads to different adaptive phenotypic and genomic strategies in a local population of an annual plant species.

Supporting Information

Supplementary methods: Measurement of the COMP trait to estimate the competitive effect of *A. thaliana* on *S. media*.

Phenotyping

1. The length of 164 branches of *S. media* were measured [*BL*] at two dates (7th and 23th May) on several individuals. The three branches emerging from the *S. media* seeds are noted *A1*, ramifications of *A1* are noted *A2* and ramifications of *A2* are noted *A3* (Fig. M1).



Figure M1: *S. media* ramifications *A1* (in red), *A2* (in green), *A3* (not visible).

2. The length of all leaves [*LL*] from all branches and their number [*LN*] were measured (n=1449) at the same time.

Results

We observed strong relationships between the length of branches of *S. media* [*BL*] and either the length of all leaves [*LL*] or the number of leaves [*LN*] (Fig M2). In addition, for [*LL*], there is no significant difference among the plants (Table M1). Because allometric relationships between [*BL*] and either [*LL*] or [*LN*] are well fitted by only considering *A1* branches, we only measured the length of *A1* branches on all *S. media* plants. *A1* mean branch length (i.e. COMP value) was then used to estimate *S. media* vegetative growth (i.e. the competitive effect of *A. thaliana* on *S. media*).

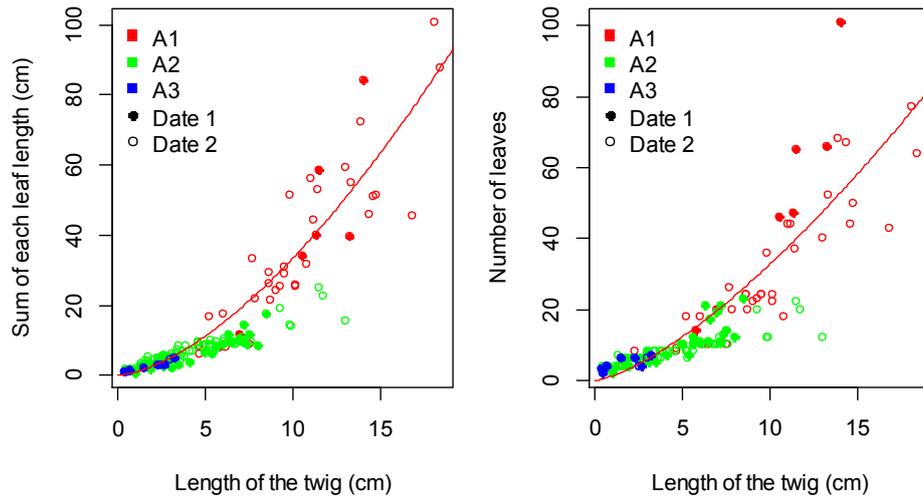


Figure M2: Allometric relationships (left) between $[BL]$ and $[LL]$: $[LL] = 0.89*[SL]^{1.58}$, $R^2=0.95$; and (right) between $[BL]$ and $[LN]$: $[LN] = 1.26*[BL]^{1.42}$; $R^2=0.97$.

Table M1: Results of the variance analysis.

Variable	$[LL]$			$[LN]$	
	Df	F-value	p-value	F-value	p-value
$[BL]$	1	125.0	< 0.001	204.2	< 0.001
Plant	10	0.42	> 0.1	3.31	< 0.01
$[BL] * \text{Plant}$	10	0.70	> 0.1	2.91	< 0.05

Supplementary Figures and Tables

Figure S1. Quantile-Quantile plots of p -values (negative logarithm) representing the excess of strong associations for the traits BT, INT, RP and END, for each competition treatment ('C', 'T before S', 'T = S' and 'T after S'). Solid line: expected, dashed line: observed.

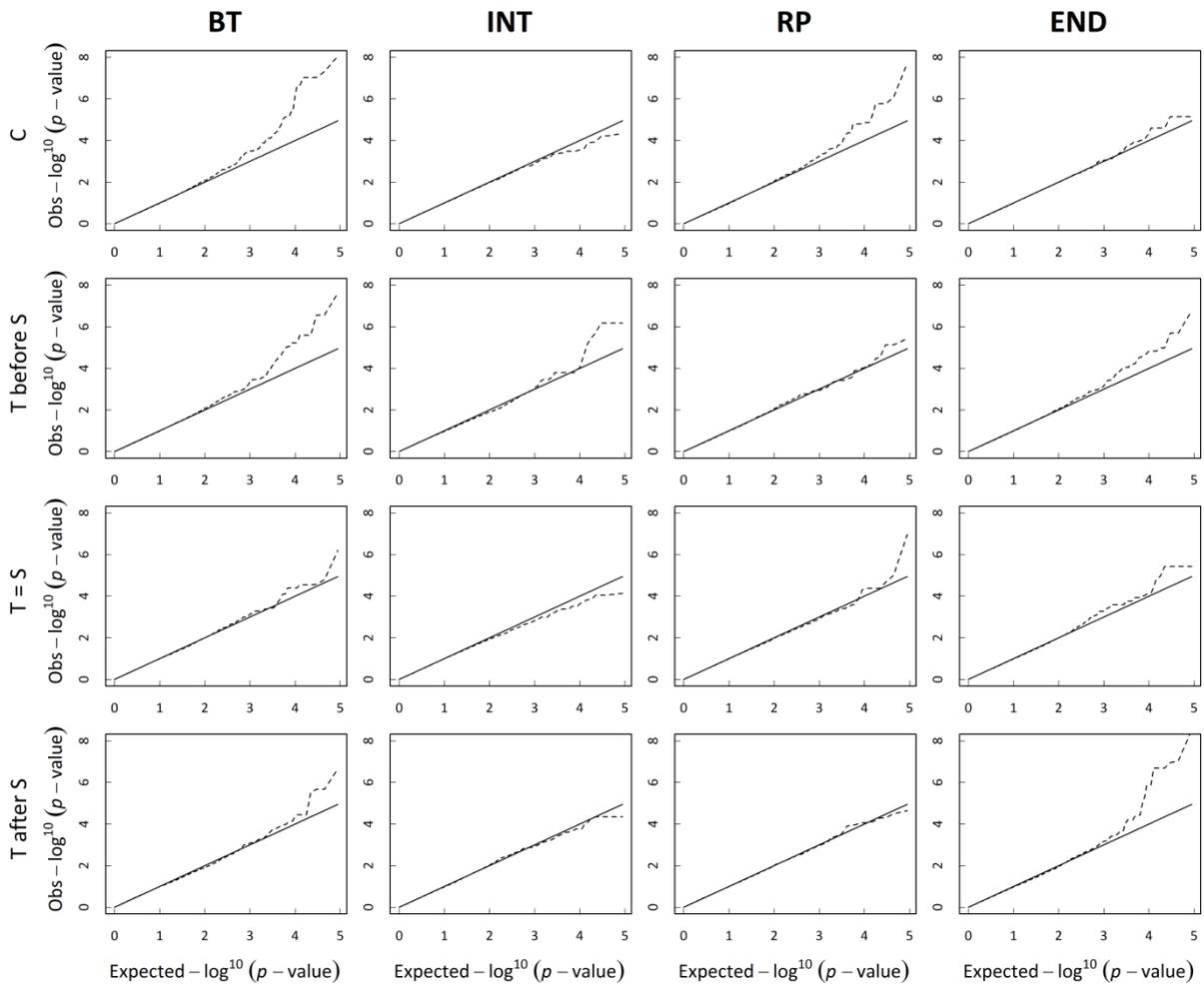


Figure S2. Box-plots illustrating for each competition treatment the effects on bolting time (BT) and the end of life cycle (END) of the four top SNPs 4_286905, 4_287481, 4_288749 (physically close to the *de novo* candidate gene BSK3) and 4_300821 (physically close to the *de novo* candidate gene ANL2). Because these four SNPs are in complete linkage disequilibrium, only the effect of the SNP 4_286905 with a C/G polymorphism is illustrated. Box-plots surrounded by a solid purple line correspond to ‘competition treatment x phenological trait’ combinations for which the effect of SNP 4_286905 is significant at the Bonferroni threshold (see Fig. 4). Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the top SNP 4_286905.

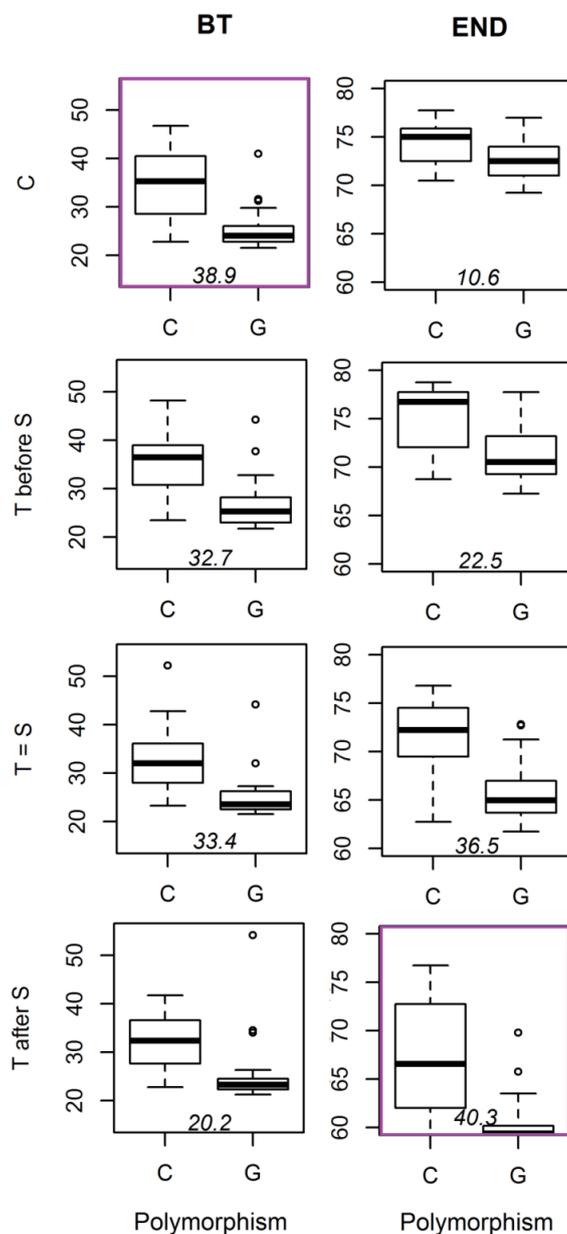


Figure S3. Box-plots illustrating for each competition treatment the effects on bolting time (BT) and the end of life cycle (END) of the two top SNPs 4_170579 and 4_178820 (physically close to the de novo candidate gene CYP86A2). Because these two SNPs are in complete linkage disequilibrium, only the effect of the SNP 4_170579 with a C/G polymorphism is illustrated. Box-plots surrounded by a solid blue line correspond to ‘competition treatment x phenological trait’ combinations for which the effect of SNP 4_170579 is significant at the Bonferroni threshold (see Fig. 4). *Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the top SNP 4_170579.*

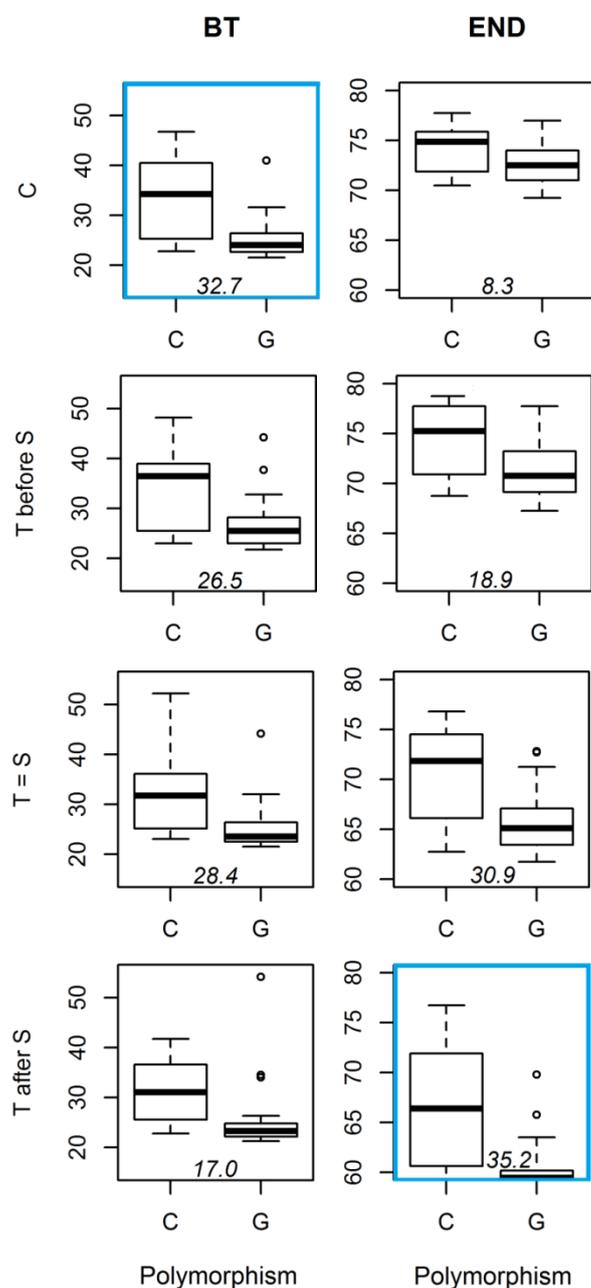


Figure S4. Box-plots illustrating the effects of SNPs that are specific to one ‘phenological trait x competition treatment with *S. media*’ combination. Left panel: Effects on INT of the SNPs 2_8640484, 2_8646214 and 2_8649766 (in complete linkage disequilibrium, polymorphism C/T of SNPs 2_8640484 illustrated on this figure), physically close to the *de novo* candidate gene *HBT*. Mid-panel: Effects on RP of the SNP 2_5675174 (polymorphism A/G). Right panel: Effects on END of the SNP 1_21340764 (polymorphism A/G), physically close to the *de novo* candidate gene *Atlg57600*. . Box-plots surrounded by a solid green line correspond to ‘competition treatment x phenological trait’ combinations for which the effect of SNPs 2_8640484, 2_5675174 and 1_21340764 is significant at the Bonferroni threshold (see Fig. 5). Italic values indicate the percentage of phenotypic variation explained by the corresponding top SNP.

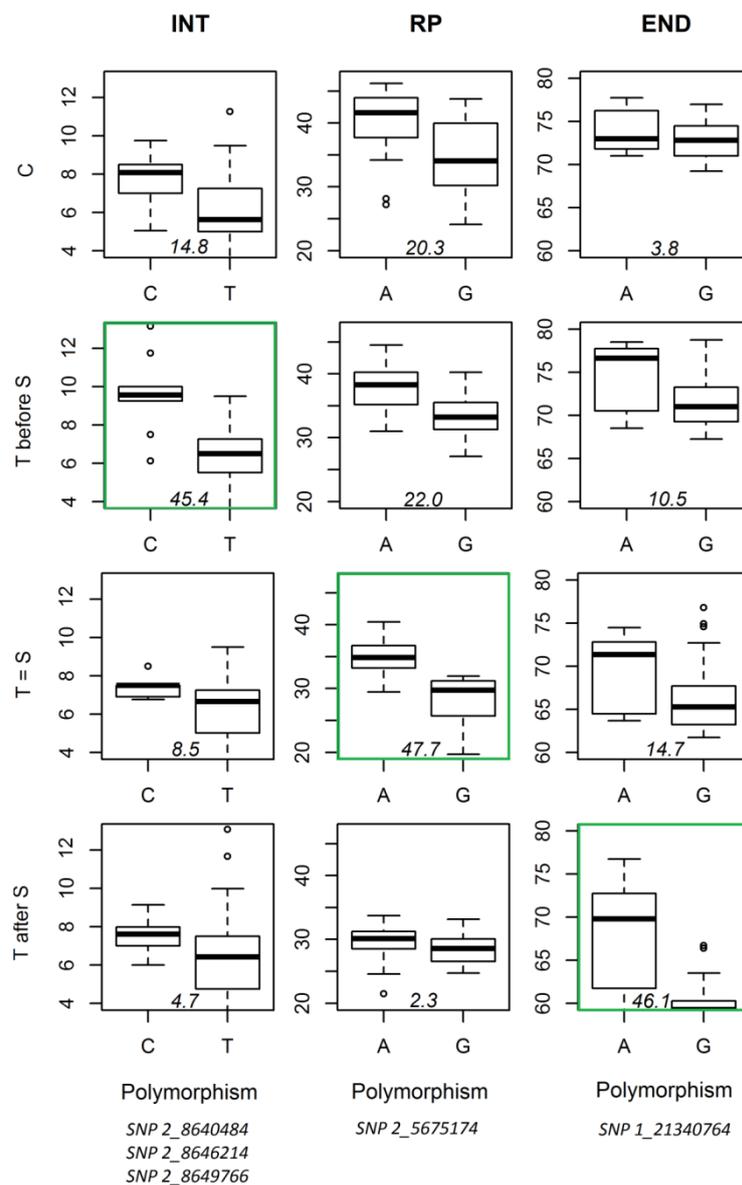


Table S1 Natural variation of nine phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants and of one phenotypic trait scored on *S. media* competitor plant between the three competition treatments with *S. media* ('T after S', 'T = S', 'T before S').

	<i>A. thaliana</i> target plants																<i>S. media</i>			
	FITTOT		BT		INT		RP		END		DIAM		HMAX		RAMBB		RAMPB_S		COMP	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Block	1.73	0.2590	2.30	0.1769	0.83	0.5260	1.71	0.2631	1.24	0.3739	2.59	0.1486	3.82	0.0765	0.50	0.6985	2.00	0.2149	0.46	0.7180
Competition	537.29	<.0001	12.03	0.0080	1.30	0.3397	49.93	0.0010	91.88	<.0001	280.57	<.0001	459.68	<.0001	355.49	<.0001	621.01	<.0001	703.99	<.0001
Accession	3.13	<.0001	27.06	<.0001	6.62	<.0001	6.34	<.0001	13.93	<.0001	6.67	<.0001	4.27	<.0001	3.29	<.0001	2.51	<.0001	1.15	0.2352
Competition x Accession	1.77	<.0001	0.87	0.7997	1.67	0.0010	1.36	0.0214	1.29	0.0481	2.35	<.0001	1.04	0.4000	2.31	<.0001	2.12	<.0001	2.41	<.0001

'Competition' corresponds to the effect of the three competition treatments with *S. media* (*i.e.* 'T before S', 'T = S', and 'T after S') FITTOT: total seed production, BT: bolting time, INT: flowering interval, RP: length of reproductive period, END: end of the life cycle, DIAM: maximum rosette diameter at flowering, HMAX: maximum height of the plant, RAMBB: number of basal branches, RAMPB_S, number of primary branches with siliques on the main stem, COMP: mean branch length of *S. media*.

Conclusion du Chapitre I

La compétition monospécifique permettrait le maintien d'une diversité génétique et fonctionnelle au sein de la population locale TOU-A.

Comprendre les rôles respectifs des processus adaptatifs et stochastiques sous-jacents à la variation génétique observée dans les populations naturelles demeure encore un enjeu en écologie évolutive. Une étude précédente réalisée au sein de l'équipe avait préalablement suggéré que, au sein de 4 régions françaises, une part non-négligeable de la variation génétique observée entre des populations naturelles d'*A. thaliana* était adaptative (Brachi *et al.* 2013). Par les deux études présentées dans ce chapitre et effectuées à une échelle spatiale très fine, j'ai identifié au sein d'une population locale des phénomènes de spécialisation biotique associée à différentes stratégies optimales phénotypiques. Ces processus d'adaptation à une échelle micro-géographique suggéreraient que les variations spatiale (nature des compétiteurs) et temporelle (décalage de semis dans le temps par rapport au compétiteur) de conditions liées à la compétition permettraient le maintien des diversités génétique et fonctionnelle de la population TOU-A, maximisant ainsi son potentiel adaptatif au sein des prochaines cohortes.

Pour une population végétale, il est reconnu que ce maintien de diversité se retrouve dans la banque de graines (Thompson 2000). Celle-ci agit comme un tampon de la variabilité stochastique environnementale. En effet, plus la banque de graines est génétiquement diversifiée, plus les générations successives au sein de la population considérée sont susceptibles de répondre de manière rapide à la variabilité environnementale, permettant ainsi le maintien de cette espèce au sein de la communauté locale. Ce phénomène est d'autant plus important en réponse à des environnements très instables à l'échelle micro-locale (*i.e.* environnement à grain fin dans l'espace et dans le temps), comme le sont les milieux perturbés dans lesquels des espèces rudérales telles que *A. thaliana* ont l'habitude de germer. La régénération des populations d'*A. thaliana* par dispersion temporelle depuis cette banque de graines peut aussi bien contribuer à la structure de la variation génétique que la dispersion dans l'espace (Lundemo *et al.* 2009, Falahati-Anbaran *et al.* 2014).

La réponse à la compétition monospécifique implique différentes bases génétiques au sein d'une population locale.

En combinant ces deux études, pour la première fois à ma connaissance, j'ai détecté vingt-et-un QTLs majeurs liés à des effets génétiques directs ou indirects dans un contexte de compétition interspécifique (tableau 1). Associés à ces QTLs, j'ai proposé neuf gènes candidats potentiellement impliqués dans des voies moléculaires liées à des mécanismes de réponse à la compétition chez *A. thaliana*. Valider fonctionnellement ces gènes, et notamment les trois gènes identifiés par des QTLs en complet déséquilibre de liaison et associés à la biosynthèse et à la signalisation des brassinostéroïdes, serait une première étape qui permettraient d'éclaircir les mécanismes moléculaires associés aux interactions plante-plante. A partir des vingt-et-un QTLs détectés, j'ai pu établir deux catégories de QTLs : des QTLs spécifiques à des environnements de compétition (n = 10) majoritairement trouvés dans la première étude et des QTLs à effets pléiotropes détectés dans différents environnements de compétition majoritairement trouvés dans la deuxième étude (n = 11). Ces résultats suggèreraient que les mécanismes de réponse d'*A. thaliana* à la compétition seraient spécifiques à la stratégie de croissance du compétiteur, et plus finement à l'identité de l'espèce compétitrice. Au contraire, en présence de la même espèce compétitrice, ce n'est plus l'identité des QTLs qui varie selon le décalage de semis mais l'effet de ce QTLs. Il serait intéressant si ce dernier résultat observé pour le décalage de semis est spécifique à *S. media* ou est généralisable à d'autres espèces compétitrices.

J'ai donc montré que les bases génétiques détectées à l'échelle d'une population locale pouvaient fortement varier selon l'environnement de compétition, conditionné par l'identité des compétiteurs, mais aussi par leur dynamique temporelle de germination. Il est aussi fort probable que les bases génétiques associées à la variation naturelle de la réponse à la compétition diffèrent en fonction de changements de conditions abiotiques de type climatique ou édaphique. Par exemple, bien qu'entre la première et la seconde étude, j'ai mesuré les mêmes traits phénotypiques en condition de compétition avec *S. media*, aucun des QTLs de réponse à la compétition de la population TOU-A (dans un cas de semis simultané) sont identiques aux deux expérimentations (tableau 1). Comme précédemment trouvé pour les QTLs de la date de floraison mesurée sur un terrain expérimental et dans des conditions contrôlées de serre (Brachi *et al.* 2010), les différences observées entre mes deux études sont sûrement liées aux nombreux facteurs environnementaux impliqués dans le différentiel

terrain/serre (température, taux d'humidité...). Ce constat m'amène à supposer qu'étant donné que les conditions environnementales sont hétérogènes entre différentes populations naturelles d'*A. thaliana*, les QTLs identifiés différeront sûrement si je réitère ce genre d'étude sur d'autres populations d'*A. thaliana* que TOU-A. C'est pourquoi je pense qu'il est nécessaire de renouveler ce genre d'approche sur d'autres populations locales d'*A. thaliana* - espèce rencontrée dans des environnements très contrastés - pour généraliser ces résultats à l'échelle de l'espèce.

De la compétition monospécifique à la compétition plurispécifique

Dans ce premier chapitre, j'ai étudié le potentiel adaptatif de la population locale TOU-A à la compétition monospécifique, *i.e.* uniquement en considérant des interactions plante-plante entre paire d'individus. Cependant, une plante interagit rarement avec une seule espèce en milieu naturel, et se trouve souvent en conditions de compétition dite plurispécifique. Dans le but d'identifier les mécanismes liés aux interactions plante-plante en se rapprochant au plus près des conditions biotiques naturelles, j'ai cherché à étudier le potentiel adaptatif de la population TOU-A selon différents assemblages de communautés. C'est pourquoi le second chapitre vise à étudier la réponse à la compétition plurispécifique dans une population locale d'*A. thaliana*.

Chapitre II

Etude de la réponse à la compétition plurispécifique dans une
population locale d'*Arabidopsis thaliana*

Introduction du Chapitre II

Dans le cadre de l'étude de la compétition monospécifique au sein d'une population locale d'*A. thaliana*, j'ai montré que les stratégies optimales de réponse et les bases génétiques associées à ces stratégies pouvaient fortement varier selon l'identité des compétiteurs, mais aussi selon leur dynamique temporelle de germination. J'ai ainsi suggéré que les mécanismes moléculaires liés aux interactions plante-plante pouvaient être fortement dépendante d'une condition de compétition monospécifique à une autre. Cependant, *in natura*, une plante-cible peut non seulement subir de manière simultanée des effets directs de plusieurs espèces compétitrices, mais aussi des effets indirects dus à des interactions diffuses entre toutes les espèces d'une communauté (Callaway & Pennings 2000). De ce fait, une condition de compétition monospécifique dans les communautés naturelles est rarement vérifiée, et la situation bien plus souvent rencontrée chez une plante-cible est d'être en condition de compétition plurispécifique.

Bien qu'en écologie des communautés la compétition soit considérée comme un processus-clef pour expliquer les assemblages entre espèces, les mécanismes sous-jacents à la compétition plurispécifique ne sont pas encore bien définis. Notamment, il n'est actuellement pas clair si la résultante de la compétition plurispécifique, qui s'avère être un réseau d'interactions affectant toutes les plantes d'une communauté à des degrés variables, peut être prédite par l'additivité de l'ensemble des compétitions monospécifiques. Par ailleurs, il est reconnu que les communautés végétales peuvent évoluer rapidement et que les changements d'interactions peuvent influencer les réponses évolutives des populations (Thorpe *et al.* 2011). On peut donc se demander s'il est possible d'observer une évolution de la réponse d'une population à la compétition sur une très courte échelle de temps.

En ce sens, dans une première étude ciblée sur la population TOU-A échantillonnée cette fois-ci à deux générations espacées de huit années (*i.e.* approche de résurrection), je me suis d'abord demandé si l'additivité des interactions biotiques mises en jeu dans la compétition plurispécifique pouvait se vérifier. En d'autres termes, peut-on prédire la réponse à la compétition plurispécifique à partir des réponses à la compétition monospécifique ? Parallèlement, je me suis intéressé à l'évolution phénotypique de cette population pour les réponses aux compétitions mono- et plurispécifique ainsi qu'à la prédictibilité de ces réponses.

Prédiction et évolution de la réponse à la compétition plurispécifique dans une population naturelle d'A. thaliana

Dans une première étude portant sur la réponse à la compétition plurispécifique, j'ai considéré les 48 accessions de la population TOU-A récoltée en 2002 (*i.e.* les 48 accessions préalablement utilisées pour les 2 études de réponse à la compétition monospécifique décrites dans le chapitre I), ainsi que 48 autres issues d'une récolte effectuée en 2010. Ces 96 accessions ont été mises en compétition avec trois espèces compétitrices d'*A. thaliana* retrouvées dans cette population naturelle (*Poa annua*, *Stellaria media* et *Veronica arvensis*), selon la totalité des combinaisons d'assemblages de communauté possibles (trois assemblages de compétition monospécifique, sept assemblages de compétition plurispécifique, ainsi que deux traitements contrôles qui correspondent respectivement à une condition de compétition intraspécifique et à l'absence de compétition). Pour chacun de ces 12 traitements, j'ai estimé la réponse d'*A. thaliana* à la compétition en mesurant des traits phénotypiques liés à la phénologie, l'architecture et l'accumulation de biomasse. J'ai de plus mesuré au sein de chaque traitement l'effet de chaque accession d'*A. thaliana* sur l'ensemble des plantes compétitrices en estimant la biomasse sèche de leur partie aérienne.

J'ai identifié une forte variation génétique pour la réponse à la compétition plurispécifique avec des normes de réactions très croisées entre les différents assemblages contenant plus d'une espèce compétitrice, démontrant un potentiel adaptatif de la population TOU-A dans un contexte d'interactions multiples. Que ce soit dans le cadre des compétitions mono- ou plurispécifique, j'ai aussi identifié un maintien de la variation intrapopulationnelle entre les années 2002 et 2010, à la fois pour la réponse d'*A. thaliana* à la compétition et pour l'effet d'*A. thaliana* sur les espèces compétitrices. Ce maintien de variation est néanmoins concomitant à une évolution phénotypique sur moins de 8 générations de la population TOU-A d'*A. thaliana*, vers une plus forte vigueur dans la compétition et un retard de floraison. Cette évolution phénotypique pourrait être expliquée par l'évolution des populations compétitrices présentes au sein de la communauté végétale TOU-A.

Par ailleurs, j'ai démontré que la prédiction de la réponse à la compétition plurispécifique au sein de la population TOU-A est prédictible à partir des réponses à la compétition monospécifique pour les traits de date de floraison et d'architecture. En revanche, cette prédiction n'a pas été observée pour les traits liés à l'accumulation de biomasse : l'ajout d'un paramètre non-additif dans le modèle de prédiction semble nécessaire pour ces traits.

Ces écarts à la prédiction peuvent être expliqués par le fait que certaines interactions entre les espèces constituant les différents assemblages testés n'ont pas été considérées. De plus, j'ai mis en évidence qu'au sein de la population TOU-A certaines accessions étaient plus performantes en conditions de compétition plurispécifique que ce que prévoyait la prédiction à partir des conditions de compétition monospécifique. Ceci démontre certainement des phénomènes d'IIGE (*'Interspecific Indirect Genetic Effects'*, Bailey *et al.* 2014) positifs pour *A. thaliana* mis en jeu dans certaines interactions plante – plante testées dans cette étude.

L'ensemble de ces résultats nous montre donc que, pour une population naturelle d'*A. thaliana*, les interactions changeantes qui sont mises en jeu au sein de différents assemblages d'espèces entraînent des réponses phénotypiques très contrastées entre les 96 accessions, ce qui permettrait un maintien de la variation génétique sous-jacente à la réponse à la compétition plurispécifique. De plus, cette étude suggère que les changements temporels de la communauté végétale TOU-A auraient pu influencer sa réponse à la compétition et son évolution phénotypique. Dans le contexte où les changements de communautés en réponse aux changements climatiques pourraient être plus drastiques que ceux observés dans la population TOU-A entre 2002 et 2010 (Bachelet *et al.* 2001, Liancourt *et al.* 2013, Thompson *et al.* 2013, Baldwin *et al.* 2014), je me suis intéressé dans une seconde étude au potentiel adaptatif de cette population vis-à-vis de changements d'assemblages de communauté en réponse à des facteurs environnementaux liés aux changements globaux. Notamment, étant donné que la variabilité génétique d'une population est considérée comme une composante indicatrice de sa faculté d'adaptation – et qu'elle peut être impactée par des facteurs environnementaux comme le réchauffement et les changements d'assemblage de communautés – je me suis intéressé à la variabilité génétique sous-jacente à la résistance de la population TOU-A à l'arrivée d'une espèce invasive, dans des contextes de communautés qui changent selon leur assemblage et leur richesse spécifique selon deux conditions de température.

Etude du potentiel adaptatif d'une population naturelle d'A. thaliana à l'arrivée d'une espèce invasive selon différents assemblages de communautés et conditions de température

Dans cette nouvelle étude, j'ai considéré dix accessions de la population TOU-A que j'ai sélectionnées afin de recouvrir la variation génétique et la variation phénotypique de réponse à la compétition observée sur l'ensemble des 48 accessions échantillonnées en 2002.

J'ai semé ces 10 géotypes dans 24 environnements de compétition différents. Ces environnements de compétition ont été conditionnés par quatre facteurs environnementaux : (i) la température (15 vs. 25°C pendant la phase diurne), (ii) l'assemblage au sein de la communauté environnante de la plante-cible (3 communautés fonctionnellement proches mais variant d'un point de vue composition spécifique), (iii) la richesse spécifique de la communauté environnante (trois et six espèces retrouvées naturellement avec *A. thaliana*) et (iv) la présence soit d'une espèce régulièrement associée à *A. thaliana* dans les communautés végétales (*Senecio vulgaris*) soit d'une espèce invasive de la population TOU-A et proche phylogénétiquement de *S. vulgaris* : *Senecio inaequidens*. Les plantes focales ont été phénotypées pour leur date de floraison, leur hauteur à la floraison, la biomasse sèche de leur partie aérienne à la floraison et leur ratio hauteur/diamètre pour déterminer leur stratégie de croissance. Pour étudier l'effet d'*A. thaliana* sur les communautés environnantes et les deux espèces de *Senecio*, les biomasses sèches de la partie aérienne de ces communautés environnantes et de ces deux espèces de *Senecio* ont été estimées indépendamment dans les 24 environnements pour chacune des dix accessions.

J'ai trouvé une importante variation génétique pour la réponse d'*A. thaliana* à ces quatre facteurs environnementaux, ainsi que pour l'effet d'*A. thaliana* sur les membres de la communauté environnante et sur les deux espèces de *Senecio*. Ces résultats suggèrent (i) un potentiel adaptatif de cette population pour se maintenir dans ces conditions d'assemblage de communautés et (ii) l'implication d'IIGE dans les interactions entre *A. thaliana* et les autres espèces. Le fait que certaines accessions d'*A. thaliana* semblent mieux résister que d'autres à la présence de *S. inaequidens* pourrait s'expliquer par leur plus grande plasticité phénotypique entre différentes conditions de compétition familière (*i.e.* présence de *S. vulgaris*). Les résultats suggèrent aussi que la résistance d'*A. thaliana* à l'espèce invasive *S. inaequidens* pourrait être facilitée par certains assemblages de communautés variant selon leur composition spécifique. Etant donné que la variance génétique observée entre les 10 accessions d'*A. thaliana* pour l'accumulation de biomasse augmente entre 15°C et 25°C, je suggère que la plus grande résistance d'*A. thaliana* à *S. inaequidens* dans un contexte de réchauffement climatique pourrait être liée par un phénomène d'accroissement de niche de la population focale. En conclusion, dans un contexte de réchauffement climatique, les communautés auxquelles est associée *A. thaliana* peuvent fortement influencer son interaction avec une espèce invasive. En retour, la variation génétique présente au sein d'une population

locale d'*A. thaliana* pourrait moduler certaines interactions plante – plante en réponse à des changements environnementaux.

**Prédiction et évolution de la réponse à la compétition
plurispécifique dans une population naturelle
d'*Arabidopsis thaliana***

Etienne Baron, Juliana Lenglet, Laurent Amsellem et Fabrice Roux

NB : Etude expérimentale dont les phénotypes serviront de support (i) pour de futures analyses de GWA mapping à partir de séquences génomiques et (ii) par la suite, pour la validation fonctionnelle de gènes associés à la variation naturelle de la réponse à la compétition monospécifique et/ou à la variation naturelle de la réponse à la compétition plurispécifique. Ces deux aspects seront intégrés dans la thèse de Léa Frachon (avril 2014 – mars 2017).

Introduction

La compétition est un phénomène essentiellement local (Berger *et al.* 2008), reconnu comme étant l'un des principaux facteurs responsable de la structuration des communautés et déterminant la dynamique de l'écosystème (Aerts 1999 ; Wilson 2007). Elle a lieu lorsqu'une ressource limitée est partagée par plusieurs individus, ce qui peut entraîner une diminution de la croissance, de la survie et/ou du succès reproducteur des individus en compétition (Weigelt *et al.* 2003 ; Wilson, 2007). Chaque plante, individuellement, n'interagit qu'avec ses voisines, sur des distances limitées. L'intensité et l'effet de la compétition décrivent dans quelle mesure la compétition diminue la qualité de l'environnement d'un individu, et les potentielles conséquences pour sa croissance (Weigelt *et al.* 2003). La réponse à la compétition désigne la capacité de la plante-cible à éviter d'être éliminée par les compétiteurs, c'est-à-dire l'architecture locale des adaptations de la plante qui lui permet de se maintenir en présence de compétiteurs (Goldberg *et al.* 1987). On distingue deux types de compétition : interspécifique et intraspécifique. Cette dernière a lieu entre individus d'une même espèce, lorsqu'il existe une corrélation négative entre la densité d'individus et un estimateur de performance telle que la production de biomasse. La compétition interspécifique, quant à elle, dépend de la corrélation entre la diversité des espèces présentes autour de l'individu-cible et sa performance ; il n'y a pas de compétition lorsque cette performance n'est pas corrélée avec la densité ou l'abondance des plantes voisines (Keddy 2001).

L'intensité de la compétition est déterminée par deux processus : (i) les effets des voisins sur la disponibilité des ressources, et (ii) la capacité des individus à tolérer ou compenser ces effets à travers la plasticité. Comme les plantes sont limitées dans leurs mouvements et donc dans leur possibilité de choisir les individus de leur voisinage, la plasticité phénotypique leur permet de maximiser leur probabilité de survie sous différents régimes de compétition. Elles peuvent soit (i) minimiser les rencontres avec les compétiteurs en évitant leurs voisins (Novoplansky *et al.* 1990) ; (ii) maximiser leurs effets compétitifs en confrontant de façon agressive leurs voisins (Fetene 2003) ; ou (iii) tolérer les effets compétitifs de leurs voisins (Novoplansky 2009).

Différentes stratégies peuvent donc être adoptées par les plantes pour faire face à la compétition. Dans ce sens, Baron *et al.* (manuscrit soumis) ont démontré au sein d'une population locale d'*A. thaliana* que les stratégies optimales de réponse à la compétition

étaient fortement dépendantes de l'identité de l'espèce compétitrice. Cependant, cette étude n'était basée que sur des interactions par paire, *i.e.* compétition dite monospécifique, avec une espèce cible mise en compétition avec uniquement une autre espèce. Cependant, une plante est rarement entourée d'une seule espèce *in natura*, mais plutôt d'une communauté d'espèces qui peut affecter un individu-cible de plusieurs manières. En effet, on peut avoir (i) des effets directs des différentes espèces sur l'individu-cible, et (ii) des effets indirects dus à des interactions entre les espèces compétitrices, qui pourraient changer les effets directs de ces espèces sur l'individu-cible (Wootton 1994). Pour étudier la réponse à la compétition dans les populations naturelles, il semble donc plus réaliste de considérer la compétition plurispécifique en tenant compte de la diversité spécifique au sein des communautés. Cependant, la compétition plurispécifique, où l'on retrouve plus de deux espèces en interaction, est pour l'instant relativement peu étudiée. Notamment, au sein d'une communauté végétale, il n'est actuellement pas clair si l'effet d'un environnement plurispécifique sur une plante peut être décrit d'un point de vue additif, c'est-à-dire comme étant le résultat de la somme des effets individuels des interactions monospécifiques constituant cet environnement, ou non. En d'autres termes, un modèle additif est-il suffisant pour prédire la réponse à la compétition plurispécifique à partir de réponses à la compétition monospécifique ?

Dans les études sur la réponse à la compétition chez des espèces végétales, seule la variabilité interspécifique est généralement prise en compte (e.g. Schamp *et al.* 2008). La majorité des études ne considèrent qu'un ou quelques génotypes pour représenter une espèce (Swenson *et al.* 2009), négligeant ainsi la variabilité intraspécifique. Or, il a été montré que négliger cette variabilité peut résulter en une mauvaise interprétation de la dynamique et du fonctionnement réels des communautés (Jung *et al.* 2010 ; deBello *et al.* 2011 ; Albert *et al.* 2012 ; Violle *et al.* 2012). Albert *et al.* (2010) ont en effet mis en évidence une contribution non négligeable (30%) de la variabilité intraspécifique à la variabilité fonctionnelle globale des traits (étude réalisée dans des écosystèmes alpins). Notamment, il est reconnu que le phénotype et la valeur sélective d'une espèce peuvent varier en fonction de l'identité génotypique des individus d'une autre espèce avec qui elle interagit. A l'échelle intraspécifique, ces effets génétiques indirects (Indirect Genetic Effects, IGEs ; Moore *et al.* 1997 ; Wolf *et al.* 1998 ; Bailey *et al.* 2009 ; Wolf *et al.* 2011 ; Bailey *et al.* 2014) et à l'échelle interspécifique ces effets génétiques indirects interspécifiques (Interspecific Indirect Genetic Effects, IIGEs ; Shuster *et al.* 2006 ; Genung *et al.* 2011 ; Rowntree *et al.* 2011;

Whitlock *et al.* 2011; Genung *et al.* 2012, Genung *et al.* 2013) ont été démontrés dans de nombreuses études ciblant les interactions plante-plante. On constate également que dans de nombreuses études empiriques portant sur l'effet de la variabilité intraspécifique sur la structure des communautés, les individus étudiés proviennent de plusieurs populations différentes (Ehlers & Thompson 2004; Gustafson *et al.* 2004; Cahill, *et al.* 2005; Bossdorf, *et al.* 2009; Willis, *et al.* 2010). Or, comme énoncé ci-dessus, une plante interagit de manière très proximale avec les autres plantes au sein d'une même communauté. Nous supposons donc que pour estimer correctement la variabilité intraspécifique de la réponse à la compétition, celle-ci doit être étudiée à l'échelle de la population comme proposé dans certaines études (Turkington & Harper 1979; Aarssen & Turkington 1985; Kelley & Clay 1987; Aarssen 1989; Taylor & Aarssen 1990; Lüscher *et al.* 1992; Vavrek 1998; Fridley *et al.* 2007) mais en considérant un nombre assez représentatif de génotypes par population.

Très récemment, en se basant sur 48 génotypes d'*A. thaliana*, nous avons mis en évidence une très forte variation génétique au sein même d'une population locale pour la réponse à la compétition au Mouron des Oiseaux (*Stellaria media*, Caryophyllaceae), à la Véronique des Champs (*Veronica arvensis*, Plantaginaceae), au Trèfle Pied-de-lièvre (*Trifolium arvense*, Fabaceae) et au Pâturin annuel (*Poa annua*, Poacées ; Baron *et al.* manuscrit soumis).

N'étant qu'une première étape, nous ne nous sommes intéressés qu'à la compétition monospécifique. Dans l'étude ci-dessous, nous nous sommes par la suite tout naturellement intéressés à la réponse à la compétition plurispécifique. Plus précisément, en utilisant toujours *A. thaliana* comme espèce cible et 3 autres espèces communément associées à *A. thaliana* dans les communautés végétales en France (*P. annua*, *S. media* et *T. arvense*), nous nous sommes intéressés aux questions suivantes :

- Existe-il une variation naturelle intra-populationnelle de la réponse à la compétition monospécifique, mais surtout de la réponse à la compétition plurispécifique ?
- Peut-on prédire la réponse à une compétition plurispécifique à partir des réponses individuelles de compétition monospécifique ?
- Les effets de la compétition plurispécifique sur une espèce peuvent-ils être décrits comme une fonction additive simple des effets des espèces prises par paire ?

Par ailleurs, les communautés végétales évoluant au cours du temps par modification du cortège d'espèces les constituant, nous avons adopté une approche de résurrection (Franks *et al.* 2008) en utilisant des accessions d'*A. thaliana* collectées dans une même population naturelle et issues de générations bien distinctes pour étudier l'évolution de la réponse à la compétition et sa prédictibilité au cours du temps.

Matériels et méthodes

MATERIEL VEGETAL

Dans cette étude, nous avons de nouveau considéré la population TOU-A située à Toulon-sur-Arroux (Saône-et-Loire, 46°38'53.80"N - 4° 7'22.65"E). En mars 1995, une haie a été arrachée entre deux prairies permanentes sur une longueur de 350 m. Après un travail superficiel du sol, une clôture électrique a été plantée à la place de l'ancienne haie. La première observation de la présence d'*A. thaliana* dans cette population date d'avril 2000. Les graines de 83 accessions (population TOU-A1) et de 115 accessions (population TOU-A6) ont été échantillonnées en 2002 et 2010, respectivement, soit 8 générations d'écart entre les populations TOU-A1 et TOU-A6. Ces accessions sont issues d'un échantillonnage réalisé sur un transect de 300 m, au sein duquel les graines des accessions ont été collectées au minimum tous les 50 cm sous la clôture électrique (TOU-A1 : distance moyenne entre deux accessions = 1,9 m \pm 2,5 m ; TOU-A6 : distance moyenne entre deux accessions = 2,8 m \pm 1.6 m). Durant cette étude, quatre-vingt-seize accessions ont été utilisées : 48 accessions TOU-A1 et 48 accessions TOU-A6. Les accessions TOU-A1 sélectionnées pour notre étude correspondent aux 48 accessions utilisées dans les deux études sur la réponse à la compétition monospécifique (chapitre I). Parmi les 115 accessions TOU-A6, les 48 accessions ont été choisies de telle sorte qu'elles soient les plus proches géographiquement des 48 accessions TOU-A1.

Lors de notre expérimentation, ces 96 accessions ont été placées avec 3 espèces que l'on retrouve régulièrement associées à *A. thaliana* dans les communautés végétales naturelles françaises (base de données sur les mauvaises herbes en France, <http://www2.dijon.inra.fr/bga/umrbga/> ; Audrey Muratet, MNHN, comm. pers.) et notamment dans la communauté végétale TOU-A (Fabrice Roux, obs. pers.) :

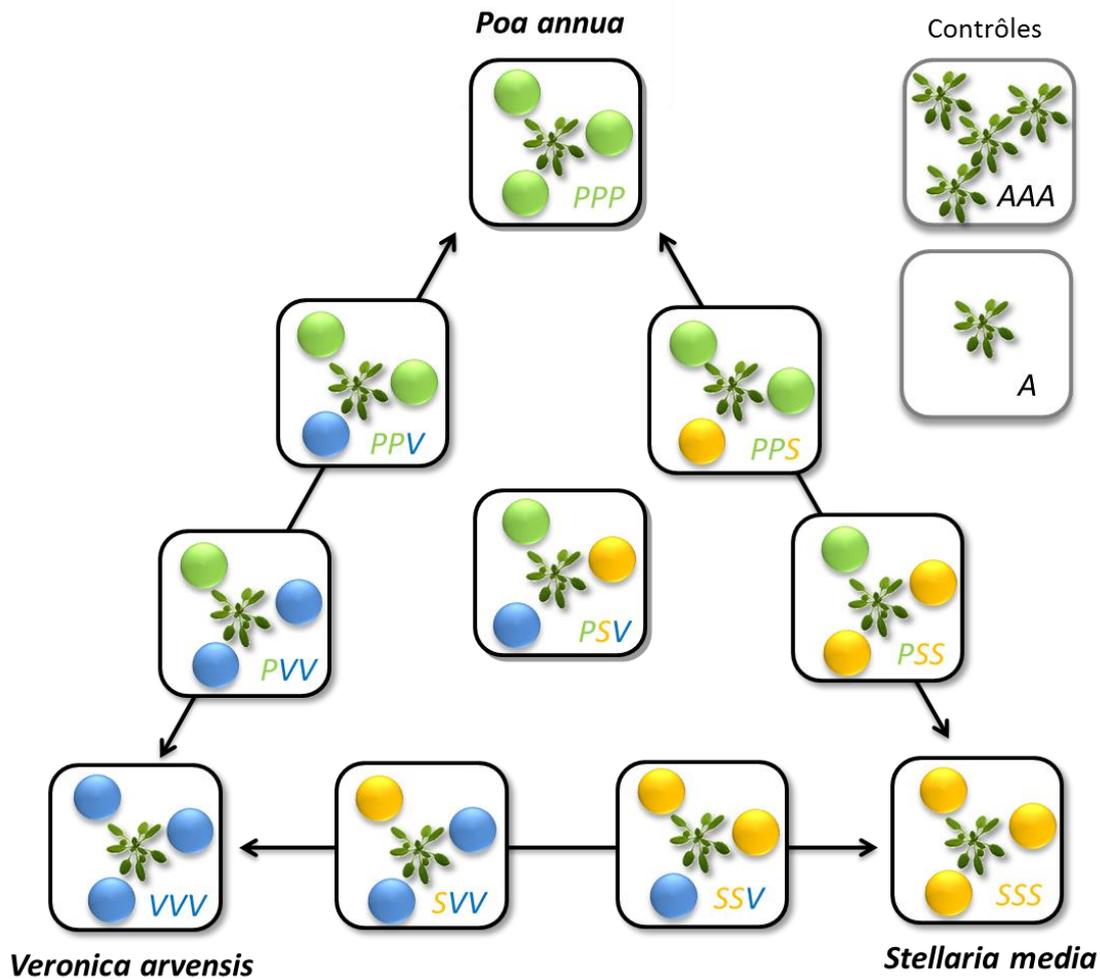


Figure 1. Schéma des 12 traitements de compétition; "S" : *S. media*, "V" : *V. arvensis*, "P" : *P. annua*, "A" : *A. thaliana*.

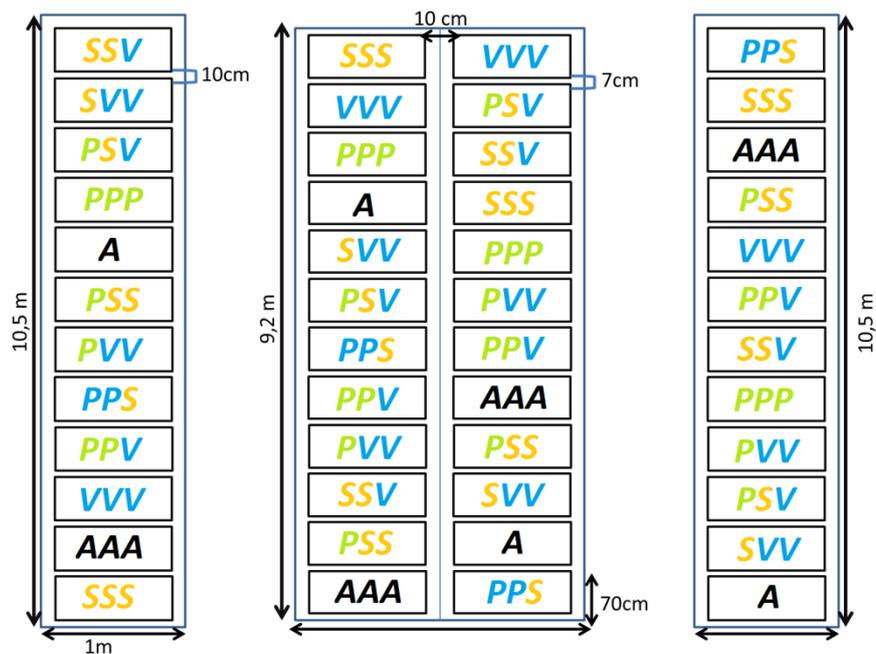


Figure 2. Répartition des traitements dans les 4 blocs du split-plot design arrangé en RCBD; "S" : *S. media*, "V" : *V. arvensis*, "P" : *P. annua*, "A" : *A. thaliana*.

- *Poa annua* (Poaceae), le pâturin annuel, plante herbacée annuelle cespiteuse.
- *Stellaria media* (Caryophyllaceae), le mouron des oiseaux, plante annuelle herbacée à port étalé.
- *Veronica arvensis* (Plantaginaceae), la véronique des champs, plante annuelle à port érigé ou dressé.

Ces trois espèces ont été commandées à la société "*Herbiseed*" (<http://www.herbiseed.com>), sous forme de graines pour lesquelles la variation génétique intraspécifique est faible.

DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Afin d'étudier la réponse à la compétition plurispécifique associée aux 96 accessions de l'espèce-cible (*A. thaliana* ; notée A), nous avons utilisé 3 compétiteurs situés dans le même pot de culture que la plante-cible. Ces compétiteurs peuvent appartenir aux espèces *P. annua* (P), *S. media* (S) et *V. arvensis* (V). Un schéma expérimental disposé en *split-plot* (parcelles divisées) et arrangé en RCBD (*Randomized Complete Block Design*) a été réalisé avec 4 blocs et 12 traitements par bloc pour un total de 4608 plantes d'*A. thaliana* et 12 672 plantes compétitrices. Ces 12 traitements correspondent à (Fig. 1) :

- 1 traitement sans compétition, dénoté A.
- 1 traitement de compétition intraspécifique, dénoté AAA, où une plante cible a été mise en compétition avec 3 plantes ayant le même génotype (*i.e.* compétition intra-génotype), afin de comparer la compétition intra- et inter-spécifique.
- 10 traitements, de compétition interspécifique monospécifique ou plurispécifique (2 ou 3 espèces) : PPP, PPS, PPV, PSS, PVV, PSV, SSS, SSV, SVV, VVV.

La disposition des traitements a été randomisée dans les blocs, ainsi que les pots dans les traitements (Fig. 2). Chaque traitement de chaque bloc contenait donc 96 pots, correspondant aux 96 accessions utilisées, randomisés et disposés en quinconce.

Les semis des 4 espèces étudiées ont été réalisés le 17 Janvier 2013, sur du terreau de semis de la marque "Neuhaus", dans des pots carrés de 7 cm de côté ayant un volume de 250 cm³, à l'aide de patrons en carton. Ces patrons ont été réalisés de manière à ce que les graines des compétiteurs soient disposées aux trois coins d'un triangle équilatéral de 3,5 cm de côté avec la plante-cible disposée en son centre, à 2 cm de chaque compétiteur. Pour chaque plante, environ 5 graines ont été semées. A l'issue de 2 démariages, ou repiquages des

compétiteurs en cas de non germination, (réalisés de 11 à 13 jours après le semis, puis de 18 à 20 jours après le semis), une seule plante a été conservée pour chacune des 4 positions par pot. La culture de ces espèces a été réalisée dans une serre de l'Université de Lille 1, avec une température moyenne de 21°C et une photopériode de 16h. L'ensemble de l'expérience a duré 91 jours, du semis à la récolte des dernières plantes.

TRAITS MESURES

Quand une plante-cible d'*A. thaliana* commençait à fleurir, nous avons mesuré **6 traits phénotypiques** sur cette plante:

- deux traits phénologiques : la date de germination puis la date de floraison, nous permettant d'obtenir l'**âge de floraison** : nombre de jours séparant la floraison de la germination. (Lors de la dernière récolte, 1,82% des plantes n'ayant pas fleuri, la date de dernière récolte leur a été affectée comme date de floraison).
- un trait lié à la dispersion (Wender *et al.* 2005) et à l'évitement de la compétition (Dorn *et al.* 2000) chez *A. thaliana* : la **hauteur de la première fleur** (mm) (hauteur depuis la base de la plante jusqu'à la base du pétiole de la première fleur),
- deux traits caractérisant l'accumulation de ressources :
 - **Diamètre** (mm/jour): le plus grand diamètre de la rosette, rapporté à l'âge de floraison. Ce trait nous donne une information sur la croissance moyenne quotidienne de la rosette de la plante-cible depuis la germination jusqu'à la floraison,
 - **Biomasse d'*A. thaliana*** (g/jour, précision au dixième de milligramme) : la biomasse sèche de la partie aérienne, rapportée à l'âge de floraison, ce qui nous donne une indication sur la biomasse moyenne quotidienne accumulée par la plante-cible depuis la germination jusqu'à la floraison. Pour ceci, les plantes ont été séchées dans une étuve, pendant 48h à 60°C.
- deux traits caractérisant la stratégie de réponse à la compétition :
 - **Hauteur / diamètre** : correspond au ratio de la hauteur de la première fleur sur le diamètre de la rosette, rapporté à l'âge de floraison, pour déterminer si la plante cherche plutôt à recouvrir les espèces compétitrices (ratio < 1, stratégie de recouvrement) ou si elle tend à échapper à ses compétiteurs (ratio > 1, stratégie d'échappement).

- **Biomasse / diamètre** : correspond au ratio de la masse sèche de la plante-cible sur le diamètre de celle-ci, rapporté à l'âge de floraison. Si ce ratio est faible, nous nous attendons à ce que la plante possède des feuilles plutôt longues et/ou fines, ce qui signifierait qu'elle chercherait plutôt à recouvrir les compétiteurs pour mieux capter la lumière notamment; alors que s'il est élevé, alors la plante aura plutôt des feuilles petites mais larges et/ou épaisses, ce qui signifierait qu'elle chercherait plutôt à éviter la compétition foliaire.

Quand une plante-cible d'*A. thaliana* commençait à fleurir, nous avons aussi mesuré deux traits liés aux assemblages de plantes compétitrices :

- un trait caractérisant l'accumulation de ressources : la **biomasse totale des compétiteurs** (g/jour, précision au dixième de milligramme) : la biomasse sèche de la partie aérienne des compétiteurs de chaque pot, rapportée à l'âge de floraison de la plante-cible. Ceci nous donne une indication sur la biomasse moyenne quotidienne accumulée par les compétiteurs, depuis la germination jusqu'à la floraison de la plante-cible.
- un indice d'intensité de compétition : le recouvrement de la plante-cible. Celui-ci a été estimé visuellement et s'échelonne selon 6 valeurs qui correspondent à des intervalles de pourcentage de recouvrement : 0 (pas de recouvrement), 1 (1 à 25% de la surface d'une plante cible d'*A. thaliana* recouverte par les autres plantes), 2 (26-50%), 3 (51-75%), 4 (76-99%) et 5 (100%).

ANALYSES STATISTIQUES

Variation génétique naturelle de la réponse à la compétition

Afin d'étudier la variation génétique intrapopulationnelle de la réponse à la compétition monospécifique et plurispécifique chez *A. thaliana*, nous avons utilisé des modèles linéaires mixtes (procédure *PROC MIXED*, SAS version 9.3, Institute Inc. Cary, NC, USA) combinant des effets fixes et aléatoires pouvant être hiérarchisés. Pour modéliser les 6 traits mesurés sur les plantes cibles *A. thaliana* (âge de floraison, hauteur de la première fleur, diamètre, biomasse d'*A. thaliana*, hauteur / diamètre et biomasse / diamètre), nous avons utilisé le modèle suivant (**MODELE 1**) :

Tableau 1. Détail des effets testés dans le MODELE 1.

	Facteur testé	Signification biologique / écologique
Effets Fixes	Bloc	Evaluer la variation micro-environnementale potentiellement présente dans la serre.
	Traitement	Tester l'influence des différents assemblages d'espèces sur l'espèce-cible.
	Génération	Identifier de possibles différences dans la réponse et / ou l'effet compétitif entre les 2 générations (TOU-A1 / TOU-A6)
	Traitement x Génération	Déterminer si la réponse moyenne des plantes issues des 2 générations est différente selon le traitement.
	Germination (Traitement)	Déterminer si le nombre de jours écoulés entre la date de semis et la date de germination a une influence sur les différents traits considérés.
	Recouvrement (Traitement)	Donne une information sur l'impact de la variation de l'intensité de la compétition au sein des traitements.
Effets aléatoires	Accession (Génération)	Evaluer s'il existe une variabilité intraspécifique entre les différentes accessions d' <i>A. thaliana</i> . Cet effet est imbriqué dans l'effet "Génération" car nous considérons 48 accessions TOU-A1 et 48 accessions TOU-A6
	Traitement x Accession (Génération)	Déterminer si les accessions des 2 générations réagissent différemment en fonction des traitements de compétition.

$$Y_{ijklmn} = \mu_{trait} + bloc_i + traitement_j + bloc_i * traitement_j + génération_k + traitement_j * génération_k + accession_l(génération_k) + traitement_j * accession_l(génération_k) + germination_m(traitement_j) + recouvrement_n(traitement_j) + \varepsilon_{ijklmn}$$

Dans ce modèle, "Y" correspond à un des 6 traits phénotypiques, " μ " est le moyenne générale, " ε " est le terme résiduel. La signification biologique de tous les autres facteurs est décrite dans le Tableau 1.

Afin d'étudier la variation génétique intrapopulationnelle de l'effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs, nous avons utilisé le même modèle avec "Y" correspondant au trait "**biomasse des compétiteurs**", mais sans tenir compte de l'effet "Recouvrement (Traitement)" afin d'éviter toute redondance entre la masse sèche des compétiteurs et le recouvrement associé à ces derniers.

Nous avons utilisé le *LRT* ("*Likelihood Ratio Test*") pour tester la significativité des 2 effets aléatoires. Ainsi, nous avons comparé le **MODELE 1** cité précédemment à 2 autres modèles n'incluant pas soit l'effet "Accession (Génération)", soit l'effet "Traitement x Accession (Génération)". Pour ceci, nous avons utilisé.

Afin de vérifier que les effets observés à partir de notre modèle complet (**MODELE 1**) n'étaient pas dus uniquement au traitement sans compétition (*i.e.* traitement "A"), nous avons également fait tourner ces modèles en ne prenant pas en compte le traitement "A" (**MODELE 2**),

Dans le but d'essayer d'ordonner les traitements de compétition monospécifique (AAA, PPP, SSS et VVV) dans leurs effets sur *A. thaliana*, nous avons utilisé des tests de Tukey basés sur le modèle complet cité précédemment (**MODELE 1**). Nous avons ainsi comparé les paires de traitements monospécifiques, pour chaque trait d'accumulation de biomasse, car nous nous attendons à ce que les valeurs de ceux-ci diminuent avec l'augmentation de l'intensité de la compétition.

Pour estimer la valeur génotypique de chaque accession pour chaque trait phénotypique, et ceci pour chacun des 12 traitements de compétition, nous avons estimé les *LSmeans* ("*Least Square Means*") à partir du modèle suivant (**MODELE 3**) :

$$Y_{ilmn} = \mu_{trait} + bloc_i + accession_l + germination_m + recouvrement_n + \varepsilon_{ilmn}$$

Pour la **biomasse des compétiteurs**, nous avons retiré l'effet "Recouvrement (Traitement)", pour la même raison qu'expliquée précédemment.

Afin de visualiser les effets significatifs des interactions "Génotype x Environnement" (ce qui correspond dans notre cas aux interactions "Accession x Traitement"), nous avons tracé à partir de ces valeurs génotypiques les normes de réaction des 96 accessions TOU-A1 et TOU-A6 en fonction des 12 traitements de compétition pour chaque trait. Afin d'identifier les accessions les plus plastiques ou les moins plastiques, nous avons calculé pour chaque accession un coefficient de variation des *LSmeans* sur l'ensemble des 12 traitements (Valladares *et al.* 2006), et ceci pour chaque trait.

Prédictions

Dans un premier temps, nous avons utilisé les valeurs génotypiques estimées dans les traitements de compétition monospécifique (PPP, VVV et SSS) pour calculer, pour chaque accession, des valeurs prédites dans les traitements de compétition plurispécifique. Pour ceci, nous avons considéré que, dans un traitement de compétition plurispécifique, chacune des 3 plantes compétitrices entourant *A. thaliana* représentait 1/3 de l'effet compétitif subi dans le pot par la plante-cible, indépendamment de l'identité de l'espèce compétitrice. Par exemple, pour les traitements PSV et PVV, nous avons calculé la valeur prédite pour chaque trait à l'aide des formules suivantes en se basant sur les valeurs génotypiques obtenues dans les traitements de compétition monospécifique :

$$\text{PSVprédit} = \frac{1}{3} \text{PPPobservé} + \frac{1}{3} \text{SSSobservé} + \frac{1}{3} \text{VVVobservé}$$

$$\text{PVVprédit} = \frac{1}{3} \text{PPPobservé} + \frac{2}{3} \text{VVVobservé}$$

Dans un deuxième temps, les relations entre valeurs observées et valeurs prédites dans les traitements de compétition plurispécifique ont été visualisées et peuvent correspondre à 4 cas différents (Fig. 3) :

- Cas n°1 : la pente de la relation entre les valeurs observées et les valeurs prédites n'est pas différente de 1, de même pour la corrélation entre ces valeurs. Dans ce cas, notre modèle vérifie bien l'additivité sur l'ensemble de la population (pente non différente de

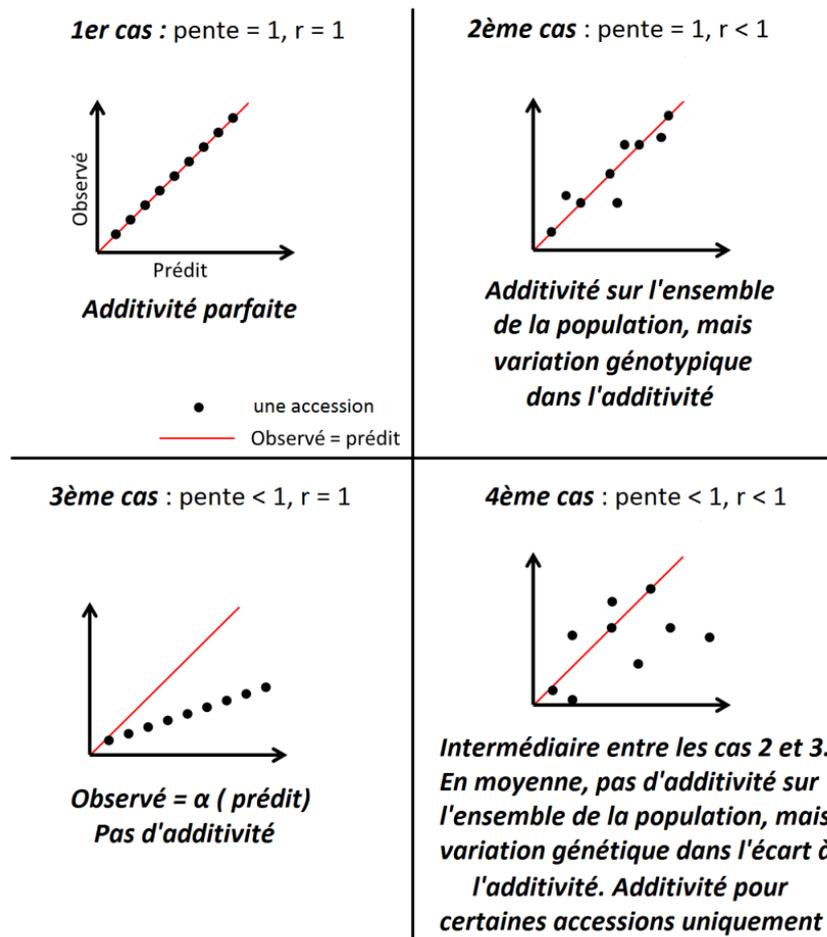


Figure 3. Représentation schématique des différents cas possibles de relations entre valeurs observées et valeurs prédites. La lettre 'r' représente la corrélation entre les valeurs observées et prédites. L'additivité est représentée par la droite rouge, correspondant à une pente de 1 (valeurs observées = valeurs prédites). Les points noirs correspondent à différentes accessions.

1), et la variation génétique dans l'écart à l'additivité est négligeable (corrélation non différente de 1).

- Cas n°2 : la pente de la relation entre les valeurs observées et les valeurs prédites n'est pas différente de 1, mais la corrélation entre ces valeurs est inférieure à 1. Dans ce cas, notre modèle vérifie l'additivité sur l'ensemble de la population (pente non différente de 1), mais nous observons une variation génétique dans l'écart à l'additivité (corrélation inférieure à 1).
- Cas n°3 : la pente de la relation entre les valeurs observées et les valeurs prédites est inférieure à 1, mais la corrélation entre ces valeurs n'est pas différente de 1. Dans ce cas, notre modèle ne vérifie pas l'additivité sur l'ensemble de la population (pente inférieure à 1), et nous n'observons pas de variation génétique dans l'écart à l'additivité (corrélation non différente de 1).
- Cas n°4 : la pente de la relation entre les valeurs observées et les valeurs prédites est inférieure à 1, de même pour la corrélation. Dans ce cas, notre modèle ne vérifie pas l'additivité sur l'ensemble de la population (pente inférieure à 1), et nous observons une variation génétique dans l'écart à l'additivité (corrélation inférieure à 1).

Pour différencier ces 4 cas, deux approches statistiques ont été abordées :

1. Pour tester un modèle additif sur l'ensemble de la population, nous avons tout d'abord estimé les écarts à la prédiction en calculant la différence entre les valeurs génotypiques observées et les valeurs génotypiques prédites pour chaque accession et chaque traitement. Nous avons rapporté cette différence aux valeurs prédites afin d'obtenir un écart à la prédiction exprimé en pourcentage des valeurs prédites, pour nous affranchir des différences d'échelles entre traits, et ainsi nous permettre de pouvoir comparer les traits entre eux. Pour chaque combinaison "Génération x Traitement", nous avons donc obtenu une distribution des écarts à la prédiction. Pour tester si ces écarts à la prédiction sur l'ensemble de la population étaient dépendants du traitement et/ou évoluaient au cours du temps, nous avons utilisé un modèle de type *General Linear Model* (GLM) (**MODELE 4**) :

$$Y_{jk} = \mu_{trait} + traitement_j + génération_k + traitement_j * génération_k + \varepsilon_{jk}$$

Pour ce modèle, les pourcentages ont été transformés en arcsinus, afin de satisfaire un pré-requis des modèles linéaires. Afin d'identifier les combinaisons

"Génération x Traitement" qui dévient significativement du modèle additif sur l'ensemble de la population, la moyenne des écarts à la prédiction a été comparée à la valeur 0 pour chaque génération de chaque traitement en utilisant un test-t de Student (hypothèse nulle H_0 : la moyenne des écarts à la prédiction n'est pas différente de 0). Ce test va nous permettre de déterminer si nous nous écartons du modèle additif. En effet, si nous avons une moyenne des écarts à la prédiction non différente de 0, alors ceci revient à dire que la pente de la relation entre les valeurs observées et les valeurs prédites n'est pas différente de 1. Dans ce cas, nous pouvons considérer que nous avons une additivité (Fig. 3, cas n°1 et 2). Afin d'identifier dans quels traitements de compétition plurispécifique nous observons une évolution temporelle significative de l'écart à la prédiction, nous avons testé un effet 'Génération' pour chaque traitement de compétition plurispécifique (**MODELE 5**).

2. Pour mettre en évidence une variation génétique dans l'écart aux prédictions, nous avons calculé les coefficients de corrélation de Pearson entre les valeurs observées et les valeurs prédites pour chaque combinaison "Génération x Traitement" (package *stats*, R 2.13.2, R Development Core Team 2011). Un coefficient de corrélation non-différent (Fig. 3, cas n°1 et n°3) et différent de 1 (Fig. 3, cas n°2 et n°4) indiquerait respectivement une absence et une présence de variation génétique dans l'écart à la prédiction. En effet, plus la corrélation entre les valeurs observées et les valeurs prédites est forte, et moins la variabilité dans l'écart à l'additivité est importante entre les accessions. Nous pourrions donc observer, par exemple, une additivité au niveau de l'ensemble de la population (pente proche de 1), mais avec une forte variation génétique (corrélation inférieure à 1) (Fig. 3, cas n°2). Afin de savoir si la variation génétique de l'écart à l'additivité varie au cours du temps pour un traitement donné, nous avons comparé les coefficients de corrélation de Pearson entre les 2 générations (*r.test* du package *psych*, R 2.13.2, R Development Core Team 2011).

Finalement, afin de tester si les écarts à la prédiction pouvaient être reliés à la biomasse des compétiteurs, nous avons calculé des coefficients de corrélation de Spearman entre les écarts à la prédiction et la biomasse des compétiteurs (package *stats*, R 2.13.2, R Development Core Team 2011), et ceci pour chaque traitement en nous basant sur les valeurs des 96 accessions. Etant donné la relation non-linéaire entre écarts à la prédiction

Tableau 2. Variation naturelle de la réponse et de l'effet d'*A. thaliana* dans des conditions de compétition monospécifique et plurispécifique (résultats du MODELE 1). Le LRT indique les valeurs obtenues à partir du *Likelihood Ratio Test*, nous permettant de tester la significativité des effets aléatoires représentés en italique. Les lignes grisées représentent les facteurs permettant de prendre en compte les sources de variation environnementale. Les effets significatifs après correction de Bonferroni sont surlignés en gras. ns : non significatif, ne : non estimé.

	Diamètre		Biomasse <i>A. thaliana</i>		Âge de floraison		Hauteur de la première fleur		Hauteur/diamètre		Biomasse / diamètre		Biomasse des compétiteurs	
	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>	<i>F ou LRT</i>	<i>P</i>
Bloc	6.16	0.0019	5.87	0.0025	4.32	0.0113	0.90	ns	2.38	ns	6.25	0.0018	4.22	0.0134
Traitement	8.67	<.0001	5.25	<.0001	3.17	0.0004	1.76	ns	1.18	ns	3.61	<.0001	27.69	<.0001
Génération	2.12	ns	2.54	ns	8.96	0.0035	6.57	0.0120	9.05	0.0034	1.19	ns	13.04	0.0005
Traitement x Génération	5.91	<.0001	8.95	<.0001	2.20	0.0127	1.22	ns	1.81	0.0489	9.28	<.0001	694.1	<.0001
<i>Accession (Génération)</i>	553.9	<.0001	543	<.0001	2441	<.0001	601.2	<.0001	1912.4	<.0001	448.2	<.0001	468	<.0001
<i>Accession (Génération) x Traitement</i>	343.5	<.0001	577.7	<.0001	33.9	<.0001	68.6	<.0001	29.2	<.0001	499.4	<.0001	11.62	<.0001
Germination (Traitement)	5.38	<.0001	21.35	<.0001	4.4	<.0001	1.97	0.0227	1.66	ns	18.65	<.0001	6.63	<.0001
Recouvrement (Traitement)	6.31	<.0001	5.37	<.0001	9.26	<.0001	27.36	<.0001	17.98	<.0001	15.61	<.0001	ne	ne

Tableau 3. Comparaison de la réponse à la compétition entre les 4 traitements de compétition monospécifique pour les traits d'accumulation de biomasse de la plante-cible. Ce tableau présente les résultats des tests de Tukey sur les paires de traitements de compétition monospécifique. Les tests significatifs après correction de Bonferroni (seuil = 0,05 / 6 = 0,00833) sont surlignés en gras. En deuxième partie de tableau sont présentés les 4 traitements de compétition monospécifique. Différentes lettres indiquent des valeurs phénotypiques significativement différentes entre 2 traitement de compétition monospécifique.

	Diamètre		Biomasse <i>A. thaliana</i>		Biomasse / diamètre	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
AAA-PPP	-0.86	0.3897	-2.78	0.0055	-3.34	0.0009
AAA-VVV	-2.84	0.0062	-2.98	0.0040	-2.67	0.0100
AAA-SSS	10.8	<.0001	15.18	<.0001	12.63	<.0001
PPP-VVV	-0.42	0.6721	1.32	0.1869	1.95	0.0517
PPP-SSS	6.07	<.0001	10.55	<.0001	10.13	<.0001
SSS-VVV	-13.13	<.0001	-17.6	<.0001	-14.88	<.0001
VVV		a		a		ab
PPP		ab		a		a
AAA		b		b		b
SSS		c		c		c

et biomasse des compétiteurs, le calcul du coefficient de corrélation de Spearman a été préféré au calcul du coefficient de corrélation de Pearson.

Résultats

REPONSE D'A. THALIANA A LA COMPETITION

Lorsque nous ne considérons pas le traitement sans compétition ("A", *A. thaliana* seule) dans les analyses statistiques (**MODELE 2**), nous retrouvons des effets similaires à ceux trouvés lorsque tous les traitements de compétition sont pris en compte (**MODELE 1**). Ceci nous indique que la significativité des effets obtenus à partir du modèle complet (**MODELE 1**) n'est pas seulement due au traitement sans compétition, mais bien à l'ensemble des différents assemblages de compétiteurs. Nous arrivons donc aux mêmes conclusions biologiques, que nous prenions ou non en compte le traitement sans compétition. Par conséquent, dans la suite de cette partie, nous présenterons uniquement les résultats issus du modèle complet (**MODELE 1**) qui prend en compte le traitement sans compétition.

Effet de l'identité de l'espèce compétitrice et de l'assemblage des communautés

Les résultats issus du **MODELE 1** (Tableau 2) indiquent la présence d'un effet "Traitement" pour 4 traits liés à la réponse d'*A. thaliana* à la compétition (phénologie : **âge de floraison**, accumulation de biomasse : **diamètre et biomasse d'A. thaliana**, stratégie de compétition : ratio **biomasse / diamètre**), et pour le trait lié à l'effet d'*A. thaliana* sur les compétiteurs (*i.e.* **biomasse des compétiteurs**). Ceci indique donc des réponses phénotypiques moyennes sur l'ensemble des 96 accessions d'*A. thaliana* qui sont fonction des assemblages d'espèces compétitrices (Fig. 4 et 5). Par exemple, nous constatons que, aussi bien pour la génération TOU-A1 que pour la génération TOU-A6, le **diamètre** moyen des plantes-cibles d'*A. thaliana* placées en compétition avec 3 plantes de *P. annua* (PPP) est supérieur à celui des plantes-cibles en compétition avec 2 plantes de *P. annua* et une plante de *S. media* (PPS), lui-même supérieur à celui des plantes-cibles en compétition avec 3 plantes de *S. media* (SSS) (Fig. 4).

Pour les traits liés à l'accumulation de biomasse, comme le **diamètre**, la **biomasse** de la plante-cible, et le ratio **biomasse / diamètre**, nous avons voulu ordonner les traitements de compétition monospécifique suivant leur intensité. Les tests de Tukey réalisés pour les paires

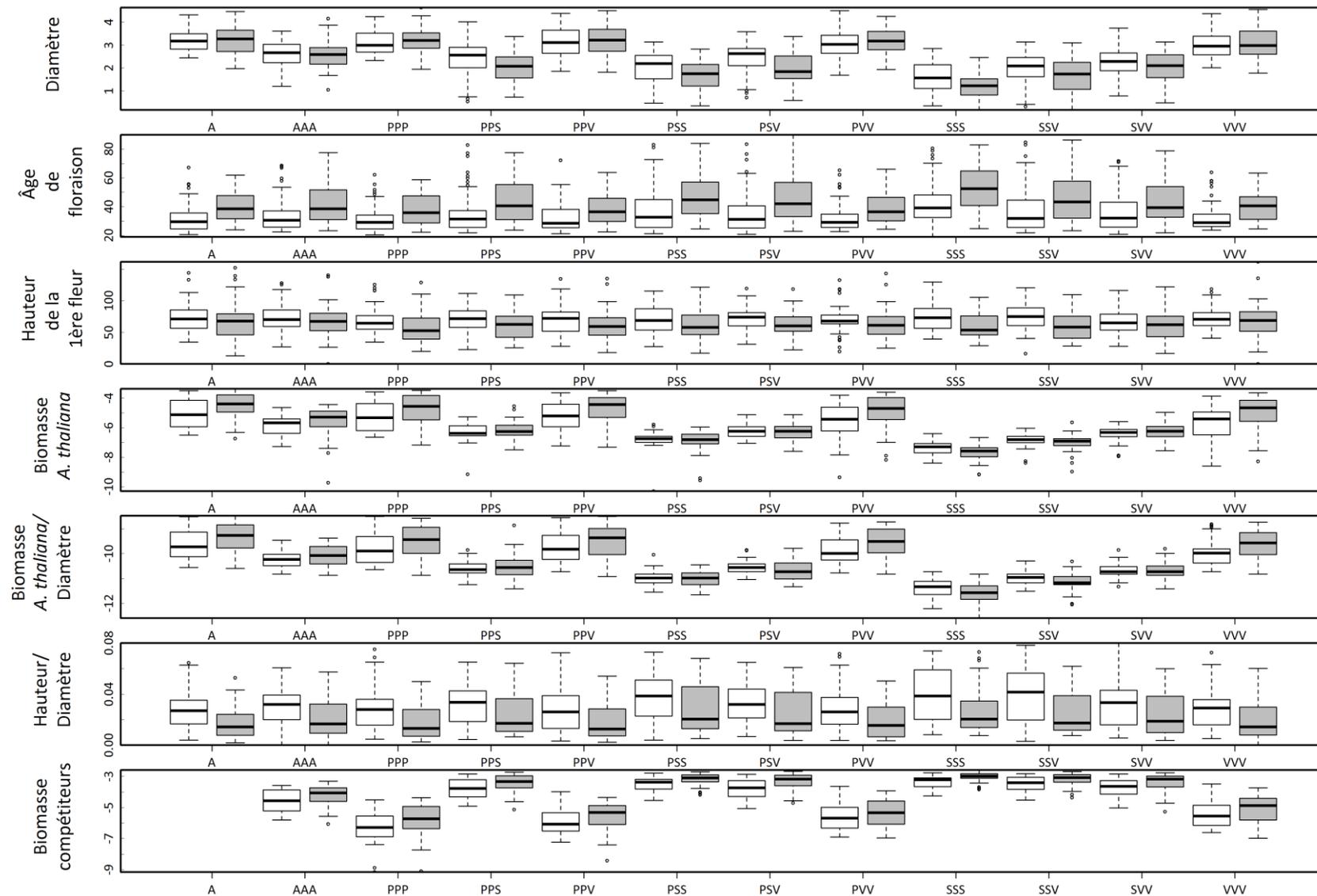


Figure 4. *Variation génétique naturelle de la réponse et de l'effet d'*A. thaliana* dans des conditions de compétition monospécifique ou plurispécifique.* Boxplots représentant la distribution de l'ensemble des valeurs génotypiques sous forme simplifiée avec la médiane (trait noir épais) ainsi qu'une boîte s'étendant du quartile 0,25 au quartile 0,75. Ces valeurs génotypiques sont représentées pour les 7 traits phénotypiques mesurés dans cette étude, pour chacun des 12 traitements, et pour les 2 générations (blanc : TOU-A1, gris : TOU-A6). Pour les traits "Biomasse d'*A. thaliana*", "Biomasse / diamètre" et "Biomasse des compétiteurs", les données sont présentées en logarithme décimal.

de traitement de compétition monospécifique nous indiquent la tendance suivante dans la hiérarchie de ces traitements : $VVV = PPP \leq AAA < SSS$ (Tableau 3). En effet, l'intensité de la compétition intraspécifique s'avère plus forte que l'intensité de la compétition interspécifique avec *P. annua* et *V. arvensis*, mais beaucoup moins forte que l'intensité de la compétition interspécifique avec *S. media* (Fig. 4 et 5). Par exemple, nous constatons qu'en moyenne, le **diamètre** des plantes-cibles placées en compétition intraspécifique (AAA) est inférieur à ceux des plantes-cibles placées en compétition interspécifique avec *P. annua* ou *V. arvensis* (qui eux diffèrent peu). Lorsque les plantes-cibles sont placées en compétition avec *S. media*, ce **diamètre** est encore inférieur à celui des plantes-cibles placées en compétition intraspécifique.

Variation génétique intrapopulationnelle

Les résultats du **MODELE 1** (Tableau 2) indiquent un effet "Accession (Génération)" et un effet "Traitement x Accession (Génération)" très significatif pour les 6 traits mesurés sur les plantes cibles *A. thaliana*. Ceci nous indique, au sein des 2 générations, non seulement une large variation génétique dans la réponse à la compétition sur l'ensemble des traitements mais aussi une large variation génétique dans les normes de réaction de réponse à la compétition. En effet, pour chaque génération, des accessions présentent des normes de réaction plus ou moins importantes. Par exemple, pour le **diamètre** de la rosette (Fig. 5a), nous pouvons constater que certaines accessions sont très plastiques, alors que d'autres le sont peu, leur **diamètre** variant respectivement beaucoup ou peu entre les 12 traitements de compétition.

De même, la **biomasse des compétiteurs** varie de manière très significative selon les différentes accessions de chaque génération (effet "Accession (Génération)" dans le **MODELE 1** ; Fig. 5b). Comme pour la réponse à la compétition, nous observons donc une variation génétique dans la capacité compétitrice d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs (Fig. 5b, Tableau 2). Les interactions "Accession (Génération) x Traitement", elle-aussi très significatives pour la **biomasse des compétiteurs**, indique une importante variation génétique dans les normes de réaction de ce trait entre les 11 traitements où *A. thaliana* est en présence d'autres plantes (Tableau 2). Par ailleurs, ces interactions "Accession (Génération) x Traitement" très significatives sont illustrées par des normes de réaction croisées, avec le rang des accessions pour la biomasse des compétiteurs qui change suivant le traitement considéré, et ceci quelque soit la génération considérée (Fig. 5b).

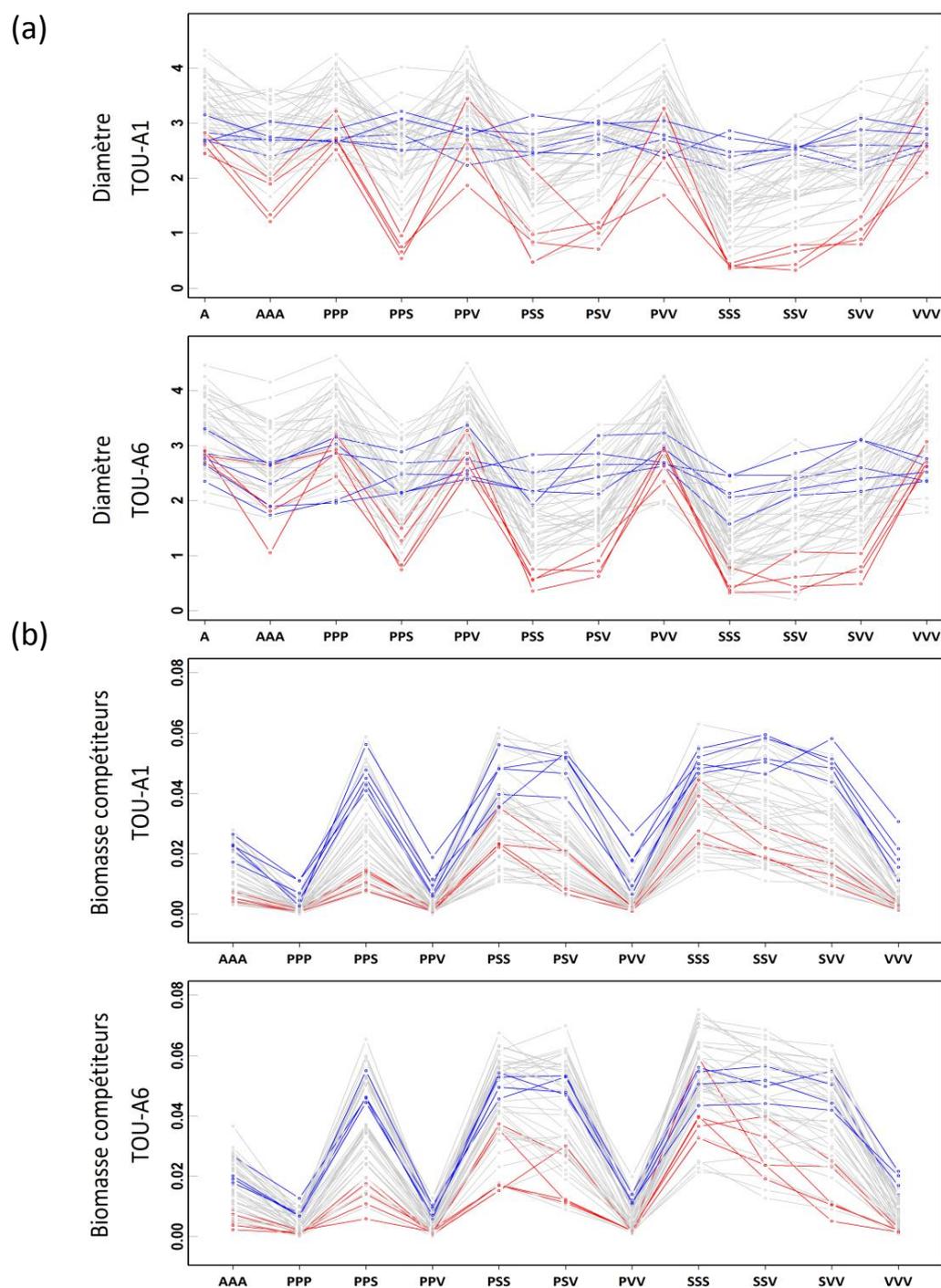


Figure 5. Variation naturelle des normes de réaction d'*A. thaliana* pour les traits (a) "diamètre" et (b) "biomasse des compétiteurs". En abscisse sont indiqués les 12 traitements pour le diamètre, et uniquement 11 traitements pour la biomasse des compétiteurs (car pour le traitement "A", *ie.* *A. thaliana* seule, il n'y a aucun compétiteur). En ordonnée, le trait "diamètre" est exprimé en mm/jour et le trait "biomasse des compétiteurs" est exprimé en g/jour. Pour chaque trait sont représentées les 48 accessions de la génération TOU-A1 (haut) et les 48 accessions TOU-A6 (bas). Les accessions avec les plus forts et les plus faibles coefficients de variation calculés sur l'ensemble des traitements sont indiqués respectivement en bleu et en

Evolution temporelle

Lorsque nous ne prenons en compte que le traitement "A" (*i.e.* sans compétition), nous trouvons un effet "Génération" pour seulement 2 traits mesurés sur *A. thaliana*. Concernant l'**âge de floraison**, celui-ci augmente de la génération TOU-A1 à la génération TOU-A6 ($F = 12,25$, $P = 0,0007$), alors que sur le même intervalle de temps le ratio **hauteur / diamètre** diminue ($F = 10,44$, $P = 0,0017$).

A partir du modèle complet (**MODELE 1**) (Tableau 2), nous retrouvons un effet "Génération" mais aucune interaction "Génération x Traitement" significative n'a été détectée pour ces 2 traits ; alors que nous trouvons un effet très significatif de l'interaction "Génération x Traitement" pour 4 traits : **diamètre de la rosette**, **biomasse d'*A. thaliana***, ratio **biomasse / diamètre** et **biomasse des compétiteurs**. L'observation au sein de la population TOU-A d'une évolution de la réponse à la compétition entre les 2 générations est donc dépendante du traitement de compétition considéré. Par exemple, la **biomasse d'*A. thaliana*** diminue entre les générations TOU-A1 et TOU-A6 pour les traitements dominés par *S. media* (SSS et SSV); alors qu'elle augmente pour des traitements dominés par *P. annua* et/ou *V. arvensis* (PPP, VVV, PPV et PVV ; Fig. 4). De même, l'observation d'une évolution de l'effet d'*A. thaliana* sur ses compétiteurs entre les 2 générations est dépendante du traitement de compétition considéré. Par exemple, la **biomasse des compétiteurs** évolue peu entre les 2 générations pour les traitements dominés par *S. media* (SSS, PSS et SSV) alors qu'elle augmente pour des traitements présentant *P. annua* et/ou *V. arvensis* (PPP, VVV, PPV ; Fig. 4).

PREDICTION DE LA REponse A LA COMPETITION PLURISPECIFIQUE

Ecart à la prédiction sur l'ensemble de la population TOU-A

Pour chaque trait, la distribution des écarts à la prédiction (c'est-à-dire la différence entre les valeurs génotypiques observées et les valeurs génotypiques prédites exprimée en pourcentage des valeurs prédites) a été représentée sous la forme d'un *Violin plot* pour chaque combinaison "Génération x Traitement" (Fig. 6). Suite à l'observation de ces *Violin plots*, nous constatons que les écarts au modèle additif sur l'ensemble de la population TOU-A dépendent du trait considéré (Fig. 6). Par exemple, il semble que ceux-ci soient moins importants pour l'**âge de floraison** que pour la **biomasse d'*A. thaliana***.

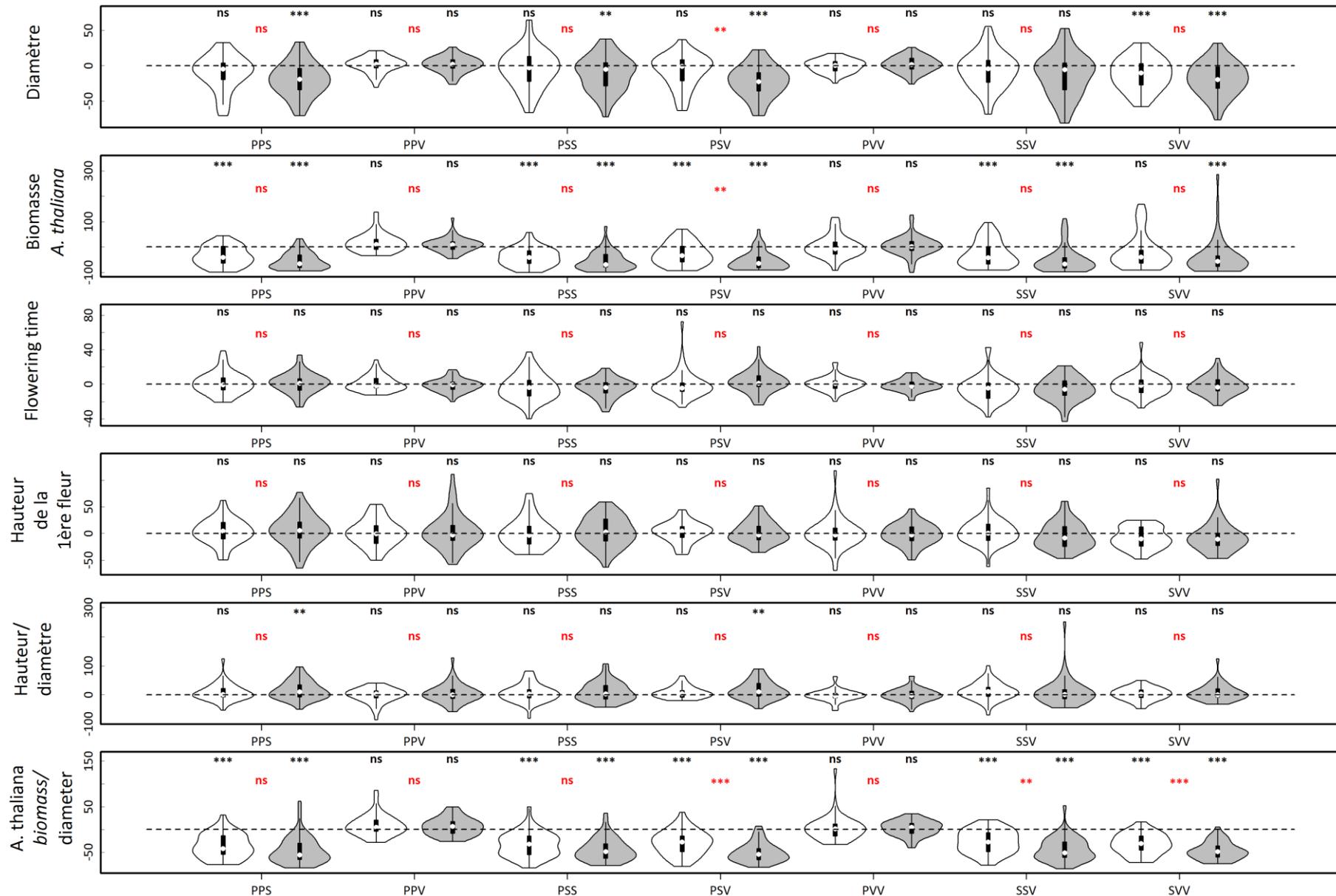


Figure 6. Violin plots représentant la variation génétique naturelle des écarts à la prédiction, exprimés en pourcentage des valeurs prédites, pour les 6 traits concernant la plante-cible *A. thaliana*. Les 2 générations TOU-A1 et TOU-A6 sont représentées respectivement en blanc et en gris. Pour chaque combinaison ‘Génération * Traitement de compétition plurispécifique’, les étoiles et "ns" noirs représentent les résultats du test-t de Student (hypothèse nulle H_0 : la moyenne des écarts à la prédiction n'est pas différente de 0) après correction de Bonferroni. Pour chaque traitement de compétition plurispécifique, les étoiles et "ns" rouges représentent les résultats du **MODELE 5** effectué pour chaque traitement, afin de tester si les écarts à la prédiction ont évolué entre les 2 générations. * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

Les résultats du **MODELE 4** (Tableau 4) nous indiquent un effet "Traitement" pour tous les traits mesurés sur *A. thaliana*. Pour un trait donné, la moyenne des écarts à la prédiction mesurés sur les 96 accessions d'*A. thaliana* varie donc entre les traitements de compétition plurispécifique. Par exemple, pour le ratio "**biomasse / diamètre**", nous constatons que la moyenne des écarts à la prédiction s'écarte de 0 pour tous les traitements contenant au moins une stellaire, alors qu'elle ne diffère pas de 0 pour les traitements PPV et PVV (Fig. 6).

Evolution temporelle de l'écart à la prédiction

Un effet "Génération" très significatif a été trouvé pour l'écart à la prédiction de 3 traits mesurés sur *A. thaliana* : **diamètre de la rosette**, **biomasse d'*A. thaliana*** et ratio "**biomasse / diamètre**" (Tableau 4). Pour ces traits, les accessions TOU-A6 s'écartent en moyenne davantage du modèle additif que celles de la génération TOU-A1, Fig. 6). Pour le ratio "**biomasse / diamètre**", l'interaction "Génération x Traitement" est significative, suggérant que l'observation d'une évolution de l'écart moyen à la prédiction entre les deux générations est dépendante du traitement de compétition plurispécifique. Par exemple, un effet 'Génération' significatif (voire très significatif) a été détecté pour les traitements PSV, SSV et SVV, mais pas pour les autres traitements de compétition plurispécifique (Fig. 6).

Variation génétique naturelle de l'écart à la prédiction

La représentation des écarts à la prédiction sous forme de *Violin plots* (Fig. 6), nous permet de constater que nous avons à la fois des accessions dont les valeurs observées de traits sont au-dessus des valeurs prédites (écart à la prédiction positif), et des accessions dont les valeurs observées sont en-dessous des valeurs prédites (écart négatif), et ceci pour les 2 générations. Pour la **biomasse d'*A. thaliana***, ainsi que le ratio **biomasse / diamètre**, nous observons plutôt une réponse générale des accessions allant dans le sens d'une diminution des valeurs observées par rapport aux valeurs prédites, notamment pour les traitements contenant au moins une stellaire. Nous avons également des traits, comme pour l'**âge de floraison** ou la **hauteur de la première fleur**, où nous trouvons une proportion équivalente d'accessions ayant des valeurs observées supérieures ou inférieures aux valeurs prédites, par exemple pour le traitement PVV.

Tableau 4. Variation naturelle des écarts à la prédiction selon les traitements de compétition et les générations, pour chaque trait phénotypique mesuré sur les plantes cibles *A. thaliana* (résultats du MODELE 4). Les effets significatifs après correction de Bonferroni sont surlignés en gras.

	Diamètre		Biomasse <i>A. thaliana</i>		Âge de floraison		Hauteur de la première fleur		Hauteur/diamètre		Biomasse / diamètre	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Traitement	10.20	<.0001	32.70	<.0001	3.94	0.0007	3.22	0.0040	3.36	0.003	71.78	<.0001
Génération	11.98	0.0006	28.05	<.0001	0.10	0.7494	0.06	0.7999	2.75	0.098	33.5	<.0001
Traitement x Génération	1.45	0.1933	2.08	0.0538	0.45	0.8455	0.47	0.8276	0.91	0.4897	3.04	0.0062

Tableau 5. Variation génétique naturelle de l'écart à la prédiction pour chacun des 7 traitements de compétition plurispécifique. Les coefficients de corrélation de Pearson (*Corr*) ont été calculés pour chaque traitement de compétition plurispécifique entre les valeurs génotypiques observées et les valeurs génotypiques prédites. Les valeurs significatives après correction de Bonferroni sont surlignées en gras.

	Diamètre		Biomasse <i>A. thaliana</i>		Âge de floraison		Hauteur de la première fleur		Hauteur/diamètre		Biomasse / diamètre	
	<i>Corr</i>	<i>P</i>	<i>Corr</i>	<i>P</i>	<i>Corr</i>	<i>P</i>	<i>Corr</i>	<i>P</i>	<i>Corr</i>	<i>P</i>	<i>Corr</i>	<i>P</i>
PPS	0.62	<.0001	0.46	<.0001	0.94	<.0001	0.68	<.0001	0.93	<.0001	0.5	<.0001
PPV	0.82	<.0001	0.96	<.0001	0.96	<.0001	0.77	<.0001	0.94	<.0001	0.94	<.0001
PSS	0.77	<.0001	0.17	0.0995	0.93	<.0001	0.68	<.0001	0.92	<.0001	0.53	<.0001
PSV	0.67	<.0001	0.51	<.0001	0.94	<.0001	0.76	<.0001	0.94	<.0001	0.59	<.0001
PVV	0.85	<.0001	0.94	<.0001	0.97	<.0001	0.76	<.0001	0.96	<.0001	0.92	<.0001
SSV	0.8	<.0001	0.25	0.0164	0.92	<.0001	0.73	<.0001	0.91	<.0001	0.35	<.0001
SVV	0.64	<.0001	0.52	<.0001	0.95	<.0001	0.74	<.0001	0.95	<.0001	0.67	<.0001

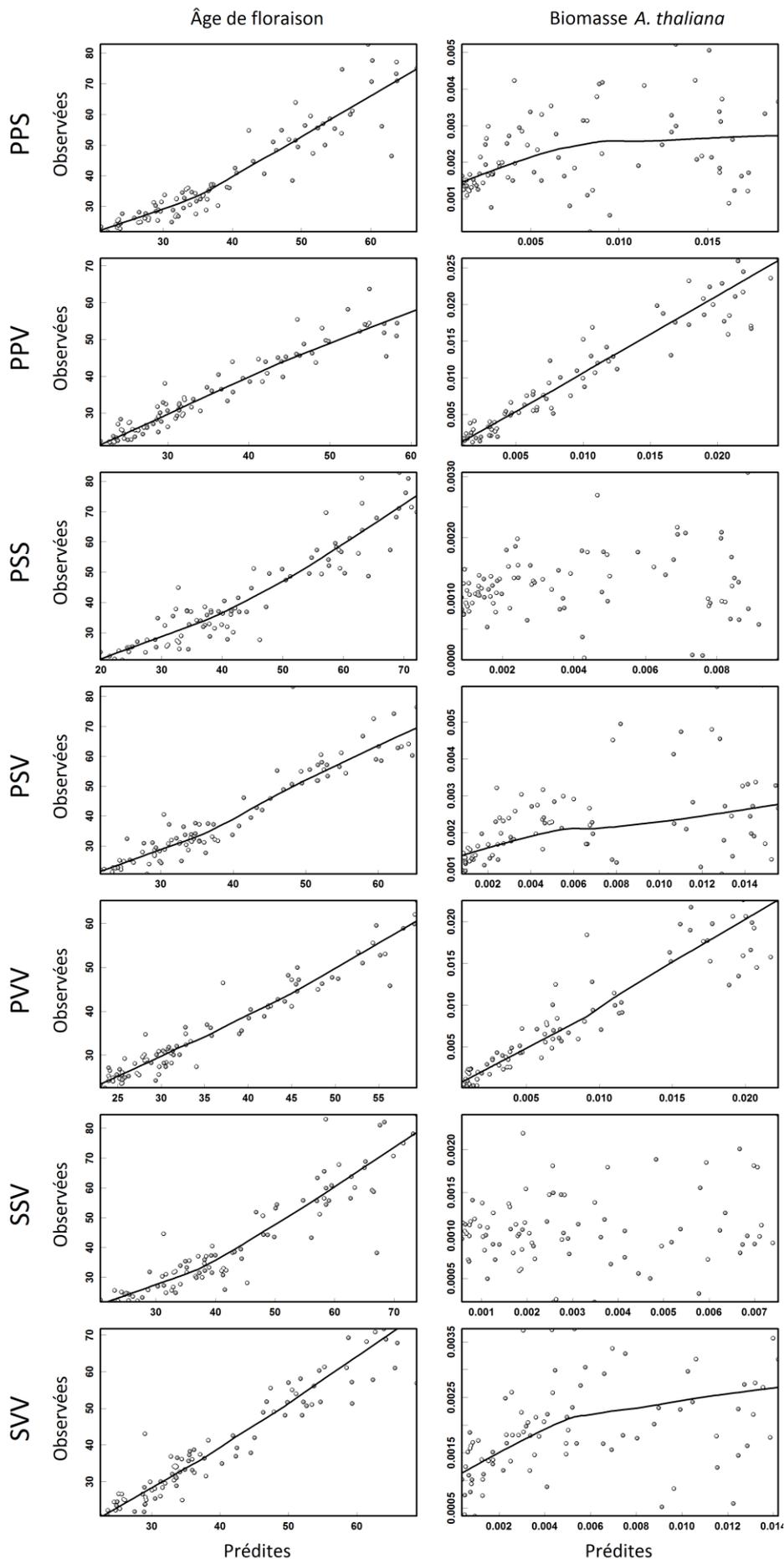


Figure 7. Relations entre valeurs génotypiques observées et valeurs génotypiques prédites pour les 2 traits "âge de floraison (gauche)" et "biomasse de la plante-cible *A. thaliana* (droite)" sur l'ensemble de la population TOU-A. Les accessions des 2 générations TOU-A1 et TOU-A6 sont représentées respectivement en blanc et en gris. Lorsque la corrélation entre les valeurs observées et les valeurs prédites est significative après correction de Bonferroni (Tableau 5), une courbe lissée est tracée.

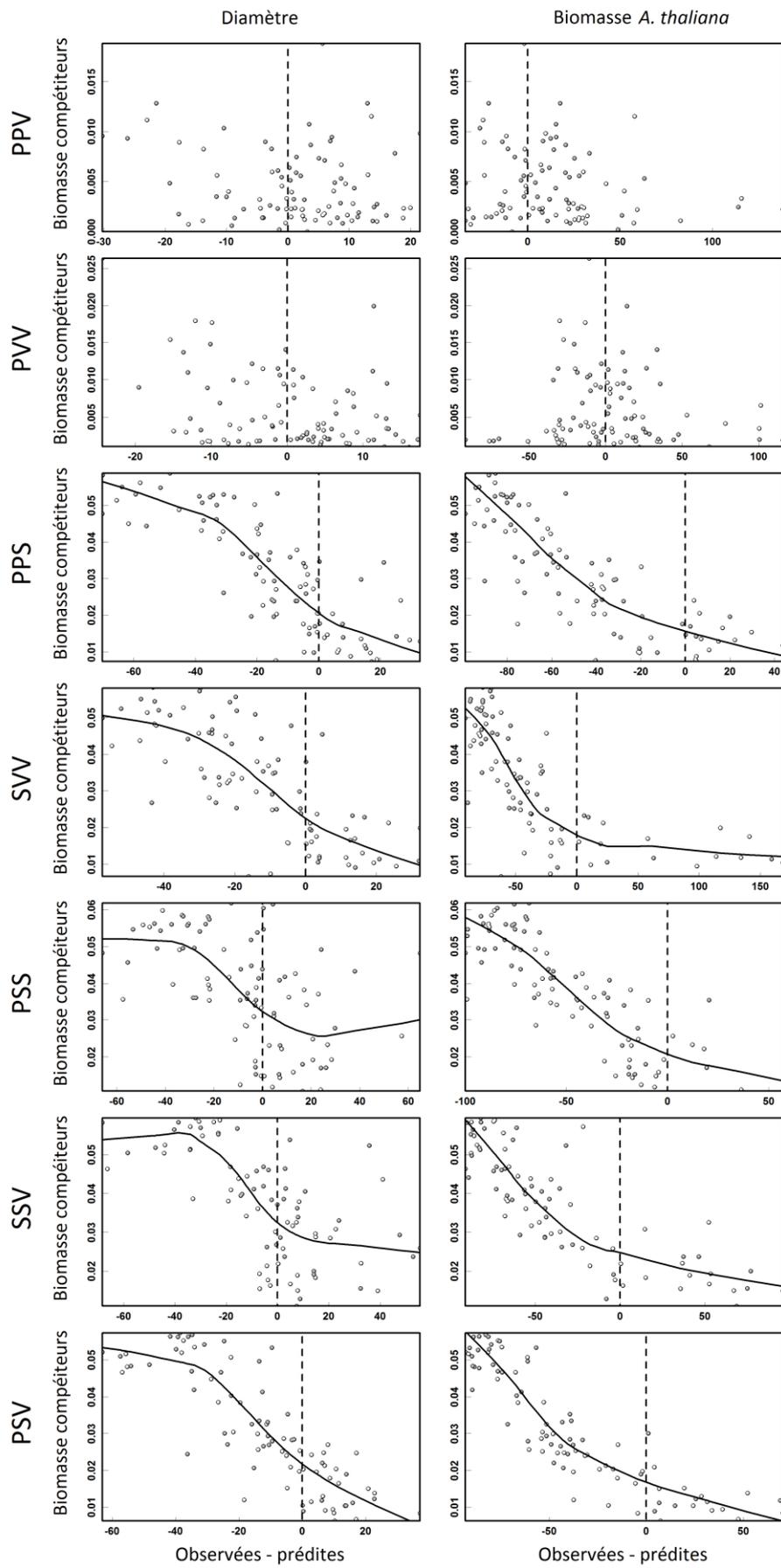


Figure 8. Relations entre les écarts à la prédiction (observées – prédites, exprimées en pourcentage des valeurs prédites) et la biomasse des compétiteurs (exprimé en g/jour) pour les 2 traits "diamètre (gauche)" et "biomasse de la plante-cible *A. thaliana* (droite)" sur l'ensemble de la population TOU-A. Les accessions des générations TOU-A1 et TOU-A6 sont représentées respectivement en blanc et en gris. Une courbe lissée est tracée lorsque la corrélation entre les écarts à la prédiction et la biomasse des compétiteurs est significative (Annexe 2).

Afin de tester si cette observation visuelle des écarts à la prédiction correspond à une variation génétique significative, nous avons testé si les coefficients de corrélation entre valeurs observées et valeurs prédites étaient significativement différents de 1. Comme les coefficients de corrélation ne sont significativement pas différents entre les 2 générations (Annexe 1), nous nous appuyerons iniquement sur les coefficients de corrélation calculés sur l'ensemble des accessions (sans différencier les 2 générations).

Pour chacun des 7 traitements de compétition plurispécifique, des coefficients de corrélation très significatifs entre les valeurs observées et les valeurs prédites ont été trouvés pour l'ensemble des traits mesurés sur *A. thaliana*, sauf pour la **biomasse d'*A. thaliana*** (Tableau 5). Pour ce dernier trait, la corrélation est très significative pour tous les traitements sauf les traitements contenant 2 stellaires (PSS et SSV, Fig. 7). Cependant, nous constatons aussi que toutes les corrélations sont significativement différentes de 1, suggérant une variation génétique dans l'écart à la prédiction pour chaque traitement de compétition plurispécifique et chaque trait phénotypique.

*Relation entre écart à la prédiction et capacité compétitrice d'*A. thaliana**

A partir du calcul de coefficients de corrélation de Spearman (Annexe 2), nous avons ensuite essayé de relier les écarts à la prédiction à la **biomasse des compétiteurs**. Pour l'**âge de floraison**, nous avons trouvé une relation négative significative entre ces écarts à la prédiction et la **biomasse des compétiteurs**, pour tous les traitements sauf PSS et PVV (Annexe 2). Nous avons également trouvé une relation négative très significative pour le **diamètre de la rosette**, la **biomasse d'*A. thaliana***, et le ratio **biomasse / diamètre**, pour chaque traitement contenant au moins une stellaire. Pour le **diamètre de la rosette** et la **biomasse d'*A. thaliana***, nous pouvons distinguer 2 groupes (Fig. 8) : (i) les accessions ayant des valeurs de traits observées inférieures à celles prédites (*i.e.* écarts négatifs à la prédiction), sont associées à une biomasse de compétiteurs élevée, et (ii) les accessions ayant des valeurs observées supérieures à celles prédites (*i.e.* écarts positifs à la prédiction) sont quant à elles associées à des compétiteurs ayant une biomasse plus faible.

Discussion

REPONSES A LA COMPETITION MONOSPECIFIQUE ET PLURISPECIFIQUE

Effet de l'identité de l'espèce compétitrice et de l'assemblage des communautés

Pour 5 des 7 traits mesurés dans cette étude (sauf la hauteur de la première fleur et le trait hauteur / diamètre), nous avons pu mettre en évidence un effet traitement en ce qui concerne la réponse à la compétition. La réponse moyenne de la population TOU-A diffère donc pour ces traits selon l'identité de l'espèce compétitrice et l'assemblage des communautés. Nous avons pu mettre en évidence une hiérarchie dans les effets compétitifs des espèces utilisées. En regardant les traits d'accumulation de biomasse chez *A. thaliana*, l'intensité de la compétition interspécifique entre la plante-cible et trois *P. annua* (PPP) ou trois *V. arvensis* (VVV) est moins forte que la compétition intraspécifique (AAA). La stellaire, quant à elle, possède une capacité compétitrice plus importante qu'*A. thaliana*. Cette hiérarchie dans l'effet des compétiteurs peut s'expliquer par le fait que la stellaire, tout comme *A. thaliana*, ont eu une accumulation de biomasse aérienne plus rapide que *V. arvensis* et *P. annua* dans les conditions expérimentales de notre étude (Fig. 4). La stellaire aurait donc eu un effet compétitif fort sur notre plante-cible, car la compétition aurait agi dès le début de la croissance de cette dernière. Par contre, avec la véronique des champs et le pâturin annuel, la plante-cible pourrait avoir eu le temps de croître davantage avant que la compétition ne devienne trop forte. De plus, en constatant notamment que la stellaire présente une plus forte biomasse aérienne, nous pouvons stipuler que cette espèce a développé un appareil racinaire plus important que les autres espèces, entraînant une compétition plus importante pour la plante-cible *A. thaliana* pour l'acquisition des ressources du sol.

Comme mentionné précédemment, il semble que la compétition intraspécifique soit plus forte que la compétition interspécifique avec certaines espèces, comme *P. annua* et *V. arvensis*. Il serait intéressant de regarder si la compétition intraspécifique intra-génotype a le même effet que la compétition intraspécifique inter-génotype. Si celles-ci ont le même effet, ceci pourrait avoir des conséquences importantes pour le maintien de la diversité intraspécifique. En effet, en conditions de compétition intra-génotype, même si une plante produit moins de graines, la valeur sélective de ce génotype pourrait rester importante, car ses compétiteurs ont le même génotype. Par contre, en conditions de compétition inter-génotype, un génotype verra sa valeur sélective diminuer si les compétiteurs n'ont pas le même

génotype que lui. Si l'intensité de la compétition intraspécifique inter-génotype est aussi forte, voire plus forte que l'intensité de la compétition intra-génotype, alors nous pourrions imaginer une sélection pour des génotypes avec une courte distance de dispersion ; afin que ceux-ci ne soient en compétition qu'avec des individus ayant le même génotype, en évitant la compétition avec d'autres génotypes. Ceci permettrait un maintien de la valeur sélective du génotype malgré la diminution de sa valeur sélective individuelle, et donc un maintien de la diversité intraspécifique au sein de la population. Chez *A. thaliana*, il a été démontré une relation positive entre distance de migration et hauteur du premier fruit sur la tige principale (Wender *et al.* 2005). Nos résultats semblent indiquer que nous avons une légère évolution entre les générations TOU-A1 et TOU-A6 vers des hauteurs de la première fleur plus petites, et donc vers une dispersion sur de plus courtes distances.

Variabilité génétique intrapopulationnelle pour la réponse à la compétition

Effet général sur l'ensemble des traitements de compétition

Au sein d'une population locale d'*A. thaliana*, nous avons pu observé une importante variabilité intraspécifique dans la réponse d'*A. thaliana* à la compétition, ainsi que dans la capacité compétitrice d'*A. thaliana* sur différents assemblages de *P. annua*, *S. media* et *V. arvensis*. Ces résultats confirment que la forte variabilité génétique de la population TOU-A1 pour la réponse à la compétition interspécifique monospécifique (déjà démontrée dans une précédente étude ; Baron *et al.* manuscrit soumis) s'observe aussi pour la réponse à la compétition interspécifique plurispécifique. Ce constat va dans le sens de Turkington & Harper (1979a, b) qui avaient suggéré que la variabilité observée chez *Trifolium repens* dans la phénologie au niveau intra-populationnel pouvait refléter une adaptation à une variation fine au niveau de la compétition. Il peut donc exister une importante variation génétique au sein même d'une population naturelle, *i.e.* à une échelle à laquelle ont lieu les interactions plante-plante. Une variation micro-environnementale liée à la compétition interspécifique, pourrait donc être à l'origine d'une adaptation à une échelle micro-géographique chez les plantes.

En complément à ces résultats, nous avons montré (i) que cette variabilité génétique intra-populationnelle pouvait subsister sur une courte échelle de temps et (ii) qu'une espèce

comme *A. thaliana* pouvait potentiellement se maintenir sur au moins 8 générations dans des environnements très compétitifs, comme ceux rencontrés dans la communauté TOU-A.

Variabilité génétique intrapopulationnelle dans le niveau de plasticité associée à la réponse à la compétition

Nous avons également constaté que le niveau de plasticité calculé sur l'ensemble des 12 traitements de compétition était génétiquement très variable entre les accessions. Cette variation du niveau de plasticité est-elle adaptative ? Dans la population TOU-A, la diversité spécifique semble différer en raison d'une forte hétérogénéité du sol (Villoutreix *et al.*, manuscrit soumis). Par exemple, dans les sols plus riches, nous observons essentiellement des espèces appartenant au groupe fonctionnel des graminées et donc ayant potentiellement une même stratégie de compétition ; alors que dans les milieux plus pauvres, la diversité des groupes fonctionnels semble plus élevée. Les génotypes plus plastiques pourraient provenir de ces milieux dans lesquels nous trouvons des stratégies de compétition plus diverses. En effet, une variation de pressions de sélection sur une courte échelle aussi bien spatial (Thompson 2005) que temporel (Siepielski *et al.* 2009) joue en faveur de l'apparition et du maintien des génotypes avec de grandes capacités de plasticité phénotypique (Stomp *et al.* 2008). Il serait donc intéressant de révéler une éventuelle corrélation entre le niveau de plasticité des génotypes et la richesse nutritive du sol où ils ont été récoltés. A l'inverse, si les génotypes les plus plastiques proviennent des milieux les moins complexes structurellement ; dans ce cas, il se peut que la plasticité soit maladaptative et que la réponse de ces génotypes soit inadaptée face à un nouveau compétiteur. Il serait donc intéressant de pouvoir déterminer si cette plasticité est adaptative ou non, en étudiant la valeur sélective des plantes-cibles, et en essayant de relier les différences de plasticité à la richesse du sol.

PREDICTION DE LA REPOSE A LA COMPETITION PLURISPECIFIQUE

Additivité du modèle

Pour une première catégorie de traits (principalement phénologiques et architecturaux ; l'âge de floraison, la hauteur de la première fleur et le ratio 'hauteur / diamètre'), nous avons pu constater que l'ensemble des moyennes d'écarts à la prédiction ne diffèrent pas de 0, ce qui nous indique que la pente de la relation entre les valeurs observées et

attendues est proche de 1. Nous vérifions donc l'additivité sur l'ensemble de la population pour ces traits (cas n°1 ou 2 de la Fig. 3), avec la réponse à la compétition plurispécifique qui s'avère prédictible à partir des réponses à la compétition monospécifique. Ce résultat rejoint celui trouvé dans l'étude de Weigelt *et al.* (2007). Ces auteurs ont mis en évidence que l'intensité de la compétition pour plusieurs assemblages d'espèces était bien prédite grâce aux effets d'interactions additives de chaque espèce.

Pour une deuxième catégorie de traits, principalement liés à l'accumulation de biomasse (diamètre de la rosette, biomasse d'*A. thaliana* et biomasse / diamètre), nous avons pu constater que les moyennes d'écarts à la prédiction diffèrent de 0 et sont plutôt négatives pour les traitements avec au moins une stellaire. Nous ne vérifions donc pas l'additivité sur l'ensemble de la population pour ces traits (cas n°3 ou 4 de la Fig. 3). Cette observation rejoint celle effectuée par Dormann & Roxburgh (2005) qui préconise qu'un modèle de prédiction intégrant un paramètre non-additif serait plus adapté dans certains cas. Bien qu'il soit tentant d'émettre des hypothèses pour expliquer ces écarts moyens à la prédiction, il ne faut pas oublier qu'une variation génétique significative a été trouvée pour tous ces traits liés à l'accumulation de biomasse. Nous verrons ci-après que différentes hypothèses peuvent être émises selon que les écarts génotypiques à la prédiction sont négatifs ou positifs.

Variation génétique intrapopulationnelle dans la prédiction de la réponse à la compétition

De manière très intéressante, nous avons observé une variation entre les accessions pour l'écart à l'additivité, caractérisant une variation génétique intrapopulationnelle dans l'écart à la prédiction de la réponse à la compétition (cas n°2 et n°4 de la Fig. 3). Ces écarts varient selon l'assemblage d'espèces et peuvent être reliés à la biomasse des compétiteurs.

Écarts négatifs à la prédiction

De nombreux génotypes d'*A. thaliana* présentent des valeurs de traits observées inférieures à celles prédites. Ces écarts négatifs sont à mettre en relation avec une biomasse totale des compétiteurs plus forte. Deux hypothèses peuvent être émises. La première hypothèse concerne la perception simultanée par *A. thaliana* de signaux spécifiques à chacune des trois espèces compétitrices. Dans une étude précédente, il a été montré que les stratégies phénotypiques optimales de réponse à la compétition étaient très différentes entre *P. annua*, *S.*

media et *V. arvensis* (Baron *et al.* manuscrit soumis). En particulier, un fort ratio ‘hauteur /diamètre’ (stratégie d’échappement) était favorisée chez *A. thaliana* en présence de *S. media* alors qu’un faible ratio ‘hauteur / diamètre’ (stratégie de recouvrement) était favorisée chez *A. thaliana* en présence de *P. annua*. Dans notre étude, la présence de différentes espèces compétitrices a pu entraîner une réponse inadaptée de certains génotypes d’*A. thaliana* via des conflits d’allocation de ressources entre les différents tissus végétaux. La deuxième hypothèse est liée aux limites de notre modèle de prédiction. En effet, nous avons fait l’hypothèse que la capacité compétitrice d’un individu compétiteur dans une communauté plurispécifique était la même que sa capacité dans une communauté monospécifique. Par exemple, nous avons considéré que la capacité compétitrice d’une stellaire dans le traitement monospécifique SSS était la même que dans le traitement plurispécifique PSV. Cependant, la biomasse d’une stellaire en absence de compétition intraspécifique pourrait être plus importante que la biomasse d’une stellaire en compétition avec deux autres stellaires. Son effet compétitif sur *A. thaliana* dans le traitement PSV serait alors plus important que son effet individuel dans le traitement SSS ; et pourrait ainsi expliquer des écarts négatifs à la prédiction dans les traitements de compétition plurispécifique contenant des stellaires pour la biomasse d’*A. thaliana* et le ratio ‘biomasse / diamètre’ notamment. C’est pourquoi des effets compétitifs d’une espèce pourraient être sous-estimés en considérant seulement 1/3 de l’effet compétitif sur l’ensemble de l’assemblage comme le prédit notre modèle. Si l’effet compétitif sur *A. thaliana* est lié par exemple à la biomasse aérienne des compétiteurs, il serait intéressant d’essayer de modéliser la biomasse de chaque compétiteur dans chaque traitement plurispécifique, puis de pondérer l’effet de chacun de ces compétiteurs dans les modèles par l’écart entre la biomasse obtenue à l’aide du modèle et la biomasse estimée grâce au traitement de compétition monospécifique.

Écarts positifs à la prédiction

Tout d’abord, comme par exemple pour le diamètre de la rosette et la biomasse d’*A. thaliana*, les valeurs observées peuvent être supérieures aux valeurs prédites et sont associées à une biomasse totale des compétiteurs plus faible. Bien qu’il ait été démontré que des effets indirects induits par des interactions entre des espèces compétitrices pouvaient changer les effets directs (bénéfiques ou non) de ces espèces sur une espèce-cible (Wootton 1994), la nouveauté de notre étude réside dans le fait que ces effets indirects bénéfiques dépendent du génotype d’*A. thaliana*. Dans notre cas, supposons (i) que certains génotypes d’*A. thaliana* sont peu sensibles à la compétition racinaire par l’espèce compétitrice A mais très sensibles à

la compétition foliaire par l'espèce compétitrice B, et (ii) que la compétition racinaire par l'espèce compétitrice A entraîne une réduction de la biomasse foliaire de l'espèce compétitrice B, ces génotypes d'*A. thaliana* seraient avantagés en conditions de compétition plurispécifique *via* une réduction de la biomasse foliaire de l'espèce compétitrice B liée à la croissance racinaire de l'espèce compétitrice A.

Il est aussi séduisant de proposer que certains génotypes d'*A. thaliana* émettent, par exemple, des composés chimiques qui modifient l'intensité de la compétition entre les trois espèces compétitrices. En d'autres termes, certains génotypes d'*A. thaliana* seraient capables de manipuler les interactions entre deux espèces compétitrices afin que l'une des espèces compétitrices (ou chacune des deux espèces compétitrices) focalise son effet compétitif sur l'autre espèce compétitrice. Afin de tester cette hypothèse, nous pourrions par exemple mettre en place une expérimentation de compétition interspécifique dans laquelle des cloisons seraient placées dans le pot, afin d'éviter toute interaction racinaire.

Ces interprétations démontrent qu'au sein de la population TOU-A, *A. thaliana* pourrait moduler les interactions et les phénotypes des individus des autres espèces de la communauté selon l'identité du génotype de cette population TOU-A. Nous sommes donc clairement dans le cadre d'IIGE (*Interspecific Indirect Genetic Effect* ; Bailey *et al.* 2014).

EVOLUTION TEMPORELLE DE LA REPONSE A LA COMPETITION ET DE SA PREDICTIBILITE

Dans cette étude, par une approche de résurrection, nous avons pu mettre en évidence un changement évolutif sur une très courte période de temps (moins de 8 générations) aussi bien pour la réponse à la compétition que pour sa prédictibilité. Cette approche de résurrection peut donc s'avérer très pertinente pour quantifier la dynamique évolutive d'une population replacée dans un contexte écologique de la compétition. Cette évolution phénotypique sur un court espace-temps va dans le sens d'études suggérant que l'évolution de plusieurs espèces au sein d'une communauté est influencée par des phénomènes de coexistence entre ces espèces sur une courte échelle de temps (Aarssen & Turkington, 1985).

Nous avons mis en évidence que les individus de la génération TOU-A6 fleurissent plus tard que ceux de la génération TOU-A1, qu'ils soient cultivés seuls, ou en compétition

intra- ou interspécifique. Nous trouvons également une évolution vers une diminution du ratio 'hauteur / diamètre' entre les 2 générations. Dans un contexte de compétition, ces observations suggèrent que les individus d'*A. thaliana* ont plutôt tendance au fil des générations à s'installer dans la communauté végétale TOU-A en recouvrant les autres espèces avant de fleurir.

Une évolution entre les 2 générations a aussi été observée pour la biomasse d'*A. thaliana* aussi bien au niveau de la réponse à la compétition que sa prédictibilité. La biomasse d'*A. thaliana* diminue entre les 2 générations en conditions de compétition interspécifique avec uniquement des stellaires ; alors qu'elle augmente lorsqu'elle est en conditions de compétition interspécifique avec des véroniques. Ceci pourrait s'expliquer par un changement dans la communauté végétale entre les 2 générations. En effet, entre les deux générations, il a été constaté une augmentation de la densité des espèces de graminées au sein de la communauté naturelle TOU-A (probablement due à la proximité des prairies permanentes), un maintien d'espèces comme la véronique et une quasi-disparition de la stellaire (F. Roux, com. pers.), comme cela a été aussi observé dans d'autres communautés présentant ces espèces (Kleijn *et al.* 1998 ; Bernacki 2004 ; Baessler & Klotz 2006). Au cours du temps, la simplification structurale de la communauté pourrait avoir amené à une contre-sélection de la capacité compétitrice d'*A. thaliana* vis-à-vis de *S. media* si le maintien de cette capacité compétitrice s'avère coûteux en absence de *S. media*. Cette hypothèse serait en accord avec un écart moyen négatif des prédictions de la biomasse d'*A. thaliana* plus important dans la population TOU-A6 que dans la population TOU-A1 pour les traitements de compétition plurispécifique impliquant la présence de *S. media*. Toutes ces suppositions seraient aussi en accord avec des études suggérant qu'une population (ou certains génotypes d'une population) puisse perdre sa capacité compétitrice envers une espèce pour mieux s'adapter aux génotypes des espèces des communautés évoluées (Turkington 1979; Aarssen & Turkington 1985; Ehlers & Thompson 2004).

Conclusion

Comme précédemment observé dans les deux études du chapitre 1, une forte variation génétique pour la réponse à la compétition monospécifique a été trouvée dans cette étude. Cette forte variation génétique a aussi été observée pour la réponse à la compétition plurispécifique, démontrant un potentiel adaptatif de la population TOU-A dans un contexte écologiquement réaliste, *i.e.* interactions multiples d'un individu avec son environnement biotique. Que ce soit dans le cadre de la compétition monospécifique ou plurispécifique, nous avons aussi montré un maintien de la variation intrapopulationnelle entre les deux générations, à la fois pour la réponse d'*A. thaliana* à la compétition et pour l'effet d'*A. thaliana* sur les espèces compétitrices. Ce maintien de variation est concomitant à une évolution phénotypique de la population se caractérisant par une plus forte vigueur dans la compétition et un retard de floraison. Cette évolution phénotypique pourrait être expliquée par l'évolution des populations compétitrices adjacentes.

Par ailleurs, nous avons démontré que la prédiction de la réponse à la compétition plurispécifique au sein de la population TOU-A était prédictible à partir des réponses à la compétition monospécifique pour les traits de date de floraison et d'architecture. En revanche, cette prédiction n'a pas été observée pour les traits liés à l'accumulation de biomasse : l'ajout d'un paramètre non-additif dans le modèle de prédiction semble nécessaire pour ces traits. Ces écarts à la prédiction peuvent être expliqués par le fait que certaines interactions entre les espèces constituant les différents assemblages testés n'aient pas été considérées. Par exemple, une espèce compétitrice n'arbore peut-être pas la même stratégie de compétition d'un assemblage d'espèces à un autre. De plus, nous avons mis en évidence qu'au sein de la population TOU-A, certains génotypes étaient plus performants en conditions de compétition plurispécifique que ce que la prédiction à partir des conditions de compétition monospécifique prévoyait, démontrant certainement des phénomènes d'IIGE positifs mis en jeu dans les interactions testées dans cette étude.

Ces résultats nous montrent donc que, pour une population naturelle, les changements d'interactions mis en jeu d'un assemblage d'espèces à un autre entraînent des réponses phénotypiques et une évolution phénotypique différentes. Dans un contexte où la variabilité environnementale liée aux changements climatiques s'annonce de plus en plus extrême (Smith *et al.* 2011), les populations naturelles sont amenées à faire face à des changements de

communautés plus drastiques. Notamment, il est reconnu que conjugués aux changements globaux, nous observons des appauvrissements notables de communautés (Walther *et al.* 2002, Thompson *et al.* 2013) et des phénomènes d'invasions d'espèces non natives menaçant des populations natives (Pyšek *et al.* 2012; Vilà *et al.* 2011). Le potentiel adaptatif des populations s'avère donc d'autant plus primordial dans ce contexte. Cependant, bien qu'un des défis de l'écologie évolutive soit d'identifier le potentiel adaptatif et la trajectoire évolutive de populations face aux changements globaux, peu d'études se sont focalisés sur les mécanismes associés. Dans cette étude, nous avons montré que se cibler sur *A. thaliana* nous a permis d'appréhender des patrons de variation naturelle et d'adaptation à des échelles spatiale et temporelle courte. De ce fait, dans le contexte des changements globaux faisant intervenir des changements de communautés plus complexes et à de plus grandes échelles, nous pouvons nous demander quel est le potentiel adaptatif d'une population d'*A. thaliana* face à ces changements environnementaux et quels sont les mécanismes impliqués dans les processus d'adaptation aux changements globaux.

Références

- Aarssen, L.W. (1989) Competitive ability and species coexistence: a ‘plant’s-eye’ view. *Oikos*, **56**, 386-401.
- Aarssen, L.W. & Turkington, R. (1985) Biotic specialization between neighboring genotypes in *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a permanent pasture. *Journal of Ecology*, **73**, 605–614.
- Aerts, R. (1999) Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant–soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, **50**, 29-37.
- Albert, C. H., De Bello, F., Boulangeat, I., Pellet, G., Lavorel, S., Thuiller, W. (2012) On the importance of intraspecific variability for the quantification of functional diversity. *Oikos*, **121**, 116-126.
- Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Douzet, R., Aubert, S., Lavorel, S. (2010) A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology*, **24**, 1192-1201.
- Atwell, S., Huang, Y.S., Vilhjalmsson, B.J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A.M., Hu, T.T., Jiang, R., Mulyati, N.W., Zhang, X., Amer, M.A., Baxter, I., Brachi, B., Chory J., Dean, C., Debieu, M., de Meaux, J., Ecker, J.R., Faure, N., Kniskern, J.M., Jones, J.D.G., Michael, T., Nemri, A., Roux, F., Salt, D.E., Tang, C., Todesco, M., Traw, M.B., Weigel, D., Marjoram, P., Borevitz, J.O., Bergelson, J., Nordborg, M. (2010) Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, **465**, 627-631.
- Baessler, C. & Klotz, S. (2006) Effects of changes in agricultural land-use on landscape structure and arable weed vegetation over the last 50 years. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **115**, 43-50.
- Bailey, J. K., Genung, M. A., Ware, I., Gorman, C., Van Nuland, M. E., Long, H., & Schweitzer, J. A. (2014) Indirect genetic effects: an evolutionary mechanism linking feedbacks, genotypic diversity and coadaptation in a climate change context. *Functional Ecology*, **28**, 87-95.
- Bailey, J. K., Schweitzer, J. A., Ûbeda, F., Koricheva, J., LeRoy, C. J., Madritch, M. D., Rehill, B. J., Bangert R. K., Fischer D. G., Allan G. J. & Whitham, T. G. (2009) From

- Genes to Ecosystems: A Synthesis of the Effects of Plant Genetic Factors across Levels of Organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **364**, 1607-1616.
- Baron, E., Richirt, J., Amsellem, L. Roux F. (2014) The genetics of intra- and interspecific competitive response and effect in a local population of an annual plant species. Submitted manuscript in *Functional Ecology*.
- Berger, U., Piou, C., Schiffers, K., Grimm, V. (2008) Competition among plants: Concepts, individual-based modelling approaches, and a proposal for a future research strategy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **9**, 121-135.
- Bernacki, Z. (2004) Secondary succession of the vegetation in the young shelterbelt (Turew area, Western Poland) *Polish Journal of Ecology*, **52**, 391-404.
- Bossdorf, O., Shuja, Z., Banta, A. (2009) Genotype and maternal environment affect belowground interactions between *Arabidopsis thaliana* and its competitors. *Oikos* **118**, 1541-1551.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Hautekèete, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J., Roux, F. (2013) Investigation of the geographic scale of adaptative phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4222-4240
- Cahill, J. F., Kembel, S. W., Gustafson, D. J. (2005) Differential genetic influences on competitive effect and response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology*, **93**, 958-967.
- deBello, F., Lavorel, S., Albert, C. H., Thuiller, W., Grigulis, K., Dolezal, J., Stepan, J., Leps, J. (2011) Quantifying the relevance of intraspecific trait variability for functional diversity. *Methods in Ecology & Evolution*, **2**, 163-174.
- Dormann, C. F., Roxburgh, S. H. (2005) Experimental evidence rejects pairwise modelling approach to coexistence in plant communities. *Proceedings of the Royal Society B*, **272**, 1279-1285.
- Dorn, L.A., Hammond Pyle, E., Schmitt, J. (2000) Plasticity to light cues and resources in *Arabidopsis thaliana*: testing for adaptative value and cost. *Evolution*, **54**, 1982-1994.

- Ehlers, B.K. & Thompson, J. (2004) Do co-occurring plant species adapt to one another? The response of *Bromus erectus* to the presence of different *Thymus vulgaris* chemotypes. *Oecologia*, **141**, 511-518.
- Fetene, M. (2003) Intra- and inter-specific competition between seedlings of *Acacia etbaica* and a perennial grass (*Hypparrhenia hirta*). *Journal of Arid Environments*, **55**, 441-451.
- Fridley, J. D., Grime, J. P., Bilton, M. (2007) Genetic identity of interspecific neighbours mediates plant responses to competition and environmental variation in species-rich grassland. *Journal of Ecology*, **95**, 908-915.
- Genung, M.A., Bailey, J.K. & Schweitzer, J.A. (2013) The afterlife of interspecific indirect genetic effects: genotype interactions alter litter quality with consequences for decomposition and nutrient dynamics. *PLoS ONE*, **8**, e53718.
- Genung, M.A., Bailey, J.K. & Schweitzer, J.A. (2012) Welcome to the neighbourhood: interspecific genotype by genotype interactions in *Solidago* influence above- and belowground biomass and associated communities. *Ecology Letters*, **15**, 65–73.
- Genung, M.A., Schweitzer, J.A., Ubeda, F., Fitzpatrick, B.M., Pregitzer, C.C., Felker-Quinn, E. *et al.* (2011) Genetic variation and community change – selection, evolution, and feedbacks. *Functional Ecology*, **25**, 408–419.
- Goldberg, D. E., Fleetwood, L. (1987) Competitive effect and response in four annual plants. *Journal of Ecology*, **75**, 1131-1143.
- Gustafson, D.J., Gibson, D.J. & Nickrent, D.L. (2004) Competitive relationships of *Andropogon gerardii* Big Bluestem from remnant and restored native populations and select cultivated varieties. *Functional Ecology*, **18**, 451-457.
- Hancock, A. M., Brachi, B., Faure, N., Horton, M. W., Jarymowycz, L. B., Sperone, F. G., Toomajian, C., Roux, F., Bergelson, J. (2011) Adaptation to climate across the *Arabidopsis thaliana* genome. *Science*, **334**, 82-86.
- Howard, T. G. (2001) The relationship of total and per-gram rankings in competitive effect to the natural abundance of herbaceous perennials. *Journal of Ecology*, **89**, 110-117.
- Jung, V., Violle, C., Mondy, C., Hoffmann, L., Muller, S. (2010) Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of Ecology*, **98**, 1134-1140.
- Keddy, P. A. (2001) Competition. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.

- Kelley, S.E. & Clay, K. (1987) Interspecific competitive interactions and the maintenance of genotypic variation within two perennial grasses. *Evolution*, **41**, 92-10.
- Kleijn, D., Joenje, W., le Coeur, D., & Marshall, E. J. P. Similarities in vegetation development of newly established herbaceous strips along contrasting European field boundaries. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **68**, 13-26.
- Lüscher, A., Connolly, J. & Jacquard, P. (1992) Neighbor specificity between *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a natural pasture. *Oecologia*, **91**, 404-409.
- Moore, A. J., Brodie III, E. D., & Wolf, J. B. (1997) Interacting phenotypes and the evolutionary process: I. Direct and indirect genetic effects of social interactions. *Evolution*, **51**, 1352-1362.
- Nordborg, M., Hu, T. T., Ishino, Y., Jhaveri, J., Toomajian, C., Zheng, H., Bakker, E., Calabrese, P., Gladstone, J., Goyal, R., Jakobsson, M., Kim, S., Morozov, Y., Padhukasahasram, B., Plagnol, V., Rosenberg, N. A., Shah, C., Wall, J. D., Wang, J., Zhao, K., Kalbfleisch, T., Schulz, V., Kreitman, M., Bergelson, J. (2005) The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Biology*, **3**, 1289-1299.
- Novoplansky, A. (2009) Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant, Cell and Environment*, **32**, 726-741.
- Novoplansky, A., Cohen, D., Sachs, T. (1990) How portulaca seedlings avoid their neighbours. *Oecologia*, **82**, 490-493.
- Platt, A., Horton, M., Huang, Y.S., Li, Y., Anastasio, A.E., Mulyati, N.W., Ågren, J., Bossdorf, O., Byers, D., Donohue, K., Dunning, M., Holub, E.B., Hudson, A., le Corre, V., Loudet, O., Roux, F., Warthmann, N., Weigel, D., Rivero, L., Scholl, R., Nordborg, M., Bergelson, J., Borevitz, J.O. (2010) The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **6**, e1000843.
- R Development Core Team (2011) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ratcliffe, D. (1961) Adaptation to habitat in a group of annual plants. *Journal of Ecology*, **49**, 187-203.

- Rowntree, J.K., Shuker, D.M. & Preziosi, R.F. (2011) Forward from the crossroads of ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **366**, 1322–1328.
- Roxburgh, S. H., Wilson, J. B. (2000) Stability and coexistence in a lawn community: experimental assessment of the stability of the actual community. *Oikos*, **88**, 408-423.
- Schamp, B. S., Chau, J., Aarssen, L. W. (2008) Dispersion of traits related to competitive ability in an old-field plant community. *Journal of Ecology*, **96**, 204-212.
- Shuster, S.M., Lonsdorf, E.V., Wimp, G.M., Bailey, J.K. & Whitham, T.G. (2006) Community heritability measures the evolutionary consequences of indirect genetic effects on community structure. *Evolution*, **60**, 991–1003.
- Siepielski, A. M., DiBattista, J. D., Carlson, S. M. (2009) It's about time: the temporal dynamics of phenotypic selection in the wild. *Ecology Letters*, **12**, 1261-1276.
- Stomp, M., van Dijk, M. A., van Overzee, H. M. J., Wortel, M. T., Sigon, C. A. M., Egas, M., Hoogveld, H., Gons, H. J., Huisman, J. (2008) The timescale of phenotypic plasticity and its impact on competition in fluctuating environments. *The American Naturalist*, **172**, 169-185.
- Swenson, N. G., Enquist, B. J. (2009) Opposing assembly mechanisms in a neotropical dry forest: implications for phylogenetic and functional community ecology. *Ecology*, **90**, 2161-2170.
- Taylor, D.R. & Aarssen L.W., (1990) Complex competitive relationships among genotypes of three perennial grasses: Implications for species coexistence. *American Naturalist*, **136**, 305-327.
- Thompson, J. N. (2005) *The Geographic Mosaic of Coevolution*. Chicago, University of Chicago Press.
- Tomita-Yokotani, K., Takako, K., Masud Parvez, M., Mori, Y., Goto, N., Hasegawa, K. (2003) Approach of allelopathy study with *Arabidopsis thaliana* (L.) Hevnh. and *Neurospora crassa*. *Weed Biology and Management*, **3**, 93-97.
- Turkington, R., Harper, J. L. (1979a) Growth, distribution and neighbour relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture: II. Inter-and intra-specific contact. *Journal of Ecology*, **67**, 219-230.

- Turkington, R., Harper, J. L. (1979b) Growth, distribution and neighbour relationships of *Trifolium repens* in a permanent pasture: IV. Fine-scale biotic differentiation. *Journal of Ecology*, **67**, 245-254.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M.A. (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, **94**, 1103–1116.
- Van Mierlo, J. E. M., Wilms, Y. J. C., Berendse, F. (2000) Effects of soil organic matter and nitrogen supply on competition between *Festuca ovina* and *Deschampsia flexuosa* during inland dune succession. *Plant Ecology* **148**, 51-59.
- Vavrek, M.C. (1998) Within-population genetic diversity of *Taraxacum officinale* Asteraceae : differential genotype response and effect on interspecific competition. *American Journal of Botany*, **85**, 947-954.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L., Albert, C. H., Hulshof, C., Jung, V., Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 244-252.
- Weigelt, A., Jolliffe, P. (2003) Indices of plant competition. *Journal of Ecology*, **91**, 707-720.
- Weigelt, A., Schumacher, J., Walther, T., Bartelheimer, M., Steinlein, T., Wolfram, B. (2007) Identifying mechanisms of competition in multi-species communities. *Journal of Ecology*, **95**, 53-64.
- Wender, N. J., Pilisetty, C. R., Donohue, K. (2005) Density dependent processes influencing the evolutionary dynamics of dispersal a functional analysis of seed dispersal in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, **92**, 960-971.
- Whitlock, R., Bilton, M.C., Grime, J.P. & Burke, T. (2011) Fine-scale community and genetic structure are tightly linked in species-rich grasslands. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **366**, 1346-1357.
- Willis, C.G., Brock, M.T. & Weinig, C. (2010) Genetic variation in tolerance of competition and neighbour suppression in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.

- Wilson, M. V. (2007) Measuring the components of competition along productivity gradients. *Journal of Ecology*, **95**, 301-308.
- Wolf, J.B., Mutic, J.J. & Kover, P.X. (2011) Functional genetics of intraspecific ecological interactions in *Arabidopsis thaliana*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **366**, 1358-1367.
- Wolf, J. B., Brodie III, E. D., Cheverud, J. M., Moore, A. J., & Wade, M. J. (1998) Evolutionary consequences of indirect genetic effects. *Trends in Ecology & Evolution*, **13**, 64-69.
- Wootton, J. T. (1994) The nature and consequences of indirect effects in ecological communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **25**, 443-466.

Annexe 1. Relations entre les valeurs observées et les valeurs prédites, par génération. Des coefficients de corrélation de Pearson (Corr) ont été calculés pour chaque traitement, par génération. Les valeurs significatives après correction de Bonferroni sont surlignées en gras. Des tests de comparaison de coefficients de corrélation (r.test du package *psych*) ont été réalisés afin de savoir si, pour chaque traitement, des différences significatives de valeurs de coefficient de corrélation étaient observées entre les 2 générations. La valeur "z" correspond aux résultats de ces tests et le seuil de significativité a également été corrigé à l'aide d'une correction de Bonferroni.

Traitement	Génération	Diamètre				Biomasse d' <i>A. thaliana</i>				Date floraison			
		Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>
PPS	A1	0.65	9.353e-07	0.39	0.7	0.41	0.004744	0.47	0.64	0.95	< 2.2e-16	0.81	0.42
	A6	0.60	8.635e-06			0.49	0.0004929			0.93	< 2.2e-16		
PPV	A1	0.82	6.192e-12	0.15	0.88	0.96	< 2.2e-16	0.69	0.49	0.96	< 2.2e-16	0.54	0.59
	A6	0.83	6.262e-13			0.97	< 2.2e-16			0.95	< 2.2e-16		
PSS	A1	0.74	3.017e-09	0.33	0.74	0.16	0.297	0.24	0.81	0.92	< 2.2e-16	0.7	0.48
	A6	0.77	2.257e-10			0.21	0.1636			0.94	< 2.2e-16		
PSV	A1	0.65	1.076e-06	0.52	0.6	0.47	0.001126	0.64	0.52	0.93	< 2.2e-16	0.37	0.71
	A6	0.71	1.651e-08			0.57	2.779e-05			0.94	< 2.2e-16		
PVV	A1	0.89	4.441e-16	1.1	0.27	0.94	< 2.2e-16	0.44	0.66	0.97	< 2.2e-16	0	1
	A6	0.83	1.278e-12			0.95	< 2.2e-16			0.97	< 2.2e-16		
SSV	A1	0.79	9.504e-11	0.13	0.9	0.32	0.03081	0.31	0.76	0.93	< 2.2e-16	0.61	0.54
	A6	0.80	2.276e-11			0.26	0.0751			0.91	< 2.2e-16		
SVV	A1	0.60	9.346e-06	0.64	0.52	0.51	0.0002727	0.06	0.95	0.95	< 2.2e-16	0	1
	A6	0.68	1.768e-07			0.52	0.0001999			0.95	< 2.2e-16		

Traitement	Génération	Hauteur de la première fleur				Hauteur / diamètre				Biomasse / diamètre			
		Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	z	<i>P</i>
PPS	A1	0.68	2e-07	0.25	0.8	0.94	< 2.2e-16	0	1	0.64	1.78e-06	1.16	0.24
	A6	0.65	1.211e-06			0.94	< 2.2e-16			0.47	0.0008631		
PPV	A1	0.72	2.318e-08	0.9	0.37	0.92	< 2.2e-16	0.7	0.48	0.94	< 2.2e-16	0	1
	A6	0.80	1.138e-11			0.94	< 2.2e-16			0.94	< 2.2e-16		
PSS	A1	0.58	2.532e-05	1.46	0.15	0.89	< 2.2e-16	1.11	0.27	0.48	0.0006986	0.95	0.34
	A6	0.75	2.471e-09			0.93	< 2.2e-16			0.62	3.794e-06		
PSV	A1	0.70	7.036e-08	0.84	0.4	0.95	< 2.2e-16	1.14	0.25	0.54	9.993e-05	1.33	0.18
	A6	0.78	2.937e-10			0.92	< 2.2e-16			0.71	1.766e-08		
PVV	A1	0.64	1.235e-06	2.17	0.03	0.94	< 2.2e-16	2.62	0.01	0.90	< 2.2e-16	1.25	0.21
	A6	0.84	2.194e-13			0.98	< 2.2e-16			0.94	< 2.2e-16		
SSV	A1	0.68	1.526e-07	0.37	0.71	0.89	< 2.2e-16	0.24	0.81	0.41	0.004634	0.11	0.91
	A6	0.72	1.789e-08			0.90	< 2.2e-16			0.39	0.00719		
SVV	A1	0.70	7.145e-08	0.6	0.55	0.94	< 2.2e-16	0.44	0.66	0.67	3.291e-07	0.17	0.86

Annexe 2. Relations entre la biomasse des compétiteurs et les écarts à la prédiction. Des coefficients de corrélation de Spearman (Corr) ont été calculés pour chaque traitement. Les valeurs significatives après correction de Bonferroni sont surlignées en gras.

	Diamètre		Biomasse d' <i>A. thaliana</i>		Âge de floraison		Hauteur de la première fleur		Hauteur / diamètre		Biomasse / diamètre	
	Corr	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>	Corr	<i>P</i>
PPS	-0.84	< 2.2e-16	-0.86	< 2.2e-16	0.45	8.789e-06	-0.16	0.1388	0.26	0.01162	-0.79	< 2.2e-16
PPV	-0.08	0.4495	-0.092	0.3835	0.33	0.00127	-0.10	0.3195	-0.13	0.1993	0.12	0.2596
PSS	-0.55	1.993e-08	-0.85	< 2.2e-16	0.16	0.1257	-0.099	0.3522	-0.0043	0.9679	-0.80	< 2.2e-16
PSV	-0.82	< 2.2e-16	-0.90	< 2.2e-16	0.55	1.054e-08	-0.21	0.04851	0.19	0.06879	-0.87	< 2.2e-16
PVV	-0.20	0.05475	-0.021	0.8429	0.14	0.1714	-0.068	0.5192	0.057	0.5899	-0.14	0.1906
SSV	-0.71	< 2.2e-16	-0.85	< 2.2e-16	0.43	2.584e-05	-0.22	0.03427	0.019	0.8554	-0.79	< 2.2e-16
SVV	-0.78	< 2.2e-16	-0.81	< 2.2e-16	0.52	1.072e-07	-0.45	8.039e-06	-0.036	0.7374	-0.73	< 2.2e-16

**The adaptive potential of a natural population of an
annual plant species toward an invasive species
depends on its surrounding community and warming**

Etienne Baron, Fabrice Roux et Laurent Amsellem

To be submitted soon

The adaptive potential of a natural population of an annual plant species toward an invasive species depends on its surrounding community and warming.

Etienne Baron^{1,2,3}, Fabrice Roux^{1,2,3} and Laurent Amsellem¹

¹*Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France*

²*INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

³*CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France.*

e-mail addresses : etienne.baron@toulouse.inra.fr, fabrice.roux@toulouse.inra.fr,
laurent.amsellem@univ-lille1.fr

***Corresponding author:** Laurent Amsellem

Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France

E-mail: laurent.amsellem@univ-lille1.fr

Phone number: +33 (0)3 20 43 49 91

Fax number: +33 (0)3 20 43 69 79

Running title: adaptive potential to invasiveness in a global change context

Keywords: warming, community shifts, invasive species, adaptive potential, phenotypic plasticity

Summary

Resistance to invasive species is linked to the intra-population genetic variation of native species. On the other hand, numerous ecological factors related to global change are known to deeply affect the genetic variation of plant populations. In this study, we aimed at studying the combined effects of three global change related factors on the adaptive potential of a French local population of the native annual species *Arabidopsis thaliana* toward the invasive perennial species *Senecio inaequidens*. To do so, we investigated the performance of 10 *A. thaliana* genotypes in 24 experimental environments resulting from the combination of two temperature regimes, three surrounding community assemblies, two levels of species richness and invasiveness (presence of the invasive species *S. inaequidens* compared to the presence of the non-invasive species *Senecio vulgaris*). We also estimated the genetic variation between these 10 genotypes for the effect of *A. thaliana* on the performance of both *Senecio* species and of the surrounding communities. Both the response and the effect of the *A. thaliana* local population toward *S. inaequidens* were strongly affected by specific combinations between temperature, surrounding community assembly and species richness. In addition, highly significant genetic variation was detected for both the response and effect of *A. thaliana* toward *S. inaequidens*, suggesting a high adaptive potential of the population TOU-A to deal with the combined effect of multiple global change related factors. Only the temperature regime significantly affected the level of adaptive potential of *A. thaliana*. Finally, the genotypes that were the most plastic in communities that only contains co-occurring native species could be pre-adapted to resist to an invasion process by *S. inaequidens*.

Introduction

Since some studies demonstrated that natural populations with a reduced genetic diversity may be more vulnerable to both rapid and new environmental changes, the level of intra-population genetic variation is well recognized as an indicator of the adaptive potential of a species (Jump *et al.* 2009; Peñuelas *et al.* 2013). In addition, ecologists have recently devoted increasing attention to the role of genetic variation within plant populations on community functioning (Albert *et al.* 2010, Violle *et al.* 2012), and in particular on the process of plant invasion. On the one hand, some introduced plant species may present high levels of intra-population genetic variation facilitating their invasiveness (Pappert *et al.* 2000, Genton *et al.* 2005), by promoting their rapid adaptation in native plant communities (Prentis 2008). On the other hand, few experimental studies have been focused on the genetic variation of response of a native species toward plant invasiveness (Gibson *et al.* 2014). Native species presenting high levels of intra-population genetic variation are however expected to exhibit a higher resistance to invasive species than native species that are weakly genetically diverse at the intra-population level (Fridley *et al.* 2007, Crutsinger *et al.* 2008; Vellend *et al.* 2010). This expectation is directly related to the diversity-resistance hypothesis initially developed at the community scale, then extended to the population scale (Elton 1958).

Numerous ecological factors related to global change are well known to affect the genetic variation of plant populations. Notably, climate change may affect intra-population genetic variation in plants, both directly (Franks *et al.* 2008) and indirectly by diffused environmental effects from the community level. For instance, both changes in interactions among populations (Michalet *et al.* 2014; Grassein *et al.* 2014) and community shifts associated with an alteration of species diversity can result from climate change (Davis *et al.* 1998; Gilman *et al.* 2010; Liancourt *et al.* 2013; Thompson *et al.* 2013; Baldwin *et al.* 2014). Because species diversity in communities are closely related to intra-specific genetic variation (Olden *et al.* 2004; Vellend *et al.* 2006), global changes leading to these community shifts might therefore indirectly affect intra-population genetic variation.

Thereby, we may wonder how the resistance of a native species toward plant invasiveness is affected by the combined effects of several ecological factors related to global change. In particular, studies testing how the genetic variation of resistance (*i.e.* the adaptive

potential) of a native population toward an invasive species is affected by climate warming and community shifts like changes in community assemblies and community impoverishment are scarce, not to say absent. Consequently, the mechanisms underlying the adaptive potential of a natural population toward the arrival of an invasive species in different contexts of climate warming, community assembly and species richness are poorly understood. Because phenotypic plasticity is recognized to play a primary importance both for the short and long-term response of plant populations to climate change and community shifts (Valladares *et al.* 2007; Matesanz *et al.* 2010), we make the hypothesis that the genotypes that are the most plastic in native communities will better resist to the arrival of an invasive species.

In this study, we aimed at studying the adaptive potential of a French local population of the mouse-ear cress annual plant species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Brassicaceae), toward the invasive perennial shrubby herb species *Senecio inaequidens* (DC., South African Ragwort) (Asteraceae) according to the combined effects of three global change related factors: climate warming, changes in both community assembly and species richness. We considered *A. thaliana* and *S. inaequidens* for several reasons. First, natural populations of *A. thaliana* often exhibit both high genetic and phenotypic variation (Le Corre 2005; Kronholm *et al.* 2012; Brachi *et al.* 2013) Second, *A. thaliana* presents genetic variation for response to invasiveness (Weltzin *et al.* 2003), interspecific competition (Bossdorf *et al.* 2009; Brachi *et al.* 2012) and warming (Springate & Kover 2014). Third, the invasive species *S. inaequidens* is described as one of the most rapidly spreading plant invaders in Europe (Bossdorf *et al.* 2008), and more importantly, is also found in natural plant communities including *A. thaliana* (Fig. S1). We specifically addressed the following questions:

- (i) What is the adaptive potential in a local population of *A. thaliana* for the response to the presence of *S. inaequidens* according to temperature, surrounding community assembly and species richness?
- (ii) What is the adaptive potential of the effect of *A. thaliana* on *S. inaequidens* and the surrounding community?
- (iii) Do genotypes that are the most plastic in communities without *S. inaequidens* better resist to the presence of *S. inaequidens*?

To address these questions, we first characterized the genetic variation between ten genotypes of *A. thaliana* for four phenotypic traits related to phenology, seed dispersal, biomass accumulation and growth strategy, in 24 experimental environments resulting from

the combination of two temperature regimes, three surrounding community assemblies, two levels of species richnesses and invasiveness (presence of the invasive species *S. inaequidens* compared to the presence of the non-invasive species *Senecio vulgaris*). Then we estimated the genetic variation between these 10 genotypes for the effect of *A. thaliana* on the performance of both *Senecio* species and of the surrounding communities, by measuring their rate of biomass accumulation. We found that both the mean response and the mean effect of *A. thaliana* toward *S. inaequidens* were strongly affected by specific combinations between temperature, surrounding community assembly and species richness. In addition, highly significant genetic variation was detected both for the response and effect of *A. thaliana* toward *S. inaequidens*, with strong crossing reaction norms observed between the 24 experimental conditions. The level of adaptive potential for the four traits scored on *A. thaliana* was significantly affected by the temperature regime, but not by either community assembly, or species richness or invasiveness. Finally, we found that the genotypes that were the most plastic in communities without *S. inaequidens* were more resistant to the arrival of *S. inaequidens*, suggesting a pre-adaptation of this local population of *A. thaliana* to resist to an invasion by *S. inaequidens*.

Materials and methods

PLANT MATERIAL

In this study, we used 10 *A. thaliana* accessions from the natural population TOU-A located in a permanent meadow habitat (Burgundy, France; Platt *et al.* 2010). Those 10 accessions represent as many different haplogroups based on the genotyping at 149 Single Nucleotide Polymorphisms (Platt *et al.* 2010). More importantly, extensive genetic variation for response to interspecific competition has been found between these 10 genotypes (Baron *et al.* submitted manuscript).

Seeds of all the other species considered in this study (with the exception of *S. inaequidens*) were provided by the company Herbiseeds (<http://www.herbiseed.com/>). Seeds for *S. inaequidens* have been collected in June 2009 in an invasive population located in the North of France (50°53'18.50"N, 2°31'13.02"E).

EXPERIMENTAL DESIGN AND GROWTH CONDITIONS

An experiment of 960 *A. thaliana* target plants was set up using a Randomized Complete Block Design (RCBD) repeated at two temperature regimes, hereafter named ‘Cold’ (15°C day /10°C night) and ‘Warm’ (25°C day /20°C night) regimes, with four blocks within each temperature regime (Fig. 1a). This latter temperature regime was chosen because a ‘28°C day /23°C night’ treatment reduced significantly both life span and total biomass of *A. thaliana* (Jin *et al.* 2011). The two temperature regimes were simulated in two highly similar controlled growth chambers (16-hr photoperiod, 65% humidity, 80 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ irradiance, light generated by four metal halide lamps [Radium HRI-T 400W/N, wavelength from 400 to 700 nm, enriched in blue] and four high pressure sodium lamps [Osram Plantastar 400W, wavelength < 700 nm, enriched in red]). While the two growth chambers were physically adjacent and highly controlled for temperature, humidity and light intensity, we cannot rule that other environmental factors differed between these two growth chambers. Within each temperature regime, each block was an independent randomization of one replicate of each combination of the following four factors (Fig. 1a):

1. The ‘*A. thaliana* accession’ factor by considering the 10 *A. thaliana* genotypes mentioned above.
2. The ‘surrounding community assembly’ factor (Fig. 1): Because both plant functional group identity and diversity determine biotic resistance to invasion (Byun *et al.* 2013), we considered three surrounding community assemblies (hereafter named treatments ‘A’, ‘B’ and ‘C’) that are functionally close based on their inclusive growth forms. The communities were constituted with species associated with *A. thaliana* in natural plant communities in France (<http://junon.u-3mrs.fr/msc41www/PSHTM/PS2135.htm>). Each assembly contained:
 - Two grass-like growth form species (Poaceae unless indicated): *Festuca rubra* and *Poa annua* in community assembly ‘A’, *Agrostis stolonifera* and *Dactylis glomerata* in community assembly ‘B’, *Alopecurus myosuroides* and *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) in community assembly ‘C’.
 - Two forb-like growth form species: *Matricaria perforata* (Asteraceae) and *Stellaria media* (Caryophyllaceae) in community assembly ‘A’, *Leucanthemum vulgare* (Asteraceae) and *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae) in community

assembly 'B', and *Trifolium repens* (Fabaceae) and *Veronica arvensis* (Plantaginaceae) in community assembly 'C'.

- One Asteraceae species growing with a taproot: *Taraxacum officinalis*, in community assembly 'A', *Daucus carota* in community assembly 'B' and *Centaurea cyanus* in community assembly 'C'.
3. The 'species richness' factor (Fig. 1) nested within the 'surrounding community assembly'. Two levels of species richness were considered in this study. The assemblies described above were considered as rich communities (hereafter named treatment 'Rich'), whereas poor communities (hereafter named treatment 'Poor') were obtained from impoverishment of each 'Rich' community. 'Poor' communities were constituted by *Poa annua* and *Matricaria perforata* for the community assembly 'A', *Agrostis stolonifera* and *Daucus carota* for the community assembly 'B', *Veronica arvensis* and *Centaurea cyanus* for the community assembly 'C'.
 4. The 'invasiveness' factor. We aimed at testing the effect of the presence of the invasive species *S. inaequidens* ('I' treatment) compared to the presence of the non-invasive species *S. vulgaris* ('V' treatment) (Fig. 1a), this last being also often associated with *A. thaliana* (Bossdorf *et al.* 2009).

To summarize, each accession was phenotyped in a total of 24 treatments (Fig. 1a), resulting from the combination of two temperature treatments ('Cold' and 'Warm'), three surrounding community assemblies treatments ('A', 'B' and 'C'), two species richness treatments ('Poor' and 'Rich') and two invasiveness treatments ('I' and 'V'). The number of plants was kept constant among all reconstituted communities ($n = 7$); so that the two species of the surrounding assemblies in the Poor communities were represented by either two individuals or three individuals (Fig. 1b).

Arabidopsis thaliana and surrounding species were sown the 28th of February 2011 in pots (Ø 12 cm x 10.5 cm, vol. ~0.79 L; TEKU MQC) filled with damp standard culture soil (Huminsubstrat N3, Neuhaus). Germination date of *A. thaliana* target plants was monitored daily. In each pot, seedlings of each species were thinned to one in the corresponding delimited areas (Fig. 1b). All plants were evenly spaced 4 cm away from the neighbor plants.

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION

When an *A. thaliana* target plant started to flower, four traits described as related to adaptation for this species (Reboud *et al.* 2004) were scored to describe its response to invasiveness in different contexts of warming and community assemblies and richness:

- Flowering time (FT) corresponding to the time interval in days between germination date and flowering date.
- Height from soil of the first flower (H). This trait is related to seed dispersal in *A. thaliana* (Wender *et al.* 2005).
- Ratio H/DIAM (HD) — with DIAM being the maximum diameter of the rosette measured at the nearest millimeter (Weinig *et al.*, 2006) — to quantify the growth strategy adopted by *A. thaliana*. In this study, we assumed that values of HD above and below 1 would correspond to an escape strategy and an aggressive strategy, respectively.
- Above-ground dry biomass (BIOMASS_T) to quantify biomass accumulation. BIOMASS_T was estimated after drying the aboveground portion for two days at 60°C.

In addition, when each *A. thaliana* individual started to flower, we estimated the above-ground dry biomass of the corresponding surrounding community (BIOMASS_C) and *Senecio* sp. (BIOMASS_Sv for *S. vulgaris* and BIOMASS_Si for *S. inaequidens*), by drying the aboveground portion for two days at 60°C. Because BIOMASS_T, BIOMASS_C, BIOMASS_Sv and BIOMASS_Si values may depend on the date when individuals of *A. thaliana* were harvested, the BIOMASS_T, BIOMASS_C, BIOMASS_Sv and BIOMASS_Si values from a pot were divided by the flowering time of the corresponding *A. thaliana* target individual. The four BIOMASS traits therefore correspond to a rate of biomass accumulation per day. BIOMASS_T, BIOMASS_C, BIOMASS_Si, BIOMASS_Sv and HD were log-transformed to satisfy the normality and equal variance assumptions of linear regression.

DATA ANALYSIS

Study of the adaptive potential of A. thaliana for the response toward invasiveness in different contexts of climate warming, community assembly and species richness

To explore the genetic variation in the *A. thaliana* TOU-A population in response to invasiveness in different contexts of warming and community assembly and richness, we run the following statistical model (PROC MIXED procedure, REML method, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\begin{aligned} Y_{ijklmn} = & \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i (\text{temperature}_j) + \text{temperature}_j + \text{accession}_k + \text{assembly}_l + \\ & \text{richness}_m (\text{assembly}_l) + \text{invasiveness}_n \\ & + \text{temperature}_j \times \text{accession}_k + \text{temperature}_j \times \text{assembly}_l + \text{temperature}_j \times \text{richness}_m (\text{assembly}_l) \\ & + \text{temperature}_j \times \text{invasiveness}_n + \text{accession}_k \times \text{assembly}_l + \text{accession}_k \times \text{richness}_m (\text{assembly}_l) + \\ & \text{accession}_k \times \text{invasiveness}_n + \text{assembly}_l \times \text{invasiveness}_n + \text{richness}_m (\text{assembly}_l) \times \text{invasiveness}_n \\ & + \text{temperature}_j \times \text{accession}_k \times \text{assembly}_l + \text{temperature}_j \times \text{accession}_k \times \text{richness}_m (\text{assembly}_l) + \\ & \text{temperature}_j \times \text{accession}_k \times \text{invasiveness}_n + \text{temperature}_j \times \text{assembly}_l \times \text{invasiveness}_n + \\ & \text{temperature}_j \times \text{richness}_m (\text{assembly}_l) \times \text{invasiveness}_n + \text{accession}_k \times \text{assembly}_l \times \text{invasiveness}_n \\ & + \text{accession}_k \times \text{richness}_m (\text{assembly}_l) \times \text{invasiveness}_n \\ & + \varepsilon_{ijklm} \quad (1) \end{aligned}$$

where ‘Y’ is one of the four traits scored on *A. thaliana* target plants (*i.e.* FT, H, HD or BIOMASS_T); ‘ μ ’ is the overall phenotypic mean; ‘block’ accounts for differences in micro-environment between the four experimental blocks within each temperature regime; ‘temperature’ measures the effect of the two temperature regimes (‘Cold’ and ‘Warm’); ‘accession’ corresponds to the 10 *A. thaliana* genotypes; ‘assembly’ corresponds to the three surrounding community assemblies (‘A’, ‘B’ and ‘C’); ‘richness’ measures the effect of species richness (‘Poor’ and ‘Rich’) nested within each assembly; ‘invasiveness’ corresponds to the invasive or non-invasive *Senecio* species (‘I’ and ‘V’); and ‘ ε ’ is the residual term. Interaction terms including ‘accession’ accounts for genetic variation in reaction norms between the 10 genotypes of *A. thaliana* for a specific factor or a combination of factors. All factors were treated as fixed effects, because no factor levels were random samples from a population to which we intended to extrapolate. Because no four-factor interacting term was statistically significant, they were not included in model 1.

We conducted several pairwise comparisons within Model (1) to examine the significance of particular effects of interest after adjusting for other factors in the model. This was done using the ‘Contrast’ statement in PROC MIXED in SAS 9.3.

For each of the 24 treatments, least-square means (LSmeans) for FT, H, HD and BIOMASS_T were calculated for each accession, by running the following model (2) in the R environment (R Development Core Team 2014):

$$Y_{ik} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i + \text{accession}_k + \varepsilon_{ik} \quad (2)$$

Because *A. thaliana* is a highly selfing species, LSmeans correspond to genotypic values of accessions.

To test whether the level of adaptive potential of *A. thaliana* was affected by the four factors tested in this study (*i.e.* ‘temperature’, ‘community assembly’, ‘species richness’ and ‘invasiveness’), we first calculated the coefficients of genetic variation for FT, H, HD and BIOMASS_T (hereafter named CV_FT, CV_H, CV_HD and CV_BIOMASS_T) based on LS means of the 10 accessions (Valladares *et al.* 2006). We then run the following statistical model (PROC MIXED procedure, REML method, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$Y_{iklm} = \mu_{\text{trait}} + \text{temperature}_i + \text{assembly}_k + \text{richness}_l (\text{assembly}_k) + \text{invasiveness}_m + \text{temperature}_i \times \text{richness}_l (\text{assembly}_k) + \text{temperature}_i \times \text{invasiveness}_m + \text{richness}_l (\text{assembly}_k) \times \text{invasiveness}_m + \varepsilon_{iklm} \quad (3)$$

Effect of the genetic variation of the A. thaliana target population on performance of Senecio sp and surrounding communities

To explore the effect of genetic variation of the *A. thaliana* population on the surrounding community biomass, we run model (1) with ‘Y’ corresponding to BIOMASS_C.

In order to compare the effect of genetic variation of the *A. thaliana* population on the invasive species *S. inaequidens* and the non-invasive species *S. vulgaris*, we run the following statistical model with ‘Y’ corresponding to BIOMASS_Si and BIOMASS_Sv respectively:

$$Y_{ijklmn} = \mu_{\text{trait}} + \text{block}_i(\text{temperature}_j) + \text{temperature}_j + \text{assembly}_k + \text{accession}_l + \text{richness}_m(\text{assembly}_n) + \text{temperature}_j \times \text{assembly}_k + \text{temperature}_j \times \text{accession}_l + \text{temperature}_j \times$$

$$\text{richness}_m(\text{assembly}_n) + \text{accession}_l \times \text{richness}_m(\text{assembly}_n) \text{ temperature}_j \times \text{accession}_m \times \text{assembly}_n + \text{temperature}_j \times \text{accession}_l \times \text{richness}_m(\text{assembly}_n) + \varepsilon_{ijklmn} \quad (4)$$

Benefits of plasticity in response to invasiveness

To test whether the accessions that were the most plastic for BIOMASS across the communities including *S. vulgaris* (i.e. non-invasive environments) were on average the biggest in communities including *S. inaequidens* (i.e. invasive environments), BIOMASS LS means of each accession were first calculated according to model (2) in each ‘assembly x richness (assembly) x invasiveness’ combination, irrespectively of the temperature regime (see Results section). Then, based on the LS means of BIOMASS obtained in communities including *S. vulgaris* (BIOMASS_Tv), the coefficient of variation CV_BIOMASS_Tv of each *A. thaliana* accession was calculated for each species richness (‘P’ and ‘R’) between the three community assemblies (‘A’, ‘B’ and ‘C’) including *S. vulgaris*. In this way, we obtained for each accession two values of CV_BIOMASS_Tv, in a context of either rich or poor assemblies. In parallel, based on the LS means of BIOMASS obtained in communities including *S. inaequidens* (BIOMASS_Ti), MEAN_BIOMASS_Ti of each *A. thaliana* accession was calculated for each species richness (‘P’ and ‘R’) as the mean rate of biomass accumulation across the three community assemblies (‘A’, ‘B’ and ‘C’) including *S. inaequidens*. Finally, to test whether the relationship between biomass plasticity between communities including *S. vulgaris* and mean biomass in communities including *S. inaequidens* depends on the richness level of the communities, we run the following model (PROC MIXED procedure, REML method, SAS 9.3, SAS Institute Inc):

$$\text{MEAN_BIOMASS_Ti}_{jk} = \mu_{\text{trait}} + \text{CV_BIOMASS_Tv}_j + \text{richness}_k + \text{CV_BIOMASS_Tv}_j \times \text{richness}_k + \varepsilon_{jk} \quad (5)$$

Results

MEAN EFFECTS OF TEMPERATURE, SURROUNDING COMMUNITY ASSEMBLY AND SPECIES RICHNESS ON *A. THALIANA* PHENOTYPIC TRAITS

A highly significant ‘temperature treatment’ effect was detected for the traits FT, H and HD scored on *A. thaliana* target plants, but not for BIOMASS_T (Table 1, Fig. 2). When grown in the warm temperature regime, *A. thaliana* flowered earlier (Warm: 28.25 ± 0.59 days vs. Cold 39.76 ± 0.50 days), was taller (Warm: 110.43 ± 1.89 mm vs. Cold: 86.66 ± 2.00 mm), and showed an increased growth strategy of escape (Warm: 1.20 ± 0.02 vs. Cold: 0.90 ± 0.03). A ‘community assembly treatment’ effect was only significant for BIOMASS_T (Table 1, Fig. 3a), with the following hierarchy for the rate of biomass accumulation (+ 1SE) of *A. thaliana*: community assembly B (0.55 ± 0.04 mg.day⁻¹) > community assembly C (0.44 ± 0.03 mg.day⁻¹) > community assembly A (0.34 ± 0.02 mg.day⁻¹). In addition, a significant ‘richness treatment’ effect was found for BIOMASS_T (Table 1). In comparison with the rich communities, *A. thaliana* had a higher rate of biomass accumulation in the poor community of the assemblies B and C but not of the assembly A (Fig. 3b). Similarly, a significant ‘richness treatment’ effect was found for HD (Table 1). In comparison with the poor communities, *A. thaliana* grew on average more with an escape strategy (+ 1SE) in the rich community of the community assembly B (rich community: 1.12 ± 0.04 , poor community: 0.97 ± 0.05) but not of the community assemblies A (rich community: 1.06 ± 0.03 , poor community: 1.00 ± 0.03) and C (rich community: 1.04 ± 0.04 , poor community: 1.10 ± 0.04).

STUDY OF THE ADAPTIVE POTENTIAL OF THE *A. THALIANA* POPULATION TOU-A FOR THE RESPONSE TO INVASIVENESS ACCORDING TO TEMPERATURE, SURROUNDING COMMUNITY ASSEMBLY AND SPECIES RICHNESS

Mean phenotypic response of A. thaliana to S. inaequidens according to temperature, surrounding community assembly and species richness

Although the ‘invasiveness treatment’ effect was highly significant for BIOMASS_T with *A. thaliana* accumulating on average less biomass per day in presence of *S. inaequidens* than in presence of *S. vulgaris* (Table 1, Fig. 2), the ‘invasiveness treatment’ effect on the four traits scored on *A. thaliana* was often dependent on its interaction with temperature and/or community assembly and/or species richness.

First, the effect of the ‘invasiveness treatment’ was significantly dependent on the temperature regime for FT, H and HD but not for BIOMASS_T (Table 1). While *A. thaliana* flowered on average earlier in presence of *S. inaequidens* than in presence of *S. vulgaris* at cold temperature, no difference of flowering time of *A. thaliana* between the two *Senecio* species was found at warm temperature (Fig. 2). In response to warming, flowering time of *A. thaliana* was advanced by 31% in presence of *S. vulgaris* and by 27% in presence of *S. inaequidens* (Fig. 2). For the height from soil to the first flower, *A. thaliana* was on average taller in presence of *S. vulgaris* than in presence of *S. inaequidens* at warm temperature, while no height difference between the two *Senecio* species was found at cold temperature (Fig. 2). In response to warming, the height from soil to the first flower of *A. thaliana* increased by 27% in presence of *S. vulgaris*, but only by 16% in presence of *S. inaequidens* (Fig. 2). Concerning the growth strategy adopted by *A. thaliana* in response to competition, the effect of *S. inaequidens* in comparison with *S. vulgaris* was reversed between the two temperatures regimes. While *A. thaliana* showed to have an average growth strategy significantly less aggressive in presence of *S. inaequidens* than compared to in presence of *S. vulgaris* at cold temperature, *A. thaliana* significantly exhibited a more escape strategy in presence of *S. vulgaris* compared to *S. inaequidens* at warm temperature (Fig. 2). In response to warming, the switch from an aggressive strategy to an escape strategy was more pronounced in presence of *S. vulgaris* than in presence of *S. inaequidens*, with the mean HD value increasing by 34% and 18% in presence of *S. vulgaris* and *S. inaequidens*, respectively (Fig. 2).

Second, the ‘invasiveness x community assembly’ interacting term was only found significant for BIOMASS_T, indicating that the mean response of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens* was dependent on the identity of the surrounding community assembly (Table 1). In presence of *S. inaequidens*, the rate of biomass accumulation in *A. thaliana* was reduced by 43% and 30% in the community assemblies B and C, respectively (Fig. 3a). No significant reduction of BIOMASS_T was detected in the community assembly A, suggesting that *A. thaliana* was more resistant to the presence of *S. inaequidens* within the community assembly A than within the community assemblies B and C (Fig 3a).

Third, we detected a significant ‘invasiveness x richness (community assembly)’ effect for BIOMASS_T, suggesting that the mean response of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens* was also dependent on the level of richness within the surrounding community assemblies (Table 1). Interestingly, the response of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens* was specific to each community assembly (Fig. 3b). No significant effect of the

presence of *S. inaequidens* on BIOMASS_T was found in either the poor community or the rich community within the community assembly A (Fig 3b). Within the assembly B, the effect of the presence of *S. inaequidens* on BIOMASS_T was similar in both levels of richness, with the rate of biomass accumulation in *A. thaliana* reduced by 43% and 41% in comparison with the presence of *S. vulgaris* in the poor community and the rich community, respectively (Fig. 3b). Within the assembly C, the effect of the presence of *S. inaequidens* on BIOMASS_T was not significant in the poor community but was highly significant in the rich community, with the rate of biomass accumulation in *A. thaliana* reduced by 29% in comparison with the presence of *S. vulgaris* (Fig. 3b).

The non-significant ‘temperature x community assembly x invasiveness’ and ‘temperature x richness (community assembly) x invasiveness’ interactions suggest that the effect of both the community assembly and the species richness on the resistance of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens* was not affected by an increase of temperature in our study (Table 1).

Genetic variation of the phenotypic response of A. thaliana to the presence of S. inaequidens according to temperature, surrounding community assembly and species richness

Highly significant genetic variation was found for the four traits scored on *A. thaliana* target plants (Table 1, Fig. 4 and S2). More importantly, as indicated by highly significant ‘temperature x accession’ interactions, a strong genetic variation was found for the four traits in response to warming (Table 1). In addition, significant ‘accession x community assembly’, ‘accession x richness (community assembly)’ and ‘accession x invasiveness’ interactions were detected for BIOMASS_T (Table 1), with the ranking of the 10 accessions that strongly differed between the 24 treatments (Fig. 4). Altogether, these results indicate significant crossing reaction norms for the rate of biomass accumulation between the combinations of temperature, community assembly, species richness and invasiveness (Fig. 4). In contrast, as supported by the absence of or the low significant ‘accession x community assembly’, ‘accession x richness (community assembly)’ and ‘accession x invasiveness’ interactions for FT, H and HD (Table 1), the ranking of the 10 accessions for flowering time, the height from the soil to the first flower and the growth strategy was mainly structured by temperature (Fig. S2).

The highly significant ‘accession x invasiveness x community assembly’ interaction for BIOMASS_T and the less significant ‘accession x invasiveness x richness (community assembly)’ interactions for BIOMASS_T, FT and HD suggested that the influence of both community assembly and richness on the response of *A. thaliana* to invasiveness was dependent on the identity of the accession (Table 1). Interestingly, some accessions showed a better resistance to the presence of *S. inaequidens* according to a specific combination between community assembly and species richness (Fig. 4 and S2).

The level of adaptive potential for the four traits scored on *A. thaliana* was significantly affected by the temperature treatment (Table 2). In response to warming, the coefficient of genetic variation increased on average for flowering time and the rate of biomass accumulation, while it decreased for the height from the soil to the first flower and the growth strategy (Fig. 5). Almost no other significant effect on the level of adaptive potential was detected for the ‘community assembly’, ‘species richness’ and ‘invasiveness’ factors (Table 2).

EFFECT OF *A. THALIANA* ON THE SURROUNDING COMMUNITIES AND THE INVASIVE SPECIES

Response of the surrounding community to A. thaliana genetic variation

As expected, BIOMASS_C was highly dependent on both the identity and the richness of the community assembly (Table 3). An effect of ‘temperature treatment’ and ‘invasiveness treatment’ was also detected for BIOMASS_C (Table 3). More importantly, we detected a highly significant ‘accession’ effect, suggesting a strong genetic variation of the effect of *A. thaliana* on the rate of biomass accumulation of the surrounding communities (Table 3). In addition, the highly significant ‘temperature x accession’ and ‘richness (assembly) x accession’ interactions indicate that this genetic effect observed between the 10 accessions on the surrounding communities strongly differed between the two temperature regimes as well as between the two levels of species richness (Table 3).

Response of the invasive and non- invasive Senecio sp to A. thaliana genetic variation

The rate of biomass accumulation strongly differed between the two temperature regimes, the three community assemblies and the two levels of species richness for *S. inaequidens*, but not for *S. vulgaris* (Table 3). The hierarchy between the three community assemblies for the rate of biomass accumulation (+ 1SE) of *S. inaequidens* was (Fig. 6): assembly B ($2.40 \pm 0.19 \text{ mg.day}^{-1}$) > assembly A ($1.84 \pm 0.15 \text{ mg.day}^{-1}$) > assembly C ($1.59 \pm 0.13 \text{ mg.day}^{-1}$). While the performance of *S. inaequidens* was on average reduced in the rich communities compared to the poor ones (Table 3, Figure 6), the level of reduction was highly dependent on the community assembly, *i.e.* the performance of *S. inaequidens* was only significantly reduced in community assembly B. Interestingly, a highly significant ‘accession’ effect was detected for BIOMASS_Sv and BIOMASS_Si (Table 3), suggesting a strong variation in the competitive ability between the 10 accessions of *A. thaliana* toward each *Senecio* species. In addition, the significant ‘accession x community assembly’ interaction detected for BIOMASS_Si suggests genetic variation in the reaction norms of the competitive ability of *A. thaliana* toward *S. inaequidens* between the three surrounding community assemblies (Table 3).

BENEFITS OF PLASTICITY BETWEEN THE COMMUNITIES INCLUDING *S. VULGARIS* FOR THE RESPONSE OF *A. THALIANA* TO THE COMMUNITIES INCLUDING *S. INAEQUIDENS*

A significant positive relationship was found between CV_BIOMASS_Tv (*i.e.* coefficient of variation for the rate of biomass accumulation of *A. thaliana* between the three community assemblies A, B and C including *S. vulgaris*) and MEAN_BIOMASS_Ti (*i.e.* mean rate of biomass accumulation of *A. thaliana* across the three community assemblies A, B and C including *S. inaequidens*; Fig. 7). This positive relationship appears slightly stronger in the poor communities than in the rich communities (Fig. 7), suggesting that *A. thaliana* accessions showing to be more plastic in poor communities including *S. vulgaris* accumulated on average more biomass per day in poor communities including *S. inaequidens*.

Discussion

EFFECTS OF TEMPERATURE, SURROUNDING COMMUNITY ASSEMBLY AND SPECIES RICHNESS ON THE RESPONSE OF A LOCAL POPULATION OF *A. THALIANA* TO THE INVASIVE SPECIES *S. INAEQUIDENS*

In this study, the response of a local population of the native species *A. thaliana* to the presence of the invasive species *S. inaequidens* was strongly affected by three ecological factors related to global change. In particular, by measuring the rate of biomass accumulation, we highlighted that the response of the *A. thaliana* local population TOU-A to the presence of *S. inaequidens* was highly dependent on the identity of the surrounding community assembly. In agreement with the production of allelopathic-related compounds by *S. inaequidens* (Bicchi *et al.* 1985) but not by *S. vulgaris* (Qasem & Hill 1989), the rate of biomass accumulation of *A. thaliana* was reduced in presence of *S. inaequidens* in comparison with the presence of *S. vulgaris* in community assemblies B and C. On the other hand, the absence of reduction of the rate of biomass accumulation of *A. thaliana* in presence of *S. inaequidens* in assembly A may be related to the limiting similarity hypothesis, where the niche overlap between species from the native community and an exotic species explains biotic resistance of plant communities to invasiveness (Funk *et al.* 2008, Byun *et al.* 2013). With the presence of species like *Matricaria perforata* having a similar growth form than *S. inaequidens*, the assembly A might have offered a niche partitioning between species that was suboptimal for *S. inaequidens*.

In addition, in agreement with the diversity-resistance hypothesis suggesting that diverse communities with large niche breadth offer fewer niches for invaders (Levine *et al.* 2004; Fridley *et al.* 2007; Crustinger *et al.* 2008; Vellend *et al.* 2010; Frankow-Lindberg 2012; Byun *et al.* 2013), we found that the performance of *S. inaequidens* was reduced in 6-species rich communities in comparison with 3-species poor communities, even though the level of reduction was highly dependent on the identity of the surrounding community assembly. Surprisingly, this overall reduction of performance of *S. inaequidens* in rich communities did not translate into a positive effect on performance of *A. thaliana*. In contrast, *A. thaliana* accumulated on average slightly less biomass per day and grew more with an escape strategy in rich communities than in poor ones. While *A. thaliana* may have participated to the reduction of performance of *S. inaequidens* in rich communities, it may have indirectly been negatively affected by bottom-up diffused environmental effects from the community level. However, the difference in the number of species between the poor and rich communities set-

up in this study was often smaller in comparison to the range of species richness levels set-up in studies testing the diversity-resistance hypothesis (from 1 to up to 16 species; Duker 2002). So, we cannot rule out that an increase species richness would have led to a positive effect on the performance of *A. thaliana* by an indirect stronger negative effect on the performance of *S. inaequidens*.

While it is hard to come up with a biological explanation for the warming-dependent growth strategy response of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens*, our study highlighted the importance of considering ecological factors related to global change (*i.e.* climate warming and community shifts like changes in community assemblies and community impoverishment) if one wants to study the level of resistance of native populations toward a non-native invasive species. In addition, we noticed extensive genetic variation in the effect of both the community assembly and species richness on the resistance of *A. thaliana* to the invasiveness of *S. inaequidens*, suggesting that the trends observed at the scale of the local population TOU-A may not be verified by each genotype.

CLIMATE WARMING AND SURROUNDING COMMUNITIES CAN AFFECT THE ADAPTIVE POTENTIAL OF A LOCAL POPULATION OF *A. THALIANA* TOWARD THE INVASIVE SPECIES *S. INAEQUIDENS*

Genetic variation among worldwide accessions of *A. thaliana* has already been evidenced for the response to climate warming (Kover & Springate 2014), response to interspecific competition (Bossdorf *et al.* 2009; Brachi *et al.* 2012) and response to invasiveness (Weltzin *et al.* 2003). Based on 10 accessions of *A. thaliana* collected in a local population, our study revealed extensive genetic variation at a very smaller spatial scale (i) not only for the response to climate warming, interspecific competition and invasiveness, (ii) but also for the response to the combined effect of these ecological factors. In particular, for the rate of biomass accumulation, the genetic variation of the response of *A. thaliana* to the presence of *S. inaequidens* was dependent on the identity of the community assembly as well as the species richness. Since *A. thaliana* plants were scored for traits described as related to adaptation (Reboud *et al.* 2004), this observed intra-population genetic variation suggests an adaptive potential for the local population TOU-A to rapidly respond (i) to climate change, as previously demonstrated for local populations in other plant species (Avolio & Smith 2013;

Thompson *et al.* 2013; Franks *et al.* 2014), (ii) as well as to the associated community shifts and invasions by non-native species.

In agreement with the observation that strong environmental selective pressures can restrict or enhance the effects of population's genetic variation (Charmantier & Garant 2005; Peñuelas *et al.* 2013), we also showed that, depending on the phenotypic trait considered, climate warming either increased or decreased the level of adaptive potential of *A. thaliana*. This suggests that warming can induce a modulation of phenotypic plasticity, which in turn may lead to a reshaping of the phenotypic space. Thereby, in response to a selection pressure related to climate warming, an extent of the ecological niche may allow the *A. thaliana* population TOU-A to better resist to both community shifts and invasiveness.

In addition, we found strong genetic variation for the competitive effect of *A. thaliana* on *S. inaequidens*. This result suggests that some genotypes in that local population might have a better competitive ability than others to be faced with a process of invasion, by reducing for instance the inclusive vigor advantage of the invasive species (Gibson *et al.* 2014). Because strong genetic variation for the competitive effect of *A. thaliana* on surrounding communities was also found in this study, it reinforces the idea that population genetic variation may be of primary importance in the response of plant communities to environmental changes (Albert *et al.* 2010). Altogether, the observed genetic variation between the 10 accessions for the competitive effect of *A. thaliana* on both surrounding communities and *S. inaequidens* suggest an adaptive potential for Interspecific Indirect Genetic Effects (IIGE), which may in turn underlie mechanisms acting on the eco-evolutionary dynamics of the local population TOU-A (Bailey *et al.* 2014).

INCREASED PHENOTYPIC PLASTICITY MAY LEAD TO PRE-ADAPTATION OF SOME *A. THALIANA* GENOTYPES TO INVASION BY *S. INAEQUIDENS*

Plasticity is well known to act as a buffer in response to sudden environmental changes, and could be therefore a key-mechanism in future environments where there will be not only an increase in global mean temperature but also an increase in the frequency of extreme climatic events causing rapid community changes (Smith 2011). Consequently, there might be a selection pressure on many plant populations for an increase of the plastic response to future climate change (Gutschick & BassiriRad 2003).

In this study, a low but significant trend indicated that *A. thaliana* genotypes that showed the most plasticity for the rate of biomass accumulation in communities including *S. vulgaris* succeeded in accumulating more biomass per day in communities including *S. inaequidens*. Even if Jump *et al.* (2008) suggested that identifying which genetic variants will be valuable for the persistence of a species in a natural environment should be difficult, we suggest that the *A. thaliana* genotypes that were the more plastic for a fitness-related trait in communities that only contains co-occurring native species could be pre-adapted to resist to an invasion process by *S. inaequidens*. If the ecological context considered in this study occurs in the natural habitat of the population TOU-A, an increase in the proportion of these highly plastic genotypes potentially pre-adapted to the invasion of *S. inaequidens* is expected, leading to an increase of the mean resistance of the local population TOU-A to invasiveness.

Conclusions and perspectives

Both local genetic variation (i) of the response of *A. thaliana* to the presence of the invasive species *S. inaequidens*, the surrounding community assemblies and richness and the temperature, and (ii) of the competitive effect of *A. thaliana* on *S. inaequidens* and the surrounding communities, suggest a high adaptive potential of the population TOU-A to deal with the combined effect of multiple global change related factors. In addition, this study highlights that extrinsic characteristics of a local population of *A. thaliana* (*i.e.* identity of surrounding community assembly, community richness and temperature) may facilitate its resistance to an invasive species as *S. inaequidens*. Similarly, the presence of highly plastic genotypes within a local population of *A. thaliana* may correspond to an intrinsic process of the population to facilitate its resistance to the arrival of a non-native species. However, because our study has been focused on a single local population of *A. thaliana*, it remains to test whether similar biological conclusions would be obtained in other natural populations of *A. thaliana*.

Both (i) the high adaptive potential of the local population TOU-A observed in this study, and (ii) the access to unprecedented genomic data *via* Next-Generation Sequencing (NGS), suggest that natural plant models like *A. thaliana* may appear relevant to shed light on both the processes involved in the response to global changes and the genetics underlying these processes at a micro-geographic scale. Consequently, taking the step of a

multidisciplinary approach associated with ecological genomics will be an interesting way to identify eco-evolutionary trajectories of natural populations to potential global changes involving in particular community shifts and invasiveness.

Acknowledgements

Grateful thanks are given to Angélique Bourceaux, Cédric Glorieux, Nathalie Faure and Tanguy Gilbergue, for their assistance during the experiment. This work was funded by a PhD fellowship from the University of Lille 1 – Région Nord-Pas-de-Calais grant to EB, (project Bio-impact : Impacts des changements globaux sur la distribution de la Biodiversité en Région Nord-Pas-de-Calais). This study was also supported by the LABEX TULIP (ANR-10-LABX-41; ANR-11-IDEX-0002-02).

References

- Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Douzet, R., Aubert, S., Lavorel, S. (2010) A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology*, **24**, 1192-1201.
- Avolio, M. L., & Smith, M. D. (2013) Mechanisms of selection: phenotypic differences among genotypes explain patterns of selection in a dominant species. *Ecology*, **94**, 953-965.
- Bailey, J. K., Genung, M. A., Ware, I., Gorman, C., Van Nuland, M. E., Long, H., & Schweitzer, J. A. (2014) Indirect genetic effects: an evolutionary mechanism linking feedbacks, genotypic diversity and coadaptation in a climate change context. *Functional Ecology*, **28**, 87-95.
- Baldwin, A. H., Jensen, K., & Schönfeldt, M. (2014) Warming increases plant biomass and reduces diversity across continents, latitudes, and species migration scenarios in experimental wetland communities. *Global change biology*, **20**, 835-850.
- Bicchi, C., D'Amato, A., & Cappelletti, E. (1985) Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio inaequidens* DC by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, **349**, 23-29.

- Bossdorf, O., Lipowsky, A. and Prati, D. (2008) Selection of preadapted populations allowed *Senecio inaequidens* to invade Central Europe. *Diversity and Distributions*, **14**, 676–685. doi: 10.1111/j.1472-4642.2008.00471.x
- Bossdorf, O., Shuja, Z. & Banta, A. (2009) Genotype and maternal environment affect belowground interactions between *Arabidopsis thaliana* and its competitors. *Oikos*, **118**, 1541-1551.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Nautekète, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. & Roux, F. (2013) Investigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4223-4240.
- Brachi, B., Aimé, C., Glorieux, C., Cuguen, J. & Roux, F. (2012) Adaptive value of phenological traits in stressful environments: predictions based on seed production and laboratory natural selection. *PLoS One*, **7**, e32069.
- Byun, C., Blois, S., & Brisson, J. (2013) Plant functional group identity and diversity determine biotic resistance to invasion by an exotic grass. *Journal of Ecology*, **101**, 128-139.
- Charmantier, A., & Garant, D. (2005) Environmental quality and evolutionary potential: lessons from wild populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **272**, 1415-1425.
- Crutsinger, G. M., Souza, L., & Sanders, N. J. (2008) Intraspecific diversity and dominant genotypes resist plant invasions. *Ecology Letters*, **11**, 16-23.
- Davis, A. J., Jenkinson, L. S., Lawton, J. H., Shorrocks, B., & Wood, S. (1998) Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature*, **391**, 783-786.
- Dukes, J. S. (2002) Species composition and diversity affect grassland susceptibility and response to invasion. *Ecological Applications*, **12**, 602-617.
- Elton, C.S. (1958) *The ecology of invasions by animals and plants*. Methuen and Co, London
- Frankow-Lindberg, B. E. (2012) Grassland plant species diversity decreases invasion by increasing resource use. *Oecologia*, **169**, 793-802.

- Franks, S. J., & Weis, A. E. (2008) A change in climate causes rapid evolution of multiple life-history traits and their interactions in an annual plant. *Journal of evolutionary biology*, **21**, 1321-1334.
- Franks, S. J., Weber, J. J., & Aitken, S. N. (2014) Evolutionary and plastic responses to climate change in terrestrial plant populations. *Evolutionary Applications*, **7**, 123-139.
- Fridley, J. D., Stachowicz, J. J., Naeem, S., Sax, D. F., Seabloom, E. W., Smith, M. D., Stohlgren, T. J., Tilman, D. & Holle, B. V. (2007) The invasion paradox: reconciling pattern and process in species invasions. *Ecology*, **88**, 3-17.
- Funk, J. L., Cleland, E. E., Suding, K. N., & Zavaleta, E. S. (2008) Restoration through reassembly: plant traits and invasion resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 695-703.
- Genton, B. J., Shykoff, J. A., & Giraud, T. (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Molecular Ecology*, **14**, 4275-4285.
- Gibson, D. J., Dewey, J., Goossens, H., & Dodd, M. M. (2014) Intraspecific variation among clones of a naïve rare grass affects competition with a nonnative, invasive forb. *Ecology and evolution*, **4**, 186-199.
- Gilman, S. E., Urban, M. C., Tewksbury, J., Gilchrist, G. W., & Holt, R. D. (2010) A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 325-331.
- Grassein, F., Lavorel, S., & Till-Bottraud, I. (2014) The importance of biotic interactions and local adaptation for plant response to environmental changes: field evidence along an elevational gradient. *Global change biology*, **20**, 1452-1460.
- Gutschick, V. P., & BassiriRad, H. (2003) Extreme events as shaping physiology, ecology, and evolution of plants: toward a unified definition and evaluation of their consequences. *New Phytologist*, **160**, 21-42.
- Jin, B., Wang, L., Wang, J., Jiang, K. Z., Wang, Y., Jiang, X. X., Ni, C. Y., Wang, Y. L. & Teng, N. J. (2011) The effect of experimental warming on leaf functional traits, leaf structure and leaf biochemistry in *Arabidopsis thaliana*. *BMC plant biology*, **11**, 35.

- Jump, A. S., Marchant, R., & Penuelas, J. (2009) Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in plant science*, **14**, 51-58.
- Kronholm, I., Picó, F. X., Alonso-Blanco, C., Goudet, J., & de Meaux, J. (2012) Genetic basis of adaptation in *Arabidopsis thaliana*: local adaptation at the seed dormancy QTL DOG1. *Evolution*, **66**, 2287-2302.
- Le Corre, V. (2005) Variation at two flowering time genes within and among populations of *Arabidopsis thaliana*: comparison with markers and traits. *Molecular Ecology*, **14**, 4181-4192.
- Levine, J. M., Adler, P. B., & Yelenik, S. G. (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology letters*, **7**, 975-989.
- Liancourt, P., Spence, L. A., Song, D. S., Lkhagva, A., Sharkhuu, A., Boldgiv, B., Helliker, B. R., Petraitis, P. S. & Casper, B. B. (2013) Plant response to climate change varies with topography, interactions with neighbors, and ecotype. *Ecology*, **94**, 444-453.
- Matesanz, S., Gianoli, E., & Valladares, F. (2010) Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **120**, 35-55.
- Michalet, R., Schöb, C., Lortie, C. J., Brooker, R. W., & Callaway, R. M. (2014) Partitioning net interactions among plants along altitudinal gradients to study community responses to climate change. *Functional Ecology*, **28**, 75-86.
- Olden, J. D., LeRoy Poff, N., Douglas, M. R., Douglas, M. E., & Fausch, K. D. (2004) Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 18-24.
- Pappert, R. A., Hamrick, J. L., & Donovan, L. A. (2000) Genetic variation in *Pueraria lobata* (Fabaceae), an introduced, clonal, invasive plant of the southeastern United States. *American Journal of Botany*, **87**, 1240-1245.
- Penuelas, J., Sardans, J., Estiarte, M., Ogaya, R., Carnicer, J., Coll, M., Barbeta, A., Rivas-Ubach, A., Llusià, J., Garbulsky, M., Filella, T. & Jump, A. S. (2013) Evidence of current impact of climate change on life: a walk from genes to the biosphere. *Global change biology*, **19**, 2303-2338.

- Platt, A., Horton, M., Huang, Y.S., Li, Y., Anastasio, A.E., Mulyati, N.W., Ågren, J., Bossdorf, O., Byers, D., Donohue, K., Dunning, M., Holub, E. B., Hudson, A., Le Corre, V., Loudet, O., Roux, F., Warthmann, N., Weigel, D., Rivero, L., Scholl, R., Nordborg, M., Bergelson, J. & Borevitz, J., O. (2010) The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **6**, e1000843.
- Prentis, P. J., Wilson, J. R., Dormontt, E. E., Richardson, D. M., & Lowe, A. J. (2008) Adaptive evolution in invasive species. *Trends in plant science*, **13**, 288-294.
- Qasem, J. R., & Hill, T. A. (1989) Possible role of allelopathy in the competition between tomato, *Senecio vulgaris* L. and *Chenopodium album* L. *Weed Research*, **29**, 349-356.
- Reboud, X., Le Corre, V., Scarcelli, N., Roux, F., David, J. L., Bataillon, T., Camilleri, C., Brunel, D. & McKhann, H. (2004) Natural variation among accessions of *Arabidopsis thaliana*: beyond the flowering date, what morphological traits are relevant to study adaptation. *Plant Adaptation: Molecular Genetics and Ecology*, edited by *QCB Cronk, J. Whitton, RH Ree and IEP Taylor*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada, 135-142.
- Smith, M. D. (2011) An ecological perspective on extreme climatic events: a synthetic definition and framework to guide future research. *Journal of Ecology*, **99**, 656-663.
- Springate, D. A., & Kover, P. X. (2014) Plant responses to elevated temperatures: a field study on phenological sensitivity and fitness responses to simulated climate warming. *Global change biology*, **20**, 456-465.
- Thompson, R. M., Beardall, J., Beringer, J., Grace, M., & Sardina, P. (2013) Means and extremes: building variability into community-level climate change experiments. *Ecology letters*, **16**, 799-806.
- Valladares, F., Gianoli, E., & Gómez, J. M. (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist*, **176**, 749-763.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M. A. (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, **94**, 1103-1116.

- Vellend, M. (2006) The consequences of genetic diversity in competitive communities. *Ecology*, **87**, 304-311.
- Vellend, M., Drummond, E. B., & Tomimatsu, H. (2010) Effects of genotype identity and diversity on the invasiveness and invasibility of plant populations. *Oecologia*, **162**, 371-381.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L., Albert, C. H., Hulshof, C., Jung, V., Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **27**, 244-252.
- Weltzin, J. F., Muth, N. Z., Von Holle, B., & Cole, P. G. (2003) Genetic diversity and invasibility: a test using a model system with a novel experimental design. *Oikos*, **103**, 505-518.
- Wender, N. J., Polisetty, C. R., & Donohue, K. (2005) Density-dependent processes influencing the evolutionary dynamics of dispersal: a functional analysis of seed dispersal in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) *American journal of botany*, **92**, 960-971.

Data accessibility

Phenotypic data will be available in the Dryad database: doi:10.5061/dryad.XXX.

Supporting information

Figure S1. *A. thaliana* individuals challenged by the invasive species *S. inaequidens* (location: Mazamet – France, latitude: 43°49'77.54"N, longitude: 2°37'53.72"E). Image courtesy of F. Roux.

Figure S2. Heatmap of flowering time (a), the height from the soil to the first flower (b) and the growth strategy HD (c) for each *A. thaliana* accession according to the 24 experimental environments. Each line corresponds to one of the 24 environments classified according to a hierarchical clustering based on Euclidean distances (package gplot R, function *heatmap.2*). Each column corresponds to one of the 10 accessions. For each accession, the color gradient

(from red to black to green) indicates the ranking of the 24 experimental environments, with the light red and light green squares corresponding to the experimental environments with the lowest and the highest value of FT (a), H (b) and HD (c), respectively.

Figure legends

Figure 1. Experimental design. (a) Twenty-four experimental environments resulting from the combination of two temperature regimes (Warm and Cold), three community assemblies (A, B and C), two levels of species richness (Poor and Rich) and two *Senecio* species (V: *S. vulgaris* & I: *S. inaequidens*). (b) Design of the communities surrounding *A. thaliana*. ‘A’, ‘B’ and ‘C’ correspond to the three community assemblies. ‘Rich’ and ‘Poor’ correspond to the two levels of community richness. White circle represents an *A. thaliana* target plant. Orange and green circles represent species with grass-like growth form and forb-like growth form, respectively. Blue circles represent one Asteraceae species growing with a taproot. Red circles represent either *S. vulgaris* or *S. inaequidens* for the ‘invasiveness’ factor. All plants within a pot were evenly spaced 4 cm away from the neighbor plants.

Figure 2. Mean phenotypic response of *A. thaliana* to both temperature and invasiveness. BIOMASS_T: rate of biomass accumulation, Height: height from the soil to the first flower, HD: growth strategy. White and grey bar plots correspond to the presence of *S. vulgaris* and *S. inaequidens* in communities, respectively. Values represent means of genotypic values of the 10 accessions \pm SE. ns: non-significant, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,***: $P < 0.001$.

Figure 3. Response of *A. thaliana* for the rate of biomass accumulation (BIOMASS_T) to the surrounding community assemblies (a) and the species richness (b). White and grey bar plots correspond to the presence of *S. vulgaris* and *S. inaequidens* in communities, respectively. Values represent means of genotypic values of the 10 accessions \pm SE. ns: non-significant, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,***: $P < 0.001$. Different letters indicate different significant values between the three community assemblies at $P = 0.05$.

Figure 4. Heatmap of the rate of biomass accumulation (BIOMASS_T) for each *A. thaliana* accession according to the 24 environments. Each line corresponds to one of the 24 environments classified according to a hierarchical clustering based on Euclidean distances (package gplot R, function *heatmap.2*). Each column corresponds to one of the 10 accessions. For each accession, the color gradient (from red to black to green) indicates the ranking of the

24 experimental environments, with the light red and light green squares corresponding to the experimental environments with the lowest and the highest value of BIOMASS_T, respectively.

Figure 5. Level of adaptive potential (*i.e.* coefficient of genetic variation) of the four phenotypic traits scored on *A. thaliana* according to the 24 experimental environments. Biomass: rate of biomass accumulation (circles – solid line, Flowering time (square – dashed line), Height: height from the soil to the first flower (triangle – dotted line), HD: growth strategy (diamond – dotted-dashed line).

Figure 6. Effect of community assembly and species richness on the rate of biomass accumulation of *S. inaequidens* (BIOMASS_Si). White and grey bar plots correspond to the presence of *S. inaequidens* in poor and rich communities, respectively. Values represent means of genotypic values of the 10 accessions \pm SE. ns: non-significant, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$. Different letters indicate different significant values between the three community assemblies at $P = 0.05$.

Figure 7. Benefits of plasticity between the communities including *S. vulgaris* for the response of *A. thaliana* to the communities including *S. inaequidens*. Squares – dotted line: relationship between CV_BIOMASS_Tv (*i.e.* coefficient of variation for the rate of biomass accumulation of *A. thaliana* between the three community assemblies A, B and C including *S. vulgaris*) and MEAN_BIOMASS_Ti (*i.e.* mean rate of biomass accumulation of *A. thaliana* across the three community assemblies A, B and C including *S. inaequidens*) in the poor communities. Circles – solid line: relationship between CV_BIOMASS_Tv and MEAN_BIOMASS_Ti in the rich communities. Statistical model (5): effect of the term ‘CV_BIOMASS_Tv’: $F = 5.44$, $P < 0.0331$; effect of the term ‘species richness’: $F = 1.94$, $P < 0.1824$; effect of the interacting term ‘CV_BIOMASS_Tv_j x species richness’: $F = 3.81$, $P < 0.0686$.

Table 1. Natural variation of four phenotypic traits scored on *A. thaliana* target plants.

	FT		H		HD		BIOMASS_T		
	DF	F	P	F	P	F	P	F	P
Block(Temp)	6	0.14	0.9908	2.72	<i>0.0128</i>	3.10	<i>0.0053</i>	1.29	0.2583
Temp	1	906.50	< .0001	98.23	< .0001	142.76	< .0001	0.56	0.4565
Acc	9	299.08	< .0001	27.31	< .0001	42.79	< .0001	67.03	< .0001
Assem	2	0.09	0.9169	0.30	0.7402	0.91	0.4020	19.75	< .0001
Rich(Assem)	3	1.31	0.2697	0.52	0.6686	4.94	0.0021	21.39	< .0001
Inv	1	0.58	0.4451	5.49	<i>0.0194</i>	3.24	0.0723	25.73	< .0001
Temp*Acc	9	12.66	< .0001	4.23	< .0001	14.16	< .0001	4.84	< .0001
Temp*Assem	2	0.21	0.8088	1.5	0.2232	2.68	0.0696	0.55	0.5789
Temp*Rich(Assem)	3	0.57	0.6377	0.25	0.8602	2.3	0.0765	0.16	0.9235
Temp*Inv	1	6.85	<i>0.0091</i>	10.14	0.0015	23.99	< .0001	0.1	0.7564
Acc*Assem	18	0.7	0.8124	1.15	0.2976	1.33	0.1636	5.01	< .0001
Acc*Rich(Assem)	27	0.57	0.9598	1.55	<i>0.0383</i>	1.79	<i>0.0087</i>	4.09	< .0001
Acc*Inv	9	0.47	0.8933	2.29	<i>0.0154</i>	2.67	<i>0.0047</i>	4.25	< .0001
Inv*Assem	2	0.26	0.7741	2.46	0.0864	1.72	0.1803	5.24	<i>0.0055</i>
Inv*Rich(Assem)	3	0.34	0.7993	0.21	0.8891	0.96	0.4107	2.79	<i>0.0397</i>
Temp*Acc*Assem	18	1.29	0.1879	1.25	0.2120	0.97	0.4987	0.45	0.9761
Temp*Acc*Rich(Assem)	27	0.53	0.9768	0.85	0.6892	1.1	0.3378	1.06	0.3844
Temp*Acc*Inv	9	2.11	<i>0.0267</i>	1.01	0.4330	1.47	0.1537	0.3	0.9743
Temp*Inv*Assem	2	0.59	0.5560	1.64	0.1956	2.2	0.1115	0.27	0.7670
Temp*Inv*Rich(Assem)	3	0.59	0.6225	0.23	0.8732	0.13	0.9398	1.44	0.2295
Acc*Inv*Assem	18	0.79	0.7076	0.72	0.7890	1.25	0.2120	2.59	0.0003
Acc*Inv*Rich(Assem)	27	1.61	<i>0.0269</i>	1.12	0.3039	1.75	<i>0.0108</i>	1.56	<i>0.0362</i>

FT: flowering time, H: height from the soil to the first silique, HD (= H/rosette diameter): growth strategy, BIOMASS_T: rate of biomass accumulation, Temp: temperature, Assem: surrounding community assembly, Rich: species richness, Inv: *Senecio* species, Acc: Accession. Values in bold indicate significant effects at the Bonferroni threshold. Values both in bold and italic indicate significant effects at the threshold of 0.05 but not at the Bonferroni threshold.

Table 2. Effects of four environmental factors on the adaptive potential (*i.e.* coefficient of genetic variation) of the four traits scored on *A. thaliana*.

	DF	FT		H		HD		BIOMASS_T	
		F	P	F	P	F	P	F	P
Temp	1	309.40	< 0.001	40.48	0.0031	105.23	0.0005	49.14	0.0022
Rich	1	0.01	0.9175	0.38	0.5700	0.01	0.9414	0.54	0.5026
Rich(Assem)	2	0.32	0.7449	2.16	0.2315	5.19	0.0774	3.58	0.1286
Assem	2	0.03	0.9670	1.02	0.4382	10.17	<i>0.0270</i>	3.98	0.1117
Inv	1	2.51	0.1880	6.23	0.0670	0.01	0.9189	0.69	0.4525
Temp*Rich	1	2.65	0.1789	1.09	0.3558	4.36	0.1051	0.03	0.8678
Temp*Rich(Assem)	2	0.36	0.7178	0.71	0.5462	2.6	0.1889	0.76	0.5249
Temp*Assem	2	1.12	0.4114	0.01	0.9892	0.07	0.9313	0.2	0.8288
Temp*Inv	1	3.77	0.1243	0.73	0.4409	0.07	0.8096	0.77	0.4307
Rich*Inv	1	0.13	0.7319	0.03	0.8662	0.22	0.6652	0.01	0.9330
Assem*Inv	2	0.63	0.5783	0.89	0.4799	0.69	0.5545	3.47	0.1337
Temp*Rich*Inv	1	0.5	0.5172	0.95	0.3851	3.13	0.1514	1.43	0.2983
Rich(Assem)*Inv	2	0.91	0.4736	1.29	0.3706	0.06	0.9470	0.23	0.8047

FT: flowering time, H: height from the soil to the first silique, HD (= H/rosette diameter): growth strategy, BIOMASS_T: rate of biomass accumulation, Temp: temperature, Assem: surrounding community assembly, Rich: species richness, Inv: *Senecio* species, Acc: Accession. Values in bold indicate significant effects at the Bonferroni threshold. Values both in bold and italic indicate significant effects at the threshold of 0.05 but not at the Bonferroni threshold.

Table 3. Natural variation of biomass related traits scored on the surrounding communities and *Senecio* individuals.

	BIOMASS_C		BIOMASS_Sv		BIOMASS_Si		
	DF	F	P	F	P	F	P
Block(Temp)	6	1.10	0.3608	3.78	0.0012	1.92	0.0767
Temp	1	27.38	< 0.0001	0.26	0.6107	31.19	< 0.0001
Acc	9	72.20	< 0.0001	3.10	0.0014	34.74	< 0.0001
Assem	2	13.47	< 0.0001	2.00	0.1372	12.12	< 0.0001
Rich(Assem)	3	98.78	< 0.0001	3.51	0.0158	4.34	0.0052
Inv	1	9.82	0.0018	-	-	-	-
Temp*Acc	9	7.8	< 0.0001	2.29	0.0169	3.2	0.0010
Temp*Assem	2	1.81	0.1641	0.83	0.4376	0.23	0.7915
Temp*Rich(Assem)	3	4.71	0.0029	1.91	0.1283	0.54	0.6547
Temp*Inv	1	0.33	0.5684	-	-	-	-
Acc*Assem	18	0.8	0.6970	1.38	0.1411	1.86	0.0181
Acc*Rich(Assem)	27	3.19	< 0.0001	1.03	0.4302	1.44	0.0767
Acc*Inv	9	1.58	0.1159	-	-	-	-
Inv*Assem	2	0.82	0.4404	-	-	-	-
Inv*Rich(Assem)	3	0.27	0.8486	-	-	-	-
Temp*Acc*Assem	18	1.16	0.2860	1.27	0.2079	1.12	0.3355
Temp*Acc*Rich(Assem)	27	1.16	0.2598	0.55	0.9670	0.84	0.7024
Temp*Acc*Inv	9	0.77	0.6462	-	-	-	-
Temp*Inv*Assem	2	5.62	0.0038	-	-	-	-
Temp*Inv*Rich(Assem)	3	0.14	0.9388	-	-	-	-
Acc*Inv*Assem	18	1.04	0.4115	-	-	-	-
Acc*Inv*Rich(Assem)	27	0.8	0.7576	-	-	-	-

BIOMASS_C, BIOMASS_Si and BIOMASS_Sv correspond to the rate of biomass accumulation of the surrounding community assemblies, *S. inaequidens* and *S. vulgaris*, respectively. Temp: Temperature, Assem: surrounding community assembly, Rich: species richness, Inv: *Senecio* species, Acc: Accession. Values in bold indicate significant effects at the Bonferroni threshold. Values both in bold and italic indicate significant effects at the threshold of 0.05 but not at the Bonferroni threshold.

Figure 1

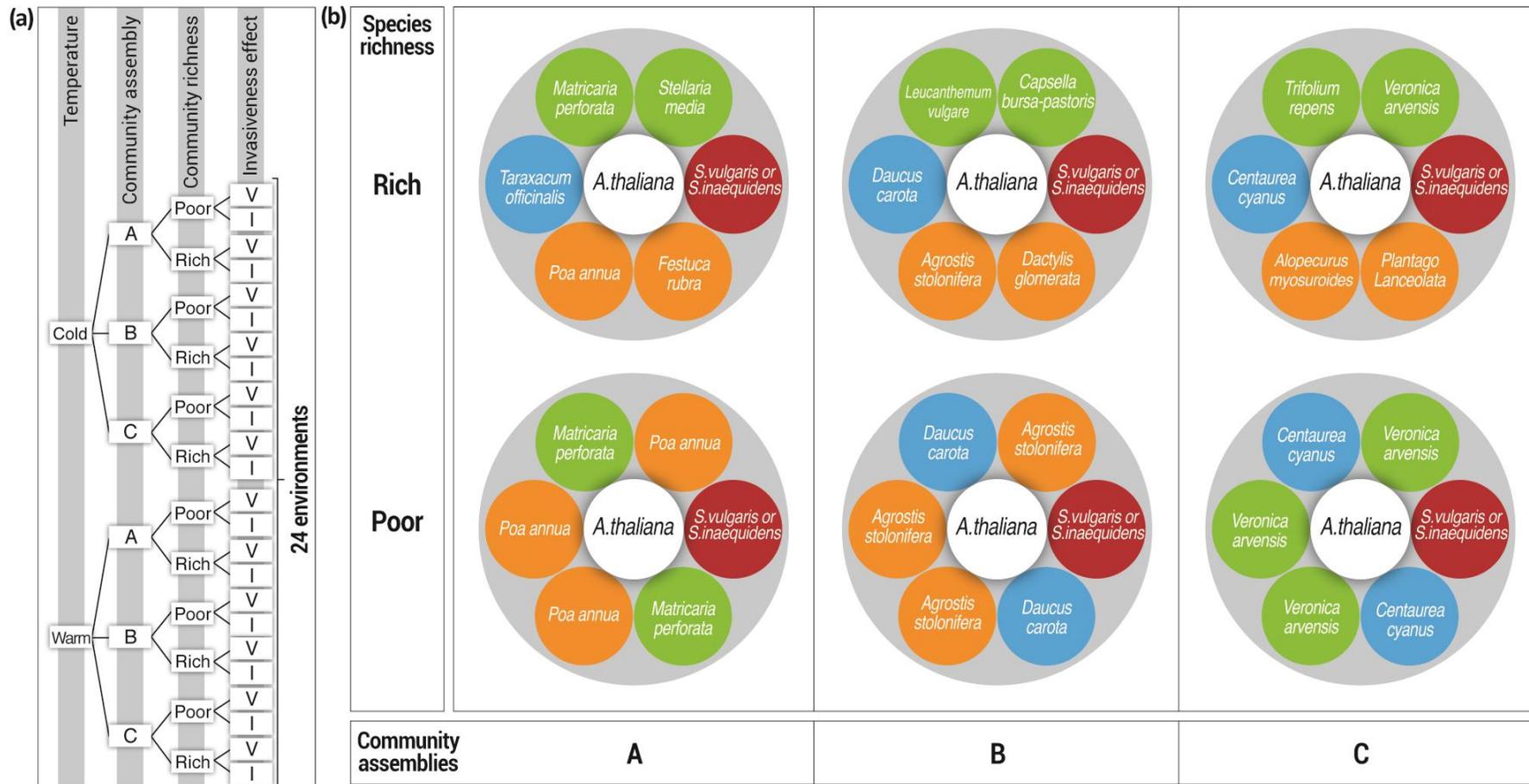


Figure 2

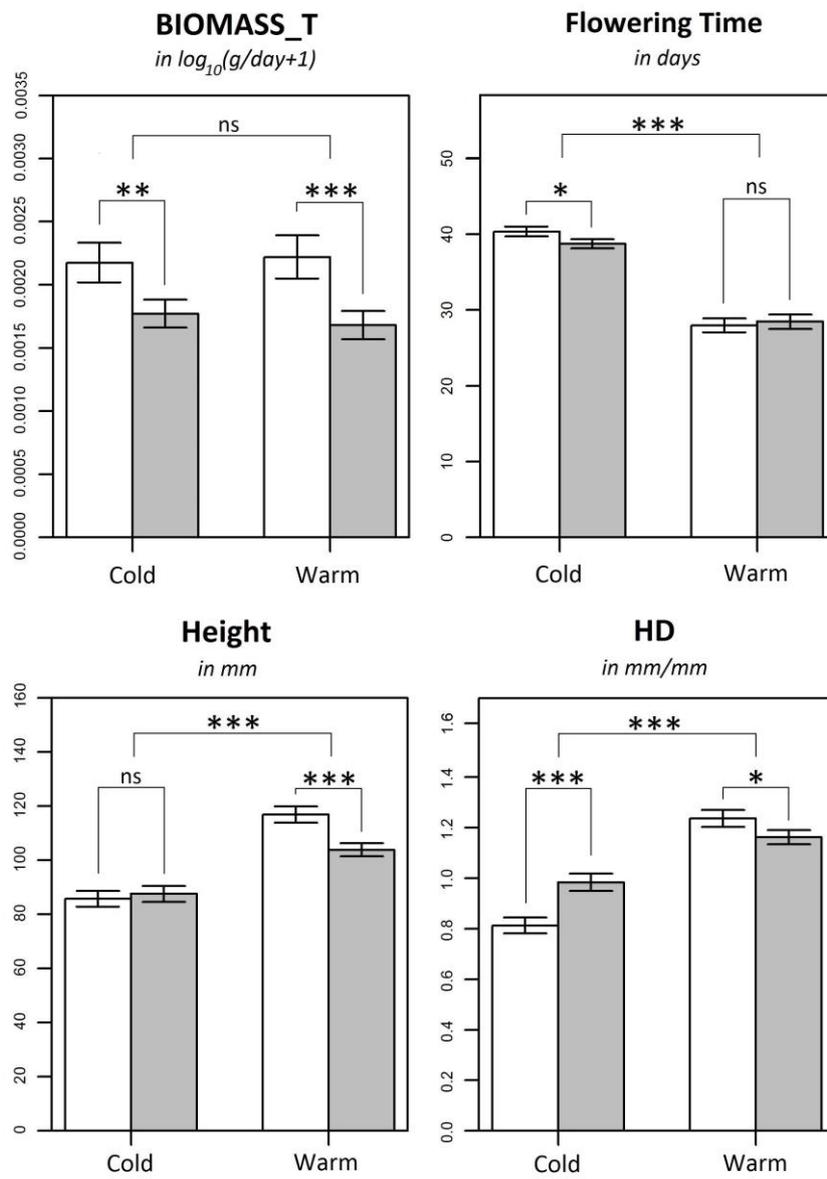


Figure 3

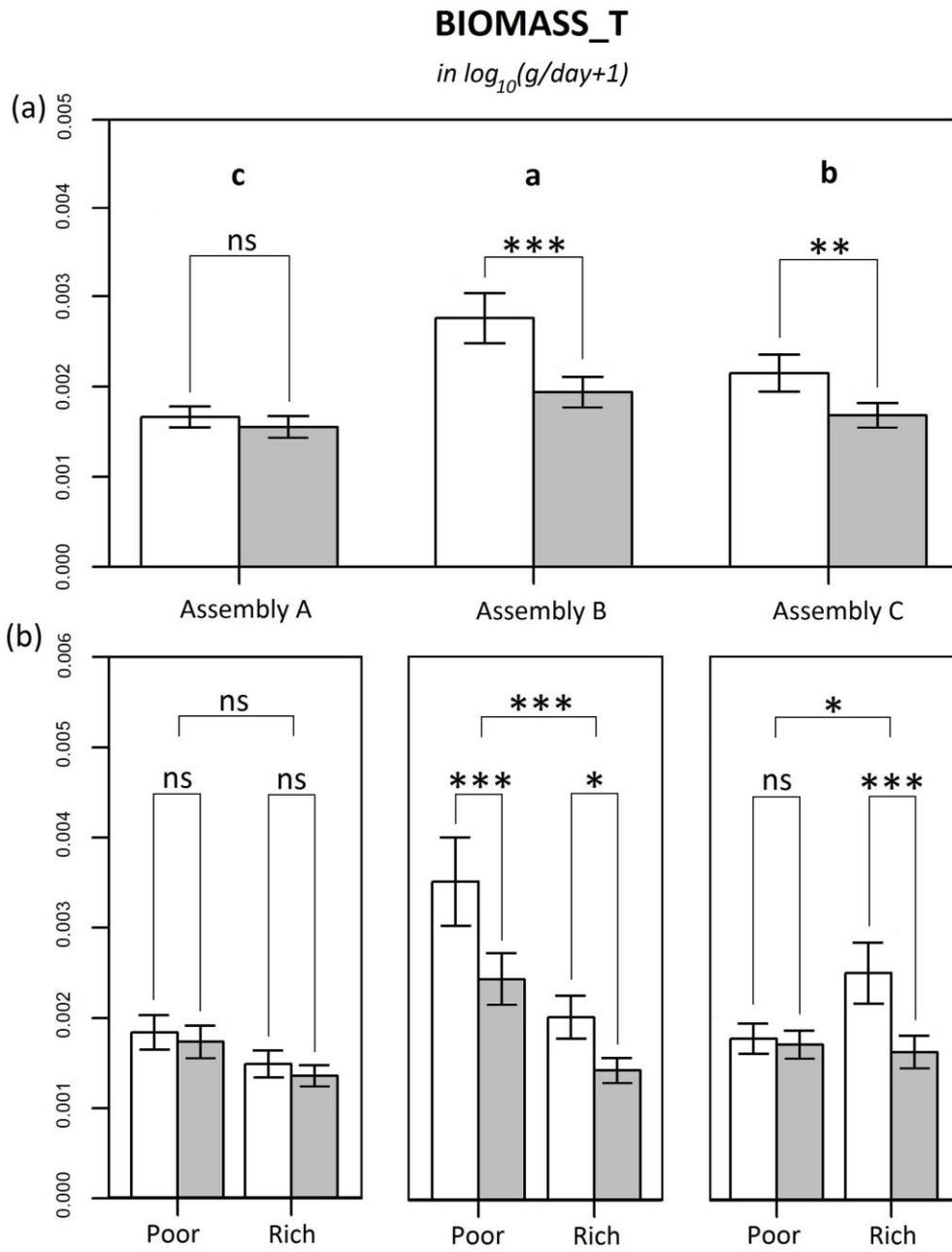


Figure 4

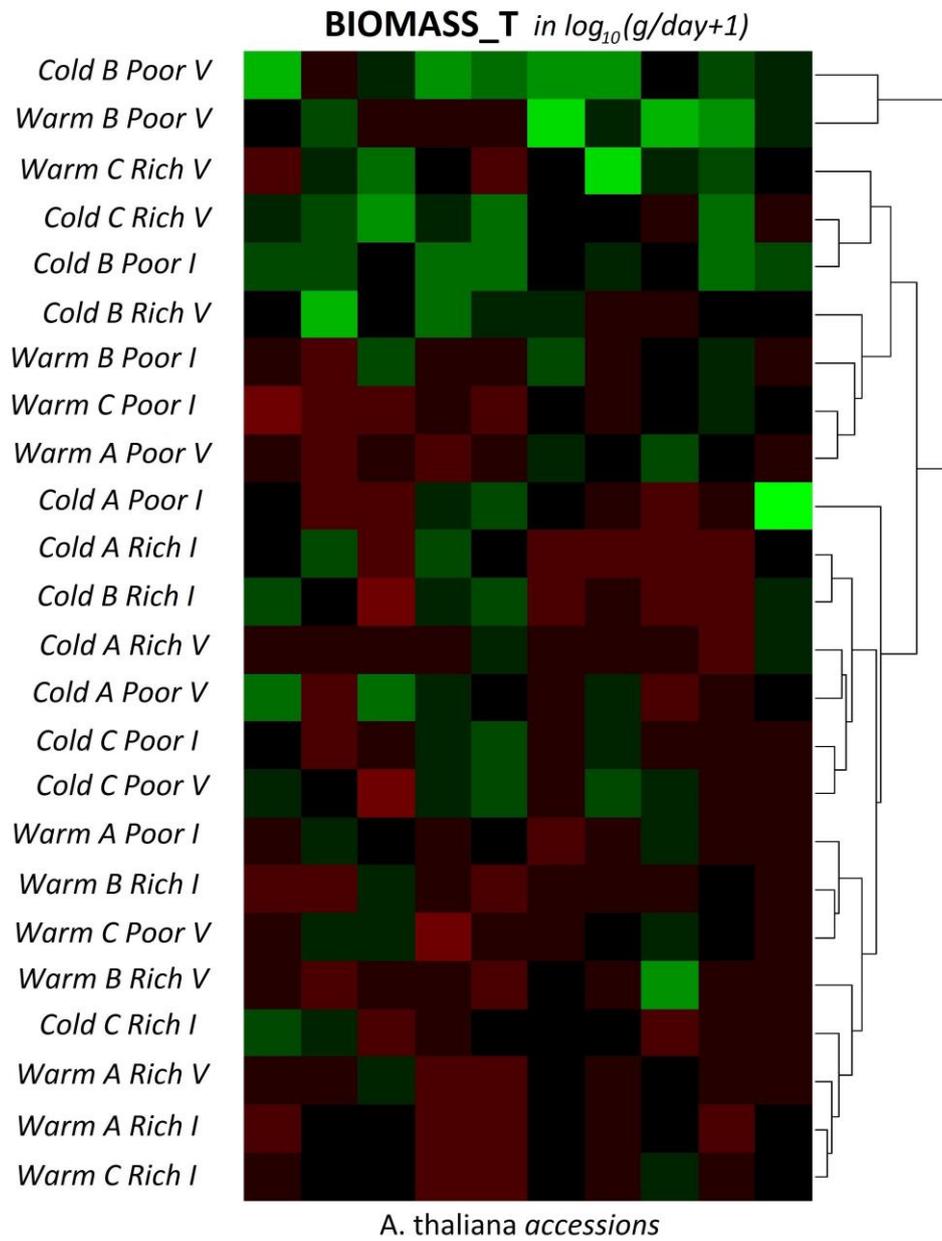


Figure 5

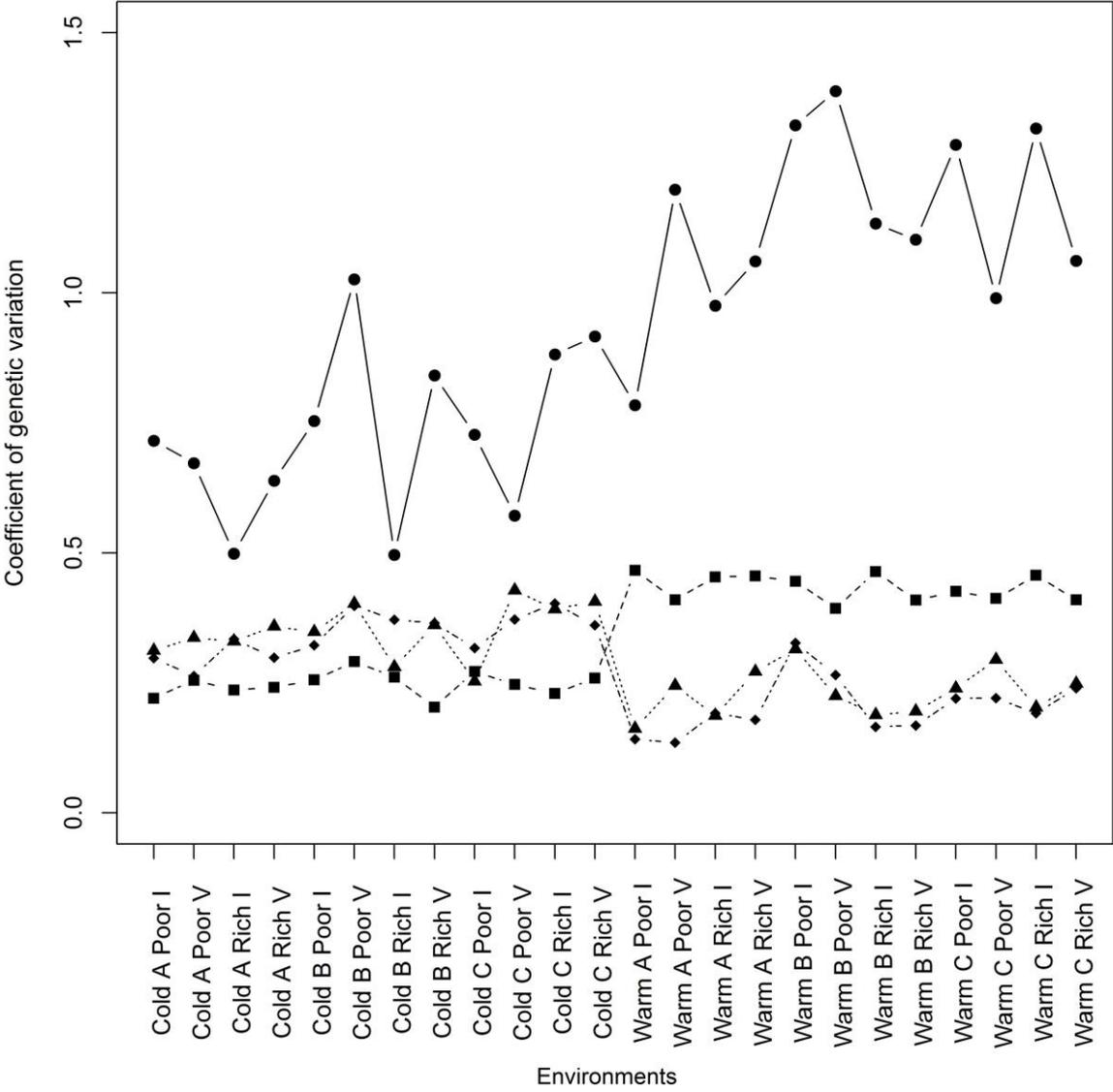


Figure 6

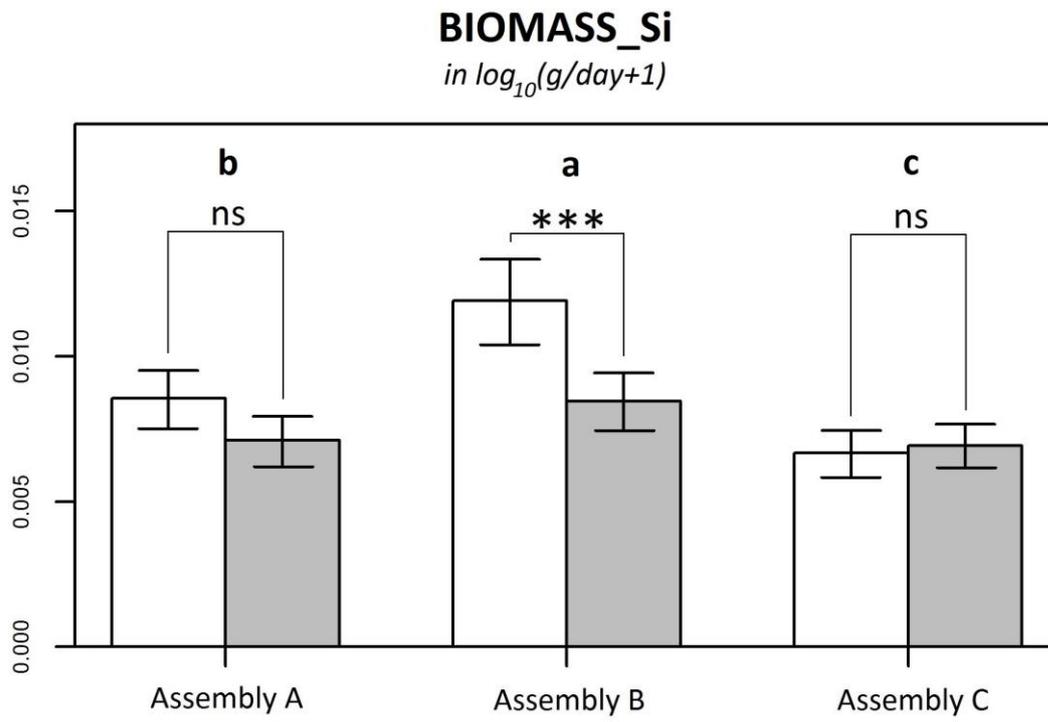
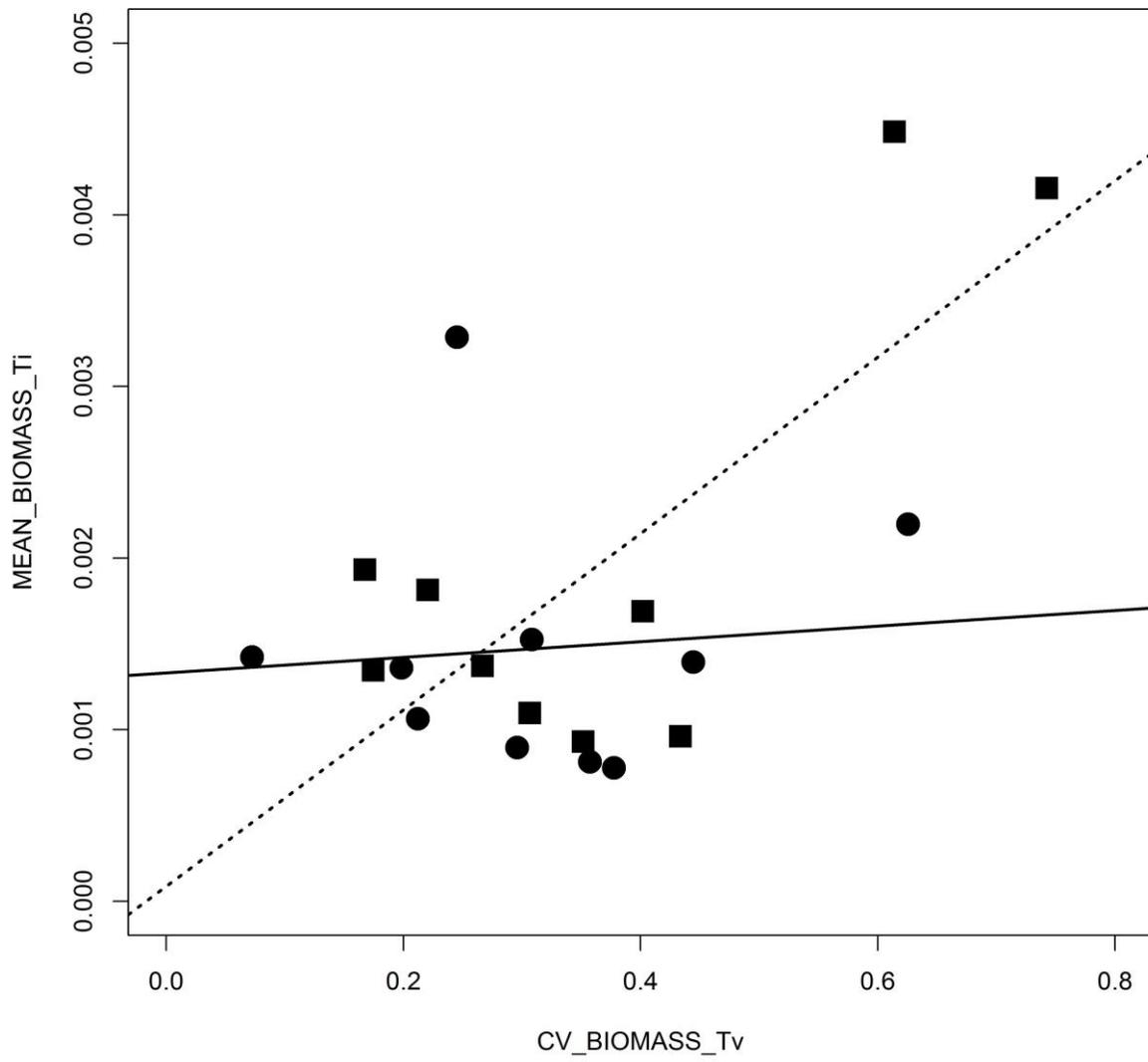


Figure 7



**The adaptive potential of a natural population of an annual plant
species toward an invasive species depends on its surrounding
community and warming**

Supporting Information

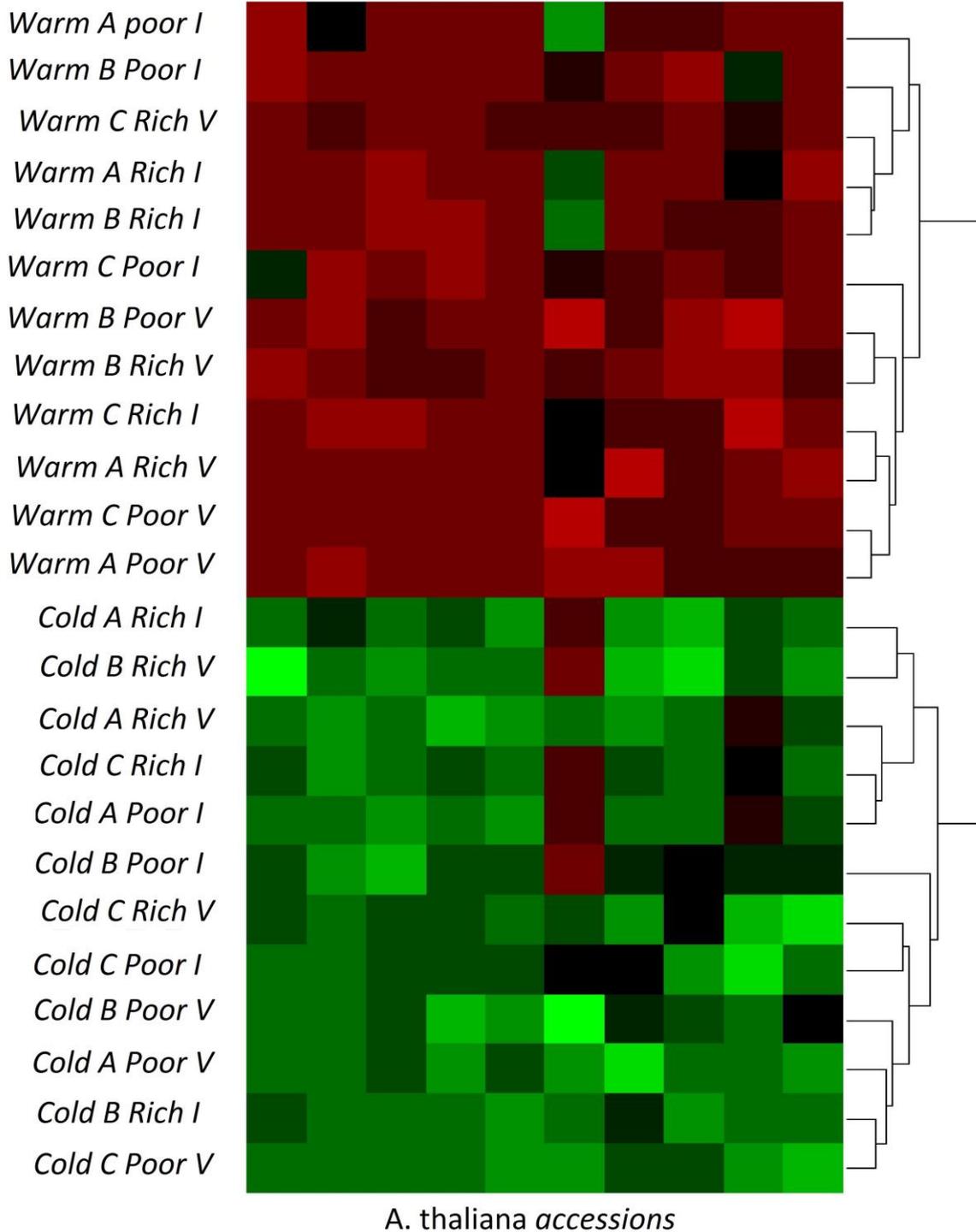
Figure S1. *Arabidopsis thaliana* individuals challenged by the invasive species *S. inaequidens* (location: Mazamet – France, latitude: 43°49'77.54"N, longitude: 2°37'53.72"E). Image courtesy of F. Roux.



Figure S2. Heatmap of flowering time (a), the height from the soil to the first flower (b) and the growth strategy HD (c) for each *A. thaliana* accession according to the 24 experimental environments. Each line corresponds to one of the 24 environments classified according to a hierarchical clustering based on Euclidean distances (package `gplot` R, function `heatmap.2`). Each column corresponds to one of the 10 accessions. For each accession, the color gradient (from red to black and green) indicates the ranking of the 24 experimental environments, with the light red and light green squares corresponding to the experimental environments with the lowest and the highest value of FT (a), H (b) and HD (c), respectively.

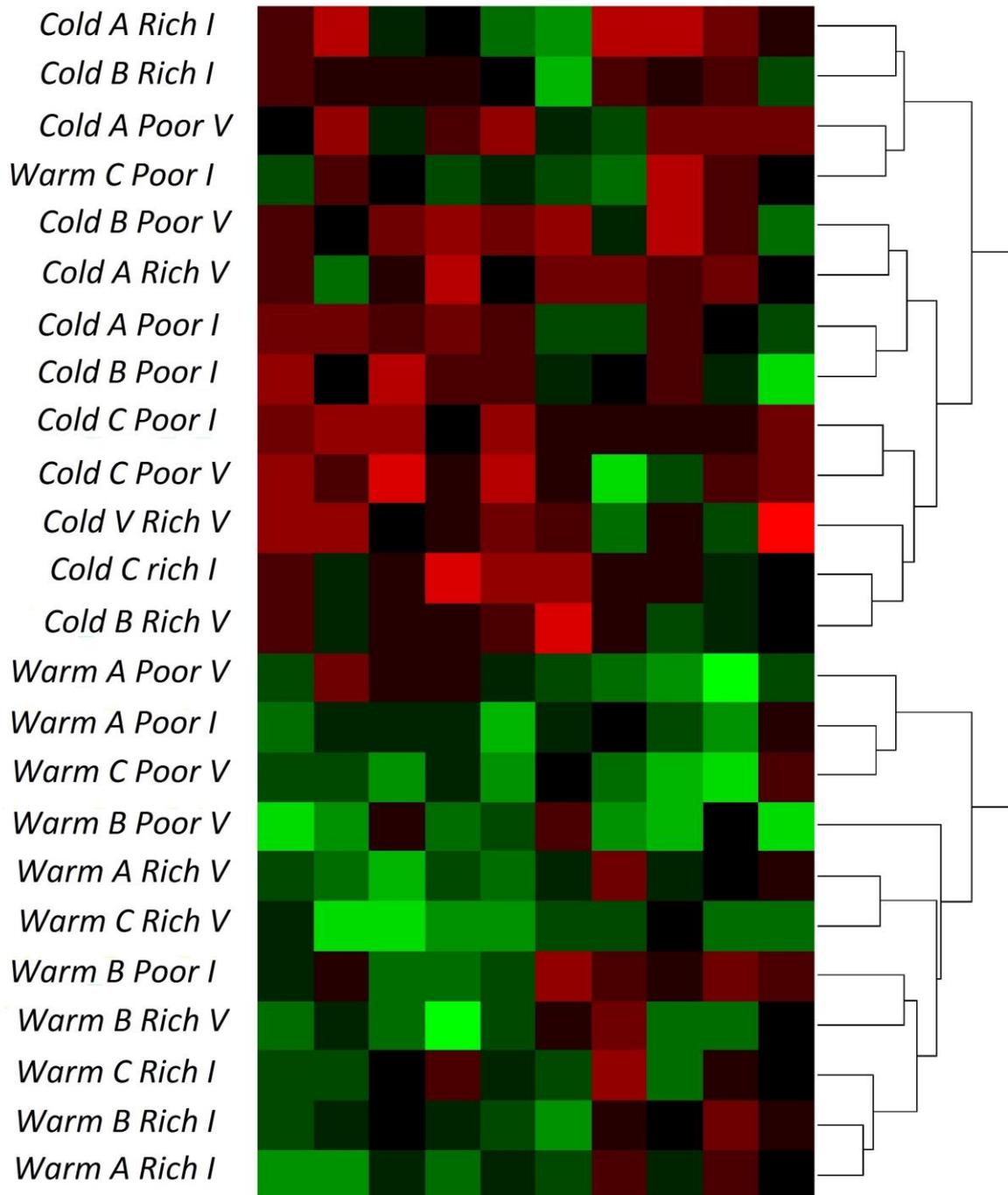
(a)

Flowering Time *in days*



(b)

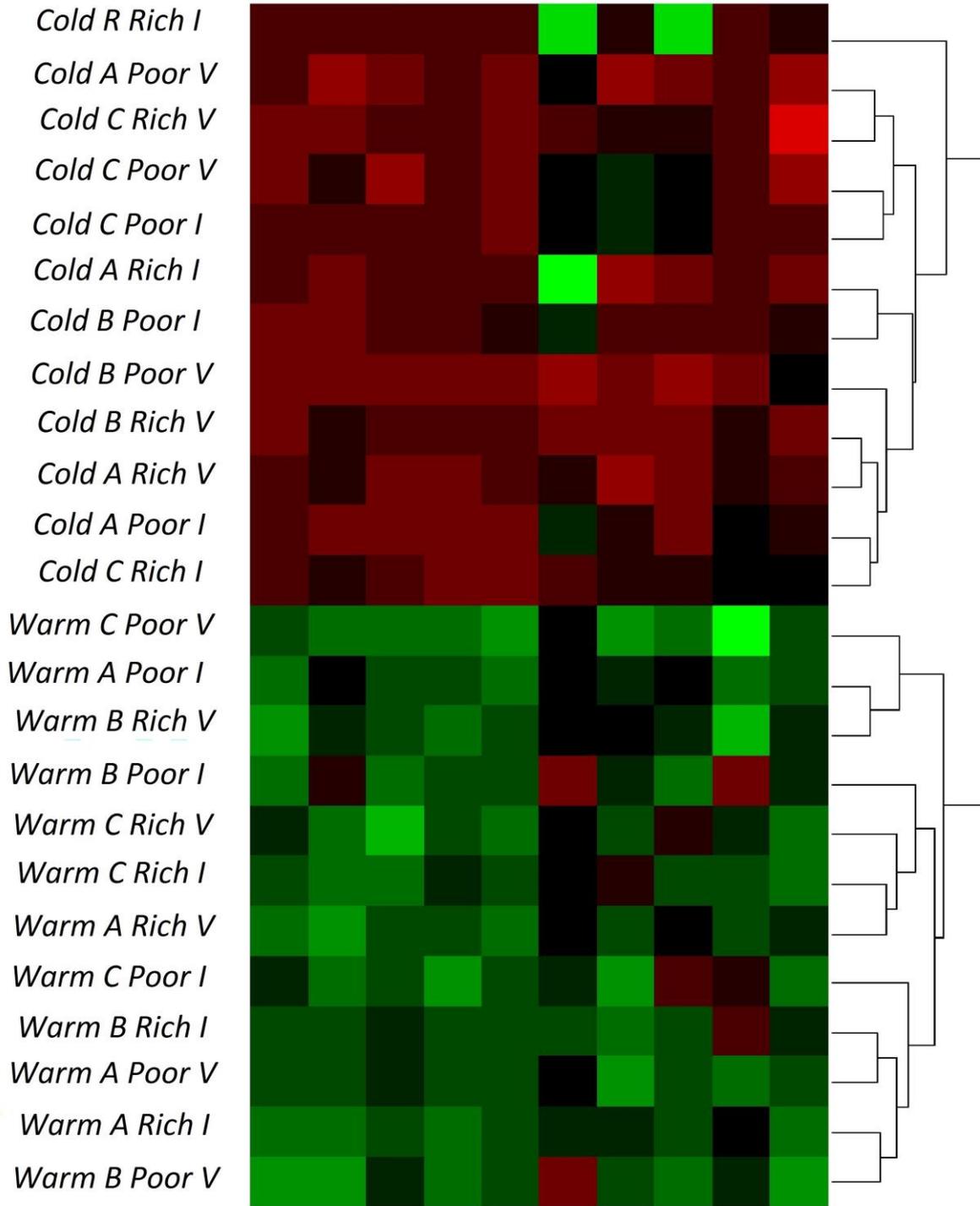
Height *in mm*



A. thaliana accessions

(c)

HD in mm/mm



A. thaliana accessions

Conclusion du Chapitre II

*La forte variation génétique locale observée pour la réponse à différents assemblages de communauté suggère que l'évolution d'*A. thaliana* au sein d'une population naturelle peut être influencée par les interactions directes et/ou indirectes liées à ses espèces compétitrices.*

Dans ce deuxième chapitre, la forte variation génétique observée pour la réponse de la population TOU-A à différents assemblages de communauté (selon leur composition en espèce, leur richesse spécifique ou même la présence ou non d'une espèce invasive) suggère que la compétition plurispécifique peut entraîner un maintien de la diversité génétique au sein de cette population. En conséquence, alors que dans le premier chapitre j'avais suggéré que l'identité de l'espèce compétitrice pouvait entraîner un maintien de cette diversité génétique, je trouve ici que les interactions simultanées avec de multiples compétiteurs et qui dépendent des conditions d'assemblage peuvent renforcer ce maintien de la diversité génétique au sein de la population TOU-A. Par ailleurs, les effets directs et indirects des compétiteurs sur *A. thaliana* soulignent l'importance du caractère diffus des interactions plante – plante au sein des communautés. En retour, ces interactions diffuses entre les individus de la communauté peuvent être modifiées par les génotypes des accessions de la population TOU-A. En effet, j'ai constaté que (i) les accessions d'*A. thaliana* affectaient les espèces compétitrices différemment et (ii) que dans le cadre de la prédiction de la réponse à la compétition plurispécifique à partir des réponses à la compétition monospécifique, des accessions pouvaient peut-être modifier des interactions entre ses individus compétiteurs. Ce constat nous renvoie aux deux notions (i) de phénotype étendu, développé à l'origine, par Dawkins (1982), et considéré comme un processus clef de la génétique des communautés (Whitham *et al.* 2003), affirmant qu'une espèce peut présenter des différences génotypiques qui peuvent avoir des effets non négligeables sur l'interaction de cette espèce avec les autres individus (Whitham *et al.* 2003) ; (ii) et des IIGEs admettant que des effets génotypiques peuvent impacter des services écosystémiques assurés par d'autres espèces (Bailey *et al.* 2014). D'un point de vue évolutif, le phénotype étendu et les IIGEs associés à une population suggère que le potentiel adaptatif de cette population pourrait non seulement affecter la structure des communautés mais aussi se présenter comme un facteur évolutif des communautés. Cela justifie donc que la compétition soit sous-jacente à une dynamique évolutive.

Une étude précédente réalisée au sein du laboratoire a démontré une évolution très rapide au sein de la population TOU-A pour de nombreux traits phénotypiques mesurés en absence de compétition (Villoutreix *et al.*, manuscrit soumis). Dans ce chapitre, j'ai pu aussi mettre en évidence une évolution de la réponse phénotypique à la compétition en moins de 8

générations. Plusieurs auteurs suggèrent qu'une évolution rapide de la réponse à la compétition peut résulter de phénomènes de co-existence entre espèces ou même entre génotypes, mais aussi de changements d'espèces ou d'interactions entre espèces (Aarssen et Turkington *et al.* 1985; Thorpe *et al.* 2011). J'ai supposé que l'évolution de la population TOU-A s'associait à une contre-sélection des aptitudes compétitrices d'*A. thaliana* vis-à-vis de *S. media* en réponse à une simplification structurale de sa communauté. Cela sous-entend qu'au cours de l'évolution d'une population liée aux interactions biotiques de type plante - plante, il peut y avoir une sélection rapide de certains génotypes répondant de manière adaptée à des pressions de sélection liées à la compétition. De plus, j'ai démontré que les accessions de la population TOU-A qui résistent le mieux à l'espèce invasive *S. inaequidens* sont celles qui présentent une plus grande plasticité phénotypique parmi des communautés appauvries en espèces. De ce fait, je suppose que si ces conditions de changements de communautés bien spécifiques venaient à se produire dans l'habitat de la population TOU-A, on s'attendrait à une sélection de ces génotypes. En conséquence, les résultats associés au potentiel adaptatif de la population TOU-A à différents assemblages de communauté sous-entendent que sa trajectoire évolutive en réponse à des modifications environnementales liées aux changements globaux pourrait être modulée par les interactions plante-plante auxquelles elle est sujette.

La variation génétique de la prédiction de la réponse à la compétition plurispécifique à partir des réponses à la compétition monospécifique permet de présumer des différences dans les architectures génétiques associées à ces réponses phénotypiques génotype-dépendantes.

J'ai démontré que la réponse à la compétition plurispécifique au sein de la population TOU-A était prédictible à partir de la réponse à la compétition monospécifique pour les traits de floraison et d'architecture. En revanche, cette prédiction n'a pas été observée pour les traits liés à l'accumulation de biomasse : l'ajout d'un paramètre non-additif dans le modèle de prédiction semble donc nécessaire pour ces traits. Cette différence dans l'additivité entre ces types de traits peut s'expliquer par le fait que les traits d'accumulation de biomasse (et donc d'acquisition de ressources) sont directement impactés par le phénomène de limitation de ressources impliqué dans la compétition. Notamment, ces traits ont été quantifiés exclusivement à partir de la rosette de la plante sujette au recouvrement par les autres espèces compétitrices. En revanche, les traits de floraison et d'architecture sont plutôt associés à

l'allocation de ressources et pourraient subir les conséquences de la compétition de manière plus indirecte. Les effets liés aux interactions entre les individus d'une même communauté pourraient donc plus impacter la variation des traits d'accumulation de biomasse. Le réseau d'interactions entre individus étant plus simple au sein de conditions de compétition monospécifique que de conditions de compétition plurispécifique, les prédictions intégrant seulement l'additivité des interactions ne suffiraient donc pas à extrapoler aux conditions de compétition plurispécifique les résultats obtenus dans les conditions de compétition monospécifique.

Là encore, le fait d'avoir ciblé les travaux de ce deuxième chapitre de thèse sur *A. thaliana* permettra de s'intéresser par la suite à l'identification des bases génétiques sous-jacentes à la réponse à la compétition plurispécifique, en utilisant une approche de GWA mapping. Notamment, j'ai mis en évidence lors de la première étude de ce manuscrit que les bases génétiques de la réponse de la population TOU-A à la compétition monospécifique étaient dépendantes de l'identité de l'espèce compétitrice. Je m'attends donc à ce que les bases génétiques identifiées par des analyses de GWA mapping réalisées à partir des réponses à la compétition monospécifique des 96 accessions considérées dans la première étude de ce chapitre soient aussi différentes entre les trois traitements de compétition monospécifique. Puis, en considérant les traitements de réponse à la compétition plurispécifique, nous pourrions tester deux hypothèses qui distinguent les traits prédictibles (phénologie et architecture) des traits non prédictibles (accumulation de biomasse) à partir de l'additivité des réponses à la compétition monospécifique :

- (i) Pour les traits de phénologie et d'architecture : je m'attends à ce que les bases génétiques de réponse à un assemblage impliquant par exemple deux espèces (comme le traitement 'PPS' impliquant deux *P. annua* et une *S. media*) correspondent à la fois aux QTLs impliqués dans la réponse à *P. annua* et aux QTLs impliqués dans la réponse à *S. media*.
- (ii) Pour les traits d'accumulation de biomasse : je m'attends à ce que, par exemple pour ce même assemblage 'PPS', un ou des nouveaux QTLs soient impliqués dans la réponse à l'association des deux espèces *P. annua* et *S. media*.

Ensuite, il pourrait être envisageable d'identifier les bases génétiques mises en jeu dans les écarts à la prédiction des réponses à la compétition plurispécifique à partir des réponses à la compétition monospécifique. Ce pourrait être un moyen d'identifier des

mécanismes sous-jacents aux réseaux d'interactions associés aux conditions de compétition plurispécifique pour une plante cible (*i.e.* interactions entre au moins 3 espèces) qu'on ne retrouve pas dans les réseaux d'interactions associés aux conditions de compétition monospécifique (*i.e.* interactions entre seulement deux espèces). Par exemple, cela permettrait d'identifier des mécanismes impliqués dans l'effet de certaines accessions d'*A. thaliana* sur les interactions entre ses différentes espèces compétitrices (*i.e.* sur l'interaction entre *P. annua* et *S. media* si l'on considère l'assemblage 'PPS'), et notamment des mécanismes sous-jacents à des phénomènes de facilitation pour les accessions ayant la capacité de mieux répondre à la compétition plurispécifique que ce que prévoit la prédiction à partir de l'additivité des réponses à la compétition monospécifique.

De plus, il serait intéressant de tester si la complexité de l'architecture génétique impliquée dans la réponse d'une population à la compétition au sein de sa communauté est reliée à la complexité de cette communauté, en termes de richesse spécifique et densité des individus. En d'autres termes, est-ce que plus une population se trouve dans une communauté avec une richesse spécifique élevée (*i.e.* une communauté avec un grand réseau d'interactions), plus le nombre de QTLs impliqués dans la réponse à la compétition est important?

Comme (i) l'ensemble des données phénotypiques pour essayer de valider ces hypothèses ont été accumulées au cours de cette thèse, et (ii) la séquence génomique des 96 accessions d'*A. thaliana* sera disponible d'ici la fin de l'année, l'ensemble des hypothèses émises ci-dessus pourront être testées, ce qui constituera par ailleurs un des principaux axes de recherche de la thèse de Léa Frachon débutée au sein de l'équipe en avril 2014.

De l'identification des bases génétiques sous-jacentes à la réponse à la compétition en milieu contrôlé, à l'étude de la dynamique évolutive de populations expérimentales dans des conditions naturelles variant selon un gradient de complexité d'interactions entre plantes

Dans les deux premiers chapitres de ma thèse j'ai notamment mis en évidence que les bases génétiques associées à la variation naturelle de la réponse à la compétition étaient dépendantes de l'identité de l'espèce compétitrice, et qu'elles pouvaient potentiellement être différentes entre la réponse à la compétition monospécifique et la réponse à la compétition plurispécifique. Bien que j'ai eu la volonté d'apporter un certain degré de réalisme écologique

dans mes expériences, soit en effectuant des expériences sur un terrain expérimental (1^{ère} étude du chapitre I), soit en augmentant le degré de complexité des interactions plante – plante (chapitre II), nous sommes conscients que nous n'avons pas recréé *in experimento* les conditions écologiques observées dans les populations naturelles. En effet, la stochasticité et l'hétérogénéité environnementale, (i) qui peuvent s'observer à de fines échelles spatiale et temporelle et (ii) qui peuvent aussi bien concerner des facteurs abiotiques que des interactions biotiques, affectent certainement de manière plus complexe la dynamique évolutive de la réponse d'*A. thaliana* à la compétition. D'un autre côté, bien que l'étude de résurrection effectuée lors de la première étude du deuxième chapitre semble indiquer que la réponse à la compétition peut évoluer très rapidement, elle ne concernait que deux points temporels. Ceci nous a de fait empêchés d'appréhender la dynamique de la population TOU-A génération par génération. Ainsi, dans le but de me rapprocher au maximum des conditions écologiques de compétition rencontrées au sein d'une population naturelle d'*A. thaliana*, je me suis intéressé dans le troisième chapitre à l'étude de la dynamique évolutive de populations expérimentales d'*A. thaliana* dans des conditions naturelles selon deux degrés de complexité d'interactions entre plantes, en effectuant simultanément des suivis démographique, phénologique et génomique de ces populations. En me basant sur la prédiction que j'ai émise auparavant (*i.e.* plus une population se trouve dans une communauté à la richesse spécifique élevée et donc avec un réseau d'interactions d'autant plus dense, et plus elle aura de bases génétiques différentes impliquées dans la réponse à la compétition), il est fort probable que d'avantage de bases génétiques impliquées dans la réponse à la compétition soient identifiées dans ces populations se développant dans un milieu naturel.

Chapitre III

Impact de l'intensité de la compétition sur la dynamique
adaptative *in natura* de populations expérimentales
d'*Arabidopsis thaliana*

Impact de l'intensité de la compétition sur la dynamique adaptative *in natura* de populations expérimentales d'*Arabidopsis thaliana*

Etienne Baron^{1,2,3}, Sébastien Carrère^{2,3}, Elise Barillot¹, Cédric Glorieux¹, Nathalie Faure¹, Romain Villoutreix¹, Nina Hautekèete¹, Yves Piquot¹, Jérôme Gouzy^{2,3}, Joy Bergelson⁴, Laurent Amsellem¹ et Fabrice Roux^{1,2,3}

¹*Laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales, UMR CNRS 8198, Université des Sciences et Technologies de Lille – Lille 1, F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex France*

²*INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France*

³*CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France.*

⁴*Department of Ecology and Evolution, University of Chicago, Chicago, Illinois 60637, USA.*

NB : n'ayant reçu les données de séquençage génomique qu'au début du mois d'octobre 2014, les différentes parties de ce chapitre, et notamment les résultats présentés, restent très préliminaires.

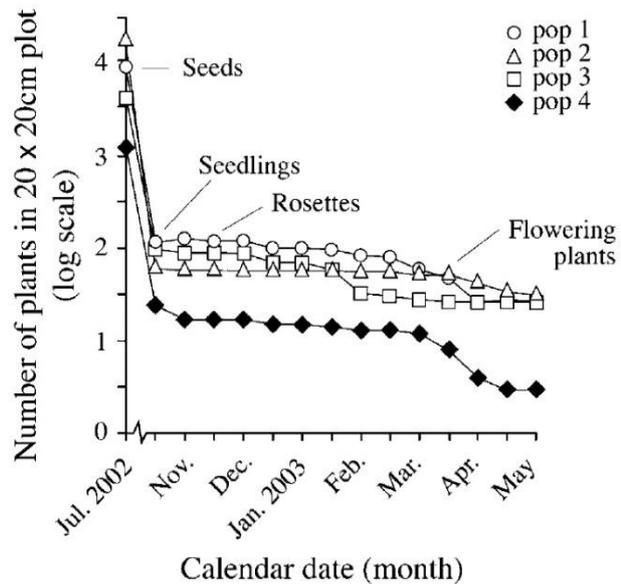
Introduction

Comme nous l'avons vu au cours du précédent chapitre, la capacité compétitrice d'une population locale peut évoluer très rapidement au cours du temps, notamment en réponse à des changements de composition spécifique qui surviennent au sein des communautés. Cela suggère que l'effet observé de la dynamique de la compétition est la résultante de l'action de filtres conditionnés par les facteurs abiotiques et par l'ensemble des espèces présentes dans un habitat, changeant au cours du temps. A terme, la compétition agit localement comme un processus de sélection d'un assemblage régional d'espèces. Ainsi, la compétition peut constituer une forte pression de sélection, notamment sur des espèces à stratégie rudérale comme *A. thaliana*, qui ont tendance à s'installer dans des milieux avec peu de compétition et qui peuvent subir des arrivées successives de nombreuses espèces conduisant à des phénomènes de fermeture du milieu.

COMMENT SE CARACTERISE CETTE SELECTION PAR LA COMPETITION ?

Au niveau de la compétition intraspécifique, à partir d'approches expérimentales comparant les patrons de sélection phénotypique d'*A. thaliana* selon différentes densités d'individus, Weinig *et al.* (2007) ont montré que la sélection de groupe avait conduit à une diminution des valeurs de traits phénotypiques associés à l'élongation de la tige et à la taille de la plante. Egalement, d'un point de vue phénologique, la sélection induite par une forte densité d'individus a conduit à une accélération du développement, notamment aux stades de montaison et floraison de la plante. Une autre étude ciblée sur quatre populations naturelles situées sur des dunes calcaires a montré que la croissance végétative et la fécondité d'*A. thaliana* étaient affectées par la densité d'individus (Arany *et al.* 2005). De plus, cette étude a montré qu'une forte densité pouvait avoir un fort effet sur la démographie de ces populations (Fig. 1). En effet, seulement 1,03% des graines produites en juin 2002 ont germé en automne 2002. A partir de cette période et jusqu'au début de l'hiver, les auteurs ont observé un maintien de la taille des populations (seulement 30% de mortalité avant le 15 février), puis une diminution de la taille des populations entre le 15 février et la fin avril (68% de mortalité). De ce fait, il a été proposé que la taille d'une population naturelle d'*A. thaliana* pouvait fortement varier au cours d'une génération et que cette variation démographique pouvait être densité-dépendante (Arany *et al.* 2005).

Figure 1. *Suivi démographique et phénologique de 4 populations naturelles d'A. thaliana au Nord de la Hague (Pays-Bas).*



Dans ce contexte, l'effet de la sélection sur l'évolution des fréquences alléliques le long du génome sur plusieurs générations au sein de populations naturelles où la variation démographique peut être importante ne semble pas avoir été abordé à ce jour. Des études se sont déjà focalisées sur des suivis génomiques en présence d'une pression de sélection donnée chez de nombreuses modèles de laboratoire comme par exemple *Escherichia coli* (Barrick *et al.* 2009), *Saccharomyces cerevisiae* (Araya *et al.* 2010), *Drosophila melanogaster* (Burke *et al.* 2010) et *Pseudomonas fluorescens* (Paterson *et al.* 2010). Toutefois ces études restent assez éloignées des conditions écologiques où évoluent ces espèces et ne tiennent pas compte de l'influence des variations stochastiques de la démographie *in natura* sur la réponse à la sélection. Des approches visant à caractériser les conséquences génomiques de processus de sélection chez des espèces en conditions naturelles ont certes été menées afin d'étudier par exemple (i) l'adaptation au climat chez les plantes (concernant *A. thaliana* : Fournier-Level *et al.* 2011, Hancock *et al.* 2011), ou (ii) des processus de diversification et d'évolution adaptative chez les insectes (Lawniczak *et al.* 2010), les oiseaux (Ellegreen *et al.* 2012) et surtout les poissons (Hohenlohe *et al.* 2010, Jones *et al.* 2012, Roesti *et al.* 2012). Mais ces études portent sur la résultante de pressions de sélection (généralement considérées abiotiques) qui se sont exercées sur une échelle temporelle relativement longue.

A notre connaissance, la caractérisation de la sélection génomique au sein de populations naturelles de plantes en présence d'interactions biotiques, et qui plus est sur une échelle temporelle courte, n'a été que rarement abordée. Plus précisément, une approche basée sur la sélection génomique au sein de populations de plantes en réponse à la

compétition ne semble jamais avoir été abordée pour étudier la dynamique adaptative en conditions naturelles.

Etudier l'évolution des fréquences alléliques le long du génome pourrait par ailleurs s'avérer une méthode puissante pour identifier des bases génétiques de réponse à la compétition. Cette approche est d'autant plus intéressante qu'elle permet de se placer dans un contexte naturel, garantissant que ces bases génétiques sélectionnées correspondent à des mécanismes impliqués dans des réponses à la compétition tenant compte de la stochasticité démographique ; ce qui ne peut être le cas en conditions contrôlées.

ENJEUX DE L'ETUDE

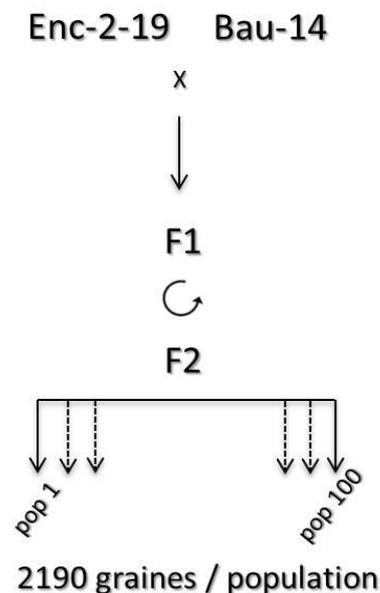
Dans ce troisième chapitre, nous avons cherché à caractériser la sélection génomique sur plusieurs générations au sein de populations expérimentales d'*A. thaliana* colonisant *in natura* un habitat nu et subissant l'installation progressive d'espèces compétitrices. Pour cela, nous avons effectué des suivis démographique, phénologique et génomique de populations expérimentales en conditions naturelles sur plusieurs générations. Après une première génération qui a permis à *A. thaliana* de s'installer dans son nouvel habitat, les populations expérimentales ont subi soit un traitement de faible intensité de compétition interspécifique, soit un traitement de forte intensité de compétition interspécifique. Ces deux traitements vont nous permettre de tester l'effet de l'intensité de compétition interspécifique sur la dynamique adaptative d'*A. thaliana* dans des populations expérimentales *in natura*.

Matériel et méthodes

CREATION DES POPULATIONS EXPERIMENTALES

Sur un terrain expérimental situé à moins de 200 mètres du rivage de la Manche (Station Marine de Wimereux, Pas-de-Calais, France, 50° 76.264'N, 1° 60.531'E), 100 populations expérimentales d'*A. thaliana* ont été chacune constituées à partir du semis de 2190 graines F₂, issues de 17 plantes F₁ résultant d'un croisement entre deux accessions (Fig. 2).

Figure 2. Schéma de croisement pour l'obtention de 2190 graines F₂ considérées pour chaque population expérimentale.



Dans cette étude, nous avons choisi pour différentes raisons les deux accessions BAU-14 et ENC-2-19, qui ont été respectivement collectées dans les populations BAU (Bauvin, Nord de la France, 50° 30.358'N, 2° 54.095'E) et ENC-2 (Mont de l'Enclus, Sud-Ouest de la Belgique, 50° 45.400'N, 3° 28.480'E). Tout d'abord, ces deux accessions sont géographiquement relativement proches du site de l'expérimentation (distance orthodromiques : Wimereux-Bauvin = 94,9 km ; Wimereux-Mont de l'Enclus = 133,5 km). De plus, ces deux accessions ont été décrites dans une étude précédente comme étant très contrastées au niveau écologique, phénologique et génétique (Brachi *et al.* 2013) :

- (i) Ecologie : bien que les deux populations BAU et ENC-2 soient très similaires au niveau climatique, elles se révèlent assez contrastées au niveau édaphique et

au niveau de l'intensité de la compétition. Par rapport à la population BAU, le sol d'ENC-2 est plus riche en azote total (BAU : 0,77 g/kg ; ENC-2 : 4,65 g/kg), contient plus de carbone organique (BAU : 24,8 g/kg ; ENC-2 : 83,7 g/kg), de matière organique (BAU : 42,9 g/kg ; ENC-2 : 145 g/kg), de phosphates (BAU : 0,018 g/kg ; ENC-2 : 0,083 g/kg), de calcium (BAU : 8,83 cmol+ /kg ; ENC-2 : 22,7 cmol+ /kg), de magnésium (BAU : 0,0322 cmol+ /kg ; ENC-2 : 1,65 cmol+ /kg) ; mais a un pH plus acide (BAU : 8,05 ; ENC-2 : 5,85) ainsi qu'une capacité de rétention en eau plus réduite (BAU : 0,207 ml/g ; ENC-2 : 0,112 mL/g). Alors que la densité en espèces de graminées est légèrement supérieure dans la population BAU, la densité en espèces herbacées autres que les graminées est 6 fois plus importante dans la population ENC-2.

- (ii) Phénologie: l'accession BAU-14 fleurit beaucoup plus tardivement que l'accession ENC-2-19. Ces deux accessions ont un comportement contrasté vis-à-vis d'un traitement de vernalisation : une période de 3 semaines à 4°C au stade végétatif entraîne une prolongation de la période de floraison pour BAU-14 mais un raccourcissement pour ENC-2-19.
- (iii) Génétique: sur 135 marqueurs SNPs répartis le long du génome, 45,9% d'entre eux étaient polymorphes entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19. Les différences phénologiques et génétiques observées entre elles devraient ainsi maximiser à la fois la diversité génétique et phénotypique des 100 populations expérimentales reconstituées, et ainsi optimiser leur potentiel adaptatif initial.

Pour valider nos croisements, l'hétérozygotie des plantes F₁ a été confirmée par génotypage de 4 marqueurs microsatellites PLS7 ; 4.35 ; 5.9 et 3.10, chacun situé sur un chromosome différent, selon un protocole adapté de Llaurens *et al.* (2008). La production des graines F₂ a été réalisée dans des conditions contrôlées de serre (période hiver – printemps 2012, 16h photopériode, 20°C) à l'Université de Lille 1. Les 17 lots de graines F₂ ont été mélangés, et 2190 graines ont été prélevées au hasard afin de constituer les 100 lots qui constitueront les populations expérimentales.

Avant la mise en place des 100 populations, le terrain expérimental a été entièrement désherbé manuellement et un retournement du sol sur une profondeur de 15cm a été effectué. Suite à ce travail du sol, des tests — sous serre avec et sans levée de dormance après une période de stratification à 4°C pendant 4 jours — de germination à partir du sol du terrain expérimental n'ont révélés aucune germination d'*A. thaliana*, suggérant une absence d'*A. thaliana* dans la banque de graines de ce terrain expérimental. Le terrain expérimental a par la suite été bâché pour éviter la croissance de plantes entre les populations expérimentales (Fig. 3). Les 100 populations d'une surface de 0,25m² (= 50 x 50 cm) et séparées les unes des autres de 80 cm, ont été disposées selon une grille de '10 populations notées de A à J x 10 populations notées de 1 à 10' (Fig. 3). Les 100 populations ont été isolées les unes des autres par un film plastique étirable transparent afin de limiter au maximum des phénomènes de dispersion de graines d'une population à l'autre (Fig. 3).



Figure 3. *Les 100 populations expérimentales (au moment du semis) sur le terrain.*

Afin de mimer une dispersion de graines répartie dans le temps comme on peut l'observer dans les populations naturelles d'*A. thaliana*, le semis des graines F₂ dans chacune des 100 populations expérimentales a été effectué à deux dates : le 05 juin 2012 (1190 graines semées) ainsi que le 19 juin 2012 (1000 graines semées). Ces dates de semis encadrent la période de dispersion de la majorité des graines dans les populations naturelles BAU et ENC-2. Etant donné le désherbage et le retournement du sol, les semis ont été effectués sur un sol où aucune plante n'était présente.

SUIVIS DEMOGRAPHIQUE, PHENOLOGIQUE ET GENOMIQUE DES POPULATIONS EXPERIMENTALES

Les dates de prélèvement ainsi que le nombre de populations expérimentales échantillonnées pour effectuer des suivis démographique, phénologique et génomique d'*A. thaliana* sont indiqués sur la Figure 4. Comme indiqué ci-après, chaque population d'*A. thaliana* échantillonnée a été sacrifiée pour effectuer sa caractérisation démographique, phénologique et génomique, et est considérée comme représentative des autres populations expérimentales toujours en place sur le terrain.

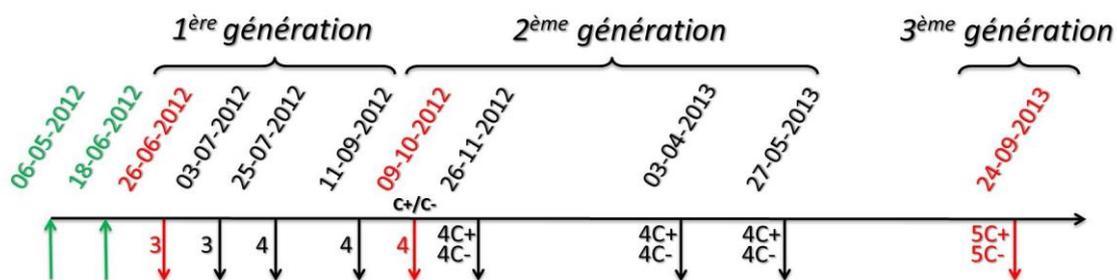


Figure 4. *Détail des prélèvements de populations expérimentales depuis le semis des graines jusqu'à la germination d'*A. thaliana* à la 3^{ème} génération.* Les dates en vert correspondent aux semis des graines dans chacune des 100 populations. Les dates en noir correspondent aux prélèvements effectués pour les suivis démographique et phénologique. Les dates en rouge correspondent aux prélèvements effectués pour les suivis démographique, phénologique et génomique. Pour chaque date, les chiffres correspondent aux nombres de populations expérimentales échantillonnées. "C+" et "C-" indique la date à partir de laquelle chacun des 2 traitements d'intensité de compétition a été appliqué à la moitié des populations expérimentales.

Suivis démographique et phénologique

Au cours de cette expérience, nous avons observé deux générations complètes (de juin 2012 à septembre 2012, et d'octobre 2012 à mai 2013), ainsi que le début d'une troisième génération (septembre 2013). Quatre dates de prélèvements de 3 ou 4 populations expérimentales ont été réparties sur la première génération. Pour la deuxième, un prélèvement de 4 populations expérimentales a été effectué le 9 septembre 2012, soit juste après la principale cohorte de germination. A cette date, pour étudier l'effet de l'intensité de la compétition sur la dynamique adaptative d'*A. thaliana*, un traitement de forte intensité de compétition (C+) a été appliqué à la moitié des populations restantes, et un traitement de faible intensité (C-) a été appliqué à l'autre moitié. Pour le traitement 'C+', les plantes issues de la banque naturelle de graines du terrain expérimental ont été libres de se développer normalement. Pour le traitement 'C-', les plantes autres qu'*A. thaliana* ont été désherbées à la main pour fortement réduire l'intensité de compétition en début et fin de génération (les 9 octobre 2012 et 27 mai 2013). A partir du 9 septembre 2012, pour chacun des deux traitements 'C+' et 'C-', un prélèvement de 4 populations expérimentales a été effectué avant l'hiver et deux prélèvements ont été effectués entre le début et la fin du printemps (Fig. 4). Pour le début de la troisième génération, un prélèvement de 5 populations expérimentales a été effectué pour les traitements 'C+' et 'C-' juste après la principale cohorte de germination. Un total de 9 dates de prélèvements de 3 à 5 populations expérimentales a donc été effectué au cours de cette expérience.

A chaque date de prélèvement, les populations expérimentales ont été choisies de manière aléatoire au sein de chaque traitement. La communauté végétale associée à chaque population expérimentale a été ensuite décrite à partir des pourcentages de recouvrement des espèces les plus abondantes. Puis, chaque population expérimentale a été prélevée *ex-situ* (*i. e.* des couches de sol de quelques centimètres d'épaisseur ont été découpées afin de laisser les individus en place, Fig. 5) pour être emportée au service de phénotypage de l'Université de Lille 1. Selon la densité apparente d'*A. thaliana* dans une population expérimentale, nous avons compté ou estimé tous les individus dans une population. Par la suite, ces individus ont été classés selon 5 stades phénologiques : cotylédon (présence seulement des deux cotylédons), rosette (présence au moins d'une vraie feuille), montaison (plantes avec une élongation de la tige principale mais pas d'observation de fleurs), floraison (présence de fleurs) et maturation (présence de siliques mûres).



Figure 5. Récolte d'une population expérimentale en vue de sa caractérisation démographique et phénologique au service de phénotypage de l'Université de Lille 1.

Suivi génomique

Echantillonnage

Pour étudier la sélection génomique au cours des 3 générations, nous nous sommes intéressés aux trois dates se situant juste après la principale cohorte de germination de chacune des trois générations (les 26 juin 2012, 09 octobre 2012 et 24 septembre 2013 ; Fig. 4). Nous avons ainsi 4 lots de populations expérimentales : (1) 'June 2012' regroupant 3 populations expérimentales, (2) 'October 2012' regroupant 4 populations expérimentales, (3) 'September 2013 'C-' regroupant 5 populations expérimentales échantillonnées dans le traitement 'C-', et (4) 'September 2013 'C+' regroupant 5 populations expérimentales échantillonnées dans le traitement 'C+'. Pour chaque population expérimentale prélevée à ces trois dates, toutes les plantules d'*A. thaliana* étaient au stade cotylédon et ont été transférées en serre (16h photopériode, 20°C) sur des plaques de 66 alvéoles remplies de terreau, afin de permettre aux plantules de croître jusqu'à atteindre une taille de rosette suffisante pour effectuer les extractions d'ADN (pour les populations où le nombre d'individus était supérieur à 500, seulement 500 plantules d'*A. thaliana* étaient transférées sur du terreau). Une fois la

taille de la rosette requise atteinte, les plantes ont été récoltées individuellement puis séchées dans une étuve à 54°C pendant 48H.

En parallèle, des phénomènes de distorsion de ségrégation étant régulièrement observés à la suite de croisements entre deux accessions d'*A. thaliana* (Simon *et al.* 2008), nous pouvons nous attendre à des écarts aux fréquences alléliques de 50% attendues dans une population F₂. Pour estimer les fréquences initiales des deux accessions parentales le long du génome dans notre population de graines 500 graines F₂ ont été semées sur des plaques de 66 alvéoles puis ont subi un traitement de stratification de 4 jours à 4°C afin de maximiser le taux de germination (> 97% dans notre étude). Une fois la taille de la rosette requise atteinte, les plantes F₂ ont récoltées individuellement puis séchées dans une étuve à 54°C pendant 48H.

Extraction d'ADN

L'ADN génomique des plantes a été extrait selon un protocole modifié d'après Brachi *et al.* (2013). Le nombre d'individus extraits par population expérimentale et pour la population de graines F₂ est indiqué dans la Table S1. L'extraction d'ADN n'ayant pas marché pour les individus d'une population expérimentale du traitement 'C-' (population I9) récoltée en septembre 2013, le séquençage génomique pour cette population n'a pas été réalisé. Pour identifier les polymorphismes génétiques entre les accessions parentales BAU-14 et ENC-2-19, nous avons également extrait l'ADN génomique de ces deux accessions. La concentration en ADN de tous les échantillons a été estimée par PicoGreen®.

Séquençage génomique

Pour estimer les fréquences alléliques le long du génome dans la population de graines F₂ et dans les populations expérimentales, nous avons adopté une approche PoolSeq (*Sequencing of Pooled DNA Samples*; Koffler *et al.* 2011). Pour chaque population, un échantillon représentatif d'ADN (bulk d'ADN) a été constitué en regroupant les ADN des différents échantillons de cette population de manière équimolaire. Ces bulks ainsi que les ADN génomique des accessions BAU-14 et ENC-2-19 ont été séquencées en "paired-end 100bp" avec le système HiSeq2000 Illumina sur la plate-forme GeT-PlaGe (INRA Toulouse).

La couverture génomique requise était de 100X pour les accessions BAU-14 et ENC-2-19, de 300X pour la population F₂ et de 50X pour les populations expérimentales.

Analyses des données

Démographie

Pour identifier des différences démographiques entre les traitements de compétition 'C+' et 'C-', un test de Wilcoxon-Mann-Whitney a été appliqué pour chacune des 4 dernières dates d'échantillonnage sur les données de comptage d'individus transformées en logarithme.

Phénologie

Afin d'identifier des différences phénologiques entre les traitements de compétition 'C+' et 'C-', un test de Wilcoxon-Mann-Whitney a été appliqué sur les données de pourcentage des stades phénologiques (transformées en arcsinus), et ceci pour chaque date d'échantillonnage où différents stades phénologiques ont été observés.

Communautés végétales

Afin de tester si la composition spécifique des communautés végétales pouvait expliquer des patrons d'évolution démographique et génomique de certaines populations expérimentales issues de la 3^{ème} génération, une analyse en composantes principales basée sur les données de pourcentage de recouvrement des espèces les plus abondantes a été effectuée (PCA, ade4 R package, 2007), permettant ainsi de définir un espace de la composition spécifique des communautés végétales.

Génomique

L'analyse des séquences (nettoyage, filtrage, alignement contre le génome de référence Col-0, snp-calling correspondant à l'identification des bases nucléotidiques qui

différent du génome de référence) a été réalisée par la plate-forme de bioinformatique du Laboratoire LIPM.

Afin d'identifier les sites polymorphes entre les 2 accessions parentales (ENC-2-19 et BAU-14), et en l'absence de séquence de référence pour l'un ou l'autre des deux parents, une stratégie par mapping sur le génome de référence de Col-0 (TAIR10) a été mise en place.

La première étape a consisté au mapping des deux parents sur le génome de Col-0 avec l'outil de mapping *glint* (1.0.rc8) (Faraut & Courcelle, données non publiées) en tolérant 5 mismatches sur au minimum 80 nucléotides et en ne conservant que les alignements qui présentent le meilleur score (*glint mappe --no-lc-filtering --best-score --mmis 5 --lmin 80 --step 2*). Un premier filtre de cohérence de mapping a été appliqué pour ne garder que les paires s'alignant sur les mêmes chromosomes en utilisant les *samtools* (Li *et al.* 2009) (*samtools view -f 0x02*).

A partir de ces alignements, la recherche de polymorphisme pour chaque parent a été effectué en utilisant la suite logicielle *samtools* (0.1.19) et *VarScan* (v2.3) (Koboldt *et al.* 2012), avec un paramétrage répondant à une profondeur théorique de séquençage de 100X et la recherche de sites homozygotes (*samtools mpileup -B ; VarScan mpileup2snp --min-coverage 15 --min-reads2 10 --min-avg-qual 30 --min-var-freq 0.8 --p-value 0.01*).

Afin de différencier les sites monomorphes des données manquantes, un nouveau snp-calling a été effectué à partir de l'ensemble des sites polymorphes des deux parents. Un filtre a également été appliqué afin de ne garder que les sites polymorphes bi-alléliques entre les 2 parents ($ENC-2-19 \neq BAU-14$ AND ($ENC-2-19 = Col-0$ OR $BAU-14 = Col-0$)). Ce filtre a résulté en la détection de 442 880 SNPs entre les accessions parentales BAU-14 et ENC-2-19.

Une fois les sites polymorphes identifiés, la même procédure a été appliquée en même temps sur l'ensemble des pools correspondant à la population de graines F₂ et aux populations expérimentales (*VarScan mpileup2snp --min-coverage 15 --min-reads2 10 --min-avg-qual 30 --min-var-freq 0.4 --p-value 0.01*).

Pour tenir compte des différences de qualité de mapping des lectures ('reads') sur le génome de référence Col-0 entre les deux accessions BAU-14 et ENC-2-19, un processus de filtrage supplémentaire a été mis en place et est décrit en Annexe 1.

Sélection génomique

A l'issue des différents processus de filtrage, un nombre total de 187 352 SNPs a été retenu pour estimer les fréquences alléliques le long du génome. Pour la population de graines F_2 et pour chaque population expérimentale, la fréquence allélique moyenne de BAU-14 a été estimée sur une fenêtre de 200kb coulissante tous les 100kb (script personnalisé *R*), résultant en une estimation de valeurs de fréquences alléliques pour 1188 positions génomiques. Puis, pour chacune de ces positions, nous avons calculé pour chaque lot de populations expérimentales ('June 2012', 'October 2012', 'September 2013 C+' et 'September 2013 C-') une fréquence allélique moyenne de BAU-14 ainsi que les intervalles de confiance associées à partir des fréquences obtenues individuellement par population expérimentale. Une région génomique a été déclarée sous sélection si, pour une position génomique donnée, les intervalles de confiance de la génération $n+1$ ne se chevauchent pas avec les intervalles de confiance de la génération n .

Résultats et discussion

ETABLISSEMENT D'*A. THALIANA* DANS LES POPULATIONS EXPERIMENTALES

Nous avons observé des germinations dès deux semaines après le premier semis effectué le 05 juin 2012. Bien que les principales cohortes de germination d'*A. thaliana* ont généralement lieu au mois de septembre dans le Nord de la France (Brachi *et al.* 2013), des précipitations régulières ont été observées durant l'été 2012, ce qui aurait conduit à des conditions favorables de germination pour *A. thaliana*. Le taux de germination à la fin du mois de juin 2012 était de $22\% \pm 1.8\%$ (Fig. 6, Table S1) et n'a que très peu évolué les semaines suivantes (Fig. 6 et 7). Ce taux de germination est largement supérieur à celui observé dans quatre populations naturelles d'*A. thaliana* situées dans des dunes calcaires proches du bord de mer aux Pays-Bas (*i.e.* 1.02%, Arany *et al.* 2005). Cette différence de taux de germination entre notre étude et celle d'Arany *et al.* (2005) pourrait s'expliquer par un taux de recouvrement du sol. Alors que nous avons effectué un semis sur un sol nu, 90% du sol étaient recouverts par des mousses, des graminées et des herbacées dans les 4 populations naturelles hollandaises. Cette fermeture du milieu a certainement réduit la probabilité pour les graines d'*A. thaliana* de se trouver dans des milieux favorables à leur germination.

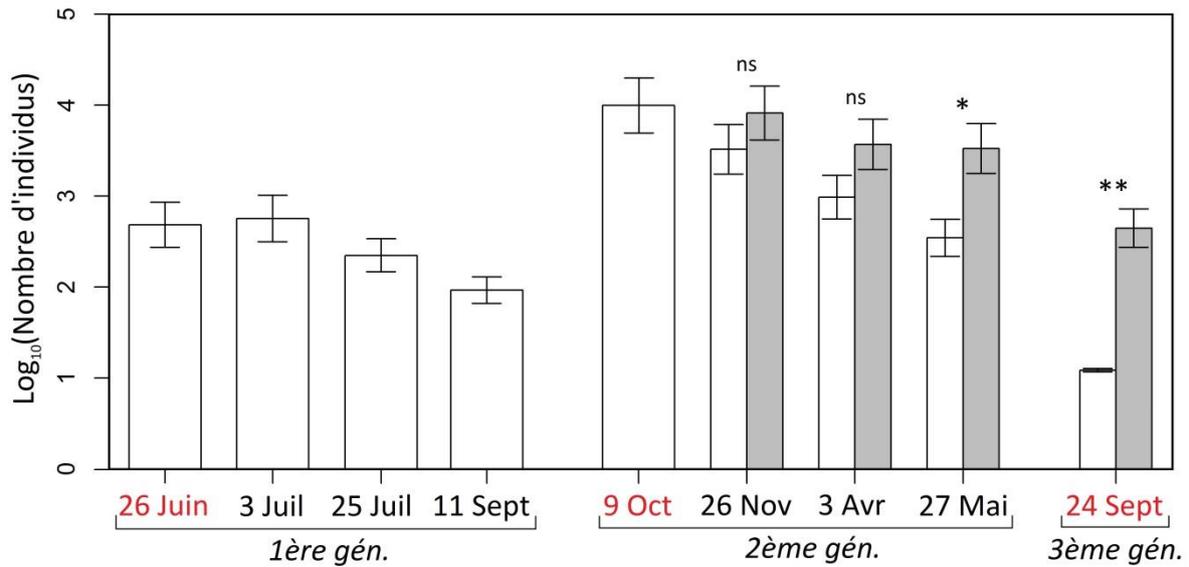


Figure 6. Suivi démographique d'*A. thaliana*. Les cinq premiers prélèvements n'ont pas de distinction d'intensité de compétition alors que les quatre derniers présentent des comptages distincts selon les populations C+ (en blanc) et C- (en gris). Les dates en rouge indiquent les prélèvements pour lesquels une caractérisation génomique a été effectuée. Les valeurs représentent le nombre moyen d'individus \pm SE. ns : non-significatif, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$.

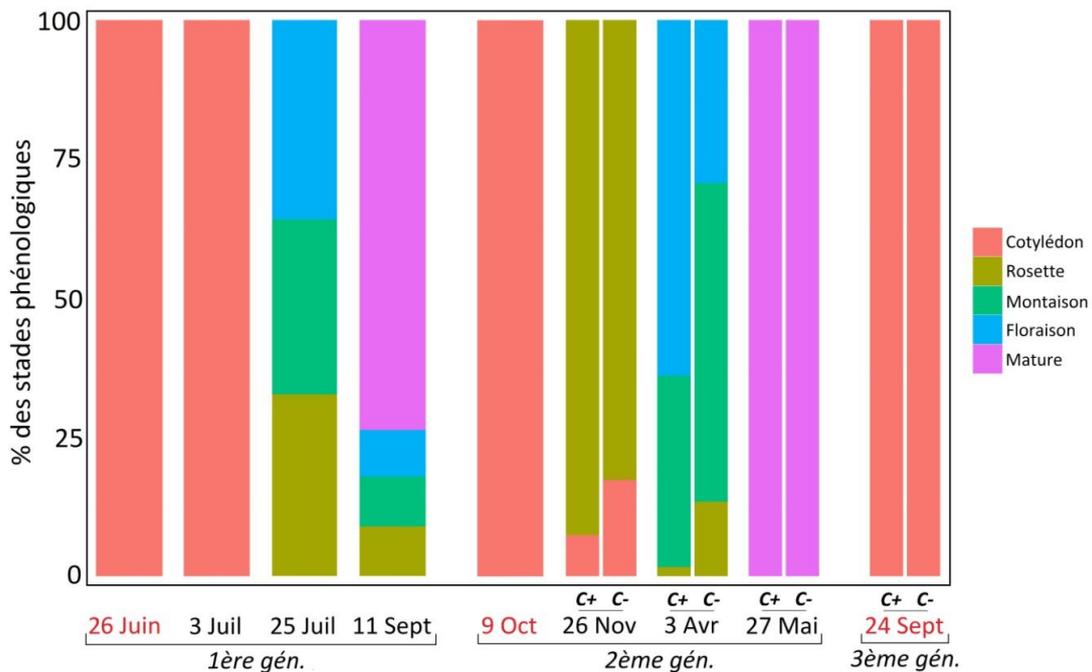


Figure 7. Evolution temporelle de la proportion relative des 5 stades phénologiques dans les populations expérimentales d'*A. thaliana*. C+ : Forte intensité de compétition, C- : Faible intensité de compétition.

Au cours de la 1^{ère} génération, nous avons observé une réduction de 81% de la taille moyenne des populations expérimentales (Fig. 6), cette valeur étant en accord avec des observations effectuées au sein de populations naturelles d'*A. thaliana* situées aux Pays-Bas (Arany *et al.* 2005) et en Espagne (Montesinos *et al.* 2009). De manière intéressante, à la fin de la 1^{ère} génération, nous avons pu observer la présence de plantes au stade rosette, montaison et floraison, ces plantes n'ayant probablement pas eu le temps de boucler leur cycle de vie avant la fin du mois de septembre. La réussite de l'établissement d'*A. thaliana* dans les populations expérimentales est illustrée par une taille moyenne au début de la 2^{ème} génération 20 fois plus importante que la taille moyenne observée au début de la 1^{ère} génération (Fig. 6).

D'un point de vue génomique, nous avons observé dans la population de graines F₂ une distorsion de ségrégation en défaveur de l'accession parentale BAU-14 (Fig. 8A). En effet, la fréquence allélique de BAU-14 est inférieure à 50% (pourcentage attendu dans une population F₂) sur la majorité du génome, à l'exception du bas du chromosome 3 et du haut du chromosome 4. Ces distorsions de ségrégation sont régulièrement observées à la suite d'un croisement entre deux accessions naturelles d'*A. thaliana* (Simon *et al.* 2008). Elles peuvent résulter (i) d'interactions négatives épistatiques entre différents loci, les graines portant ces interactions étant alors contre-sélectionnées (Simon *et al.* 2008), et/ou (ii) d'un ralentissement de la vitesse de croissance du tube pollinique des pollens contenant un allèle perturbant la voie des hormones, entraînant une contre-sélection de ces pollens lors de la fécondation des plantes F₁ (Roux *et al.* 2005a). A partir des fréquences alléliques observées dans la population de graines F₂, nous avons pu mettre en évidence fin juin 2012 une sélection génomique en faveur de BAU-14 sur la majorité du génome (Fig. 8B). Ce résultat suggère que les conditions abiotiques de germination rencontrées sur le terrain expérimental sont probablement plus proches de celles rencontrées dans l'habitat de la population BAU que dans l'habitat de la population ENC-2. On peut par ailleurs noter qu'étant donné la taille de nos populations expérimentales, les effets liés à la dérive génétique sont négligeables (Fig. 8B).

En une génération, nous n'avons observé qu'une très faible évolution des fréquences alléliques. En effet, seules 4 régions génomiques (une sur le chromosome 1, une sur le chromosome 4 et deux sur le chromosome 5) ont été sélectionnées entre le début de la 1^{ère} génération et le début de la 2^{ème}, soit en faveur de BAU, soit en faveur de ENC-2 (Fig. 8C). Ces régions génomiques sélectionnées résultent probablement d'une adaptation aux conditions locales du terrain expérimental rencontrées pendant la 1^{ère} génération, avec une contribution des deux accessions parentales.

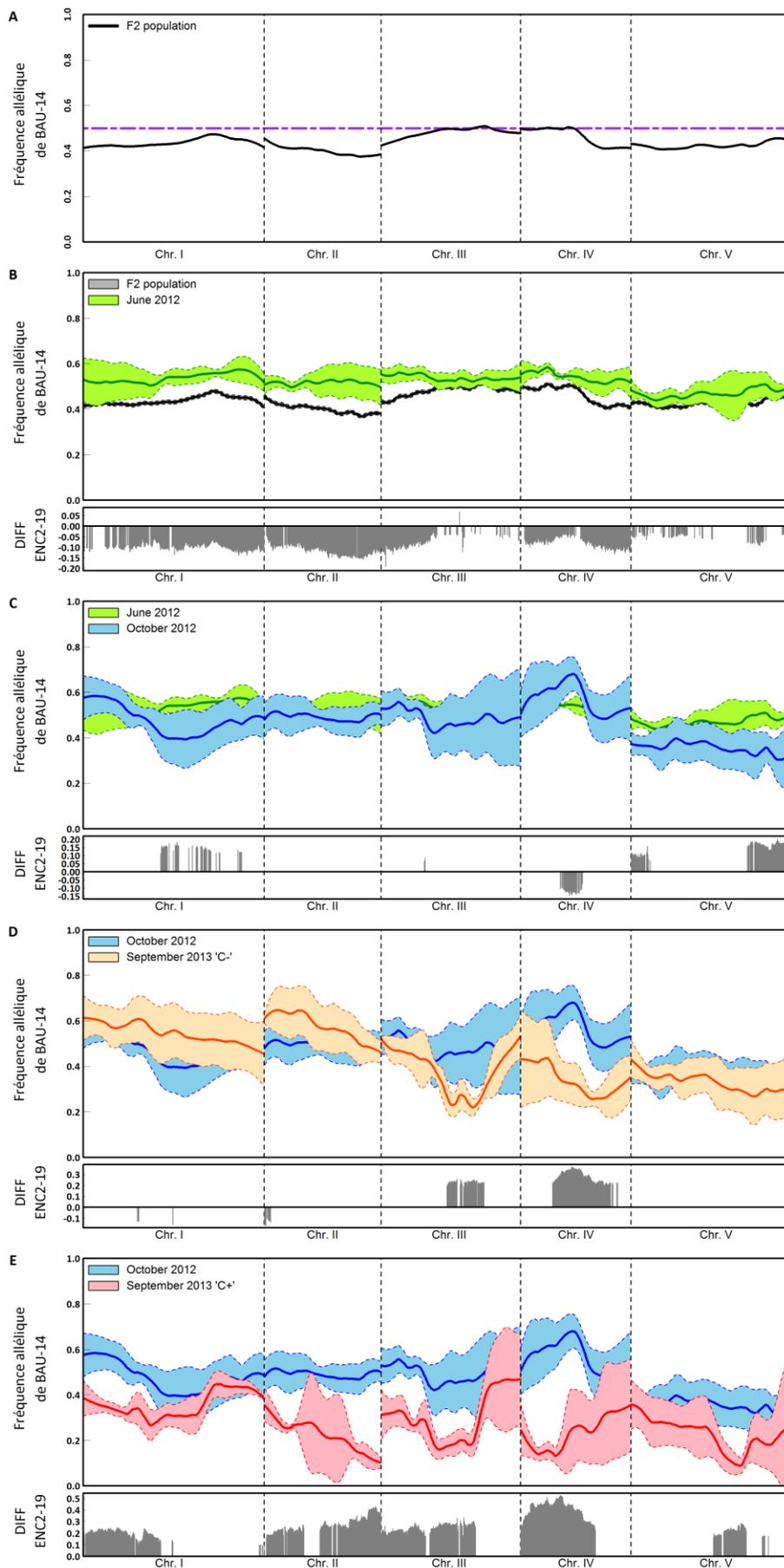


Figure 8. Sélection génomique. **A.** Fréquence allélique de BAU-14 dans la population de graines F_2 le long des 5 chromosomes. La ligne violette correspond à une fréquence allélique attendue de 50%.

B. Comparaison des fréquences alléliques de BAU-14 observées en juin 2012 par rapport aux fréquences initiales de la population F_2 . Les traits noirs en pointillés résultent d'une régression polynomiale locale sur les valeurs attendues par dérive génétique (Roux *et al.* 2005b).

C-E. Evolution des fréquences alléliques de BAU-14 entre la génération 'n' et la génération 'n+1'.

A-E. Les traits pleins résultent d'une régression polynomiale locale sur les valeurs moyennes de fréquence allélique.

B-E. Les traits colorés en pointillés résultent d'une régression polynomiale locale sur les valeurs des intervalles de confiances des fréquences alléliques.

B-E. 'DIFF ENC-2-19' : chaque barre correspond à une évolution significative de la fréquence allélique de ENC-2-19 à une position génomique donnée entre la génération 'n' et la génération 'n+1'.

EFFET DE L'INTENSITE DE LA COMPETITION SUR LA DYNAMIQUE ADAPTATIVE D'*A. THALIANA*

Après la phase d'établissement d'*A. thaliana* dans les populations expérimentales, les populations expérimentales ont subi soit un traitement de faible intensité de compétition interspécifique, soit un traitement de forte intensité de compétition interspécifique. Comme préalablement observé pour la 1^{ère} génération, nous avons observé une réduction importante de la taille moyenne des populations expérimentales au cours de la 2^{ème} génération. Cependant, cette réduction semble avoir été plus sévère pour le traitement de forte intensité de compétition. En effet, à la fin de la 2^{ème} génération, la taille moyenne des populations expérimentales en présence d'une forte intensité de compétition était significativement réduite de 90% par rapport à la taille moyenne des populations expérimentales en présence d'une faible intensité de compétition (Fig. 6). Ce résultat s'explique probablement par une diminution pour *A. thaliana* des ressources en minéraux et en lumière par les autres espèces qui se sont installées progressivement dans les communautés. Cet effet de l'intensité de la compétition s'est même accentué au début de la 3^{ème} génération, avec la taille moyenne des populations expérimentales en présence d'une forte intensité de compétition réduite significativement de 97% par rapport à la taille moyenne des populations expérimentales en présence d'une faible intensité de compétition (Fig. 6). Nous avons même identifié un crash démographique pour 2 populations expérimentales du traitement 'C+' (Table S1). De manière très intéressante, les communautés de ces 2 populations sont dominées par *Stellaria media* (Fig. 9), qui a été démontré au cours de ma thèse comme présentant une des plus fortes capacités compétitrices envers *A. thaliana* parmi plusieurs espèces testées (Chapitre I). Les trois autres populations expérimentales du traitement 'C+' prélevées en septembre 2013 ont des communautés dont la composition spécifique est similaire à celles des communautés des populations expérimentales du traitement 'C-' (Fig. 9). Toutefois, ces différences d'évolution démographique ne se sont pas traduites par des différences significatives d'évolution phénologique (Fig. 7).

Au niveau génomique, nous avons observé une évolution des fréquences alléliques très stochastique le long du génome pour les 2 populations expérimentales du traitement 'C+' pour lesquelles nous avons observé un crash démographique (Fig. S2). Pour nos analyses de sélection génomique en présence de compétition, nous n'avons donc considéré que les populations expérimentales dont les communautés étaient similaires en termes de composition spécifique.

En accord avec l'habitat très compétitif dont est issue l'accession ENC-2-19, nous avons observé une forte sélection génomique en faveur d'ENC-2, et cette sélection était d'autant plus importante que l'intensité de compétition était forte (Fig. 8D et 8E). En effet, alors que seulement deux régions génomiques ont été sélectionnées dans le traitement de faible compétition (Fig. 8D), les 2/3 du génome ont été sélectionnés dans le traitement de forte compétition (Fig. 8E).

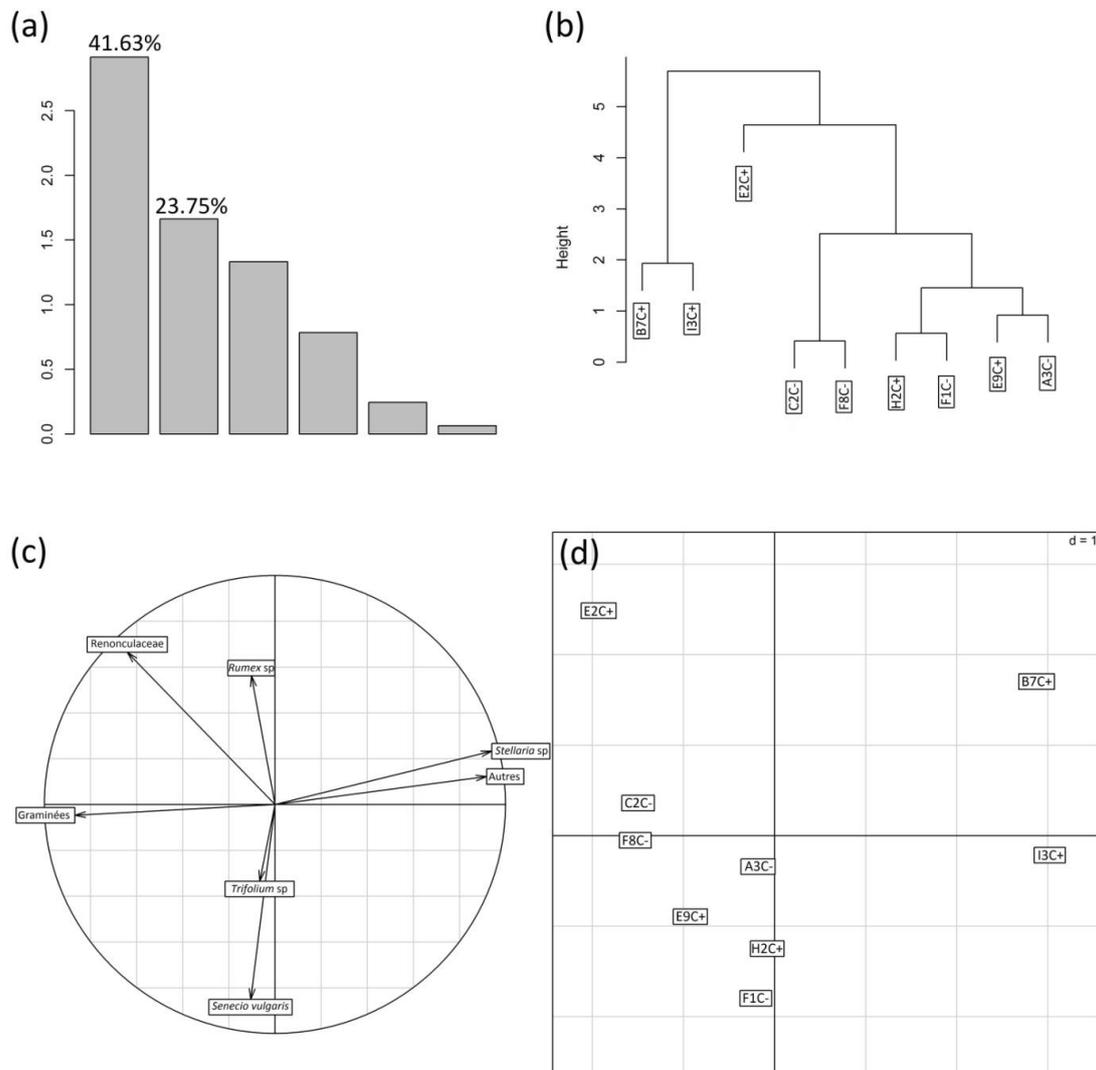


Figure 9. ACP basée sur les caractérisations des communautés végétales des populations expérimentales prélevées en septembre 2013. (a) Barplot décrivant le pourcentage d'inertie des composantes de l'ACP. (b) Dendrogramme des populations. (c) Cercle des corrélations. (d) Position des populations expérimentales d'*A. thaliana* dans l'espace de la composition spécifique de leurs communautés végétales. C+ : Forte intensité de compétition, C- : Faible intensité de compétition. La population expérimentale I9 pour le traitement C- n'est pas représentée car le pool d'ADN correspondant n'a pas été séquencé (Table S1).

Conclusion

Dans notre étude, effectuer des suivis démographique, phénologique et génomique de populations expérimentales *in natura* s'est avéré très puissant pour mettre en évidence un impact de l'intensité de la compétition interspécifique sur la dynamique adaptative d'*A. thaliana*. Nos résultats démontrent clairement que la compétition est un processus majeur de sélection affectant à la fois la dynamique des populations et les trajectoires adaptatives de celles-ci.

Références bibliographiques

- Arany, A.M., Jong, T.J. & Meijden, E. (2005) Herbivory and abiotic factors affect population dynamics of *Arabidopsis thaliana* in a sand dune area. *Plant Biology*, **7**, 549-556.
- Araya, C.L., Payen, C., Dunham, M.J. & Fields, S. (2010) Whole-genome sequencing of a laboratory-evolved yeast strain. *BMC genomics*, **11**, 88.
- Barrick, J.E., Yu, D.S., Yoon, S.H., Jeong, H., Oh, T.K., Schneider, D., Lenski, R.E. & Kim, J.F. (2009) Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli*. *Nature*, **461**, 1243-1247.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Nautekète, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. & Roux, F. (2013) Investigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4223-4240.
- Burke, M.K., Dunham, J.P., Shahrestani, P., Thornton, K.R., Rose, M.R. & Long, A.D. (2010) Genome-wide analysis of a long-term evolution experiment with *Drosophila*. *Nature*, **467**, 587-590.
- Ellegren, H., Smeds, L., Burri, R., Olason, P.I., Backström, N., Kawakami, T., Künstner, A., Mäkinen, H., Nadachowska-Brzyska, K., Qvarnström, A., Uebbing, S. & Wolf, J.B.W. (2012) The genomic landscape of species divergence in *Ficedula flycatchers*. *Nature*, **491**, 756-760.

- Faraut, T. & Courcelle, E. (<http://lipm-bioinfo.toulouse.inra.fr/download/glint/>, données non publiées).
- Fournier-Level, A., Korte, A., Cooper, M.D., Nordborg, M., Schmitt, J. & Wilczek, A.M. (2011) A map of local adaptation in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, **334**, 86-89.
- Hancock, A.M., Brachi, B., Faure, N., Horton, M.W., Jarymowycz, L.B., Sperone, F.G., Toomajian, C., Roux, F. & Bergelson, J. (2011) Adaptation to climate across the *Arabidopsis thaliana* genome. *Science*, **334**, 83-86.
- Hohenlohe, P.A., Bassham, S., Etter, P.D., Stiffler, N., Johnson, E.A. & Cresko, W.A. (2010) Population Genomics of Parallel Adaptation in Threespine Stickleback using Sequenced RAD Tags. *PLoS Genetics*, **6**, e1000862.
- Jones, F.C., Grabherr, M.G., Chan, Y.F., Russell, P., Mauceli, E., Johnson, J., Swofford, R., Pirun, M., Zody, M.C., White, S., Birney, E., Searle, S., Schmutz, J., Grimwood, J., Dickson, M.C., Myers, R.M., Miller, C.T., Summers, B.R., Knecht, A.K., Brady, S.D., Zhang, H., Pollen, A.A., Howes, T., Amemiya, C., Broad Institute Genome Sequencing Platform & Whole Genome Assembly Team, Lander, E.S., Palma, F.D., Lindblad-Toh, K. & Kingsley, D.M. (2012) The genomic basis of adaptive evolution in threespine sticklebacks. *Nature*, **484**, 55–61.
- Koboldt, D., Zhang, Q., Larson, D., Shen, D., McLellan, M., Lin, L., Miller, C., Mardis, E., Ding, L., & Wilson, R. (2012) VarScan 2: Somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. *Genome Research*, **22**, 568-276.
- Lawniczak, M.K.N., Emrich, S.J., Holloway, A.K., Regier, A.P., Olson, M., White, B., Redmond, S., Fulton, L., Appelbaum, E., Godfrey, J., Farmer, C., Chinwalla, A., Yang, S.P., Minx, P., Nelson, J., Kyung, K., Walenz, B.P., Garcia-Hernandez, E., Aguiar, M., Viswanathan, L.D., Rogers, Y.H., Strausberg, R.L., Sasaki, C.A., Lawson, D., Collins, F.H., Kafatos, F.C., Christophides, G.K., Clifton, S.W., Kirkness, E.F. & Besansky, N.J. (2010) Widespread divergence between incipient *Anopheles gambiae* species revealed by whole genome sequences. *Science*, **330**, 512–514.
- Li, H., Handsaker B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R. and 1000 Genome Project Data Processing Subgroup (2009) The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics*, **25**, 2078-9.

- Llaurens, V., Castric, V., Austerlitz, F. & Vekemans, X. (2008) High paternal diversity in the self-incompatible herb *Arabidopsis halleri* despite clonal reproduction and spatially restricted pollen dispersal. *Molecular Ecology*, **17**, 1577-1588.
- Montesinos, A., Tonsor, S.J., Alonso-Blanco, C. & Pico, F.X. (2009) Demographic and genetic patterns of variation among population of *Arabidopsis thaliana* from contrasting native environments. *PLoS One*, **4**, e7213.
- Paterson, S., Vogwill, T., Buckling, A., Benmayor, R., Spiers, A.J., Thomson, N.R., Quail, M., Smith, F., Walker, D., Libberton, B., fenton, A., Hall, N. & Brockhurst, M.A. (2010) Antagonistic coevolution accelerates molecular evolution. *Nature*, **464**, 275-278.
- Roesti, M., Hendry, A.P., Salzburger, W. & Berner, D. (2012) Genome divergence during evolutionary diversification as revealed in replicate lake-stream stickleback population pairs. *Molecular Ecology*, **21**, 2852–2862.
- Roux, F., Camilleri, C., Bérard, A. & Reboud, X. (2005) Multigenerational *versus* single generation studies to estimate herbicide resistance fitness cost in *Arabidopsis thaliana*. *Evolution*, **59**, 2264-2269.
- Roux, F., Camilleri, C., Giancola, S., Brunel, D. & Reboud, X. (2005) Epistatic interactions among herbicide resistances in *Arabidopsis thaliana*: the fitness cost of multiresistance. *Genetics*, **171**, 1277-1288.
- Simon, M., Loudet, O., Durand, S., Bérard, A., Brunel, D., Sennesal, F.-X., Durand-Tardif, M., Pelletier, G. & Camilleri, C. (2008) Quantitative Trait Loci mapping in five new large recombinant inbred line populations of *Arabidopsis thaliana* genotyped with consensus Single-Nucleotide Polymorphism markers. *Genetics*, **178**, 2253-2264.
- Weinig, C., Johnston, J.A., Willis, C.G. & Maloof, J.N. (2007) Antagonistic multilevel selection on size and architecture in variable density settings. *Evolution*, **61**, 58-67.

**Impact de l'intensité de la compétition sur la dynamique
adaptative *in-natura* de populations expérimentales
d'*Arabidopsis thaliana***

Annexes

ANNEXE 1. Filtrage des données génomiques à partir de la différence de qualité de mapping des reads entre les accessions parentales BAU-14 et ENC-2-19.

Des différences de qualité de mapping des reads sur le génome de référence Col-0 peuvent exister entre les deux accessions parentales. En effet, des régions génomiques avec une très forte diversité nucléotidique ou présentant des variants de structure (présence d'indels, de zones répétées) sur moins de 100bp entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19 pourraient entraîner une différence de qualité de mapping des reads sur le génome de référence Col-0 entre ces deux accessions, et ainsi biaiser l'estimation des fréquences alléliques dans un pool d'ADN. Pour éliminer de nos analyses les SNPs pour lesquels une différence de qualité de mapping des reads entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19 est importante, nous nous sommes appuyés sur la population de graines F₂ où la fréquence allélique attendue de chaque accession parentale (pour chacun des 442 880 SNPs identifiés entre les deux accessions) est de 50%.

Dans un premier temps, afin d'éliminer les biais dus à une estimation sub-optimale des fréquences alléliques dans la population de graines F₂, nous n'avons considéré que les SNPs pour lesquels le taux de couverture était compris entre 100X et 200X dans la population de graines F₂. Sur les 442 880 SNPs identifiés entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19, nous avons ainsi retenu 272 697 SNPs. Ensuite, pour chacun de ces SNPs, nous avons estimé l'écart absolu entre la fréquence allélique de BAU-14 et la fréquence allélique attendue dans une population F₂ (**ECART**), soit 50% (nous ne considérons pas dans cette analyse les écarts dus à la distorsion de ségrégation).

Dans un deuxième temps, pour chacun de 272 697 SNPs, nous avons estimé la différence de qualité des reads sur le génome de référence Col-0 entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19 en calculant le ratio suivant (**RATIO**):

Ratio qualité = valeur maximale entre les deux valeurs de couverture obtenues pour les 2 accessions parentales / valeur minimale entre les deux valeurs de couverture obtenues pour les 2 accessions parentales

La couverture attendue étant identique pour les deux accessions BAU-14 et ENC-2-19 (*i.e.* 100X), plus le ratio est différent de 1, plus la différence de qualité de mapping entre les deux parents est suggérée importante.

Finalement, nous avons étudié la relation entre ECART et RATIO (Fig. S1).

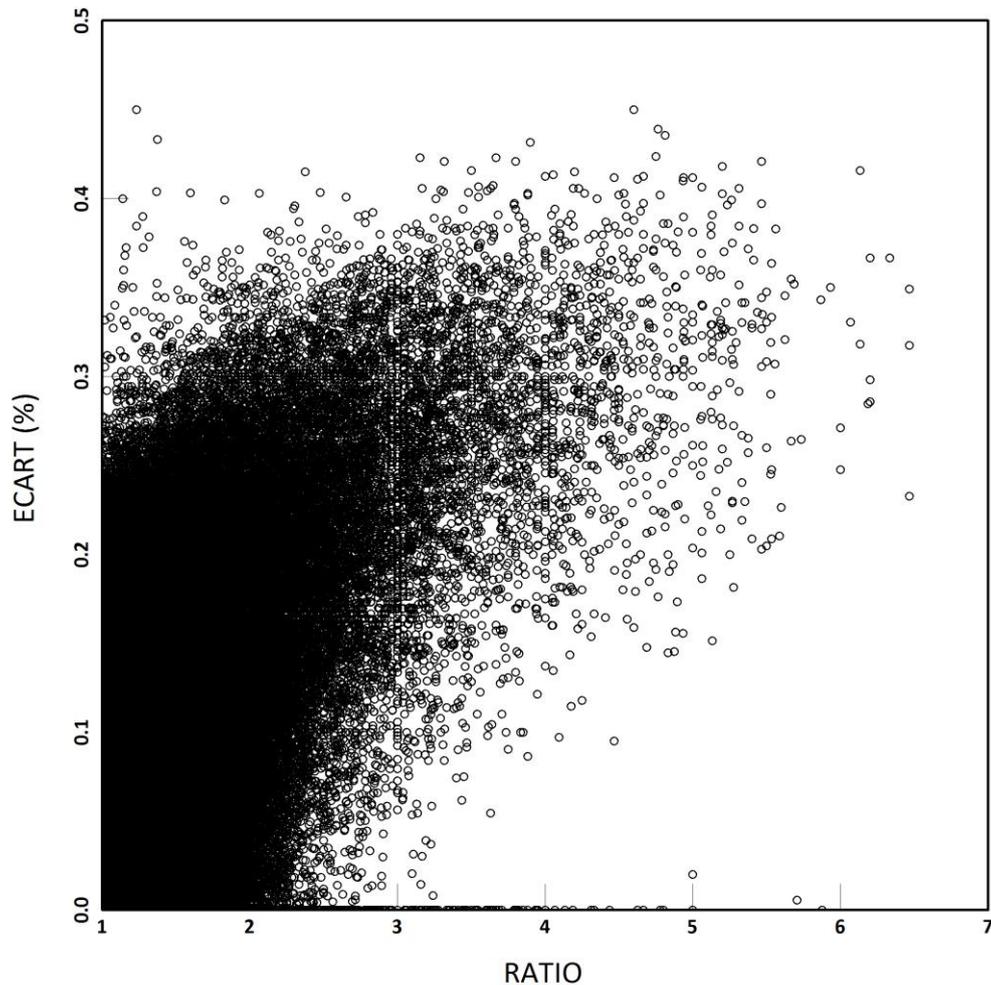


Figure S1. Relation entre l'écart absolu entre les fréquences alléliques de BAU-14 et les fréquences alléliques attendues dans une population F_2 (ECART) et la différence de qualité des reads sur le génome de référence Col-0 entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19 (RATIO).

Le coefficient de corrélation entre ECART et RATIO est de 0.458 ($P < 0.001$), indiquant qu'une importante différence de qualité de mapping entre les accessions BAU-14 et ENC-2-19 sur le génome de référence Col-0 entraîne un biais important dans l'estimation des fréquences alléliques de ces deux accessions dans un pool d'ADN. Pour limiter ces biais et être conservateur dans nos analyses, nous n'avons considéré que les SNPs avec une valeur de RATIO inférieure à 1.25 (*i.e.* coefficient de corrélation entre ECART et RATIO = 0.053).

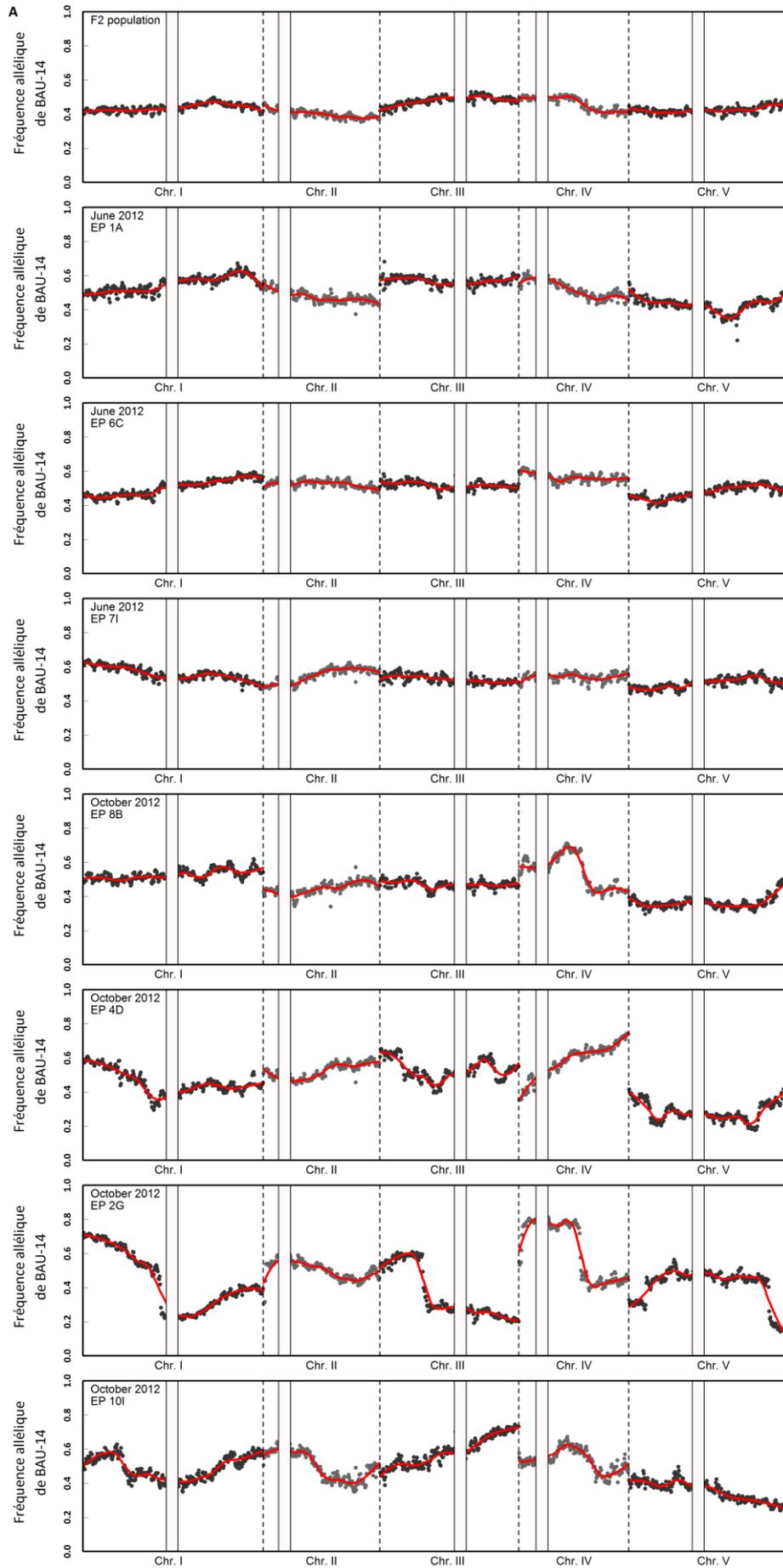
ANNEXE2. Table S1. Effectifs pour les suivis démographique et génomique aux trois dates correspondant à la principale cohorte de germination de chacune des trois générations (26/06/12, 09/10/12 et 24/09/13).

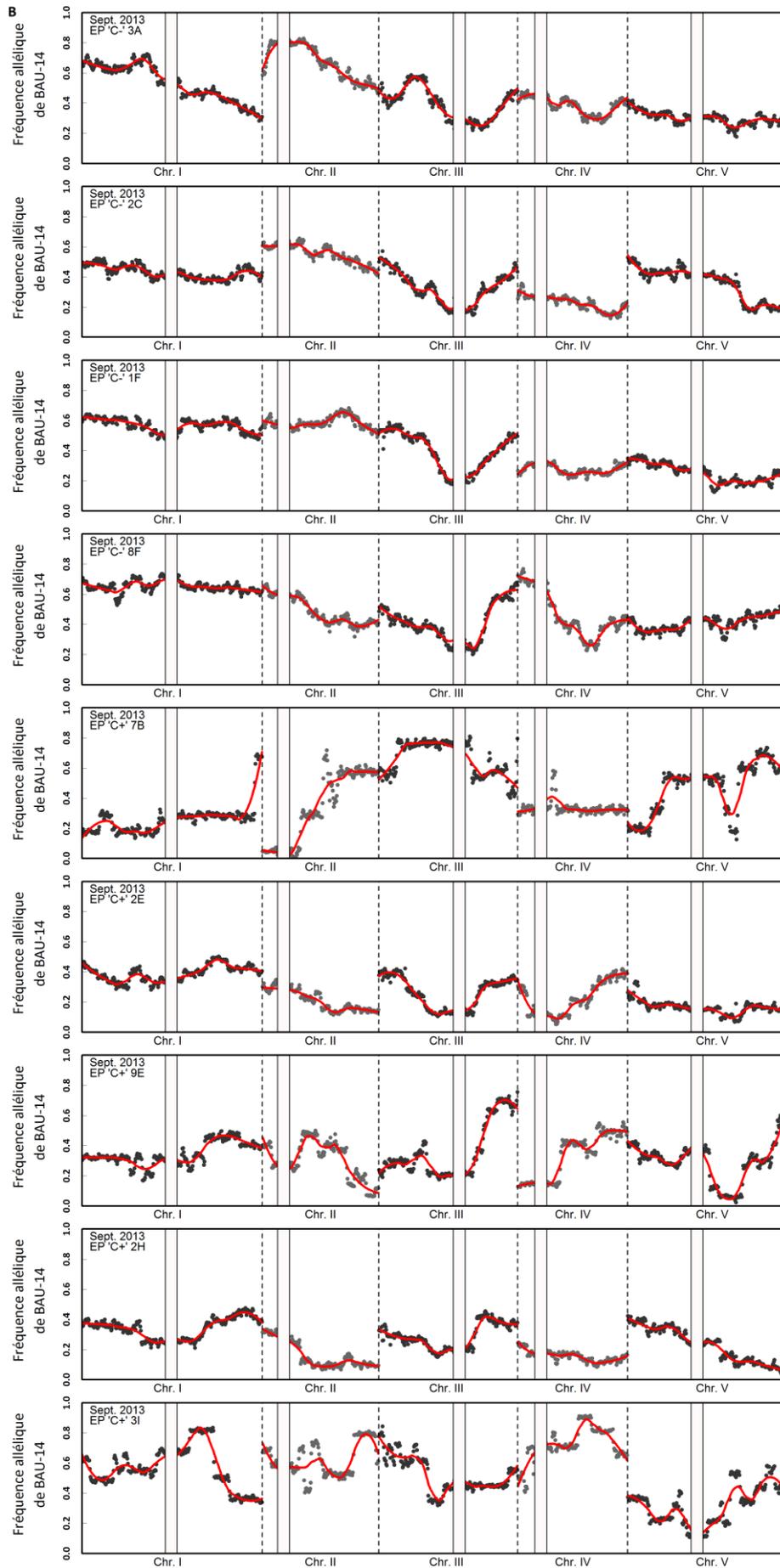
Date	Population	Nb d'individus comptés	Nb d'individus échantillonnés	Nb d'individus extraits	Couverture de séquençage
/	F2	512	384	266	300X
26/06/2012	A1	582	582	96	50X
	C7	429	429	95	50X
	I6	437	437	96	50X
	D4	3953	330	55	50X
10/09/12	I10	16810	462	90	50X
	B8	14124	495	71	50X
	G2	4688	330	64	50X
24/09/2013	F1	197	122	84	50X
	C2	1028	330	94	50X
	A3	896	204	96	50X
	I9	38	38	0	50X
	F8	52	52	42	50X
	I3	5	5	4	50X
	B7	3	3	3	50X
	E2	13	13	13	50X
	H2	29	29	29	50X
E9	11	11	9	50X	

ANNEXE 3. Figure S2. Sélection génomique. A. Fréquence allélique de BAU-14 le long des 5 chromosomes dans la population de graines F₂ et dans les populations expérimentales de 'June 2012' et 'October 2012'.

B. Fréquence allélique de BAU-14 le long des 5 chromosomes dans les populations expérimentales de 'September 2013 C-' et 'September 2013 C+'.

A-B. Chaque point correspond à une des 1188 positions génomiques où la fréquence moyenne de l'allèle BAU-14 a été calculée sur une fenêtre de 200kb. Les traits rouges résultent d'une régression polynomiale locale sur les valeurs moyennes de fréquence allélique de BAU-14. Les zones colorées en blanc cassé représentent les positions des centromères \pm 1Mb. EP : experimental population.





Conclusions et perspectives générales

La génétique sous-jacente à la capacité compétitrice chez *A. thaliana*

Réalisme écologique →

Degré de complexité de la compétition	POPULATION TOU-A		POPULATION EXPERIMENTALE	
Conditions de compétition testées	monospécifique	plurispécifique		naturelles
Principaux résultats	<p>I. Identité spécifique du compétiteur </p> <p>II. Décalage de germination du compétiteur </p>	<p>Compétition monospécifique vs plurispécifique </p> <p>Différentes communautés variant selon leur assemblage d'espèces, la richesse, la présence d'une espèce invasive dans deux conditions de température </p>		<p>Conditions naturelles de compétition avec une faible et une forte intensité de compétition</p> 
	<p>Variation génétique naturelle dans la capacité compétitrice</p> <p>Identités des traits sous sélection génotypique et bases génétiques différentes selon les conditions de compétition</p>	<p>La prédictibilité d'une réponse à la compétition plurispécifique à partir de l'additivité des réponses à la compétition monospécifique dépend du type de traits</p> <p>Différence d'architecture génétique entre les conditions de compétition monospécifique et plurispécifique?</p> <p>Evolution rapide de la capacité compétitrice</p> <p>Le potentiel adaptatif de la population à une espèce invasive est modulé par sa communauté environnante et la température</p>	<p>Par d'importants effets de la compétition sur la démographie et la sélection génomique, la dynamique adaptative d'<i>A. thaliana</i> peut être fortement affectée par l'intensité de la compétition.</p>	

Figure 18. Schéma récapitulatif des études effectuées au cours de cette thèse

Les études ciblant la génétique de la réponse à la compétition de la population TOU-A en conditions contrôlées ont permis de suggérer un maintien des diversités génétique et fonctionnelle en réponse aux variations de conditions de compétition, et l'existence de différentes bases génétiques impliquées dans la réponse à la compétition.

Mon travail avait pour objectif principal d'étudier la génétique associée à la capacité compétitrice d'*A. thaliana* en suivant des approches progressives de génomique écologique, dans le but de considérer la compétition dans un contexte écologique de plus en plus réaliste. J'entends par « génétique », (i) la variation génétique naturelle, (ii) l'identité des traits phénotypiques sous sélection génotypique et (iii) l'identité des bases génétiques. En ciblant la population locale TOU-A, de manière à considérer un grain fin correspondant à l'échelle spatiale à laquelle ont lieu les interactions plante-plante pour l'espèce *A. thaliana*, j'ai pu démontrer (Fig. 18) :

(i) qu'en réponse à des variations spatiales (conditionnées par la nature des compétiteurs et leurs assemblages) et temporelle (conditionnée par le décalage de germination dans le temps de la plante-cible par rapport à son compétiteur direct), des processus d'adaptation à une échelle micro-géographique suggéraient des phénomènes de spécialisation biotique sous-jacents au maintien de la diversité génétique d'*A. thaliana*. Ce constat s'associe au fait qu'à l'échelle d'une population, les interactions plante-plante peuvent être génotype-dépendantes. Par ailleurs, bien que la plupart des génotypes d'*A. thaliana* produisaient moins de biomasse en conditions de compétition plurispécifique qu'en conditions de compétition monospécifique, j'ai démontré que certains d'entre eux étaient plus performants en conditions de compétition plurispécifique que ce que prédisait le modèle d'additivité des réponses aux compétitions monospécifiques. Chez ces génotypes, cela suggère que des conditions d'interactions avec plusieurs espèces peuvent fournir des processus de facilitation *via* des effets génétiques non observés dans des conditions d'interactions monospécifiques. De ce fait, bien que j'ai essentiellement évoqué le long de mon manuscrit des processus de compétition lorsque *A. thaliana* était en interaction avec d'autres espèces, d'autres types d'interactions plante-plante comme la facilitation ont pu être observés. Ce résultat souligne que, dans ce cas d'étude, on peut difficilement généraliser sur le sens des interactions et la hiérarchie mise en place entre plusieurs espèces au sein d'une communauté, comme celle associée à la population TOU-A. Les interactions plante-plante peuvent être intransitives et ressembler à un système "pierre-feuille-ciseaux". Bien que je n'ai pas connaissance de la variation génétique des populations des espèces compétitrices considérées dans mes études et

présentes dans la communauté TOU-A (tels que *Poa annua*, *Stellaria media* et *Veronica arvensis*), on peut supposer que la hiérarchie des populations de ces espèces compétitrices au sein de cette communauté est elle-aussi génotype dépendante. Je suppose aussi que cette notion d'interaction plante-plante, qui est génotype dépendante au sein de la population TOU-A, se rapproche des hypothèses de Turkington & Harper (1979) et Aarssen & Turkington (1985). En effet, ces auteurs suggèrent des phénomènes de co-adaptation et de co-évolution entre génotypes de différentes espèces dans ce type de communauté, de manière à maintenir un certain équilibre de celle-ci. De ce fait, une prochaine étape serait d'étudier la génétique des capacités compétitrices au sein de plusieurs espèces d'une même communauté. De plus, il serait intéressant d'échantillonner des génotypes de deux espèces retrouvées par paires au sein d'une même communauté et de montrer que chaque génotype d'une espèce a une performance plus importante en présence du génotype de l'autre espèce avec qui elle interagit au sein de cette communauté. Cela permettrait de valider l'hypothèse de coadaptation entre deux espèces au sein d'une communauté (Fig.19).

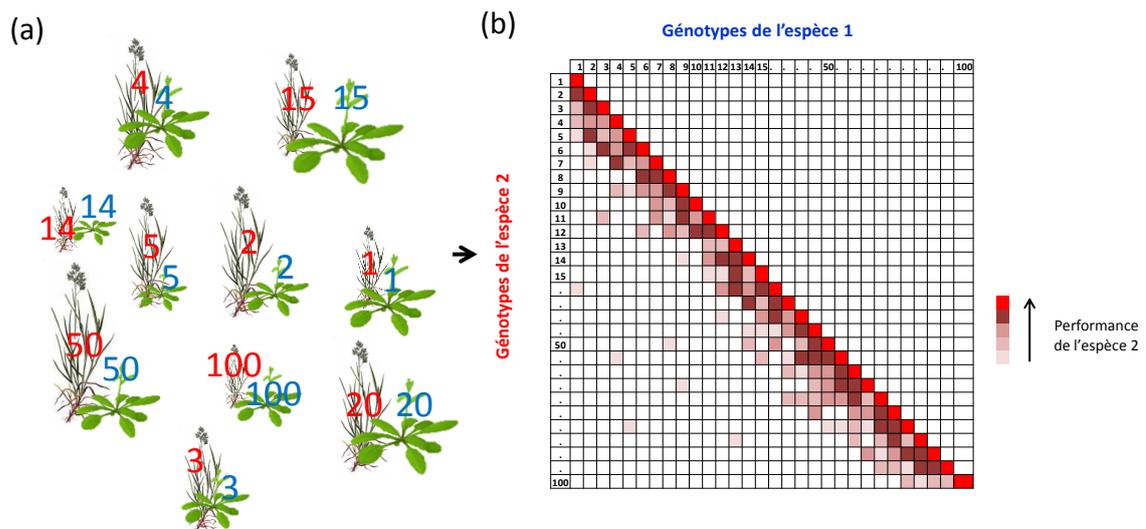


Figure 19. Co-adaptation entre deux espèces au sein d'une même communauté. (a) Première étape : collecter de nombreuses paires de génotypes ($n = 100$, espèce 1 en bleu et espèce 2 en rouge), (b) deuxième étape : tester si les génotypes de l'espèce 2 sont plus performants en présence des génotypes de l'espèce 1 échantillonnés à proximité (en inversement), puis troisième étape : séquencer les 100 génotypes de l'espèce 1 et les 100 génotypes de l'espèce 2, et identifier les bases génétiques de la co-adaptation par GWA mapping conjoint.

(ii) que dans le cadre d'interactions par paire, les conditions de compétition auxquelles est soumise une population-cible – telle la nature des espèces compétitrices mais aussi le décalage de germination d'une espèce compétitrice – permettent le maintien de la diversité fonctionnelle de cette population-cible. Ce constat démontre qu'au sein d'une

population-cible, la variation dans les interactions entre les accessions et les différentes espèces compétitrices facilitent l'expansion de niche induisant des processus de compétition intraspécifique plus limités au sein de la population-cible. En complément, ce phénomène d'expansion de niche associé à la compétition m'a de plus permis de montrer que plus un génotype était plastique dans sa réponse à la compétition, et plus celle-ci était susceptible de résister à l'arrivée d'une espèce invasive. Ceci se produit indépendamment des changements de conditions abiotiques comme la température, et de changements de conditions biotiques, comme l'assemblage et la richesse des communautés environnantes. Une population comme TOU-A posséderait donc un potentiel de réponse permettant son maintien vis-à-vis de changements de communautés associés aux changements globaux.

(iii) que l'approche du GWA mapping se présente comme une méthode puissante pour identifier des bases génétiques sous-jacentes à la variation naturelle associée aux interactions plante-plante à l'échelle d'une population. En effet, même si le GWA mapping ne permet certainement pas de détecter des allèles rares sous-jacents à certaines stratégies très spécifiques de réponse à la compétition, j'ai pu cartographier finement des QTLs majeurs liés à des mécanismes de réponse à la compétition, et ainsi proposé certains gènes candidats. Notamment, comme gènes candidats sous-jacents à trois QTLs en déséquilibre de liaison complet au début du chromosome 4, j'ai proposé des gènes codant pour la biosynthèse et la signalisation de brassinostéroïdes, hormones clés impliquées dans plusieurs voies moléculaires régissant entre autres les compromis croissance/défense chez les plantes. Le prochain objectif serait de valider fonctionnellement ces gènes, car actuellement, à ma connaissance, aucun gène associé à la variation naturelle de la réponse à la compétition chez les plantes n'a été cloné. Dans ces analyses, j'ai identifié des QTLs associés à la variation naturelle de la réponse à la compétition de la population TOU-A en mesurant à la fois des traits de phénologie, d'accumulation de biomasse, d'architecture, de stratégie de croissance et d'estimateur de valeur sélective. Cependant, il est parfois difficile de faire des liens directs entre la fonction moléculaire des gènes candidats sous-jacents à ces QTLs et les traits phénotypiques associés. Il serait donc intéressant de cibler des traits physiologiques sensibles à la présence d'espèces compétitrices afin de caractériser de manière plus spécifique les réponses à la compétition et ainsi identifier certaines bases génétiques impliquées dans des mécanismes physiologiques de compétition. Par exemple, des mesures de concentrations en hormones dans des organes-clés des interactions plante-plante, tels les racines ou les feuilles,

ou de composés allélopathiques dans le sol pourraient permettre d'affiner la description de l'architecture génétique caractérisant les interactions plante-plante.

Ces approches utilisées avec la population TOU-A durant cette thèse peuvent être discutées, car elles ont été effectuées dans des conditions de compétition contrôlées qui restent peu réalistes comparées aux conditions naturelles. En effet, il est reconnu que les interactions de compétition entre plantes sont dépendantes d'autres facteurs biotiques (comme les pathogènes), car ces derniers peuvent moduler les structures de communautés. Notamment, en affectant la croissance, la reproduction et la survie des plantes, les agents pathogènes peuvent faire varier les abondances relatives de plantes dans leur communauté et les interactions les affectant, par des phénomènes de stabilisation (favorisant la coexistence entre plantes) et de déstabilisation (favorisant l'exclusion et la dominance de plantes, Mordecai 2011). De plus, les interactions plante-plante sont aussi conditionnées par des facteurs abiotiques comme les conditions édaphiques. Par exemple, l'hypothèse "Stress-gradient" (*Stress Gradient Hypothesis*, SGH) suggère que la nature des interactions entre plantes sympatriques au sein d'une communauté peut évoluer entre la compétition et la facilitation, selon notamment la disponibilité en eau et éléments minéraux (Maestre *et al.* 2009). De ce fait, à l'endroit où a été échantillonnée la population TOU-A, une expérience de transplantation réciproque *in situ* entre trois types de sols a été effectuée en utilisant les 83 accessions échantillonnées en 2002, et les 115 accessions échantillonnées en 2010. Cette expérience pour laquelle j'ai participé à sa mise en place intègre non seulement l'étude de la réponse des 198 accessions à la compétition avec *Poa annua* (espèce dominante de la communauté TOU-A) et leurs effets sur cette espèce compétitrice, mais aussi les effets combinés à l'hétérogénéité du sol (en répliquant donc l'étude de ces interactions sur trois types de sols) et aux pathogènes (en évaluant le degré d'infection de chaque plante d'*A. thaliana*). Les données sont en cours d'analyse, et cette étude permettra notamment de tester si les bases génétiques associées à la capacité compétitrice d'*A. thaliana* en interaction avec *P. annua* dépendent des conditions édaphiques et/ou des attaques de pathogènes.

Afin de généraliser la génétique sous-jacente aux interactions plante-plante à l'échelle de l'espèce, il serait intéressant de réitérer les approches que j'ai adoptées durant ma thèse sur d'autres populations d'*A. thaliana*. Cependant, au sein de la population TOU-A, j'ai pu mettre en évidence que, dès que les conditions de compétition changent, les stratégies optimales de réponses et les bases génétiques impliquées dans ces réponses peuvent fortement varier. De ce fait, étant donné que les conditions biotiques et abiotiques changent d'une

population locale d'*A. thaliana* à une autre, je suppose que les stratégies optimales et les bases génétiques associées varient aussi d'une population à l'autre. Ainsi, la généralisation de la génétique associée à la capacité compétitrice d'*A. thaliana* n'est peut-être pas réalisable à l'échelle de l'espèce entière, du fait de sa sensibilité à un grain environnemental très fin lié aussi bien aux interactions plante-plante, comme décrit dans cette thèse, mais aussi à des facteurs abiotiques comme les conditions édaphiques (Villoutreix *et al.* manuscrit soumis).

A l'ère de technologies NGS, il est séduisant d'imaginer qu'on pourra peut-être bientôt identifier les bases génétiques de la co-adaptation entre deux espèces au sein d'une même communauté (Fig. 19). Des approches de GWA mapping conjoint entre les génomes de deux espèces sont en cours de développement au sein de l'équipe au niveau des interactions plante – pathogène, et peuvent être envisagées dans le cadre des interactions plante – plante afin d'identifier les gènes d'une espèce A en interaction avec les gènes d'une espèce B.

Un suivi de populations expérimentales in situ a permis de valider plusieurs hypothèses sur le rôle de dynamique adaptative de la compétition, en étudiant son impact démographique et la sélection génomique opérant au sein de ces populations.

Dans un contexte de compétition plurispécifique, intégrant une complexité d'interactions entre plantes qui est plus proche de la réalité écologique que mes études d'interactions par paire, j'ai démontré une évolution phénotypique rapide (en 8 générations) de la réponse à la compétition de la population TOU-A, grâce à une expérimentation dite "de résurrection". A l'issue de cette étude, j'ai supposé que l'évolution de la population TOU-A s'associait à une contre-sélection des aptitudes compétitrices d'*A. thaliana* vis-à-vis de *S. media* en réponse à une simplification structurale de sa communauté. Cela sous-entendait qu'au cours de l'évolution d'une population liée aux interactions biotiques de type plante-plante, il pouvait y avoir une sélection rapide de certains génotypes répondant de manière adaptée à des pressions de sélection liées à la compétition. Cette hypothèse a été validée dans un autre contexte, cette fois-ci *in natura* ; non pas sur la population TOU-A mais sur des populations expérimentales d'*A. thaliana* initiées à partir de graines obtenues d'un croisement entre deux accessions naturelles issues de milieux très contrastés au niveau de l'intensité de compétition. Dans cette étude combinant des suivis démographique, phénologique et génomique, j'ai démontré qu'au cours de l'installation d'une population dans un nouvel habitat, une forte sélection génomique s'observait dès la première génération et ce dès le stade

germination. La compétition interspécifique étant peu intense au début de l'expérience, les principales pressions de sélection durant cette première génération ont été certainement liées aux conditions abiotiques comme le sol ou le climat, entraînant une sélection en faveur du génome de l'accession parentale dont l'habitat d'origine était certainement le plus proche au niveau abiotique du site expérimental de Wimereux. Ensuite, au cours de la seconde génération durant laquelle la compétition interspécifique s'est développée suite à l'installation progressive d'espèces au sein des populations expérimentales, j'ai pu constater que cette compétition interspécifique pouvait constituer une pression de sélection importante pour l'évolution des populations (i) en augmentant la probabilité de chutes démographiques, et (ii) en causant une sélection importante d'allèles venant cette fois-ci de l'accession parentale issue d'un habitat très compétitif. Notamment, en soumettant des populations expérimentales à deux intensités de compétition interspécifique, j'ai pu observer que plus la compétition était intense, plus la sélection était rapide, et plus les régions génomiques sélectionnées provenaient de l'accession parentale issue d'un habitat très compétitif. De ce fait, j'ai démontré que la compétition était bien un processus sous-jacent à une dynamique évolutive d'une population-cible, car elle peut conditionner la sélection exercée sur cette population et affecter sa trajectoire évolutive. Dans le cadre de l'évolution de la population TOU-A caractérisée par une contre-sélection des aptitudes compétitrices d'*A. thaliana* vis-à-vis de *S. media*, on peut donc imaginer que la pression de sélection exercée par la compétition au cours de l'évolution de la communauté de TOU-A a favorisé les génotypes présentant des allèles codant pour des mécanismes associés à la réponse à la compétition envers des espèces maintenues dans la communauté, comme *P. annua* et *V. arvensis*, plutôt que des génotypes présentant des allèles codant pour des mécanismes associés à la réponse envers *S. media*, qui a disparu au cours de l'évolution de la communauté.

De plus, en démontrant au cours de ce suivi de sélection génomique au sein de populations expérimentales, que la proportion de régions génomiques sous sélection était plus importante en milieu plus compétitif (où la complexité des réseaux d'interactions plante-plante est plus importante) qu'en milieu moins compétitif (où les réseaux d'interactions sont réduits), j'ai pu confirmer une autre hypothèse émise à l'issue des études sur la compétition plurispécifique. Cette hypothèse supposait que plus une population était soumise à une communauté complexe (présentant un grand nombre d'espèces compétitrices et de plus grands réseaux d'interactions), plus l'architecture génétique impliquée dans la réponse de cette population serait complexe.

Cette étude en conditions naturelles montre clairement en quoi la compétition peut influencer la direction et le rythme de changements évolutifs d'une population. Elle opère comme une dynamique éco-évolutive en affectant à la fois sa génétique, sa démographie et son espace phénotypique dans le temps et dans l'espace. A l'heure où des approches pluridisciplinaires comme la génomique des communautés permettent d'intégrer et de lier ces différents échelles de variation, allant de l'individu à l'écosystème, il apparaît intéressant d'essayer d'appliquer le type d'expériences utilisées durant ma thèse non pas à l'échelle d'une population d'une espèce, mais à l'échelle d'une communauté. Notamment, étant donné que les technologies NGS sont en pleine expansion et que de plus en plus de génomes d'espèces végétales sont séquencées, la continuité de ce type de travaux serait de se focaliser sur d'autres espèces associées à *A. thaliana*. Ce pourrait être un chemin ouvrant un champ des possibles vers l'explication de mécanismes d'écologie des communautés qui restent encore à démontrer, comme les phénomènes de co-évolution entre espèces végétales, et ainsi tendre vers la génomique écologique de l'adaptation des communautés végétales.

Bibliographie

- Aarssen, L.W. (1989) Competitive ability and species coexistence: a 'plant's-eye' view. *Oikos*, **56**, 386-401.
- Aarssen, L.W. & Turkington, R. (1985) Biotic specialization between neighboring genotypes in *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a permanent pasture. *Journal of Ecology*, **73**, 605–614.
- Ackerly, D. (2004) Adaptation, Niche Conservatism, and Convergence: Comparative Studies of Leaf Evolution in the California Chaparral. *The American Naturalist*, **163**, 654-671.
- Ackerly, D. (2003) Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences*, **164**, S165-S184.
- Agashe, D. & Bolnick, D.I. (2010) Intraspecific genetic variation and competition interact to influence niche expansion. *Proceedings of the Royal Society B*, **277**, 2915-2924.
- Aguilera, A.G., Colón-Carmona, A., Kesseli, R. & Dukes, J.S. (2011) No accession-specific effect of rhizosphere soil communities on the growth and competition of *Arabidopsis thaliana* accessions. *PloS one*, **6**, e27585.
- Albert, C.H., Thuiller, W., Yoccoz, N.G., Douzet, R., Aubert, S. & Lavorel, S. (2010) A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology*, **24**, 1192-1201.
- Alonso, J.M. & Ecker, J.R. (2006) Moving forward in reverse: genetic technologies to enable genome-wide phenomic screens in *Arabidopsis*. *Nature Reviews Genetics*, **7**, 524–536.
- Al-Shehbaz, I.A. & O'Kane Jr, S.L. (2002) Taxonomy and phylogeny of *Arabidopsis* (Brassicaceae) The *Arabidopsis* book/American Society of Plant Biologists, 1.
- Alwerdt, J.L., Gibson, D.J., Ebbs, S.D. & Wood, A.J. (2006) Intraspecific interactions in *Arabidopsis thaliana* and the stomatal mutants *tmm1-1* and *sdd1-2*. *Biologia plantarum*, **50**, 205-209.
- Anastasio, A.E., Platt, A., Horton, M., Grotewold, E., Scholl, R., Borevitz, J.O., Nordborg, M. & Bergelson, J. (2011) Source verification of mis-identified *Arabidopsis thaliana* accessions. *The Plant Journal*, **67**, 554-566.

- Andalo, C., Goldringer, I. & Godelle, B. (2001) Inter-and intragenotypic competition under elevated carbon dioxide in *Arabidopsis thaliana*. *Ecology*, **82**, 157-164.
- Arabidopsis* Genome Initiative. (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, **408**, 796-815.
- Atwell, S., Huang, Y.S., Vilhjalmsson, B.J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A.M., Hu, T.T., Jiang, R., Mulyati, N.W., Zhang, X., Amer, M.A., Baxter, I., Brachi, B., Chory J., Dean, C., Debieu, M., de Meaux, J., Ecker, J.R., Faure, N., Kniskern, J.M., Jones, J.D.G., Michael, T., Nemri, A., Roux, F., Salt, D.E., Tang, C., Todesco, M., Traw, M.B., Weigel, D., Marjoram, P., Borevitz, J.O., Bergelson, J. & Nordborg, M. (2010) Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, **465**, 627-631.
- Bachelet, D., Neilson, R.P., Lenihan, J.M. & Drapek, R.J. (2001) Climate change effects on vegetation distribution and carbon budget in the United States. *Ecosystems*, **4**, 164-185.
- Badri, D.V., De la Peña, C., Lei, Z., Manter, D.K., Chaparro, J.M., Guimarñes, R.L., Sumner, L.W. & Vivanco, J.M. (2012) Root secreted metabolites and proteins are involved in the early events of plant-plant recognition prior to competition. *PLoS One*, **7**, e46640.
- Bailey, J.K., Genung, M.A., Ware, I., Gorman, C., Van Nuland, M.E., Long, H. & Schweitzer, J.A. (2014) Indirect genetic effects: an evolutionary mechanism linking feedbacks, genotypic diversity and coadaptation in a climate change context. *Functional Ecology*, **28**, 87-95.
- Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Ubeda, F., Zinkgraf, M., Fitzpatrick, B.M., O'Reilly-Wapstra, J., Genung M.A., Pregitzer, C.G., Whitham, T.G., Keith, A., Potts, B.M., Rehill, B.J., Leroy, C.J. & Fischer, D.G. (2012) From genes to ecosystems: emerging concepts bridging ecological and evolutionary dynamics. *Ecological Reviews*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Ubeda, F., Koricheva, J., LeRoy, C.J., Madritch, M.D., Rehill, B. J., bangert, R. K., Fischer, D. G., Allan, G., J. & Whitham, T. G. (2009) From genes to ecosystems: a synthesis of the effects of plant genetic factors across levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **364**, 1607-1616.

- Baldwin, A.H., Jensen, K. & Schönfeldt, M. (2014) Warming increases plant biomass and reduces diversity across continents, latitudes, and species migration scenarios in experimental wetland communities. *Global change biology*, **20**, 835-850.
- Bartelheimer, M., Schmid, C., Storf, J., Hell, K. & Bauer, S. (2015) Interspecific Competition in *Arabidopsis thaliana*: A Knowledge Gap Is Starting to Close. In *Progress in Botany* (pp. 303-319) Springer International Publishing.
- Bergelson, J. & Roux, F. (2010) Towards identifying genes underlying ecologically relevant traits in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Review Genetics*, **11**, 867-879.
- Biedrzycki, M.L., Jilany, T.A., Dudley, S.A. & Bais, H.P. (2010) Root exudates mediate kin recognition in plants. *Communicative & Integrative Biology*, **3**, 28–35.
- Biedrzycki, M.L., Venkatachalam, L. & Bais, H.P. (2011) Transcriptome analysis of *Arabidopsis thaliana* plants in response to kin and stranger recognition. *Plant signaling & behavior*, **6**, 1515–1524.
- Biedrzycki, M.L., Lakshmanan, V. & Bais, H.P. (2011) The role of ABC transporters in kin recognition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant signaling & behavior*, **6**, 1154-1161.
- Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araujo, M.S., Bürger, R., Levine, K.M., Novak, M., Rudolf, V.H.W., Schreiber, S., Urban, M.C. & Vasseur, D. (2011) Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **26**, 183-192.
- Bolnick, D.I., Svanbäck, R., Fordyce, J., Yang, L.H., Davis, J.M., Hulsey, C.D. & Forister, M.L. (2003) The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist* **161**, 1-28.
- Bomblies, K., Yant, L., Laitinen, R.A., Kim, S.T., Hollister, J.D., Warthmann, N., Fitz, J. & Weigel, D. (2010) Local-scale patterns of genetic variability, outcrossing, and spatial structure in natural stands of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS genetics*, **6**, e1000890.
- Bonser, S.P. & Ladd, B. (2011) The evolution of competitive strategies in annual plants. *Plant Ecology*, **212**, 1441–1449.
- Booth, R.E. & Grime, J.P. (2003) Effects of genetic impoverishment on plant community diversity. *Journal of Ecology*, **91**, 721-730.

- Bossdorf, O., Shuja, Z. & Banta, A. (2009) Genotype and maternal environment affect belowground interactions between *Arabidopsis thaliana* and its competitors. *Oikos*, **118**, 1541-1551.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Nautekèete, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. & Roux, F. (2013) Investigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **22**, 4223-4240.
- Brachi, B., Aimé, C., Glorieux, C., Cuguen, J. & Roux, F. (2012) Adaptive value of phenological traits in stressful environments: predictions based on seed production and laboratory natural selection. *PLoS One*, **7**, e32069.
- Brachi, B., Faure, N., Horton, M., Flahauw, E., Vazquez, A., Nordborg, M., Bergelson, J., Cuguen, J. & Roux F. (2010) Linkage and association mapping of *Arabidopsis thaliana* flowering time in nature. *PLoS Genetics*, **6**, e1000940.
- Brooker, R.W., Callaway, R.M., Cavieres, L.A., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Michalet, R., Pugnaire, F.I., Valiente-Banuet, A. & Whitham, T.G. (2009) Don't diss integration: a comment on Ricklefs's disintegrating communities. *The American Naturalist*, **174**, 919–927.
- Caffaro, M.M., Vivanco, J.M., Botto, J. & Rubio, G. (2013) Root architecture of *Arabidopsis* is affected by competition with neighbouring plants. *Plant Growth Regulation*, **70**, 141–147.
- Cahill, J.F., Kembel, S.W. & Gustafson, D.J. (2005) Differential genetic influences on competitive effect and response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology*, **93**, 958-967.
- Callaway, R.M. & Pennings, S.C. (2000) Facilitation may buffer competitive effects: indirect and diffuse interactions among salt marsh plants. *The American Naturalist*, **156**, 416-424.
- Chesson, P. (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annuals Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **31**, 343–66.

- Cipollini, D.F. (2002) Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. *Oecologia*, **131**, 514-520.
- Clark, J.S., LaDeau, S. & Ibanez, I. (2004) Fecundity of trees and the colonization-competition hypothesis. *Ecological Monographs*, **74**, 415-442.
- Courbaud, B., Vieilledent, G. & Kunstler, G. (2012) Intra-specific variability and the competition–colonisation trade-off: coexistence, abundance and stability patterns. *Theoretical Ecology*, **5**, 61-71.
- Crutsinger, G.M., Souza, L. & Sanders, N.J. (2008) Intraspecific diversity and dominant genotypes resist plant invasions. *Ecology Letters*, **11**, 16-23.
- Crutsinger, G.M., Collins, M.D., Fordyce, J.A., Gompert, Z., Nice, C.C. & Sanders, N.J. (2006) Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, **313**, 966-968.
- Dorn, L.A., Pyle, E.H. & Schmitt, J. (2000) Plasticity to light cues and resources in *Arabidopsis thaliana*: testing for adaptive value and costs. *Evolution*, **54**, 1982-1994.
- Dudley, S.A., Murphy, G.P. & File, A.L. (2013) Kin recognition and competition in plants. *Functional Ecology*, **27**, 898-906.
- Dudley, S.A. & Schmitt, J. (1996) Testing the adaptive plasticity hypothesis: density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *American Naturalist*, **147**, 445-465.
- Ehlers, B.K. & Thompson, J. (2004) Do co-occurring plant species adapt to one another? The response of *Bromus erectus* to the presence of different *Thymus vulgaris* chemotypes. *Oecologia*, **141**, 511-518.
- Falahati-Anbaran, M., Lundemo, S. & Stenøien H.K. (2014) Seed dispersal in time can counteract the effect of gene flow between natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, **202**, 1043-1053.
- Fetene, M. (2003) Intra- and inter-specific competition between seedlings of *Acacia etbaica* and a perennial grass (*Hyparrhenia hirta*). *Journal of Arid Environments*, **55**, 441-451.

- Franks, S.J., Weber, J.J. & Aitken, S.N. (2014) Evolutionary and plastic responses to climate change in terrestrial plant populations. *Evolutionary Applications*, **7**, 123-139.
- Franks, S.J. & Weis, A.E. (2008) A change in climate causes rapid evolution of multiple life-history traits and their interactions in an annual plant. *Journal of Evolutionary Biology*, **21**, 1321-1334.
- Fridley, J.D. & Grime, J.P. (2010) Community and ecosystem effects of intraspecific genetic diversity in grassland microcosms of varying species diversity. *Ecology*, **91**, 2272-2283.
- Fridley, J.D., Grime, J.P. & Bilton, M. (2007) Genetic identity of interspecific neighbours mediates plant responses to competition and environmental variation in a species-rich grassland. *Journal of Ecology*, **95**, 908-915.
- Gaut, B. (2012) *Arabidopsis thaliana* as a model for the genetics of local adaptation. *Nature genetics*, **44**, 115-116.
- Geisler, M., Gibson, D.J., Lindsey, K.J., Millar, K. & Andrew, J. (2012) Upregulation of Photosynthesis Genes, and Down-regulation of Stress Defense Genes, is the Response of *Arabidopsis thaliana* Shoots to Intraspecific Competition. *Botanical Studies*, **53**, 85-96.
- Genung, M.A., Bailey, J.K. & Schweitzer, J.A. (2012) Welcome to the neighbourhood: interspecific genotype by genotype interactions in *Solidago* influence above-and belowground biomass and associated communities. *Ecology letters*, **15**, 65-73.
- Genung, M.A., Schweitzer, J.A., Ubeda, F., Fitzpatrick, B.M., Pregitzer, C.C., Felker-Quinn, E. & Bailey, J.K. (2011) Genetic variation and community change—selection, evolution, and feedbacks. *Functional Ecology*, **25**, 408-419.
- Gidman, E., Goodacre, R., Emmett, B., Smith, A.R. & Gwynn-Jones, D. (2003) Investigating plant-plant interference by metabolic fingerprinting. *Phytochemistry*, **63**, 705–710.
- Golberg, D.E. & Barton, A.M. (1992) Patterns and consequences of interspecific competition in natural communities: a review of field experiments with plants. *American Naturalist*, **139**, 771-801.
- Grime, J.P. (2007) Plant strategy theories: a comment on Craine (2005) *Journal of Ecology*, **95**, 227-230.

- Hendry, A.P. (2013) Key questions in the genetics and genomics of eco-evolutionary dynamics. *Heredity*, **111**, 456-466.
- Hersch-Green, E.I., Turley, N.E. & Johnson, M.T.J. (2011) Community genetics: what have we accomplished and where should we be going? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **366**, 1453-1460.
- Horton, M.W., Hancock, A.M., Huang, Y.S., Toomajian, C., Atwell, S., Auton, A., Mulyati, N.W., Platt, A., Sperone, F.G., Vilhjalmsson, B.J., Nordborg, M., Borevitz, J.O. & Bergelson, J. (2012) Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel. *Nature Genetics*, **44**, 212-216.
- Hovick, S.M., Gümüser, E.D. & Whitney, K.D. (2012) Community dominance patterns, not colonizer genetic diversity, drive colonization success in a test using grassland species. *Plant Ecology*, **213**, 1365–1380.
- Huard-Chauveau, C., Perchepped, L., Debieu, M., Rivas, S., Kroj, T., Kars, I., Bergelson, J., Roux, F. & Roby, D. (2013) An atypical kinase under balancing selection confers broad-spectrum disease resistance in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, **9**, e1003766.
- Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008) Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, **11**, 609-623.
- Johansson, J. (2008) Evolutionary responses to environmental changes: how does competition affect adaptation. *Evolution*, **62**, 421-435.
- Johnson, M.T.J., Lajeunesse, M.J. & Agrawal, A.A. (2006) Additive and interactive effects of plant genotypic diversity on arthropod communities and plant fitness. *Ecology Letters*, **9**, 24-34.
- Joshi, J., Schmid, B., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Good, J., Harris, R., Hector, A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Minns, A., Mulder, C.P.H., Pereira, J.S., Prinz, A., Scherer-Lorenzen, M., Siamantziouras, A.S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y. & Lawton, J.H. (2001) Local adaptation enhances performance of common plant species. *Ecology Letters*, **4**, 536-544.
- Kelley, S.E. & Clay, K. (1987) Interspecific competitive interactions and the maintenance of genotypic variation within two perennial grasses. *Evolution*, **41**, 92-10.

- Kronholm, I., Picó, F.X., Alonso-Blanco, C., Goudet, J. & Meaux, J.D. (2012) Genetic basis of adaptation in *Arabidopsis thaliana*: local adaptation at the seed dormancy QTL DOG1. *Evolution*, **66**, 2287-2302.
- Krouk, G., Lacombe, B., Bielach, A., Perrine-Walker, F., Malinska, K., Mounier, E., Hoyerova, K., Tillard, P., Leon, S., Ljung, K., Zazimalova, E., Benkova, E., Nacry, P. & Gojon, A. (2010) Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Developmental cell*, **18**, 927-937.
- Lande, R. & Arnold, S.J. (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, **6**, 1210-1226.
- Lankau, R.A. (2009) Genetic Variation Promotes Long-Term Coexistence of *Brassica nigra* and Its Competitors. *The American Naturalist*, **174**, E40-E53.
- Lankau, R.A. & Strauss, S.Y. (2007) Mutual feedbacks maintain both genetic and species diversity in a plant community. *Science*, **317**, 1561-1563.
- Lau, J.A., Shaw, R.G., Reich, P.B. & Tiffin, P. (2010) Species interactions in a changing environment: elevated CO₂ alters the ecological and potential evolutionary consequences of competition. *Evolutionary Ecology Research*, **12**, 435-455.
- Lavorel, S., Grigulis, K., McIntyre, S., Williams, N. S. G., Garden, D., Dorrough, J., Berman, S., Quétier, F., Thébault, A. & Bonis, A. (2008) Assessing functional diversity in the field – methodology matters! *Functional Ecology*, **22**, 134-147.
- Le Corre, V. (2005) Variation at two flowering time genes within and among populations of *Arabidopsis thaliana*: comparison with markers and traits. *Molecular Ecology*, **14**, 4181-4192.
- Leger, E.A. (2008) The adaptive value of remnant native plants in invaded communities: an example from the Great Basin. *Ecological Applications*, **18**, 1226-1235.
- Levene, H. (1953) Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. *American Naturalist*, **87**, 331-333.
- Liancourt, P., Spence, L.A., Song, D.S., Lkhagva, A., Sharkhuu, A., Boldgiv, B., Helliker, B. R., Petraitis, P.S. & Casper, B.B. (2013) Plant response to climate change varies with topography, interactions with neighbors, and ecotype. *Ecology*, **94**, 444-453.

- Lichstein, J.W., Dushoff, J., Levin, S.A. & Pacala, S.W. (2007) Intraspecific variation and species coexistence. *The American Naturalist*, **170**, 807-818.
- Lundemo, S., Falahati-Anbaran, M. & Stenøien, H.K. (2009) Seed banks cause elevated generation times and effective population sizes of *Arabidopsis thaliana* in northern Europe. *Molecular Ecology*, **18**, 2798-2811.
- Lüscher, A., Connolly, J. & Jacquard, P. (1992) Neighbor specificity between *Lolium perenne* and *Trifolium repens* from a natural pasture. *Oecologia*, **91**, 404-409.
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F. & Lortie, C.J. (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology*, **97**, 199-205.
- Manolio, T.A., Collins, F.S., Cox, N.J., Goldstein, D.B., Hindorff, L.A., Hunter, D.J., McCarthy M.I., Ramos E.M., Cardon L.R., Chakravarti A., Cho J.H., Guttmacher A.E., Kong A., Kruglyak L., Mardis E., Rotimi C.N., Slatkin M., Valle D., Whittemore A.S., Boehnke M., Clark A.G., Eichler E.E., Gibson G., Haines J.L., Mackay T.F., McCarroll S.A. & Visscher, P.M. (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, **461**, 747-753.
- Masclaux, F.G., Bruessow, F., Schweizer, F., Gouhier-Darimont, C., Keller, L. & Reymond, P. (2012) Transcriptome analysis of intraspecific competition in *Arabidopsis thaliana* reveals organ-specific signatures related to nutrient acquisition and general stress response pathways. *BMC plant biology*, **12**, 227.
- Masclaux, F., Hammond, R.L., Meunier, J., Gouhier-Darimont, C., Keller, L. & Reymond, P. (2010) Competitive ability not kinship affects growth of *Arabidopsis thaliana* accessions. *New Phytologist*, **185**, 322-331.
- Matesanz, S., Gimeno, T.E., de la Cruz, M., Escudero, A. & Valladares, F. (2011) Competition may explain the fine-scale spatial patterns and genetic structure of two co-occurring plant congeners. *Journal of Ecology*, **99**, 838-848.
- Mazancourt, C., Johnson, E. & Barraclough, T.G. (2008) Biodiversity inhibits species' evolutionary responses to changing environments. *Ecology Letters*, **11**, 380-388.

- Mercer, K.L., Alexander, H.M. & Snow, A.A. (2011) Selection on seedling emergence timing and size in an annual plant, *Helianthus annuus* (common sunflower, Asteraceae) *American journal of botany*, **98**, 975-985.
- Messier, J., McGill, B.J. & Lechowicz, M.J. (2010) How do traits vary across ecological scales? A case for trait-based ecology. *Ecology Letters*, **13**, 838-848.
- Mitchell-Olds, T. & Schmitt, J. (2006) Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. *Nature*, **441**, 947-952.
- Mordecai, E.A. (2011) Pathogen impacts on plant communities: unifying theory, concepts, and empirical work. *Ecological Monographs*, **81**, 429-441.
- Mouchel, C.F., Briggs, G.C. & Hardtke, C.S. (2004) Natural genetic variation in *Arabidopsis* identifies *BREVIS RADIX*, a novel regulator of cell proliferation and elongation in the root. *Genes & development*, **18**, 700-714.
- Müller, B. & Bartelheimer, M. (2013) Interspecific competition in *Arabidopsis thaliana*: root hairs are important for competitive effect, but not for competitive response. *Plant Soil*, **371**, 167–177.
- Nemri, A., Atwell, S., Tarone, A., Huang, Y., Zhao, K., Studholme, D., Nordborg M. & Jones, J. (2010) Genome-wide survey of *Arabidopsis* natural variation in downy mildew resistance using combined association and linkage mapping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 10302-10307.
- Novoplansky, A. (2009) Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant, Cell and Environment*, **32**, 726-741.
- Novoplansky, A., Cohen, D. & Sachs, T. (1990) How portulaca seedlings avoid their neighbours. *Oecologia*, **82**, 490-493.
- Novoplansky, A. & Goldberg, D. (2001) Interactions between neighbour environments and drought resistance. *Journal of Arid Environments*, **47**, 11-32.
- O'Malley, R.C. & Ecker, J.R. (2010) Linking genotype to phenotype using the *Arabidopsis* unimutant collection. *The Plant Journal*, **61**, 928-940.

- Pagny, G., Paulstephenraj, P.S., Poque, S., Sicard, O., Cosson, P., Eyquard, J.P., Caballero, M., Chague, A., Gourdon, G., Negrel, L., Candresse, T., Mariette, S. & Decroocq, V. (2012) Family-based linkage and association mapping reveals novel genes affecting Plum pox virus infection in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, **196**, 873-886.
- Paine, C.E.T., Baraloto, C., Chave, J. & Hérault, B. (2011) Functional traits of individual trees reveal ecological constraints on community assembly in tropical rain forests. *Oikos*, **120**, 720-727.
- Pedersen, H.A., Kudsk, P., Fiehn, O. & Fomsgaard, I.S. (2013) The response of *Arabidopsis* to co-cultivation with clover investigating plant-plant interactions with metabolomics. In: Beck, J.J., Coats, R.J., Duke, S.O. & Koivunen, M.E. (eds) Pest management with natural products. *American Chemical Society*, Washington, DC, pp 189–201.
- Pelletier, F., Garant, D., & Hendry, A.P. (2009) Eco-evolutionary dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **364**, 1483-1489.
- Pierik, R., Mommer, L. & Voesenek, L.A.C.J. (2013) Molecular mechanisms of plant competition neighbour detection and response strategies. *Functional Ecology*, **27**, 841-853.
- Platt, A., Horton, M., Huang, Y.S., Li, Y., Anastasio, A.E., Mulyati, N.W., Ågren, J., Bossdorf, O., Byers, D., Donohue, K., Dunning, M., Holub, E.B., Hudson, A., Le Corre, V., Loudet, O., Roux, F., Warthmann, N., Weigel, D., Rivero, L., Scholl, R., Nordborg, M., Bergelson, J. & Borevitz, J.O. (2010) The scale of population structure in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **6**, e1000843.
- Post, D.M. & Palkovacs, E.P. (2009) Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.
- Purves, D.W. & Law, R. (2002) Fine-scale spatial structure in a grassland community: quantifying the plant's-eye view. *Journal of Ecology*, **90**, 121-129.
- Rausher, M.D. (1992) The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, **46**, 616-626.

- Ricklefs, R.E. (2009) A brief response to Brooker et al.'s comment. *The American Naturalist*, **174**, 928–931.
- Rudrappa T., Bonsall J., Gallagher J.L., Seliskar D.M. & Bais H.P. (2007) Root-secreted allelochemicals in the noxious weed *Phragmites australis* deploys a reactive oxygen species response and microtubule assembly disruption to execute rhizotoxicity. *Journal of Chemical Ecology*, **33**, 1898–1918.
- Schmid C., Bauer S., Müller B. & Bartelheimer M. (2013) Belowground neighbor perception in *Arabidopsis thaliana* studied by transcriptome analysis: roots of *Hieracium pilosella* cause biotic stress. *Frontiers in Plant Science*, **4**, 296.
- Schmidt, D.D. & Baldwin, I.T. (2006) Transcriptional responses of *Solanum nigrum* to methyl jasmonate and competition: a glasshouse and field study. *Functional Ecology*, **20**, 500-508.
- Schweitzer, J.A., Bailey, J.K., Rehill, B.J., Martinsen, G.D., Hart, S.C., Lindroth, R.L., Keim, P. & Whitham, T.G. (2004) Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes. *Ecology Letters*, **7**, 127-134.
- Shindo, C., Bernasconi, G., & Hardtke, C.S. (2008) Intraspecific competition reveals conditional fitness effects of single gene polymorphism at the *Arabidopsis* root growth regulator BRX. *New Phytologist*, **180**, 71-80.
- Shindo, C., Bernasconi, G. & Hardtke, C. S. (2007) Natural genetic variation in *Arabidopsis*: tools, traits and prospects for evolutionary ecology. *Annals of botany*, **99**, 1043-1054.
- Taylor, D.R. & Aarssen L.W., (1990) Complex competitive relationships among genotypes of three perennial grasses: Implications for species coexistence. *American Naturalist*, **136**, 305-327.
- Thompson, K. (2000) The functional ecology of soil seed banks. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, 2th edn, 215-235.
- Thompson, R.M., Beardall, J., Beringer, J., Grace, M. & Sardina, P. (2013) Means and extremes: building variability into community-level climate change experiments. *Ecology letters*, **16**, 799-806.

- Thorpe, A.S., Aschehoug, E.T., Atwater, D.Z. & Callaway, R.M. (2011) Interactions among plants and evolution. *Journal of Ecology*, **99**, 729-740.
- Tilman, D. (1985) The resource ratio hypothesis of succession. *American Naturalist*, **125**, 827-852.
- Tomita-Yokotani, K., Kato, T., Masud Parvez, M., Mori, Y., Goto, N. & Hasegawa, K. (2003) Approach of allelopathy study with *Arabidopsis thaliana* (L.) Hevnh. and *Neurospora crassa*. *Weed Biology Management*, **3**, 93–97.
- Turkington, R. & Harper, J.L. (1979) The Growth, Distribution and Neighbour Relationships of *Trifolium repens* in a Permanent Pasture: IV. Fine-scale biotic differentiation. *Journal of Ecology*, **67**, 245-254.
- Valiente-Banuet, A., Rumebe, A.V., Verdú, M. & Callaway, R.M. (2006) Modern Quaternary plant lineages promote diversity through facilitation of ancient Tertiary lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 16812-16817.
- Vavrek, M.C. (1998) Within-population genetic diversity of *Taraxacum officinale* Asteraceae: differential genotype response and effect on interspecific competition. *American Journal of Botany*, **85**, 947-954.
- Vellend, M. (2006) The consequences of genetic diversity in competitive communities. *Ecology*, **87**, 304–311.
- Villoutreix, R., Le Corre, V., Baron, E., Amsellem, L. & Roux, F. Rapid phenotypic evolution and fine-grained spatial heterogeneity in a natural population of *Arabidopsis thaliana*: a resurrection study. *Re-submitted to Journal of Evolutionary Biology*.
- Violle, C., Enquist, B.J., McGill, B.J., Jiang, L., Albert, C.H., Hulshof, C., Jung, V. & Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 244-252.
- Weigel, D., & Nordborg, M. (2005) Natural variation in *Arabidopsis*. How do we find the causal genes? *Plant physiology*, **138**, 567-568.
- Weinig, C., Johnston, J.A., Willis, C.G. & Maloof, J.N. (2007) Antagonistic multilevel selection on size and architecture in variable density settings. *Evolution*, **61**, 58-67.

- Wender, N.J., Polisetty, C.R. & Donohue, K. (2005) Density dependent processes influencing the evolutionary dynamics of dispersal: a functional analysis of seed dispersal in *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany*, **92**, 960–971.
- Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., Lonsdorf E.V., Allan, J.A., DiFazio, S.P., Potts, B.M., Fischer, D.G., Gehring, C.A., Lindroth, R.L., Marks, J.C., Hart, S.C., Wimp, G.M. & Wooley, S.C. (2006) A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature Reviews Genetics*, **7**, 510-523.
- Whitham, T.G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gehring, C.A., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Wimp, G.M., Fischer, D.G, Bailey, J.K., Lindroth, R.L., Wollbright, S. & Kuske, C.R. (2003) Community and ecosystem genetics: a consequence of the extended phenotype. *Ecology*, **84**, 559-573.
- Whitlock, R.A.J., Grime, J.P., Rosemary, B. & Burke, T. (2007) The role of genotypic diversity in determining grassland community structure under constant environmental conditions. *Journal of Ecology*, **95**, 895-907.
- Willis, C.G., Brock, M.T. & Weinig, C. (2010) Genetic variation in tolerance of competition and neighbour suppression in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the Royal Society B*, **364**, 1629-1640.
- Wilson, J.B., Peet, R.K., Dengler, J. & Pärtel, M. (2012) Plant species richness: the world records. *Journal of Vegetation Science*, **23**, 796-802.
- Wolf, J.B. & Mutic, J.J. (2007) Indirect genetic effects from ecological interactions in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, **16**, 2371-2381.

Génomique écologique de la réponse à la compétition chez *Arabidopsis thaliana*

La compétition est considérée comme un des facteurs majeurs responsable de la structure, de la diversité et de la dynamique des communautés végétales. Cependant, la génétique sous-jacente à cette dynamique éco-évolutive locale affectant des processus allant jusqu'à une échelle écosystémique est encore peu connue. Notamment, à l'échelle d'une population, la variation génétique naturelle de la réponse à différentes conditions de compétition, l'identité des traits phénotypiques sous sélection génotypique et des bases génétiques impliquées dans la réponse à la compétition sont mal compris. Par une approche de génomique écologique ciblant l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*, l'objectif principal de cette thèse est de caractériser la génétique associée à la capacité compétitrice à une échelle locale selon une complexité d'interactions avec des espèces compétitrices progressive. Dans un premier chapitre se focalisant sur la compétition monospécifique, j'ai montré que l'identité du compétiteur et le décalage de sa germination permettaient un maintien de diversité génétique et fonctionnelle par des phénomènes de spécialisation biotique au sein de la population-cible. Par une approche de *Genome Wide Association (GWA) mapping*, j'ai identifié différents QTLs de réponse à la compétition selon les conditions de compétition monospécifique. J'ai par la suite proposé plusieurs gènes candidats sous-jacents à ces QTLs. Dans un second chapitre, j'ai démontré que le contexte d'interactions plurispécifiques variant notamment selon l'assemblage et la richesse des communautés modifiait fortement la réponse à la compétition d'une population locale. De plus, j'ai pu montrer par une approche de résurrection que la réponse à la compétition d'une population locale pouvait évoluer en moins de huit générations, probablement en lien avec des changements de composition spécifique au sein de la communauté. Dans un troisième chapitre se focalisant sur des suivis démographiques, phénologiques et génomiques de populations expérimentales soumises à des conditions de compétition naturelle, j'ai démontré que la dynamique adaptative d'*A. thaliana* pouvait être fortement influencée par l'intensité de la compétition. Ces travaux s'inscrivent dans la lignée d'approches pluridisciplinaires, qui ont pour but d'expliquer des mécanismes éco-évolutifs en partant des gènes jusqu'aux fonctionnements des communautés *via* les interactions plante-plante.

Mots-clés : génomique écologique, interactions plante-plante, compétition, échelle locale, variation naturelle, gradients de sélection génotypique, bases génétiques, *GWA mapping*, *Arabidopsis thaliana*.

Ecological genomics of response to competition in *Arabidopsis thaliana*

Competition is considered as a major factor responsible for plant communities' structure, diversity and dynamics. However, the genetics underlying this local eco-evolutionary dynamics which affects processes up to the ecosystem scale remains poorly understood. Notably, at the population scale, the natural genetic variation of response to different competition conditions, the identity of phenotypic traits under genotypic selection and of genetic basis implied in the response to competition still need to be addressed. By an ecological genomics approach using the model species *Arabidopsis thaliana*, the main goal of this thesis is to characterize the genetics related to the competitive ability at a local scale, according to an increasing complexity of interactions between the competitor species. In a first chapter focusing on monospecific competition, I showed that both the competitor identity and the lag of competitor germination time promote the maintenance of the genetic and functional diversities, by phenomenon of biotic specialization within the target population. Based on an approach of Genome Wide Association (GWA) mapping, I detected QTLs of response to competition that were strongly dependent on the conditions of monospecific competition. I then proposed several candidate genes underlying those QTLs. In a second chapter, in the context of multispecific interactions, I demonstrated that the response of a local population to competition was highly specific to the assembly and richness of surrounding communities considered. In addition, based on a resurrection approach, I showed that the response of a local population to competition could evolve in less than eight generations, likely in relationship to community shifts. In a third chapter focusing on the demographic, phenological and genomic monitoring of experimental populations subjected to natural competition, I demonstrated that the adaptive dynamic of *A. thaliana* was highly influenced by the competition intensity. These works follow the way of multidisciplinary approaches that aim at explaining eco-evolutionary mechanisms from gene to community functioning through plant-plant interactions.

Key-words: ecological genomics, plant-plant interactions, competition, local scale, natural population, genotypic gradient of selection, genetic basis, *GWA mapping*, *Arabidopsis thaliana*.