

Mécanismes d'assemblage des communautés végétales le long de gradients d'éléments-traces métalliques en Afrique Centrale



Thèse de Doctorat présentée à l'École Doctorale Biodiversité, Écologie et Évolution de l'Université Libre de Bruxelles afin d'obtenir le grade académique de Docteur en Sciences

Guillaume Delhaye

Promoteur : Prof. **Pierre Meerts**, Université Libre de Bruxelles
Co-promoteur : Prof. **Grégory Mahy**, Gembloux AgroBioTech

Laboratoire d'Ecologie Végétale et Biogéochimie

2018

Mécanismes d'assemblage des communautés végétales le long de gradients d'éléments-traces métalliques en Afrique Centrale

Thèse de Doctorat présentée à l'École Doctorale Biodiversité, Écologie et Évolution de l'Université Libre de Bruxelles afin d'obtenir le grade académique de Docteur en Sciences

Guillaume Delhaye

Composition du jury :

Dr. **Elena Kazakou**, CEFE, Montpellier

Dr. **Sandrine Godefroid**, Jardin Botanique de Meise

Prof. **Thomas Drouet**, Université Libre de Bruxelles

Prof. **Patrick Mardulyn**, Université Libre de Bruxelles

Prof. **Pierre Meerts**, Université Libre de Bruxelles

Prof. **Grégory Mahy**, Gembloux AgroBioTech

Rapportrice

Rapportrice

Président

Secrétaire

Promoteur

Co-promoteur

Laboratoire d'Ecologie Végétale et Biogéochimie

2018

Résumé

La perte de biodiversité due à la destruction des écosystèmes est un des défis majeurs de notre temps. Dans ce cadre, l'identification des mécanismes régissant l'assemblage des communautés de plantes est une étape cruciale pour comprendre leur fonctionnement. L'étude des caractéristiques morfo-physiologiques des organismes qui influencent leur performance (traits fonctionnels), permet, en théorie, de comprendre et de mesurer l'amplitude des mécanismes qui déterminent la composition des communautés. L'utilisation de méthodes combinant à la fois cette approche fonctionnelle et une autre basée sur les distances phylogénétiques entre espèces connaît un succès croissant. Par ailleurs, l'importance de la variabilité des traits au sein des espèces est de plus en plus mise en avant pour expliquer les interactions entre organismes ainsi qu'avec leur environnement. Bien que l'étude des mécanismes d'assemblage des communautés par l'utilisation des traits fonctionnels soit maintenant populaire en écologie, les communautés de plantes se développant sur des sols enrichis en éléments traces métalliques (ETM) restent quasiment inexplorées de ce point de vue.

Dans la région du Haut-Katanga (sud-est de la République Démocratique du Congo), une anomalie géologique a produit des collines sur lesquelles des gradients naturels en cuivre et en cobalt ont sélectionné une végétation tout à fait originale. De la base au sommet de ces « collines de cuivre », les teneurs en cuivre varient de 10 à plus de 10 000 mg.kg⁻¹ et celles en cobalt de 10 à plus de 1000 mg.kg⁻¹ dans le sol. On observe le long de ces gradients plusieurs communautés végétales contrastées comprenant plusieurs taxa endémiques. Cependant, ces écosystèmes sont parmi les plus menacés sur la planète, l'exploitation minière du cuivre et du cobalt détruisant totalement leurs végétations. Dans cette thèse, j'étudie l'amplitude de la variation fonctionnelle dans ces communautés, les patterns de diversité fonctionnelle et phylogénétique ainsi que les covariations entre traits, sur base de plusieurs indices uni- et multivariés, le long d'un gradient d'ETM. De plus j'évalue la contribution de la variabilité intraspécifique des traits à la variation fonctionnelle des communautés ainsi que l'importance de la variation populationnelle pour comprendre la variation intraspécifique chez une espèce à large niche.

Le long du gradient d'ETM, on remarque une variation de l'importance des mécanismes d'assemblage : sur les sols pauvres en ETM, une grande diversité de stratégies fonctionnelles permet la coexistence des espèces dans des conditions de compétition intense pour les ressources. Sur les sols riches en ETM, un filtre environnemental imposé par les particularités édaphiques sélectionne un sous ensemble de valeurs et des combinaisons de traits fonctionnels permettant la survie dans ces conditions. Bien que la majorité des espèces possède une niche restreinte le long du gradient d'ETM, quelques unes possèdent une large niche réalisée. Celles-ci peuvent montrer des variations importantes de valeurs de traits en réponse au gradient local d'ETM mais également des variations populationnelles. Une part de

cette variation intraspécifique pourrait être d'origine génétique, la toxicité du métal représentant un filtre environnemental puissant, même à courte distance. La mise en place d'expériences de transplantation et l'étude de la diversité génétique des populations permettraient de confirmer les hypothèses soulevées par ce travail.

Summary

Biodiversity loss due to the destruction of ecosystems is a major challenge of this century. In this context, identifying the set of processes determining the assembly of plant communities is a crucial step towards understanding their functioning. The study of morpho-physiological characteristics influencing organisms' performances (functional traits) theoretically allows understanding and quantifying the magnitude of these mechanisms determining communities' composition. The use of methods combining a functional trait approach with another one based on phylogenetic distances between individuals is increasingly popular. Further, traits variation within species was recently demonstrated to play an important role in explaining the relationships between species and with their environment. Although these methods are increasingly used and have brought much knowledge in some ecosystems, plant communities growing on metallic trace elements (MTE) enriched soils are largely understudied from this point of view.

In the south-east of the Democratic Republic of Congo, in the Upper-Katanga, a geological abnormality caused the apparition of about 200 hills on which natural gradients in copper and cobalt selected highly original plant communities. From the bottom to the top of these "Copper Hills", the soil content in copper ranges from 10 to 10 000 mg.kg⁻¹ and the content in cobalt varies from 10 to more than 1000 mg.kg⁻¹. Several contrasting plant communities occupy different portions of these gradients and contain a varying number of endemic species. However, these ecosystems are among the most threatened in the world due to their destruction by the mining industry. In this dissertation, I study the magnitude of the functional traits variation of these communities, functional and phylogenetic diversity patterns and traits coordination, using several uni- and multivariate indices, along such a MTE gradient. Furthermore, I assess the relative contribution of intra- and interspecific trait variation to the total community's trait variation as well as the magnitude of the population level variation to disentangle the origins of the observed species-level patterns in traits in a large niched facultative metallophyte.

Along the MTE gradient, there is a change in the relative contribution of different assembly processes: on MTE poor soils, a large amount of functional strategies allows the coexistence of many species in communities where competition for resources is severe. On MTE enriched soils, an environmental filter due to the high toxicity of the soil, maybe coupled to other factors, selects traits values and combinations that allow individuals' survival in these conditions. Although the majority of species encountered along the gradient display a narrow niche along the MTE gradient, some grow on a large variety of soil conditions and sometimes possess large range of traits values, which co-vary with the copper content in the soil. However, traits values and covariations are sometimes population dependant. Some of this intraspecific variation could have a genetic origin because the high MTE concentration in the

soil can represent a stringent selective force on plant populations. Transplant experiments and the study of the genetic diversity of the populations which compose these communities could confirm the hypotheses suggested in this work.

Remerciements

J'aimerais commencer par remercier mon promoteur Pierre Meerts pour m'avoir accueilli dans son labo et permis d'y réaliser mon mémoire et ma thèse mais aussi, et surtout, pour m'avoir, dès 2006, conforté dans mon envie d'étudier les plantes et leur écologie. Les cours de Botanique de 2^{ème} et d'Ecologie générale en 3^{ème} année restent sans aucun doute parmi les meilleurs souvenirs de toutes mes années d'étude à l'ULB. Merci également de m'avoir permis par la suite de devenir assistant pour les travaux pratiques de botanique car cette expérience dans l'enseignement fut pour moi passionnante et je n'aurais pas pu rêver mieux comme première activité malgré les milliers de planches d'herbiers à corriger qui ont occupé de très très longues heures de ma vie ☺

Merci également à mon co-promoteur, Grégory Mahy, sans qui ce travail n'aurait jamais été possible et qui, bien que nous nous soyons au final assez peu cotoyé, a toujours été riche en bons conseils.

Au sein du laboratoire d'Ecologie Végétale et Biogéochimie, j'aimerais remercier absolument tout le monde car comme plusieurs personnes me l'ont déjà fait remarquer, il y a peu de labos dans lesquels il y a une aussi bonne ambiance et où tout le monde est aussi agréable que disponible. Merci en particulier à mes compagnons de thèse sans qui j'aurais, sans aucun doute, sombré totalement dans la folie il y a des années.

Dr. Bauman, Papa David, ou l'inverse, nos discussions me manqueront énormément, tu as été une rencontre formidable, une personne cruciale dans cette épreuve, de par ton soutien et ton aide, mais également dans les moments de détente comme nos ballades en forêt ou en montagne, ou encore dans la préparation des examens de guide nature ou autres situations grotesques dans lesquelles tes audacieux couvre-chefs n'ont jamais cessé de me surprendre. On a passé des moments super et ce n'est pas fini.

Jacobs, l'homme de droite, mon bon Jackou, mon très cher Arnaud. Tu es arrivé dans ce bureau comme une brise de printemps, en apportant ton inaltérable esprit critique (à mon égard) et ton sens aigu du bon goût. Sans toi, mes figures seraient (encore plus) laides et cette thèse ressemblerait au gribouillage d'un enfant malade. On a aussi pas mal discuté, parfois même de science ou d'autres choses sérieuses. Mais au final, on a bien plus rigolé que travaillé et ça, je t'en suis profondément reconnaissant.

Bastien, mon cher Prof. J'étais à la présentation de ton projet de thèse et après 3 minutes, je savais qu'on s'entendrait bien. Nos discussions en terrasse, nos (trop rares mais inoubliables) soirées à Bruxelles quand tu n'avais pas assez de linge à laver que pour retourner en France ou que tes armoires étaient encore pleines de petits pois, resteront gravées dans ma mémoire. On a bien travaillé, on a sacrément bien rigolé, et j'espère que ça continuera longtemps.

Kristel, dès que je suis arrivé au labo en 2009, on s'est tout de suite entendu à merveille. Pendant toutes ces années, entre préparation de démo, bières en terrasse, collectes de plantes à Prayon, frites, promenades avec Jean, ou broyage d'échantillons, on n'a jamais passé un moment même vaguement désagréable ou ennuyeux. Merci pour ton aide précieuse, et n'oublie pas qu'on doit toujours aller à la mer.

Nausicaa, merci de m'avoir accompagné, depuis le début de mon mémoire jusque la fin de ma thèse, par tes conseils et tes tartes☺. Thomas, merci pour ces intéressantes discussions à propos de sujets extrêmement variés et pour ton analyse critique de la science et de l'enseignement qui m'ont appris beaucoup. Merci à Barbara et Sarah pour toute l'aide administrative mais également dans le tri occasionnel des échantillons. Alexandre et Adrien, je vous remercie aussi pour tout le travail de labo, les analyses d'échantillons et autres.

J'aimerais également remercier spécialement Maxime Séleck et Edouard Ilunga qui m'ont accompagné lors de ma première mission de terrain. Sans vous je n'aurais jamais pu me familiariser aussi facilement avec cette flore magnifique. Merci à Mylor Shutcha de m'avoir accueilli au sein de la faculté d'agronomie de l'UNILU pour y utiliser les infrastructures ainsi que pour faire l'expérience d'y co-encadrer des mémoires de fin d'étude. Merci à Cyrille Violle, Eric Garnier et toute l'équipe ECOPAR de m'avoir accueilli pendant 2 petites séjours au CEFÉ de Montpellier. Ces petits voyages de quelques jours m'ont à chaque fois fait réaliser un énorme bond en avant. Merci à toutes celles et ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à ce travail ou à des activités connexes, et pour les bons moments partagés ici ou au Congo : Ghislain, Sylvain, Michel-Pierre, Olivier, Céline, Mour, Piéto, Anthéa, Jonathan, Fidèle, Adrien, Gwenaëlle, Héritier 1, Héritier 2, Adolphe et certainement beaucoup d'autres.

Je remercie tout.e.s mes collègues assistant.e.s pour les bons moments passés ensemble: Jean-François, Fleur, Romain, Aurélie, Benoît, Roxane, Sophie, Zora, Gauthier. Monique, Basile, Guy, Alexia, Jean, Hernando bien que nous n'ayons pas travaillé ensemble, merci pour votre amitié et votre présence, sans lesquelles ces journées au labo ou au jardin Massart auraient été interminables.

Merci également à mes amis pour les « alors cette thèse, ça avance ? » suivis de ricanements mesquins qui ont sans aucun doute été décisif pour me motiver à finir. Merci Jonas, Carine, Nico, John, Florence et beaucoup d'autres.

Enfin, comme on termine toujours par les plus importants, j'aimerais remercier de tout mon cœur ma famille : Emma, ma chérie, qui m'a soutenu dans toutes les situations, en particulier les plus difficiles, merci pour ta patience formidable même quand j'étais d'une humeur terrible entre les expériences qui ne fonctionnent pas et les corrections interminables. Merci pour ta compréhension et ton aide de tous les instants. Merci à mes parents, qui m'ont aussi toujours soutenu et encouragé, même lorsque je me suis perdu un an en musicologie (!) : vous m'avez fait confiance, m'avez laissé faire mes choix et vous avez toujours cru en moi. Je vous en suis éternellement reconnaissant.

Table des matières

| | |
|---|-----|
| Introduction | 1 |
| I. Les communautés végétales | 1 |
| 1. Contexte..... | 1 |
| 2. Description..... | 1 |
| 3. La dispersion..... | 2 |
| 4. La sélection et la coexistence | 2 |
| 5. La dérive écologique | 5 |
| 6. La spéciation..... | 5 |
| 7. L'échelle des processus | 6 |
| II. L'étude des mécanismes d'assemblage des communautés | 8 |
| 1. Introduction | 8 |
| 2. L'approche fonctionnelle..... | 9 |
| 3. Les axes de variation fonctionnelle | 12 |
| 4. La variation intraspécifique et interspécifique des traits | 13 |
| 5. La quantification des processus d'assemblage des communautés..... | 16 |
| 6. Approche phylogénétique..... | 19 |
| III. Les communautés des sols métallifères : des modèles d'étude originaux..... | 21 |
| 1. Généralités | 21 |
| 2. Traits et écologie fonctionnelle des métallophytes..... | 24 |
| 3. Les collines de cuivre du Haut-Katanga..... | 25 |
| Objectifs de la thèse | 37 |
| Bibliographie | 39 |
| Chapitre 1 | 49 |
| Chapitre 2 | 71 |
| Chapitre 3 | 87 |
| Chapitre 4 | 107 |
| Discussion générale..... | 127 |
| Les filtres abiotiques..... | 128 |
| Les interactions biotiques | 131 |

| | |
|---|-----|
| La covariation entre traits et les formes de vie | 133 |
| Les stratégies CSR des cuprophytes du Katanga..... | 135 |
| La variation des indices de diversité fonctionnelle reflète-t-elle vraiment des mécanismes d'assemblage et la performance des espèces ? | 138 |
| L'importance de la variabilité intra-spécifique | 140 |
| La variation intra et inter-populations chez une métallophyte facultative | 140 |
| La variation phylogénétique et le conservatisme des traits | 144 |
| Les endémiques – la rareté fonctionnelle ? | 145 |
| Comment mettre en évidence les mécanismes d'assemblage dans une communauté ?..... | 147 |
| La restauration des écosystèmes..... | 149 |
| Conclusion..... | 151 |
| Bibliographie | 153 |
| Annexes..... | 160 |

Introduction

I. Les communautés végétales

1. CONTEXTE

La composition des communautés végétales est une préoccupation ancienne qui a longtemps été étudiée d'un point de vue uniquement descriptif. Depuis une vingtaine d'années l'écologie des communautés végétales a trouvé un regain d'intérêt et de nombreuses méthodes et techniques nouvelles permettent de répondre à des questions de complexité croissante et de tester des hypothèses de plus en plus élaborées. L'écologie spatiale, l'écologie fonctionnelle ou encore l'écologie évolutive fournissent des visions complémentaires aux questions d'assemblage et de coexistence des communautés végétales. Cette thèse s'inscrit dans ce contexte et tente d'apporter des éléments d'information pour comprendre comment un grand nombre d'espèces de plantes peuvent coexister dans un espace limité et le long de conditions environnementales changeantes (étude de gradient). Elle utilise pour cela un modèle très original : les gradients de cuivre et de cobalts des affleurements naturels du sud de la République Démocratique du Congo. Ces environnements décrits pour la première fois au 19^{ème} siècle, ont été prospectés et leur végétation décrite par une approche géobotanique classique dans les années 1950 et 1960 (Duvigneaud 1958, Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963). Cependant, bien qu'extrêmement précises d'un point de vue de la description floristique, ces publications restent fort spéculatives quand aux interactions entre espèces de plantes et avec les facteurs environnementaux. Cette thèse aborde donc les végétations des « collines de cuivre du Katanga » en les incluant dans le contexte global de l'écologie des communautés et en utilisant les méthodes modernes de l'écologie fonctionnelle.

2. DESCRIPTION

Une **communauté végétale** est un ensemble d'individus d'espèces différentes coexistant dans un biotope homogène. Le nombre d'interactions augmentant de manière exponentielle avec le nombre d'individus, les communautés végétales ont vite été reconnues comme des modèles extrêmement complexes, en particulier lorsqu'elles contiennent un grand nombre d'espèces différentes. Comprendre et prédire la composition des communautés sur base d'un nombre restreint de conditions locales et de processus reste donc un des principaux défis de l'écologie (Weiher et al 2011, Götzenberger et al 2012). Le développement de l'écologie des communautés végétales passe donc souvent par l'étude de la composition floristique de communautés locales le long de gradients environnementaux (Chase & Leibold 2003). La composition des communautés dépend des facteurs et processus abiotiques ainsi que des interactions biotiques locales qui y ont lieu (Weiher & Keddy 2001, Kraft & Ackerly 2014 ; voir plus bas et fig. 1). Cependant, tous les processus ne sont pas d'importance comparable

dans tous les écosystèmes et n'ont pas lieu aux mêmes échelles spatiales et temporelles. Par analogie avec la génétique des populations, ces processus peuvent être regroupés en quatre catégories, d'importance variable en fonction de l'environnement observé: la sélection, la dispersion, la dérive et la spéciation (Vellend 2010). Ces trois derniers processus sont souvent regroupés sous la bannière de « **mécanismes neutres** » (Hubbell 2005) car ils ne dépendent pas directement de différences entre valeur sélective des individus.

3. LA DISPERSION

La dispersion représente le premier mécanisme à agir lors de la colonisation d'un nouveau biotope (Fig. 1). Lors de la mise en place d'une communauté, la capacité à l'atteindre est une condition *sine qua none* à l'établissement d'une espèce dans cette communauté. La dispersion dépend de vecteurs abiotiques ou biotiques de dispersion mais également des propriétés des propagules et de l'organisme qui les produit. La dispersion est un processus uniformisateur des communautés (Wright 1940). Elle est également responsable, sous forme **d'effet de masse** (« mass-effect » ; Leibold et al 2004, voir fig. 1) de la présence d'espèces autrement incapable de se maintenir dans la communauté et donc mal-adaptées aux conditions locales. D'autre part, l'absence de mécanismes de dispersion efficace peut expliquer l'absence de certaines espèces de plantes dans des communautés où elles pourraient autrement s'établir (Zobel et al 2000).

4. LA SÉLECTION ET LA COEXISTENCE

La sélection représente l'ensemble des mécanismes par lesquels un individu s'installera et persistera ou disparaîtra d'une communauté en réponse aux conditions abiotiques locales ou aux interactions biotiques. L'étude de ces mécanismes est donc au centre de la compréhension de la répartition des espèces dans leur environnement (p.ex. Klanderud et al 2015). Le mécanisme de la **sélection naturelle** a été pendant longtemps restreint au cas particulier de la sélection intraspécifique, c'est-à-dire de génotypes dans une population, et cantonnée au domaine de la biologie évolutive. Cependant, récemment, plusieurs auteurs ont élargi le spectre d'utilisation du concept de la sélection naturelle aux communautés d'organismes, considérant l'échelle de l'individu ou de l'espèce au sein de la communauté (Shiple 2010). La sélection peut donc être le résultat de filtres abiotiques, d'interactions biotiques négatives (compétition) ou positives (facilitation, renforcement) agissant au niveau de l'individu.

a. Les filtres abiotiques

La niche fondamentale d'une espèce est définie par l'ensemble des conditions abiotiques dans lesquelles cette espèce est capable de se maintenir. Il s'agit donc d'un espace multidimensionnel au sein duquel un organisme est théoriquement capable de survivre et de se reproduire (Hutchinson 1957, Chase & Leibold 2003). Il existe une gamme de valeurs pour chaque paramètre physico-chimique de l'environnement au-delà desquelles l'espèce est

incapable de maintenir une population stable. Les valeurs extrêmes de ces paramètres abiotiques représentent un filtre abiotique pour cette espèce. La tolérance à un stress environnemental est donc la capacité que possède une espèce à survivre et se reproduire dans des conditions qui sont éloignées de la valeur optimale de ces conditions. Chaque espèce possède une gamme de tolérance, représentant la largeur de la niche fondamentale, et un optimum de ces conditions. En l'absence de toute interaction biotique, la démographie d'une espèce le long d'un gradient de conditions serait distribuée de manière uni-modale, les deux extrêmes étant limités par un **filtre abiotique** (Fig. 1).

L'étude de ces filtres environnementaux peut se faire de façon expérimentale (p.ex. Wright et al 2006, Germino & Reinhardt 2014) ou le long de gradient naturels (Diaz et al 1998, Laliberté et al 2014). Les paramètres de l'habitat les plus étudiés sont les paramètres climatiques (température et pluviosité), dont on utilise généralement comme proxy la latitude ou l'altitude, et édaphique, en particulier la fertilité du sol.

b. Les interactions biotiques

Il existe un grand nombre de types d'interactions biotiques, intra ou interspécifiques, qui peuvent avoir lieu au sein des écosystèmes (prédation, reproduction, compétition, symbiose, facilitation, parasitisme). Ces interactions biotiques influencent la réponse des espèces aux conditions abiotiques et sont donc centrales pour comprendre la répartition des espèces dans les communautés (Wisz et al 2013, fig. 1). Les interactions biotiques modifient donc la niche fondamentale des espèces, définissant une **niche réalisée**, c'est-à-dire l'ensemble des conditions environnementales dans lesquelles une espèce est *effectivement* observée (Hutchinson 1957, Chase & Leibold 2003). Nous synthétisons ici les deux types d'interaction les plus documentés et agissant au sein d'un même niveau trophique : la compétition et la facilitation.

La **compétition** est une interaction entre organismes vivants qui diminue la survie, la croissance ou la reproduction d'un individu. Il résulte des interactions compétitives que la niche réalisée d'une espèce au sein d'une communauté est plus petite que sa niche théorique. La compétition pour des ressources est d'ailleurs un des principaux facteurs limitant la croissance des populations. De très nombreuses études montrent un effet de la compétition pour l'eau, les nutriments, la lumière ou les pollinisateurs sur la structure des populations (Donald 1958, Campbell 1985, Fowler 1986). L'issue de la compétition dépend essentiellement de deux facteurs : l'aptitude compétitive et le recouvrement de la niche des protagonistes (Chesson 2000). Sans l'intervention d'autres processus, si deux espèces occupent la même niche et s'il existe une différence d'aptitude compétitive entre les deux, celle qui a la plus grande aptitude compétitive peut exclure l'autre. Cependant, si les deux espèces occupent des niches différentes, elles peuvent coexister malgré des différences d'aptitude compétitive. Ceci rejoint la vision classique, dans laquelle la coexistence de deux espèces dans une communauté est permise par des différences de niche entre ces espèces

(MacArthur & Levins 1967). De nombreuses études confirment cette différenciation de niche chez des espèces proches coexistant dans les mêmes habitats (p.ex. Eckhart et al 2017). Un des corollaires de ce processus est que, généralement, la compétition intraspécifique est plus forte que la compétition interspécifique. Ce phénomène de complémentarité de niche permet également d'expliquer la grande productivité des écosystèmes où la diversité biologique est grande (van Ruijven & Berendse 2005, Vanelslander et al 2009, Fréchet et al 2015, Liang et al 2015), puisque ces systèmes exploitent les ressources de manière plus complète.

Cependant, la compétition est un mécanisme qui est souvent difficile à étudier directement par la simple observation d'une communauté (Billick & Case 1994, Godsoe et al 2017, Saavedra et al 2017) et nécessite souvent la mise en place d'expérimentations. De plus, les hiérarchies compétitives sont souvent fortement influencées voir renversées par les conditions abiotiques locales (Dunson & Travis 1991, Greiner La Peyre et al 2001).

La **facilitation** est un terme qui recouvre tous les mécanismes par lesquels une espèce augmente la taille de sa niche réalisée au-delà de sa niche fondamentale par l'interaction avec une ou plusieurs autres espèces. Elle peut se manifester par une plus grande survie des plantules, une meilleure croissance ou une reproduction plus efficace et il est maintenant capital de la considérer dans les études écologiques (Bruno et al 2003) en particulier dans les milieux contraignants (Pugnaire et al 1996, Pugnaire & Luque 2001). En effet, l'**hypothèse du gradient de stress** (Stress gradient hypothesis, Bertness & Callaway 1994) suggère un passage progressif de communautés dominées par la compétition en milieu bénin, à des communautés dans lesquelles la facilitation joue un rôle important en conditions abiotiques stressantes le long d'un gradient continu de variation environnementale (Lortie & Callaway 2006, Maestre et al 2009). Elle a déjà été démontrée dans le cas de stress hydriques (Armas et al 2011), salins (Callaway & Pennings 2000) ou climatiques (Choler et al 2001, Callaway et al 2002). L'exemple le plus évident est celui d'« espèces-nurses », qui facilitent l'établissement d'autres espèces en produisant un substrat favorable, de l'ombre ou une protection contre le vent ou le froid (Valiente-Banuet & Ezcurra 1991, Raffaële et al 1998, Smit et al 2007).

c. La coexistence des espèces

Les mécanismes de la **coexistence** représentent l'ensemble des processus permettant aux individus d'une communauté de vivre et se reproduire de manière stable, c'est-à-dire de maintenir une démographie stable ou croissante (HilleRisLambers et al 2012). Plusieurs « règles de coexistence » ont été formulées. Premièrement, au plus un habitat est hétérogène et fluctuant (par le biais de perturbations) au plus il pourra abriter une grande diversité (Grime 1973, Chesson & Huntly 1997). D'autre part, les mécanismes positifs et négatifs d'interaction biotique jouent un rôle fondamental déterminant les espèces présentes dans une communauté. Ces interactions passent inévitablement par les caractéristiques fonctionnelles des individus, déterminant leur fonction dans l'écosystème ainsi que leur

aptitude compétitive et leur niche (HilleRisLambers et al 2012). L'interaction entre ces deux derniers paramètres déterminant l'issue de nombreuses interactions (Chesson 2000). Enfin, de nombreux processus dépendant de la densité d'individus d'une espèce interagissent l'un avec l'autre pour déterminer l'issue de la coexistence entre espèces (Kuang & Chesson 2010, Chesson & Kuang 2010).

5. LA DÉRIVE ÉCOLOGIQUE

La **dérive écologique** est définie comme une modification aléatoire de la taille des populations de chaque espèce (Vellend 2016). Cette **stochasticité démographique** (Fox 1993) provient de l'ensemble des mécanismes par lesquels la composition d'une communauté varie à cause de facteurs tels que des perturbations (incendies, prédation excessive), des événements extrêmes (volcanisme) ou le hasard des reproductions (Gravel et al 2011, fig. 1). Il en résulte des fluctuations imprévisibles dans les densités d'individus de chaque espèce (Bell 2001, Hubbell 2001). Celles-ci influencent donc les interactions entre espèces et individus de même espèce via des processus dépendant de la densité (Courchamp et al 1999, Adler et al 2007). Ces variations soudaines de la démographie sont favorisées lorsque le nombre d'individus dans la population est petit (Hubbell 2001, Orrock & Watling 2010). La dérive écologique a généralement un effet antagoniste aux processus dépendant des différences de niche, considérés comme déterministes (Ruokolainen et al 2009).

6. LA SPÉCIATION

La **spéciation**, c'est-à-dire l'apparition d'une espèce nouvelle, est un processus créateur de diversité dans lequel des individus possédant des traits différents sont isolés reproductivement d'une population initiale (voir Via 2009, fig. 1). La plupart des études considérant la composition des communautés jusqu'à présent n'ont généralement pas pris en compte les phénomènes de spéciation qui agissent souvent à des échelles temporelles et spatiales importantes (Mittlebach & Schemske 2015). Par contre, à grande échelle géographique et spatiale, la spéciation est un phénomène crucial à prendre en compte pour comprendre l'organisation des communautés (Wiens 2011). Néanmoins, plusieurs cas rapides de spéciations à petite échelle ou dans des populations isolées ont été rapportés (p.ex. Gillespie 2004, Taylor & Hellberg 2005). Le rôle de la spéciation dans l'assemblage des communautés pourrait avoir été sous-estimé dans de nombreux écosystèmes, particulièrement dans des conditions très contraignantes et des milieux géographiquement isolés, ou l'apparition d'un nouveau caractère de résistance à un stress, couplé à un isolement reproducteur, apporte un avantage considérable aux individus qui le portent. L'importance du phénomène de spéciation pour la composition des communautés dépend également de la proximité des niches des nouvelles espèces apparues avec les espèces dont elles découlent (Butlin et al 2009, Vellend 2016).

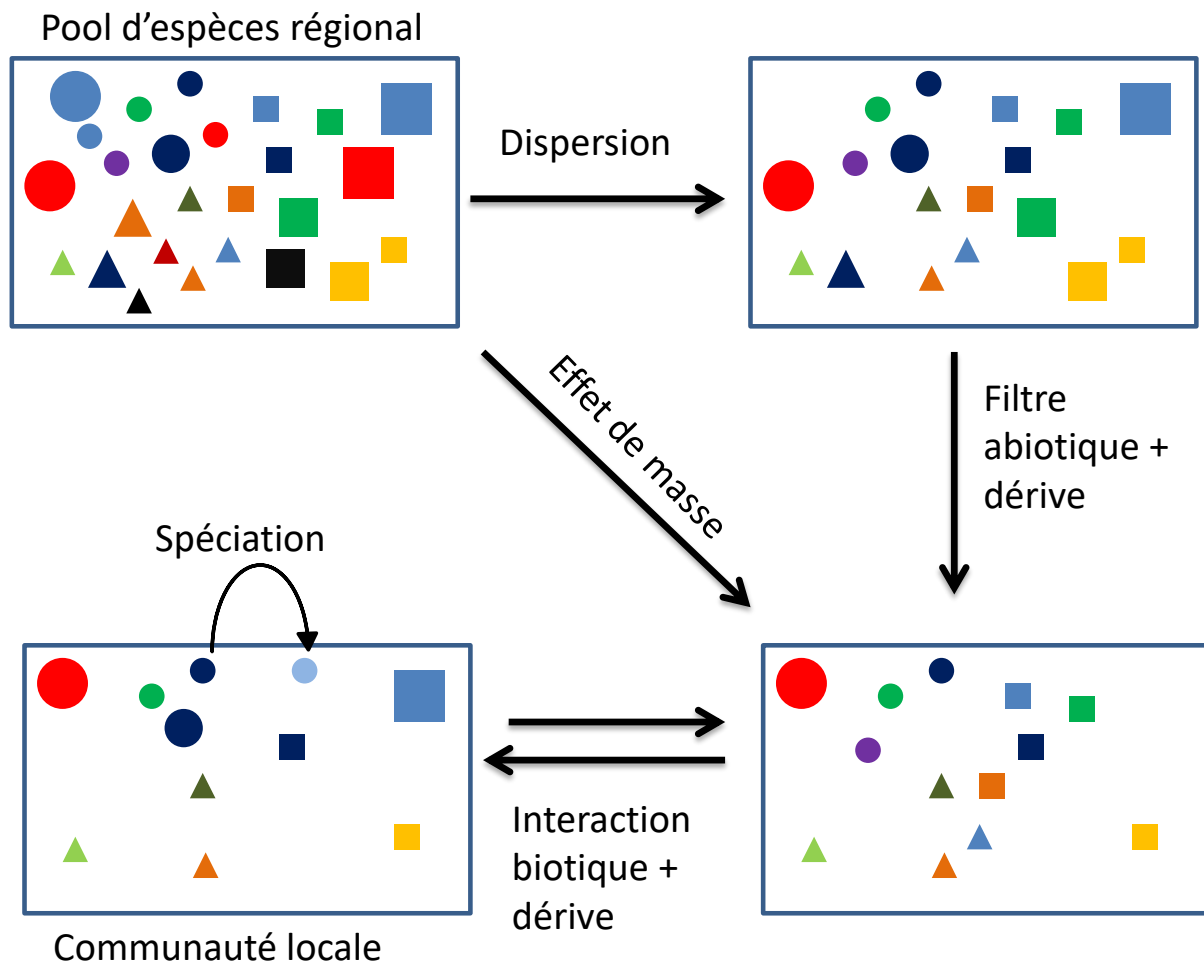


Figure 1 : Schéma des différents processus d'assemblage agissant au sein d'une communauté et déterminant la composition de la communauté locale à partir d'un pool d'espèces régional. Chaque objet représente une espèce. La taille, la forme et la couleur de chaque objet représente des caractéristiques de la niche des espèces. Les espèces présentes dans la communauté locale sont celles qui ont été capable de s'y disperser, de tolérer les conditions abiotiques locales et dont les niches ne se recouvrent pas parfaitement. La spéciation et l'effet de masse et la facilitation augmentent le nombre d'espèces présentes alors que la dispersion, les filtres abiotiques et la compétition le diminuent.

7. L'ÉCHELLE DES PROCESSUS

La composition des communautés dépend de l'interaction entre des phénomènes opérant à différentes échelles (Menge & Olson 1990). Bien qu'aux échelles les plus grandes, des phénomènes tels que la spéciation et la migration peuvent avoir des effets importants sur l'assemblage des communautés, le rôle de ces phénomènes reste assez limité à l'échelle des petits écosystèmes (voir Cavender-Bares et al 2009). Au sein de la variabilité du biotope, tous les paramètres n'agissent pas aux mêmes échelles et influencent la composition de la communauté différemment (de Bello et al 2013). L'hétérogénéité des facteurs environnementaux est l'un des principaux paramètres expliquant la coexistence des espèces

sur une surface réduite par la création de micro-habitats (Stein et al 2014, Opedal et al 2015, Stark et al 2017). Ces phénomènes peuvent influencer la composition de la communauté à l'échelle de quelques mètres voir centimètres (Carmo et al 2015, Conti et al 2017). D'autre part, les fluctuations environnementales, dues aux perturbations (telles que les chablis, les incendies, des pollutions temporaires, etc.), permettent également d'augmenter localement la biodiversité (Grime 1973, Chesson & Huntly 1997). En résumé, les variations abiotiques peuvent s'exprimer sur des distances allant de quelques mètres pour des gradients de teneur en nutriment ou profondeur de sol (p.ex. Bernard-Verdier et al 2012) à plusieurs milliers de kilomètres pour des gradients de température moyenne annuelle (p.ex. Reich & Oleksyn 2004, Kraft et al 2011).

D'autre part, les phénomènes d'interaction biotique tels que la prédation, la compétition ou la facilitation se manifestent généralement à des échelles petites, de quelques mètres à quelques centimètres (p.ex. Blomqvist et al 2000). La composition des communautés locales peut donc dépendre de processus ayant lieu à des échelles parfois beaucoup plus grandes ou plus petites que celle observée.

II. L'étude des mécanismes d'assemblage des communautés

1. INTRODUCTION

Historiquement, l'étude des communautés végétales s'est développée sur base de relevés de diversité taxonomique, considérant des paramètres tels que la richesse ou l'équitabilité en espèces au sein d'une communauté (indices α), ou la variation de la composition le long de gradients environnementaux (indices β) (p.ex. Dornelas et al 2014). De plus, la phytosociologie, discipline décrivant de manière précise les assemblages d'espèces au sein des communautés, a produit une abondante littérature sur les liens qui existent entre certaines espèces et avec les environnements qu'elles peuplent. Cependant, depuis longtemps une branche de l'écologie tente de comprendre les liens entre la physionomie de la végétation et les facteurs environnementaux. En effet, la niche d'une espèce est un paramètre difficile à quantifier de par la multiplicité des dimensions qui entrent en jeu (Hutchinson 1957, Violle et Jiang 2009, fig. 2). L'étude de variations morphologiques des organismes le long de gradient environnementaux est donc censée permettre de s'affranchir de l'identité de l'espèce (Mcgill et al 2006). L'un des premiers à avoir tenté de comprendre l'influence du climat sur la morphologie de la végétation est Raunkiaer (1934), qui popularisa le concept de forme de vie. Ce fut là une première tentative de mettre en rapport des caractéristiques morphologiques des espèces avec des particularités climatiques de leur biotope, ce qui préfigure le développement de l'écologie fonctionnelle. Plus récemment, l'étude de « groupes fonctionnels » a tenté de résumer une partie de l'information sur le mode de vie des espèces en se focalisant sur l'un ou l'autre caractère facilement observable (Lavorel et Garnier 2002). Ces groupes fonctionnels ont été utilisés pour évaluer les changements de morphologie de végétation et de services écosystémiques le long de grands gradients environnementaux (Lavorel et al 2007). Il a été prouvé que l'abondance de groupes constitués a priori (p.ex. fixatrices d'azotes, graminoides pérennes, annuelles, arbres, chaméphytes,...), bien que simple à mesurer, montre des variations notables et apporte donc une information importante le long de gradients environnementaux à l'échelle biogéographique (p.ex. Engeman et al 2016). Par contre, à petite échelle, certaines études montrent que les groupes fonctionnels ont des pouvoirs d'explications limités en ce qui concerne la survie et la performance des plantes le long de petits gradients environnementaux (e.g. Saccone et al 2017).

2. L'APPROCHE FONCTIONNELLE

L'écologie classique, basée sur des relevés de présence et d'abondance d'espèces, a mis en évidence de nombreux patterns de présence et co-présence d'espèces mais ne permet pas d'apporter une explication mécanistique à leur répartition dans l'espace. Pour répondre à cela, deux approches complémentaires rencontrent un intérêt croissant (Pavoine & Bonsal 2011) : l'écologie fonctionnelle et l'analyse phylogénétique des communautés. L'ensemble des processus biotiques ou abiotiques agissant sur les individus d'une communauté se font via les propriétés morpho-physiologiques de ces individus. Depuis une vingtaine d'années, une attention croissante s'est portée sur les attributs des espèces, généralement appelés « traits ». Ces traits morphologiques, phénologiques ou physiologiques qui influencent la performance (croissance, reproduction, survie) d'un individu en fonction des conditions environnementales sont qualifiés de « traits fonctionnels » (Violle et al 2007). Les traits fonctionnels représentent donc une des composantes de la biodiversité parmi les plus importantes pour comprendre et inférer les processus écologiques (Swenson & Enquist 2009). Les valeurs de traits des espèces devraient donc, en théorie, influencer indirectement leur démographie en réponse aux conditions environnementales (Adler et al 2013, Kraft et al 2015, Kunstler et al 2016).

Cet engouement récent pour des traits facilement mesurables s'est matérialisé par la création de bases de données internationales de traits (p.ex. Kattge et al 2011). Celles-ci ont permis la mise en place d'étude globales sur les fonctions de la biodiversité (Cardinale et al 2012), la variation des communautés à des échelles biogéographiques (Violle et al 2014), le long de gradients de latitude (Lamanna et al 2014) ou sur les relations de corrélation entre traits à l'échelle globale (Diaz et al 2016). La popularité des approches basées sur les traits fonctionnels repose sur le fait qu'il serait possible de prédire la répartition des espèces au sein des écosystèmes sur base de leurs traits fonctionnels (Shipley 2010, Shipley et al 2016).

Les traits fonctionnels permettent donc de quantifier facilement la niche des espèces sous la forme de « niche fonctionnelle », représentée par un espace multidimensionnel dont les dimensions sont des traits fonctionnels (Rosenfeld 2002, Violle & Jiang 2009). La niche fonctionnelle d'une espèce est donc un hypervolume contenant toutes les combinaisons de traits qu'une espèce peut montrer. L'étude des traits fonctionnels permet ainsi de passer à une approche mécanistique des processus d'assemblage et de coexistence (McGill et al 2006, HilleRisLambers et al 2012). En effet, la valeur adaptative de certaines valeurs de traits est bien connue depuis longtemps ; la microphyllie, par exemple, est très fréquente dans les climats arides (Fischer & Turner 1978, Asner et al 2003).

a. Le choix des traits

Tous les traits fonctionnels ne se valent pas et le choix des traits étudiés dépend du type de processus attendu et donc du type de gradient étudié. Les traits ont pour cela été généralement séparés en deux catégories (Lavorel & Garnier 2002, Violle et al 2007). Les

« hard traits » sont directement reliés au processus étudié par un lien mécanistique connu mais sont difficiles à mesurer. Il s'agit souvent de traits physiologiques. Par contre la plupart des études se focalisent sur des « soft traits » plus faciles à mesurer mais ayant un lien indirect avec les processus auxquels ils sont reliés. Cependant, certaines critiques mettent en évidence le manque d'hypothèses claires entre un paramètre environnemental et la variation attendue de tels traits (Shiple et al 2016), l'absence de lien entre la valeur des traits et les paramètres démographiques des espèces (Yang et al 2018) ou encore le manque de lien clair entre valeur de trait et processus physiologique (Scheres & Van der Putten 2017). Le choix des traits en fonction des questions posées est donc crucial.

b. Les traits de l'appareil aérien

Parmi les soft traits les plus couramment mesurés, on retrouve la hauteur (végétative et reproductive), la surface foliaire spécifique, la teneur en matière sèche foliaire, la densité du bois, la masse des graines, la surface foliaire, le mode de pollinisation, la capacité à repousser après un incendie, etc. (Pérez-Harguindeguy et al 2013).

Par exemple, parmi les traits importants et couramment mesurés, la hauteur végétative est un trait d'architecture relié à la fonction de capture de la lumière (Cornelissen et al 2003, Vermeulen et al 2008). La surface foliaire spécifique est un trait foliaire mesurant l'investissement pour la capture de la lumière (Lambers & Poorter 1992, Poorter et al 2009). A l'échelle mondiale, la surface foliaire spécifique est corrélée négativement à la durée de vie de la feuille et à la capacité photosynthétique (Reich et al 1997). Cependant, dans de nombreux cas, dans des écosystèmes particuliers ou sur des formes de vies particulières, ces relations sont faibles ou inexistantes (Messier et al 2010, Yang et al 2018). Ceci serait vraisemblablement dû à la multi-dimensionnalité du phénotype, composé de plusieurs axes de variation fonctionnelle pouvant interagir entre eux (Messier et al 2017, Laughlin et Messier 2015 ; voir plus bas). Bien que des traits d'acquisition des ressources, d'occupation de l'espace et de résistance au stress soient régulièrement mesurés, certains autres traits moins courants, comme les défenses chimiques contre les herbivores, méritent plus d'attention car ils peuvent être indicatifs de processus importants au sein de la communauté locale (Kergunteuil et al 2018).

c. Les traits de l'appareil souterrain

Les interactions avec le sol passent inévitablement par les traits des organes souterrains. Cependant, ceux-ci sont souvent plus difficiles à étudier que les organes aériens et il reste de nombreux défis à relever pour appréhender entièrement les processus qui se passent sous terre (Bardgett & van der Putten 2014, Laliberté 2016). En particulier, la sélection des racines sur lesquels les traits doivent être mesurés pour évaluer une fonction particulière est fondamentale (Freschet & Roumet 2017). Parmi les traits régulièrement mesurés, l'architecture racinaire (Fort et al 2012), la répartition des racelles dans le sol, le degré de ramification ou la vitesse d'absorption (Freschet & Roumet 2017), la surface ou la longueur

racinaire spécifique (Ostonen et al 2007), la présence de mycorhizes (Landeweert et al 2001, Chen et al 2016) ou la production d'ions (Brown 1978) et de substances organiques chélatantes de nutriments (Gardner et al 1982) sont des traits importants liés à l'acquisition de minéraux et de l'interaction entre les organismes et leur environnement.

Pour contourner la difficulté de mesure des traits racinaires, plusieurs études ont quantifié les corrélations entre valeurs de traits aériens et souterrains (p.ex. Tjoelker et al 2005, Fort et al 2012, McCormack et al 2012). En effet, le phénotype d'un organisme étant constitué d'un ensemble de traits interagissant, un stress agissant sur une fonction peut avoir un effet important sur d'autres fonctions et donc d'autres traits fonctionnels (Freschet et al 2018 ; voir chapitre suivant). Cependant, cette **coordination fonctionnelle** entre organes et particulièrement entre feuille et racine peut varier en fonction de l'échelle d'observation et être influencée par des variations de facteurs abiotiques (Liu et al 2010). Certains traits souterrains semblent également plus sensibles à des variations de facteurs édaphiques que leurs analogues aériens (Fort et al 2012). De plus, le pool d'espèces considéré est fondamental pour tester ce genre d'hypothèses, des relations entre traits aériens et souterrains pouvant être particulières à certains groupes taxonomiques.

Il résulte de cela que, jusqu'à présent, peu de relations claires semblent émerger entre les traits aériens et souterrains. Dans tous les cas, le choix des traits, qu'ils soient aériens ou souterrains, doit être motivé par la suspicion d'un mécanisme liant la variation du trait avec un processus écologique, qu'il soit une réponse à un stress environnemental ou à l'interaction entre organismes.

d. Les traits chimiques

Les traits de composition chimique des individus a reçu peu d'attention dans le cadre d'analyse de composition des communautés. Cependant de nombreux traits de composition chimique tels que les teneurs en nutriment ou le pH de certains organes peuvent indiquer une réponse aux variations environnementales (Cornelissen et al 2003, 2006). En particulier, la composition minérale (ionome), est le résultat de l'interaction entre un déterminisme génétique et les conditions environnementales (Neugebauer et al 2018). L'ionome peut donc refléter l'état physiologique d'une plante ou les stratégies mises en place pour répondre à un stress environnemental et jouer un rôle important dans les relations entre plantes et avec leur environnement. De plus, l'étude de la composition minérale est également extrêmement importante pour les plantes servant de nourriture aux populations humaines ou au bétail (White 2016, Neugebauer et al 2018). Dans le cas particulier de la dépollution de sols contaminés, le choix de populations ou de génotypes sur base de leur capacité à concentrer certains ions est crucial (Jacobs et al 2017, 2018). L'étude de la composition en ions dans les plantes et sa variation le long de gradients environnementaux en ces ions dans le sol a donc tout son sens, en particulier sur des sols aux propriétés chimiques originales tels que des sols métallifères (Frérot et al 2017). De plus, les corrélations entre teneurs en éléments minéraux

et traits fonctionnels restent très peu étudiées, que ce soit au niveau intra ou interspécifique, sauf pour les teneurs en carbone, azote et phosphore (Kazakou et al 2014, Garnier et al 2016, Neugebauer et al 2018).

3. LES AXES DE VARIATION FONCTIONNELLE

De nombreux traits fonctionnels ne varient pas indépendamment les uns des autres. Il existe un certain degré de covariation entre de nombreux traits. Ceci a permis de mettre en évidence quelques axes de variation de traits globaux qui peuvent être mis en rapport avec les stratégies de vie développées dans les années 60 et 70. Les stratégies *r* et *K* de MacArthur & Wilson (1967) représentent deux modes de vie et d'investissement à la reproduction extrêmes. Grime (1973) développe également un système à trois stratégies contrastées représentant les 3 sommets d'un triangle de stratégies non-mutuellement exclusives : le triangle CSR (compétition – tolérance au stress – rudéralité, voir fig. 2). Récemment, certaines tentatives de résumer les stratégies fonctionnelles de Grime ont été entreprises afin de rendre plus aisée la caractérisation fonctionnelle des communautés. Pierce et al (2017) ont développé une méthode de calcul d'indice CSR sur base de trois traits fonctionnels et l'ont étalonné sur un grand nombre d'espèces à travers le monde. L'utilisation de ces indices de stratégie fonctionnelle le long de gradient environnementaux semble donner des résultats cohérents avec l'état des connaissances actuelles (Li & Shipley 2017).

La **niche fonctionnelle** (fig.2) des espèces est un concept multidimensionnel et plusieurs traits représentant des axes indépendants de cette niche sont nécessaires pour la caractériser (Laughlin 2014, Laughlin & Messier 2015). Ainsi, sur base de traits fonctionnels couramment mesurés (surface foliaire spécifique, teneur foliaire en azote, teneur en matière sèche foliaire, surface foliaire, vitesse de croissance), un important axe de variation fonctionnelle a été mis en évidence : le **spectre économique foliaire** (Leaf Economic Spectrum, Wright et al 2004). Le long de cet axe, les espèces possédant une surface foliaire spécifique et une teneur en azote élevées ainsi qu'une teneur en matière sèche faible sont des espèces à croissance rapide, et inversement. Cet axe capture donc une dimension très importante de la variation : le compromis entre la capture de la lumière et la conservation des nutriments.

D'autres modèles d'étude des traits fonctionnels de la plante entière tendent à montrer qu'il existerait également des compromis entre les valeurs de traits entre organes, au niveau de l'individu, menant à un spectre économique de la plante entière (Poorter et al 2014, Reich 2014). Cependant, certaines études vont à l'encontre de ces résultats, montrant que le phénotype est le fruit d'un ensemble complexe d'interaction entre traits qui ne peut être réduit à un ou quelques axes de variation de traits fortement corrélés (Baraloto et al 2010, Messier et al 2017). Il en résulte que dans des conditions environnementales différentes, les patterns de covariation entre traits peuvent être variables. De plus, certaines relations entre traits pourraient varier selon le groupe taxonomique, comme les relations entre la longueur

racinaire spécifique, la teneur racinaire en azote, et la ramification racinaire au sein des Poaceae (Craine et al 2002, Fort et al 2012).

Les **gradients environnementaux** peuvent impliquer des compromis fonctionnels importants. Au niveau interspécifique, le long de gradients d'altitude, la pression d'herbivorie décroît. Il en résulte que les plantes d'altitude possèdent des défenses moins efficaces contre les herbivores (Descombe et al 2017) et investissent en parallèle plus d'énergie dans la résistance aux stress abiotiques (Callis-Duehl et al 2016). Il a également été montré qu'il existe un compromis entre la tolérance à la sécheresse et les traits d'acquisition des ressources (biomasse, surface foliaire spécifique et longueur racinaire spécifique) chez la Poaceae *Elymus glaucus* (Balachowsky & Volaire 2017). Plus généralement, la présence de compromis fonctionnels peut être suspectée lorsque des organismes se développent en conditions de stress et de ressources limitées, imposant une allocation des ressources partagée entre les traits d'acquisition, de taille et de tolérance au stress.

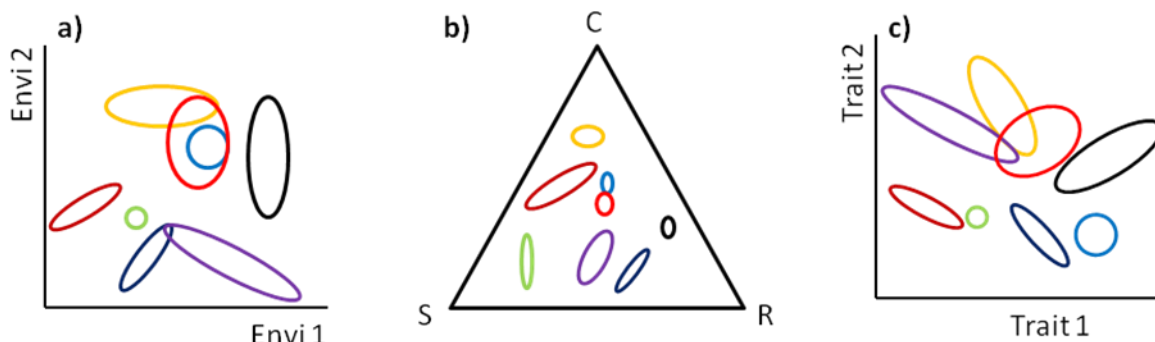


Figure 2 : Trois représentations de l'aspect multidimensionnel de la niche des espèces. a) la vision classique de la niche écologique est déterminée par un certain nombre de paramètres environnementaux (Hutchinson 1959), b) les espèces possèdent des stratégies soumises à des compromis fonctionnels et peuvent être caractérisées par un certain degré de dominance, tolérance au stress et rudéralité (Grime 1973, Pierce et al 2016), c) chaque espèce peut être caractérisée par une niche fonctionnelle représentée par l'ensemble des traits qu'elle peut posséder (Violle & Jiang 2009, Laughlin & Messier 2015). Chaque espèce est représentée par une ellipse de couleur différente.

4. LA VARIATION INTRASPÉCIFIQUE ET INTERSPÉCIFIQUE DES TRAITS

La majorité des études basées sur les traits fonctionnels considèrent une seule valeur de trait par espèce, faisant l'hypothèse que la variation intraspécifique des traits (VIT) est négligeable par rapport aux différences des valeurs moyennes de traits entre espèces (Fig. 3). Cependant, il a été suggéré récemment que la VIT pouvait être considérable au sein des espèces, en particulier le long de gradient environnementaux (Albert et al 2010, Lepš et al 2011, Kichenin et al 2013). Il semblerait qu'en moyenne, la VIT représente environ 25% de la variation totale

des traits des communautés (Siefert et al 2015). Cette valeur est cependant variable en fonction du trait, de l'échelle considérée et du type de gradient. Ainsi, certains traits, tels que les teneurs tissulaires en nutriments ou la hauteur sont extrêmement variables le long de gradients environnementaux (Kazakou et al 2014, Siefert et al 2015). A l'inverse, certains traits de forme comme la longueur, la largeur ou l'épaisseur foliaires sont beaucoup plus conservés (Siefert et al 2015). Outre la variation populationnelle, il existe également une variation intra-individuelle des traits en fonction de la position de l'organe (Gunn et al 1999). Enfin, les fluctuations temporelles peuvent également être une source importante de variation de la valeur des traits. En une année, l'amplitude de la VIT de certaines espèces peut dépasser l'amplitude de variations interspécifiques dans la communauté (Fajardo & Siefert 2016).

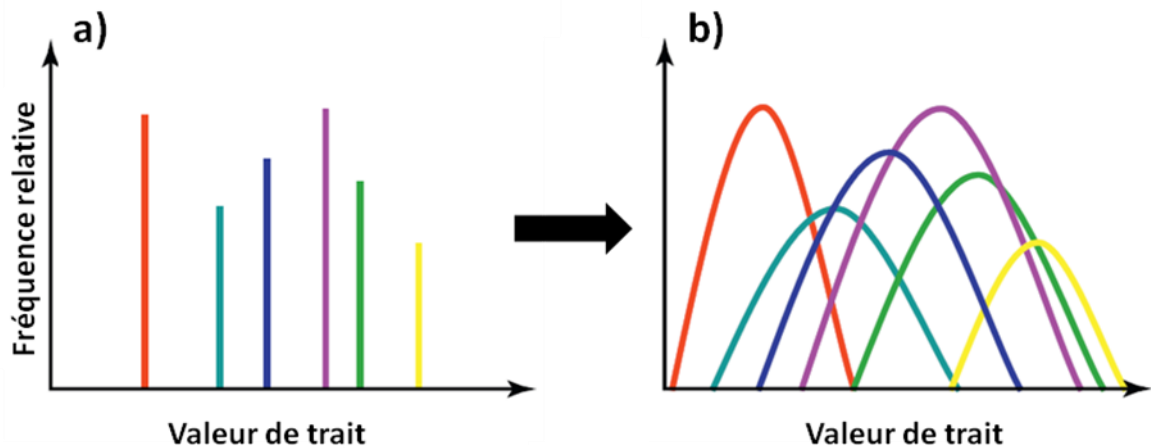


Figure 3 : Comparaison des répartitions de valeurs d'un trait dans une communauté en utilisant une seule valeur par espèce (a) ou en prenant en compte la variabilité intraspécifique des traits (b). Chaque espèce est représentée par une couleur (d'après Violle et al 2012).

La VIT peut avoir plusieurs origines, les plus importantes étant la plasticité phénotypique et des différences génétiques. La plasticité phénotypique désigne la situation où un génotype produit des phénotypes différents dans des conditions environnementales différentes (Sultan 2000). Il s'agit souvent du premier mécanisme de réponse des espèces à des variations environnementales (Schlichting 1986). Elle peut impliquer des variations de valeur de trait considérables dans certaines conditions conduisant parfois à remettre en question certaines décisions taxonomiques (Davis 1983, Kaplan 2002). Cependant, tous les traits et toutes les populations d'une espèce ne montrent pas nécessairement le même potentiel de plasticité phénotypique. Les traits racinaires peuvent montrer une grande plasticité phénotypique, modifiant par exemple le degré de ramification racinaires afin de prospecter un plus grand

volume de sol en cas de carence en azote (Eissenstat et al 2015). D'autre part, certains traits importants peuvent être canalisés par la variation conjointe d'autres traits (Ryser et al 2000, Sultan 2000). En particulier, les traits floraux sont souvent plus conservés que les traits d'architecture ou que les teneurs en certains nutriments qui peuvent fortement varier avec la composition du sol. La plasticité phénotypique est souvent considérée comme une réponse aux contraintes abiotiques mais peut également être induite par des interactions biotiques, la présence ou l'identité du voisin pouvant influencer le phénotype d'un individu (Callaway et al 2003, Fridley et al 2007).

L'adaptation locale est l'ensemble des mécanismes grâce auxquels une population, génétiquement distincte, possède une valeur sélective supérieure dans son milieu d'origine que dans un autre environnement (Kawecki & Ebert 2004). Les composantes génétiques et plastiques de la variation phénotypique se quantifient par la culture en jardin commun d'individus provenant de conditions environnementales différentes (p.ex. Bresson et al 2008, Gao et al 2018). Les différences génétiques mènent ainsi à des différences phénotypiques entre populations isolées et l'adaptation locale peut être à l'origine d'une part importante de la variation de traits fonctionnels le long de gradient environnementaux. La probabilité pour une population de plantes de développer de l'adaptation locale dépend essentiellement de la taille de la population, de la forme de vie et de l'hétérogénéité spatiale et temporelle (Leimu & Fisher 2008). Des populations isolées peuvent ainsi présenter des valeurs de traits différentes mais également des proportions de plasticité phénotypique et d'adaptation locale variables. Quel que soit le mécanisme impliqué, l'étendue de la variation intraspécifique des traits serait positivement corrélée à la largeur de la niche des espèces, une plus grande diversité de valeur de traits permettant de coloniser une plus grande diversité de conditions environnementales (Sides et al 2014).

Au sein des espèces, on observe donc une grande variabilité des traits en réponse à la variabilité des conditions environnementales. Cependant, toutes les espèces répondent-elles de manière comparable aux variations environnementales ? Dans des conditions de limitation des ressources, des espèces différentes montrent des directions de variations similaires réduisant l'effet du stress sur les fonctions vitales (Freschet et al 2018). Plus généralement, le long de gradients environnementaux, plusieurs études montrent que les espèces dont les traits varient significativement ont des directions de variation similaires (p.ex. Kichenin et al 2013). En comparant un grand nombre d'études le long de gradients d'altitude, Read et al (2014) montrent que la variation intraspécifique des traits suit la variation globale de la communauté. Ceci suggère que les mécanismes de sélection de phénotypes particuliers agissent autant au niveau intra qu'interspécifique.

5. LA QUANTIFICATION DES PROCESSUS D'ASSEMBLAGE DES COMMUNAUTÉS

Les organismes interagissant entre eux et avec leur environnement abiotique par l'intermédiaire de leurs traits fonctionnels et les différents processus d'assemblage laissent des traces dans la structure des traits de cette communauté. La quantification des valeurs de traits et de leur diversité le long de gradients environnementaux est une étape importante de la caractérisation et de la compréhension des mécanismes d'assemblages (Laughlin & Laughlin 2013). En particulier, la balance entre les phénomènes abiotiques et biotiques modèle la diversité des traits observés dans une communauté locale et il a été proposé que la comparaison de plusieurs indices de diversité fonctionnelle avec les résultats attendus sous une hypothèse nulle permettraient de mettre en évidence ces processus (Villéger et al 2008, Laliberté & Legendre 2010, Mason & de Bello 2013).

a. La valeur moyenne des traits d'une communauté

Les valeurs de traits sont influencées par l'environnement et certains patterns de variation sont d'ailleurs bien connus. Par exemple, les feuilles des plantes sont généralement plus petites, plus épaisses et possèdent une plus grande teneur en matière sèche dans des conditions chaudes, sèches et sur des sols moins profonds (Ehleringer 1985, Cornwell & Ackerly 2009, Bernard-Verdier et al 2012). Selon l'« **hypothèse du ratio de masses** » (Mass Ratio Hypothesis, Grime 1998, Garnier et al 2004), les espèces les plus abondantes dans une communauté sont celles dont les traits sont les mieux adaptés à l'environnement local. Cette hypothèse centrale en écologie fonctionnelle se traduit en pratique par l'utilisation de la moyenne des traits pondérée par l'abondance des espèces, afin de prendre en compte le succès des différents phénotypes au sein des communautés (Garnier et al 2004, Diaz et al 2007). La variation de la valeur moyenne pondérée d'un trait dans les communautés le long d'un gradient environnemental reflète donc le changement de l'optimum de la valeur de trait le long de ce gradient (Fig. 5a).

b. La variance des traits dans la communauté

Cependant, outre la valeur centrale, la variance des traits dans la communauté a également de l'importance pour comprendre les mécanismes d'assemblage. On admet généralement que dans des conditions contraignantes, un filtre abiotique aura tendance à sélectionner des traits qui sont plus proches d'un optimal bien adapté à ces conditions et ainsi diminuer la **richesse fonctionnelle**, c'est-à-dire réduire la taille de l'espace multidimensionnel des traits observés (Weiher & Keddy 1995, Cornwell et al 2006, Swenson & Enquist 2007, Fig. 5b). De nombreuses études semblent confirmer cette hypothèse le long de gradients de stress variés tels que de disponibilité en eau (Cornwell & Ackerly 2009), de profondeur de sol (Bernard-Verdier et al 2012), de concentration du sol en N et P (Mason et al 2012), ou d'altitude (Xu et al 2017). A contrario, les interactions biotiques, qu'elles soient positives ou négatives, induisent une plus grande diversité de traits dans la communauté et sélectionnent généralement des combinaisons de traits suffisamment différentes entre elles, ce qui

augmente la **divergence fonctionnelle** ou diminue la **redondance fonctionnelle** de la communauté (p.ex. Cornwell & Ackerly 2009, Kursar et al 2009, Swenson & Enquist 2009, Götzenberger et al 2012, HilleRisLambers et al 2012, Fig. 5d). Les filtres environnementaux et la différenciation de niche agissent de concert mais sur des axes de la niche différents (Chesson 2000), justifiant l'importance d'étudier plusieurs axes fonctionnels différents (Maire et al 2012). Cependant, les patterns observés sont loin d'être toujours clairs. Même dans des environnements stressants où un effet de filtre réduit considérablement l'espace des traits possible, une grande diversité de stratégies peut être représentée dans la communauté (Le Bagousse-Pinguet et al 2017). De plus, le long d'un gradient d'altitude ou de ressources, certains traits peuvent montrer une convergence dans les milieux les plus contraignants ou les plus bénins (Kergunteuil et al 2018, Bernard-Verdier et al 2012). En effet, tous les traits ne réagissent pas de manière similaire aux gradients environnementaux et l'étude de chaque trait indépendamment des autres, le long de gradients environnementaux, permet sans doute une meilleure compréhension des mécanismes d'assemblage que l'utilisation d'indices multivariés combinant des traits différents (Butterfield & Suding 2013).

c. La covariance des traits

Il faut néanmoins noter que le phénotype d'un individu est fondamentalement multivarié. Il est le résultat de l'intégration d'un grand nombre de traits. Le phénotype peut donc montrer des compromis, à l'échelle intra- ou interspécifique se traduisant par des corrélations entre les valeurs de traits. La variation de cette **coordination des traits** pourrait donc être le signal de mécanismes d'assemblages. Par exemple, au sein d'une espèce (*Phlox drummondii*), les corrélations entre traits sont beaucoup plus nombreuses en conditions de déficit en eau qu'en conditions normales (Schlichting 1986). Pour cela, il a été proposé que les covariations entre traits au sein des communautés étaient aussi importantes que les valeurs de traits elles mêmes pour comprendre les interactions entre espèces et la diversité des réponses fonctionnelles aux stress environnementaux (Dwyer & Laughlin 2017a,b). En effet, une hypothèse intéressante est qu'en en fonction d'un stress environnemental croissant, le nombre de combinaisons de traits conduisant à des phénotypes viables diminue (Fig. 5c). Des conditions abiotiques plus contraignantes imposent des compromis plus stricts sur le phénotype et une plus grande covariation entre certains traits (Fig. 4). Cette hypothèse, bien que testée à plusieurs reprises au niveau intraspécifique reste très peu étudiée au sein des communautés, à l'échelle interspécifique.

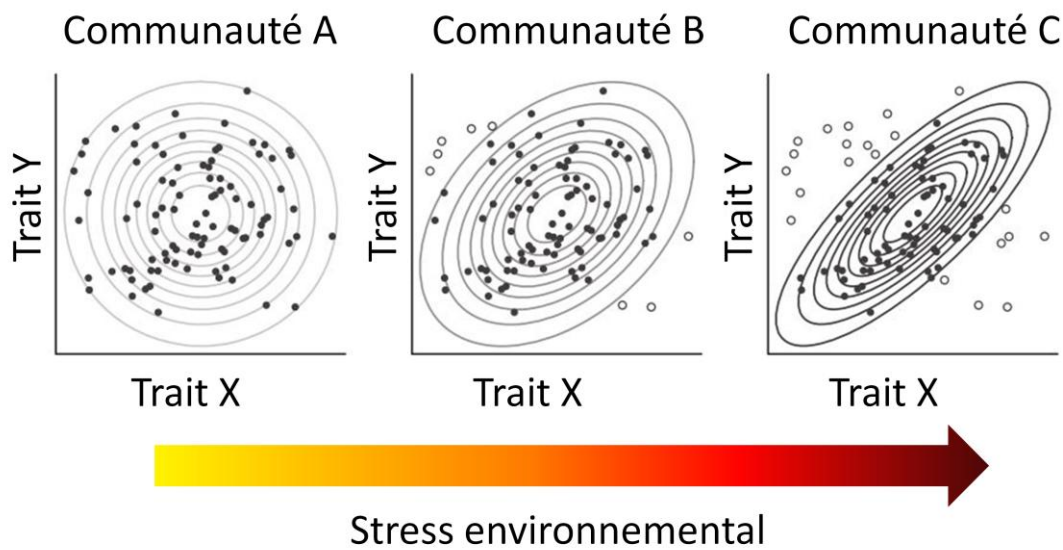


Figure 4 : Hypothèse d'une variation de la coordination croissante entre traits le long d'un gradient de stress environnemental (d'après Dwyer & Laughlin 2017).

d. Critiques à propos des méthodes utilisées

Récemment, des critiques ont été formulées à l'encontre des indices classiques de diversité fonctionnelle et une approche plus globale de mesure des densités de probabilité de traits a été proposée (Swanson et al 2015, Carmona et al 2016). Cependant, bien que théoriquement plus précise et plus proche de la définition originale de la niche fonctionnelle, cette approche nécessite un échantillonnage important (intraspécifique et intra-individuel) et n'est applicable qu'à des jeux de données conséquents, contenant beaucoup de mesures pour chaque espèce et capturant l'essentiel de la diversité intra et interspécifique ainsi que de la variabilité environnementale. D'autre part, les forces déterminant l'assemblage des communautés peuvent être variables au cours du temps, par des différences phénologiques ou des perturbations pouvant influencer la composition fonctionnelle de la communauté (Li et al 2015, Kuczynski & Grenouillet 2018).

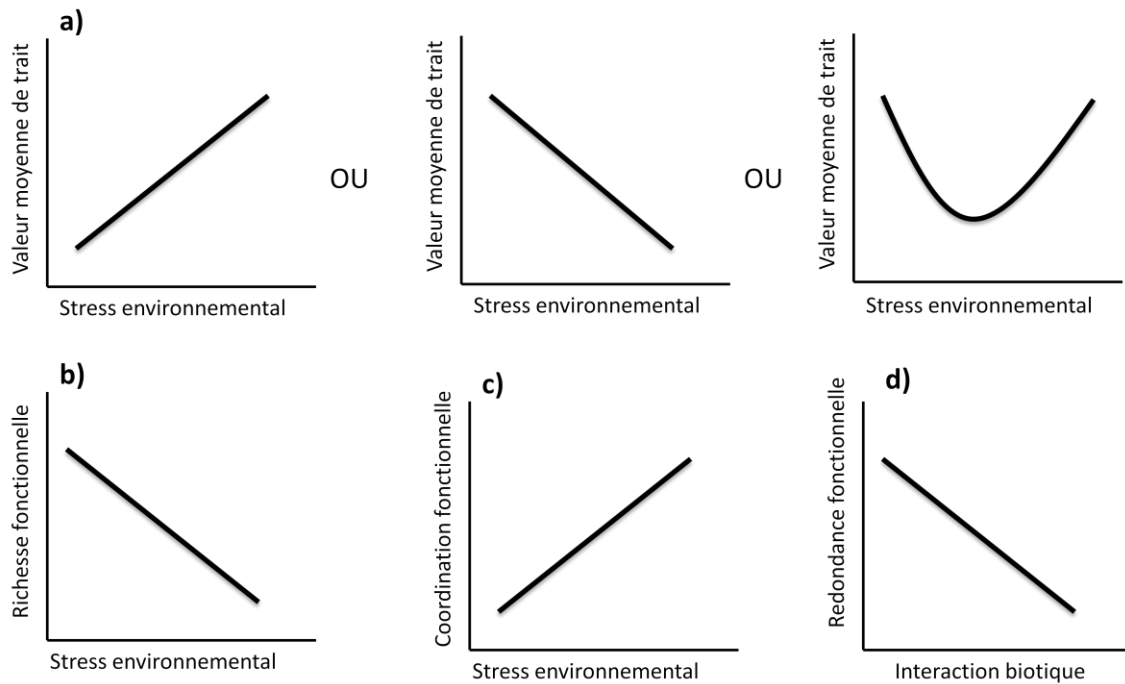


Figure 5 : Synthèse des variations attendues de différents indices de diversité fonctionnelle le long de gradients de stress abiotiques (a, b, c) et d'interaction biotique (d). La valeur moyenne d'un trait peut augmenter, diminuer ou montrer une relation quadratique avec un gradient environnemental (a). Théoriquement, la richesse fonctionnelle diminue (b) et la coordination fonctionnelle augmente (c) avec l'intensité du stress. La redondance fonctionnelle (recouvrement de niche) diminue lorsque la force des interactions biotiques augmente (d).

6. APPROCHE PHYLOGÉNÉTIQUE

Parallèlement au développement de l'écologie fonctionnelle, un autre courant d'étude des mécanismes d'assemblage, basé sur les relations phylogénétiques entre espèces, s'est développé (Webb 2000, Cadotte & Davies 2016). Cette approche est basée sur l'hypothèse que des espèces proches ont des niches écologiques plus proches qu'attendues par hasard. Selon la théorie de la coexistence, elles entreront donc plus fortement en compétition que des espèces phylogénétiquement éloignées (« **Competition-Relatedness Hypothesis** », Cahill et al 2008). Cette hypothèse peut être testée par la quantification du conservatisme des traits fonctionnels dans une phylogénie (Webb et al 2002, Adams 2014).

L'utilisation de distances phylogénétiques (PD) peut s'avérer intéressante dans des conditions où les liens supposés entre traits fonctionnels et environnement sont difficiles à comprendre. En effet, si le conservatisme de niche est suffisamment fort au cours de l'évolution, les distances phylogénétiques peuvent capturer une grande partie de l'information concernant les niches des espèces (Webb et al 2002, Cavender-Bares et al 2004). L'un des avantages principaux de cette méthode est qu'elle permet d'éviter le choix de traits fonctionnels à étudier, qui peuvent ne pas avoir de lien direct avec les processus d'assemblage

étudiés (voir ci-dessus). Certaines études ont en effet montré que, lorsque les traits d'intérêt sont fort conservés phylogénétiquement et en l'absence de processus stochastiques d'assemblage (processus neutres) les indices PD prédisent très bien les mécanismes d'assemblage (Kraft et al 2008, Kembel 2009).

Cependant, les critiques à l'encontre de cette théorie sont également nombreuses. En effet le pré-requis principal à ce type d'étude, à savoir l'existence d'un fort conservatisme phylogénétique des traits, reste relativement peu testé (Srivastava et al 2012, Mason & Pavoine 2013). De plus, l'hypothèse d'interactions compétitives plus fortes entre taxons proches a été vivement critiquée (Mayfield & Levine 2010). Pavoine et al (2013) ont montré que la diversité phylogénétique ne prédisait pas bien la diversité fonctionnelle et la structure des communautés le long d'un gradient de salinité. Ils montrent que la richesse taxonomique répond mieux que les différents indices de diversité phylogénétique mesurés. D'autre part, ils montrent que de nombreux indices sont biaisés par la richesse spécifique. Mason et al (2013) montrent également sur base de simulations prenant en compte plusieurs modèles d'évolution de traits, que les PD ne prédisent pas bien les mécanismes d'assemblages basés sur les traits mesurés.

De nombreuses études de terrain ont comparé la puissance des analyses phylogénétiques et fonctionnelles pour l'étude des mécanismes d'assemblage. Par exemple, Bernard-Verdier et al (2013) montrent que les indices PD ne capturent pas les patterns de variation de la communauté mesurés par les indices de diversité fonctionnelle le long d'un gradient de stress hydrique et nutritif, bien que les traits semblent conservés phylogénétiquement. Il en résulte que l'étude des patterns phylogénétiques le long de gradients environnementaux ne suffit pas à la compréhension des mécanismes d'assemblages (de Bello et al 2015, Gerhold et al 2015).

Le nombre sans cesse croissant de méthodes, d'indices de PD et de modèles nuls pour tester les hypothèses d'assemblage jette un doute quant à l'utilité de l'approche. En effet, un grand nombre d'indices apportent une information redondante, et certains sont peu efficaces et/ou sont entachés d'une erreur de type I peu acceptable (Miller et al 2016). Cependant, un certain nombre de métriques peuvent apporter des informations complémentaires et indépendantes des grands axes de diversité fonctionnelle : la richesse, la divergence et la régularité phylogénétiques (Tucker et al 2017). De plus, il semblerait que les corrélations entre diversité fonctionnelle et phylogénétique sont d'autant plus fortes que le nombre de traits étudiés est élevé (Tucker et al. 2018), confirmant par là, la nature multidimensionnelle de la niche capturée par ces indices et l'importance de considérer suffisamment de traits dans les analyses fonctionnelles.

III. Les communautés des sols métallifères : des modèles d'étude originaux

Tous les processus décrit précédemment ont été abondamment étudiés le long de gradients de conditions climatiques, de ressources, de succession ou de perturbations (voir ci-dessus). Cependant, certains environnements restent complètement sous étudiés d'un point de vue de l'assemblage de leurs communautés. Parmi ceux-ci on retrouve les gradients naturels de toxicité et, en particulier, due à des contaminations métalliques.

1. GÉNÉRALITÉS

Les sites métallifères sont des zones où le sol contient des teneurs élevées en métaux. Ils représentent des habitats particulièrement contraignants pour le développement de la végétation (Antonovics et al 1971). Ces sols sont caractérisés par des teneurs en métaux pouvant atteindre 10 000 fois les quantités présentes dans les sols normaux (Ernst 1974). On peut diviser les sites métallifères en deux types sur base de leur origine : 1) les sites d'origine anthropogène sur lesquels la concentration élevée en métal du sol provient de dépôts aériens ou de déchets d'industrie minière, 2) les sites naturellement contaminés en métaux, qui proviennent alors de la dégradation de la roche mère riche en minerais. Ces deux types d'environnements sont souvent fort différents d'un point de vue des propriétés physico-chimiques du sol et de la biocénose. En Europe, la plupart des sites métallifères sont issus de pollutions provoquées par l'industrie minière (Baker et al 2010). Récemment certains sols cultivés ont également été ajoutés à la liste des sites potentiellement enrichis en métaux, par l'utilisation prolongée de fongicides contenant du cuivre (Micó et al 2006, Adrees et al 2015). Ces sites anthropogènes sont souvent d'origine récente (Baker et al 2010).

Cependant, il existe également de nombreux types de sols métallifères naturels, provenant de l'altération d'une roche mère riche en métaux. Les sols métallifères naturels les plus communs à la surface de la planète sont les sols ultramafiques, enrichis en nickel, fer et magnésium (Brady et al 2005). Souvent, la teneur élevée en métal du sol est accompagnée d'autres contraintes comme un sol excessivement drainant et de multiples déficiences en nutriments (Brady et al 2005, Kazakou et al 2008). De plus, de nombreux autres paramètres édaphiques peuvent influencer la disponibilité des éléments minéraux et donc la toxicité des métaux (p.ex. Shi et al 2018). Sur la plupart des sites métallifères, la teneur en métaux disponibles dans le sol est toxique pour la grande majorité des plantes. Cependant, à cause de l'interaction avec d'autres paramètres édaphiques, la teneur totale en métaux du sol n'est généralement pas un bon indicateur de la toxicité (Baker & Walker 1989, Peijnenburg et al 2000, Lange et al 2014). Par exemple, dans la flore des îles Britanniques, les sites métallifères acides portent une végétation beaucoup plus maigre et éparse que les sites développés sur roche calcaire, qui arborent une végétation quasiment similaire aux prairies non contaminées

environnantes (Baker & Proctor 1990). Les teneurs en matière organique, en carbonates, le pH ou les teneurs en autres éléments chimiques contribuent à ou atténuent la toxicité des éléments métalliques en excès dans le sol (Lange et al 2014, Violante et al 2010).

Les plantes se développant sur des sols riches en métaux sont appelées **métallophytes** et montrent divers degrés de **tolérance aux métaux**. Cette tolérance aux métaux peut être définie comme la capacité à survivre et se reproduire dans des conditions qui sont toxiques ou défavorables aux autres organismes (Macnair et al 2000). La tolérance est difficile à mesurer en pratique et sa démonstration passe généralement par des expériences de culture sur des substrats contenant des concentrations diverses en métaux (p.ex. Baker et al 1994, Faucon et al 2012, Lange et al 2017, 2018). En particulier, la caractérisation de traits fonctionnels directement reliés aux mécanismes de tolérance reste sous-étudiée car les liens entre valeurs de traits et processus physiologiques de tolérance sont inconnus.

Parmi les plantes hautement tolérantes, on trouve essentiellement deux mécanismes de tolérance (Baker et al 1981, Dahmani-Mueller et al 2000, van der Ent 2013) : l'**exclusion** et l'**accumulation** des métaux. Les plantes « exclueuses » maintiennent des teneurs foliaires en métaux faibles sur une large gamme de teneurs en métaux dans le sol. Les « accumulatrices », par contre, sont capables de tolérer des concentrations très élevées en métaux dans leurs feuilles. Certaines accumulatrices sont d'ailleurs capable d'hyper-accumuler les métaux à des concentrations supérieures à celles retrouvées dans le sol (Baker et al 1981, van der Ent et al 2013). Certains métaux (zinc, nickel) peuvent être transportés activement des racines aux parties aériennes et stockés dans les vacuoles (Krämer 2010). Cependant, pour d'autres métaux tels que le cobalt, les mécanismes en jeu sont encore presque totalement inconnus (Lange et al 2016). Cette propriété d'hyper-accumulation est rencontrée chez environ 500 espèces de plantes sur la planète (Pollard et al 2014). En réalité, il existe un continuum de stratégies dont les deux précitées sont des extrêmes. En effet, l'exclusion des métaux se retrouve chez de nombreuses espèces jusqu'à un certain seuil de toxicité, au delà duquel, la concentration en métal dans la plante augmente et provoque la mort de celle-ci (Baker 1981). L'étude de ces stratégies de tolérance à une échelle fine peut donc nous informer sur les mécanismes de maintenance d'une diversité d'espèces dans une communauté. Par exemple, la grande variabilité en termes d'accumulation entre plantes d'un même site serait en grande partie due à de la variabilité édaphique au sein des sites (Frérot et al 2017). Cette micro-variabilité environnementale pourrait également influencer la répartition spatiale des espèces au sein d'un site ou jouer un rôle dans la médiation des interactions abiotique.

Les communautés de plantes se développant sur des sols contaminés en métaux subissent donc des pressions de sélections très fortes, la toxicité métallique agissant comme un filtre environnemental puissant (Antonovics et al 1971, Ernst 1974). Cependant, on observe des différences importantes entre type de site métallifère. Les sites secondaires montrent généralement une végétation très basse et pauvre en espèces (Baker et al 2010). La plupart

des taxons qui s'y développent sont des écotypes ou des formes, plus ou moins tolérantes, d'espèces présentes dans le pool régional. Le développement d'une végétation sur les sites métallifères dépend des qualités intrinsèques du sol, mais également de la capacité des populations de plantes des sols non contaminés aux alentours, à développer des caractères de tolérance aux métaux (Bradshaw 1984, Ernst 2006). Les communautés de plantes se développant sur des sites primaires (naturels) sont par contre fort variables, en fonction du métal contaminant, des interactions avec d'autres paramètres du sol, mais également de la région biogéographique ou de l'âge d'exposition de la roche (Baker et al 2010, Faucon et al 2016). Une caractéristique commune d'une majorité de sites naturels est néanmoins l'absence presque totale d'arbres (Shaw 1989, Baker et al 2010) sauf sur les sites ultramafiques de Bornéo (van der Ent et al 2015). Ces communautés végétales contrastent souvent avec les végétations avoisinantes d'un point de vue de la physionomie et de la composition en espèces. En plus de l'effet du biotope sur les espèces présentes, les interactions biotiques y sont donc très certainement originales. On montre notamment que des différences dans les communautés d'herbivores influencent l'évolution des défenses chimiques chez certaines plantes (Noret et al 2007). De plus, les communautés microbiennes (pathogènes, mais également de mycorhizes) pourraient être très différentes de ce qui se rencontre sur des sols normaux (p.ex. Pérez-de-Mora et al 2006, Epelde et al 2010) et donc influencer la dynamique de la communauté. Dans des environnements aussi contraignants, on pourrait également s'attendre à observer une diminution de la compétition et une augmentation des phénomènes de facilitation (Frérot et al 2006). Les particularités locales de la pédogénèse, les paramètres physico-chimiques, la faune et la microflore du sol, ont donc sans aucun doute des effets importants sur la végétation qui s'y développe, mais ces processus restent largement inconnus.

Les sites métallifères peuvent être à l'origine de phénomènes de sélection pouvant aboutir, dans certains cas, à de la spéciation parapatrique (Ernst 1974). Il en résulte que les sites métallifères peuvent être riches en taxons endémiques (Anacker et al 2011, Anacker 2014, Faucon et al 2010) représentant parfois des portions importantes de la flore régionale (Kruckeberg & Kruckeberg 1990, Jaffré 1992). La toxicité du sol représente souvent une source de sélection suffisante pour contrer les flux de gènes arrivant, ce qui permet une évolution rapide (McNeilly & Bradshaw 1968). La niche réalisée étroite de certaines de ces endémiques pourrait être due à la perte de défenses chimiques induites par le nombre restreint d'herbivores et pathogènes sur ces sites (Noret et al 2005, 2007, Faucon et al 2012) ou à une faible aptitude compétitive (Hickey & McNeilly 1975).

La grande diversité de situations rencontrées par l'interaction des conditions locales abiotiques variables et de la diversité des communautés que l'on peut y retrouver rend donc le concept de site métallifère difficilement généralisable. Chaque site peut, sur base de ses caractéristiques propres, constituer un écosystème tout à fait original.

2. TRAITS ET ÉCOLOGIE FONCTIONNELLE DES MÉTALLOPHYTES

Bien qu'abondamment étudiées depuis le début du 20^{ème} siècle, les métalloytes l'ont souvent été du point de vue de leur tolérance aux métaux, et ceci de manière expérimentale. A ce jour, très peu d'études se sont penchées sur les traits fonctionnels des plantes des sols métallifères afin de comprendre les liens mécanistiques entre toxicité métallique et processus d'assemblage des communautés. Pourtant l'exposition aux fortes concentrations en métaux induit un stress physiologique chez les plantes, en réponse auquel divers traits morphologiques, physiologiques et génétiques ont évolué (Ovecka & Takac 2014).

Les quelques études qui ont considéré les traits de croissance et d'acquisition des ressources chez les métalloytes ont trouvé des caractéristiques fonctionnelles traduisant une grande résistance au stress. Celle-ci s'exprime par des plantes de petite taille, possédant de petites feuilles coriaces et velues, et un investissement important dans l'appareil racinaire (Wierzbicka & Panufnik 1998, Wierzbicka & Pielichowska 2004, Wójcik et al 2013, Adamidis et al 2014). Cependant, ces traits pourraient être des réponses à des caractéristiques physico-chimiques indépendantes de la toxicité métallique, telles que la faible disponibilité en nutriments ou le drainage excessif dans les sols (Brady et al 2005). D'autre part, la grande majorité de ces études ont été réalisées sur un petit nombre d'espèces modèles et surtout dans des régions tempérées (Europe et Amérique du Nord). De plus, ces études considèrent généralement que les différences entre les sols métallifère et environnant sont suffisantes que pour ne pas prendre en compte la variabilité des paramètres édaphiques au sein de chaque site. On peut cependant suspecter que des variations locales des teneurs en métaux ou d'autres facteurs abiotiques ont un effet structurant sur la végétation. Un nombre encore plus restreint d'études se sont penchées sur les particularités morpho-fonctionnelles des communautés de métalloytes et leurs rapports direct avec les caractéristiques édaphiques locales. De plus, l'étude des mécanismes d'assemblage des communautés au sein de ces végétations reste largement inexplorée. Par exemple, une des explications les plus invoquées pour expliquer l'absence de taxons métallicoles sur des sols normaux est leur faible aptitude compétitive, qui résulterait d'un compromis adaptatif avec la tolérance aux métaux (Macnair et al 2000). Cependant, aucune étude caractérisant la diversité fonctionnelle de ces communautés et la covariation de valeurs de traits fonctionnels avec la toxicité métallique n'a été réalisée. En particulier les corrélations entre traits fonctionnels et traits impliqués dans le syndrome d'accumulation sont très peu connues. Enfin, les mécanismes exacts régissant l'assemblage de ces communautés hautement originales restent très hypothétiques.

3. LES COLLINES DE CUIVRE DU HAUT-KATANGA

a. Contexte pédo-géo-chimique

Au sud de la République Démocratique du Congo, dans le Haut Katanga (au sens biogéographique), la végétation dominante est une forêt tropicale sèche à caractère zambézien, dominée par le genre *Brachystegia* ; ce type de forêt claire est connu dans la région zambézienne sous le nom de « Miombo » (Schimtz 1971). Entre Kolwesi et Lubumbashi, la continuité de la couverture forestière est interrompue par des collines portant une végétation de savane, sans arbres : les « collines de cuivre » (Fig. 6b). Il existerait plus de 200 sites métallifères, chacun pouvant comporter plusieurs collines, formant « l'arc cuprifère katangais », prolongé par le « copperbelt » du nord de la Zambie. Ces sites se présentent donc généralement sous forme de collines, de pente forte variable, caractérisées par une faible surface (quelques dizaines à quelques centaines d'hectares) et une végétation herbacée contrastant avec le couvert forestier environnant (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963). Le sol de ces collines est enrichi en cuivre, souvent accompagné de cobalt et, plus rarement, de manganèse ou d'uranium (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963).

Ces métaux proviennent d'une roche mère sédimentaire ancienne, datée entre 590 et 820 Ma (El Desouky et al 2010). L'orogénèse Lufilienne aurait provoqué un plissement dans la région sous forme d'arc conférant à l'arc cuprifère sa morphologie actuelle (Kaya Muyumba et al 2015). Cependant la roche métallifère n'affleure que depuis 2 à 3 millions d'années (de Putter et al 2010). Le cuivre s'y trouve essentiellement sous forme d'oxydes et de carbonates en surface et de sulfures en profondeur (Pourret et al 2016).

Les collines montrent souvent une structure géomorphologique typique, avec l'affleurement le plus riche en métal situé juste sous le sommet (la crête rocheuse elle-même étant peu minéralisée). Sous cet affleurement, le haut de pente montre un sol superficiel très caillouteux, enrichi par colluvionnement de fragments de roche fortement minéralisée. La profondeur du sol augmente vers le bas de la pente en même temps que la teneur en gravier et autour de la colline existe une auréole de contamination par diffusion (« dembo d'empoisonnement ») (Duvigneaud et Denaeyer-De Smet 1963). Les teneurs en cuivre et en cobalt du sol augmentent du bas au sommet de la pente, atteignant des teneurs extractibles à l'acétate-EDTA de plus de 10 000 mg.kg⁻¹ pour le cuivre et 1000 mg.kg⁻¹ pour le cobalt (Séleck et al 2013, fig. 6a). En comparaison les teneurs en ces deux métaux sont inférieures à 10 mg.kg⁻¹ dans les sols de la forêt claire environnante (Lange et al 2017). Ces gradients de métaux peuvent être accompagnés de gradients de nutriments et de propriétés physiques et chimiques, tels qu'une augmentation du pH et de la teneur en matière organique (Séleck et al 2013). Cependant, les teneurs en métaux ainsi que les covariations avec d'autres paramètres du sol varient selon le site (Pourret et al 2016). Par contre, il semble que, contrairement à la plupart des autres types de sites métallifères dans le monde, en particulier les serpentines, les sols des collines de cuivre de Katanga ne sont pas carencés en nutriments, et contiennent

même des teneurs plus élevées que les sols environnants en certains nutriments essentiels, particulièrement l'azote, calcium et le phosphore (Séleck et al 2013). Outre les concentrations totales ou extractibles, la diversité des formes du cuivre et du cobalt n'est pas homogène sur l'ensemble d'un site, ce qui pourrait également influencer la composition des communautés de plantes, par une plus grande mobilité de ces métaux dans le sol de certains sites (Pourret et al 2016).

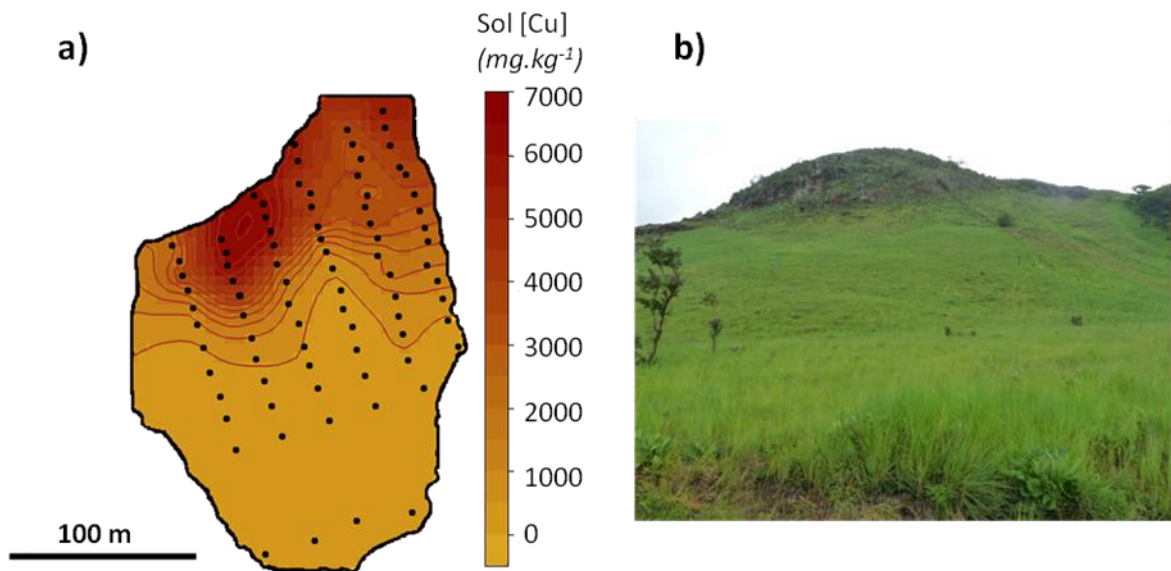


Figure 6 : Colline de Fungurume V : a) représentation par krigeage des teneurs en cuivre dans le sol (extraction à l'acétate-EDTA), b) allure générale de la colline et physionomie de la végétation. La couverture rocheuse au sommet de la colline est pauvre en cuivre et n'est pas considérée dans les relevés ni dans le reste de la thèse.

b. Les communautés de plantes des collines de cuivre

Ces conditions particulières ont sélectionné une végétation tout à fait unique. La diversité des micro-habitats a permis le développement de diverses communautés de plantes très contrastées le long du gradient de cuivre (Ilunga et al 2013, Séleck et al 2013). Ces écosystèmes sont donc généralement structurés en 4 zones possédant des cortèges d'espèces caractéristiques (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Séleck et al 2013, Fig. 7).

En haut de pente, une végétation basse à aspect de « steppe » se développe sur les concentrations en cuivre et cobalt les plus élevées (2500 – 10 000 mg.kg⁻¹). Ces végétations sont caractérisées par un taux de recouvrement inférieur à 100% et une abondance des roches affleurantes. Parmi les espèces caractéristiques de cette zone, on retrouve *Ascolepis metallorum*, *Bulbostylis cupricola*, *B. pseudoperennis* (Cyperaceae), *Eragrostis racemosa*, *Sporobolus congoensis* (Poaceae), *Anisopappus chinensis* (Asteraceae) ou *Haumaniastrum robertii* (Lamiaceae).

A mi-pente, une « savane-steppique » se développe sur des sols contenant des teneurs en cuivre moins élevées (500 – 2500 mg.kg⁻¹). La végétation est constituée essentiellement de grandes graminées et de géofrutex (plantes ligneuses à tronc souterrain et appareil aérien annuel). Les espèces les plus fréquentes sont *Loudetia simplex*, *Andropogon schirensis*, *Monocymbium cerasiiforme* (Poaceae), *Acalypha cupricola* (Euphorbiaceae), *Cryptosepalum maraviense* (Fabaceae), *Hibiscus rhodantus* (Malvaceae).

A la base de la colline, une auréole de contamination (« Dembo d’empoisonnement ») constitue une zone de transition avec la forêt claire. Les teneurs en cuivre y sont plus faibles (50-500 mg.kg⁻¹). La végétation est essentiellement constituée de grandes Poaceae (*Trystachya spp.*, *Zonotriche spp.*) et de géofrutex de la famille des Fabaceae (*Droogmansia spp.*, *Dolichos trinervatus*, *Adenodolichos rhomboideus*). On peut également y trouver quelques arbustes chétifs : *Uapaca robynsii* (Phyllantaceae), *Olax obtusifolia* (Olacaceae), formant une frange arbustive à la lisière de la forêt claire.

Sur la crête de certaines collines s’ajoute aux végétations précitées une végétation chasmophytique se développant sur des roches siliceuses cellulaires (R.S.C) pauvres en cuivre et cobalt. Les teneurs en cuivre sont donc généralement faibles (entre 250 et 900 mg.kg⁻¹). La végétation caractéristique est composée de petites plantes à corne dont les racines s’insinuent dans les anfractuosités des roches. On y trouve notamment *Aeollanthus saxatilis* et *A. subacaulis* (Lamiaceae), *Euphorbia fanshawei* (Euphorbiaceae) ou *Batopedina pulvinellata* (Rubiaceae).

Les sites de pollution secondaire et les sites exploités (zones minières), possèdent une végétation différente des sites naturels. On y trouve essentiellement des communautés d’espèces annuelles (*Haumaniastrum katangense*, *B. pseudoperennis*), parfois accompagnées de graminées cespiteuses telles que *Andropogon schirensis*, *Loudetia simplex*, *Microchloa altera* (Ilunga et al 2015). L’un des caractères remarquables de ces végétations secondaires est l’absence totale de géofrutex et de géophytes, que ce soit sur des habitats secondaires jeunes ou anciens, ce qui suggère une évolution lente de ces végétations (Ilunga et al 2015). Ces différences dans la physionomie et la composition de la végétation sont certainement à attribuer à la plus grande mobilité des métaux (Pourret et al 2016), ainsi qu’à une modification des paramètres physiques du sol (augmentation de la teneur en gravier et diminution de la teneur en matière organique, par exemple).

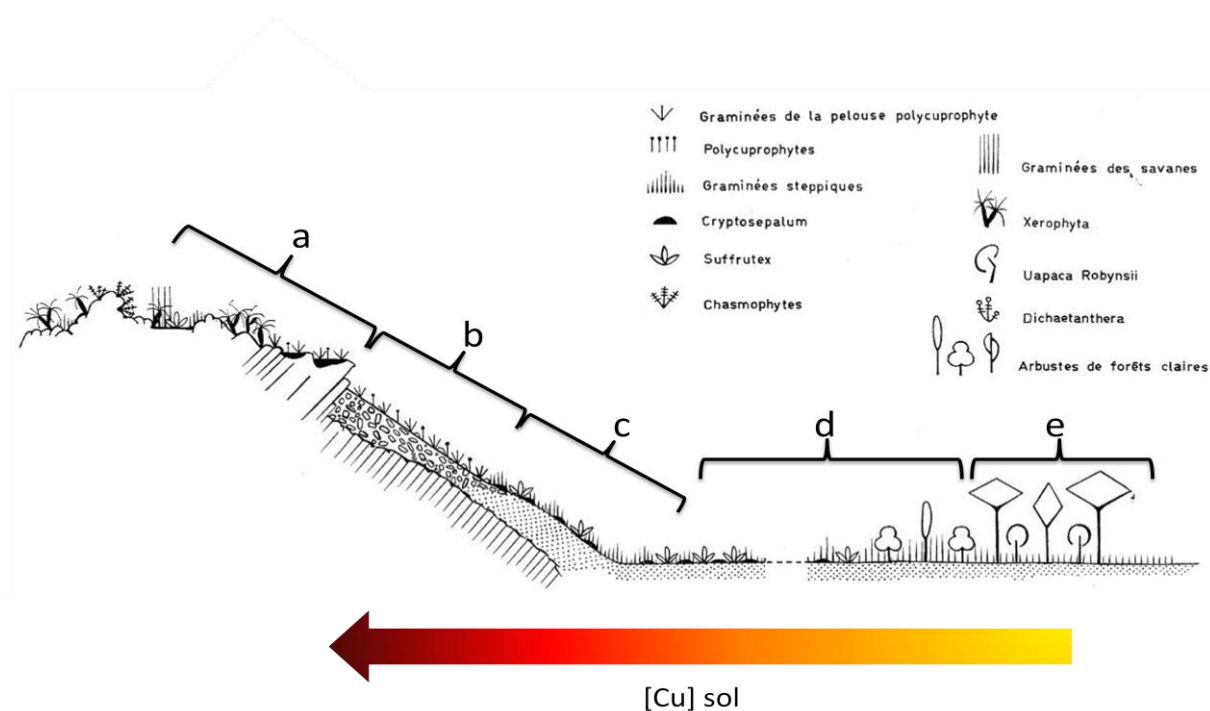


Figure 7 : Schéma représentant les cinq types de végétations principaux des collines de cuivres en relation avec la géomorphologie et la concentration en métal du sol. a) une végétation chasmophytique de crête sur affleurement rocheux pauvre en métaux (pas toujours présente), b) une « steppe » de haut de pente, c) une savane de bas de pente, d) une auréole de contamination, e) la forêt claire environnante. La teneur en cuivre du sol augmente de la base au sommet de la steppe. D'après Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963.

c. Les métalphytes des collines de cuivre

Duvigneaud & Denaeyer-De Smet (1963) ont bien montré que la plupart des espèces des savanes steppiques sur cuivre existent dans une série d'autres types de végétations au Katanga, tout spécialement les savanes sur sable kalaharien des Hauts-Plateaux, les dembos, les forêts claires (Miombo), les savanes de substitution, les affleurements rocheux et les hautes termitières. De plus, un certain nombre de rudérales et d'adventices des cultures peuvent participer à la végétation des sols légèrement contaminés. Bien que la plupart des espèces ne soient présentes que sur une partie restreinte du gradient, certaines ont une niche très large et se retrouvent sur une large gamme de teneurs en cuivre et en cobalt (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Séleck et al 2013, Fig. 8).

Comme on pourrait s'y attendre pour des sites isolés géographiquement et écologiquement, la flore des collines de cuivre comprend un certain nombre de taxa endémiques. (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Brooks et al 1985, Malaisse et al 2016). Parmi ceux-ci, on dénombre 32 endémiques strictes et 23 endémiques larges, c'est-à-dire des espèces dont plus de 75% des occurrences ont été relevées sur des sols contaminés en métaux (Faucon et al 2010, Malaisse et al 2016). Certaines de ces endémiques sont présentes sur la plupart des sites (*Ascolepis metallorum*, *Acalypha cupricola*) alors que d'autres sont restreintes à une

partie de l'arc cuprifère (*Haumaniastrum katangense*, *H. robertii*), quelques collines (*Commelina zigzag*, *Basananthe kisimbae*), voir à un seul site (*Crepidorhopalon perennis*, *Silene cobalticola*) (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Malaisse et al 1983, Malaisse & Bamps 2005, Malaisse et al 2016). Cependant, les sites métallifères du Katanga présentent un faible taux d'endémisme : les endémiques strictes ne représentent que 5% de la flore du cuivre du Katanga, les endémiques des sites serpentiniques de Californie représentent 25% de la flore de ces sites et les taxons endémiques des sites ultramafiques de Nouvelle-Calédonie représentent 66% de cette flore (Faucon et al 2010 et références y figurant). Cette différence serait due à une combinaison du jeune âge des sites, de modifications climatiques récentes, de la faible surface des sites ainsi qu'à des interactions entre paramètres édaphiques réduisant la toxicité des métaux et pouvant atténuer les pressions sélectives (Faucon et al 2016). Toutefois, le nombre d'endémiques pourrait avoir été mal évalué. En effet, beaucoup d'espèces de cette flore montrent un polymorphisme déconcertant, témoignant de processus évolutifs encore très actifs ; en l'absence de données moléculaires, la valeur taxonomique de beaucoup de ces morphotypes reste douteuse. Il est en effet remarquable que beaucoup d'endémiques possèdent un taxon apparenté, morphologiquement très proche, sur sol normal au Haut-Katanga (*Ascolepis metallorum*/*A. protea* ; *Haumaniastrum robertii*/*H. katangense* ; *Crepidorhopalon perennis*/*C. tenuis* ; *Faroa chalcophila*/*F. salutaris* ; *Silene cobalticola*/*S. burchelii* ; *Pandiaka metallorum*/*P. carsonii* ; *Cyanotis cupricola*/*C. longifolia*). Ces exemples suggèrent en tout cas que l'origine de la plupart des endémiques pourrait être assez récente. Il est toutefois intéressant de noter que la richesse en espèces endémiques est plus élevée sur les sols les plus riches en cuivre et cobalt (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Faucon et al 2010, Saad et al. 2012).

d. La niche des métallophytes du Katanga

En décrivant la végétation des collines de cuivre, Duvigneaud et Denaeyer-De Smet (1963) ont classé les espèces selon leur affinité apparente aux métaux dans le sol. Ils définissent ainsi les catégories suivantes :

a) Les cuprophytes associées fidèlement aux sols contaminés en cuivre. Ils peuvent être à large distribution ou avoir une répartition localisée. On distingue :

- Les polycuprophytes qui sont les plantes associées aux sols les plus riches en cuivre (p.ex. *Haumaniastrum robertii*, *Crepidorhopalon perennis*, *Crotalaria cobalticola*, *Ascolepis metallorum*),

- Les oligocuprophytes qui ont leur optimum sur des teneurs intermédiaires, entre 800 et 2000 mg.km⁻¹ de cuivre dans le sol (p.ex. *Lopholaena deltombei*, *Gladiolus robiliartianus*),

- Les eucuprophytes capable de vivre sur des sols possédant une large gamme de teneurs en cuivre (p.ex. *Trimufetta likasiensis*),

b) Les cuprophiles, c'est-à-dire les espèces qui ne sont pas obligatoirement inféodées aux sols riches en cuivre mais qui semblent s'y retrouver, parfois préférentiellement (*Dissotis derriksiana*, *Haumaniastrum timpermanii*).

c) Les cuprorésistantes, qui sont des espèces à large distribution dans la région et qui sont capable de survivre sur des sols contenant des quantités importantes de cuivre (p.ex. *Crotalaria cornetii*, *Cyperus kibweanus*).

d) Les cuprifuges, qui sont les espèces du pool régional qui ne se retrouvent jamais sur les sols enrichis en cuivre.

D'autre part, un système de classification similaire a été réalisé pour l'affinité des espèces au cobalt. Cependant, ce système est une description idéalisée de la niche réalisée des espèces. Cette classification n'est pas basée sur de nombreuses analyses de sol mais repose essentiellement sur l'expérience de terrain et l'intuition des auteurs. En réalité, on observe toutes les combinaisons d'optimums et de largeur de niche le long du gradient de cuivre (Fig. 8). Certaines espèces telles que *Loudetia simplex*, *Andropogon schirensis* ou *Acalypha cupricola* se trouvent sur une large gamme de concentrations en cuivre et cobalt. Certaines autres sont cantonnées aux valeurs faibles (*Zonotriche decora*, *Crotalaria glauca*), élevées (*Haumaniastrum robertii*, *Anisopappus davyi*, *Ascolepis metallorum*) ou intermédiaires (*Gladiolus ledoctei*, *Euphorbia zambesiana*) en cuivre et cobalt (voir fig. 8). Même chez les métallophytes absolues (dont la répartition est strictement limitée aux sites contaminés), on observe des optima et largeurs de niches extrêmement variables (Boisson et al 2016c).

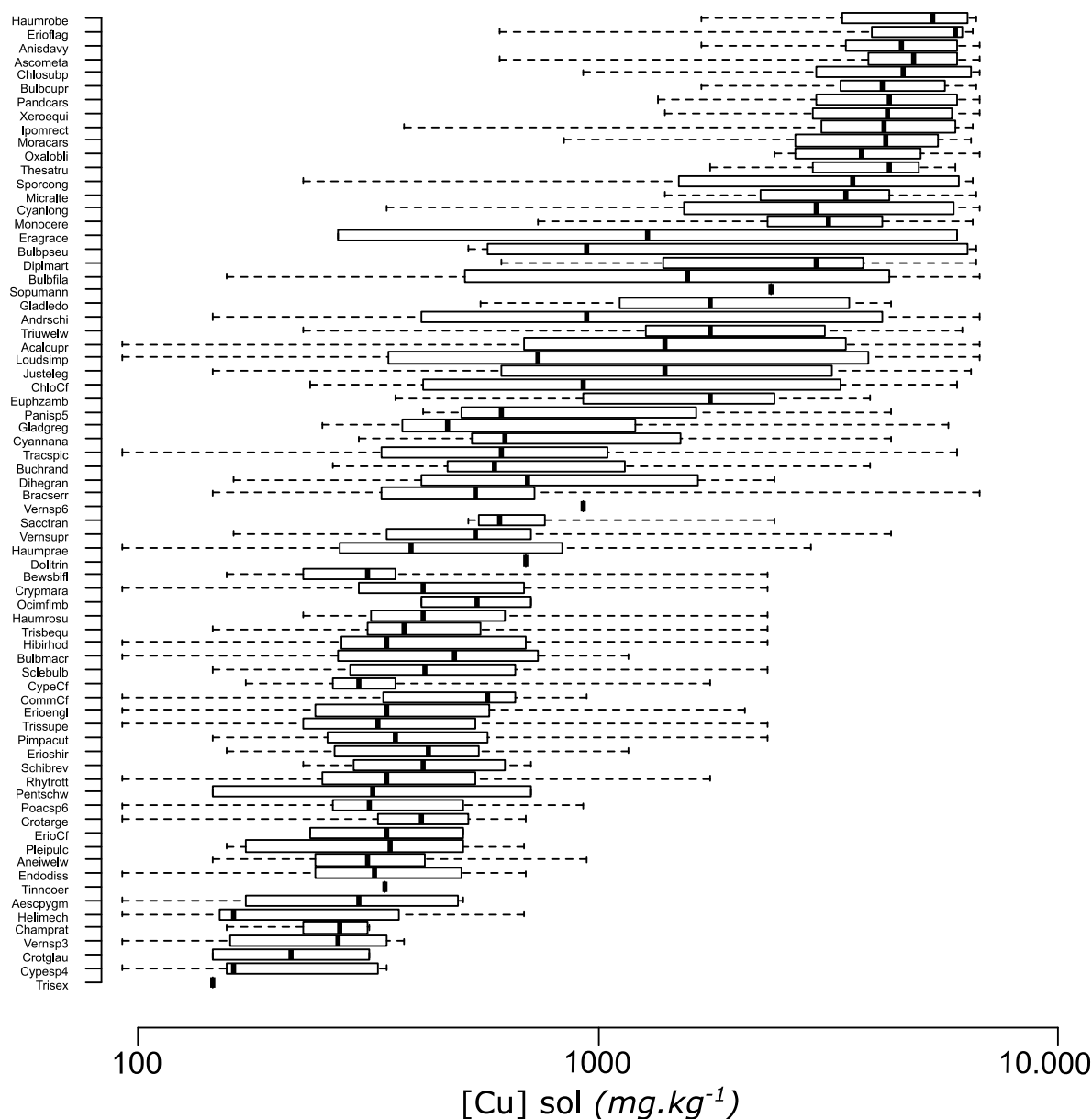


Figure 8 : Répartition de 72 espèces dominantes le long du gradient de cuivre de la colline de Fungurume V (RD Congo). Les espèces sont triées par la moyenne des teneurs en cuivre des sols sur lesquelles elles ont été observées sur cette colline (nombre d'observations variant de 2 (*Dolichos trinervatus*, *Sopubia mannii*, *Tristachya superba*) à 69 (*Andropogon schirensis*). Deux espèces (*Loudetia simplex* et *Acalypha cupricola*) sont présentes sur toute l'étendue du gradient du cuivre. Les lignes pointillées déterminent l'étendue de la répartition, le rectangle englobe 75% d'occurrence et la ligne verticale dans le rectangle indique la médiane. Figure réalisée sur base des données de Séleck et al (2013). Codes espèces : voir annexe 2.

Il a été suggéré que la variabilité de ces niches réalisées est le reflet de limites de tolérance différentes aux hautes concentrations en métaux. Cette hypothèse a été testée chez quelques espèces de la flore du cuivre. Baker et al (1983) montrent qu'il existe une corrélation positive entre la tolérance au cuivre et au cobalt mesurée en culture et la niche réalisée *in situ* chez 3

espèces de du genre *Silene* au Katanga. Similairement, chez *Crepidorhpalon tenuis* et *C. perennis*, Faucon et al (2009) montrent que ces espèces semblent être positivement influencées par la présence de cuivre dans le sol. D'autre part, les populations métallocoles de *C. tenuis* (une métallophyte facultative) semblent être plus tolérantes à la présence de cuivre dans le substrat que les populations non métallocoles (Faucon 2009). Chez *H. katangense* et *C. perennis*, il semblerait qu'une teneur élevée en cuivre dans le sol favorise la croissance, traduisant donc un besoin en cuivre plus élevé que chez des plantes normales (Chipeng et al 2009, Faucon et al 2012). Plus récemment, comparant trois espèces du genre *Crotalaria* possédant des affinités différentes pour le cuivre *in natura*, Boisson et al (2016b) ne trouvent pas de différences dans les taux de germination en fonction de la concentration en cuivre dans le sol. A l'opposé, chez *H. katangense*, la germination semble tributaire de la présence de cuivre dans le sol alors que pour *H. robertii* la présence conjointe de cuivre et de cobalt semble nécessaire (Kabeya et al 2018). Au niveau intraspécifique, chez la métallophyte facultative *Anisopappus chinensis* les variations populationnelles de la tolérance au cuivre et au cobalt sont bien corrélées au niveau de contamination du site d'origine, traduisant donc l'effet d'une sélection directionnelle (Lange et al 2017). Ces réponses de tolérance aux métaux seraient influencées non seulement par la teneur totale mais également par les différentes formes de ces métaux retrouvés dans le sol (Lange et al 2014). Ainsi, chez les quelques espèces étudiées, la tolérance aux métaux semble influencée autant par l'espèce que par la population et les paramètres édaphiques covariant avec les teneurs en métaux. Il reste donc beaucoup de travail afin de mettre en lumière les mécanismes de tolérance au cuivre et au cobalt de ces espèces (Lange et al 2016).

Au sein de cette flore, certaines espèces sont également des accumulatrices de métaux avérées : *Silene cobalticola* ou *Cyanotis longifolia* sont des accumulatrices de cobalt pouvant contenir plus de 1000 mg.kg⁻¹ de cobalt dans leurs feuilles sèches en milieu naturel (Malaisse et al 1979, Lange et al 2016). De plus, *Haumaniastrum robertii* et *H. katangense* accumulent le cobalt en conditions expérimentales (Kabeya et al 2018). *H. robertii*, *Acalypha cupricola*, *Pandiaka carsonii*, *Crepidorhpalon tenuis* et *C. perennis* sont des accumulatrices de cuivre dont les concentrations foliaires peuvent dépasser 1000 mg.kg⁻¹ dans les feuilles sèches (Lange et al 2016).

Il existerait également des différences populationnelles de traits fonctionnels au sein de la flore du cuivre du Katanga. Les différences morphologiques remarquables existant entre populations de la même espèce croissant sur différentes collines avaient déjà été soulignées par Duvigneaud & Denaeyer-De Smet (1963). Cependant, très peu de travaux ont tenté de comprendre les liens entre les traits fonctionnels et l'adaptation aux métaux. Chez *Anisopappus chinensis*, les plantes des populations métallocoles, qui maintiennent une concentration foliaire en cobalt plus faible en culture, ont une hauteur plus réduite (Lange et al 2017). Cependant, Baker et al (1983) montrent la relation inverse chez *Silene cobalticola* et *S. burchellii* : le taxon métallocole ne montre pas de diminution de biomasse alors qu'il possède des mécanismes d'exclusion du cuivre et du cobalt plus efficaces que le taxon non

métallicole. En contrepartie, chez *A. chinensis*, la surface foliaire spécifique semble conservée entre les populations et les différents traitements d'exposition aux métaux, traduisant un grand conservatisme de ce genre de trait en réponse à la toxicité métallique (Lange et al 2017).

e. Les services écosystémiques et la phytoremédiation

Les services écosystémiques sont au centre des discussions sociales et politiques actuelles. La compréhension du fonctionnement des écosystèmes est une étape clé de la valorisation de la biodiversité et de sa protection (Lavorel & Grigulis 2012, Diaz et al 2013). En effet, les processus écosystémiques connectent les processus écologiques au bien-être de l'humain (Daily et al 1997). De nombreuses études ont d'ailleurs tenté d'évaluer les corrélations entre plusieurs descripteurs fonctionnels des communautés végétales et les services rendus par ces communautés (de Bello et al 2010). A l'échelle mondiale, les services les plus étudiés sont le stockage du carbone atmosphérique, la production primaire et la rétention des nutriments dans les sols (de Bello et al 2010, Conti & Diaz 2013).

Cependant dans le cas des sites métallifères, d'autres services plus régionaux sont à envisager. Les métaux lourds libérés dans l'environnement, des suites de l'activité humaine, sont responsables de nombreuses perturbations physiologiques sur les plantes et les animaux (Nagajyoti & Sreekanth 2010, Mukhacheva 2017). En particulier, la contamination en métaux due à l'exploitation minière au Haut-Katanga (voir fig. 9) pose des problèmes de santé publique pour les habitants de la région, notamment par la consommation de poisson riche en métaux toxiques (Squadrone et al 2016). Des concentrations en métaux, et particulièrement en cobalt, largement supérieures à la normale ont d'ailleurs été observées dans les urines des populations vivant le long de l'arc cuprifère (Banza et al 2009).

Une des méthodes suggérées pour lutter contre la dispersion des métaux par le ruissellement et le vent dans les sites miniers est la phytostabilisation des sols par un couvert végétal. Des études récentes montrent que certaines métallophytes facultatives telles que la graminée *Microchloa altera*, sont efficaces pour revégétaliser des sites pollués secondairement par des dépôts de cuivre et de cobalt (Shutchka et al 2010, 2015). L'étude des traits et de la diversité fonctionnelle et phylogénétique joue un rôle capital dans la prévision des résultats d'expérience de revégétalisation dans les sites miniers (Gastauer et al 2017). Les traits particuliers rendant *M. altera* efficace pour remplir ce rôle de stabilisation (appareil racinaire fasciculé, plante pérenne à fort tallage, feuilles persistant pendant la saison sèche, port cespiteux dense, feuilles n'accumulant pas les métaux, haute tolérance à plusieurs métaux) ont d'ailleurs été recherchés chez d'autres espèces de la flore des métallophytes de la région, afin de trouver d'autres espèces candidates pour diversifier les communautés de plantes phytostabilisatrices (Boisson et al 2016a). D'autre part Ilunga et al (2015) montrent que la connaissance des caractéristiques fonctionnelles des espèces des collines de cuivre est importante pour la compréhension des mécanismes de revégétation des sites pollués

secondairement. En effet les végétations se développant sur les sites perturbés et pollués secondairement, sont fonctionnellement fort différentes des communautés des sites naturels originaux (Ilunga et al 2015). Ces sites métallifères secondaires, s'ils pouvaient abriter des communautés végétales plus complexes, pourraient même servir de conservatoires pour des espèces rares telles que les endémiques strictes (Boisson et al 2018). Certaines metallophytes tirent d'ailleurs profit des sols particuliers des sites perturbés par l'activité minière (Faucon et al 2011). Des études préliminaires montrent que la germination d'espèces endémiques serait facilitée par un couvert de graminées, mais que des interactions biotiques limiteraient la croissance de ces mêmes espèces à l'état adulte (Boisson et al 2018). De plus, selon **l'hypothèse de complémentarité**, la présence d'une grande diversité fonctionnelle permettrait d'augmenter la stabilité des services rendus par un écosystème (Cardinale et al 2012). La mise en pratique des principes de l'écologie fonctionnelle permettrait donc peut être de recréer des écosystèmes fonctionnels comme cela a déjà été le cas au Ghana, au Kenya et en Afrique du Sud (Festin et al 2018). Afin de rendre la phytostabilisation efficace, il faut donc tenter d'augmenter le pool d'espèces introduites dans des opérations de phytoremédiation, ce qui passe nécessairement par une bonne connaissance de leurs caractéristiques fonctionnelles et de leur niche (Palmer et al 1997).



Figure 9 : Colline de Goma II en 2013 sur laquelle l'exploitation minière à commencé.

A l'heure actuelle, notre compréhension des mécanismes permettant à des centaines de plantes de pousser sur des sols à très haute concentration en cuivre et en cobalt au Haut-Katanga reste très fragmentaire. Avec le développement de méthodologies de quantification de traits, d'évaluation de fonctions écologiques et d'outils statistiques récents, il est urgent de mettre en place des modèles visant à comprendre d'un point de vue mécanistique le fonctionnement de ces communautés. En particulier la quantification des processus abiotiques et biotiques ainsi que l'étendue de variation fonctionnelle des espèces permettraient sans doute de comprendre les liens entre leur répartition et les conditions environnementales locales. Ces informations sont cruciales pour la sauvegarde de ces communautés au vu de la menace représentée par l'industrie minière (Faucon et al 2016). En effet, bien que l'état de conservation de plusieurs espèces endémiques ait été évalué selon les critères de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (voir Annexe 1), il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'initiative nationale de protection de ces végétations (Le Stradic et al 2016). En 2010, 12 collines étaient déjà totalement détruites et 40 avaient été partiellement exploitées (Faucon et al 2010). L'exploitation minière dans la région ayant connu un regain important depuis 2010, il est probable que ces chiffres aient été largement dépassés aujourd'hui ajoutant ces écosystèmes à la liste des plus menacés de par le monde. La mise en conservation (micro-réserves) et la sauvegarde du patrimoine biologique par la mise en place de banques de graines (Godefroid et al 2013) est donc une priorité absolue pour protéger ces écosystèmes.

f. Contexte de la thèse

Suivant les travaux importants de botanique et de systématique des années 1950 à 1980, l'étude des collines de cuivre a connu un ralentissement au cours des années 1990. Vers la fin des années 2000, un nouveau projet a été mis en place afin de relancer l'étude de ces habitats menacés, en vue d'apporter des solutions aux problèmes de dégradation et de destruction, ainsi que la mise en place d'expériences de phytostabilisation. Cependant ces projets nécessitaient auparavant une bonne caractérisation de la végétation des collines de cuivre. Ainsi, une étude pionnière de Séleck et al (2013) a réalisé des relevés d'abondance des espèces sur 3 collines (Fungurume V, Kavifwafwaulu I, Kazinyanga) sur base de 172 quadrats de 1m² le long de transects parallèles. Au sein de chacun de ces quadrats la composition physico-chimique du sol a été caractérisée. Sur base de ces données, plusieurs unités de végétation possédant des espèces caractéristiques ont été mises en évidence en fonction, entre autre, de la concentration en cuivre du sol. Toutes les données de composition floristique et d'analyses de sol (excepté les teneurs en eau) utilisées dans cette thèse ont été extraites de cette étude.

De plus, sur base de cette étude, un mémoire a étudié la variation de 5 traits (hauteur végétative, surface foliaire, surface foliaire spécifique, teneurs foliaires en cuivre et cobalt) chez 37 espèces dans 32 quadrats de 1m² le long du gradient de cuivre de la colline de Fungurume V (Daubie 2010). Les données de traits récoltées dans cette étude ont été

utilisées dans le chapitre 3 et les valeurs moyennes de ces traits ont été ajoutées à celles collectées dans le cadre de cette thèse sur les collines de Fungurume V et de Kabwelunono pour un total de 11 traits mesurés sur 91 espèces.

Cette thèse complète ainsi d'autres approches observationnelles des traits entre sites naturels intacts et dégradés (Ilunga wa Ilunga et al 2015). Elle apporte une vision globale et *in situ* à d'autres études de traits en fonction de la teneur en métal du substrat chez quelques espèces modèles (Lange et al 2014, 2017, 2018, Faucon et al 2007, 2012) et aux expériences de tolérance aux métaux et de caractérisation de la niche des espèces (Boisson et al 2016b,c, Faucon et al 2009, Kabeya et al 2018). Bien que cette thèse soit avant tout un travail de recherche assez fondamentale, elle tente également de mettre en avant des traits et processus de réponse aux conditions abiotiques et interactions biotiques, pouvant apporter des informations clés dans les processus de phytostabilisation ou de conservation de ces écosystèmes menacés (Boisson et al 2016, 2018, Shutcha et al 2010, 2015).

Objectifs de la thèse

Afin de mettre en évidence des relations entre traits fonctionnels et conditions édaphiques, l'étude de communautés d'organismes le long de gradients environnementaux est capitale. Ce type d'approche multi-espèce n'a cependant jamais été réalisée le long de gradients naturels de contamination métallique.

Cette thèse a pour objectif de clarifier les relations entre les communautés végétales présentes sur les collines de cuivre du Haut-Katanga et les facteurs du sol sous-jacent, particulièrement les teneurs en cuivre et cobalt. En effet, les savanes-steppiques cupricoles étant riche en espèces, on peut s'attendre à retrouver une grande richesse fonctionnelle comparativement à d'autres habitats. Par contre, la teneur croissante en métaux du sol pourrait agir comme un filtre abiotique puissant, diminuant ainsi la richesse fonctionnelle sur les sols les plus enrichis en métaux. De plus, il semble que d'autres facteurs édaphiques interagissent avec ces métaux et en modifient la disponibilité et ainsi la toxicité.

La constitution d'une grande base de données de traits fonctionnels servant de base à l'étude des mécanismes d'assemblage des communautés est également une bonne opportunité pour étudier les relations allométriques chez un grand nombre d'espèces métallicoles. En particulier, les relations entre stratégie de vie, forme de vie, traits fonctionnels et accumulation de métaux n'a jamais été étudiée chez des communautés de métallophytes.

D'autre part, bon nombre d'études récentes montrent que dans certains environnements, la composante intraspécifique de la variabilité fonctionnelle des communautés joue un rôle important, notamment dans l'assemblage et la coexistence des espèces. Nous étudions ici ce qu'il en est le long de gradient de forte toxicité métallique où les relations entre espèces sont assez peu connues.

Enfin, on sait depuis longtemps que les environnements métallifères représentent une force sélective importante, donnant naissance à de la différenciation phénotypique au sein des espèces. Celle-ci peut être fixée génétiquement, pouvant générer de taxons endémiques de ces sols, en particulier lorsque la limite entre sols pauvre et riche en métaux est très abrupte. L'étude de gradients métalliques forts sur de courtes distances et répartis sous forme d'îlots isolés dans une matrice forestière représente donc une opportunité exceptionnelle d'étudier les mécanismes de variation fonctionnelle entre et au sein de populations d'une même espèce.

La thèse se structure en 4 chapitres couvrant l'étendue de ces sujets, en partant d'un point de vue multi-espèces jusqu'à la variation intra-populationnelle d'une espèce modèle.

Le **chapitre 1** explore les variations de la diversité fonctionnelle et phylogénétique à l'échelle de la communauté le long d'un gradient de cuivre et de cobalt sur une colline témoin (Fungurume 5). Cette étude se base sur un échantillon de 72 espèces structurantes et 21 quadrats composites recouvrant l'ensemble du gradient de cuivre. Elle vise à déterminer l'impact de différents mécanismes d'assemblage sur base de la diversité fonctionnelle et phylogénétique.

Le **chapitre 2** étudie les relations allométriques entre traits fonctionnels de 72 espèces de la flore du cuivre ainsi que la variation de la coordination entre traits le long du gradient de cuivre de la colline de Fungurume V. En particulier, les différences de valeurs de traits et de relations entre traits des différentes formes de vie y est développée.

Le **chapitre 3** quantifie les proportions de la variation à l'échelle de la communauté qui sont dues à de la variation intra-spécifique de traits et celles qui sont dues au remplacement d'espèces le long du gradient. Ce chapitre étudie également le rapport entre plasticité des traits et largeur de niche chez 37 espèces abondantes de la flore du cuivre dans un échantillon de 32 quadrats sur la colline de Fungurume V.

Le **chapitre 4** se focalise sur une espèce métallophyte facultative à large distribution en Afrique tropicale, *Cyanotis longifolia*. Ce chapitre tente de mettre en évidence les variations intra et inter-site de traits fonctionnels et de teneurs en métaux dans les plantes en relation avec les conditions édaphiques et particulièrement le gradient de cuivre du sol.

Une discussion générale synthétise les découvertes réalisées dans les différents chapitres et les remet dans un contexte plus global de relations traits-sols et d'assemblage des communautés. Ce travail est le premier qui étudie de manière systématique la réponse des traits, de la population à la communauté, le long de gradient de contamination métallique. Il revisite ainsi le fonctionnement de ces écosystèmes uniques, avec des outils modernes, pour tenter d'expliquer les patterns de végétation attribués à la toxicité du métal.

Bibliographie

- Adamidis, G. C., Kazakou, E., Fyllas, N. M., & Dimitrakopoulos, P. G. (2014). Species adaptive strategies and leaf economic relationships across serpentine and non-serpentine habitats on Lesbos, eastern Mediterranean. *PLoS one* **9**: e96034.
- Adams, D. C. (2014). A method for assessing phylogenetic least squares models for shape and other high-dimensional multivariate data. *Evolution* **68**: 2675-2688.
- Adler, P. B., Fajardo, A., Kleinhesselink, A. R., & Kraft, N. J. (2013). Trait-based tests of coexistence mechanisms. *Ecology Letters* **16**: 1294-1306.
- Adler, P. B., HilleRisLambers, J., & Levine, J. M. (2007). A niche for neutrality. *Ecology Letters* **10**: 95-104.
- Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., ... & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research* **22**: 8148-8162.
- Albert CH., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P., & Lavorel, S. (2010). Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. *Journal of Ecology* **98**: 604-613.
- Anacker BL. (2014). The nature of serpentine endemism. *American Journal of Botany* **101**: 219-224.
- Anacker, B. L., Whittall, J. B., Goldberg, E. E., & Harrison, S. P. (2011). Origins and consequences of serpentine endemism in the California flora. *Evolution* **65**: 365-376.
- Antonovics, J., Bradshaw, A. D., & Turner, R. G. (1971). Heavy metal tolerance in plants. In Cragg, J. B.(Ed). *Advances in ecological research* 7. Academic Press. Canada. 1-85
- Armas, C., Rodríguez-Echeverría, S., & Pugnaire, F. I. (2011). A field test of the stress-gradient hypothesis along an aridity gradient. *Journal of Vegetation Science* **22**: 818-827.
- Asner, G. P., Scurlock, J. M., & A Hicke, J. (2003). Global synthesis of leaf area index observations: implications for ecological and remote sensing studies. *Global Ecology and Biogeography* **12**: 191-205.
- Baker, A. J. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* **3**: 643-654.
- Baker, A. J. M., & Proctor, J. (1990). The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Systematics and Evolution* **173**: 91-108.
- Baker, A. J. M., & Walker, P. (1989). Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. *Chemical Speciation & Bioavailability* **1**: 7-17.
- Baker, A. J. M., Brooks, R. R., Pease, A. J., & Malaisse, F. (1983). Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L.(Caryophyllaceae) from Zaire. *Plant and Soil* **73**: 377-385.
- Baker, A. J. M., Reeves, R. D., & Hajar, A. S. M. (1994). Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). *New Phytologist* **127**: 61-68.
- Baker, A. J., Ernst, W. H., van der Ent, A., Malaisse, F., & Ginocchio, R. (2010). Metallophytes: the unique biological resource, its ecology and conservational status in Europe, central Africa and Latin America. In: *Ecology of Industrial Pollution*: 7-40.
- Balachowski, J. A., & Voltaire, F. A. (2018). Implications of plant functional traits and drought survival strategies for ecological restoration. *Journal of Applied Ecology* **55**: 631-640.
- Banza, C. L. N., Nawrot, T. S., Haufroid, V., Decrée, S., De Putter, T., Smolders, E., ... & Nemery, B. (2009). High human exposure to cobalt and other metals in Katanga, a mining area of the Democratic Republic of Congo. *Environmental Research* **109**: 745-752.
- Baraloto, C., Timothy Paine, C. E., Poorter, L., Beauchene, J., Bonal, D., Domenach, A. M., ... & Chave, J. (2010). Decoupled leaf and stem economics in rain forest trees. *Ecology Letters* **13**: 1338-1347.
- Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* **515**: 505-511.
- Bell, G. (2001). Neutral macroecology. *Science* **293**: 2413-2418.
- Bello, F. D., Lavorel, S., Lavergne, S., Albert, C. H., Boulangeat, I., Mazel, F., & Thuiller, W. (2013). Hierarchical effects of environmental filters on the functional structure of plant communities: a case study in the French Alps. *Ecography* **36**: 393-402.
- Bernard-Verdier, M., Flores, O., Navas, M. L., & Garnier, E. (2013). Partitioning phylogenetic and functional diversity into alpha and beta components along an environmental gradient in a Mediterranean rangeland. *Journal of Vegetation Science* **24**: 877-889.
- Bernard-Verdier, M., Navas, M. L., Vellend, M., Violle, C., Fayolle, A., & Garnier, E. (2012). Community assembly along a soil depth gradient: contrasting patterns of plant trait convergence and divergence in a Mediterranean rangeland. *Journal of Ecology* **100**: 1422-1433.
- Bertness, M. D., & Callaway, R. (1994). Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* **9**: 191-193.
- Billick, I., & Case, T. J. (1994). Higher order interactions in ecological communities: what are they and how can they be detected? *Ecology* **75**: 1529-1543.
- Blomqvist, M. M., Olf, H., Blaauw, M. B., Bongers, T., & Van der Putten, W. H. (2000). Interactions between above-and belowground biota: importance for small-scale vegetation mosaics in a grassland ecosystem. *Oikos* **90**: 582-598.
- Boisson, S., Le Stradic, S., Collignon, J., Séleck, M., Malaisse, F., Shutcha, M. N., ... & Mahy, G. (2016a). Potential of copper-tolerant grasses to implement phytostabilisation strategies on polluted soils in South DR Congo. *Environmental Science and Pollution Research* **23**: 13693-13705.
- Boisson, S., Le Stradic, S., Commans, M., Dumont, A., Leclerc, N., Thomas, C., & Mahy, G. (2016b). Copper

- tolerance of three *Crotalaria* species from southeastern DR Congo at the early development stage. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **20**: 151-160.
- Boisson, S., Monty, A., Lebrun, J., Séleck, M., & Mahy, G. (2016c). Edaphic niches of metallophytes from southeastern Democratic Republic of Congo: Implications for post-mining restoration. *Journal for Nature Conservation* **33**: 18-24.
- Boisson, S., Séleck, M., Le Stradic, S., Collignon, J., Garin, O., Malaisse, F., ... & Mahy, G. (2018). Using phytostabilisation to conserve threatened endemic species in southeastern Democratic Republic of the Congo. *Ecological Research* **33**: 789-798.
- Bradshaw, A. D. (1984). Adaptation of plants to soils containing toxic metals—a test for conceit. *Origins and Development of Adaptation* **102**: 4-19.
- Brady, K. U., Kruckeberg, A. R., & Bradshaw Jr, H. D. (2005). Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 243-266.
- Bresson, C. C., Vitasse, Y., Kremer, A., & Delzon, S. (2011). To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree physiology* **31**: 1164-1174.
- Brooks, R. R., Malaisse, F., & Empain, A. (1985). The Heavy Metal Tolerant Flora of Southcentral Africa. CRC Press. 352 pages.
- BROWN, J. C. (1978). Mechanism of iron uptake by plants. *Plant, Cell & Environment* **1**: 249-257.
- Bruno, J. F., Stachowicz, J. J., & Bertness, M. D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution* **18**: 119-125.
- Butlin, R., Bridle, J., & Schluter, D. (2009). Speciation and patterns of diversity. Cambridge University Press. 346 pages.
- Butterfield, B. J., & Suding, K. N. (2013). Single-trait functional indices outperform multi-trait indices in linking environmental gradients and ecosystem services in a complex landscape. *Journal of Ecology* **101**: 9-17.
- Cadotte, M. W., & Davies, T. J. (2016). Phylogenies in ecology: a guide to concepts and methods. Princeton University Press. 264 pages.
- Cahill Jr, J. F., Kembel, S. W., Lamb, E. G., & Keddy, P. A. (2008). Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **10**: 41-50.
- 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.
- Callaway, R. M., Brooker, R. W., Choler, P., Kikvidze, Z., Lortie, C. J., Michalet, R., ... & Armas, C. (2002). Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature* **417**: 844-848.
- Callaway, R. M., Pennings, S. C., & Richards, C. L. (2003). Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology* **84**: 1115-1128.
- Callis-Duehl, K., Vittoz, P., Defosse, E., & Rasmann, S. (2017). Community-level relaxation of plant defenses against herbivores at high elevation. *Plant Ecology* **218**: 291-304.
- Campbell, D. R., & Motten, A. F. (1985). The mechanism of competition for pollination between two forest herbs. *Ecology* **66**: 554-563.
- Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., ... & Kinzig, A. P. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **486**: 59-67.
- Carmo, F. F., Campos, I. C., & Jacobi, C. M. (2016). Effects of fine-scale surface heterogeneity on rock outcrop plant community structure. *Journal of Vegetation Science* **27**: 50-59.
- Carmona, C. P., de Bello, F., Mason, N. W., & Lepš, J. (2016). Traits without borders: integrating functional diversity across scales. *Trends in Ecology & Evolution* **31**: 382-394.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D. D., Baum, D. A., & Bazzaz, F. A. (2004). Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *The American Naturalist* **163**: 823-843.
- Cavender-Bares, J., Kozak, K. H., Fine, P. V., & Kembel, S. W. (2009). The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology Letters* **12**: 693-715.
- Chase, J. M., & Leibold, M. A. (2003). Ecological niches: linking classical and contemporary approaches. *University of Chicago Press*. 221 pages.
- Chen, W., Koide, R. T., Adams, T. S., DeForest, J. L., Cheng, L., & Eissenstat, D. M. (2016). Root morphology and mycorrhizal symbioses together shape nutrient foraging strategies of temperate trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**: 8741-8746.
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**: 343-366.
- Chesson, P., & Huntly, N. (1997). The roles of harsh and fluctuating conditions in the dynamics of ecological communities. *The American Naturalist* **150**: 519-553.
- Chesson, P., & Kuang, J. J. (2010). The storage effect due to frequency-dependent predation in multispecies plant communities. *Theoretical Population Biology* **78**: 148-164.
- Chipeng, F. K., Hermans, C., Colinet, G., Faucon, M. P., Ngongo, M., Meerts, P., & Verbruggen, N. (2010). Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) PA Duvign. & Plancke. *Plant and Soil* **328**: 235-244.
- Choler, P., Michalet, R., & Callaway, R. M. (2001). Facilitation and competition on gradients in alpine plant communities. *Ecology* **82**: 3295-3308.
- Conti, G., & Díaz, S. (2013). Plant functional diversity and carbon storage—an empirical test in semi-arid forest ecosystems. *Journal of Ecology* **101**: 18-28.
- Conti, L., de Bello, F., Lepš, J., Acosta, A. T. R., & Carboni, M. (2017). Environmental gradients and micro-heterogeneity shape fine scale plant community assembly on coastal dunes. *Journal of Vegetation Science* **28**: 762-773.

- Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E., ... & Pausas, J. G. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **51**: 335-380.
- Cornelissen, J. H. C., Queded, H. M., Van Logtestijn, R. S. P., Pérez-Harguindeguy, N., Gwynn-Jones, D., Díaz, S., ... & Aerts, R. (2006). Foliar pH as a new plant trait: can it explain variation in foliar chemistry and carbon cycling processes among subarctic plant species and types? *Oecologia* **147**: 315-326.
- Cornwell, W. K., & Ackerly, D. D. (2009). Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. *Ecological Monographs* **79**: 109-126.
- Cornwell, W. K., Schwilk, D. W., & Ackerly, D. D. (2006). A trait-based test for habitat filtering: Convex hull volume. *Ecology* **87**: 1465-1471.
- Courchamp, F., Clutton-Brock, T., & Grenfell, B. (1999). Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends in Ecology & Evolution* **14**: 405-410.
- Craine, J. M., Tilman, D., Wedin, D., Reich, P., Tjoelker, M., & Knops, J. (2002). Functional traits, productivity and effects on nitrogen cycling of 33 grassland species. *Functional Ecology* **16**: 563-574.
- Dahmani-Muller, H., Van Oort, F., Gelie, B., & Balabane, M. (2000). Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* **109**: 231-238.
- Daily, G. C., Matson, P. A., & Vitousek, P. M. (1997). Ecosystem services supplied by soil. In: Daily, G. C. (Ed). *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press: 113-132.
- Daubie, I. (2010). Variation des traits fonctionnels de savanes steppiques le long d'un gradient de contamination en cuivre au Katanga (Rép. Dém. Congo). Mémoire de fin d'étude. Université Libre de Bruxelles. 85pp.
- Davis, J. I. (1983). Phenotypic plasticity and the selection of taxonomic characters in *Puccinellia* (Poaceae). *Systematic Botany* **8**: 341-353.
- de Bello, F., Berg, M. P., Dias, A. T., Diniz-Filho, J. A. F., Götzenberger, L., Hortal, J., ... & Lepš, J. (2015). On the need for phylogenetic 'corrections' in functional trait-based approaches. *Folia Geobotanica* **50**: 349-357.
- de Bello, F., Lavorel, S., Díaz, S., Harrington, R., Cornelissen, J. H., Bardgett, R. D., ... & da Silva, P. M. (2010). Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. *Biodiversity and Conservation* **19**: 2873-2893.
- De Putter, T., Mees, F., Decrée, S., & Dewaele, S. (2010). Malachite, an indicator of major Pliocene Cu remobilization in a karstic environment (Katanga, Democratic Republic of Congo). *Ore Geology Reviews* **38**: 90-100.
- Descombes, P., Marchon, J., Pradervand, J. N., Bilat, J., Guisan, A., Rasmann, S., & Pellissier, L. (2017). Community-level plant palatability increases with elevation as insect herbivore abundance declines. *Journal of Ecology* **105**: 142-151.
- Díaz, S., Cabido, M., & Casanoves, F. (1998). Plant functional traits and environmental filters at a regional scale. *Journal of Vegetation Science* **9**: 113-122.
- Díaz, S., Kattge, J., Cornelissen, J. H., Wright, I. J., Lavorel, S., Dray, S., ... & Garnier, E. (2016). The global spectrum of plant form and function. *Nature* **529**: 167-171.
- Díaz, S., Lavorel, S., McIntyre, S. U. E., Falczuk, V., Casanoves, F., Milchunas, D. G., ... & Landsberg, J. (2007). Plant trait responses to grazing—a global synthesis. *Global Change Biology* **13**: 313-341.
- Díaz, S., Purvis, A., Cornelissen, J. H., Mace, G. M., Donoghue, M. J., Ewers, R. M., ... & Pearse, W. D. (2013). Functional traits, the phylogeny of function, and ecosystem service vulnerability. *Ecology and Evolution* **3**: 2958-2975.
- Donald, C. M. (1958). The interaction of competition for light and for nutrients. *Australian Journal of Agricultural Research* **9**: 421-435.
- Dornelas, M., Gotelli, N. J., McGill, B., Shimadzu, H., Moyes, F., Sievers, C., & Magurran, A. E. (2014). Assemblage time series reveal biodiversity change but not systematic loss. *Science* **344**: 296-299.
- Dunson, W. A., & Travis, J. (1991). The role of abiotic factors in community organization. *The American Naturalist* **138**: 1067-1091.
- Duvigneaud, P. (1959). Etudes sur la végétation du Katanga et de ses sols métallifères. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **91**: 111-134.
- Duvigneaud, P., & Denaeyer-De Smet, S. (1963). Cuivre et Végétation au Katanga. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **96**: 93-231.
- Dwyer, J. M., & Laughlin, D. C. (2017). Selection on trait combinations along environmental gradients. *Journal of Vegetation Science* **28**: 672-673.
- Dwyer, J. M., & Laughlin, D. C. (2017a). Constraints on trait combinations explain climatic drivers of biodiversity: The importance of trait covariance in community assembly. *Ecology Letters* **20**: 872-882.
- Eckhart, V. M., Howland, M. R., Jennison, K., Kircher, B. K., Montgomery, D. M., Yuan, Y., & Geber, M. A. (2017). Contrasting soil-texture niches facilitate coexistence of two congeneric plants that differ in competitive ability. *AoB Plants* **9**: plx066.
- Ehleringer, J. (1985). Annuals and perennials of warm deserts. In Chabot B. (Ed). *Physiological ecology of North American plant communities*. Springer, Netherlands. 162-180.
- Eissenstat, D. M., Kucharski, J. M., Zadworny, M., Adams, T. S., & Koide, R. T. (2015). Linking root traits to nutrient foraging in arbuscular mycorrhizal trees in a temperate forest. *New Phytologist* **208**: 114-124.
- El Desouky, H. A., Muchez, P., Boyce, A. J., Schneider, J., Cailteux, J. L., Dewaele, S., & von Quadt, A. (2010). Genesis of sediment-hosted stratiform copper-cobalt mineralization at Luiswishi and Kamoto, Katanga Copperbelt (Democratic Republic of Congo). *Mineralium Deposita* **45**: 735-763.
- Engemann, K., Sandel, B., Enquist, B. J., Jørgensen, P. M., Kraft, N., Marcuse-Kubitza, A., ... & Wiser, S. (2016). Patterns and drivers of plant functional group dominance across the Western Hemisphere: a macroecological re-

- assessment based on a massive botanical dataset. *Botanical Journal of the Linnean Society* **180**: 141-160.
- Epelde, L., Becerril, J. M., Barrutia, O., González-Oreja, J. A., & Garbisu, C. (2010). Interactions between plant and rhizosphere microbial communities in a metalliferous soil. *Environmental Pollution* **158**: 1576-1583.
- Ernst, W. 1974. Schwermetallvegetation der Erde. Fischer Verlag. Stuttgart. 194 pages.
- Ernst, W. H. (2006). Evolution of metal tolerance in higher plants. *Forest Snow and Landscape Research* **80**: 251-274.
- Fajardo, A., & Siefert, A. (2016). Phenological variation of leaf functional traits within species. *Oecologia* **180**: 951-959.
- Faucon, M.P. (2009). Ecologie et biologie de la conservation des métalophytes. Le cas de *Crepidiorhodon perennis* et *C. tenuis* (Scrophulariaceae) des sols cupro-cobaltifères du Katanga. Thèse de doctorat. 220 pp.
- Faucon, M. P., Chipeng, F., Verbruggen, N., Mahy, G., Colinet, G., Shutcha, M., ... & Meerts, P. (2012). Copper tolerance and accumulation in two cuprophytes of South Central Africa: *Crepidiorhodon perennis* and *C. tenuis* (Linderniaceae). *Environmental and Experimental Botany* **84**: 11-16.
- Faucon, M. P., Colinet, G., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Verbruggen, N., & Meerts, P. (2009). Soil influence on Cu and Co uptake and plant size in the cuprophytes *Crepidiorhodon perennis* and *C. tenuis* (Scrophulariaceae) in SC Africa. *Plant and Soil* **317**: 201-212.
- Faucon, M. P., Le Stradic, S., Boisson, S., wa Ilunga, E. I., Séleck, M., Lange, B., ... & Mahy, G. (2016). Implication of plant-soil relationships for conservation and restoration of copper-cobalt ecosystems. *Plant and Soil* **403**: 153-165.
- Faucon, M. P., Meersseman, A., Shutcha, M. N., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Malaisse, F., & Meerts, P. (2010). Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18.
- Faucon, M. P., Parmentier, I., Colinet, G., Mahy, G., Ngongo Luhembwe, M., & Meerts, P. (2011). May rare metalophytes benefit from disturbed soils following mining activity? The case of the *Crepidiorhodon tenuis* in Katanga (DR Congo). *Restoration Ecology* **19**: 333-343.
- Festin, E. S., Tigabu, M., Chileshe, M. N., Syampungani, S., & Odén, P. C. (2018). Progresses in restoration of post-mining landscape in Africa. *Journal of Forestry Research*: 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0621-x>
- Fischer, R. A., & Turner, N. C. (1978). Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology* **29**: 277-317.
- Fort, F., Jouany, C., & Cruz, P. (2012). Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of Plant Ecology* **6**: 211-219.
- Fowler, N. (1986). The role of competition in plant communities in arid and semiarid regions. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 89-110.
- Fox, G. A. (1993). Life history evolution and demographic stochasticity. *Evolutionary Ecology* **7**: 1-14.
- Frérot, H., Hautekèete, N. C., Decombeix, I., Bouchet, M. H., Créach, A., Saumitou-Laprade, P., ... & Pauwels, M. (2017). Habitat heterogeneity in the pseudometallophyte *Arabidopsis halleri* and its structuring effect on natural variation of zinc and cadmium hyperaccumulation. *Plant and Soil* **423**: 157-174.
- Frérot, H., Lefèbvre, C., Gruber, W., Collin, C., Dos Santos, A., & Escarré, J. (2006). Specific interactions between local metallicolous plants improve the phytostabilization of mine soils. *Plant and Soil* **282**: 53-65.
- Freschet, G. T., & Roumet, C. (2017). Sampling roots to capture plant and soil functions. *Functional Ecology* **31**: 1506-1518.
- Freschet, G. T., Swart, E. M., & Cornelissen, J. H. (2015). Integrated plant phenotypic responses to contrasting above- and below-ground resources: Key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist* **206**: 1247-1260.
- Freschet, G. T., Violle, C., Bourget, M. Y., Scherer-Lorenzen, M. and Fort, F. (2018). Allocation, morphology, physiology, architecture: the multiple facets of plant above- and below-ground responses to resource stress. *New Phytologist*. doi:10.1111/nph.15225
- 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.
- Gao, S. B., Mo, L. D., Zhang, L. H., Zhang, J. L., Wu, J. B., Wang, J. L., ... & Gao, Y. B. (2018). Phenotypic plasticity vs. local adaptation in quantitative traits differences of *Stipa grandis* in semi-arid steppe, China. *Scientific reports* **8**: 3148.
- Gardner, W. K., Parbery, D. G., & Barber, D. A. (1982). The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. Some characteristics of the soil/root interface. *Plant and Soil* **68**: 19-32.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M. L., Roumet, C., Debussche, M., ... & Neill, C. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637.
- Garnier, E., Navas, M. L., & Grigulis, K. (2016). Plant functional diversity: organism traits, community structure, and ecosystem properties. Oxford University Press. 256 pages.
- Gastauer, M., Silva, J. R., Junior, C. F. C., Ramos, S. J., Souza Filho, P. W. M., Neto, A. E. F., & Siqueira, J. O. (2017). Mine land rehabilitation: Modern ecological approaches for more sustainable mining. *Journal of Cleaner Production* **172**: 1409-1422.
- Gerhold, P., Cahill, J. F., Winter, M., Bartish, I. V., & Prinzing, A. (2015). Phylogenetic patterns are not proxies of community assembly mechanisms (they are far better). *Functional Ecology* **29**: 600-614.
- Germino, M. J., & Reinhardt, K. (2014). Desert shrub responses to experimental modification of precipitation seasonality and soil depth: relationship to the two-layer hypothesis and ecohydrological niche. *Journal of Ecology* **102**: 989-997.

- Gillespie, R. (2004). Community assembly through adaptive radiation in Hawaiian spiders. *Science* **303**: 356-359.
- Godefroid, S., Van de Vyver, A., Lebrun, J., Masengo Kalenga, W., Handjila Minengo, G., Rose, C., ... & Mahy, G. (2013). Germination capacity and seed storage behaviour of threatened metallophytes from the Katanga copper belt (DR Congo): implications for ex situ conservation. *Plant Ecology and Evolution* **146**: 183-192.
- Godsoe, W., Franklin, J., & Blanchet, F. G. (2017). Effects of biotic interactions on modeled species' distribution can be masked by environmental gradients. *Ecology and Evolution* **7**: 654-664.
- Götzenberger, L., de Bello, F., Bråthen, K. A., Davison, J., Dubuis, A., Guisan, A., ... & Pellissier, L. (2012). Ecological assembly rules in plant communities—approaches, patterns and prospects. *Biological Reviews* **87**: 111-127.
- Gravel, D., Massol, F., Canard, E., Mouillot, D., & Mouquet, N. (2011). Trophic theory of island biogeography. *Ecology Letters* **14**: 1010-1016.
- Greiner La Peyre, M. K., Grace, J. B., Hahn, E., & Mendelssohn, I. A. (2001). The importance of competition in regulating plant species abundance along a salinity gradient. *Ecology* **82**: 62-69.
- Grime, J. P. (1973). Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature* **242**: 344-347.
- Grime, J. P. (1998). Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* **86**: 902-910.
- Gunn, S., Farrar, J. F., Collis, B. E., & Nason, M. (1999). Specific leaf area in barley: individual leaves versus whole plants. *New Phytologist* **143**: 45-51.
- Hickey, D. A., & McNeilly, T. (1975). Competition between metal tolerant and normal plant populations; a field experiment on normal soil. *Evolution* **29**: 458-464.
- HilleRisLambers, J., Adler, P. B., Harpole, W. S., Levine, J. M., & Mayfield, M. M. (2012). Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **43**: 227-248.
- Hubbell, S. P. (2001). The unified neutral theory of species abundance and diversity. Princeton University Press, Princeton, NJ. 448 pages.
- Hubbell, S. P. (2005). Neutral theory in community ecology and the hypothesis of functional equivalence. *Functional Ecology* **19**: 166-172.
- Hutchinson, G. E. (1957). Cold spring harbor symposium on quantitative biology. Concluding remarks. **22**: 415-427.
- Ilunga wa Ilunga, E., Séleck, M., Colinet, G., Faucon, M. P., Meerts, P., & Mahy, G. (2013). Small-scale diversity of plant communities and distribution of species niches on a copper rock outcrop in Upper Katanga, DR Congo. *Plant Ecology and Evolution* **146**: 173-182.
- Ilunga, E. I., Mahy, G., Piqueray, J., Séleck, M., Shutcha, M. N., Meerts, P., & Faucon, M. P. (2015). Plant functional traits as a promising tool for the ecological restoration of degraded tropical metal-rich habitats and revegetation of metal-rich bare soils: A case study in copper vegetation of Katanga, DRC. *Ecological Engineering* **82**: 214-221.
- Jacobs, A., De Brabandere, L., Drouet, T., Sterckeman, T., & Noret, N. (2018). Phytoextraction of Cd and Zn with *Noccaea caerulea* for urban soil remediation: influence of nitrogen fertilization and planting density. *Ecological Engineering* **116**: 178-187.
- Jacobs, A., Drouet, T., Sterckeman, T., & Noret, N. (2017). Phytoremediation of urban soils contaminated with trace metals using *Noccaea caerulea*: comparing non-metallicolous populations to the metallicolous 'Ganges' in field trials. *Environmental Science and Pollution Research* **24**: 8176-8188.
- Jaffré, T. (1992). Floristic and ecological diversity of the vegetation on ultramafic rocks in New Caledonia. The vegetation of ultramafic (serpentine) soils. *Proceedings of the First International Conference on Serpentine Ecology*. Handower, UK.
- Kabeya, F. I., Pongrac, P., Lange, B., Faucon, M. P., van Elteren, J. T., Šala, M., ... & Verbruggen, N. (2018). Tolerance and accumulation of cobalt in three species of *Haumaniastrum* and the influence of copper. *Environmental and Experimental Botany* **149**: 27-33.
- Kaplan, Z. (2002). Phenotypic plasticity in Potamogeton (Potamogetonaceae). *Folia Geobotanica* **37**: 141-170.
- Kattge, J., Diaz, S., Lavorel, S., Prentice, I. C., Leadley, P., Bönlisch, G., ... & Cornelissen, J. H. C. (2011). TRY—a global database of plant traits. *Global Change Biology* **17**: 2905-2935.
- Kawecki, T. J., & Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* **7**: 1225-1241.
- Kaya Muyumba, D., Liénard, A., Mahy, G., Ngongo Luhembwe, M., & Colinet, G. (2015). Caractérisation des systèmes sols-plantes dans les collines de l'arc cuprifère du Katanga (synthèse bibliographique). *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* **19**: 204-214.
- Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P. G., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., & Troumbis, A. Y. (2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews* **83**: 495-508.
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Navas, M. L., Vile, D., Kattge, J., & Garnier, E. (2014). Are trait-based species rankings consistent across data sets and spatial scales? *Journal of Vegetation Science* **25**: 235-247.
- Kembel, S. W. (2009). Disentangling niche and neutral influences on community assembly: assessing the performance of community phylogenetic structure tests. *Ecology Letters* **12**: 949-960.
- Kergunteuil, A., Descombes, P., Glauser, G., Pellissier, L., & Rasmann, S. (2018). Plant physical and chemical defence variation along elevation gradients: a functional trait-based approach. *Oecologia* **187**: 561-571.
- Kichenin, E., Wardle, D. A., Peltzer, D. A., Morse, C. W., & Freschet, G. T. (2013). Contrasting effects of plant inter- and intraspecific variation on community-level trait measures along an environmental gradient. *Functional Ecology* **27**: 1254-1261.
- Klanderud, K., Vandvik, V., & Goldberg, D. (2015). The importance of biotic vs. abiotic drivers of local plant community composition along regional bioclimatic gradients. *PLoS one* **10**: e0130205.

- Kraft, N. J., & Ackerly, D. D. (2014). Assembly of plant communities. In Monson R.K. (Ed). *Ecology and the Environment*. Springer New York. 67-88
- Kraft, N. J., Comita, L. S., Chase, J. M., Sanders, N. J., Swenson, N. G., Crist, T. O., ... & Cornell, H. V. (2011). Disentangling the drivers of β diversity along latitudinal and elevational gradients. *Science* **333**: 1755-1758.
- Kraft, N. J., Valencia, R., & Ackerly, D. D. (2008). Functional traits and niche-based tree community assembly in an Amazonian forest. *Science* **322**: 580-582.
- Krämer, U. (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology* **61**: 517-534.
- Kruckeberg, A. R., & Kruckeberg, A. L. (1990). Endemic metallophytes: their taxonomic, genetic, and evolutionary attributes. In Shaw J. (Ed). *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*. CRC Press. 301-312.
- Kuang, J. J., & Chesson, P. (2010). Interacting coexistence mechanisms in annual plant communities: frequency-dependent predation and the storage effect. *Theoretical Population Biology* **77**: 56-70.
- Kuczynski L, Grenouillet G. (2018). Community disassembly under global change: Evidence in favor of the stress-dominance hypothesis. *Global Change Biology*: 1–11. <https://doi.org/10.1111/gcb.14320>
- Kunstler, G., Falster, D., Coomes, D. A., Hui, F., Kooyman, R. M., Laughlin, D. C., ... & Aiba, M. (2016). Plant functional traits have globally consistent effects on competition. *Nature* **529**: 204-207.
- Kursar, T. A., Dexter, K. G., Lokvam, J., Pennington, R. T., Richardson, J. E., Weber, M. G., ... & Coley, P. D. (2009). The evolution of antiherbivore defenses and their contribution to species coexistence in the tropical tree genus *Inga*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 18073-18078.
- Laliberté, E. (2017). Below-ground frontiers in trait-based plant ecology. *New Phytologist* **213**: 1597-1603.
- Laliberté, E., & Legendre, P. (2010). A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology* **91**: 299-305.
- Laliberté, E., Zemunik, G., & Turner, B. L. (2014). Environmental filtering explains variation in plant diversity along resource gradients. *Science* **345**: 1602-1605.
- Lamanna, C., Blonder, B., Violle, C., Kraft, N. J., Sandel, B., Šimová, I., ... & Buzzard, V. (2014). Functional trait space and the latitudinal diversity gradient. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: 13745-13750.
- Lambers, H. A. N. S., & Poorter, H. (1992). Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. In *Advances in ecological research* 23. Academic Press. 187-261
- Landeweert, R., Hoffland, E., Finlay, R. D., Kuyper, T. W., & van Breemen, N. (2001). Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 248-254.
- Lange, B., Delhaye, G., Boisson, S., Verbruggen, N., Meerts, P., & Faucon, M. P. (2018). Variation in copper and cobalt tolerance and accumulation among six populations of the facultative metallophyte *Anisopappus chinensis* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany* **153**: 1-9.
- Lange, B., Ent, A., Baker, A. J. M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., ... & Faucon, M. P. (2016). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* **213**: 537-551.
- Lange, B., Faucon, M. P., Delhaye, G., Hamiti, N., & Meerts, P. (2017). Functional traits of a facultative metallophyte from tropical Africa: population variation and plasticity in response to cobalt. *Environmental and Experimental Botany* **136**: 1-8.
- Lange, B., Faucon, M. P., Meerts, P., Shutcha, M., Mahy, G., & Pourret, O. (2014). Prediction of the edaphic factors influence upon the copper and cobalt accumulation in two metallophytes using copper and cobalt speciation in soils. *Plant and Soil* **379**: 275-287.
- Laughlin, D. C. (2014). The intrinsic dimensionality of plant traits and its relevance to community assembly. *Journal of Ecology* **102**: 186-193.
- Laughlin, D. C., & Laughlin, D. E. (2013). Advances in modeling trait-based plant community assembly. *Trends in Plant Science* **18**: 584-593.
- Laughlin, D. C., & Messier, J. (2015). Fitness of multidimensional phenotypes in dynamic adaptive landscapes. *Trends in Ecology & Evolution* **30**: 487-496.
- Lavelle, S., & Garnier, É. (2002). Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* **16**: 545-556.
- Lavelle, S., & Grigulis, K. (2012). How fundamental plant functional trait relationships scale- up to trade- offs and synergies in ecosystem services. *Journal of Ecology* **100**: 128-140.
- Lavelle, S., Diaz, S., Cornelissen, J. H. C., Garnier, E., Harrison, S. P., McIntyre, S., ... & Urcelay, C. (2007). Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? In Canadell J.G., Pataki D.E., Pitelka L.F. (Eds). *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Springer, Berlin, Heidelberg. 149-164
- Le Bagousse-Pinguet, L., Gross, N., Maestre, F. T., Maire, V., Bello, F., Fonseca, C. R., ... & Liancourt, P. (2017). Testing the environmental filtering concept in global drylands. *Journal of Ecology* **105**: 1058-1069.
- Le Stradic, S., Séleck, M., Lebrun, J., Boisson, S., Handjila, G., Faucon, M. P., ... & Mahy, G. (2016). Comparison of translocation methods to conserve metallophyte communities in the Southeastern DR Congo. *Environmental Science and Pollution Research* **23**: 13681-13692.
- Leibold, M. A., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, J. M., Hoopes, M. F., ... & Loreau, M. (2004). The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters* **7**: 601-613.
- Leimu, R., & Fischer, M. (2008). A meta-analysis of local adaptation in plants. *PLoS one* **3**: e4010.
- Lepš, J., de Bello, F., Šmilauer, P., & Doležal, J. (2011). Community trait response to environment: disentangling species turnover vs intraspecific trait variability effects. *Ecography* **34**: 856-863.

- Li, S. P., Cadotte, M. W., Meiners, S. J., Hua, Z. S., Jiang, L., & Shu, W. S. (2015). Species colonisation, not competitive exclusion, drives community overdispersion over long-term succession. *Ecology Letters* **18**: 964-973.
- Li, Y., & Shipley, B. (2017). An experimental test of CSR theory using a globally calibrated ordination method. *PLoS one* **12**: e0175404.
- Liang, J., Zhou, M., Tobin, P. C., McGuire, A. D., & Reich, P. B. (2015). Biodiversity influences plant productivity through niche–efficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 5738-5743.
- Liu, G., Freschet, G. T., Pan, X., Cornelissen, J. H., Li, Y., & Dong, M. (2010). Coordinated variation in leaf and root traits across multiple spatial scales in Chinese semi-arid and arid ecosystems. *New Phytologist* **188**: 543-553.
- Lortie, C. J., & Callaway, R. M. (2006). Re-analysis of meta-analysis: support for the stress-gradient hypothesis. *Journal of Ecology* **94**: 7-16.
- Luke McCormack, M., Adams, T. S., Smithwick, E. A., & Eissenstat, D. M. (2012). Predicting fine root lifespan from plant functional traits in temperate trees. *New Phytologist* **195**: 823-831.
- MacArthur, R. H., & Wilson, E. O. (1967). The theory of island biogeography. Princeton University Press. 203 pages.
- MacArthur, R., & Levins, R. (1967). The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. *The American Naturalist* **101**: 377-385.
- Macnair, M. R., Tilstone, G. H., & Smith, S. E. (1999). The Genetics of Metal Tolerance and Accumulation in Higher Plants. In Terry N., Banuelos G.S. (Eds). *Phytoremediation of contaminated soil and water*, CRC, Press, Boca Raton, pp. 235–250.
- 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.
- Maire, V., Gross, N., Börger, L., Proulx, R., Wirth, C., Pontes, L. D. S., ... & Louault, F. (2012). Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist* **196**: 497-509.
- Malaisse, F., & Bamps, P. (2005). Notes on tropical African plants: *Basananthe kisimbae* (Passifloraceae), espece nouvelle du Congo-Kinshasa. *Systematics and Geography of Plants* **75**: 263-265.
- Malaisse, F., Baker, A. J., & Ruelle, S. (1999). Diversity of plant communities and leaf heavy metal content at Luiswishi copper/cobalt mineralization, Upper Katanga, Dem. Rep. Congo. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **3**: 104-114.
- Malaisse, F., Grégoire, J., Morrison, R. S., Brooks, R. R., & Reeves, R. D. (1979). Copper and cobalt in vegetation of Fungurume, Shaba Province, Zaïre. *Oikos* **33**: 472-478.
- Malaisse, F., Schaijjes, M., & D'Outreligne, C. (2016). Copper-cobalt flora of Upper Katanga and Copperbelt. Presses agronomiques de Gembloux. Belgium. 422 pages.
- Mason, N. W., & de Bello, F. (2013). Functional diversity: a tool for answering challenging ecological questions. *Journal of Vegetation Science* **24**: 777-780.
- Mason, N. W., & Pavoine, S. (2013). Does trait conservatism guarantee that indicators of phylogenetic community structure will reveal niche-based assembly processes along stress gradients? *Journal of Vegetation Science* **24**: 820-833.
- Mason, N. W., Richardson, S. J., Peltzer, D. A., de Bello, F., Wardle, D. A., & Allen, R. B. (2012). Changes in coexistence mechanisms along a long-term soil chronosequence revealed by functional trait diversity. *Journal of Ecology* **100**: 678-689.
- Mayfield, M. M., & Levine, J. M. (2010). Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* **13**: 1085-1093.
- McGill, B. J., Enquist, B. J., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 178-185.
- McNeilly, T., & Bradshaw, A. D. (1968). Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis* Sibth. *Evolution* **22**: 108-118.
- Menge, B. A., & Olson, A. M. (1990). Role of scale and environmental factors in regulation of community structure. *Trends in Ecology & Evolution* **5**: 52-57.
- Messier, J., Lechowicz, M. J., McGill, B. J., Violle, C., & Enquist, B. J. (2017). Interspecific integration of trait dimensions at local scales: The plant phenotype as an integrated network. *Journal of Ecology* **105**: 1775-1790.
- 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.
- Messier, J., McGill, B. J., Enquist, B. J., & Lechowicz, M. J. (2017). Trait variation and integration across scales: is the leaf economic spectrum present at local scales? *Ecography* **40**: 685-697.
- Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., & Sánchez, J. (2006). Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* **65**: 863-872.
- Miller, E. T., Farine, D. R., & Trisos, C. H. (2017). Phylogenetic community structure metrics and null models: a review with new methods and software. *Ecography* **40**: 461-477.
- Mittelbach, G. G., & Schemske, D. W. (2015). Ecological and evolutionary perspectives on community assembly. *Trends in Ecology & Evolution* **30**: 241-247.
- Mukhacheva, S. V. (2017). Long-term dynamics of heavy metal concentrations in the food and liver of bank voles (*Myodes glareolus*) in the period of reduction of emissions from a copper smelter. *Russian Journal of Ecology* **48**: 559-568.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters* **8**: 199-216.
- Neugebauer, K., Broadley, M. R., El-Serehy, H. A., George, T. S., McNicol, J. W., Moraes, M. F. and White, P. J. (2018). Variation in the angiosperm ionome. *Physiologia Plantarum* doi:10.1111/ppl.12700
- Noret, N., Meerts, P., Tolrà, R., Poschenrieder, C., Barceló, J., & Escarre, J. (2005). Palatability of *Thlaspi caerulescens* for snails: influence of zinc and glucosinolates. *New Phytologist* **165**: 763-772.

- Noret, N., Meerts, P., Vanhaelen, M., Dos Santos, A., & Escarré, J. (2007). Do metal-rich plants deter herbivores? A field test of the defence hypothesis. *Oecologia* **152**: 92-100.
- Opedal, Ø. H., Armbruster, W. S., & Graae, B. J. (2015). Linking small-scale topography with microclimate, plant species diversity and intra-specific trait variation in an alpine landscape. *Plant Ecology & Diversity* **8**: 305-315.
- Orrock, J. L., & Watling, J. I. (2010). Local community size mediates ecological drift and competition in metacommunities. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**: 2185-2191.
- Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C., Alberton, O., Bakker, M. R., Lõhmus, K., ... & Vanguelova, E. (2007). Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems* **141**: 426-442.
- Ovecka, M., & Takác, T. (2014). Managing heavy metal toxicity stress in plants: biological and biotechnological tools. *Biotechnology Advances* **32**: 73-86.
- Palmer, M. A., Ambrose, R. F., & Poff, N. L. (1997). Ecological theory and community restoration ecology. *Restoration Ecology* **5**: 291-300.
- Pavoine, S., & Bonsall, M. B. (2011). Measuring biodiversity to explain community assembly: a unified approach. *Biological Reviews* **86**: 792-812.
- Pavoine, S., Gasc, A., Bonsall, M. B., & Mason, N. W. (2013). Correlations between phylogenetic and functional diversity: mathematical artefacts or true ecological and evolutionary processes? *Journal of Vegetation Science* **24**: 781-793.
- Peijnenburg, W. J. G. M., Baerselman, R., De Groot, A., Jager, T., Leenders, D., Posthuma, L., & Van Veen, R. (2000). Quantification of metal bioavailability for lettuce (*Lactuca sativa* L.) in field soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **39**: 420-430.
- Pérez-de-Mora, A., Burgos, P., Madejón, E., Cabrera, F., Jaekel, P., & Schloter, M. (2006). Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology and Biochemistry* **38**: 327-341.
- Perez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., ... & Urcelay, C. (2013). New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **61**: 167-234.
- Pierce, S., Negreiros, D., Cerabolini, B. E., Kattge, J., Díaz, S., Kleyer, M., ... & van Bodegom, P. M. (2017). A global method for calculating plant CSR ecological strategies applied across biomes world-wide. *Functional Ecology* **31**: 444-457.
- Pollard, A. J., Reeves, R. D., & Baker, A. J. (2014). Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. *Plant Science* **217**: 8-17.
- Poorter, H., Lambers, H., & Evans, J. R. (2014). Trait correlation networks: a whole-plant perspective on the recently criticized leaf economic spectrum. *New Phytologist* **201**: 378-382.
- Poorter, H., Niinemets, Ü., Poorter, L., Wright, I. J., & Villar, R. (2009). Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* **182**: 565-588.
- Pourret, O., Lange, B., Bonhoure, J., Colinet, G., Decrée, S., Mahy, G., ... & Faucon, M. P. (2016). Assessment of soil metal distribution and environmental impact of mining in Katanga (Democratic Republic of Congo). *Applied Geochemistry* **64**: 43-55.
- Pugnaire, F. I., & Luque, M. T. (2001). Changes in plant interactions along a gradient of environmental stress. *Oikos* **93**: 42-49.
- Pugnaire, F. I., Haase, P., & Puigdefabregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* **77**: 1420-1426.
- Raffaële, E., Veblen, T. T., Blackhall, M., & Tercero-Bucardo, N. (2011). Synergistic influences of introduced herbivores and fire on vegetation change in northern Patagonia, Argentina. *Journal of Vegetation Science* **22**: 59-71.
- Raunkjær, C. (1934). *The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography*, being the collected papers of C. Raunkjær. Oxford University Press. 632 pages.
- Read, Q. D., Moorhead, L. C., Swenson, N. G., Bailey, J. K., & Sanders, N. J. (2014). Convergent effects of elevation on functional leaf traits within and among species. *Functional Ecology* **28**: 37-45.
- Reich, P. B. (2014). The world-wide 'fast-slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**: 275-301.
- Reich, P. B., & Oleksyn, J. (2004). Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 11001-11006.
- Reich, P. B., Walters, M. B., & Ellsworth, D. S. (1997). From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**: 13730-13734.
- Rosenfeld, J. S. (2002). Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos* **98**: 156-162.
- Ruokolainen, L., Lindén, A., Kaitala, V., & Fowler, M. S. (2009). Ecological and evolutionary dynamics under coloured environmental variation. *Trends in Ecology & Evolution* **24**: 555-563.
- Ryser, P., & Eek, L. (2000). Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *American Journal of Botany* **87**: 402-411.
- Saad, L., Parmentier, I., Colinet, G., Malaisse, F., Faucon, M. P., Meerts, P., & Mahy, G. (2012). Investigating the vegetation-soil relationships on the copper-cobalt rock outcrops of Katanga (DR Congo), an essential step in a biodiversity conservation plan. *Restoration Ecology* **20**: 405-415.
- Saavedra, S., Rohr, R. P., Bascompte, J., Godoy, O., Kraft, N. J., & Levine, J. M. (2017). A structural approach for understanding multispecies coexistence. *Ecological Monographs* **87**: 470-486.
- Saccone, P., Hoikka, K., & Virtanen, R. (2017). What if plant functional types conceal species-specific responses to environment? Study on arctic shrub communities. *Ecology* **98**: 1600-1612.

- Scheres, B., & Van Der Putten, W. H. (2017). The plant percepton connects environment to development. *Nature* **543**: 337-345.
- Schlichting, C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 667-693.
- Schlichting, C. D., & Levin, D. A. (1986). Effects of inbreeding on phenotypic plasticity in cultivated Phlox. *Theoretical and Applied Genetics* **72**: 114-119.
- Schmitz, A. (1971). La végétation de la plaine de Lubumbashi (Haut-Katanga). Institut national pour l'étude agronomique du Congo. 388pages.
- Séleck, M., Bizoux, J. P., Colinet, G., Faucon, M. P., Guillaume, A., Meerts, P., ... & Mahy, G. (2013). Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant and Soil* **373**: 455-469.
- Shaw, J. (1989). Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. CRC Press. 268 pages.
- Shi, J., Sun, L., Peng, C., Xu, C., Wang, Y., Chen, X., ... & Chen, Y. (2018). Copper Speciation and Transformation in Soil-Plant System. In Luo Y., Tu C. (Eds). *Twenty Years of Research and Development on Soil Pollution and Remediation in China*. Springer, Singapore. 151-164
- Shipley, B. (2010). From plant traits to vegetation structure: chance and selection in the assembly of ecological communities. Cambridge University Press. 290 pages.
- Shipley, B., De Bello, F., Cornelissen, J. H. C., Laliberté, E., Laughlin, D. C., & Reich, P. B. (2016). Reinforcing loose foundation stones in trait-based plant ecology. *Oecologia* **180**: 923-931.
- Shutch, M. N., Faucon, M. P., Kissi, C. K., Colinet, G., Mahy, G., Luhembwe, M. N., ... & Meerts, P. (2015). Three years of phytostabilisation experiment of bare acidic soil extremely contaminated by copper smelting using plant biodiversity of metal-rich soils in tropical Africa (Katanga, DR Congo). *Ecological Engineering* **82**: 81-90.
- Shutch, M. N., Mubemba, M. M., Faucon, M. P., Luhembwe, M. N., Visser, M., Colinet, G., & Meerts, P. (2010). Phytostabilisation of copper-contaminated soil in Katanga: an experiment with three native grasses and two amendments. *International Journal of Phytoremediation* **12**: 616-632.
- Sides, C. B., Enquist, B. J., Ebersole, J. J., Smith, M. N., Henderson, A. N., & Sloat, L. L. (2014). Revisiting Darwin's hypothesis: Does greater intraspecific variability increase species' ecological breadth? *American Journal of Botany* **101**: 56-62.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C. H., Taudiere, A., Fajardo, A., ... & L Dantas, V. (2015). A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters* **18**: 1406-1419.
- Smit, C., Vandenbergh, C., Den Ouden, J., & Müller-Schärer, H. (2007). Nurse plants, tree saplings and grazing pressure: changes in facilitation along a biotic environmental gradient. *Oecologia* **152**: 265-273.
- Squadrone, S., Burioli, E., Monaco, G., Koya, M. K., Prearo, M., Gennero, S., ... & Abete, M. C. (2016). Human exposure to metals due to consumption of fish from an artificial lake basin close to an active mining area in Katanga (DR Congo). *Science of the Total Environment* **568**: 679-684.
- Srivastava, D. S., Cadotte, M. W., MacDonald, A. A. M., Marushia, R. G., & Mirotchnick, N. (2012). Phylogenetic diversity and the functioning of ecosystems. *Ecology Letters* **15**: 637-648.
- Stark, J., Lehman, R., Crawford, L., Enquist, B. J., & Blonder, B. (2017). Does environmental heterogeneity drive functional trait variation? A test in montane and alpine meadows. *Oikos* **126**: 1650-1659.
- Stein, A., Gerstner, K., & Kreft, H. (2014). Environmental heterogeneity as a universal driver of species richness across taxa, biomes and spatial scales. *Ecology Letters* **17**: 866-880.
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* **5**: 537-542.
- Swanson, H. K., Lysy, M., Power, M., Stasko, A. D., Johnson, J. D., & Reist, J. D. (2015). A new probabilistic method for quantifying n-dimensional ecological niches and niche overlap. *Ecology* **96**: 318-324.
- Swenson, N. G., & Enquist, B. J. (2007). Ecological and evolutionary determinants of a key plant functional trait: Wood density and its community-wide variation across latitude and elevation. *American Journal of Botany* **94**: 451-459.
- 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, M. S., & Hellberg, M. E. (2005). Marine radiations at small geographic scales: speciation in neotropical reef gobies (Elacatinus). *Evolution* **59**: 374-385.
- Tjoelker, M. G., Craine, J. M., Wedin, D., Reich, P. B., & Tilman, D. (2005). Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *New Phytologist* **167**: 493-508.
- Tucker, C. M., Cadotte, M. W., Carvalho, S. B., Davies, T. J., Ferrier, S., Fritz, S. A., ... & Pavoine, S. (2017). A guide to phylogenetic metrics for conservation, community ecology and macroecology. *Biological Reviews* **92**: 698-715.
- Tucker, C. M., Davies, T. J., Cadotte, M. W., & Pearse, W. D. (2018). On the relationship between phylogenetic diversity and trait diversity. *Ecology* **99**:1473-1479
- Valiente-Banuet, A., & Ezcurra, E. (1991). Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. *Journal of Ecology* **79**: 961-971.
- van der Ent, A., Baker, A. J., Reeves, R. D., Pollard, A. J., & Schat, H. (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloids trace elements: facts and fiction. *Plant and Soil* **362**: 319-334.
- van der Ent, A., Erskine, P., & Sumail, S. (2015). Ecology of nickel hyperaccumulator plants from ultramafic soils in Sabah (Malaysia). *Chemoecology* **25**: 243-259.
- van Ruijven, J., & Berendse, F. (2005). Diversity-productivity relationships: initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America **102**: 695-700.
- Vanelander, B., De Wever, A., Van Oostende, N., Kaewnurachadasorn, P., Vanormelingen, P., Hendrickx, F., ... & Vyverman, W. (2009). Complementarity effects drive positive diversity effects on biomass production in experimental benthic diatom biofilms. *Journal of Ecology* **97**: 1075-1082.
- Vellend, M. (2010). Conceptual synthesis in community ecology. *The Quarterly Review of Biology* **85**: 183-206.
- Vellend, M. (2016). The theory of ecological communities. Princeton University Press. 248 pages.
- Vermeulen, P. J., Anten, N. P., Schieving, F., Werger, M. J., & Daring, H. J. (2008). Height convergence in response to neighbour growth: genotypic differences in the stoloniferous plant *Potentilla reptans*. *New Phytologist* **177**: 688-697.
- Via, S. (2009). Natural selection in action during speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 9939-9946.
- Villéger, S., Mason, N. W., & Moullot, D. (2008). New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* **89**: 2290-2301.
- Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A. G., & Pigna, M. (2010). Mobility and bioavailability of heavy metals and metalloids in soil environments. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **10**: 268-292.
- Violle, C., & Jiang, L. (2009). Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology* **2**: 87-93.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L. I. N., Albert, C. H., Hulshof, C., ... & Messier, J. (2012). The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **27**: 244-252.
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos* **116**: 882-892.
- Violle, C., Reich, P. B., Pacala, S. W., Enquist, B. J., & Kattge, J. (2014). The emergence and promise of functional biogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**: 13690-13696.
- Webb, C. O. (2000). Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees. *The American Naturalist* **156**: 145-155.
- Webb, C. O., Ackerly, D. D., McPeck, M. A., & Donoghue, M. J. (2002). Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 475-505.
- Weiher, E., & Keddy, P. (2001). Ecological assembly rules: perspectives, advances, retreats. *Cambridge University Press*. 432 pages.
- Weiher, E., & Keddy, P. A. (1995). Assembly rules, null models, and trait dispersion: new questions from old patterns. *Oikos* **74**: 159-164.
- Weiher, E., Freund, D., Bunton, T., Stefanski, A., Lee, T., & Bentivenga, S. (2011). Advances, challenges and a developing synthesis of ecological community assembly theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **366**: 2403-2413.
- White, P. J. (2016). Biofortification of Edible Crops. In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.). doi:10.1002/9780470015902.a0023743
- Wiens, J. J. (2011). The niche, biogeography and species interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **366**: 2336-2350.
- Wierzbicka, M., & Panufnik, D. (1998). The adaptation of *Silene vulgaris* to growth on a calamine waste heap (S. Poland). *Environmental Pollution* **101**: 415-426.
- Wierzbicka, M., & Pielichowska, M. (2004). Adaptation of *Biscutella laevigata* L, a metal hyperaccumulator, to growth on a zinc-lead waste heap in southern Poland: I: differences between waste-heap and mountain populations. *Chemosphere* **54**: 1663-1674.
- Wisn, M. S., Pottier, J., Kissling, W. D., Pellissier, L., Lenoir, J., Damgaard, C. F., ... & Heikkinen, R. K. (2013). The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. *Biological Reviews* **88**: 15-30.
- Wójcik, M., Dresler, S., Jawor, E., Kowalczyk, K., & Tukiendorf, A. (2013). Morphological, physiological, and genetic variation between metallicolous and nonmetallicolous populations of *Dianthus carthusianorum*. *Chemosphere* **90**: 1249-1257.
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., ... & Flexas, J. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821-827.
- Wright, J. W., Davies, K. F., Lau, J. A., McCall, A. C., & McKay, J. K. (2006). Experimental verification of ecological niche modeling in a heterogeneous environment. *Ecology* **87**: 2433-2439.
- Wright, S. (1940). Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist* **74**: 232-248.
- Xu, J., Chen, Y., Zhang, L., Chai, Y., Wang, M., Guo, Y., ... & Yue, M. (2017). Using phylogeny and functional traits for assessing community assembly along environmental gradients: A deterministic process driven by elevation. *Ecology and Evolution* **7**: 5056-5069.
- Yang, J., Cao, M., & Swenson, N. G. (2018). Why functional traits do not predict tree demographic rates. *Trends in Ecology & Evolution* **33**: 326-336.
- Zobel, M., Otsus, M., Liira, J., Moora, M., & Möls, T. (2000). Is small-scale species richness limited by seed availability or microsite availability? *Ecology* **81**: 3274-3282.

Chapitre 1

Plant community assembly along a natural metal gradient in central Africa: functional and phylogenetic approach

Guillaume Delhaye, Olivier J. Hardy, Maxime Séleck, Edouard Ilunga wa Ilunga, Grégory Mahy, Pierre Meerts

Accepted with revision in Journal of Vegetation Science.

Abstract

Functional and phylogenetic diversity are increasingly used to characterise plant communities along various environments. However, metallic trace element (MTE) gradients remain understudied from this point of view. Here we characterise the taxonomic, phylogenetic and functional variation of plant communities along a copper gradient in central Africa using different indices. We quantified the variation of the standardized effect size of phylogenetic diversity (sesPD) using a phylogenetic tree based on the plastid genes *rbcL* and *matK* as well as three univariate functional indices: community weighted mean (CWM), the standardized effect size of functional richness (sesFRic) and dispersion (sesFDis) on ten functional traits related to resources acquisition, conservation and metal tolerance strategy. Along with an increase in soil Cu concentration, we found a decrease in species number and a strong species turnover. On metal poor soils, phylogenetic clustering and functional traits overdispersion indicate selection for certain clades with various traits combination, which is the typical signature of competitive interactions. On metal enriched soils phylogenetic overdispersion and functional clustering could be attributed to selection for optimal traits values including lower stature, smaller seeds and rapid resources acquisition strategy in various clades. However, metal tolerance strategy show a clear overdispersion on metal enriched soils confirming the presence of several strategies to cope with the excess of metal in the soil. This suggests that plant communities on MTE rich soils are very original from the phylogenetic and functional point of view.

Keywords: functional diversity, phylogenetic diversity, species turnover, copper, metal tolerance

Introduction

Discovering the factors driving non-random assembly in biological communities is a longstanding goal in ecology (Weiher et al. 2011). Traits similarity among species in a community is expected to be increased by abiotic filtering processes while it could be lowered by competition (Weiher and Keddy 1995; Kraft and Ackerly 2014 but *see* Mayfield and Levine 2010). These processes select a subset of species presenting a particular suite of traits allowing coexistence (Weiher et al. 2011) in a way that is detectable by functional diversity analysis (e.g. Mouillot et al. 2011 but *see* D'Andrea and Ostling 2016; Gallien 2016 for recent critics).

Assembly processes are intensively studied along ecological gradients such as resources or altitude, with conflicting results. Along resources gradients, while some studies show increased trait divergence at the resource-rich end and convergence on resource-poor soils (Mason et al. 2012), others find the opposite pattern (convergence at the resource-rich end of the gradient) possibly explained by competition for light (Pakeman et al. 2011; Janacek et al. 2013). Along altitudinal gradients, some studies show functional convergence at low altitude, due to the filtering effect of water limitation but no apparent filtering effect at the higher end of the gradient (Pescador et al. 2015) while others find strong trait convergence at high altitudes (Xu et al. 2017). Further, the variation of functional diversity is highly trait-dependant (Spasojevic and Suding 2012; Bernard-Verdier et al. 2013).

Phylogenetic diversity (PD) measures are also increasingly used to assess community assembly mechanisms (Cadotte and Davies 2016). Some studies show that PD can represent a good proxy to functional diversity (Kraft et al. 2007; Baraloto et al. 2012) while others find it to be a poor predictor of environment and trait variation (e.g. Bernard-Verdier et al. 2013; Mason and Pavoine 2013). When analyzed together, functional and phylogenetic diversity indices have demonstrated that they can bring complementary information (Pavoine and Bonsall 2011; Bernard-Verdier et al. 2013).

Plant communities on metallic trace elements (MTE) enriched soils are highly distinctive (Ernst 2006). They are generally composed of relatively few species (metallophytes), and have scarce plant cover in comparison to the surrounding vegetation (Baker et al. 2010). The characteristic traits of metallophytes include smaller, xeromorphic leaves, smaller stature and highly developed rooting system (Brady et al. 2005). However, most of these studies concern ultramafic soils where xeric conditions and nutrient limitations represent strong constraints on the vegetation in addition to MTE (Kazakou et al. 2008). It is often suggested that MTE tolerance may lead to a physiological cost (Kruckeberg 1951; Wilson 1988) resulting in trade-offs between MTE tolerance and traits related to resources capture, growth rate and competitive ability. Several tolerance strategies have been reported from exclusion to accumulation of metals (Baker 1981). Although it is widespread in the phylogeny of flowering plants, MTE tolerance is often overrepresented in specific families in local metalliferous flora

(Baker and Proctor 1990). For example, Brassicaceae, Caryophyllaceae and Poaceae contain most of the MTE tolerant species in the European flora (Ernst 2006).

The south of D.R. Congo is characterized by a remarkable geological anomaly known as the Katangan Copperbelt. There, over 200 metalliferous outcrops (“copper hills”) are scattered in the landscape, surrounded by dry tropical forest (“Miombo”) (Duvigneaud and Denaeyer-De Smet 1963). On these hills the vegetation consists of bushed grasslands (*sensu* Dixon et al 2014) with strong spatial structure and a zonation of species along the Cu gradient, some possessing a narrow niche on the most contaminated soils (Duvigneaud and Denaeyer-De Smet 1963; Séleck et al. 2013; Boisson et al 2017). Short distance gradients of MTE soil concentrations are a prominent attribute of those hills, with EDTA-available soil Cu ranging from 50 to 10 000 mg.kg⁻¹, accompanied on some outcrops by a corresponding gradient of Co (30 to 5000 mg.kg⁻¹) over a distance of less than 300 meters (Saad et al. 2012; Séleck et al. 2013). Compared to other metalliferous soils such as encountered on serpentine sites, water and P limitation does not appear to be positively correlated to MTE concentration (Séleck et al. 2013; Delhaye et al. 2016). Due to the small size of these sites, strong dispersal limitation within site is unlikely to play an important role.

Along such a gradient, we studied community assembly mechanisms using functional and phylogenetic approaches. In a previous study, we show that intraspecific trait variation plays a negligible role compared to species turn-over in community’s total trait variation (Delhaye et al. 2016). Here, we investigate the community-environment relationship using a complementary “single trait-phylogenetic” approach. Following the “Stress-Dominance Hypothesis” (Weiher and Keddy 1995) we hypothesize that soil MTE concentration act as a strong environmental filter on highly contaminated soil, allowing only species with adapted sets of traits to establish. On the contrary, on soils with low metal content, competition is expected to act as the main driving force due to the resulting higher total biomass of the community (Weiher and Keddy 1995; Mouillot et al. 2007).

-We expect community weighted mean traits values to show stress tolerance related syndromes on metal enriched soils.

-Traits related to resource capture and conservation should exhibit divergence on metal poor soils as a result of niche partitioning, and convergence on metal rich soils due to the filtering effect of the high amount of MTE.

-On highly contaminated soils, we expect higher clustering of traits related to MTE tolerance strategy due to the strong abiotic filter at the highly toxic end of the gradient.

-We expect PD to be clustered on highly contaminated soils because it is likely that extreme MTE tolerance has evolved only among certain plant lineages.

Material and methods

Study site

The study site is located in Fungurume, in the Katangan copperbelt, approximately 200 km WNW of Lubumbashi (D.R. Congo), in the north of the Zambebian region. The climate of the region is subtropical with 6 month rain season (November to April). Average annual rainfall is 1300 mm. Mean annual temperature is approximately 20°C with a monthly minimum of 15°C at the beginning of the dry season and maximum of 32°C at the end of the dry season. The study site is located on the northern slope of “Fungurume V” hill (S 10°37'00" E 26°17'20") which is a 3.3 ha natural Cu and Co rich outcrop ranging from 1195 to 1270 m-a-s-l with slopes ranging from 0 to 30°. The study is based on botanical relevés in 84 1m² plots associated to soil analyses such as further presented in Séleck et al (2013). In each plot, species abundances were estimated visually as a percentage of soil cover in each plot. In order to obtain representative communities, we ranked the plots based on soil Cu content and dissected the formed gradient in 21 parts. This produced 21 composite communities of 4 m² each capturing a representative part of the communities encountered on a homogenous soil Cu composition. These composite communities turned out to be more adequate units to compute community indices than the 1m² plots as some of the later contained few species, causing extreme stochasticity in community indices. A total of 72 species of angiosperms were selected for traits measurement. In a previous study (Delhaye et al. 2016), we showed a strong decrease in community aboveground biomass along with increasing available Cu in the soil (from 601±127 g.m⁻² to 366±112 g.m⁻²).

Phylogenetic tree

A phylogenetic tree for the 72 studied species was extracted from a dated molecular phylogeny of 38 000 plant species based on the plastid genes *rbcL* and *matK* (Steven Janssens and Olivier Hardy, unpublished). The later contained a representative of the genus for 62 of the 72 focal species. For the genera containing several species, each species branch was placed at random between the tip and the root of the genus in the molecular phylogeny. For the 8 genera (Anisopappus, Diplolophium, Endostemon, Haumaniastrum, Monocymbium, Pleiotaxis, Rhytachne, Trachypogon) with no match in the supertree, a branch was added at the oldest node where the divergence was possible based on phylogenetic information, such as the sub-family or the tribe obtained from different floras. The pruned tree of the 72 focal species is represented in Fig. 1.

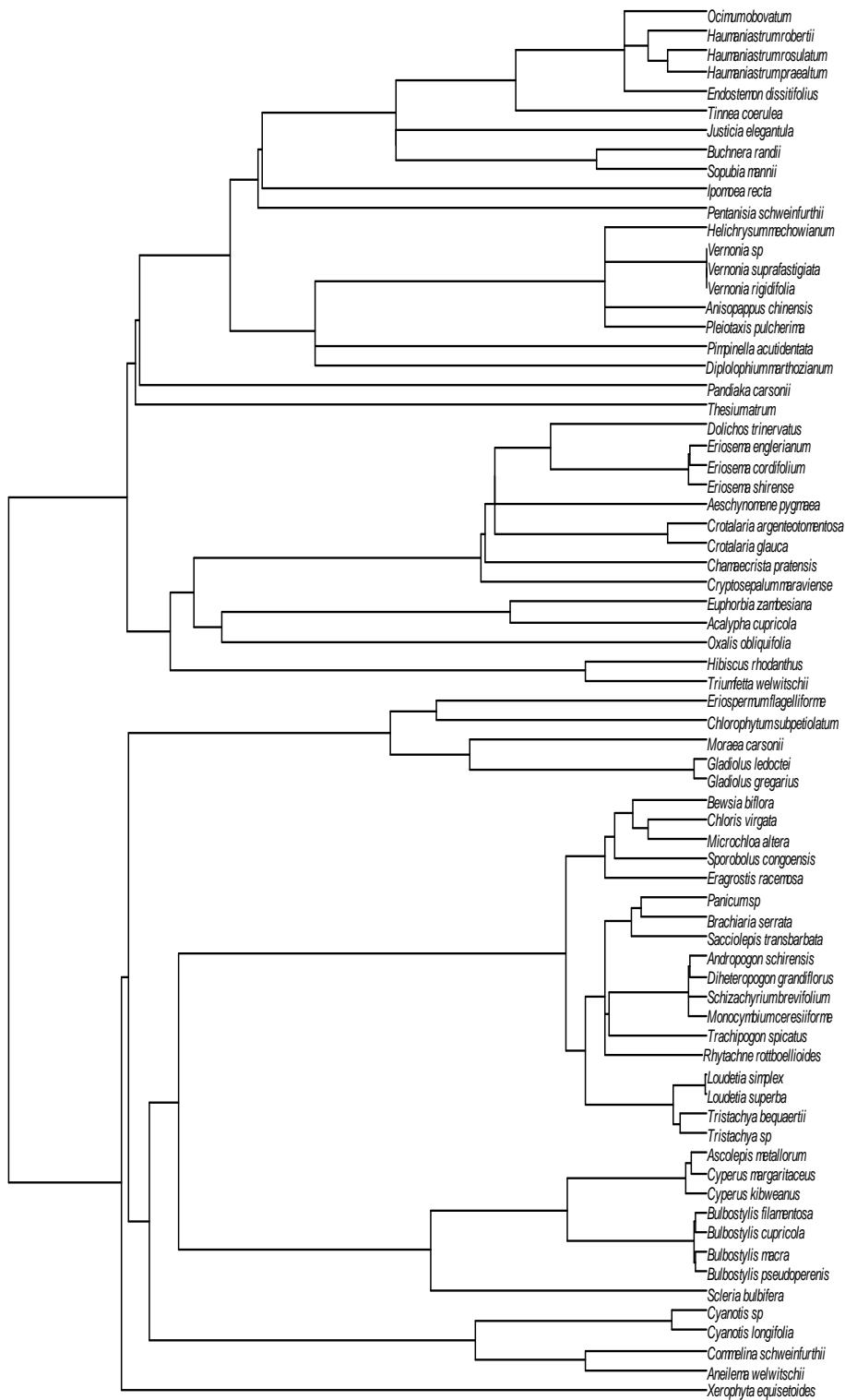


Figure 1: Phylogenetic tree obtained for the 72 studied species. The tree is obtained from a dated molecular phylogeny of 38 000 plant species based on the plastid genes *rbcL* and *matK* (Steven Janssens and Olivier Hardy, unpublished)

Traits and soil measurement

We measured 10 functional traits related to resource capture and conservation, regeneration and metal tolerance strategy. All traits were measured on three to 30 healthy mature individuals, depending on the trait and the species, following Perez-Harguindeguy et al. (2013). Vegetative height (VH) was measured as the maximum distance from the soil surface to the highest leaf. Leaf area (LA) was measured on photography of two fresh undamaged leaves on each individual, using the Image J software (Schneider et al 2012). Leaf dry matter content (LDMC) was obtained by dividing the leaf dry mass (dried for 48 hours at 60°C then conserved in silicagel for 5 days) by the mass of the fresh leaf. Specific leaf area (SLA m² kg⁻¹) was calculated as the ratio of leaf area/leaf dry mass. Leaf thickness (LT) was approximated by 1/(SLA*LDMC) Perez-Harguindeguy et al. (2013). Seed mass (SM) was measured directly on fresh seeds collected in the field. For most species and when available, at least 300 seeds were weighted together. For species for which less than 300 seeds available, all collected seeds were individually weighted. Rooting depth (RD) was measured on at least five individuals per species by digging out the plant carefully. Due to technical limitations, the maximum depth was 150cm. Leaf nitrogen content (LNC) was measured on half of the leaves used for leaf area measurement. It was analysed on 0.2g of ground leaf powder by flash combustion at 950°C (Dumas method) on a C/N analyser (Leco CN-2000).

Metal tolerance strategy was assessed by means of the leaf Cu (LCuC) and Co (LCoC) concentrations. The leaves were washed in a 1% Alconox[®] solution, and rinsed to remove contamination by metal-rich dust (Faucon et al. 2007). Samples were dried at 105°C for 48 hours and ashed at 500°C for 12h. Ashes were diluted in 1 ml of H₂O and 2 ml of HNO₃ 65% (Hoenig and de Kersabiec 1996) and heated at 100°C for 5 min. After effervescence, each solution was filtered and diluted in H₂O in order to obtain a 50 ml solution, and then analysed by atomic emission spectroscopy (ICP-OES Varian Vista MPX).

For each species, we attributed a life form based on the type of storage organ during the dry season. The four groups were annuals, graminoids, geofrutex (perennial underground woody structures) and geophytes (bulbs or fleshy roots).

Soil variables values were extracted from Séleck et al. (2013) and pooled similarly to the vegetation plots. We used EDTA-extracted soil concentrations of Cu, Co, Zn, Fe, Mn, K, Mg, Ca, P as well as soil pH and gravel (>2mm), C and N content. Soil water content was measured for 32 plots as the difference between fresh soils mass and dry mass after 48 hours in the oven at 65°C (see Delhayé et al. 2016).

Statistical analysis

A PCA was performed on all log transformed soil variables. As the first axis was highly correlated to Cu concentration (Fig. 2), as we expected, Cu concentration was taken as the

soil variable against which plant community characteristics were compared. Relationships between Cu and other soil variables were assessed by Pearson correlation coefficient.

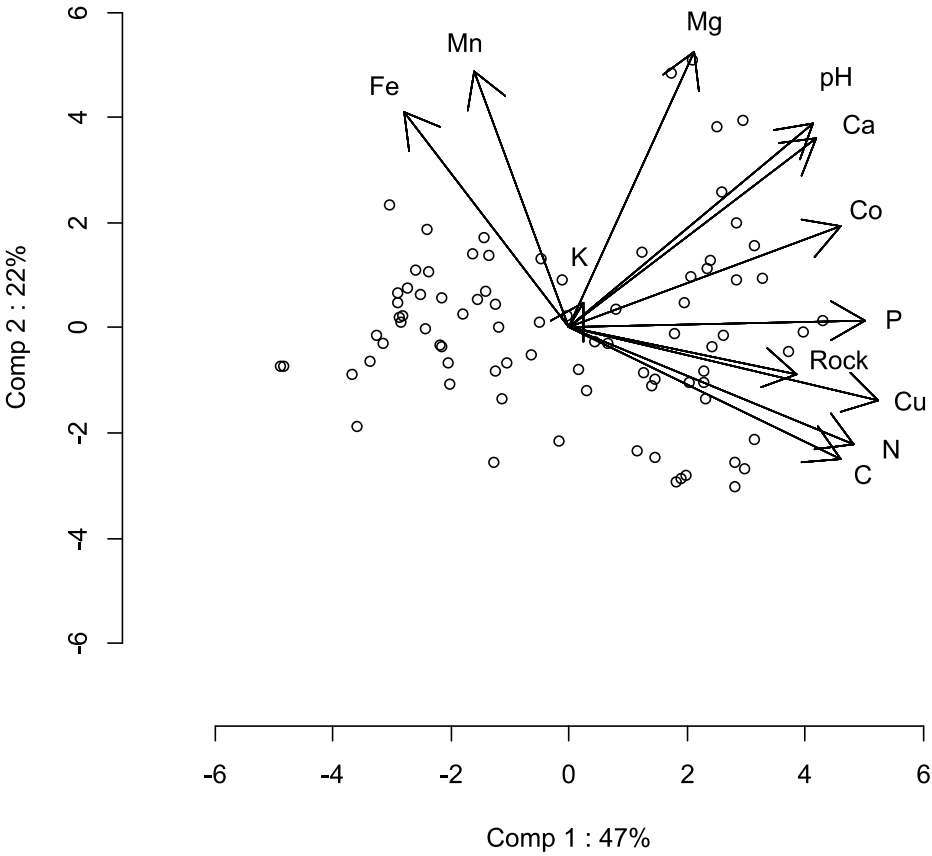


Figure 2: Biplot of the principal component analysis on the soil factors in the 84 plots. The points represent the 84 plots of the original study of Séleck et al (2013).

Taxonomic richness was evaluated as the number of species per composite community and the species turn-over was measured as the Sørensen index of similarity in species composition between composite communities. To evaluate the species turn-over along the gradient, we used a Mantel test between the Sørensen distance in species composition and the Euclidean distance in log transformed soil *Cu* concentration.

The phylogenetic diversity index (PD), i.e. the sum of phylogenetic branch lengths of all co-occurring species (Faith 1992), was computed in each composite community. Due to non-independence of PD and taxonomic richness (Cadotte and Davies 2016), PD was expressed as standardised effect size (sesPD) between observed values and a null model. The null distribution was constructed by shuffling the tips of the phylogeny 9999 times along the tree and calculating PD each time. This procedure allows isolating the effect of the phylogeny while keeping the other parameters of the community constant (e.g. Cadotte and Davies 2016). The effect size indicates thus the tendency of species from a community to more

(phylogenetic clustering, negative value) or less related (phylogenetic overdispersion, positive value) than a random assembly of the 72 focal species. We quantified phylogenetic traits conservatism using the K index (Blomberg et al. 2003).

For trait-based analysis VH, LDMC and LT were square root transformed and all other traits were log transformed to improve the normality. To quantify the variation of community level traits along the gradient, we used Community Weighted Mean (CWM, Garnier et al. 2004). To assess the functional diversity variation, we used univariate indices because they are more informative than multivariate indices to link processes to environmental gradients (Spacojevic and Suding 2012; Butterfield and Suding 2013). Because functional diversity indices can vary along an environmental gradient as a result of a taxonomic richness gradient (Mason et al. 2013), we used the standardised effect size of functional richness (FRic) and functional dispersion (FDis) (Villéger et al. 2008; Laliberté and Legendre 2010) indices as they provide complementary information about the changes in functional composition along environmental gradients and are independent from each other (Mason et al. 2013). To calculate sesFRic, a null model (nperm =9999) was built by sampling new communities from the entire dataset of species available, keeping each communities abundance constant, because dispersal limitation is not thought to play an important role at the restricted spatial scale of our study. sesFDis null models (nperm =9999) was built on the local species assemblage, keeping the same species and permuting only their relative abundance to obtain an index of functional divergence (Mason et al. 2013).

For CWM, sesFRic, sesFDis and sesPD, variation pattern along the *Cu* gradient was examined with Spearman correlation coefficient. We also investigated for general patterns of over- or under-dispersion along the whole gradient using Wilcoxon paired tests (e.g. Bernard-Verdier et al. 2012). Significant deviation from zero indicates that the index is over- or under-dispersed along the whole gradient. Variation in life forms relative abundance along the gradient was evaluated using Pearson correlations.

Statistical analyses were performed using FD (Laliberté and Legendre 2010), ape (Paradis et al. 2004), vegan (Oksanen et al. 2009), picante (Kembel et al. 2010) and ade4 (Dray and Dufour 2007) packages in R software (R Core Team 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>).

Results

Soil variables

In the 21 studied composite communities, Cu_{soil} varied from 139 to 6650 $mg.kg^{-1}$. Rock and water content, pH, C, N, Co and P were strongly positively correlated with Cu_{soil} and Fe was highly negatively correlated to Cu_{soil} (Table 1).

Table 1: Minimum, maximum values of soil parameters and Pearson correlation coefficients (r) with Cu_{soil} . Rock, C and N content are expressed as percent of dry mass, water content (H_2O) is expressed as the percent of total soil mass while other elements are expressed as $mg.kg^{-1}$ of dry soil. p-values: * <0.05, *** <0.001, n.s. not significant.

| | Minimum | Maximum | r |
|-------------------------------------|---------|---------|------------|
| Rock (%) | 8.65 | 39.7 | 0.81 *** |
| pH | 5.46 | 6.76 | 0.71 *** |
| C (%) | 1.76 | 6.76 | 0.80 *** |
| N (%) | 0.11 | 0.41 | 0.83 *** |
| H2O (%) | 5.8 | 28.4 | 0.74 *** |
| Cu ($mg.kg^{-1}$) | 139 | 6650 | 1.00 - |
| Co ($mg.kg^{-1}$) | 13.9 | 441 | 0.91 *** |
| P ($mg.kg^{-1}$) | 7.2 | 172 | 0.76 *** |
| Zn ($mg.kg^{-1}$) | 10.2 | 51.7 | 0.45 * |
| Mn ($mg.kg^{-1}$) | 39.4 | 112 | -0.45 * |
| Fe ($mg.kg^{-1}$) | 23.9 | 83.2 | -0.79 *** |
| K ($mg.kg^{-1}$) | 34.1 | 72.2 | -0.35 n.s. |
| Mg ($mg.kg^{-1}$) | 83.3 | 418 | 0.13 n.s. |
| Ca ($mg.kg^{-1}$) | 89.7 | 1540 | 0.33 n.s. |

Taxonomic and phylogenetic diversity

Of the 19 families represented in the 72 studied species, the most represented ones include Poaceae (19 species), Fabaceae (9 species), Cyperaceae (8 species), Asteraceae and Lamiaceae (6 species each) accounting for 67 % of all the species. Species richness per composite community varied from 20 to 35 and was negatively correlated with $\log Cu_{soil}$ ($\rho = -0.89$, $p < 0.001$; Fig 3a). There was a strong turn-over of species along the gradient as indicated by the negative correlation between the Sørensen species similarity index and the absolute difference in $\log Cu_{soil}$ between communities ($\rho = -0.90$, $p < 0.001$; Fig 3b).

The phylogenetic dispersion (expressed as the standardized effect size of the phylogenetic diversity index (sesPD)) showed a significant increase along with $\log Cu_{soil}$ ($\rho = 0.76$, $p < 0.001$) with phylogenetic clustering at the base of the gradient on metal poor soils and overdispersion on metal rich soils. Species richness, as well as phylogenetic dispersion, changed in a stepwise fashion across a threshold at ca. $1000 \text{ mg Cu.kg}^{-1}$ in soil (Fig 3a and c).

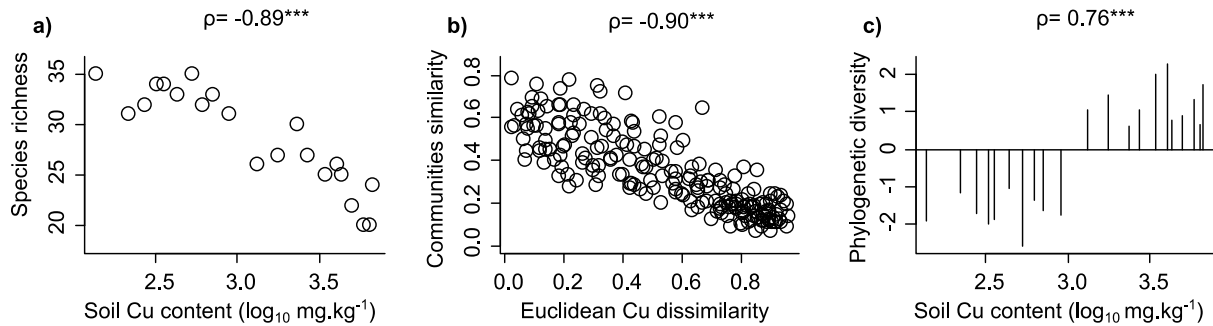


Figure 3: (a) Variation of taxonomic richness expressed as the number of species with soil *Cu* concentration (\log_{10} transformed) ($\rho = -0.89$; $p < 0.001$), (b) variation in species turn-over (Sørensen similarity index) as a function of the absolute difference of $\log_{10} (Cu_{soil})$ between composite communities ($\rho = -0.90$, $p < 0.001$), (c) phylogenetic dispersion (standardized effect size of PD index) along the *Cu* gradient ($\rho = 0.75$; $p < 0.001$)

Blomberg's K values were < 0.3 for all traits and significant only for LT, LNC and SM indicating that, relative to a Brownian motion model, most variance in these traits was within lineages (Table 2).

Community weighted mean variation

Leaf area, rooting depth, seed mass, leaf dry matter content and leaf thickness significantly decreased with increasing Cu_{soil} while SLA, LNC and LCoC increased significantly along the gradient (Fig. 4). Vegetative height and LNC displayed no significant pattern (Fig. 4).

Table 2: Bloomberg's K and associated probability for all traits. Significant values ($p < 0.05$) are bolded. VH: vegetative height, LA: leaf area, RD: rooting depth, SM: seed mass, SLA: specific leaf area, LDMC: leaf dry matter content, LT: leaf thickness, LNC: leaf N content, LCuC: leaf Cu content, LCoC: leaf Co content.

| | K | p |
|------------------|-------------|--------------|
| <i>VH</i> | 0.04 | 0.297 |
| <i>RD</i> | 0.03 | 0.527 |
| <i>LA</i> | 0.04 | 0.667 |
| <i>LDMC</i> | 0.03 | 0.347 |
| <i>LT</i> | 0.11 | 0.013 |
| <i>SLA</i> | 0.06 | 0.312 |
| <i>N</i> | 0.17 | 0.002 |
| <i>SM</i> | 0.28 | 0.046 |
| <i>Cu</i> | 0.08 | 0.615 |
| <i>Co</i> | 0.18 | 0.128 |

Functional richness

Functional richness (sesFRic) showed contrasting patterns depending on the trait. sesFRic decreased along the gradient for leaf area, seed mass and leaf thickness. These three traits showed greater functional richness than expected on metal poor soils and the first two showed lower richness compared to the null model on metal enriched soils (Fig. 4). sesFRic increased along the gradient for LCuC and LCoC, with functional trait clustering on metal poor soils to functional overdispersion on metal enriched soils (Fig. 4). Across the whole gradient, vegetative height and LNC showed clustering (Wilcoxon test $p < 0.001$ and $p = 0.002$ respectively) while LDMC showed overdispersion (Wilcoxon test $p < 0.001$) (Fig. 4). Rooting depth and SLA did not exhibit any clear pattern.

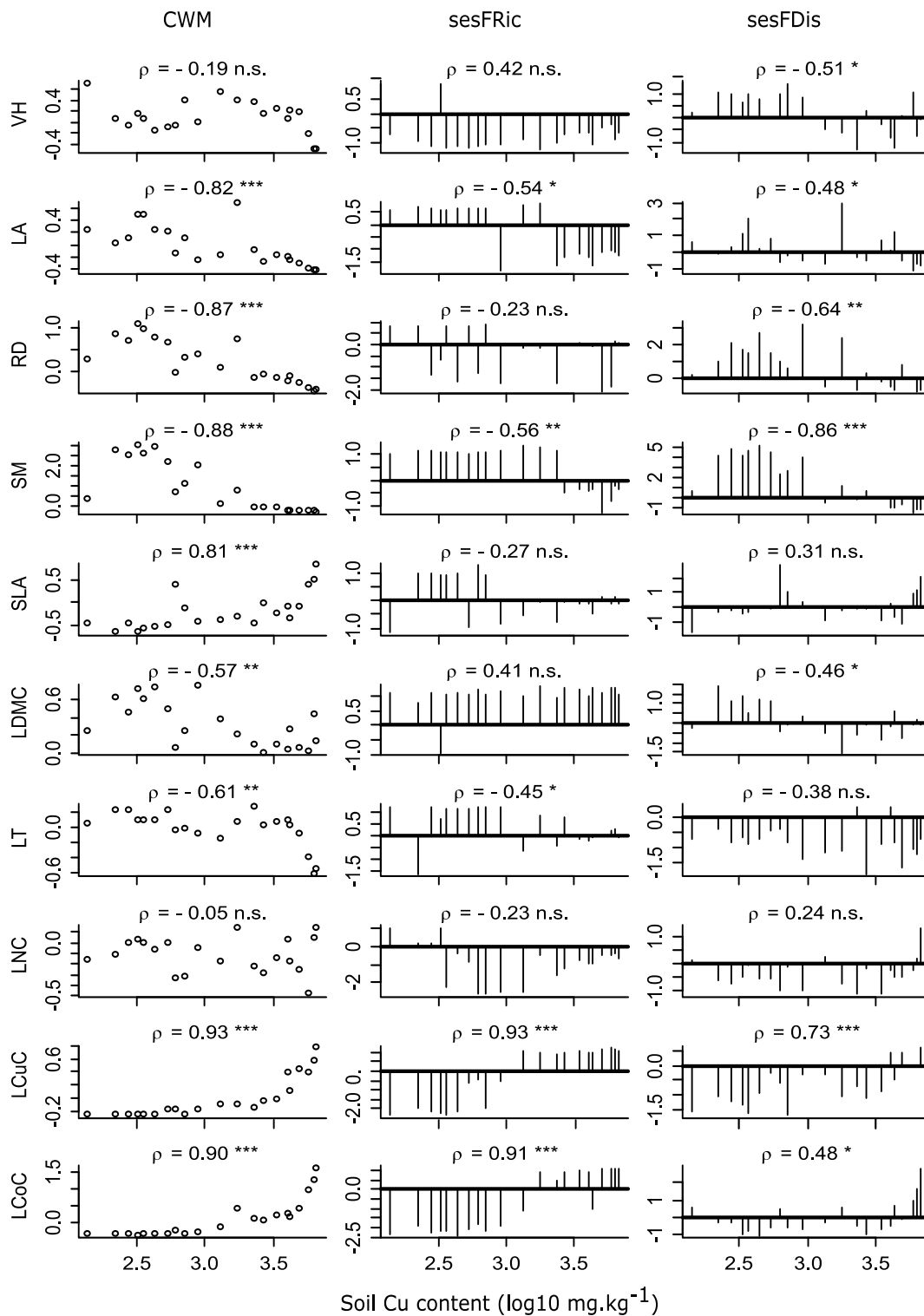


Figure 4: Variation of the three functional diversity indices (CWM, sesFRic and sesFDis) along the Cu gradient (\log_{10} scale of Cu_{soil}) for the standardized values of 10 functional traits in the 21 composite communities. Spearman correlation coefficient and significance is indicated above each graph. p-values: * <0.05 , *** <0.001 , n.s. non-significant. VH: vegetative height, LA: leaf area, RD: rooting depth, SM: seed mass, SLA: specific leaf area, LDMC: leaf dry matter content, LT: leaf thickness, LNC: leaf N content, LCuC: leaf Cu content, LCoC: leaf Co content

Functional dispersion

sesFDis for vegetative height, leaf area, rooting depth, seed mass and LDMC showed a significant negative correlation with Cu_{soil} (Fig. 4). sesFDis for both leaf Cu and Co concentrations showed a significant increase along the Cu gradient from underdispersion on metal poor soil to overdispersion on the most Cu rich end (Fig. 4). LT and LNC were both underdispersed along the whole gradient (Wilcoxon test $p < 0.001$ and $p = 0.003$ respectively). No trait displayed overdispersion while considering all composite communities. SLA did not exhibit any clear trend along the Cu gradient.

Life forms

Regarding the cover representation of plant life forms, the proportion of geofrutex decreased dramatically along the gradient (62 - 1%) while the proportion of annuals (0 - 34%), graminoids (26 - 69%) and geophytes species (1 - 31%) increased significantly (Fig. 5).

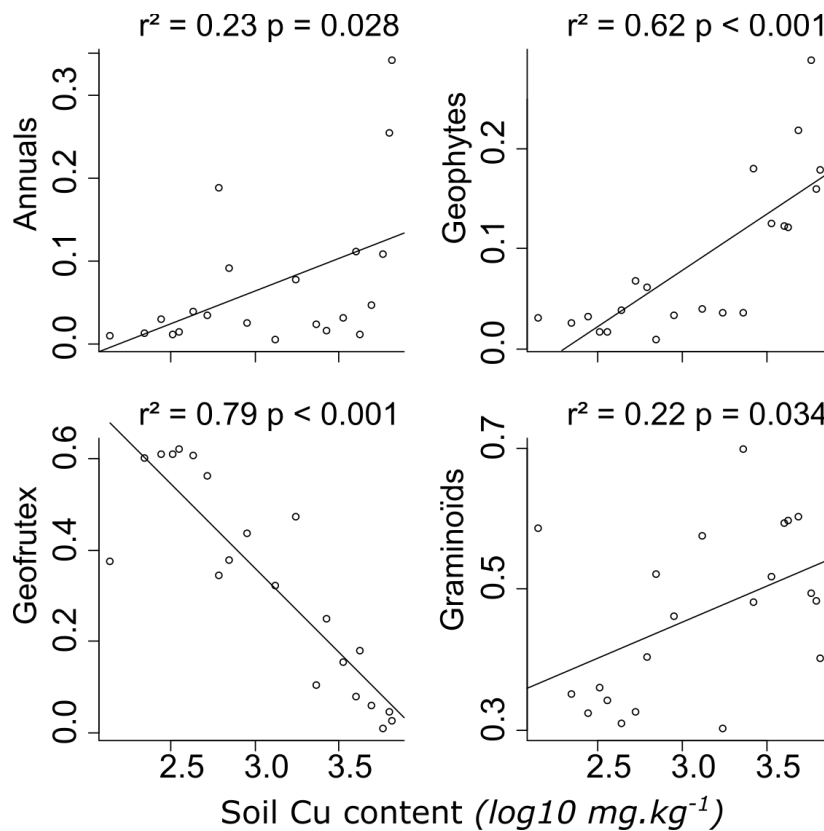


Figure 5: Variation of the total cover percentage of the four life forms studied along the copper gradient

Discussion

To our knowledge, this is the first study investigating community assembly processes along a gradient of metallic trace element (MTE) contamination by comparing taxonomic, functional and phylogenetic diversity. MTE rich environments are known to act as strong environmental filters and evolutionary forces on the vegetation (Ernst 2006; Baker et al. 2010). The increase in water during the rainy season and EDTA extractible *P* content along this MTE gradient on the studied site makes it unlikely that lack of fertility constitutes a strong filter on the vegetation on *Cu* enriched soils. However, it is likely that other soil characteristics play an indirect role such as *pH* or *C* and *Ca* content (Séleck et al. 2013) by mediating the phytoavailability of nutrients such as *P* and the phytotoxicity of the MTEs (Pourret et al. 2015; Lange et al. 2017). As expected, we found a strong decrease in taxonomic richness coupled with a strong species turn-over along increasing soil *Cu* content. We found a strong phylogenetic under-dispersion on poorly contaminated and over-dispersion on highly contaminated soils. We found some evidence for functional over-dispersion on metal poor soils. On metal enriched soils, some traits exhibited functional convergence which can be attributed to MTE toxicity. Traits related to resource capture and conservation and traits related to tolerance strategy showed opposing patterns, as detailed hereafter.

Traits related to resource capture and conservation

On *Cu* poor soils, the communities present, on average, larger leaves and seeds, are deeply rooted and have foliar traits characteristic of a nutrient conservation strategy (low SLA, thick leaves and high dry matter content). This suite of leaf traits is common on nutrient poor soils (Aerts and Chapin 1999; Wright et al. 2004) and is well represented among the geofrutex (Annexe 2 Table A1). On metal poor soils, the increase in plants biomass and the decrease in water and *P* could produce an abiotic stress due to the limited availability of these resources (Delhaye et al. 2016).

On the contrary, on highly contaminated soils, foliar traits are shifted towards a syndrome of fast resource capture, with thinner leaves, lower dry matter content and higher SLA. That change may be due to the increasing proportion of annual and bulb species with increasing soil *Cu*. This result is surprising, since plant communities adapted to metal rich soils elsewhere strongly express stress tolerant attributes (Wierzbicka and Panufnik 1998; Zalecka and Wierzbicka 2002; Wierzbicka and Pielichowska 2004; Brady et al. 2005). The most highly contaminated soils on our study site are neither dryer nor more nutrient deficient than the soil in the surrounding non contaminated area but are have a better water retention capacity and higher *P* content, as opposed to most other metalliferous soils (e.g. Kazakou et al. 2008).

There is no variation for height or leaf *N* content. Plant height is related to the ability to capture light (Grime 2006) and we could argue that in these annually burned grassland with no tree layer, light is probably not a limiting factor at least at the beginning of the growing

season. The absence of significant variation in leaf *N* content can be biased by the high intraspecific variability in plants chemical traits (Siefert et al. 2015) and the variation of soil *N* bioavailability that was not considered in our study. Both traits could also express trade-offs with other functional traits that are much more labile.

We found variable patterns of functional diversity between traits as previously reported (e.g. Bernard-Verdier et al. 2012; Spasojevic and Suding 2012; Chauvet et al. 2017), highlighting the importance of studying different traits related to the same function. For example, we found different patterns of variation between SLA and LDMC, even though they are generally considered to reflect the same functional axis (Wilson et al. 1999). Some traits seem insensitive to the filtering process under scrutiny because the relationship between functional traits and their role in coping with the physiological stress is not clear (Scheres and Van der Putten 2017).

The decrease in at least one functional diversity index for all traits related to resource capture and conservation except SLA is characteristic of a strong environmental filter where extreme values are excluded or decrease in abundance at the harsher end of the gradient (Kraft and Ackerly 2014). Similar processes have been described for salt gradient where an increase in salt concentration drives the convergence of traits, resulting in an under-dispersion of the trait space (Gutiérrez-Cánovas et al. 2015). However, the relationship between metal toxicity and these traits is not clear. Therefore, the reduced trait diversity at the top of the gradient might be due to a direct effect of metal on traits values or to a trade-off between resource use traits and MTE tolerance (Ernst 2006).

On the contrary, for these same traits the overdispersion on metal poor soils, sometimes accompanied by larger traits range is the typical pattern observed under niche partitioning, common in benign environments (Mac Arthur 1968; Stubbs and Wilson 2004). The overdispersion of LDMC on metal rich soils suggests that this trait is not filtered out by metal toxicity. The underdispersion of leaf thickness on metal poor soil reflects a strong convergence for thick leaves, enhancing the importance of resource conservation on water and *P* depleted soils, on the metal poor end of the studied gradient. However, the least contaminated soils in our studies are still considered as part of the Cu outcrop and further studies should include non-contaminated soils with Cu concentration under 140 mg.kg⁻¹.

Metal tolerance strategy

Both Cu and Co leaf contents show an increase in average value and diversity along the Cu gradient. Species growing on highly contaminated soils exhibit two opposing strategies to cope with high metal concentrations in the soil generally described as exclusion and accumulation of MTE (Baker 1981). The increase in functional richness and dispersion for these traits on more toxic soils reflects the presence and increasing abundance of Cu and Co accumulator species that are confined on this part of the gradient. Boisson et al. (2017) found quite consistent patterns between the realized and fundamental niches of species from the

“copper hills” indicating that metal tolerance is a fundamental trait explaining the colonization of highly contaminated soils. Further, it was demonstrated that some highly tolerant species could benefit from the presence of Cu in the soil, at least for their germination and root elongation in the early stages (Faucon et al. 2009; Chipeng et al. 2010). Their absence from the rest of the gradient could be the result of the “cost of tolerance” (Kruckeberg 1951). One major hypothesis for the absence of harsh condition specialist in benign environment is their susceptibility to pathogens (e.g. Springer et al. 2007) and herbivores (Dechamps et al. 2007) or their lower competitive ability.

Phylogenetic diversity

As previously reported, we found that phylogenetic and functional diversity do not follow the same patterns (Swenson and Enquist 2009), which is likely due to the low phylogenetic conservatism of the traits under scrutiny in our species. However, the absence of phylogenetic conservatism in our dataset could be biased by the use of average trait value, not taking into account intraspecific variability (Hardy and Pavoine 2012).

We found that phylogenetic diversity is under-dispersed on metal poor and over-dispersed on metal rich soils. Traits of species that are distant in the phylogenetic tree converged on highly contaminated soil. This may happen when local environmental conditions act as an environmental filter (Pavoine and Ricotta 2014). In the case of other toxicity gradient, such as salt stress, facilitation (positive relationships between species) was found to increase with stress while competition decreased (e.g. Bertness and Hacker 1994; Bertness and Callaway 1994).

Facilitation is known to increase phylogenetic diversity (Valiente-Banuet and Verdu 2007) and facilitative effect traits might be different than traditionally measured ones (Butterfield and Callaway 2013). In our case, alternate tolerance mechanisms such as exudation of protons or organic acids or other modifications of the chemistry of the rhizosphere (Kinraide 2005; Guo et al. 2017) could be involved.

The increase in phylogenetic diversity along the gradient is driven mainly by two effects. The different plant families are not represented equally on metal poor and rich soils (Fig. 6). On metal poor soils, Fabaceae are abundant while they are absent from the top of the gradient. Several studies show that both Fabaceae and their symbiotic *Rhizobia* are negatively affected by metal toxicity (Saif et al. 2017). Further, several families such as Velloziaceae or Santalaceae, rooted deeply in the phylogenetic tree are represented by only one species on metal rich soils. Therefore, in this flora, high Cu tolerance is found in various lineages of the phylogenetic tree (Lange et al. 2017). This suggests that MTE tolerance appeared in some species already present in the region (Ernst 2006). This was verified experimentally on *Anisopappus chinensis* which express constitutive Co tolerance in population growing on Co enriched soil (Lange et al. 2018).

However, we acknowledge that in this study we investigated only one copper hill that does not contain all species of the *Cu* flora of Katanga. Several cases of metal tolerance conservatism are indeed highly suspected (e.g. *Haumaniastrum katangense*/*H. robertii* (see Brooks 1977), *Silene burchellii*/*S. cobalticola* (Baker 1983) which could increase the phylogenetic clustering on *Cu* rich soils if considering the entire *Cu* flora.

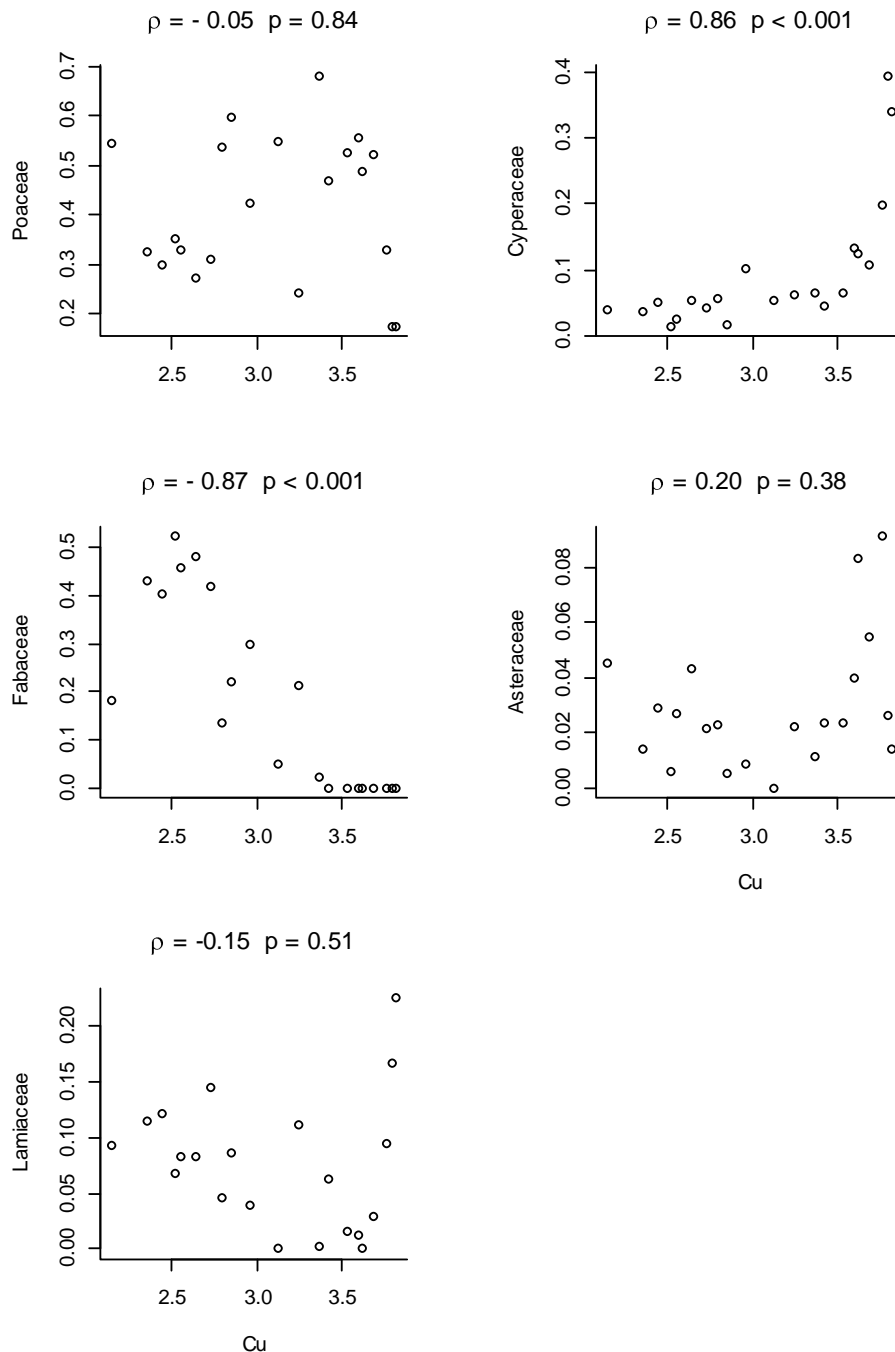


Figure 6: Variation of the relative abundance of the five most abundant plant families along the copper gradient ($\log_{10}(mg\ kg^{-1})$). Spearman correlation coefficients and related p-values are reported.

Conclusion

Along a *Cu* gradient, we show that the increasing soil MTE concentration acts as a strong filter on vegetation expressed by a decrease in taxonomic and functional diversity, a strong species turnover, and large mean trait value variations. On metal poor soils mean trait values reflects a strong resource conservation strategy, due to the lack of nutrient, mainly *P*, and water. On the other hand, the large functional diversity reflects large niche complementarities on this part of the gradient. On metal enriched soils, vegetation is dominated by annual and bulb species that possess rapid growth syndromes. Traits related to resource acquisition show convergence to an optimal trait value but several MTE tolerance strategies are found, ranging from metal exclusion to metal accumulation. The increase in phylogenetic diversity when increasing soil *Cu* concentration is due to a turnover in families along the gradient. Therefore, vegetations of highly contaminated soils are isolated patches of highly original phylogenetic and functional composition.

Acknowledgment

Tenke Fungurume Mining L.L.C. permitted us the collection of plants and soils and provided logistic support to this study. GD is thankful to David Bauman and Arnaud Jacobs for the fruitful discussions and to Kristel Wart for the help with plants and soil chemical analyses.

Bibliography

- Aerts R, Chapin F S (1999) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Adv Ecol Res* **30**: 1-67. doi:10.1016/S0065-2504(08)60016-1
- Baker A J (1981) Accumulators and excluders- strategies in the response of plants to heavy metals. *J Plant Nutr* **3**: 643-654. doi:10.1080/01904168109362867
- Baker A J M et al (1983) Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Zaire. *Plant Soil* **73**: 377-385.
- Baker A J M, Proctor J (1990) The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Syst Evol* **173**: 91-108.
- Baker A J M et al (2010). Metallophytes: the unique biological resource, its ecology and conservational status. In: Europe, central Africa and Latin America. In Batty L C, Hallberg K B (eds) *Ecology of industrial pollution*. Cambridge University Press, pp 7-40.
- Baraloto C et al. (2012) Using functional traits and phylogenetic trees to examine the assembly of tropical tree communities. *J Ecol* **100**: 690-701. doi:10.1111/j.1365-2745.2012.01966.x
- Bernard- Verdier M et al. (2012) Community assembly along a soil depth gradient: contrasting patterns of plant trait convergence and divergence in a Mediterranean rangeland. *J Ecol* **100**: 1422-1433. doi:10.1111/1365-2745.12003
- Bernard- Verdier M et al. (2013) Partitioning phylogenetic and functional diversity into alpha and beta components along an environmental gradient in a Mediterranean rangeland. *J Veg Sci* **24**: 877-889. doi:10.1111/jvs.12048
- Bertness M D, Callaway R (1994) Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol* **9**: 191-193. doi:10.1016/0169-5347(94)90088-4
- Bertness M D, Hacker S D (1994) Physical stress and positive associations among marsh plants. *Am Nat* **144**: 363-372. doi:10.1086/285681
- Blomberg S P et al. (2003) Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* **57**: 717-745. doi:10.1111/j.0014-3820.2003.tb00285.x
- Boisson S et al. (2017) Specialized edaphic niches of threatened copper endemic plant species in the DR Congo: implications for ex situ conservation. *Plant Soil* **413**: 261-273. doi:10.1007/s11104-016-3095-7
- Brady K U et al. (2005) Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annu Rev Ecol Evol Syst* **36**: 243-266.
- Brooks R R (1977) Copper and cobalt uptake by *Haumaniastrum* species. *Plant Soil* **48**: 541-544.
- Butterfield B J, Callaway R M (2013) A functional comparative approach to facilitation and its context dependence. *Funct Ecol* **27**: 907-917. doi:10.1111/1365-2435.12019
- Butterfield B J, Suding K N (2013) Single- trait functional indices outperform multi- trait indices in linking environmental gradients and ecosystem services in a complex landscape. *J Ecol* **101**: 9-17. doi:10.1111/1365-2745.12013
- Cadotte M W, Davies T J (2016) *Phylogenies in ecology: a guide to concepts and methods*. 1st edition. Princeton University Press.
- Chauvet M et al. (2017) Using a forest dynamics model to link community assembly processes and traits structure. *Funct Ecol* **31**: 1452-1461. doi:10.1111/1365-2435.12847
- Chipeng F K et al. (2010) Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) PA Duvign. & Plancke. *Plant Soil* **328**: 235-244. doi:10.1007/s11104-009-0105-z
- D'Andrea R, Ostling A (2016) Challenges in linking trait patterns to niche differentiation. *Oikos* **125**: 1369-1385. doi:10.1111/oik.02979
- Dechamps C et al. (2008) Cost of adaptation to a metalliferous environment for *Thlaspi caerulescens*: a field reciprocal transplantation approach. *New Phytol* **177**: 167-177. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02245.x
- Delhay G et al (2016) Community variation in plant traits along copper and cobalt gradients. *J Veg Sci* **27**: 854-864. doi:10.1111/jvs.12394
- Dixon A P et al. (2014) Distribution mapping of world grassland types. *J Biogeogr* **41**: 2003-2019. doi:10.1111/jbi.12381
- Dray S, Dufour A B (2007) The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *J Stat Soft* **22**: 1-20. doi:10.18637/jss.v022.i04
- Duvigneaud P, Denaeyer-De Smedt S (1963) Études sur la végétation du Katanga et de ses sols métallifères. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **96**: 93-231.
- Ernst W H (2006) Evolution of metal tolerance in higher plants. *For Snow Landsc Res* **80**: 251-274.
- Faith D P (1992) Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biol Cons* **61**: 1-10. doi:10.1016/0006-3207(92)91201-3
- Faucon M P et al. (2007) Revisiting copper and cobalt concentrations in supposed hyperaccumulators from SC Africa: influence of washing and metal concentrations in soil. *Plant Soil* **301**: 29-36. doi:10.1007/s11104-007-9405-3
- Faucon M P et al. (2009) Soil influence on Cu and Co uptake and plant size in the cuprophytes *Crepidodhodon perennis* and *C. tenuis* (Scrophulariaceae) in SC Africa. *Plant Soil* **317**: 201-

212. doi:10.1007/s11104-008-9801-3
- Gallien L (2016) Intransitive competition and its effects on community functional diversity. *Oikos* **126**: 615-623. doi:10.1111/oik.04033
- Garnier E et al. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637. doi:10.1890/03-0799
- Grime J P (2006) Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties. 2nd edition. John Wiley & Sons
- Guo H et al. (2017) Malate secretion from the root system is an important reason for higher resistance of *Miscanthus sacchariflorus* to cadmium. *Physiol Plant* **159**: 340-353. doi:10.1111/ppl.12526
- Gutiérrez-Cánovas C et al. (2015) Similarity in the difference: changes in community functional features along natural and anthropogenic stress gradients. *Ecology* **96**: 2458-2466. doi:10.1890/14-1447.1
- Hardy O J, Pavoine S (2012) Assessing phylogenetic signal with measurement error: a comparison of mantel tests, blomberg et al.'s k, and phylogenetic distograms. *Evolution* **66**: 2614-2621. doi:10.1111/j.1558-5646.2012.01623.x
- Hoening M, de Kersabiec A M (1996) Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. *Spectrosc Acta B* **51**: 1297-1307. doi:10.1016/0584-8547(96)01507-8
- Janeček Š et al. (2013) Effects of land- use changes on plant functional and taxonomic diversity along a productivity gradient in wet meadows. *J Veg Sci* **24**: 898-909. doi:10.1111/jvs.12012
- Kazakou E et al. (2008) Hypotheses, mechanisms and trade- offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biol Rev Camb Philos Soc* **83**: 495-508. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00051.x
- Kembel S W et al. (2010) Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics* **26**: 1463-1464.
- Kinraide T B et al (2005) Organic acid secretion as a mechanism of aluminium resistance: a model incorporating the root cortex, epidermis, and the external unstirred layer. *J Ex Bot* **56**: 1853-1865. doi:10.1093/jxb/eri175
- Kraft N J et al. (2007) Trait evolution, community assembly, and the phylogenetic structure of ecological communities. *Am Nat* **170**: 271-283. doi:10.1086/519400
- Kraft N J, Ackerly D D (2014) Assembly of Plant Communities. In: Monson R. (eds) *Ecology and the Environment. The Plant Sciences* vol 8. Springer, New York, NY
- Kruckeberg A R (1951) Intraspecific variability in the response of certain native plant species to serpentine soil. *Am J Bot* **38**: 408-419.
- Laliberté E, Legendre P (2010) A distance- based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology* **91**: 299-305. doi:10.1890/08-2244.1
- Lange B et al. (2017) Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytol* **213**: 537-551. doi:10.1111/nph.14175
- MacArthur R H (1968) The theory of the niche. In *Population Biology and Evolution*, Lewontin R (ed). pp 159-176, Syracuse University Press
- Mason N W et al. 2012. Changes in coexistence mechanisms along a long-term soil chronosequence revealed by functional trait diversity. *J Ecol* **100**: 678-689. doi:10.1111/j.1365-2745.2012.01965.x
- Mason N W, Pavoine S (2013) Does trait conservatism guarantee that indicators of phylogenetic community structure will reveal niche- based assembly processes along stress gradients? *J Veg Sci* **24**: 820-833. doi:10.1111/jvs.12033
- Mason N W et al. (2013) A guide for using functional diversity indices to reveal changes in assembly processes along ecological gradients. *J Veg Sci* **24**: 794-806. doi:10.1111/jvs.12013
- Mayfield M M, Levine J M (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecol Lett* **13**: 1085-1093. doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01509.x
- Mouillot D et al. (2007) Is the abundance of species determined by their functional traits? A new method with a test using plant communities. *Oecologia* **152**: 729-737. doi:10.1007/s00442-007-0688-0
- Mouillot D et al. (2011) Functional structure of biological communities predicts ecosystem multifunctionality. *PLoS One* **6**: e17476. doi:10.1371/journal.pone.0017476
- Oksanen J et al. (2013) Package 'vegan'. Community ecology package, version, 2(9).
- Pakeman R J et al. (2011) Trait assembly in plant assemblages and its modulation by productivity and disturbance. *Oecologia* **167**: 209-218. doi:10.1007/s00442-011-1980-6
- Paradis E et al. (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* **20**: 289-290.
- Pavoine S, Bonsall M B (2011) Measuring biodiversity to explain community assembly: a unified approach. *Biol Rev Camb Philos Soc* **86**: 792-812. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00171.x
- Pavoine S, Ricotta C (2014) Functional and phylogenetic similarity among communities. *Methods Ecol Evol* **5**: 666-675. doi:10.1111/2041-210X.12193
- Perez-Harguindeguy N et al. (2013) New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust J Bot* **61**: 167-234. doi:10.1071/BT12225
- Pescador D S et al. (2015) Plant trait variation along an altitudinal gradient in mediterranean high mountain grasslands: Controlling the species turnover effect. *PLoS One* **10**: e0118876. doi:10.1371/journal.pone.0118876

- Pourret O et al. (2015) Modeling of cobalt and copper speciation in metalliferous soils from Katanga (Democratic Republic of Congo). *J Geochem Explor* **149**: 87-96. doi:10.1016/j.gexplo.2014.11.011
- Saad L et al. (2012) Investigating the vegetation–soil relationships on the copper–cobalt rock outcrops of Katanga (DR Congo), an essential step in a biodiversity conservation plan. *Restoration Ecol* **20**: 405-415. doi:10.1111/j.1526-100X.2011.00786.x
- Saif S et al. (2017). Metal-Legume-Microbe Interactions: Toxicity and Remediation. In: *Microbes for Legume Improvement*. Khan M S, Zaidi A, Musarrat J (eds). pp. 367-385. Springer, Wien.
- Scheres B, Van Der Putten W H (2017) The plant perceptron connects environment to development. *Nature* **543**: 337-345. doi:10.1038/nature220110
- Schneider C A et al. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. - *Nature Methods* **9**: 671-675. doi:10.1038/nmeth.2089
- Séleck M et al. (2013) Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant Soil* **373**: 455-469. doi:10.1007/s11104-013-1819-5
- Siefert A et al. (2015) A global meta- analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecol Lett* **18**: 1406-1419. doi:10.1111/ele.12508
- Spasojevic M J, Suding K N (2012) Inferring community assembly mechanisms from functional diversity patterns: the importance of multiple assembly processes. *J Ecol* **100**: 652-661. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01945.x
- Springer Y P et al. (2007) Soil calcium and plant disease in serpentine ecosystems: a test of the pathogen refuge hypothesis. *Oecologia* **151**: 10-21. doi:10.1007/s00442-006-0566-1
- Stubbs W J, Wilson J B (2004) Evidence for limiting similarity in a sand dune community. *J Ecol* **92**: 557-567. doi:10.1111/j.0022-0477.2004.00898.x
- 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. doi:10.1890/08-1025.1
- Valiente- Banuet A, Verdú M (2007) Facilitation can increase the phylogenetic diversity of plant communities. *Ecol Lett* **10**: 1029-1036. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01100.x
- Villéger S et al. (2008) New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* **89**: 2290-2301. doi:10.1890/07-1206.1
- Weiherr E, Keddy P A (1995) Assembly rules, null models, and trait dispersion: new questions from old patterns. *Oikos* **74**: 159-164. doi:10.2307/3545686
- Weiherr E et al. (2011) Advances, challenges and a developing synthesis of ecological community assembly theory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **366**: 2403–2413. doi:10.1098/rstb.2011.0056
- Wierzbicka M, Panufnik D (1998) The adaptation of *Silene vulgaris* to growth on a calamine waste heap (S. Poland). *Environ Pollut* **101**: 415-426. doi:10.1016/S0269-7491(98)00012-8
- Wierzbicka M, Pielichowska M (2004) Adaptation of *Biscutella laevigata* L, a metal hyperaccumulator, to growth on a zinc–lead waste heap in southern Poland: I: Differences between waste-heap and mountain populations. *Chemosphere* **54**: 1663-1674. doi:10.1016/j.chemosphere.2003.08.031
- Wilson J B (1988) The cost of heavy-metal tolerance : an example. *Evolution* **42**: 408-413. doi:10.2307/2409246
- Wilson P J et al. (1999) Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytol* **143**: 155-162. doi:10.1046/j.1469-8137.1999.00427.x
- Wright I J et al. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821-827. doi:10.1038/nature02403
- Xu J et al (2017) Using phylogeny and functional traits for assessing community assembly along environmental gradients: A deterministic process driven by elevation. *Ecol Evol* **7**: 5056-5069. doi:10.1002/ece3.3068
- Zalecka R, Wierzbicka M (2002) The adaptation of *Dianthus carthusianorum* L. (Caryophyllaceae) to growth on a zinc–lead heap in southern Poland. *Plant Soil* **246**: 249-257.

Chapitre 2

Trait coordination increases with trace metal contamination in an African savanna

Guillaume Delhayé, Grégory Mahy, Pierre Meerts

In preparation

Abstract

Functional traits are commonly measured to quantify the strength of ecosystem processes and many functional diversity indices exist. The phenotype of an organism is fundamentally multi-dimensional but it was suggested that some bias could influence the outcome of multivariate functional diversity indices. Simultaneously, large patterns of plants traits syndromes were discovered, such as the “leaf economic spectrum”. Therefore it was suggested that traits coordination could be used to quantify the functional trade-offs in communities influencing species repartition and abundances. Here we measure the variation of the multivariate and bivariate functional traits coordination along a gradient of increasing concentration of copper in the soil. We found weak support for the general patterns of traits syndromes such as leaf economic spectrum in our dataset. Further, we found that plants metal tolerance strategy is largely independent from the leaf economics axis. With increasing the soil metal concentration, the multivariate traits coordination increased due to many strong bivariate associations between traits on metal enriched soils. However, some bivariate traits coordinations show the opposite pattern of covariation. These results are mainly driven by the differences in abundance in different life forms on the different parts of the gradients. Life forms capture a large part of the variability in functional traits differences at the ecosystem level and display particular combinations of traits coordination. We suggest that traits coordination, complementary to functional diversity indices, is a powerful tool to investigate the variation in functional strategies along gradients of environmental harshness.

Keywords: phenotypic coordination, life forms, metal tolerance, leaf economic spectrum, trait multidimensionality

Introduction

Plant functional traits (*sensu* Violle et al 2007) are increasingly used to unravel assembly rules in plant communities. The functional structure of plant communities is generally described in terms of traits mean values and traits dispersion. Both are driven by biotic and abiotic filters. Therefore, community structure dramatically changes along environmental gradients (Kraft & Ackerly 2013). However, traits do not vary independently from each other. Trait coordination (the multivariate covariance between traits) might reflect some functional trade-offs and constraint the space of functional variation within a community (Tilman 1988, Westoby & Wright 2006).

Patterns of correlations between functional traits have been extensively explored across species. For example, the “Leaf Economic Spectrum” has become a keystone concept of plant functional ecology (Wright et al 2004). All plants species can be ordinated along a continuum of sets of traits from long lived organs with slow resource acquisition, to short lived fast acquisitive organs. The “Whole Plant Economic Spectrum” (Reich 2014) suggests that trait values for leaves, stems and roots should be highly correlated with each other and with relative growth rate, being reducible to a single axis of trait variation. Some studies also link other traits such as leaf area with plant height and seed mass (Cornelissen et al 1999, Hodgson et al 2017) or the regeneration strategy with the plant size (Diaz et al 1998). Diaz et al (2016) also found that two orthogonal functional dimensions could be used to characterize plant functional diversity: size and resource use.

However, it is still unclear to what extent these correlation patterns hold true at small spatial scales, at the intraspecific level, along local environmental gradients (Messier et al 2010, Wright & Sutton-Grier 2012, Hu et al 2015) or within particular functional groups (Mason & Donovan 2015). Messier et al (2017) show that within local communities of tree saplings, these traits patterns following well defined axes of variation are not conserved. Instead, they suggest that traits related to different functions are (moderately) correlated forming a network of traits interactions.

Traits multidimensionality also has an effect *per se* on ecosystem functioning and species coexistence (de Bello et al 2010, Kraft et al 2015, Messier & Laughlin 2015) because trade-offs between traits could have a positive effect on communities’ performance, especially in stressful environments. However, in most commonly used multivariate functional diversity indices (FD), functional redundancy (several traits related to the same function) could inflate the importance of some functional axes or blur the FD-environment relationships (Butterfield & Suding 2013). Compared to trait mean values and trait dispersion, traits coordination along environmental gradients at the local scale has been little investigated (Dwyer & Laughlin 2017a). Trait coordination has been reported to increase along with environmental stress at the community (Chapin, Autumn & Pugnaire 1993), intraspecific level (Waite & Levin 1993, Gianoli 2004) or both (Read et al 2014). It is suggested that with a

limited amount of energy to allocate, the phenotype of an individual is dependent on trade-offs to cope with an environmental stress.

Recently, Dwyer & Laughlin (2017a) suggested testing for variation in trait covariance along environmental gradient to investigate the effect of environmental filters on functional trade-offs. They found an increasing covariation between height and seed mass along a gradient of increasing aridity. Interestingly, traits covariation was a better predictor of community species richness than traditional uni- or multivariate indices of functional diversity. However, other studies did not find strong correlations among traits in stressful, seasonally dry environments (Silva et al 2017). Further, tropical forests are known to host many viable ecological strategies (Baraloto et al 2010), suggesting many traits combinations and small phenotypic integration. Therefore, trait covariation patterns may carry important information about the functional strategies that are selected along environmental gradient within and between species (Fajardo & Piper 2011, Laughlin & Messier 2015) but should be investigated more thoroughly in a variety of environments.

Here, we test this hypothesis of a variation in trait coordination in plant communities growing along a natural gradient of metal concentration in the soil. In the south of D.R. Congo, savannas growing on copper enriched soils are highly original from the floristic (Séleck et al 2013, Faucon et al 2010) and the functional (Delhaye et al 2016) points of view. A broad gradient in soil Cu and Co concentration drives the replacement of species and life forms in the communities (Delhaye et al 2016). This results in a decrease in size traits, leaf thickness and dry matter content, and an increase in specific leaf area values and metal content at the community level. Further both functional richness and functional divergence decrease with increasing soil copper (Delhaye et al. *submitted*). Here, we analyse the covariation of functional traits using bivariate and multivariate indices of functional coordination along a copper gradient. Moreover, little is known about global traits covariation patterns in this original vegetation. In particular, correlations between leaf metal content and other dimensions of plant functional niche might provide valuable information on strategies developed by the plants to cope with excess metal (Lange et al 2017, Faucon et al 2016). Therefore we ask:

- 1) How does functional coordination vary along a metal gradient? We expect an increase in trait coordination along with an increase in soil metal toxicity.
- 2) Do different plant life forms possess different traits coordination and strategies?
- 3) How do metallicolous plant species traits compare in the general whole plant economic spectrum. In particular, how does metal accumulation relates to other functional traits and strategies?

Material and methods

Sampling

Community composition and soil data were extracted from Séleck et al. (2013). Briefly, the study site is located on Fungurume V hill (S 10°37'00" E 26°17'20"), a 3.3 ha copper and cobalt rich ore situated approximately 200 km WNW of Lubumbashi (D.R. Congo). The hill possesses a strong gradient of increasing copper and cobalt concentrations from the base to the top of the hill (92 to 6736 mg.kg⁻¹ Cu and 10 to 927 mg.kg⁻¹ Co respectively (acetate-EDTA extractible concentrations). Eighty-four 1-m² plots were installed, separated by 5m altitude from each other, along six parallel transects from the base to the top of the hill. In each plot the relative soil cover of each species was evaluated, and a composite soil sample was collected. Stone content, pH, C and N concentrations as well as EDTA extractible concentrations in Cu, Co, Zn, Fe, Mn, K, Mg, Ca and P were measured. In this paper we use the soil Cu concentration as main gradient of interest to measure the variation in the strength of the phenotypic coordination (see Dwyer & Laughlin 2017).

Each local community is composed of 4 aforementioned plots, pooled together based on the similarity of their soil Cu concentration. This composite sampling allows avoiding monodominance of large species and extreme stochasticity in some plots. Functional trait values are extracted from Delhaye et al (*submitted*). We selected 72 abundant and representative species of the copper flora from the Katangan Copperbelt. This sample contains all dominant species, accounting for more than 90% of the total cover in each plot (Pakeman & Quested 2007) and some rare species because they can present original functional traits combination (Violle et al 2017). These species represent 19 families and 57 genera. On these species, we measured 10 functional traits following standardised protocols (Pérez-Harguindeguy et al 2013). Traits values were averaged at the species level. The traits, related function, abbreviations, minimum and maximum values can be found in table 1. Traits values can be found in the supplementary material of Delhaye et al. (*Submitted*).

Plant life forms were attributed based on the perennating organ type during the dry season (Delhaye et al 2016). We selected five functional groups: annuals, geofrutex (woody underground organs), geophytes (fleshy underground organs), graminoids and chamaephytes.

Table 1: Functional traits (averaged at the species level) description, with minimum (Min) and maximum (Max) values, used in this study.

| Function | Trait | Abbreviation | Unit | Min. | Max. |
|--|-----------------------------|--------------|----------------------------------|--------------------|-------|
| Size, competitive ability, resources acquisition | Vegetative height | VH | cm | 0.4 | 81 |
| | Leaf area | LA | mm ² | 24 | 15537 |
| | Rooting depth | RD | cm | 1 | 150 |
| Leaf economic spectrum | Specific leaf area | SLA | cm ² .g ⁻¹ | 4 | 58 |
| | Leaf dry matter content | LDMC | % mass | 9 | 62 |
| | Leaf nitrogen concentration | LNC | % mass | 0.7 | 2.9 |
| | Leaf thickness | LT | mm | 0.05 | 0.81 |
| Reproduction | Seed mass | SM | g | 2.10 ⁻⁵ | 0.11 |
| Metal tolerance strategy | Leaf copper concentration | LCuC | mg.kg ⁻¹ | 2.2 | 1918 |
| | Leaf cobalt concentration | LCoC | mg.kg ⁻¹ | 0 | 1693 |

Statistical analyses

To achieve traits normality, LA, SLA, N, SM, Cu and Co were log transformed while HV, LDMC and LT were square root transformed. All traits were standardized to mean=0 and standard deviation=1 prior to analysis. In a previous study (Delhaye et al *submitted*) we show that trait conservatism is very low ($K < 0.3$) and mostly non significant. Therefore, we did not correct the traits values for phylogenetic non-independence.

We investigated the relationships between traits using principal component analysis (PCA). Missing traits values were estimated using the missMDA package (Josse & Husson 2016) prior to the PCA analysis. To investigate if different life forms possess different sets of traits and to assess the proportion of variance explained by the groups we performed a multivariate analysis of variance by permutation (PERMANOVA, $n_{perm} = 9999$) on all traits using an Euclidean distance matrix. We assessed the bivariate correlations between traits using Pearson correlation coefficients.

To explore the variation in traits coordination along the gradient, we computed a multivariate trait coordination index (TCI) based on the variance of the eigenvectors of a principal component analysis (PCA) (Cheverud et al 1989). For each local community, we computed a PCA and calculated TCI as $\sum_{i=1}^N ((\lambda_i - 1)^2 / N)$ where N represents the number of traits and λ_i is the eigenvalue of the i -th dimension. Adams & Collyer (2016) noted that the comparison of phenotypic integration (which is analogous to trait coordination) between groups of samples is likely to be biased by the number of samples and the number of variables used. In our case, the variables are conserved between sites but the number of species present is highly variable (i.e. between 20 and 32). Therefore we developed a null model in order to compute the sesTCI comparing the observed value with 999 null communities obtained by randomly resampling traits in each community while keeping the amount of species constant. This

breaks the correlative links between traits while keeping the same local traits pool and removes the filtering effect from the analysis of traits covariations.

To investigate the bivariate relationships between traits within each community we computed a bivariate trait coordination index (PIb). To do so, we calculated the observed Spearman correlation coefficient in each community. Then, we calculated the same coefficient for 999 null communities where traits values were shuffled between individuals. We calculated a standardized version of the index as: $\text{sesPIb} = (r_{\text{obs}} - \text{mean}(r_{\text{null}})) / \text{sd}(r_{\text{null}})$.

Results

Phenotypic coordination and functional groups

On the general traits PCA, the first three Principal components are significant and account for 71% of the total variance of the dataset. PC1 is highly positively correlated with SLA and Cu content and negatively with LA, SM, and VH, PC2 is positively correlated to LDMC and negatively to LT, PC3 is positively correlated to N content. Therefore, PC1 describes a functional axis ranging from small stature, high SLA, Cu-rich to tall, low SLA, Cu poor plants (Fig. 1).

Correlations between traits are generally weak, particularly between size related traits (VH, LA, RD). Only SM is strongly positively correlated to RD (Fig 2a). In the leaf economic spectrum traits, LT is negatively correlated to LDMC and SLA but these traits are not correlated together (Fig 2a).

Foliar Cu shows weak correlations with traits from the LES (positive correlation with SLA and N). The strongest relationships are negative correlations between plant size (VH and LA) and LCuC, small plants containing higher Cu concentrations in their leaves. LCuC and LCoC content are also highly correlated (Fig 2a).

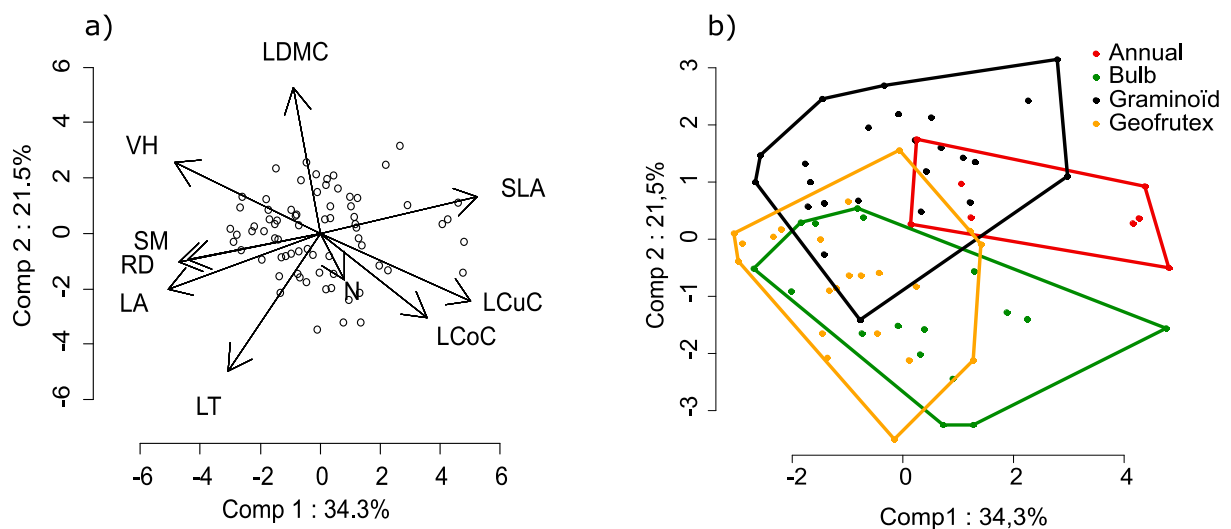


Figure 1: PCA plot of the 10 traits for the 73 studied species. a) Projection of traits. b) Projection of species with the repartition of different life forms considered in this study shown as the coloured polygons. Abbreviations : see table 1.

The different life forms show large differences in their traits values (PERMANOVA $F = 5.93$, $R^2 = 0.26$, $p < 0.001$). In particular, geofrutex and annuals occupy very different portions of the functional spaces, especially along the PC1 (Fig.1b).

The functional groups also show large differences in their traits covariation profiles (Fig 2b, c, d and e). Annual and geofrutex species show a very small number of significant correlations between traits. Correlations observed only in specific groups, not in the global data set,

include: negative correlation between LA and metal content (geophytes), positive correlation between plant height and leaf area (graminoids), negative correlation between LA and LDMC (graminoids), positive correlation between LT and SLA (annuals).

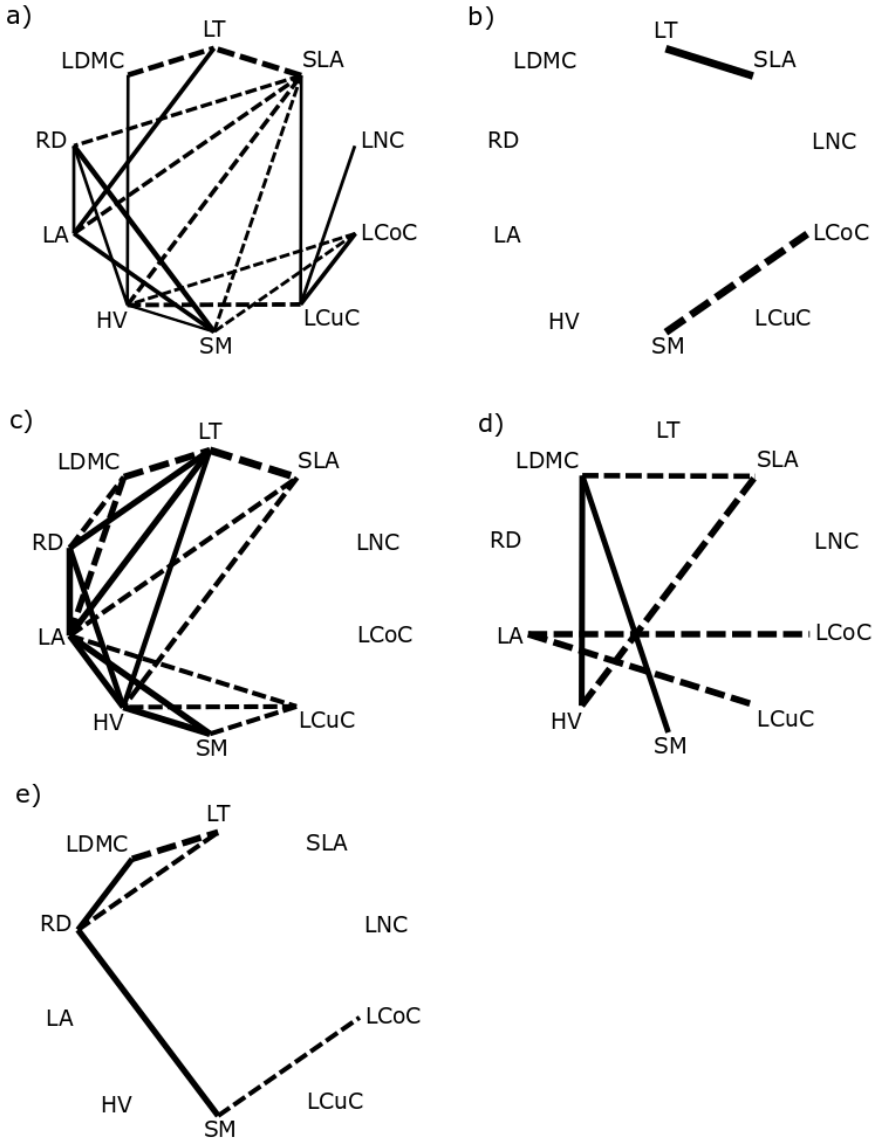


Figure 2: Correlation network between traits of a) all the studied species (n=72), b) the annuals (n=8), c) the graminoids (n=24), d) the geophytes (n=17), e) the geofrutex (n=22). Plain lines show positive and dashed lines show negative correlations. Only significant correlations ($p < 0.01$) are shown and the line thickness is proportional to the strength of the correlation.

Variation of the phenotypic coordination along the gradient

The standardized effect size of the multivariate trait coordination index (TCI) for all traits is moderately positively correlated to the soil Cu concentration (Pearson $r = 0.55$, $p=0.001$, Fig 3).

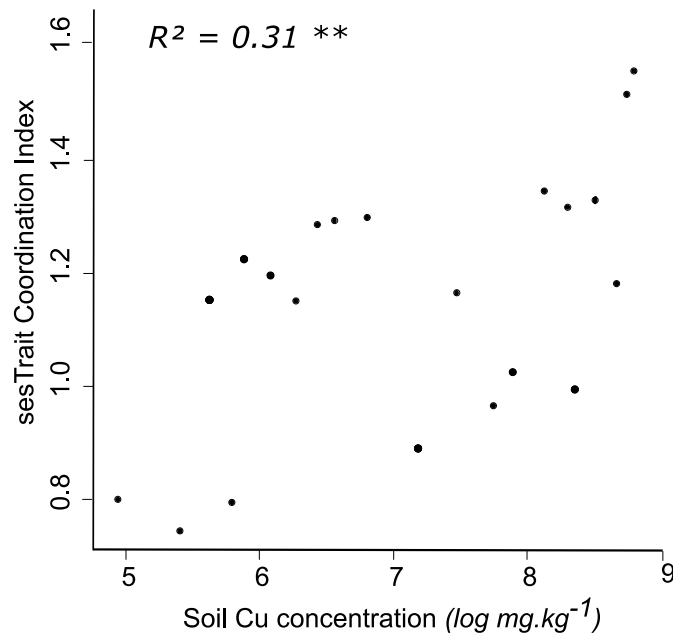


Figure 3: Correlation between the multivariate trait coordination index sesTCI including all traits (see table 1) and the soil copper concentration.

The variation of thirty-six pairwise traits associations along the Cu gradient are depicted in Fig 4. Twenty-one trait pairs show no significant change in their association along the Cu gradient. With increasing the soil Cu concentration, 11 pairs of traits show a significant increase ($p<0.01$) in their association (absolute value of the correlation coefficient): VH-RD, HV-LA, VH-LDMC, VH-SLA, LA-LT, LA-SLA, LA-Cu, LA-Co, LT-SLA, LT-SM and SLA-Cu. On the contrary, only 4 trait pairs show decreasing association strength with increasing soil Cu content: LA-LDMC, LT-LDMC, LDMC-Cu and LT-Co. Some traits are strongly associated along the whole gradient. This is the case for Cu-VH and Co-VH which are negatively correlated and LA-RD and Cu-Co which are positively correlated along the whole gradient (Fig 4).

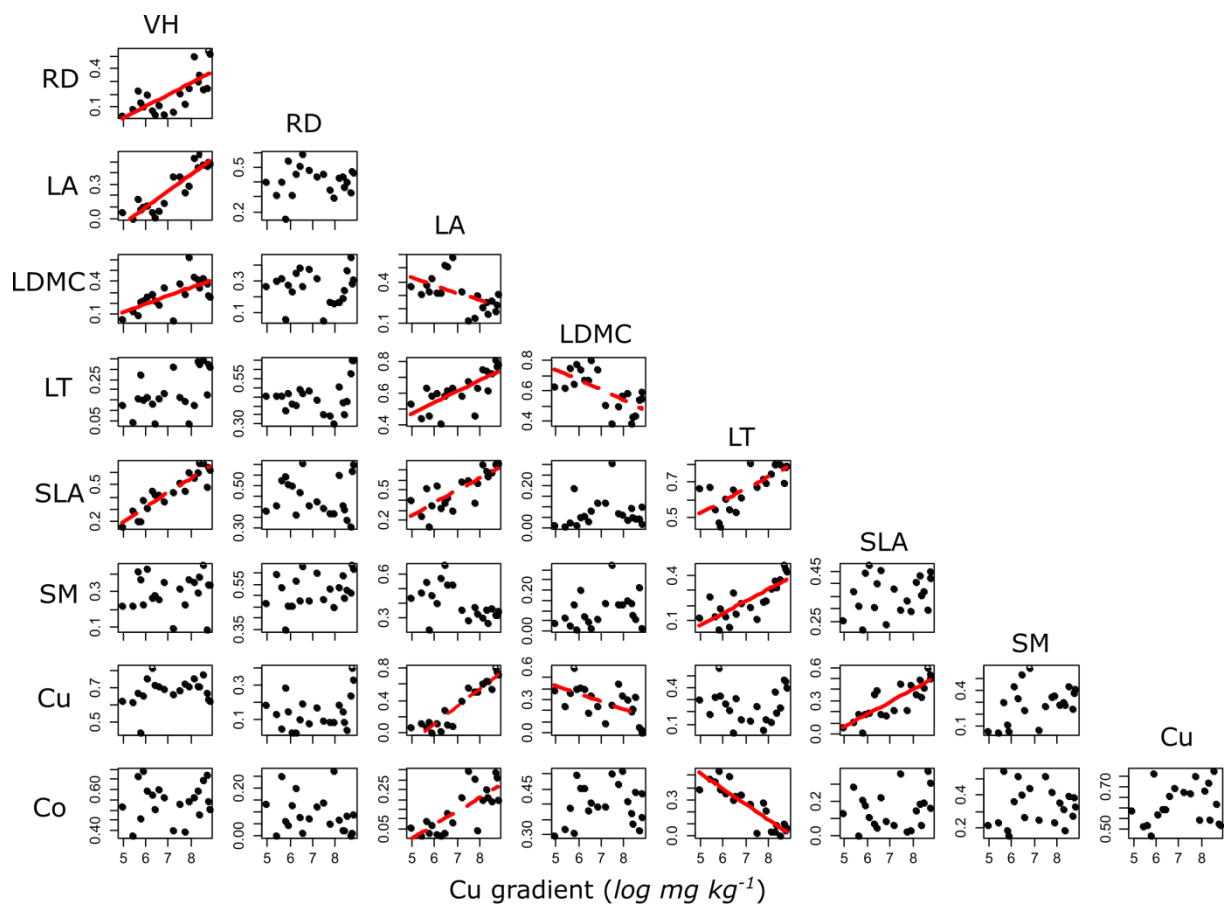


Figure 4: Variation of the absolute value of the bivariate association between traits within plots along the gradient. Significant correlations ($p < 0.01$) are shown with a red line. Positive correlations between traits are shown with plain lines and negative correlations between traits are shown with dotted lines

Discussion

Variation in correlation patterns between functional traits along abiotic gradients has been suggested as an important mechanism explaining species distribution. However, this hypothesis has been only rarely investigated. Here, we addressed that question using a tropical savanna developed on a steep gradient of copper contamination. Clear patterns of aggregate community mean values were found in a previous paper, mostly due to dramatic turnover of life forms (Delhaye et al 2016). Here we show a strong increase in traits coordination with increasing soil metal concentration. This is likely due to differences in trait coordination within different life-forms.

Functional coordination along the copper gradient

A striking result is the increasing multivariate trait coordination with increasing soil copper concentration. This indicates that increasing environmental harshness reduces the range of viable trait combinations in the community. This is consistent with the view that, increasing environmental harshness, represents a stringent filter not only acting on trait mean values but also on trait coordination (Dwyer & Laughlin 2017). Environmental harshness could impose energetic constraints and therefore trade-offs between traits, resulting in a more integrated phenotype (Boucher et al 2013, Webb et al. 2010). Indeed, physical factors are known to drive trade-offs within communities (Tilman & Pacala 1993; Adler et al. 2013, Dwyer & Laughlin 2017a).

However, the relatively weak signal of the multivariate index is likely due to the opposite association patterns of different sets of traits along the gradient: the variations of bivariate association of traits along the gradient are indeed trait dependant: while the majority (11) increase, some of them (4) decrease with increasing soil copper concentration. This may be accounted for by life-form specific trait coordination, coupled to the strong turnover of life forms described by Delhaye et al (2016). Specifically towards the harsh end of the gradient, geofrutex and tall graminoids (possessing a strong coordination between LT and LDMC (geofrutex and graminoids) and LT and LA for the graminoids) tend to be replaced by annuals having a weak coordination for these traits. The copper gradient in Katangan copper hills is correlated to increasing soil phosphorous (Séleck et al 2013). Therefore, the pervasive phosphorous limitation of tropical soils may be relaxed in metalliferous soils, which might imply less phenotypic coordination. Thus, the general pattern of moderately increasing coordination may reflect antagonistic effects of individual soil factors. Further, the use of a calculated value of leaf thickness based on SLA and LDMC can slightly decrease the multivariate coordination of traits due to the non-independance between these traits. Indeed, when calculating the multivariate functional coordination index without LT, the strength of the association between the multivariate TCI and the copper gradient increases slightly ($R^2=0.36$, $p=0.004$).

Phenotypic coordination within and between life forms

At a global scale, functional traits are correlated along some major axes of functional variation, at the leaf or whole individual level (Wright et al 2004, Reich 2014). Here, the correlations between traits are weak, particularly within traits sets that are usually considered as highly redundant. For example, the LDMC, SLA and N contents that are considered to represent an important axis of functional variation do not show strong correlations between species in the present study (correlations LDMC:SLA and LDMC:N are non-significant, SLA:N, $r=0.29$). Further, traits related to size (VH, LA and RD) that are generally highly correlated also show weak coordination. This is in line with recent findings that, at a local scale, the phenotype should be considered as a web of complex interactions instead of a few independent functional axes (Messier et al 2017).

Savannas are generally recognised as environments possessing high functional diversity, notably through the co-occurrence of several life forms (Cowling et al, 1994, Jeltsch et al 1996). Here, we show clear differences in functional traits values and coordination between life forms which is consistent with recent findings (Xu et al 2018). This might explain the different niches of these life forms, especially annuals and geofrutex, along the gradient (Delhaye et al 2016).

Coordination of foliar metal concentrations with other traits

Metal concentrations are related to the strategy of metal tolerance (van der Ent et al 2015). They also have implications to herbivory (metals having a defensive function; Pollard & Baker 1997, Behmer et al 2005). This study is the first to examine the correlations between metal accumulation patterns and other functional traits in a multi-specific database. We found little interspecific relationships between plant metal concentrations and other traits, particularly leaf traits. This may indicate that the metal tolerance strategy incurs limited costs in terms of nutrient capture and use. Only size related traits tend to co-vary with plant metal content, suggesting a trade-off between competitive ability and metal content (Ernst et al 1992). However, this result is mainly due to low metal content in geofrutex and tall graminoids, suggesting that these two functional groups cannot tolerate high levels of metal in their aerial tissues.

Conclusion

Trait coordination is a promising tool to investigate variation in multidimensional functional niche of species along toxicity gradients. Species traits are not independent from each other and although trait values can be expected to vary along gradients of environmental conditions, trait coordination might highlight new filtering effect on the multidimensional aspect of the phenotype. Further, we found that well known relationships between traits might not be conserved in small heterogeneous environments, particularly in some life forms.

These findings suggest that traits-traits relationships should be investigated in relation with environmental variables at both the community and the life form level.

Acknowledgment

Tenke Fungurume Mining L.L.C. permitted us the collection of plants and soils and provided logistic support to this study. GD is grateful to Maxime Séleck and Edouard Ilunga wa Ilunga who helped with the field work, to Kristel Wart, Adrien Carton and Gwenaël Dumont who helped with the lab work for chemical analysis and David Bauman and Arnaud Jacobs for the fruitful discussions.

Bibliography

- Adams, D. C., & Collyer, M. L. (2016). On the comparison of the strength of morphological integration across morphometric datasets. *Evolution* **70**: 2623-2631
- Adler, P. B., Fajardo, A., Kleinhesselink, A. R., & Kraft, N. J. (2013). Trait-based tests of coexistence mechanisms. *Ecology Letters* **16**: 1294-1306
- Baraloto, C., Timothy Paine, C. E., Poorter, L., Beauchene, J., Bonal, D., Domenach, A. M., ... & Chave, J. (2010). Decoupled leaf and stem economics in rain forest trees. *Ecology Letters* **13**: 1338-1347
- Behmer, S. T., Lloyd, C. M., Raubenheimer, D., Stewart-Clark, J., Knight, J., Leighton, R. S., ... & Smith, J. A. C. (2005). Metal hyperaccumulation in plants: mechanisms of defence against insect herbivores. *Functional Ecology* **19**: 55-66
- Boucher, F. C., Thuiller, W., Arnoldi, C., Albert, C. H., & Lavergne, S. (2013). Unravelling the architecture of functional variability in wild populations of *Polygonum viviparum* L. *Functional Ecology* **27**: 382-391
- Busso, C.A., Briske, D.D., Olalde-Portugal, V., 2001. Root traits associated with nutrient exploitation following defoliation in three coexisting perennial grasses in a semi-arid savanna. *Oikos* **93**: 332- 342.
- Butterfield, B. J., & Suding, K. N. (2013). Single-trait functional indices outperform multi-trait indices in linking environmental gradients and ecosystem services in a complex landscape. *Journal of Ecology* **101**: 9-17
- Chapin III, F. S., Autumn, K., & Pugnaire, F. (1993). Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *The American Naturalist* **142**: S78-S92
- Cheverud, J. M., Wagner, G. P., & Dow, M. M. (1989). Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology* **38**: 201-213
- Cornelissen, J. H. C. (1999). A triangular relationship between leaf size and seed size among woody species: allometry, ontogeny, ecology and taxonomy. *Oecologia* **118**: 248-255
- Cowling, R. M., Esler, K. J., Midgley, G. F., & Honig, M. A. (1994). Plant functional diversity, species diversity and climate in arid and semi-arid southern Africa. *Journal of Arid Environments* **27**:141-158
- de Bello, F., Lavorel, S., Díaz, S., Harrington, R., Cornelissen, J. H., Bardgett, R. D., ... & da Silva, P. M. (2010). Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. *Biodiversity and Conservation* **19**: 2873-2893
- Delhaye, G., Violle, C., Séleck, M., Ilunga wa Ilunga, E., Daubie, I., Mahy, G., & Meerts, P. (2016). Community variation in plant traits along copper and cobalt gradients. *Journal of Vegetation Science* **27**: 854-864
- Díaz, S., Cabido, M., & Casanoves, F. (1998). Plant functional traits and environmental filters at a regional scale. *Journal of Vegetation Science* **9**: 113-122
- Díaz, S., Kattge, J., Cornelissen, J. H., Wright, I. J., Lavorel, S., Dray, S., ... & Garnier, E. (2016). The global spectrum of plant form and function. *Nature* **529**: 167-171
- Dwyer, J. M., & Laughlin, D. C. (2017a). Constraints on trait combinations explain climatic drivers of biodiversity: The importance of trait covariance in community assembly. *Ecology Letters* **20**: 872-882
- Dwyer, J. M., & Laughlin, D. C. (2017b). Selection on trait combinations along environmental gradients. *Journal of Vegetation Science* **28**: 772-673
- Ernst, W. H. O., Verkleij, J. A. C., & Schat, H. (1992). Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica* **41**: 229-248
- Fajardo, A., & Piper, F. I. (2011). Intraspecific trait variation and covariation in a widespread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. *New Phytologist* **189**: 259-271
- Faucon, M. P., Le Stradic, S., Boisson, S., wa Ilunga, E. I., Séleck, M., Lange, B., ... & Mahy, G. (2016). Implication of plant-soil relationships for conservation and restoration of copper-cobalt ecosystems. *Plant and Soil* **403**: 153-165
- Faucon, M. P., Meersseman, A., Shutcha, M. N., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Malaisse, F., & Meerts, P. (2010). Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18
- Gianoli, E. (2004). Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* **165**: 825-832
- Gremer, J. R., Kimball, S., Keck, K. R., Huxman, T. E., Angert, A. L., & Venable, D. L. (2013). Water-use efficiency and relative growth rate mediate competitive interactions in Sonoran Desert winter annual plants. *American Journal of Botany* **100**: 2009-2015
- Guo, T. (2017). *The role of diversity in savannas: modelling plant functional diversity and its effects on ecosystem functioning* (Doctoral dissertation, Freie Universität Berlin).
- Hodgson, J. G., Santini, B. A., Montserrat Marti, G., Royo Pla, F., Jones, G., Bogaard, A., ... & Poschlod, P. (2017). Trade-offs between seed and leaf size (seed-phytomer-leaf theory): functional glue linking regenerative with life history strategies... and taxonomy with ecology? *Annals of Botany* **120**: 633-652.
- Hu, Y. K., Pan, X., Liu, G. F., Li, W. B., Dai, W. H., Tang, S. L., ... & Zhou, M. Y. (2015). Novel evidence for within-species leaf economics spectrum at multiple spatial scales. *Frontiers in plant science* **6**: 901
- Jeltsch, F., Milton, S. J., Dean, W. R. J., Rooyen, N. V., & Moloney, K. A. (1998). Modelling the impact of small-scale heterogeneities on tree-grass coexistence in semi-arid savannas. *Journal of Ecology* **86**: 780-793
- Josse, J., & Husson, F. (2016). missMDA: a package for handling missing values in multivariate data analysis. *Journal of Statistical Software* **70**: 1-31
- Kos, M., Poschlod, P., (2010). Why wait? Trait and habitat correlates of variation in germination speed among kalahari annuals. *Oecologia* **162**: 549-559

- Kraft, N. J., & Ackerly, D. D. (2013). The assembly of plant communities. In: Monson R. (ed). *Ecology and the Environment*. Springer, New York, NY, 1-19.
- Kraft, N. J., Godoy, O., & Levine, J. M. (2015b). Plant functional traits and the multidimensional nature of species coexistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 797-802
- Lange, B., Ent, A., Baker, A. J. M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., ... & Faucon, M. P. (2017). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* **213**: 537-551
- Laughlin, D. C., & Messier, J. (2015). Fitness of multidimensional phenotypes in dynamic adaptive landscapes. *Trends in Ecology & Evolution* **30**: 487-496
- Mason, C. M., & Donovan, L. A. (2015). Evolution of the leaf economics spectrum in herbs: evidence from environmental divergences in leaf physiology across *Helianthus* (Asteraceae). *Evolution* **69**: 2705-2720
- Messier, J., Lechowicz, M. J., McGill, B. J., Violle, C., & Enquist, B. J. (2017). Interspecific integration of trait dimensions at local scales: The plant phenotype as an integrated network. *Journal of Ecology* **105**: 1775-1790
- 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
- Pakeman, R. J., & Queded, H. M. (2007). Sampling plant functional traits: what proportion of the species need to be measured? *Applied Vegetation Science* **10**: 91-96
- Perez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., ... & Urcelay, C. (2013). New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **61**: 167-234
- Pollard, A. J., & Baker, A. J. (1997). Deterrence of herbivory by zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae). *New Phytologist* **135**: 655-658
- Read, Q. D., Moorhead, L. C., Swenson, N. G., Bailey, J. K., & Sanders, N. J. (2014). Convergent effects of elevation on functional leaf traits within and among species. *Functional Ecology* **28**: 37-45
- Reich, P. B. (2014). The world- wide 'fast-slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**: 275-301
- Séleck, M., Bizoux, J. P., Colinet, G., Faucon, M. P., Guillaume, A., Meerts, P., ... & Mahy, G. (2013). Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant and Soil* **373**: 455-469
- Silva, J. L., Souza, A. F., Caliman, A., Voigt, E. L., & Lichston, J. E. (2018). Weak whole- plant trait coordination in a seasonally dry South American stressful environment. *Ecology and Evolution* **8**: 4-12
- Tilman, D. (1988). *Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities* (Monograph in Population Biology No. 26). Princeton University Press.
- Tilman, D., & Pacala, S. (1993). The maintenance of species richness in plant communities. In: Ricklefs R.E. & Schluter D. (Eds). *Species diversity in ecological communities*, 13-25
- van der Ent, A., Baker, A. J., Reeves, R. D., Pollard, A. J., & Schat, H. (2015). Commentary: toward a more physiologically and evolutionarily relevant definition of metal hyperaccumulation in plants. *Frontiers in Plant Science* **6**: 554
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**: 882-892
- Violle, C., Thuiller, W., Mouquet, N., Munoz, F., Kraft, N. J., Cadotte, M. W., ... & Mouillot, D. (2017). Functional rarity: the ecology of outliers. *Trends in Ecology & Evolution* **32**: 356-367
- Waitt, D. E., & Levin, D. A. (1993). Phenotypic integration and plastic correlations in *Phlox drummondii* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* **80**: 1224-1233
- Webb, C. T., Hoeting, J. A., Ames, G. M., Pyne, M. I., & LeRoy Poff, N. (2010). A structured and dynamic framework to advance traits- based theory and prediction in ecology. *Ecology Letters* **13**: 267-283
- Westoby, M., & Wright, I. J. (2006). Land-plant ecology on the basis of functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 261-268
- Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., ... & Flexas, J. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* **428**: 821-827
- Wright, J. P., & Sutton- Grier, A. (2012). Does the leaf economic spectrum hold within local species pools across varying environmental conditions? *Functional Ecology* **26**: 1390-1398
- Xu, J., Chai, Y., Wang, M., Dang, H., Guo, Y., Chen, Y., ... & Yue, M. (2018). Shifts in Plant Community Assembly Processes across Growth Forms along a Habitat Severity Gradient: A Test of the Plant Functional Trait Approach. *Frontiers in Plant Science* **9**: 180

Chapitre 3

Disentangling communities' inter and intra-specific variation in plant traits along copper and cobalt gradients

Guillaume Delhay, Cyrille Violle, Maxime Séleck, Edouard Ilunga wa Ilunga, Isaline Daubie, Grégory Mahy, Pierre Meerts

Published as « Community variation in plant traits along copper and cobalt gradients » in *Journal of Vegetation Science* 27, pp. 854-864.

Abstract

How do resource acquisition-related traits and stress tolerance-related traits shift along *Cu* and *Co* gradients? What are the relative contributions of species turnover and intraspecific variation in driving these shifts? On Fungurume V hill (S10°37'03" E 26°17'22", Upper-Katanga province, Democratic Republic of Congo), we measured five functional traits (vegetative height, leaf area, specific leaf area, and leaf *Cu* and leaf *Co* concentration) related to resource acquisition, competitive ability and metal tolerance strategy for 37 of the most abundant species from 32 plots along natural *Cu* and *Co* gradients (from 92 to 6737 mg.kg⁻¹ and 10 to 655 mg.kg⁻¹, respectively). Linear regression was applied to analyse species-level and community-level changes in these traits along the study gradients. Using a variance decomposition method, we evaluated the relative contribution of intraspecific variation and species turnover to the total community variation along the *Cu* gradient.

At the community level, plant height and leaf area decreased while SLA and leaf metal concentrations increased with increasing soil metal concentration. At the species level, patterns were often idiosyncratic and lacked generality. As a result, species turnover was the predominant factor explaining community-level variation along the study gradients. This was particularly clear for variation in leaf *Cu* concentration. This reflects the constitutive ability of some species to exclude metal, while other species can tolerate high metal concentrations in their leaves. This study emphasises the importance of evaluating the origin of phenotypic variations observed at the community level.

Keywords: Functional trait, Heavy metals, Niche breadth, Environmental gradient, Species turnover, intraspecific variation, Traits plasticity.

Introduction

Harsh abiotic conditions are strong drivers of the local adaptation of plant species (Brady et al. 2005; Sambatti & Rice 2006; Turner et al. 2010). Individuals can adjust to local conditions by phenotypic plasticity (Agosta & Klemens 2008; Crispo 2008) and locally adapted populations with distinct traits can evolve through natural selection (e.g. Kawecki and Ebert 2004). In the specific case of species' response to heavy metal contamination, both phenotypic plasticity (e.g. Dechamps et al. 2007) and local adaptation (e.g. Jiménez-Ambriz et al. 2007) have been reported. Given the well-documented examples of local adaptation, heavy metal-rich soils can be considered as strong environmental filters (partly reviewed in Reznick and Ghalambor 2001). However, the whole response of plant communities to heavy metal contamination is still poorly understood, likely due to the difficulty of concomitantly investigating the effects of both abiotic conditions and biotic interactions (Mayfield & Levine 2010; Münkemüller et al. 2014).

Functional trait-based approaches are increasingly used in plant ecology to elucidate the mechanisms shaping the structure and dynamics of communities (McGill et al. 2006, Shipley et al. 2006; Weiher et al. 2011). They indeed theoretically allow the quantification of the comprehensive functional response of plant communities to environmental changes, accounting for both abiotic and biotic drivers (Enquist et al 2015). The change in community-level trait value (CWM hereafter, for community-weighted mean) is a relevant tool to evaluate the functional response of communities along environmental gradients (Garnier et al. 2004; Shipley et al. 2006; Cingolani et al. 2007; Violle et al. 2007). Mounting evidence suggests that intraspecific variation, arising from phenotypic plasticity or genetic diversity, should play a crucial role in driving CWM-environment relationships (Albert et al. 2010; Lepš et al. 2011) and determining species' niche breadth (Violle & Jiang 2009; Sides et al. 2014). It has also been theoretically demonstrated, using the plankton model, that accounting for intraspecific variation is pivotal to capturing the response of communities along toxicity gradients (De Laender et al. 2014). But strikingly, this approach has not yet been applied to broad gradients of toxicity, where plant adaptation is expected to be a key component.

Metalliferous environments are characterised by distinct plant communities, most often associated with a sparse plant cover, low productivity, and stress tolerance attributes. Such vegetation hosts generalist species represented by locally adapted populations (e.g. Macnair 1987; Bizoux et al. 2004), and specialist species (e.g. Brady et al. 2005). In order to cope with soils of high metal concentration, metallophytes have developed remarkably diverse tolerance strategies (Antonovics et al. 1971), ranging from metal exclusion to metal accumulation (Baker 1987; Dahmani-Muller et al. 2000). As a result, the concentration of metals in plant tissues can be particularly informative as being directly related to the tolerance strategy: some species must keep a low foliar concentration of metal and are thus excluder species, while other species can tolerate large amounts of metal in their aerial parts

and are thus categorised as indicator or accumulator species. The coexistence of those different strategies is often described within a single community (e.g., Audet & Charest 2008), but little is known about their distribution along a gradient of soil metal concentration and their relative contribution to the community-level response.

Katanga (D. R. Congo) hosts an exceptional type of natural metal gradients in the form of "copper hills" emerging from the dominant Miombo woodland. From the bottom to the top of these hills, total concentrations range from 100 to 37 000 mg.kg⁻¹ for *Cu* and from 10 to more than 400 mg.kg⁻¹ for *Co* of soil (Saad et al. 2012). In comparison, *Cu* mean concentration in 'normal' soils ranges generally from 13 to 24 mg.kg⁻¹ and *Co* usually ranges between 15 and 25 mg.kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias 2001). Unlike serpentinitic soils, *Cu-Co* soils in Katanga do not show a decrease in nutrients with increasing soil metal concentration (Séleck et al. 2013). These environments harbor a rich vegetation composed of some 600 cuprophyte species including 32 strict endemic species (Faucon et al. 2010). The vegetation lacks any aboveground woody species and presents a zonation of contrasted plant communities exhibiting various plant strategies related to their tolerance to *Cu* and *Co* (Duvigneaud 1958; Duvigneaud & Denaeyer-de-Smet 1963). This zonation has been attributed to heavy metal toxicity, although other factors such as *pH*, *P*, *Mn* and organic matter also appear to play a role (Ilunga wa Ilunga et al. 2013; Séleck et al. 2013) because of their influence on *Cu* and *Co* availability (Lange et al. 2014, 2016; Faucon et al. 2015).

In this study, we investigate the species-level and community-level changes in functional trait values along a direct gradient (sensu Garnier & Navas 2013) in Katanga that show a dramatic increase in soil metal concentration. To our knowledge, this is the first trait-based community approach applied to a *Cu* and *Co* gradient; this is an important step to provide new insights into research about the relationships between plants and heavy metals. We first analyse the variation in resource acquisition-related traits along this gradient at both community and species levels using three key traits: i) plant height and ii) leaf size as major traits related to competitive ability and resources capture, and iii) specific leaf area as a key growth-related trait (Poorter et al. 2009; Garnier & Navas 2013). We also analyse variation in metal tolerance-related traits along this gradient, using *Cu* and *Co* concentrations in leaves as proxies of plant metal tolerance strategy. Three main questions are posed:

i) Is there a shift from competitive ability-related traits to stress tolerance-related traits along the metal gradient?

ii) What is the role of intraspecific variation in driving trait changes?

iii) Do plant species displaying a large environmental spectrum exhibit greater intraspecific trait variation?

Material and methods

Study site

Our study took place in Fungurume, in the Katangan Copperbelt, approximately 200 km WNW of Lubumbashi (Katanga, D.R. Congo). The climate of the region is subtropical and is characterised by a rainy season from November to March and a dry season from May to September. Average annual rainfalls is 1300 mm. Mean average temperature is approximately 20°C, with a minimum of 15°C at the beginning of the dry season and maxima at the end of the dry season (32°C). The study site was located on the north part of the Fungurume V hill (S10°37'00" E 26°17'20"), which is a 3.3 ha natural outcrop that is rich in Cu and Co; it ranges from 1195 to 1270 m-a-s-l with slopes ranging from 0 to 30° (Séleck et al. 2013).

Seventy 1-m² plots were sampled; these were located along six parallel transects 25 meters away from each other and ranged from the border of the Miombo woodland to the top of the hill. In a given transect, each plot was separated from the previous one by a 5 m elevation difference (Séleck et al. 2013). During the second part of the rainy season (January - February), all species present were identified, and vegetation cover was evaluated using an absolute percentage scale. Of the 70 plots, 32 were randomly selected for trait measurements. Aboveground biomass of six randomly-selected plots in the lower part and six plots in the higher part of the gradient was harvested and dried for three days at 60°C prior to weighing.

Plant trait measurements and soil variables

Plant traits were measured on the most abundant species (see the list in Annexe 3, Table A1). Total cover of selected species represented at least 75% of vegetation cover in each plot, as recommended in protocols of trait measurement in plant communities (Pakeman & Quested 2007).

In each plot, two fully developed, healthy-looking individuals of each of the selected species were chosen. Three traits were measured on each individual: vegetative height, leaf area, and specific leaf area (SLA). Traits were measured according to Pérez-Harguindeguy et al. (2013). Vegetative height was measured from the soil level to the highest leaf, keeping the plant in its natural position; leaf area was measured on fully developed fresh leaves using the Visilog software (version 6.3, Visualization Sciences Group, Noesis, Les Ulis, France). Leaves were then dried at 60°C for 48 hours and weighed. SLA was obtained by dividing the leaf area by the mass of dry leaves (m².kg⁻¹) (Cornelissen et al. 2003).

Two tolerance strategy-related traits were analysed on 34 species: leaf Cu (Cu_{leaf}) and Co (Co_{leaf}) concentrations. Five grams of fresh leaves were collected, washed in a 1% Alconox[®] solution, and rinsed to remove the dust that was possibly contaminated by heavy metal (Faucon et al. 2007). Samples were dried at 105°C for 48 hours. Dry leaves were ground, and 1.5 g of each sample was treated by mineralisation (Hoenig & de Kersabiec 1996). Samples

were dry ashed at 550°C for 720 min and then diluted in 1 ml of H₂O, 1 ml of HNO₃ 14M, and 1 – 5 drops of H₂O₂ solution. After effervescence, each solution was filtered and diluted in H₂O in order to obtain a 50 ml solution, and then analysed by atomic spectroscopy (ICP- OES Varian Vista MPX).

Trait values of the two studied individuals in each plot were averaged so that one trait value per species per plot was used for statistical analysis. Life forms of the studied species were classified as a function of the nature of the storage organs. Four groups, representing a priori functional units, were formed: annuals, perennials with corms or bulbs, perennials with xylopodium (woody underground storage organs), and graminoids. The relative surface covered by the different life forms was evaluated in each plot.

Soil variables values were extracted from the study of Séleck et al. (2013). We used the soil EDTA-extracted concentrations of Cu, Co, Zn, Fe, Mn, K, Mg, Ca, and P as well as the soil pH, depth, gravel (>2mm) content, and water content.

Community-level trait-based analysis

We first evaluated the importance of taxonomic turnover along the gradient by computing the Sørensen index (Dice 1945) representing the similarity in species composition between each pair of plots as:

$$S = \frac{2C}{A + B} \quad (\text{Eq. 1})$$

where C is the number of species shared between two plots, and A and B are the numbers of species in each plot. The variation of the index is examined along the gradient. To that end, we calculated the ‘environmental distances’ between two plots as the Euclidean distance between their scores along the soil copper gradient. A Mantel test with 9999 permutations (Legendre & Legendre 1998) was performed to test the correlation between taxonomic distances (Sørensen index on species composition) and environmental distances based on the Bray-Curtis distance (Bray & Curtis 1957) of copper concentrations between plots.

For each studied trait and in each plot, we calculated the community-weighted mean for a community of N species (Violle et al. 2007) to evaluate the functional response of communities along the gradient as follows:

$$CWM = \sum_{i=1}^N p_i \times t_i \quad (\text{Eq. 2})$$

where p_i is the relative abundance of a species in a plot and t_i is the value of a given trait for a species in a plot. Linear models were applied to examine relationships between CWMs and both soil copper and cobalt concentrations. The variation in total plot cover per life form was also examined along the soil copper gradient using simple regression analysis.

To disentangle the relative importance of CWM variation due to intraspecific variation and turnover, we applied the method proposed by Lepš et al. (2011). In this method, total trait variation is partitioned into variation due to species turnover and intraspecific variation as follows: total CWM (CWM_{tot}) of each plot was calculated using the trait value of individuals sampled in each plot. In doing so, we considered the entire variability, which is the sum of intraspecific variability and species turnover. A fixed CWM (CWM_{inter}) was then calculated, using the species' mean trait values only, i.e. ignoring the intraspecific variability component. Variation in CWM_{inter} thus expressed the change in species composition only (i.e. species turnover). Intraspecific CWM (CWM_{intra}), the relative part of the total trait variation explained by intraspecific variation, was calculated as the difference between CWM_{tot} and CWM_{inter} .

$$CWM_{intra} = CWM_{tot} - CWM_{inter} \quad (\text{Eq. 3})$$

The partitioning method is based on the decomposition of the sum of squares of the trait variation along the gradient (Lepš et al. 2011). To assess the respective contribution of species turnover and intraspecific variability, we used the best-fit linear model for the intraspecific, fixed, and total CWMs for each trait along the gradient. We then extracted the sum of squares of these three regressions for each trait with:

$$SS_{tot} = SS_{intra} + SS_{fixed} + SS_{cov} \quad (\text{Eq. 4})$$

in which SS_{cov} term is the value of the covariation between intraspecific variation and turnover. Positive covariation means that the individual species variation and turnover can reinforce each other. Negative covariation between them implies that their variation could compensate each other (Lepš et al. 2011).

We also examined the trait plasticity of individual species (ΔP) calculated as:

$$\Delta P = \frac{T_{max} - T_{min}}{T_{min}} \quad (\text{Eq. 5})$$

where T_{max} is the maximum value and T_{min} is the minimum value of a trait for a species. ΔP was then regressed along the difference between the maximum and the minimum soil Cu values of the plots the species grows in as a proxy for the realised niche of each species.

Statistical analyses were performed using the Vegan and ADE4 packages in R software (R Core Team 2014. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>).

Results

Soil parameters and standing plant biomass

Average aboveground biomass of the six lower plots was $601 \pm 127 \text{ g.m}^{-2}$, while average biomass of the upper plots was $366 \pm 112 \text{ g.m}^{-2}$.

Copper and cobalt concentrations in soils were positively correlated ($r = 0.64$; $p < 0.001$).

Copper concentration in soil varied from 92 to 6737 mg.kg^{-1} . Soil water content ($r = 0.74$; $p < 0.001$), large soils particles ($r = 0.53$; $p = 0.002$), pH ($r = 0.55$; $p = 0.001$), Zn ($r = 0.39$; $p = 0.03$), and P ($r = 0.79$; $p < 0.001$) increased, while Fe ($r = -0.74$; $p < 0.001$) and Mn ($r = -0.48$; $p = 0.005$) decreased along this copper gradient. Cobalt concentration in soil varied from 10 to 655 mg.kg^{-1} . Soil water content ($r = 0.20$; $p = 0.01$), pH ($r = 0.51$; $p = 0.003$), Zn ($r = 0.43$; $p = 0.01$), and P ($r = 0.681$; $p < 0.001$) increased along this cobalt gradient.

Variation in community-level traits

CWM traits varied significantly along the copper gradient for four of the five studied traits. With increasing metal concentration, CWM increased for SLA (from 8.4 to 28.4 $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$; $r = 0.42$; $p = 0.01$), Cu_{leaf} (from 4.7 to 586 mg.kg^{-1} ; $r = 0.63$; $p = 0.001$), and C_{leaf} (from 2.3 to 986 mg.kg^{-1} ; $r = 0.63$; $p < 0.001$), while it decreased for leaf area (from 5329 to 292 mm^2 ; $r = -0.55$; $p = 0.004$). Vegetative height decreased from 50.8 to 15.2 cm, but displayed only a marginally significant variation along the gradient ($r = -0.3$; $p = 0.07$).

The abundance of xylopodium species significantly decreased ($r = -0.77$; $p = 0.001$), while bulbs and corm species significantly increased ($r = 0.48$; $p = 0.008$) along the copper gradient. The relative abundance of annual and graminoid species did not change along the gradient ($r = 0.15$; $p = 0.47$ and $r = 0.31$; $p = 0.12$, respectively).

Species-level trait variation

Four species (*Loudetia simplex*, *Andropogon schirensis*, *Chloris virgata*, and *Acalypha cupricola*) were observed over more than half of the plots, whereas other species were only found in the lower half or in the higher half of the plots. Most species appeared to survive strictly under or above a soil Cu threshold of 1000 mg.kg^{-1} (Annexe 3, Figure A1).

Mean height ranged from 0.5 cm (*Oxalis obliquifolia*) to 63 cm (*Diheteropogon grandiflorus*, *Gladiolus ledoctei*, *Loudetia superba*) while mean leaf area ranged from 27 mm^2 (*Bulbostylis cupricola*) to 15 538 mm^2 (*Eriosema englerianum*). Five species and four species showed a significant variation over the Cu gradient for plant height and leaf area, respectively (Table 1). Interestingly, these species showed contrasted patterns of variation:

most species showed decreasing height and leaf area patterns, but *C. subpetiolatum* and *B. serrata* displayed an increase in their trait values for plant height and leaf area, respectively.

Species mean SLA ranged from 4 (*G. ledoctei*) to 57.5 m².kg⁻¹ (*Schizachyrium brevifolium*), and only four species showed a significant decrease in SLA values with increasing soil metal concentration (Table 1).

Tolerance strategy-related traits showed contrasting responses depending on the species under scrutiny. Mean Cu_{leaf} ranged from 4 mg.kg⁻¹ (for *L. simplex*) to 1870 mg.kg⁻¹ (for *Pandiaka carsonii*), and mean Co_{leaf} varied from 1.5 (*Rytachne rottboellioides*) to 1700 mg.kg⁻¹ (*Haumaniastrum robertii*). Other species showing an unusually high mean value for Co_{leaf} were: *Anisopappus davyi* (660 mg.kg⁻¹), *Asclepis metallorum* (335 mg.kg⁻¹), *P. carsonii* (510 mg.kg⁻¹), and *Xerophyta equisetoides* (325 mg.kg⁻¹) (Annexe 3, Table A1). These five species are only found in the upper part of the gradient. Six species showed a significant increase and *R. rottboellioides* showed a significant decrease in Cu_{leaf} , while seven species showed a significant increase in their Co_{leaf} values along the copper gradient.

Along the soil cobalt gradient, trends are similar, although species showing a significant variation are not consistently the same (Table 1). Height increased for three species (*A. metallorum*, *C. subpetiolatum*, and *R. rottboellioides*), and leaf area increased for *C. subpetiolatum* and *P. acutidentata*. The variation in Co_{leaf} at the community level showed a strong correlation with the soil cobalt concentration ($r = 0.943$; $p < 0.001$). At the species level, ten species showed an increase in their Co_{leaf} values.

For species' trait plasticity, we found a significant increase along the copper gradient for two traits: leaf area ($r = 0.358$; $p = 0.03$) and Cu_{leaf} ($r = 0.528$; $p = 0.001$), and a marginally significant increase for Co_{leaf} ($r = 0.330$; $p = 0.056$). Plant height and SLA did not vary along the copper gradient.

Table 1: Regression parameters of community and individual species trait variations along the copper and cobalt gradients. Only species with significant variations are shown.

| | | Cu soil | | Co soil | |
|---------------------------------|-----------------------------------|----------------|---------|----------------|---------|
| | | r ² | Slope | r ² | Slope |
| Height | CWM | 0.11 . | -0.001 | 0.09 . | -0.022 |
| | <i>Andropogon schirensis</i> | 0.28 ** | -0.003 | . | . |
| | <i>Ascolepis metallorum</i> | . | . | 0.67 * | 0.008 |
| | <i>Chloris virgata</i> | 0.24 * | -0.002 | 0.23 * | -0.089 |
| | <i>Chlorophytum subpetiolatum</i> | 0.48 * | 0.001 | 0.55 * | 0.012 |
| | <i>Endostemon dissitifolius</i> | . | . | 0.31 * | -0.209 |
| | <i>Haumaniastrum prealtum</i> | 0.94 * | -0.004 | . | . |
| | <i>Loudetia simplex</i> | 0.30 ** | -0.003 | . | . |
| | <i>Rhytachne rottboellioides</i> | . | . | 0.40 * | 0.563 |
| Leaf area | CWM | 0.30 ** | -0.382 | 0.13 * | -4.121 |
| | <i>Andropogon schirensis</i> | 0.34 *** | -0.089 | 0.14 * | -0.937 |
| | <i>Brachiaria serrata</i> | 0.69 * | 0.095 | . | . |
| | <i>Chloris virgata</i> | 0.42 ** | -0.030 | 0.32 ** | -1.502 |
| | <i>Chlorophytum subpetiolatum</i> | . | . | 0.53 * | 2.417 |
| | <i>Loudetia simplex</i> | 0.24 * | -0.042 | . | . |
| | <i>Pimpinella acutidentata</i> | . | . | 0.35 * | 119.147 |
| | <i>Scleria bulbifera</i> | . | . | 0.40 * | -10.065 |
| | SLA | CWM | 0.18 * | 0.001 | 0.21 * |
| <i>Andropogon schirensis</i> | | 0.22 ** | -0.001 | . | . |
| <i>Cryptosepalum maraviense</i> | | . | . | 0.34 * | -0.087 |
| <i>Endostemon dissitifolius</i> | | . | . | 0.36 * | -0.097 |
| <i>Loudetia simplex</i> | | 0.23 * | -0.0004 | . | . |
| <i>Monocymbium cerasiiforme</i> | | 0.41 * | -0.001 | . | . |
| Cu_{leaf} | CWM | 0.40 *** | 0.035 | 0.41 ** | 0.592 |
| | <i>Acalypha cupricola</i> | 0.76 *** | 0.003 | 0.67 ** | 0.143 |
| | <i>Bulbostylis cupricola</i> | . | . | 0.52 * | -0.024 |
| | <i>Chloris virgata</i> | 0.53 *** | 0.001 | 0.52 *** | 0.062 |
| | <i>Haumaniastrum robertii</i> | 0.82 * | 0.021 | . | . |
| | <i>Ipomoea recta</i> | 0.70 * | 0.021 | 0.72 * | 1.168 |
| | <i>Loudetia simplex</i> | 0.53 *** | 0.001 | . | . |
| | <i>Pandiaka carsonii</i> | 0.44 * | 0.293 | . | . |
| | <i>Rhytachne rottboellioides</i> | 0.72 ** | -0.009 | . | . |
| Co_{leaf} | CWM | 0.39 *** | 0.062 | 0.94 *** | 1.573 |
| | <i>Acalypha cupricola</i> | 0.58 * | 0.047 | 0.56 ** | 2.078 |
| | <i>Andropogon schirensis</i> | . | . | 0.17 * | 0.035 |
| | <i>Anisopappus chinensis</i> | . | . | 0.66 * | 1.767 |
| | <i>Ascolepis metallorum</i> | . | . | 0.87 * | 0.714 |
| | <i>Bulbostylis macra</i> | 0.67 * | 0.024 | . | . |
| | <i>Chloris virgata</i> | 0.69 * | 0.002 | 0.50 *** | 0.075 |
| | <i>Chlorophytum subpetiolatum</i> | . | . | 0.59 * | 0.555 |
| | <i>Cyanotis longifolia</i> | 0.41 * | 0.098 | 0.97 *** | 2.043 |
| | <i>Haumaniastrum robertii</i> | . | . | 0.67 * | 1.907 |
| | <i>Loudetia simplex</i> | 0.47 *** | 0.001 | 0.74 *** | 0.017 |
| | <i>Pandiaka carsonii</i> | 0.35 * | 0.159 | 0.93 *** | 2.598 |
| | <i>Scleria bulbifera</i> | 0.66 ** | 0.005 | . | . |

Turnover vs. intraspecific variation

We found a significant species turnover along the gradient (correlation between Sørensen index and environmental distances: Mantel test: $r = -0.80$; $p < 0.001$; $nperm = 9999$).

The decomposition of total CWM variation (Fig. 1) showed that species turnover accounted for a larger proportion of total trait variation compared with intraspecific variation. Indeed, the turnover component varied between 3.24 (height) and 93.5 (leaf area) times higher than intraspecific variability. The ratio between turnover and intraspecific variation for the three other traits reached 11.9 (SLA), 27.2 (Cu_{leaf}), and 9.59 (Co_{leaf}). Covariation between intraspecific variation and turnover was positive for height, leaf area, and Co_{leaf} , and negative for SLA and leaf area. Turnover variation was significant for SLA, leaf area, Cu_{leaf} , and Co_{leaf} , while intraspecific variation was significant for SLA only.

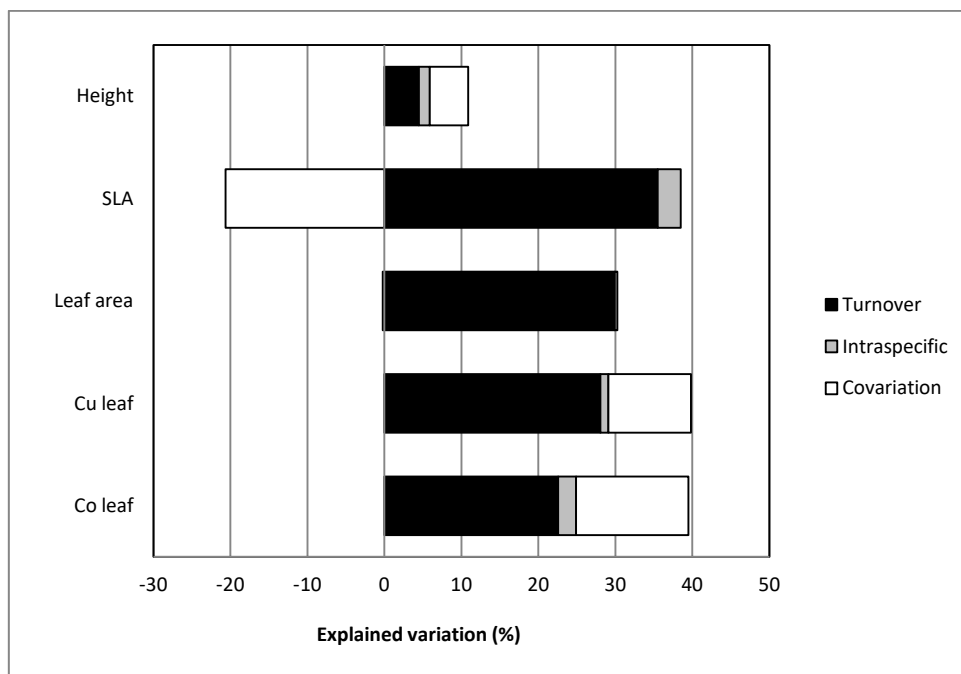


Figure 1: Relative contribution of species turnover, intraspecific variation, and their covariation to the total community's variation. *Height* is the vegetative height, *SLA* is the specific leaf area, *Leaf area* is the average area of one leaf, and Cu_{leaf} and Co_{leaf} are the concentration of *Cu* and *Co*, respectively, in leaves.

Discussion

We present here one of the first studies to examine the variation in functional traits along a direct stress gradient and, to our knowledge, the first to assess the response of plant communities as well as variation of individual species along a heavy-metal gradient. The studied gradient is exceptionally broad, as illustrated by the huge variation in soil *Cu* and *Co* concentration. Contrary to what is observed in other types of metalliferous environments (e.g. Kazakou et al 2008), we did not detect any water nor macronutrient limitations with increasing soil copper concentration.

Response of species and communities to heavy metals

The variation in community-level trait values indicates that in addition to the variation in taxonomic composition, there is a marked functional change along the gradient (McGill et al. 2006). Interestingly, our results show the coexistence of a continuum of strategies to cope with the metal stress ranging from metal exclusion (excluder species) to metal accumulation, as illustrated by the high metal concentrations in aboveground organs (indicator and accumulator species).

Resource acquisition-related traits

Plant traits related to resource acquisition tend to show contrasted responses when comparing species- and community-level trait-gradient analyses. At the community level, leaf area decreases with increasing soil metal concentrations. Plant height shows a non-significant decreasing trend. The lack of significance for plant height may be explained by the abundance of *X. equisetoides* (the only aboveground perennial species with a palm-like growth form) in two quadrats characterised by highly contaminated soil. Without these quadrats, variation becomes significant ($r = 0.38$; $p = 0.036$).

Most species show no significant variation in their height and leaf area values. Interestingly, *L. simplex* and *A. schirensis* show a clear decrease in both traits' values and are both among the only species able to grow along the entire gradient.

In contrast, along the copper gradient, height and leaf area increase for *C. subpetiolatum* and *A. metallorum*. A possible explanation could be a weaker competition encountered in that part of the gradient due to sparser vegetation. Together with a higher amount of soil water and *P* content at the top of the gradient, this could have a positive effect on the growth of those very metal-tolerant species. *C. subpetiolatum* and *A. metallorum* have a narrow niche breadth and are localised in the high-metal portion of the gradient. This could reflect a

physiological dependence on high soil metal concentrations. This hypothesis can be supported by high metal concentrations measured in the aerial parts of the species (336 mg.kg⁻¹ of Co for *A. metallorum* and 228 mg.kg⁻¹ of Co for *C. subpetiolatum*, on average). Enhanced growth in elevated metal conditions was demonstrated for *Crepidiorhopalon perennis* and *C. tenuis* (Faucon et al. 2009) and for *Haumaniastrum katangense* (Chipeng et al. 2010).

Community-level SLA values show a surprising significant increase while the few species varying significantly show a decrease in their SLA values along the Cu gradient. At the species level, this may be attributed to a response to stress, as already shown for drought stress (*e.g.* Liu & Stützel 2004). Here, water availability increases while increasing metal concentration, and whether high ion concentration in the soil solution due to metals causes osmotic stress is not known.

Increase in the community SLA value, as well as the decrease in the community mean height and leaf area values, is driven mostly by the increase in the proportion of two annual species (*H. robertii* and *B. cupricola*) with very high SLA values and small stature and leaf area. Those species could benefit from the relaxed competition from large perennial grasses in the high-metal part of the gradient. Growing on metal-rich soils could also prevent attacks by pathogens (Boyd et al. 1994; Boyd 2007), which could favour plant growth. On the contrary, xylopodium species, characterised by low SLA values (Annexe 3, Table A1), are able to survive in areas where water is less available (though likely not limiting), but probably not in soils with high metal concentration. This is consistent with the common observation that woody species are relatively rare or absent on metal enriched soils (Kahle 1993; Pulford & Watson 2003) partly because of their long generation time and slow growth rate (Dickinson et al. 1991).

Leaf Co and Cu concentrations

Concentrations of heavy metals increase along both Cu and Co gradients at the community level. Most species show no significant increase in their Cu_{leaf} values as soil metal concentration increases. Grass species, in particular, are able to maintain low metal concentrations in leaves under elevated metal concentrations in the soil, thus behaving as “metal excluders” (Baker 1987; Dahmani-Muller et al. 2000). In particular, in the lower part of the gradient, no species showed high mean metal concentration, which means that no species showed an accumulation strategy on soils with lower metal concentrations.

Along the Co gradient, ten species exhibit a significant increase in their Co_{leaf} values, whereas seven species show an increase in Cu_{leaf} along the Cu gradient, even though the soil cobalt concentration variation is 10 times lower than for copper. This could be due to the higher

proportion of the mobile fraction of *Co* compared with *Cu* in the soil (Lange et al. 2014). Although variable between species, the *Co* concentration in plant tissue producing a toxicity effect is relatively low, usually under 40 mg.kg⁻¹ (Kabata-Pendias & Pendias 2001). The lack of an efficient mechanism of detoxification of *Co* in plants could be a major filtering process of the community, resulting partly in the observed zonation of species.

Interestingly, the two species expressing the highest metal accumulation (*P. carsonii*, *H. robertii*), are narrow-niched species restricted to the most contaminated portion of the gradient. This suggests that such extreme metal accumulation strategy entails a cost in terms of reduced competitive ability. The increased CWM in foliar metal concentration along the gradient is strongly driven by the increase in abundance of these accumulator species. More broadly, this highlights the importance of attending to the interpretation of CWM-environment relationships, since typical ecological strategies can substantially blur general community-level trait variations.

Niche breadth analysis

The niche breadth analysis shows that leaf area and Cu_{leaf} are more variable in species occurring on a larger portion of the gradient. This is in accordance with the hypothesis proposed by Violle and Jiang (2009) and Sides et al. (2014) i.e. that species with broader niche have larger trait variation. This echoes the idea that ecological generalists are highly plastic while ecological specialists express little adaptive plasticity (Sultan 2000; Griffith & Sultan 2012).

However, contrary to Violle and Jiang's hypothesis, species with a broader niche did not exhibit larger plasticity in height and SLA. Plasticity implies tradeoffs among traits in order to maintain a high fitness across a range of environmental conditions. Traits having a higher influence on the individuals' fitness should be canalised across a wide range of environments while other traits will show a large plasticity without a strong negative influence on the fitness (Ryser & Eek 2000; Sultan 2000, 2001).

Recently, Huang et al. (2015) proposed that stressful environments could decrease the potential for large phenotypic plasticity. Furthermore, large plasticity in response to very unfavourable conditions can correspond to a non-optimal maladaptive response (Ghalambor et al. 2007). Finally, trait variability can also be influenced by biotic interactions (e.g. facilitation) that could counteract the variation due to abiotic environment (Agrawal 2001). Thus, the relation between trait plasticity and niche breadth is certainly trait-dependent and is probably not the same for different gradients.

Response of plant communities: Intraspecific variability vs. species turnover

We show that species turnover is the main driver of community-level variations for all five traits along a short distance gradient. These findings actually reflect the action of a strong environmental filter. The predominance of species turnover is consistent with other previous studies (Cornwell & Ackerly 2009; Lepš et al. 2011; Pérez-Ramos et al. 2012; Kichenin et al. 2013); however, compared with some of these studies, intraspecific variability is remarkably lower compared with species turnover. For metal concentrations in leaves, variation accounted for by turnover is almost 100 times larger than by intraspecific variability. Although several species show a significant variation in their Cu_{leaf} values, this is negligible compared with the differences encountered among species. This reflects a constitutive physiological strategy of plants to exclude or accumulate Cu and can explain the zonation of species observed along the gradient. The upper limit of the excluders' niche may reflect a limit of physiological tolerance. The lower limit of accumulators (mostly small species) may reflect a low competitive ability. Other biotic interactions such as higher herbivory pressure in less contaminated conditions may also limit the establishment of species tolerant to heavy metals (Dechamps et al. 2008).

Our study corroborates published studies showing that the contribution of intraspecific variability and turnover can vary strongly among traits (Jung et al. 2010; Auger & Shipley 2013). Vegetative height is the sole trait for which a substantial part of the variation is due to intraspecific variation. Previous studies have noted that plant height is highly plastic and responsive to soil factors (Rice & Bazzaz 1989; Farris & Lechowicz 1990) and that, on the contrary, leaf traits show less intraspecific variation and are more deeply phylogenetically conserved (Roche et al. 2004; Marks 2007, Siefert et al 2015). As a particular case, SLA is typically considered as a very 'stable' trait within species (Kazakou et al. 2014).

Conclusion

Here, we show that a short distance gradient can imply a very strong environmental filter. Such a strong filter tends to shape the realised niche of most of the species. We reveal a tolerance-competition tradeoff along the gradient that is driven by a spatial niche partitioning between highly tolerant species (upper part of the gradient) and more competitive species (lower part of the gradient), as hypothesised by Weiher and Keddy (1995). The main mechanism driving the variation of community traits is therefore a replacement of species, but also of life forms with xylopodium species and tall graminoid species dominating low metal concentrations, while bulb species increase on highly contaminated soils. Some annual species (*H. robertii* and *B. cupricola*) also become very abundant on highly contaminated soil, driving the variation in community trait values for resource acquisition-related traits. Looking at tolerance-related traits, excluders are present

all along the gradient, while some species seem to tolerate very high foliar concentrations of *Cu* and *Co* on highly contaminated soils. For a better understanding of these general patterns, we advocate increasing the number of studies along large environmental gradients where the relative contribution of species turnover and intraspecific phenotypic variability could vary with abiotic, but also biotic, filters (Violle et al. 2012).

Acknowledgments

Tenke Fungurume Mining L.L.C. permitted us the collection of plants and soils and provided logistic support to this study. C.V. was supported by the ERC Starting Grant Project 'Ecophysiological and biophysical constraints on domestication in crop plants' (Grant ERC-StG-2014-639706-CONSTRAINTS).

References

- Agosta, S.J. & Klemens, J.A. 2008. Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecology Letters* **11**: 1123–1134.
- Agrawal, A. A. 2001. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* **294**: 321–326.
- Albert, C.H., Grassein, F., Schurr, F.M., Vieilledent, G. & Violle, C. 2011. When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **13**: 217–225.
- Albert, C.H., Thuiller, W., Yoccoz, N.G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P. & Lavorel, S. 2010. Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. *Journal of Ecology* **98**: 604–613.
- Antonovics, J., Bradshaw, A. & Turner, R. 1971. Heavy metal tolerance in plants. *Advances in Ecological Research* **7**: 2–85.
- Audet, P. & Charest, C. 2008. Allocation plasticity and plant-metal partitioning: Meta-analytical perspectives in phytoremediation. *Environmental Pollution* **156**: 290–296.
- Auger, S. & Shipley, B. 2013. Inter-specific and intra-specific trait variation along short environmental gradients in an old-growth temperate forest. *Journal of Vegetation Science* **24**: 419–428.
- Baker, A.J.M. 1987. Metal tolerance. *New Phytologist* **106**: 93–111.
- Bizoux, J., Brevers, F., Meerts, P., Graitson, E. & Mahy, G. 2004. Ecology and conservation of Belgian populations of *Viola Calaminaria*, a metallophyte with a restricted geographic distribution. *Belgian Journal of Botany* **137**: 91–104.
- Boyd, R.S. 2007. The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. *Plant and Soil* **293**: 153–176.
- Boyd, R.S., Shaw, J.J. & Martens, S.N. 1994. Nickel hyperaccumulation defends *Streptanthus polygaloides* (Brassicaceae) against pathogens. *American Journal of Botany* **81**: 294–300.
- Brady, K.U., Kruckeberg, A.R. & Bradshaw Jr., H.D. 2005. Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 243–266.
- Bray, J. R., & Curtis, J. T. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* **27**: 325–349.
- Chipeng, F.K., Hermans, C. & Colinet, G., Faucon, M-P., Ngongo, M., Meerts, P., Verbruggen, N. 2010. Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) P.A. Duvign. & Plancke. *Plant and Soil* **328**: 235–244.
- Cingolani, A.M., Cabido, M., Gurvich, D.E., Renison, D. & Diaz, S. 2007. Filtering processes in the assembly of plant communities: Are species presence and abundance driven by the same traits? *Journal of Vegetation Science* **18**: 911–920.
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., Ter Steege, H., Morgan, H.D., (...) & Poorter, H. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **51**: 335–380.
- Cornwell, W. & Ackerly, D.D. 2009. Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. *Ecological Monographs* **79**: 109–126.
- Crispo, E. 2008. Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *Journal of Evolutionary Biology* **21**: 1460–1469.
- Dahmani-Muller, H., Van Oort, F., Gélie, B. & Balabane, M. 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* **109**: 231–238.
- Dechamps, C., Lefèbvre, C., Noret, N. & Meerts, P. 2007. Reaction norms of life history traits in response to zinc in *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and nonmetalliferous sites. *New Phytologist* **173**: 191–198.
- Dechamps, C., Noret, N., Mozek, R., Escarré, J., Lefèbvre, C., Gruber, W. & Meerts, P. 2008. Cost of adaptation to a metalliferous environment for *Thlaspi caerulescens*: a field reciprocal transplantation approach. *New Phytologist* **177**: 167–177.
- De Laender, F., Melian, C.J., Bindler, R., Van den Brink, P.J., Daam, M., Roussel, H., Juselius, J., Verschuren, D. & Janssen, C.R. 2013. The contribution of intra- and interspecific tolerance variability to biodiversity changes along toxicity gradients. *Ecology Letters* **17**: 72–81.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* **26**: 297–302.
- Dickinson, N.M., Turner, A.P. & Lepp, N.W. 1991. How do trees and other long-lived plants survive in polluted environments? *Functional Ecology* **5**: 5–11.
- Duvigneaud, P. 1958. Etudes sur la végétation du Katanga et de ses sols métallifères. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **90**: 127 – 286.
- Duvigneaud, P. & Denaeyer-de-Smet, S. 1963. Cuivre et végétation au Katanga. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **96**: 93–231.
- Enquist, B. J., Norberg, J., Bonser, S. P., Violle, C., Webb, C. T., Henderson, A., Sloat, L.L. & Savage, V. M. 2015. Scaling from traits to ecosystems: Developing a general Trait Driver Theory via integrating trait-

- based and metabolic scaling theories. *Advances in Ecological Research* **52**: 249-318
- Farris, M.A. & Lechowicz, M.J. 1990. Functional interactions among traits that determine reproductive success in a native annual plant. *Ecology* **71**: 548-557.
- Faucon, M.-P., Colinet, G., Mahy, G., Ngongo Luhembwe, M., Verbruggen, N. & Meerts, P. 2009. Soil influence on Cu and Co uptake and plant size in the cuprophytes *Crepidorhopalon perennis* and *C. tenuis* (Scrophulariaceae) in SC Africa. *Plant and Soil* **317**: 201-212.
- Faucon, M.-P., Le Stradic, S., Boisson, S., Ilunga wa Ilunga, E., Séleck, M., Lange, B., Delhaye, G., Shutcha, M., Pourret, O., Meerts, P., Mahy, G. 2015. Implication of plant-soil relationships for conservation and restoration of copper-cobalt ecosystems. *Plant and Soil*. DOI 10.1007/s11104-015-2745-5
- Faucon, M.-P., Meersseman, A., Shutcha, M.N., Mahy, G., Ngongo Luhembwe, M., Malaisse, F. & Meerts, P. 2010. Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18.
- Faucon, M.-P., Shutcha, M.N. & Meerts, P. 2007. Revisiting copper and cobalt concentrations in supposed hyperaccumulators from SC Africa: influence of washing and metal concentrations in soil. *Plant and Soil* **301**: 29-36.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C. & Toussaint, J.-P. 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637.
- Garnier, E. & Navas, M.-L. 2013. *Diversité fonctionnelle des plantes*. De Boek, Bruxelles.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P. & Reznick, D. N. 2007. Adaptive versus non- adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* **21**: 394-407.
- Griffith, T. & Sultan, S. E. 2012. Field- based insights to the evolution of specialization: plasticity and fitness across habitats in a specialist/generalist species pair. *Ecology and Evolution* **2**: 778-791.
- Hoenig, M. & de Kersabiec, A.-M. 1996. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **51**: 1297-1307.
- Huang, Q. Q., Pan, X. Y., Fan, Z. W. & Peng, S. L. 2015. Stress relief may promote the evolution of greater phenotypic plasticity in exotic invasive species: a hypothesis. *Ecology and Evolution* **5**: 1169-1177.
- Ilunga wa Ilunga, E., Seleck, M., Colinet, G., Faucon, M.-P., Meerts, P. & Mahy, G. 2013. Small-scale diversity of plant communities and distribution of species niches on a copper rock outcrop in Upper Katanga, DR Congo. *Plant Ecology and Evolution* **146**: 173-182.
- Jiménez-Ambriz, G., Petit, C., Bourrié, I., Dubois, S., Olivieri, I. & Ronce, O. 2007. Life history variation in the heavy metal tolerant plant *Thlaspi caerulescens* growing in a network of contaminated and noncontaminated sites in southern France: role of gene flow, selection and phenotypic plasticity. *New Phytologist* **173**: 199-215.
- Jung, V., Violle, C., Mondy, C., Hoffmann, L. & Muller, S. 2010. Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of Ecology* **98**: 1134-1140.
- Kabata-Pendias, A. & Pendias, H. 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC press, Boca Raton, FL, USA.
- Kahle, H. 1993. Response of roots of trees to heavy metals. *Environmental and Experimental Botany* **33**: 99-119.
- Kawecki, T.J. & Ebert, D. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* **7**: 1225-1241.
- Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P. G., Baker, A.J.M., Reeves, R.D. & Troumbis, A.Y. 2008. Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews* **83**: 495-508.
- Kazakou, E., Violle, C., Roumet, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kattge, J. & Garnier, E. 2014. Are trait-based species rankings consistent across data sets and spatial scales? *Journal of Vegetation Science* **25**: 235-247.
- Kichenin, E., Wardle, D. A., Peltzer, D. A., Morse, C.W. & Freschet, G.T. 2013. Contrasting effects of plant inter- and intraspecific variation on community-level trait measures along an environmental gradient. *Functional Ecology* **27**: 1254-1261.
- Lange, B., Faucon, M.-P., Meerts, P., Shutcha, M., Mahy, G. & Pourret, O. 2014. Prediction of the edaphic factors influence upon the copper and cobalt accumulation in two metallophytes using copper and cobalt speciation in soils. *Plant and Soil* **379**: 275-287.
- Lange, B., Pourret, O., Meerts, P., Jitaru, P., Cancès, B., Grison, C., Faucon, M.-P. 2016. Copper and cobalt mobility in soil and accumulation in a metallophyte as influenced by experimental manipulation of soil chemical factors. *Chemosphere* **146**: 75-84
- Legendre, P. & Legendre, L.F. 1998. *Numerical Ecology* (2nd Ed.). Elsevier.
- Lepš, J., de Bello, F., Šmilauer, P. & Doležal, J. 2011. Community trait response to environment: disentangling species turnover vs intraspecific trait variability effects. *Ecography* **34**: 856-863.
- Liu, F. & Stützel, H. 2004. Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress. *Scientia Horticulturae* **102**: 15-27.
- Macnair, M.R. 1987. Heavy metal tolerance in plants: A model evolutionary system. *Trends in Ecology & Evolution* **2**: 354-359.

- Marks, C.O. 2007. The cause of variation in tree seedling traits : the roles of environmental selection versus chance. *Evolution* **61**: 455–469.
- Mayfield, M.M. & Levine, J.M. 2010. Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* **13**: 1085–1093.
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E. & Westoby, M. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 178–185.
- Münkemüller, T., Gallien, L., Lavergne, S., Renaud, J., Roquet, C., Abdulhak, S., Dullinger, S., Garraud, L., Guisan, (...) & Thuiller, W. 2014. Scale decisions can reverse conclusions on community assembly processes. *Global Ecology and Biogeography* **23**: 620–632.
- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* **25**: 239–250.
- Pakeman, R.J. & Queded, H.M. 2007. Sampling plant functional traits: What proportion of the species need to be measured? *Applied Vegetation Science* **10**: 91–96.
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., (...) & Cornelissen, J.H.C. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **61**: 167–234.
- Pérez-Ramos, I.M., Roumet, C., Cruz, P., Blanchard, A., Autran, P. & Garnier, E. 2012. Evidence for a “plant community economics spectrum” driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. *Journal of Ecology* **100**: 1315–1327.
- Poorter, H., Niinemets, U., Poorter, L., Wright, I.J. & Villar, R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* **182**: 565–88.
- Pulford, I.D. & Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International* **29**: 529–540.
- Reznick, D.N. & Ghalambor, C.K. 2001. The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* **112**: 183–198.
- Rice, S.A. & Bazzaz, F.A. 1989. Growth consequences of plasticity of plant traits in response to light conditions. *Oecologia* **78**: 508–512.
- Roche, P., Díaz-Burlinson, N. & Gachet, S. 2004. Congruency analysis of species ranking based on leaf traits: which traits are the more reliable? *Plant Ecology* **174**: 37–48.
- Ryser, P. & Eek, L. 2000. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *American Journal of Botany* **87**: 402–411.
- Saad, L., Parmentier, I., Colinet, G., Malaisse, F., Faucon, M.-P., Meerts, P. & Mahy, G. 2012. Investigating the vegetation-soil relationships on the copper-cobalt rock outcrops of Katanga (D. R. Congo), an essential step in a biodiversity conservation plan. *Restoration Ecology* **20**: 405–415.
- Sambatti, J.B.M. & Rice, K.J. 2006. Local adaptation, patterns of selection, and gene flow in the Californian serpentine sunflower (*Helianthus exilis*). *Evolution* **60**: 696–710.
- Séleck, M., Bizoux, J., Colinet, G., Faucon, M.-P., Guillaume, A., Meerts, P., Piqueray, J. & Mahy, G. 2013. Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant and Soil* **373**: 455–469.
- Shipley, B., Vile, D. & Garnier, E. 2006. From plant traits to plant communities: a statistical mechanistic approach to biodiversity. *Science* **314**: 812–814.
- Sides, C.B., Enquist, B.J., Ebersole, J.J., Smith, M.N., Henderson, A.N. & Sloat, L.L. 2014. Revisiting Darwin’s hypothesis: Does greater intraspecific variability increase species’ ecological breadth? *American Journal of Botany* **101**: 56–62.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C.H., Taudiere, A., Fajardo, A., Aassen, L.W., Baroloto, C., Carlucci, M.B., (...) & Wardle, D.A. 2015. A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters* **18**: 1406–1419.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* **5**: 537–542.
- Sultan, S. E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* **82**: 328–343.
- Turner, T.L., Bourne, E.C., Von Wettberg, E.J., Hu, T.T. & Nuzhdin, S. V. 2010. Population resequencing reveals local adaptation of *Arabidopsis lyrata* to serpentine soils. *Nature Genetics* **42**: 260–263.
- 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.
- Violle, C. & Jiang, L. 2009. Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology* **2**: 87–93.
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**: 882–892.
- Weiher, E., Freund, D., Bunton, T., Stefanski, A., Lee, T. & Bentivenga, S. 2011. Advances, challenges and a developing synthesis of ecological community assembly theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological sciences* **366**: 2403–2413.
- Weiher, E. & Keddy, P.A. 1995. Assembly rules, null models, and trait dispersion: new questions from old patterns. *Oikos* **74**: 159–164.

Chapitre 4

Functional traits of a broad-niched metallophyte along a toxicity gradient: disentangling intra and inter-population variation

Guillaume Delhayé, Bastien Lange, Michel-Pierre Faucon, Céline Grandjean, Gregory Mahy, Pierre Meerts

Published with modifications in Environmental and Experimental Botany (2018).

DOI : 10.1016/j.envexpbot.2018.09.001

Abstract

Studies on the relative contribution of inter- and intra-population trait variations in broad-niched species along edaphic gradients are still scarce. Here, we explore the variation of eight traits in five populations of *Cyanotis longifolia*, a broad-niched metallophyte thriving on very broad gradients of soil copper concentration in central Africa. Variation at species level was decomposed into covariation with copper, variation among sites, and residual variation. The proportion of the variance explained by the site and by the local copper gradient site ranged from 10 to 32% and between 5 and 51% respectively, depending on trait. At the species level, specific leaf area decreased and leaf Cu and Co concentrations increased along the gradient. Surprisingly, vegetative height, leaf area and rooting depth show a quadratic response with higher values at both ends of the gradient. This could be accounted for by population-specific patterns of covariation with soil copper. We found population specific traits responses, with some populations exhibiting no significant response while the others sometimes show opposing variation patterns. The reasons for such idiosyncratic patterns are discussed in terms of interactions with other soil factors. In further studies on trait variation along toxicity gradients, we recommend to investigate the small scale edaphic variability and to measure traits at the population level to capture the diversity of functional responses.

Keywords: heavy metal gradient, facultative metallophyte, intraspecific variation, copper, phenotypic plasticity.

Introduction

Within species variation in functional traits is now recognised as an important component of community trait variation and community assembly processes (Siefert et al 2015, Hart et al 2016). It is composed of both within population and between population variations. Most studies focus on between population trait variation along altitudinal and latitudinal gradients (Souto et al 2009, Fajardo & Piper 2011) and studies comparing within species variation along several similar environmental gradients are scarce. However, growing evidence indicates that intra-population variation can be as large as inter-population variation along soil depth, light, temperature, nutrients or altitude gradients (Bresson et al 2011, Wellstein et al 2013, Lemke et al 2015, Harzé et al 2016, Pfennigwerth et al 2017). This can result from two, mutually non exclusive mechanisms i.e. phenotypic plasticity (e.g. Valladares et al 2014) and local genetic variation (e.g. Byard et al 2007, Robson et al 2012). Both genetic and phenotypic differences of adaptive traits have been documented at very small spatial scales (Bradshaw 1959, Linhart & Grant 1996), particularly in relation to metallic trace elements (MTE) enriched soils (Antonovics et al 1971, Al-Hiyaly et al 1993).

Soil metal contamination represents stringent selective pressure that can promote the evolution of locally adapted ecotypes (Słomka et al. 2011; Wójcik et al. 2015). Plant evolutionary ecology studies often compare metalicolous and non metalicolous populations, based on the assumption that the differences in ecological conditions between MTE-enriched site and the non-contaminated neighbourhood produce a clear-cut difference in plant phenotype. However, soil conditions are often extremely variable both among and within metalliferous sites which can lead to intraspecific differences in tolerance strategies, ion contents or functional traits values (Lefebvre et al 1974, Lange et al 2017, Stein et al 2017, Frérot et al 2018). Although metallophytes tolerance have been extensively studied from a physiological point of view, functional traits variation in metallophytes across large gradients of metal concentration in the soil remains rarely studied and most studies have focused on sites that have been recently contaminated by human activities (Baker et al 2010). Functional traits are expected to vary along toxicity gradients because of selection for optimal trait values in local environments (Garnier et al 2004) and because of trade-offs between growth or reproduction and metal tolerance (Ernst et al 1990 but see Harper et al 1997). Facultative metallophytes along natural MTE gradients offer excellent opportunities to study mechanisms and patterns of trait variation due to soil toxicity caused by phenotypic plasticity or local genetic variation.

In South East of the DR Congo (Upper Katanga), natural outcrops of Cu-rich bedrocks occur in the form of several hundreds of “copper hills”. Copper hills typically appear as islands of herbaceous vegetation emerging from the surrounding woodland matrix (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963). Each copper hill comprises a broad range of habitats, depending mainly on soil Cu and Co concentrations, as well as other soil chemical or physical properties, slope and microtopography (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Séleck 2013). Copper

concentration in the soil often increases by three orders of magnitude from the base to the top of the hill (Séleck et al 2013). Many other chemical and physical factors vary as well, such as phosphorus and organic matter content, and pH (Séleck et al 2013, Pourret et al 2016). However, Cu and Co availability to plants is highly variable between sites, depending on the local soil properties and the rhizosphere biogeochemical processes (Lange et al 2014). Recent work has found within species variation in Cu tolerance, correlated to soil copper content of native sites, suggesting local adaptation (Faucon et al 2012, Peng et al 2012). Therefore, copper hills represent an interesting model to explore trait variation within species along natural MTE gradients.

The variation in Cu and Co speciation in soils, coupled with the extensive diversity of microhabitats along Cu and Co gradient can have a strong influence on the vegetation structure, allowing a large number of species to coexist on a single hill (Saad et al 2012, Ilunga wa Ilunga et al 2013, Faucon et al. 2016). Delhaye et al (2016) found clear patterns of variation in community weighted mean values of traits i.e. decreasing leaf area, increasing SLA and foliar MTE along gradients of increasing soil Cu. Most of this variation is due to species turn-over along the Cu gradient. In addition, a number of species occupy a very broad niche along the copper gradient and might exhibit significant intraspecific traits variation.

One of the species with the broadest ecological range on copper hills is *Cyanotis longifolia* Benth. (Commelinaceae). This is a very polymorphic, self compatible, hemicryptophytic species which is common in tropical Africa (Owen 1981, Faden 2012). *C. longifolia* is widespread on copper hills and was previously reported as a Cu and Co hyperaccumulator (Malaisse et al 1979). In this paper, we explore the within species variation of functional traits in *C. longifolia* in relation to gradients of soil Cu concentration. Plants were sampled from 5 copper hills in order to test if patterns of covariation of traits and soil Cu are consistent among sites. We first examine the patterns of traits variation at the species level. We then examine the relative contribution of inter- and intra-population functional trait variation along MTE gradients. We test the hypothesis that such variation can be explained by within- and between sites differences in soil MTE contents.

More precisely, we ask:

What is the relative contribution of intra- versus inter-population variation to the species level variation along the gradient?

Do all populations show similar patterns of trait variation along metal gradients?

Does functional divergence between populations match the difference in ecological conditions between sites?

Material and methods

Study sites

Five sites were selected in the copper belt region in the south-east of D.R. Congo, between Tenke-Fungurume and Lubumbashi (Table 1). Each site was divided in 3 distinct habitats, based on topography and vegetation physiognomy, following Duvigneaud & Denaeyer-De Smet (1963). i.e. from base to top of hill: the dambo (high savannah on horizontal soil around the hill), mid-slope (grassland rich in geofrutex), and the upper slope, (open grassland rich in annual species). Soil MTE concentrations increase by two orders of magnitude from the dambo to the upper part of the slope (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Séleck et al 2013).

Plant sampling and traits measurement

In January 2013, in each site, individuals of *C. longifolia* were collected from the three aforementioned habitats along a transect ranging from the bottom to the top of the hill in order to capture the whole range of soil metal concentrations within each site. Population size of *C. longifolia* was small in several sites and habitats. Therefore, sample size did not exceed 10 percent of the individuals, i.e. 22 to 65 replicates depending on site (Table 1). Sampled plants were at least 2m apart from each other.

On each individual, 6 traits were assessed, related to size (vegetative height: VH, leaf area: LA and rooting depth: RD), resource use and conservation (specific leaf area: SLA and leaf water content: LWC) and vegetative reproduction (clonal distance: CD). Leaves were collected for determination of concentrations of copper (Cu_{pl}) and cobalt (Co_{pl}). All morphological traits were measured according to Pérez-Harguindeguy et al (2013) on healthy adult plants with leaves exposed to full sunlight. VH was measured from the base of the plant to the top of the upper leaf. LA was measured on the two, fully developed, youngest undamaged leaves using ImageJ software on photographs of fresh leaves. LWC and SLA were measured on the same leaves after drying at 105°C for 48 hours. Leaf traits were averaged at the individual level. Recently, Vojtkó et al (2017) emphasized the importance of clonal traits in response to habitat filtering. Therefore, the maximum CD was measured as the distance between the two farthest ramets of a same individual and the RD was measured after digging up carefully each individual.

Leaves used for SLA measurement were also used to determine MTE concentrations. Fresh leaves were washed in a 1% Alconox[®] solution and rinsed (Faucon et al 2007). The dry samples were ashed at 500°C for 12h. The ashes were diluted in 1 ml of H₂O and 2 ml of HNO₃ 65% (Hoenig & de Kersabiec 1996) and heated at 100°C for 5 minutes. Each solution was filtered and diluted in H₂O in order to obtain a 25 ml solution. Cu_{pl} and Co_{pl} were

determined by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP- MS, Thermo Scientific XSERIES2).

Soil analyses

A soil sample (approximately 50g dry weight) from the rhizosphere of each sampled plant was collected for analysis. Each sample was air dried for one week and sieved at 2 mm before analysis. Rock (gravel) content was assessed as the (1 - mass proportion) of the 2 mm sieved dried soils. Soil pH was measured with a glass electrode on 5:1 demineralised water: soil mixture. Organic matter content was measured by calcination for 12 hours at 550°C on 2g soil samples. Mineral elements were extracted with 1M ammonium acetate-EDTA (pH 4.65) for 60 min using 5 g of dry soil in 25 ml of solution (Cottenie et al 1982). The supernatant was filtered and analysed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometers (ICP-OES) (Vista MPX, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) for the following elements: Cu, Co, Mn, Mg, P, and Fe.

Statistical analysis

Soil parameters were log-transformed if necessary before analysis to meet normality assumptions. Variation of soil properties was explored with a Principal Component analysis. Soil copper was highly correlated with the first Principal Component (results not shown). Further, Cu is known to have a strong filtering effect on vegetation structure in copper hills (Séleck et al 2013) and on functional traits variation (Delhayé et al 2016). For these reasons, soil copper was selected as the main gradient of interest in further analyses. On each site, we investigated the correlations between soil Cu content and other soil parameters using Pearson correlation coefficient.

Traits were log-transformed if necessary to meet the normality assumption. Within each site, the amplitude of variation of traits was evaluated using the coefficient of variation (CV) and trait min-max range (Annexe 4; Table 2). To test if large variability in soil conditions induces large variability in functional traits, we tested Spearman correlations between traits CV or range and soil Cu content.

Species level patterns of traits variation along the copper gradient were evaluated by comparing the fit of a linear and a quadratic regression on the data, pooling the five populations. We selected the best model based on AICc criterion. When the difference in $AICc < 2$ (Burnham & Anderson 2004), we selected the linear model for its simplicity.

We used a set of linear models to assess the relative contributions of intra- and inter-site variance to the total trait variance. For each of the 10 traits, we constructed three different models to extract the proportion of variance (R^2) explained by the site and the local soil copper gradient at each site. The first model uses a simple linear regression where soil copper is the only explanatory variable (R^2_1). The second model is a linear mixed model in which soil

copper is the fixed effect and the site a random effect (random slope model: R^2_2). Finally, the third model is also a linear mixed model, with the soil copper content as a fixed variable and the interaction between the site and the soil copper concentration as a random variable (R^2_3). The latter provides a random slope and random intercept model, allowing each site to have different trait variation slopes along the copper gradient. The proportion of variance explained by the site is obtained by $\text{VarSite} = R^2_2 - R^2_1$ and the proportion of variance explained by copper variation within site is obtained by $\text{VarCu*Site} = R^2_3 - R^2_2$. The residual variance is calculated by $\text{VarResidual} = 1 - (\text{VarSite} + \text{VarCu*Site})$.

Linear regressions by permutation ($n = 9999$) were conducted for all traits along the copper gradients at each site separately in order to assess population's functional response to within-site environmental variation. To test if the populations of the different sites show similar patterns of trait variation along the copper gradients, the slopes of the regression lines were compared among sites using a covariance analysis (ANCOVA) with a designed contrast matrix to compare slopes but not the intercepts, in order to reduce the number of simultaneous tests. Analyses were conducted in R software 3.0.2 (www.R-project.org) using packages lme4, ade4, ape, multcomp, vegan and proxy.

Results

Soil

Soil chemical properties, and stone contents, vary extensively both within and among sites (Table 1). The gradient of soil Cu concentration range is shortest on Goma (30-992 mg.kg⁻¹) and longest on Fungurume (218-7758 mg.kg⁻¹). In addition to Cu, each site also shows extensive variation for other edaphic parameters, especially Co, Mn and Ca (Table 1). Fungurume has the highest values in Cu, Co, Mn, Ca, Mg, P and pH. Goma is characterized by low concentrations in Cu, Mn and organic matter (Table 1, Figure 1). Kinsevere contrasts with all the other sites by its lower Co level (< 17 mg.kg⁻¹) (Table 1).

Table 1: Location, number of plant and soil samples and variation range of soil parameters for each site. Rock is the soil gravel content (> 2 mm) and MO is the soil organic matter content, both expressed in percentage of soil mass. Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn and P are expressed in mg.kg⁻¹ (extraction Ac-EDTA 1M).

| | Goma | Fungurume | Orthodoxe | Zikule | Kinsevere |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Coordinates | S10°35'56" E26°08'20" | S10°36'47" E26°17'10" | S10°36'26" E26°07'37" | S10°38'48" E26°12'48" | S11°21'58" E27°34'53" |
| Plant samples | 65 | 43 | 43 | 22 | 45 |
| Soil samples | 55 | 40 | 34 | 20 | 12 |
| Cu (mg.kg ⁻¹) | 30 - 992 | 218 - 7758 | 36 - 1409 | 30 - 2129 | 149 - 6387 |
| Co (mg.kg ⁻¹) | 2 - 111 | 64 - 850 | 6 - 232 | 8 - 128 | 1.5 - 17 |
| Mn (mg.kg ⁻¹) | 37 - 189 | 37 - 543 | 65 - 548 | 29 - 502 | 74 - 319 |
| Ca (mg.kg ⁻¹) | 49 - 593 | 72 - 2359 | 171 - 1080 | 104 - 458 | 131 - 568 |
| Fe (mg.kg ⁻¹) | 56 - 322 | 26 - 223 | 158 - 379 | 89 - 367 | 81 - 306 |
| K (mg.kg ⁻¹) | 36 - 322 | 32 - 255 | 79 - 263 | 99 - 281 | 109 - 261 |
| Mg (mg.kg ⁻¹) | 41 - 300 | 40 - 643 | 75 - 374 | 71 - 280 | 107 - 364 |
| P (mg.kg ⁻¹) | 0.9 - 12.3 | 1.9 - 63.8 | 1.2 - 19.1 | 2.7 - 17 | 0.9 - 36.6 |
| Rock (%) | 0.2 - 73 | 6.7 - 69 | 2.5 - 96 | 10 - 76 | 3.2 - 67 |
| MO (%) | 3.3 - 7.5 | 3.9 - 17.2 | 3.0 - 11.8 | 5.7 - 20 | 3.9 - 16.6 |
| pH | 5.4 - 6.4 | 5.5 - 7.1 | 5.4 - 6.5 | 4.6 - 6.3 | 5.6 - 6.1 |

In all sites except Kinsevere, soil Cu content is strongly positively correlated to Co content (Table 2). Cu is significantly positively correlated with P in 4 of 5 sites and with organic matter in 3 of 5 sites. Other correlation patterns between Cu and other elements are highly site-specific (Table 2).

Table 2: Correlation coefficients between soil Cu concentration (extraction Ac-EDTA 1M) and other soil factors at each site. Significant correlation coefficients ($p < 0.001$) in bold.

| | Co | Mn | Ca | Fe | K | Mg | P | Rock | MO | pH |
|-----------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Goma | 0.95 | 0.07 | 0.09 | -0.19 | -0.28 | -0.32 | 0.74 | 0.61 | 0.05 | 0.01 |
| Orthodoxe | 0.89 | 0.84 | 0.08 | 0.11 | 0.43 | 0.05 | 0.96 | 0.50 | 0.81 | -0.38 |
| Fungurume | 0.96 | -0.60 | 0.80 | -0.71 | 0.29 | 0.24 | 0.99 | 0.57 | 0.63 | 0.70 |
| Zikule | 0.83 | 0.86 | 0.00 | -0.46 | -0.07 | 0.18 | 0.60 | -0.24 | 0.30 | 0.39 |
| Kinsevere | -0.80 | -0.42 | 0.67 | 0.11 | 0.25 | 0.33 | 0.97 | 0.67 | 0.80 | -0.18 |

Plant traits

There is extensive variation both within and among populations for all traits (Fig. 1). The population Goma has the largest range of size related traits and clonal distance (VH: 57 cm, LA: 122 mm², CD: 60 cm) and covers the whole range of trait values (Fig. 1).

Kinsevere and Zikule population have lower SLA and LWC values. Cu_{pl} does not exceed 290 mg.kg⁻¹. Fungurume has higher foliar Cu and Co concentrations than any other populations (up to 286 and 1700 mg.kg⁻¹ respectively). Using both traits CV and range, there is no significant correlation between traits and soil Cu variability- e.g. the largest variability (CV and range, see Table A2a and b in Annexe 4) in size traits are found along the shortest soil Cu gradient (Goma).

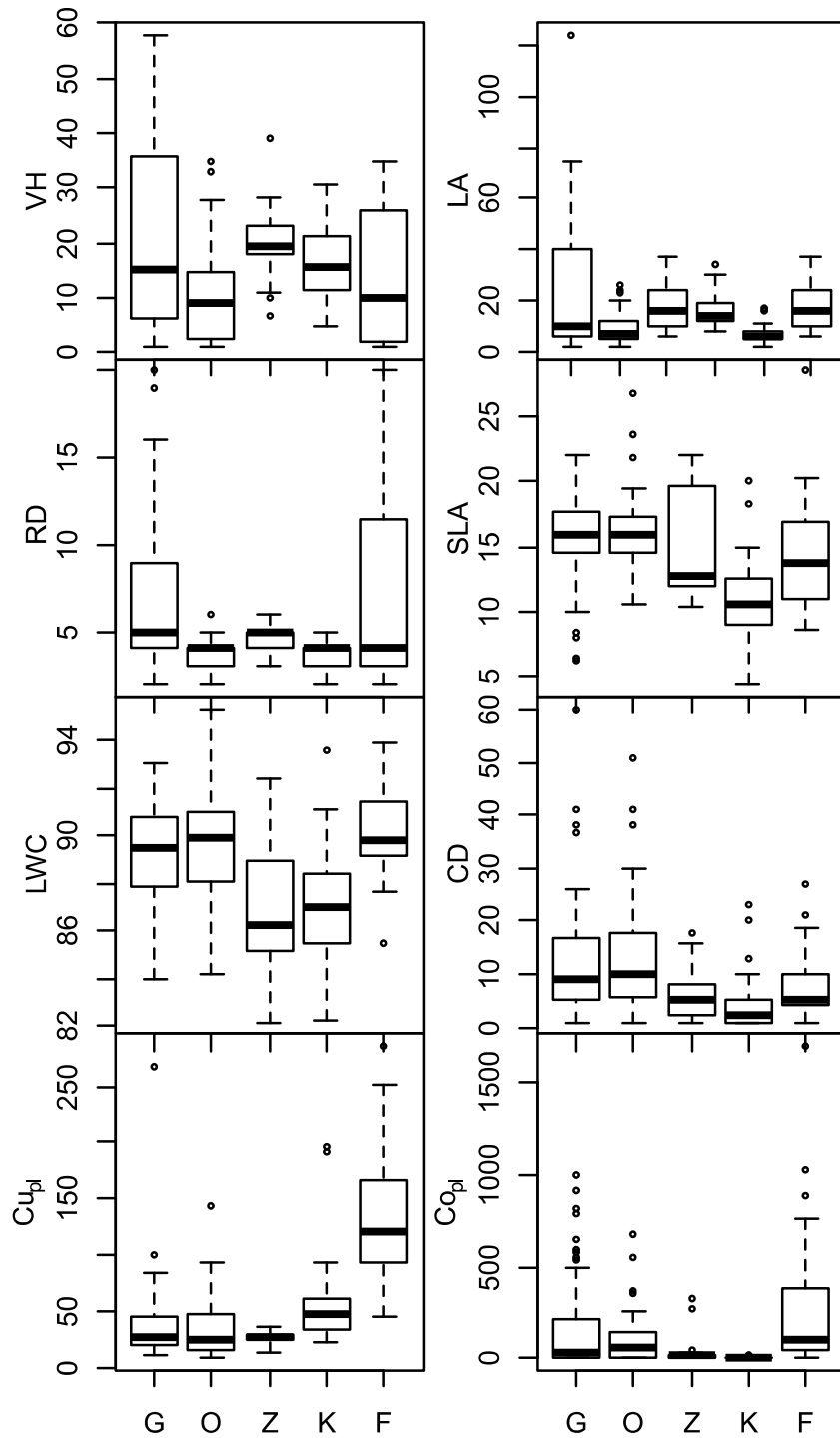


Figure 1: Variation of eight traits for the five populations (G= Goma, O = Orthodoxe, F = Fungurume, Z = Zikule, K = Kinsevere). VH: vegetative height, LA: leaf area, RD: rooting depth, SLA: specific leaf area, LWC: leaf water content, CD: clonal distance, Cu_{pl} and Co_{pl} leaf Cu and Co content. VH, RD, CD are expressed in cm, LA in mm^2 , SLA in $mm^2.mg^{-1}$, LWC in percentage of mass and Cu_{pl} , Co_{pl} in $mg.kg^{-1}$. The thick bar represents the median; the box contains the inter-quartile range (IQR) and the whiskers are the maximum 1.5 IQR.

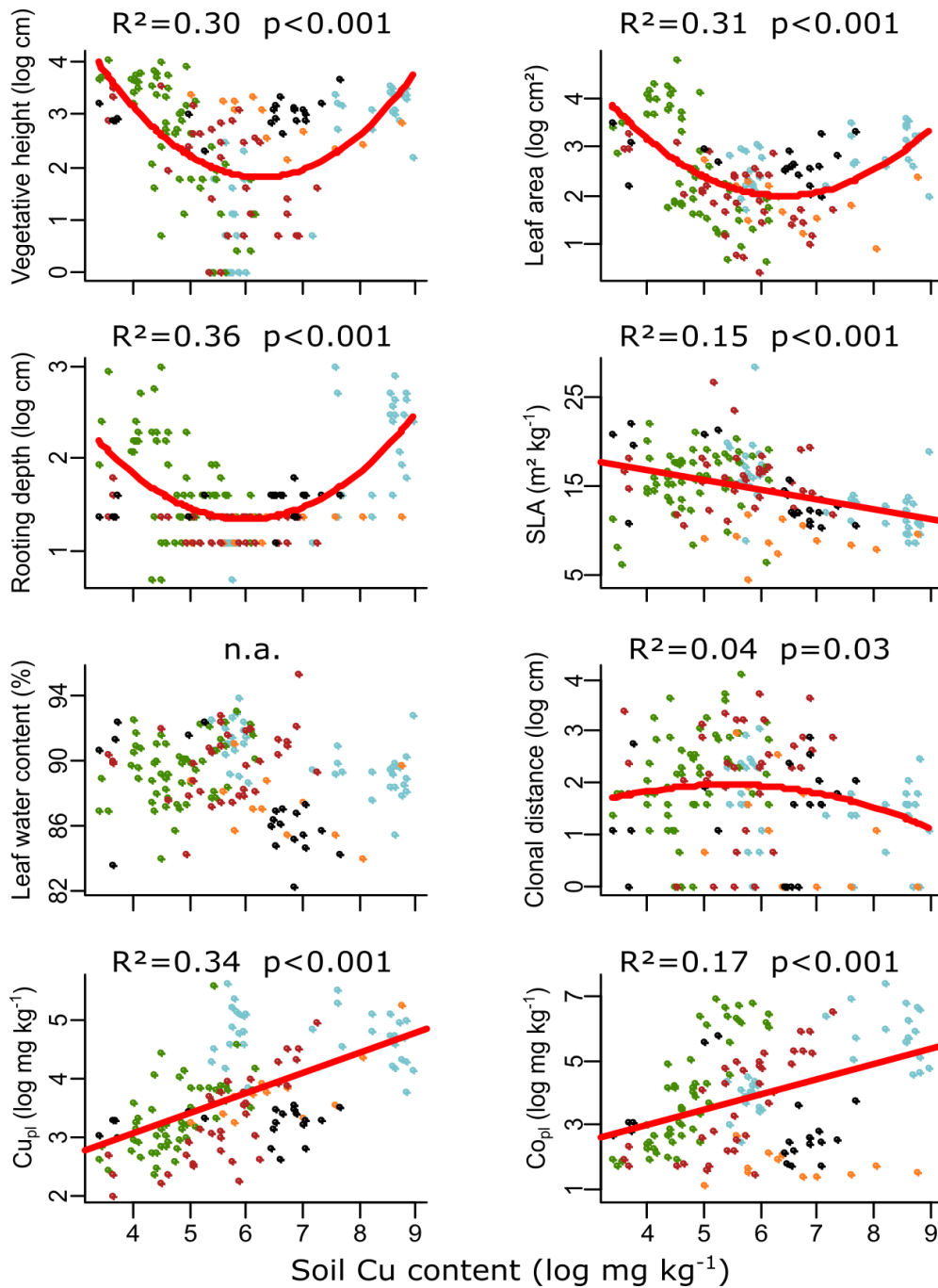


Figure 2: Trait variation at the species level, pooling the five studied populations, along the copper gradient. A linear and a quadratic model were fitted for each trait and the best model based on the AIC criterion was selected. The line is the significant regression line. R² and associated p-value are reported. Vegetative height, leaf area, rooting depth and clonal distance show a significant quadratic relationship and SLA, Cu_{leaf} and Co_{leaf} show significant linear relationships with the soil Cu concentration. Colour code: blue-Fungurume, orange-Kinsevere, black-Zikule, green-Goma, red-Orthodoxe.

Trait variation along the soil Cu concentration

The patterns of variation at the species level are trait specific (Fig. 2). VH, LA and RD show a highly significant quadratic relationship with soil Cu concentration with higher trait value at both ends of the gradient. Three traits show significant linear regression with soil Cu: SLA (negative slope), Cu_{pl} and Co_{pl} (positive slope) (Fig. 2). Leaf water content shows no significant relation and clonal distance shows a negligible ($R^2 = 0.04$) quadratic relationship with soil Cu.

For size related traits (VH, LA and RD) the local Cu gradient explains between 28 and 51 % of the traits variation (Table 3). For SLA, LWC and CD, the site effect explains approximately twice more variance than the gradient effect. Interestingly, Cu_{pl} and Co_{pl} also show a larger site effect than the local Cu gradient effect (1.6 and 1.5 times respectively; Table 3).

Table 3: Percentages of variance explained by the inter-site effect (Among site), the local copper gradient within each site (Cu within site) and the residuals expressed as a percentage of the total variance.

| | Among site | Cu within site | Residuals |
|--------------------|------------|----------------|-----------|
| Vegetative height | 10.6 | 51.0 | 38.4 |
| Leaf area | 18.1 | 30.4 | 51.5 |
| Rooting depth | 19.6 | 28.4 | 52.0 |
| Specific leaf area | 14.3 | 9.6 | 76.1 |
| Leaf water content | 23.0 | 13.7 | 63.3 |
| Clonal distance | 10.6 | 5.2 | 84.1 |
| Cu_{pl} | 24.6 | 14.6 | 60.8 |
| Co_{pl} | 32.9 | 22.2 | 44.9 |

Within each site, a linear regression analysis was conducted to examine the pattern of variation of each trait as a function of soil Cu. For morphological traits, the regression analysis and associated covariance analysis reveal highly contrasting, site specific patterns of trait variation along the Cu gradients (Fig. 3, Annexe 4 Table A1). Significant covariation with soil Cu was found in 1 to 4 sites depending on trait. Significant correlations in opposite directions were found in 4 of 8 traits (vegetative height, leaf area, rooting depth and leaf water content).

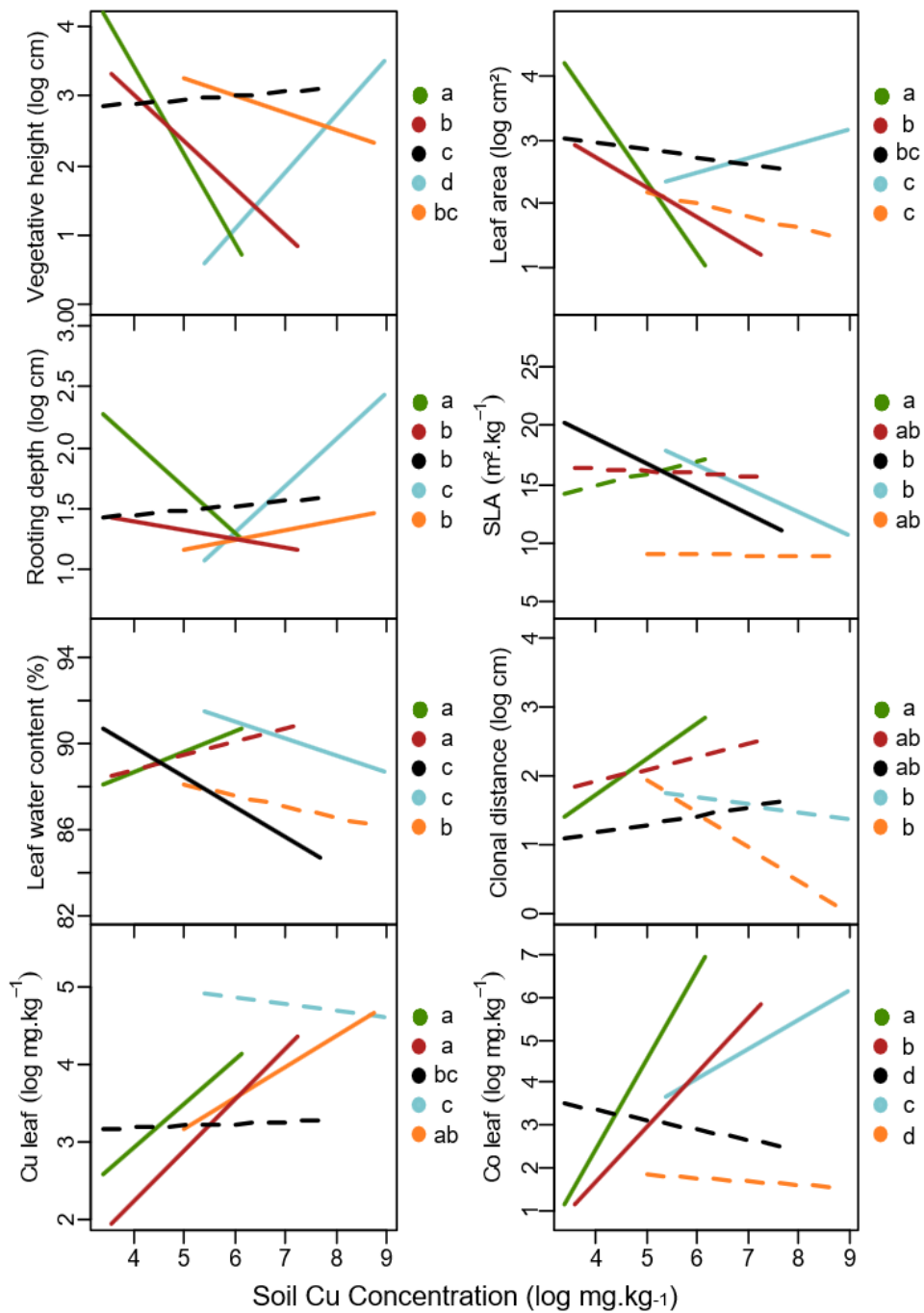


Figure 3: Functional traits variation along the copper gradient for the five studied sites. Plain lines represent significant linear regression, dashed lines are non-significant. Letters in the legend represent similarities in regression slopes of the different populations for each graph. Colour code: blue-Fungurume, orange-Kinsevere, black-Zikule, green-Goma, red-Orthodoxe.

Discussion

Intraspecific trait variation is receiving increasing attention in plant community ecology (Siefert et al 2015). However, few studies have focused on traits variation at inter and intra population levels (e.g. Fajardo & Piper 2011, Harzé et al 2016). Here, for the first time, we document intra and inter-population trait variation in relation to metal toxicity gradients in a broad-niched metallophyte. *Cyanotis longifolia* is able to grow on soil with Cu concentration spanning more than two orders of magnitude (range: 30-7758 mg kg⁻¹). The species occurs in plant communities that show dramatic variation in floristic composition and community averaged trait values, along copper gradients (Séleck et al 2013, Delhaye et al 2016). We therefore expected copper to be the most prominent driver of intraspecific trait variation.

Species level trait variation

Edaphic heterogeneity has significant impact on local intraspecific trait variation, especially in broad-niched species along altitudinal, fertility or aridity gradients (Lenssen et al 2004, Fajardo & Piper 2011, Pakeman 2013, Harzé et al 2016, De Smedt et al 2018). Here we show that functional traits of a species can vary substantially along short distance metal toxicity gradient. We expected a decrease in plant size, an increase in tissue metal concentrations and a shift to fast resource use efficiency with increasing Cu as observed at the community level (Delhaye et al 2016). These predictions were only partly verified.

Foliar Cu and Co increased in response to soil metal concentrations consistent to expectations. In Katangan copper hills, both elements are often accumulated in plants in relation to their availability in soil (e.g. Faucon et al 2007), which results in significant increase of metal concentrations at the species and community level (Delhaye et al 2016).

The decrease in SLA values, opposite to community level response, might be a response to the physiological stress induced by the metal (Potters et al 2007). The increase in SLA observed at the community level was mainly due to a replacement of species along the gradient (Delhaye et al 2016).

Most surprisingly, at the species level, the covariation of size traits with soil copper was quadratic with lowest values at intermediate soil Cu. Non-linear traits responses along environmental gradients have been previously discussed (e.g. Albert et al 2010) but the origin of these patterns often remains unclear. Here, contrasting site specific responses may account for the quadratic response at the species level (Fig. 3).

Within Population trait variation

Along gradients of toxicity we expected large phenotypic variations and similar directions of trait variation due to the strong restrictive effect of metal toxicity on plants phenotypes (e.g. Kolbas et al 2018). Variation was decomposed in three components, between sites, intra-site covariation with soil copper and residual.

We found an unsuspected complex pattern of trait variation within and among populations. Intra population trait variations can be highly site and trait specific along MTE gradients and account for variable proportions of total variance (between 5 and 51%) depending on trait. This is consistent with results found along altitude or resource gradients (Wellstein et al 2013, Lemke et al 2015, Harzé et al 2016, Pfennigwerth et al 2017). Contrary to expectations, covariation with copper was less important compared to the other two sources of variation for most traits. Only for one trait (vegetative height) was covariation with copper the most important source of variation. This could indicate a trade-off between allocation to size and metal tolerance (Ernst et al 1990) or a direct response to the physiological stress induced by the metal (Potters et al 2007). LWC and SLA show lower intra-population variation than size related traits, which is consistent with previously reported results (Fajardo & Piper 2011, Siefert et al 2015, Harzé et al 2016). SLA does not vary along the copper gradient for three among the five studied populations suggesting that SLA might be a highly canalized trait that is not related to the metal tolerance strategy (Delhaye et al 2016, Lange et al 2017).

Plant elemental concentrations and their covariation with soil metal concentration are highly variable between sites as found in other metallophytes (Stein et al 2017, Frérot et al 2018). The large part of the variance explained by the site effect for the plant Cu and Co content (24.6 and 32.9 % respectively) is likely due to the differences in soil metal concentrations as well as in other edaphic parameters. Population level differences in metal accumulation were demonstrated experimentally in several copper hill metallophytes (Faucon et al 2012, Peng et al 2012) and might be driven by different metal concentrations in the native soil.

There is no correlation between gradient length and trait variability between sites (compare Fig. 1 and table 1). This finding contradicts the hypothesis that larger niche implies larger trait variation (Sandquist & Ehleringer 2003, Sides et al 2014) but is consistent with observations along light availability gradients (Lemke et al 2012). This might be due to different, site specific, mechanisms of phenotypic variation such as phenotypic plasticity along short gradients (e.g. at Goma) or local adaptation along large gradients (e.g. at Fungurume).

Site specific responses

Correlation patterns between copper and other soil factors were highly site-specific (table 2). Cu availability in copper hills soils is strongly influenced by other edaphic factors, such as pH and organic matter content (Lange et al 2014, Pourret et al 2016). In one site in particular (Fungurume), size-related traits showed a paradoxical increase in plant performance along the copper gradient. In that site, there exists a positive correlation between copper, P, Ca, pH and organic matter. Thus, increasing nutrients (P, Ca) or decreasing Cu availability on Cu rich soils might actually be the driver of the observed response.

It is not known if the covariations with soil Cu are due to phenotypic plasticity or local adaptation. Due to the geographical isolation of the sites, the site specific responses of traits

along the gradient may have evolved due to ecological drift (e.g. Vellend 2010) or local adaptation (Kawecki & Ebert 2004). Short distance genetic differentiation was demonstrated along different types of environmental gradients such as altitude (Byars et al 2007, Leempoel et al 2018) or in response to short distance variation in metal contamination (Jain & Bradshaw 1966, Antonovics et al 1971).

Finally, trait covariation is also recognised as an important factor explaining the local diversity of phenotypes (Armbruster & Schwaegerle 1996). Trade-offs between traits can produce different local phenotypes, selected in a particular environment (Laughlin & Messier 2015). Experimental cultivation in common garden conditions are needed to address that question.

Conclusion

Our study has revealed a complex pattern in the structure of intraspecific variation in a broad niched species. This suggests that generalization based on one or very few populations may be highly misleading due to the particular combination of local conditions at each site. A species should be sampled from sites encompassing its whole ecological range. Our results also stress that, depending on the spatial scale at which intraspecific variation is explored, very different patterns can emerge. This is likely due to interactions between isolation, various edaphic factors and/or local adaptation. A population specific approach is needed to capture the whole species level traits variation along toxicity gradient.

Acknowledgments

GD is grateful to Kristel Wart for the help with plant and soil chemical analysis, to Gilles San Martin for the help with statistical analysis and to David Bauman and Arnaud Jacobs for the interesting discussions and comments.

Bibliography

- Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P., & Lavorel, S. (2010). Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. *Journal of Ecology* **98**: 604-613.
- Al-Hiyaly, S. A. K., McNeilly, T., Bradshaw, A. D., & Mortimer, A. M. (1993). The effect of zinc contamination from electricity pylons. Genetic constraints on. *Heredity* **70**: 22-32.
- Antonovics, J., Bradshaw, A. D., & Turner, R. G. (1971). Heavy metal tolerance in plants. *Advances in Ecological Research* **7**: 1-85.
- Armbruster, W. S., & Schwaegerle, K. E. (1996). Causes of covariation of phenotypic traits among populations. *Journal of Evolutionary Biology* **9**:261-276.
- Baker, A. J., Ernst, W. H., van der Ent, A., Malaisse, F., & Ginocchio, R. (2010). Metallophytes: the unique biological resource, its ecology and conservational status in Europe, central Africa and Latin America. In: Batty, L.C., & Hallberg, K.B. (Eds). *Ecology of Industrial Pollution*. Cambridge University Press. 7-40.
- Bradshaw, A. D. (1959). Population differentiation in *Agrostis tenuis* Sibth. *New Phytologist* **58**: 208-227.
- Bresson, C. C., Vitasse, Y., Kremer, A., & Delzon, S. (2011). To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiology* **31**: 1164-1174.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2004). Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. *Sociological Methods & Research* **33**: 261-304.
- Byars, S. G., Papst, W., & Hoffmann, A. A. (2007). Local adaptation and cogradient selection in the alpine plant, *Poa hiemata*, along a narrow altitudinal gradient. *Evolution* **61**: 2925-2941.
- Cottenie, A., Verloo, M., Kiekens, L., Velghe, G., & Camerlynck, R. (1982). Chemical analysis of plants and soils. *IWONL, Brussels*, 63.
- De Smedt, P., Ottaviani, G., Wardell-Johnson, G., Sýkora, K. V., & Mucina, L. (2018). Habitat heterogeneity promotes intraspecific trait variability of shrub species in Australian granite inselbergs. *Folia Geobotanica*.
<https://doi.org/10.1007/s12224-018-9311-x>
- Delhaye, G., Violle, C., Séleck, M., Ilunga wa Ilunga, E., Daubie, I., Mahy, G., & Meerts, P. (2016). Community variation in plant traits along copper and cobalt gradients. *Journal of Vegetation Science* **27**: 854-864.
- Duvigneaud, P. et Denaeyer-De Smet, S., 1963. Cuivre et végétation au Katanga. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **96**: 93-224.
- Ernst, W. H. O., Schat, H., & Verkleij, J. A. C. (1990). Evolutionary biology of metal resistance in *Silene vulgaris*. *Evolutionary Trends in Plants* **4**: 45-51.
- Faden, R. B. (2012). *Flora of Tropical East Africa: Commelinaceae*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Fajardo, A., & Piper, F. I. (2011). Intraspecific trait variation and covariation in a widespread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. *New Phytologist* **189**: 259-271.
- Faucon, M. P., Chipeng, F., Verbruggen, N., Mahy, G., Colinet, G., Shutcha, M., ... & Meerts, P. (2012). Copper tolerance and accumulation in two cuprophytes of South Central Africa: *Crepidiorhapon perennis* and *C. tenuis* (Linderniaceae). *Environmental and Experimental Botany* **84**: 11-16.
- Faucon, M. P., Shutcha, M. N., & Meerts, P. (2007). Revisiting copper and cobalt concentrations in supposed hyperaccumulators from SC Africa: influence of washing and metal concentrations in soil. *Plant and Soil* **301**: 29-36.
- Faucon, M. P., Le Stradic, S., Boisson, S., wa Ilunga, E. I., Séleck, M., Lange, B., ... & Mahy, G. (2016). Implication of plant-soil relationships for conservation and restoration of copper-cobalt ecosystems. *Plant and Soil* **403**: 153-165.
- Frérot, H., Hautekèete, N. C., Decombeix, I., Bouchet, M. H., Créach, A., Saumitou-Laprade, P., ... & Pauwels, M. (2018). Habitat heterogeneity in the pseudometallophyte *Arabidopsis halleri* and its structuring effect on natural variation of zinc and cadmium hyperaccumulation. *Plant and Soil* **423**: 157-174.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M. L., Roumet, C., Debussche, M., ... & Neill, C. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637.
- Harper, F. A., Smith, S. E., & Macnair, M. R. (1997). Where is the cost in copper tolerance in *Mimulus guttatus*? Testing the trade-off hypothesis. *Functional Ecology* **11**:764-774.
- Hart, S. P., Schreiber, S. J., & Levine, J. M. (2016). How variation between individuals affects species coexistence. *Ecology Letters* **19**:825-838.
- Harzé, M., Mahy, G., & Monty, A. (2016). Functional traits are more variable at the intra-than inter-population level: a study of four calcareous dry-grassland plant species. *Tuexenia* **36**: 321-336.
- Hoenig, M., & de Kersabiec, A. M. (1996). Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **51**: 1297-1307.
- Ilunga wa Ilunga, E., Séleck, M., Colinet, G., Faucon, M. P., Meerts, P., & Mahy, G. (2013). Small-scale diversity of plant communities and distribution of species niches on a copper rock outcrop in Upper Katanga, DR Congo. *Plant Ecology and Evolution* **146**: 173-182.
- Jain, S. K., & Bradshaw, A. D. (1966). Evolutionary divergence among adjacent plant populations I. The evidence and its theoretical analysis. *Heredity* **21**: 407-441.
- Kawecki, T. J., & Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* **7**:1225-1241.
- Kolbas, A., Kolbas, N., Marchand, L., Herzig, R., & Mench, M. (2018). Morphological and functional responses of a

- metal-tolerant sunflower mutant line to a copper-contaminated soil series. *Environmental Science and Pollution Research* **25**: 16686-16701.
- Lange, B., Ent, A., Baker, A. J. M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., ... & Faucon, M. P. (2016). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* **213**: 537-551.
- Lange, B., Faucon, M. P., Delhay, G., Hamiti, N., & Meerts, P. (2017). Functional traits of a facultative metallophyte from tropical Africa: population variation and plasticity in response to cobalt. *Environmental and Experimental Botany* **136**: 1-8.
- Lange, B., Faucon, M. P., Meerts, P., Shutcha, M., Mahy, G., & Pourret, O. (2014). Prediction of the edaphic factors influence upon the copper and cobalt accumulation in two metallophytes using copper and cobalt speciation in soils. *Plant and Soil* **379**: 275-287.
- Laughlin, D. C., & Messier, J. (2015). Fitness of multidimensional phenotypes in dynamic adaptive landscapes. *Trends in Ecology & Evolution* **30**: 487-496.
- Leempoel, K., Parisod, C., Geiser, C., & Joost, S. (2018). Multiscale landscape genomic models to detect signatures of selection in the alpine plant *Biscutella laevigata*. *Ecology and Evolution*. doi.org/10.1002/ece3.3778
- Lefebvre, C. (1974). Population variation and taxonomy in *Armeria maritima* with special reference to heavy-metal tolerant populations. *New Phytologist* **73**: 209-219.
- Lemke, I. H., Kolb, A., & Diekmann, M. R. (2012). Region and site conditions affect phenotypic trait variation in five forest herbs. *Acta Oecologica* **39**: 18-24.
- Lemke, I. H., Kolb, A., Graae, B. J., De Frenne, P., Acharya, K. P., Blandino, C., ... & Heinken, T. (2015). Patterns of phenotypic trait variation in two temperate forest herbs along a broad climatic gradient. *Plant Ecology* **216**: 1523-1536.
- Lenssen, J. P., Van Kleunen, M., Fischer, M., & De Kroon, H. (2004). Local adaptation of the clonal plant *Ranunculus reptans* to flooding along a small-scale gradient. *Journal of Ecology* **92**: 696-706.
- Linhart, Y. B., & Grant, M. C. (1996). Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 237-277.
- Malaisse, F., Grégoire, J., Morrison, R. S., Brooks, R. R., & Reeves, R. D. (1979). Copper and cobalt in vegetation of Fungurume, Shaba Province, Zaïre. *Oikos* **33**: 472-478.
- Owens, S. J. (1981). Self-incompatibility in the Commelinaceae. *Annals of Botany* **47**: 567-581.
- Pakeman, R. J. (2013). Intra-specific leaf trait variation: management and fertility matter more than the climate at continental scales. *Folia Geobotanica* **48**: 355-371.
- Peng, H., Wang-Müller, Q., Witt, T., Malaisse, F., & Küpper, H. (2012). Differences in copper accumulation and copper stress between eight populations of *Haumaniastrum katangense*. *Environmental and Experimental Botany* **79**: 58-65.
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret Harte, ..., & Cornelissen, J.H.C. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* **61**: 167-234.
- Pfennigwerth, A. A., Bailey, J. K., & Schweitzer, J. A. (2017). Trait variation along elevation gradients in a dominant woody shrub is population-specific and driven by plasticity. *AoB Plants* **9**: plx027. doi: 10.1093/aobpla/plx027
- Potters, G., Pasternak, T. P., Guisez, Y., Palme, K. J., & Jansen, M. A. (2007). Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? *Trends in Plant Science* **12**: 98-105.
- Pourret, O., Lange, B., Bonhoure, J., Colinet, G., Decrée, S., Mahy, G., ... & Faucon, M. P. (2016). Assessment of soil metal distribution and environmental impact of mining in Katanga (Democratic Republic of Congo). *Applied Geochemistry* **64**: 43-55.
- Robson, T. M., Sánchez-Gómez, D., Cano, F. J., & Aranda, I. (2012). Variation in functional leaf traits among beech provenances during a Spanish summer reflects the differences in their origin. *Tree Genetics & Genomes* **8**: 1111-1121.
- Saad, L., Parmentier, I., Colinet, G., Malaisse, F., Faucon, M. P., Meerts, P., & Mahy, G. (2012). Investigating the vegetation-soil relationships on the copper-cobalt rock outcrops of Katanga (DR Congo), an essential step in a biodiversity conservation plan. *Restoration Ecology* **20**: 405-415.
- Sandquist, D. R., & Ehleringer, J. R. (2003). Population- and family-level variation of brittlebush (*Encelia farinosa*, Asteraceae) pubescence: its relation to drought and implications for selection in variable environments. *American Journal of Botany* **90**: 1481-1486.
- Séleck, M., Bizoux, J. P., Colinet, G., Faucon, M. P., Guillaume, A., Meerts, P., ... & Mahy, G. (2013). Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant and Soil* **373**: 455-469.
- Sides, C. B., Enquist, B. J., Ebersole, J. J., Smith, M. N., Henderson, A. N., & Sloat, L. L. (2014). Revisiting Darwin's hypothesis: Does greater intraspecific variability increase species' ecological breadth? *American Journal of Botany* **101**: 56-62.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C. H., Taudiere, A., Fajardo, A., ... & L Dantas, V. (2015). A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters* **18**: 1406-1419.
- Słomka, A., Sutkowska, A., Szczepaniak, M., Malec, P., Mitka, J., & Kuta, E. (2011). Increased genetic diversity of *Viola tricolor* L. (Violaceae) in metal-polluted environments. *Chemosphere* **83**: 435-442.
- Souto, C. P., Premoli, A. C., & Reich, P. B. (2009). Complex bioclimatic and soil gradients shape leaf trait variation in *Embothrium coccineum* (Proteaceae) among austral forests in Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural* **82**: 209-222.
- Stein, R. J., Höreth, S., Melo, J. R. F., Syllwasschy, L., Lee, G., Garbin, M. L., ... & Krämer, U. (2017). Relationships

between soil and leaf mineral composition are element-specific, environment-dependent and geographically structured in the emerging model *Arabidopsis halleri*. *New Phytologist* **213**: 1274-1286.

Valladares F, Matesanz S, Guilhaumon F, Araujo M, Balaguer L, Benito-Garzón M, Cornwell W, Gianoli E, van Kleunen M, Naya DE, Nicotra A, Poorter H, Zavala MA (2014) The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecoogy Letters* **17**: 1351-1364.

Vellend, M. (2010). Conceptual synthesis in community ecology. *The Quarterly Review of Biology* **85**: 183-206.

Vojtkó, A.E., Freitag, M., Bricca, A., Martello, F., Moreno Compañ, J., Küttim M., Kun, R., de Bello, F., Klimešová, J., Götzenberger, L. (2017). Clonal vs leaf-height-seed (LHS) traits: which are filtered more strongly across habitats? *Folia Geobotanica* **52**: 269-281.
<https://doi.org/10.1007/s12224-017-9292-1>

Wellstein, C., Chelli, S., Campetella, G., Bartha, S., Galiè, M., Spada, F., & Canullo, R. (2013). Intraspecific phenotypic variability of plant functional traits in contrasting mountain grasslands habitats. *Biodiversity and Conservation* **22**: 2353-2374.

Wójcik, M., Dresler, S., & Tukiendorf, A. (2015). Physiological mechanisms of adaptation of *Dianthus carthusianorum* L. to growth on a Zn-Pb waste deposit-the case of chronic multi-metal and acute Zn stress. *Plant and Soil* **390**: 37-250.

Discussion générale

Les sols contaminés en éléments traces métalliques (ETM) sont depuis longtemps des situations de choix pour l'étude des processus écologiques et évolutifs (Brady et al 2005, Baker et al 2010). Cependant, la plupart des études se focalisent sur la différence globale de conditions entre les sites métallifères et les milieux environnants, non-contaminés, particulièrement en Europe (p.ex. Harmens et al 1994, Wierzbicka & Panufnik 1998, Zalecka & Wierzbicka 2002, Wierzbicka & Pielichowska 2004, Słomka et al. 2008, Abratowska et al 2012, Migdalek et al 2013, Adamidis et al 2014). Il existe cependant une riche diversité de types de sites métallifères, différant par la nature du métal contaminant mais également par la covariation d'autres paramètres édaphiques pouvant influencer la disponibilité et la toxicité des ETM. D'autre part, à une échelle plus large, la latitude sous laquelle se développe un tel environnement influencera également les conditions locales, la végétation dominante au niveau régional et finalement la végétation pouvant se développer sur les sols riches en ETM. Depuis leur description à la fin du 19^{ème} siècle, les collines de cuivre du Katanga n'ont cessé de fasciner les quelques écologues qui les ont prospectées. Les espèces tolérantes aux concentrations élevées en ETM, la structuration de la végétation, les taxons endémiques ayant une distribution parfois fort restreinte, ainsi que le polymorphisme étonnant de certaines espèces sont des sujets qui jusqu'à aujourd'hui suscitent bien des questionnements. Dans cette thèse, nous tentons d'élucider certains mécanismes écologiques pouvant produire ces patterns.

Au cours des quatre chapitres de cette thèse, nous avons vu que le gradient édaphique développé sur les collines de cuivre est corrélé à d'importantes variations dans la communauté végétale, dans la composition en espèces mais aussi de larges variations des traits fonctionnels, au niveau de la communauté, au sein des espèces ainsi que parmi les populations d'une espèce à large niche. Ces variations peuvent être expliquées en partie par les variations des concentrations en cuivre du sol. Le long du gradient de cuivre la diversité fonctionnelle varie considérablement (Chapitre 1). Les communautés de sol pauvre en cuivre et cobalt arborent une grande richesse et une large dispersion fonctionnelle. Sur ces sols pauvres en ETM les communautés sont dominées par des graminoides de grande taille et des géofrutex. Ces deux formes de vies possèdent des stratégies de conservation des ressources assez marquées. On trouve cependant, dans ces communautés, des petits géophytes et quelques annuelles. C'est en partie la présence de ces autres formes de vie à croissance rapide qui augmente la diversité fonctionnelle locale. Sur ces sols pauvres en ETM, les tissus foliaires contiennent des teneurs en ETM faibles chez toutes les espèces. Ceci démontre l'absence d'espèces accumulatrices sur les sols faiblement enrichis. Enfin on observe sur ces sols faiblement minéralisés une faible coordination fonctionnelle (Chapitre 2), ce qui traduit

l'existence d'un grand nombre de stratégies (=combinaisons de traits) viables. Cette diversité de valeurs et d'associations entre traits fonctionnels permet vraisemblablement la coexistence d'un nombre d'espèces important dans ces communautés grâce à la présence de niches fonctionnelles suffisamment différentes.

Sur les sites fortement contaminés en cuivre et cobalt, la richesse et la divergence fonctionnelle sont plus restreintes (Chapitre 1). Indépendamment, la diversité des combinaisons de traits est également plus faible; il en résulte une plus grande coordination fonctionnelle, c'est-à-dire une plus grande covariation entre traits au sein de la communauté (Chapitre 2). La composition en forme de vie est également différente : au sommet de la colline, les annuelles sont plus abondantes et les géofrutex ont presque complètement disparu (à l'exception de quelques individus de *Triumfetta welwitschii* et *Justicia elegantula* ; Chapitre 1 et 3). Sur les sols les plus contaminés on observe une sur-dispersion des teneurs en ETM foliaires (Chapitre 1). Ceci reflète la coexistence remarquable de deux stratégies opposées de tolérance aux ETM : l'exclusion et l'accumulation. Certaines espèces présentes sur le haut du gradient conservent des faibles teneurs en cuivre et cobalt (*Loudetia simplex*, *Gladiolus ledoctei*) alors que d'autres accumulent des concentrations en ETM dépassant 1000 mg kg⁻¹ dans les feuilles (*Haumaniastrum robertii* : 1700 mg.kg⁻¹ Co, *Pandiaka carsonii* : 1870 mg.kg⁻¹ Cu ; Chapitre 3).

Le long du gradient de cuivre, la proportion de la variance des traits des communautés expliquée par la variation intraspécifique est très faible, la majeure partie de la variation étant due à un remplacement d'espèces possédant des traits différents. Certaines espèces ont des niches très étroites le long du gradient de cuivre alors que d'autres occupent une large gamme de concentrations. Il n'y a cependant pas de corrélation claire entre la largeur de la niche et la plasticité des traits au sein de ces espèces : certaines espèces à large niche montrent des traits extrêmement canalisés alors que d'autres espèces, ne poussant que sur une partie restreinte du gradient, montrent de grandes variations fonctionnelles (Chapitre 3).

Malgré cela, certaines espèces à large amplitude, telles que *Cyanotis longifolia*, montrent une variation fonctionnelle considérable le long du gradient de cuivre (Chapitre 4). Aucun des traits mesurés ne varie de manière similaire pour toutes les populations. Il existe donc vraisemblablement des facteurs influençant la valeur des traits au niveau local, que ce soient des différences génétiques entre populations ou sous-populations sur des portions différentes de chaque colline, de la plasticité phénotypique ou la présence d'autres gradients importants. Ces phénomènes, qui ne sont pas mutuellement exclusifs, trouvent leur origine dans les conditions locales particulières ainsi que dans l'isolement des populations.

Les filtres abiotiques

La variation de la composition floristique, de la valeur moyenne des traits ainsi que la diminution de la diversité fonctionnelle et l'augmentation de la coordination fonctionnelle

semblent tous indiquer la présence d'un filtre abiotique puissant. Ce filtre est attribué, depuis toujours, à la présence d'un gradient de toxicité en cuivre et en cobalt (Duvigneaud & Denaeyer-De Smet 1963, Saad et al 2012, Séleck et al 2013). Il semble en effet évident que la plupart des espèces pouvant se disperser jusque sur les collines sont des espèces adaptées aux conditions dominantes de la région, que ce soient les conditions climatiques ou les particularités des sols tropicaux non-métallifères. Selon le « Species pool concept » (Pärtel 2002), on retrouvera à l'échelle locale une majorité d'espèces adaptées aux conditions dominantes dans la région. Ces conditions dominantes au sud du Katanga sont des sols acides, pauvres en ETM, en phosphore et en calcium, une saison sèche de cinq à six mois et des feux quasiment annuels (Schmitz 1971). On trouve donc sur les collines une majorité d'espèces adaptées à ces environnements et qui sont limitées aux sols peu contaminés en cuivre (voir Pärtel et al 1996, Zobel 1997, Vellend 2016).

Il est remarquable que, en réponse à cette toxicité croissante, la plupart des espèces n'ont pas de réponse plastique pour la majorité de leurs traits ou peuvent même montrer une réponse opposée à la valeur moyenne des communautés. En particulier, le long du gradient de cuivre, la surface foliaire spécifique montre une diminution nette chez quelques espèces (chapitre 3) et chez quelques populations de *C. longifolia* (chapitre 4), alors que la valeur moyenne de traits de la communauté augmente avec le cuivre (chapitre 1). Une augmentation de la masse de la feuille due à une plus grande teneur en ETM est peu vraisemblable car les espèces montrant une diminution de la SLA (chapitre 3) ne montrent pas d'augmentation de l'accumulation de cuivre ni de cobalt. On peut donc conclure à une stratégie de résistance au stress par une croissance plus lente, comme cela est observé dans d'autres environnements riches en ETM (Brady et al 2005). En effet, cette diminution de la SLA intraspécifique est cohérente avec les variations intraspécifiques observées entre sols serpentiniques et sols normaux (Adamidis et al 2014).

La présence de cobalt dans le sol de Fungurume V joue sans doute un rôle structurant sur la végétation, peut-être même aussi important que le cuivre. En effet, même à beaucoup plus faible concentration, il s'accumule dans les feuilles d'un plus grand nombre d'espèces. Parmi les quelques études qui ont testé la tolérance de métallophytes du Katanga au cuivre et au cobalt, on montre une plus grande toxicité de ce dernier (Baker et al 1983, Lange et al 2014, 2018). La corrélation entre la plasticité de la teneur foliaire et la largeur de niche est plus forte pour le cuivre que pour le cobalt (chapitre 3); ceci pourrait être une indication que le cobalt a un effet plus filtrant sur la répartition des espèces. La plupart des espèces pourraient être très peu tolérantes à une augmentation foliaire de la teneur en cobalt. Les espèces à niche étroite qui ont des mécanismes peu efficaces d'exclusion du cobalt, sont incapables de survivre sur des sols fortement contaminés. A contrario, les espèces à large niche peuvent voir leur concentration en cuivre augmenter sans en être intoxiquées. On observe aussi une plus grande accumulation du cobalt par un nombre important d'espèces pouvant indiquer que le cobalt serait plus labile que le cuivre (Lange et al 2016). Cependant, ces résultats doivent être interprétés avec précaution. En effet, les réponses d'accumulation et de tolérance

des espèces peuvent être spécifiques à chaque population (Frérot et al 2017, Lange et al 2017, chapitre 4).

Une des conséquences les plus frappantes de la contamination métallique, est l'absence d'arbres sur les collines, ce qui leur confère un aspect de savane steppique. Ceci est surprenant d'un point de vue de l'assemblage des communautés car on a montré que les géofrutex possèdent approximativement les mêmes valeurs de traits que les arbres du même genre retrouvés au Haut-Katanga (Meerts 2017). L'absence de tolérance aux ETM chez les arbres est un phénomène assez commun, la plupart des sites métallifères étant dépourvus de strate arborescente (Baker et al 2010). L'absence de cette tolérance pourrait être due à des différences dans les temps de génération : il est vraisemblable que les arbres se reproduisent à un âge plus grand que les plantes herbacées. En effet, sur les sites métallifères européens, les arbres qui s'y rencontrent parfois possèdent des stratégies *r* produisant un grand nombre de graines et ayant une maturité sexuelle rapide (*Betula sp.*, *Salix sp.*). Les arbres du Miombo se développent sur des sols assez pauvres en nutriments et leur croissance est limitée par la sécheresse du sol (White 1983). Ces arbres possèdent une stratégie marquée de conservation des ressources, impliquant une croissance lente, et sont probablement, pour certains d'entre eux, des espèces à reproduction tardive. De plus, la plupart des espèces d'arbres dominant la canopée du Miombo sont ectomycorhizées (Ba et al 2012, Bauman et al 2016). L'absence d'arbre sur les collines de cuivre pourrait être la conséquence de l'absence de mycorhizes résistantes à la pollution métallique (Jones et al 1994). L'étude de traits fonctionnels physiologiques de plantules d'arbres transplantées en divers points d'un gradient naturel de cuivre pourrait apporter des informations supplémentaires à ce sujet.

Un des paramètres clés dans l'étude de la niche fondamentale des espèces le long de gradients de toxicité est leur tolérance aux facteurs toxiques. Dans le cas d'une toxicité provoquée par des ETM, les mécanismes physiologiques de la tolérance sont diverses, qu'il s'agisse de l'aluminium (Delhaize et al 1995), du cadmium (Gallego et al 2012), du zinc (Clemens 2001), du cuivre ou du cobalt (Lange et al 2016). En effet, les stratégies de tolérance, mesurées ici comme les concentrations en métal dans les tissus foliaires *in situ*, bien qu'informatives, ne sont pas nécessairement corrélées à la tolérance au métal (Meerts & Van Isacker 1997, Lange et al 2017, 2018). Les traits pertinents de tolérance sont donc vraisemblablement liés aux mécanismes physiologiques de prise en charge des ETM dans la plante. Les teneurs en substances chélatantes (citrate, malate) ou en molécules de signalisation de stress (proline), ou de séquestration de radicaux libres (glutathion) observées chez de nombreuses espèces en réponse au stress métallique pourraient être de bons candidats pour quantifier la tolérance des espèces (p.ex. Hernandez et al 2015). Par exemple, des teneurs en proline constitutivement élevées ont été observées chez des écotypes métallicoles de *Silene vulgaris* mais pas chez les écotypes non-métallicoles (Schat et al 1997). Cependant, le dosage de ces composés est difficile en région tropicale car il doit être réalisé sur du matériel frais. De plus, en conditions naturelles, il reste difficile de séparer les effets

stressants dûs aux ETM de ceux d'autres stress tels que des carences en nutriments ou des stress biotiques (Kishor et al 2005, Verslues & Sharma 2010).

Notons enfin que toute la région est soumise à des conditions climatiques et des perturbations particulières : saison sèche et feu. Ces conditions régionales filtrent également des espèces possédant des traits adaptés à ces conditions. On y trouve donc de nombreux hémicryptophytes et géophytes ainsi que des espèces capables de repousser après le feu (Sarmiento & Monasterio 1983). Cependant, l'intensité des feux, dépendant de la quantité de matière combustible, pourrait également avoir un impact sur la composition de la communauté. La biomasse aérienne importante sur les sols pauvres en ETM pourrait impliquer des feux beaucoup plus intenses que sur la maigre végétation des « steppes ». Nous avons déjà vu que les petites graines produisent des plantules moins compétitives (chapitre 1, Leishman 2003). Mais en plus, les petites graines pourraient être moins résistantes au feu que les graines plus grosses (Bond et al 1999, Lahoreau et al 2006, Escudero et al 2000). Une différence dans l'intensité ou la régularité des feux pourrait donc exercer un filtre au niveau de la taille de la graine, renforçant les différences entre communautés de bas et de haut de pente. Ce mécanisme, qui pourrait être testé expérimentalement, relèverait d'un renforcement positif d'une certaine valeur de trait dans la communauté, sélectionnant des espèces à stratégie de tolérance aux perturbations.

Les interactions biotiques

Les espèces présentes sur la colline de Fungurume V ont des niches réalisées pouvant être très variables. Cette niche « observée » des espèces ne reflète probablement pas uniquement la tolérance ou le besoin physiologique en métal des espèces. Bien qu'il soit vraisemblable que les espèces non-tolérantes soient incapables de se développer sur des sols à forte toxicité métallique, l'absence des espèces de sols contaminés en dehors de ces « îlots » métallifères a toujours intrigué les écologues. Le mécanisme le plus souvent invoqué est une aptitude compétitive limitée et une plus grande sensibilité aux herbivores et aux pathogènes (Hickey & McNeilly 1975, Dechamps et al 2007). Au vu des traits particuliers des espèces des sols enrichis en ETM, cette hypothèse semble plausible : petite taille, petites feuilles, stratégie d'utilisation rapide des ressources nécessitant une abondance d'eau et de nutriments, petites graines produisant des plantules peu compétitives (chapters 1 et 2). Au contraire, les communautés de sols pauvre en ETM sont dominées par des espèces montrant une stratégie de conservation des ressources ainsi que de grosses graines leur conférant un avantage dans des communautés où la compétition est intense malgré une fertilité faible et une teneur en eau limitée dans sol (Moles & Westoby 2003, Funk & Vitousek 2006). Cependant, certaines espèces peu tolérantes pourraient également croître sur des sols à forte toxicité métallique si elles sont capables d'éviter cette toxicité par des interactions de facilitation avec d'autres espèces (voir chapitre 1). En effet, des mécanismes complémentaires de détoxification ou de séquestration des ETM dans le sol pourraient permettre la coexistence d'espèces très tolérantes et peu tolérantes. Cependant, un autre mécanisme pourrait expliquer la

persistance d'espèces peu tolérantes sur ces sols : les espèces « *nurses* ». Nous avons vu que de nombreuses Poaceae étaient des exclueuses d'ETM (Delhay et al 2016). Il en résulte que leur litière (la matière organique morte qu'elles laissent sur le sol) est aussi pauvre en ETM. Cette couche de matière organique, tout comme les touffes compactes de certaines espèces (*Eragrostis racemosa*, *Sporobolus congoensis*), pourraient servir de substrat pauvre en ETM pour certaines espèces de petite taille. Plusieurs expériences de culture sur des sites contaminés en ETM semblent montrer un effet positif de la présence de Poaceae sur l'établissement d'autres espèces (Frérot et al 2006, Boisson et al 2018). De même les espèces hémiparasites (ici les Orobanchaceae, voir tableau en annexe du chapitre 1), pourraient ainsi limiter leur contact direct avec les ETM du sol en captant l'eau et les éléments minéraux dans leurs plantes hôtes exclueuses, et augmenter la diversité fonctionnelle et phylogénétique. Il y a ici un champ d'investigation pratiquement vierge, portant sur les processus de facilitation, sur les sols les plus contaminés.

Nous avons vu que, pour la plupart des espèces et la plupart des traits, la contribution de la variation intraspécifique à la variation des valeurs de traits de la communauté était négligeable le long du gradient de concentration en cuivre (chapitre 3). Cependant, la variation intraspécifique pourrait jouer un rôle beaucoup plus grand dans les interactions biotiques (p.ex. Albert et al 2011, Violle et al 2012, Siefert et al 2015). En particulier, la plasticité phénotypique est reconnue comme un facteur pouvant contrecarrer une trop grande similarité de niche entre espèces, ou au contraire être responsable de l'égalisation de traits de coexistence (Agosta & Klemens 2008, Berg & Ellers 2010). Cependant, les interactions biotiques de compétition et/ou de facilitation ayant lieu à très petite échelle, l'étude fine de ces processus au niveau de la communauté impliquerait des mesures de traits sur une proportion importante des individus de chaque communauté, rendant l'effort d'échantillonnage beaucoup plus important.

Les variations temporelles peuvent également modifier les degrés d'interaction entre individus. En effet, les relations de compétition et de facilitation entre organismes peuvent fluctuer en fonction de variations temporelles de l'environnement (p.ex. climatique) (Tielbörger & Kadmon 2000) ou en fonction de l'état de maturité des individus : l'effet d'une plante adulte sur la végétation environnante est souvent très différent de celui d'un juvénile. Bien que les feux annuels détruisent la biomasse aérienne chaque année (ou presque), l'appareil souterrain est, pour la plupart des espèces, persistant et la compétition peut donc être directement influencée par l'âge des individus. Dans le cas de facilitation, des organismes adultes peuvent avoir un effet plus marqué que des individus jeunes sur les communautés locales qui en dépendent (Losapio et al 2018). Similairement, dans le cas d'espèces « *nurses* », comme les Poaceae qui fourniraient une litière pauvre en ETM, l'âge de la touffe est important car il est corrélé à sa surface. La date d'observation de la communauté est un autre facteur influençant la valeur des traits (Fajardo & Siefert 2016). Ici, les données ont été relevées au milieu de la saison des pluies, mais la physionomie de la végétation est très différente deux mois plus tôt ou plus tard. Dans le même ordre d'idées, la phénologie est

également un élément important pour l'évitement de la compétition et pourrait être prise en compte de manière plus systématique. Cependant, la phénologie, encore plus que les traits quantitatifs qui ont été mesurés ici, pourrait être corrélée à la forme de vie de l'espèce, comme c'est le cas dans de nombreux écosystèmes tropicaux (Ramirez 2002, Castro-Diez et al 2003 mais voir Golluscio et al 2005). Ilunga et al (2015) a également montré sur un échantillon des espèces de la flore du cuivre que les géofrutex commencent leur développement à la fin de la saison sèche, avant les premières pluies. Ainsi, les géofrutex de petite taille (*Cryptosepalum maraviense*, *Helichrysum mechowianum* var. *ceres*) et géophytes (*Pimpinella acutidentata*, *Eulophia* spp.) possédant d'abondantes ressources souterraines commencent leur croissance bien avant la saison des pluies, ce qui leur permet d'éviter une partie de la compétition due à la croissance des grandes graminées sur les sols pauvres en ETM. On peut donc suggérer que c'est la destruction de la biomasse aérienne par les feux qui permet la coexistence de stratégies très contrastées et d'une aussi grande diversité fonctionnelle sur les sols pauvres en ETM (Bond & Keeley 2005). Cette hypothèse pourrait être testée par la mise en protection contre le feu de micro-communautés pendant plusieurs années, en suivant l'évolution de la composition floristique et fonctionnelle.

La covariation entre traits et les formes de vie

Nous avons vu que la coordination entre traits dans l'ensemble des espèces présentes sur une colline de cuivre ne reflète pas les axes fonctionnels classiques observés à l'échelle globale (Diaz et al 2016, Reich 2014). Ceci confirme certains résultats expérimentaux dans des communautés locales (Wright & Sutton-Grier 2012) en particulier en comparant des sites possédant des teneurs en ETM différentes (Adamidis et al 2014). En effet, Adamidis et al (2014) montrent que les associations entre traits répondent de manière idiosyncratique lors du passage d'un sol serpentique à un sol normal, ce qui explique la diversité de stratégies fonctionnelles observées sur sol normal. L'étude des relations entre composantes du phénotype ainsi qu'entre traits et fonction doit donc se faire sur base des espèces présentes dans la communauté locale car les relations entre traits peuvent être plus complexes que les quelques axes indépendants de variation fonctionnelle considérés à l'échelle globale (Messier et al 2017).

Il est néanmoins évident que la variation de l'abondance des formes de vie est un critère clé pour comprendre la variation fonctionnelle de la moyenne ou de la variance des traits dans la communauté. Les quatre formes de vies considérées dans cette thèse (annuelles, géofrutex, graminoides hémicryptophytes et géophytes) montrent des combinaisons de traits différentes : la forme de vie explique 26% de la variance des traits. De plus, nous montrons des patterns de covariation entre traits variables entre formes de vie, ce qui vient appuyer les résultats de plusieurs études récentes montrant des coordinations de traits différentes entre groupes fonctionnels au niveau d'écosystèmes locaux (Osnas et al 2018, Xu et al 2018). On admet souvent que des formes de vies ou des groupes fonctionnels « a priori » (légumineuses, graminoides, géophytes à bulbe, arbres, etc...) possèdent des combinaisons de

traits plus similaires entre eux qu'avec d'autres groupes fonctionnels. Les espèces d'un même groupe fonctionnel joueraient ainsi des rôles assez similaires au sein de la communauté (Lavorel et al 1997, Gross et al 2007). Cependant, l'utilisation de groupes trop « grossiers » dans l'étude des mécanismes d'assemblage nuit à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes, en particulier dans les savanes (Guo et al 2016). En effet, la variation fonctionnelle au sein des groupes peut être importante, ménageant des différences fonctionnelles suffisantes pour permettre la coexistence des espèces (Busso et al 2001, Kos and Poschlod, 2010). Donc, bien qu'une large partie de la variation soit expliquée par ce facteur, et que la variation d'abondance de certaines forme de vie permette d'expliquer une partie importante de la variation des traits le long du gradient, la mesure, l'utilisation et la discussion de traits quantitatifs représentant un continuum de valeurs possibles reste plus précise pour la quantification de processus d'assemblage (Reich et al 2003).

Un des traits qui diffère particulièrement entre formes de vie est la masse des graines, résultat observé également dans d'autres environnements (Leishman et al 1995, 2000, Negoita et al 2016). Dans les différents chapitres j'ai admis que la dispersion n'était pas limitée au sein d'un site, étant donné la petite taille des semences. Cependant, entre les sites, la dispersion pourrait jouer un rôle important pour expliquer les variations d'assemblage. En effet, certaines espèces, et en particulier des endémiques, ne sont présentes que sur certains sites (Duvigneaud et Denaeyer-de-Smet 1963, Malaisse et al 1983, Faucon et al 2010). Cette distribution limitée des espèces peut dépendre directement de leurs valeurs de traits fonctionnels relatifs à la dispersion, et en particulier la masse des graines mais également du mode de dispersion. En effet, les espèces présentes sur un site ne pourront se disperser sur d'autres sites qu'à deux conditions : 1) Qu'elles soient capables de survivre et se reproduire en dehors des sites afin de rejoindre d'autres sites, ou 2) Qu'elles aient des propagules capables de parcourir la grande distance entre les sites.

Les annuelles possèdent des graines beaucoup plus petites que les autres formes de vie, en particulier en comparaison avec les geofrutex (figure 1 du chapitre 2). Il est bien connu que les espèces à petites graines produisent proportionnellement plus de graines pour un effort reproducteur similaire (Moles et al 2004) et sont de meilleures colonisatrices de sites isolés dans l'espace (Dalling et al 1998). De ce fait, la plus grande quantité de graines et le temps de génération plus court des espèces annuelles pourraient en partie expliquer leur capacité à coloniser des milieux plus contaminés, plus isolés ainsi que l'apparition rapide de caractères tels que l'hyper-accumulation.

Ilunga (2015) a montré en effet que les sites secondaires sont colonisés essentiellement par des petites annuelles, et sont dépourvus d'espèces ligneuses. Ce résultat n'est pas particulièrement surprenant étant donné que les annuelles répondent généralement mieux aux perturbations que les plantes ligneuses à longue durée de vie (Stott et al 2010, Garnier et al 2018).

Les sols les plus fortement contaminés des sites primaires sont eux aussi dominés par des espèces annuelles (p.ex. : *Haumaniastrum robertii*, *Bulbostylis pseudoperennis*). Les sols fortement contaminés de la « steppe » pourraient donc être beaucoup plus jeunes que ceux du bas de pente, peut-être à cause d'exploitations artisanales passées des collines. En effet, des traces d'exploitation du cuivre dans la région remontent au 14^{ème} siècle (De Plaen et al 1982). Chez des plantes annuelles ou des petites Poaceae, la vitesse d'apparition de caractères de tolérance est rapide (quelques dizaines d'années) (Ernst et al 2006) et des espèces à petites graines mais ne possédant pas particulièrement de mécanismes de dispersion particuliers peuvent être transportées sur des distances de 12 à 40 km, colonisant ainsi des îles isolées en quelques années seulement (Cain et al 2000). La faible résilience des communautés des sols faiblement minéralisés et le faible pouvoir colonisateur des espèces qui les composent (Ilunga et al 2015) pourraient ainsi expliquer l'essentiel des différences de végétation entre bas et haut de gradient. Les communautés différentes des sols riches et pauvres en ETM pourraient refléter des stades de succession différents. D'autre part, le jeune âge de des communautés de steppe justifierait la faible différenciation entre taxons cuprophytes endémiques et leurs espèces apparentées à large distribution (Faucon et al 2010). Des analyses de proximité phylogénétique entre taxons endémiques et proches parents permettrait de dater leur différenciation ainsi que de comprendre leur répartition. De plus, une datation des sols le long du gradient permettrait de vérifier cette hypothèse originale.

Enfin, toutes les cuprophytes strictes n'ont pas des aires de répartition similaires. Certaines espèces sont présentes sur une grande proportion des sites, y compris sur les sites secondaires les plus récents (*Ascolepis metallorum*, *Haumaniastrum robertii*, *Bulbostylis pseudoperennis*) et sont des espèces à petites graines. Au contraire, des endémiques possédant des propagules plus lourdes (*Commelina zig-zag*, *Lopholaena deltombei*) sont restreintes à un nombre de sites plus faible (Faucon et al 2010, Ilunga et al 2015, Malaisse et al 2016). Ceci met en évidence l'importance des mécanismes de dispersion à longue distance – malheureusement encore peu étudiés (Cain et al 2000) – et l'impact que peuvent avoir certains traits fonctionnels clés sur la dispersion. Afin de comprendre les mécanismes de dispersion des espèces et leur effet sur la constitution des communautés, il serait intéressant d'examiner les corrélations entre la masse des propagules de toutes les espèces des collines de cuivre et l'étendue de leur distribution au sein de l'arc cuprifère. La masse des graines, couplée à la hauteur de la plante (un autre trait influençant très fort la dispersion) semble donc être un trait clé pouvant expliquer la colonisation de ces milieux isolés par des espèces peu compétitives et incapables de survivre dans la matrice forestière, dominante dans la région.

Les stratégies CSR des cuprophytes du Katanga

Dans les années 1970, Grime a proposé un système simple de « stratégies de vie » qui a connu un certain succès en écologie végétale, par sa relative simplicité. Les trois types de

stratégies de vie extrêmes sont la stratégie de dominance (C), de tolérance (S) et rudérale (R) (Grime 1974, 1977). Récemment, une méthode a été proposée afin de localiser chaque espèce dans le triangle CSR sur base de trois traits fonctionnels : la surface foliaire, la teneur foliaire en matière sèche et la surface foliaire spécifique (Pierce et al 2017). La variation de la proportion de ces indices permet de comparer facilement les stratégies de vies des espèces rencontrées dans des conditions environnementales différentes (Li & Shipley 2017). Sur base du logiciel StrateFy (Pierce et al 2017), j'ai calculé les valeurs de composantes CSR de chacune des 72 espèces étudiées dans cette thèse. Ces trois indices ont été utilisés pour calculer une moyenne pondérée de la contribution de chacune de ces trois stratégies dans les 21 communautés composites décrites au chapitre 1 (Figure 1). Sur base du schéma classique d'indices CSR mutuellement exclusifs, on s'attend à observer des espèces possédant une stratégie de tolérance au stress marquée le long de tout le gradient.

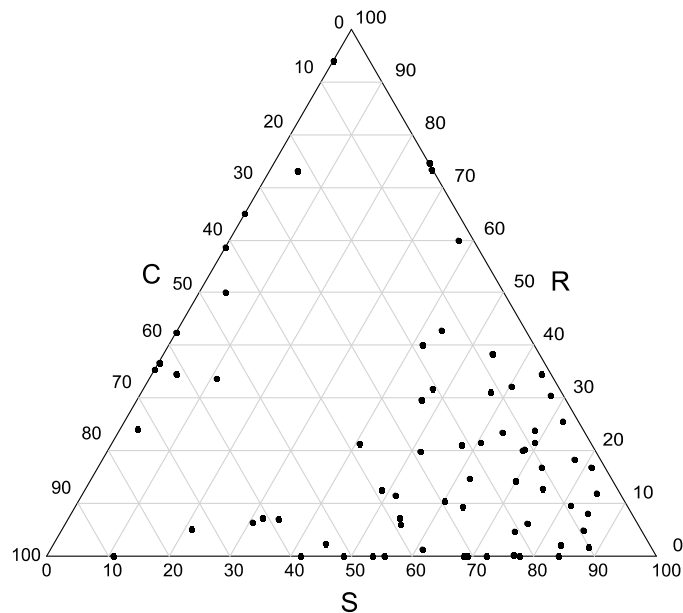


Figure 1: Représentation des 72 espèces étudiées dans le triangle des stratégies CSR. Les valeurs des différentes composantes ont été calculées sur base de la surface foliaire, la surface foliaire spécifique et la teneur en matière sèche. Le nuage de points est nettement décalé vers les valeurs élevées de la composante « S » ; cependant, certaines espèces occupent une position très décentrée, sur l'axe C-R.



Figure 2 : Trois espèces aux stratégies de vie contrastées. *Endostemon dissitifolius* (gauche) à stratégie de tolérance au stress (composantes CSR : 9 ; 86 ; 5), *Eriosema englerianum* (centre) à stratégie de dominance (CSR : 63 ; 30 ; 7), *Oxalis obliquifolia* (droite) à stratégie rudérale (CSR : 6 ; 0 ; 94). Crédit photographique : copperflora.org.

Bien que la composante de tolérance au stress soit marquée chez la majorité des espèces, certaines montrent une composante rudérale importante. Il est intéressant d'examiner les corrélations entre la position des espèces dans le triangle et la teneur en cuivre du sol (figure 3). Les espèces tolérantes au stress diminuent en abondance le long du gradient alors que les rudérales augmentent. On retrouve donc le motif déjà observé de diminution des géofrutex et leur remplacement par les annuelles, même en n'utilisant que 3 traits foliaires (figure 3). Ceci montre que, contrairement à Rosado & de Mattos (2017) qui ne trouvent pas de correspondance entre l'abondance des espèces et leur stratégie CSR dans un habitat où les ressources sont limitantes, les stratégies CSR peuvent mettre en évidence des processus importants ayant lieu au sein de communautés le long de gradients locaux (Li & Shipley 2017). Cette grande variabilité de stratégies rencontrées pourrait être liée à l'étendue du gradient imposant une stratégie optimale différente sur ses différentes parties (Grime & Pierce 2012). Cependant, on remarque quand même que, sur base des stratégies CSR ou sur base des formes de vie, une diversité importante de valeurs de traits est toujours observée. Ceci prouve une fois de plus qu'il existe plusieurs solutions adaptatives à un même stress environnemental (Marks & Lechowicz 2006).

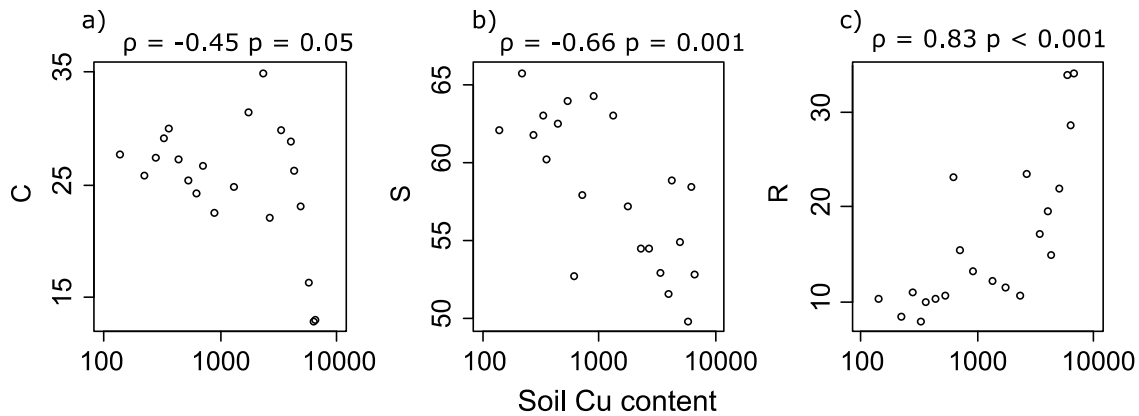


Figure 3 : Variation des abondances (exprimées en recouvrement) des différentes stratégies CSR au sein des communautés locales le long du gradient de cuivre de Fungurume V. L'abondance relative des stratégies C et S diminue alors que celle de la stratégie R augmente lorsque la concentration en cuivre du sol augmente.

La variation des indices de diversité fonctionnelle reflète-t-elle vraiment des mécanismes d'assemblage et la performance des espèces ?

Le lien entre valeur de traits fonctionnel et performance est complexe. On admet généralement que si une valeur de trait est fréquente dans une population c'est parce qu'elle est associée à une valeur adaptative élevée et que les espèces possédant cette valeur de trait sont sélectionnées dans cet environnement (Ackerly 2003). Il en résulte que l'utilisation de moyennes de traits pondérées est maintenant extrêmement courante en écologie (Garnier et al 2004, Garnier et Navas 2013) et a servi de base au développement de modèles prédictifs de la performance des espèces dans certaines conditions (Shipley 2010, Baastrop-Spohr et al 2015). Cependant, alors que certains liens entre traits et processus écologiques commencent à être bien connus et semblent cohérents, tels que les relations entre traits du xylème des arbres et le changement climatique (Aubin et al 2016), les liens entre traits et performance restent éparses et souvent conflictuels dans la littérature.

Les corrélations entre valeurs de traits et conditions environnementales ne mesurent pas l'effet des traits sur la performance des individus (Laughlin & Messier 2015). Le seul moyen d'évaluer le caractère adaptatif d'un trait serait de tester sa valeur par rapport à la démographie de l'espèce qui le porte dans certaines conditions, ce qui a été très rarement réalisé (Adler et al 2013, Muscarella & Uriarte 2016, Garnier et al 2018). Récemment, on a montré que la valeur de la moyenne pondérée d'un trait dans une communauté n'est pas un bon prédicteur de la survie des espèces (Laughlin et al 2018). En effet, cette valeur peut indiquer une valeur intermédiaire non viable entre deux stratégies extrêmes viables. Dans ce cas, l'utilisation de la moyenne pondérée ne se justifierait que lorsque qu'un filtre environnemental ne sélectionnant qu'une unique valeur optimale de trait est présent. Dans

notre écosystème, en particulier sur des sols pauvres en ETM, la présence d'espèces très petites (*Pimpinella acutidentata* : 1cm) et de grandes graminées reflète la coexistence de plusieurs stratégies viables, de sorte que considérer la moyenne de ces traits, même pondérée, n'a que peu de sens écologique. Ainsi, l'utilisation d'indices multivariés, basés sur des distributions de probabilité de traits et embrassant toute la complexité des dimensions phénotypiques serait à préférer (Laughlin & Messier 2015), mais nécessiterait un jeu de donnée beaucoup plus imposant.

D'autre part, l'utilisation d'indices pondérés nécessite de pouvoir quantifier l'abondance de manière non-équivoque, ce qui est rarement réalisé (Legendre et al 1997). La petite taille d'un individu peut être le résultat de contraintes environnementales ou phylogénétiques et donc peut ne pas refléter l'état d'une population par rapport à son succès potentiel. Enfin, l'abondance des espèces fluctue au cours du temps et peut être fortement influencée par des perturbations exceptionnelles (Blonder et al 2017). Par exemple, l'abondance d'annuelles au sommet d'une colline peut être le résultat de perturbations ponctuelles, comme la présence de remblais d'exploitations artisanales observés sur certains sites. Pour ces différentes raisons, l'utilisation de moyennes de traits pondérée, ou même non pondérées, peut être largement biaisée et ne pas refléter des valeurs de traits optimales, ni même viables.

L'estimation des autres indices de diversité fonctionnelle peut elle aussi être biaisée par des phénomènes non contrôlés. Par exemple, plusieurs processus peuvent avoir la même signature fonctionnelle dans la communauté. Par exemple, une convergence fonctionnelle peut résulter d'un filtre environnemental ou d'interactions biotiques amenant à ne conserver dans la communauté que les espèces qui possèdent des valeurs de traits proches d'une valeur optimale (HillierLambers et al 2012, Mayfield & Levine 2010). De plus, certains mécanismes d'interactions biotiques, tels que la compétition intransitive, peuvent ne pas présenter de signature fonctionnelle claire (Gallien 2016) ou nécessiter l'utilisation d'outils analytiques particuliers visant à tester un type de mécanisme bien précis (Ulrich et al 2017). Enfin, le calcul de la moyenne pondérée et des autres indices de diversité fonctionnelle dépend directement du pool d'espèces considéré. En comparant la variation de la moyenne pondérée pour la hauteur aux chapitres 1 et 3, on remarque que cet indice ne varie pas linéairement dans le premier cas alors qu'il y a une variation quasiment significative dans le deuxième. Ceci pourrait indiquer que le sous-ensemble d'espèces choisies au chapitre trois n'est donc pas représentatif de la diversité des fonctions rencontrées le long du gradient. Il est donc recommandé d'avoir des hypothèses claires quant à la variation des traits et surtout vis-à-vis des variables environnementales et des interactions biotiques influençant la communauté (McIntire et Fajardo 2009, HillierLambers et al. 2012) ainsi que de considérer un pool d'espèces suffisant, les espèces rares pouvant apporter des valeurs ou des combinaisons de traits originales (Violle et al 2017).

L'importance de la variabilité intra-spécifique

Dans la communauté, les grandes variations de valeurs de traits au sein d'une espèce n'étaient pas corrélées à une grande largeur de niche réalisée. La largeur de niche des espèces pourrait par contre être due à une plus grande variabilité génétique, sans que cela n'affecte pour autant les traits que nous avons mesurés. Il serait intéressant d'étudier l'étendue de la variation des traits fonctionnels et la diversité génétique des espèces à large niche et de les comparer aux espèces à niche étroite. En effet, une diversité génétique importante semble nécessaire pour qu'un écotype métallicole puisse se différencier au sein d'une espèce (Ernst et al 2006 et références y figurant). On peut donc facilement imaginer qu'une grande diversité génétique soit également à l'origine d'une tolérance importante à une grande gamme de teneurs en métaux du sol. L'un des paramètres importants pour interpréter la corrélation entre largeur de niche et plasticité se trouve au niveau du seuil des valeurs de conditions environnementales au-delà desquelles un stress physiologique est perçu. Par exemple, du point de vue de la physiologie de la tolérance aux ETM, il peut y avoir une plus grande différence entre 10 et 500 mg.kg⁻¹ qu'entre 2000 et 10 000 mg.kg⁻¹ de cuivre dans le sol. Ceci pourrait expliquer la grande largeur de niche de certaines endémiques le long du gradient de cuivre et la niche « étroite » d'espèces pourtant à large amplitude au Katanga ou même en Afrique tropicale. Par exemple, *Schizachirium brevifolium*, une espèce à distribution pantropicale, ou *Pleiotaxis pulcherima*, commune en Afrique tropicale, se retrouvent sur une petite gamme de teneurs en cuivre du sol (490 et 530 mg.kg⁻¹ respectivement). Par contre, *Haumaniastrum robertii* et *Acalypha cupricola*, deux endémiques strictes des collines de cuivre, se retrouvent sur une large gamme de concentration en cuivre dans le sol (4970 et 6645 mg.kg⁻¹ respectivement). Il serait donc intéressant de réaliser une analyse multivariée de comparaison de largeur de niche et de variance de traits sur quelques espèces, idéalement des couples phylogénétiquement proches, contenant une endémique et une espèce à large distribution. Ceci serait fait en considérant explicitement l'ensemble des conditions abiotiques (température, humidité du sol, nutriments, granulométrie) sur lesquelles les espèces se retrouvent. En outre, il s'agirait également de mesurer, l'étendue de la variation des traits des espèces à large amplitude en dehors des collines afin de connaître l'ensemble de l'étendue de leurs valeurs de traits. Enfin, des relevés fins de la position des plantes in situ ainsi que des expériences de co-culture permettraient de tester l'étendue de la variation intraspécifique due aux interactions biotiques.

La variation intra et inter-populations chez une métalphyte facultative

Chez quelques espèces, et en particulier chez *C. longifolia*, on observe une importante variabilité intraspécifique des traits qui est, dans certaines populations, corrélée à la teneur en cuivre du sol. Sur certaines collines, ces variations sont tellement frappantes que Paul Duvignaud avait même décrit un taxon endémique du cuivre : *C. cupricola*. Cependant

Faucon et al (2010) suggèrent que la validité de ce taxon devrait être réévaluée. Ici, nous montrons que toutes les valeurs intermédiaires de valeurs de traits sont présentes le long d'une large gamme de teneurs en cuivre du sol. Malaisse et al (2016) signalent la présence d'une troisième espèce (*C. caespitosa*) sur certaines collines. Bien que cette espèce soit probablement présente, certains caractères observés sur les échantillons considérés ici sont typiques de *C. longifolia* (enveloppe translucide autour de la graine, inflorescence au centre de la rosette de feuille, bractée plus longue que l'inflorescence ; voir Faden 2012). Mais la sélection de caractères taxonomiques est complexe et ceux-ci sont souvent influencés par la plasticité phénotypique des espèces (Davis et al 1983). Ceci s'observe d'ailleurs bien dans la flore du cuivre. De nombreuses espèces décrites dans les années 50 et 60 sont tombées en synonymie avec des espèces courantes (Faucon et al 2010, Malaisse et al 2016). Cependant, cela n'implique pas qu'il ne puisse y avoir de différenciation génétique voir écotypique entre les individus de populations différentes ou des extrémités d'un même gradient (spéciation parapatrique). En considérant les 5 populations de *C. longifolia*, les individus les plus différents morphologiquement des *C. longifolia* originaires de sols non contaminés se rencontrent à des valeurs intermédiaires de cuivre et cobalt dans le sol. D'autre part, il est remarquable que la population la plus différente des autres (Kinsevere, chapitre 4) se développe sur une colline quasiment dépourvue de cobalt. On peut donc suspecter que le cobalt jouerait un rôle important dans le déterminisme des valeurs de traits, que ce soit par plasticité phénotypique ou par sélection de génotypes différents (Lange et al 2016, 2017, 2018). Des études plus détaillées devraient être entreprises afin de débrouiller l'origine génétique ou due à la plasticité phénotypique des variations observées. De même, une piste prometteuse serait de chercher à comprendre l'influence du cobalt sur les valeurs de traits au niveau intraspécifique chez un grand nombre d'espèces (voir Lange et al 2017, 2018). On remarque donc que des travaux de taxonomie moléculaire sont nécessaires afin de clarifier les limites de différents taxons. En effet, l'existence de micro-espèces dont les traits fonctionnels se recouvrent, pourrait ici considérablement compliquer l'interprétation des résultats.

Les teneurs en cuivre et cobalt des plantes sont, elles aussi, très variables et assez mal expliquées par les teneurs en ETM du sol (Chapitre 4). En effet, les teneurs en ETM peuvent dépendre de la capture d'autres éléments dans le sol et de leur concentration dans les tissus foliaires (Kabata-Pendias 2010, Waters & Armbrust 2013, Kabeya 2016). De plus, les variations populations-dépendantes peuvent être dues à des différences de tolérances induites par des mycorhizes ou des bactéries du sol (Sun et al 2010, Lenoir et al 2016), pouvant elles-mêmes être influencées par les conditions édaphiques locales (Burns et al 2015, Bauman et al 2016). Une quantification des teneurs en nutriments dans la plantes et de leur covariation avec les concentrations retrouvées dans le sol et les concentrations foliaires en Cu et Co permettrait peut être de mieux comprendre les équilibres chimiques pouvant influencer la tolérance.

Bien que les analyses univariées utilisées pour mesurer la proportion de la variance des traits expliquée par le cuivre du sol (chapitre 4) soient porteuses d'information importante, il faut garder à l'esprit que les traits ne sont pas indépendants entre eux et font partie d'un phénotype complexe et intégré (Westoby et Wright 2006, Kraft et al. 2015, Laughlin et Messier 2015). De plus, d'autres paramètres édaphiques peuvent influencer la valeur des traits directement ou indirectement, notamment en influençant la toxicité du cuivre et du cobalt. Une méthode pouvant être appliquée est d'étudier la proportion de la variance de tous les traits expliquée par le facteur population à l'aide d'une analyse de la variance multivariée (MANOVA) et par toutes les variables environnementales simultanément à l'aide d'une analyse d'ordination contrainte (par ex. analyse de redondance, RDA).

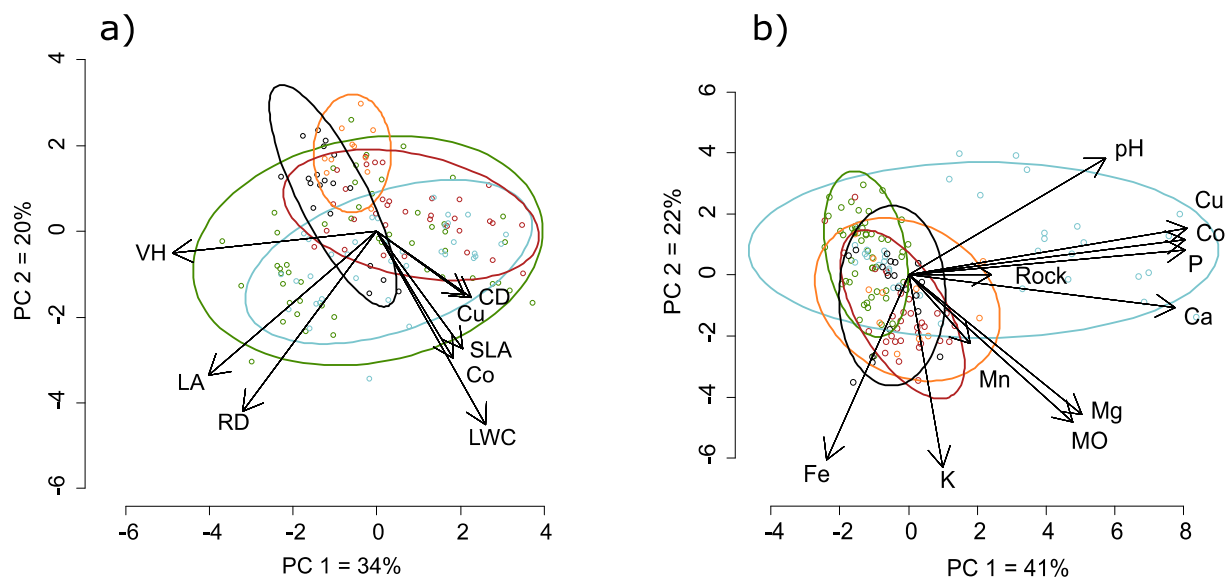


Figure 4: Analyse en composantes principales des traits (a) et des paramètres édaphiques (b) des 5 populations de *C. longifolia* étudiées au chapitre 4. Codes couleurs : bleu : Fungurume, orange : Kinsevere, noir : Zikule, vert : Goma, rouge : Orthodoxe. Nombres d'échantillons par population et code des traits et paramètres édaphiques, voir chapitre 4. Les ellipses représentent la distribution de probabilité de 95% des points.

Dans une ACP sur les traits des plantes, les deux premières composantes expliquent respectivement 34, 20 et 17% de la variance totale (figure 4a). La PC1 est corrélée à la hauteur, la PC2 est corrélée à la surface foliaire et la profondeur racinaire et la PC3 est corrélée à la surface foliaire spécifique et à la concentration foliaire en cuivre. Bien qu'il existe une variabilité intra-populationnelle importante, les différents sites occupent des portions de l'espace de trait contrastées, ce qui se vérifie statistiquement (PERMANOVA ($F=9.64$, $R^2=0.21$, $p=0.0001$)). Dans l'analyse en composante principale sur les paramètres de sol, on observe que la première composante explique 41% de la variance et est corrélée au Cu, P, Ca et Co. La composante 2 représente 22% de la variance est corrélée au Fe et Mg (figure 4b). Les différences entre populations sont significatives (PERMANOVA $F=15$, $R^2=0.30$, $p<0.001$).

L'analyse des corrélations multivariées entre traits et paramètres édaphiques (RDA) donne un modèle global significatif, testé sur base de la permutation des résidus du modèle (Anderson & Legendre 1999). Le modèle global permet d'expliquer 34.5 % de la variance totale du jeu de donnée de traits (R^2 ajusté, Peres-Neto et al. 2006). La RDA globale présente 4 axes significatifs ($p_{perm} < 0.001$). Après avoir sélectionné les facteurs qui contribuent significativement à la RDA à l'aide d'une « forward selection » avec double critère d'arrêt (Blanchet et al. 2008), on obtient une sélection de 5 facteurs significatifs qui expliquent 27.2% de la variabilité : la teneur en cuivre, en gravier, en manganèse, en magnésium et en calcium du sol (par ordre de R^2 ajusté décroissant). Le cuivre et la teneur en gravier du sol expliquent à eux seuls 19% de la variabilité du jeu de donnée. Il semble donc que tous ces paramètres puissent influencer la variation fonctionnelle. Des études plus détaillées, prenant en compte un plus grand nombre d'individus et surtout de sites, permettrait de découpler précisément l'effet de ces différentes variables sur la variation des traits fonctionnels.

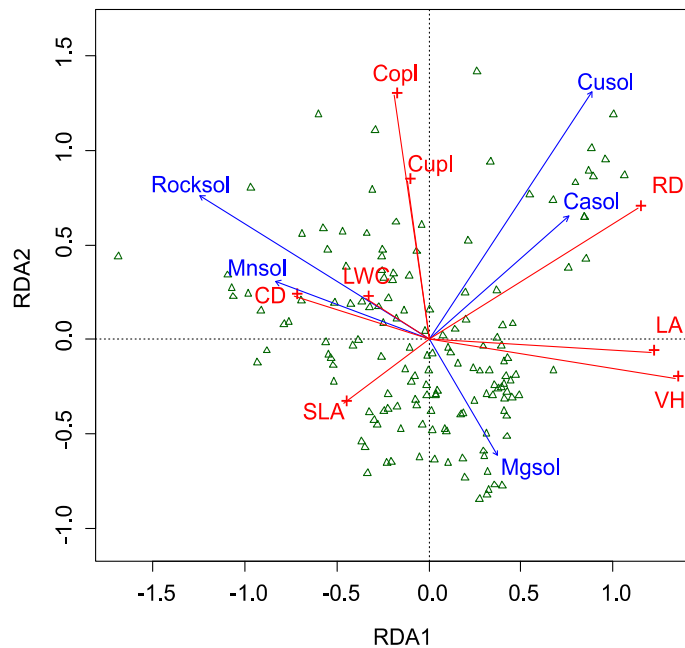


Figure 5 : représentation de l'analyse de redondance (RDA) sur les 5 paramètres édaphiques expliquant 27% de la variance des traits fonctionnels. Chaque point représente un individu. Les traits sont représentés par les vecteurs rouges et les paramètres édaphiques par les vecteurs bleus. Voir chapitre 4 pour les abréviations des traits et paramètres édaphiques.

En particulier, on voit sur la figure 5 que la surface foliaire spécifique est corrélée négativement, et les teneurs en cuivre et cobalt foliaires ainsi que la profondeur d'enracinement sont influencés positivement par la concentration en cuivre du sol (voir aussi chapitre 4). Il faut cependant garder à l'esprit que les concentrations du sol en phosphore et cobalt sont fortement corrélées à la concentration en cuivre. La diminution de la SLA semble expliquée uniquement par la concentration en cuivre du sol, bien que la relation soit faible

(voir chapitre 4). Un autre résultat intéressant est la relation négative entre la teneur en gravier et la hauteur et la surface foliaire, ainsi que la relation positive (faible) avec la teneur foliaire en eau. Bien que dans le chapitre 3 on observe sur la colline de Fungurume V une corrélation positive entre teneur en eau, en gravier et la concentration en cuivre du sol, ces corrélations pourraient ne pas être vérifiées sur tous les sites. Sur d'autres sites, l'augmentation de la teneur en gravier pourrait au contraire correspondre à des sols plus drainants et favoriser un syndrome de résistance au stress hydrique de certaines espèces à large amplitude (diminution de la taille et augmentation du stock d'eau foliaire). Ces résultats pourraient être confirmés en échantillonnant une plus large gamme de sites afin d'obtenir une plus grande diversité de combinaisons de paramètres édaphiques.

Dans une expérience préliminaire de culture en jardin commun, nous avons tenté de mettre en évidence une différence de tolérance et de valeurs de traits fonctionnels de différentes populations et sous populations de *Cyanotis longifolia* (définies par rapport à leur position sur le gradient de cuivre *in situ*) en fonction des teneurs en cuivre du substrat expérimental : témoin, 100 ou 500 mg.kg⁻¹ (Protocole et résultats en annexe 5). Sur base des résultats de cette expérience préliminaire, on peut suspecter qu'une partie de la variation des valeurs de traits observée le long du gradient est associée à des différences génétiques ou épigénétiques. Les espèces poussant sur les sols les plus contaminés de deux collines semblent en effet montrer un phénotype différent des autres en culture. De plus, les différences de traits observées entre traitements sont visiblement dues à une survie différente des plantes provenant de sous-populations différentes (comparer figure 3b et c dans l'annexe 5), ce qui conforte l'idée d'une tolérance différente en fonction de l'origine édaphique des graines. Cependant, les faibles effectifs de cette expérience (n=64) ne permettent pas l'utilisation de tests statistiques confirmatoires des patterns observés. Une expérience de plus grande échelle devrait donc être entreprise afin de vérifier ces résultats.

La variation phylogénétique et le conservatisme des traits

Parmi les espèces considérées pour l'analyse de la variation des traits le long du gradient d'ETM, nous avons trouvé un taux de conservatisme phylogénétique très faible et généralement non-significatif (chapitre 1). Bien que les processus évolutifs soient potentiellement importants dans de nombreux systèmes à grande échelle (Cavender-Bares et al 2009), nos résultats sont dans la lignée d'autres études montrant un effet de filtre important sur les traits et une faible contribution de la composante phylogénétique à l'assemblage des communautés (Milla & Reich 2011). L'observation conjointe d'une convergence fonctionnelle et d'une sur-dispersion phylogénétique, met ainsi en avant la versatilité des traits mesurés dans la phylogénie. Cependant, Hardy & Pavoine (2012) montrent que les valeurs du paramètre K de Bloomberg utilisé ici peuvent être biaisées lorsqu'on ne prend pas en compte la variabilité intraspécifique des traits. Mais ici, rien ne permet de suspecter que les traits mesurés devraient être conservés. Comme les espèces présentes sur les collines de cuivre sont phylogénétiquement proches d'autres espèces dans la

région, on s'attend théoriquement, au sein de chacun des clades considérés, à une grande variabilité des traits à l'échelle régionale. Ainsi, les patterns de conservatisme phylogénétique agissent généralement à une autre échelle ou sur des traits différents. En effet, les traits d'interactions avec les herbivores, comme la présence de substances chimiques de défense, sont généralement bien conservés (Agrawal 2007, Winkler & Mitter 2008). En ce qui concerne les traits de tolérance, ils ne semblent pas présenter de conservatisme phylogénétique, au vu de la grande diversité phylogénétique sur les sites les plus contaminés. Ceci confirme que la tolérance des populations ou taxons métallicoles apparaît au cas par cas, sur base de la flore régionale. Il est également fortement suspecté que le caractère accumulateur de certains genres pourrait être conservé phylogénétiquement, notamment dans la flore européenne comme dans le genre *Alyssum* (Jansen et al 2003, Mengoni et al 2003 mais voir Cecchi et al 2010). Cependant, rien dans notre échantillon d'espèces ne laisse penser qu'il pourrait y avoir un conservatisme des traits d'accumulation ou d'exclusion sur base de nos analyses. Un autre moyen de tester cette hypothèse serait de tester le conservatisme des traits d'accumulations sur l'ensemble de la flore de la région, y compris celle des sites non métallifères, en utilisant plusieurs modèles de conservatisme des traits. Ceci permettrait de vérifier si des similarités, voir même des phénotypes intermédiaires, sont détectés (voir Baker et al 1983).

Enfin, certains auteurs avancent que les études de traits sont biaisées par la non-indépendance des espèces (conservatisme de traits au sein de la phylogénie, ou autocorrélation phylogénétique ; Diniz-Filho et al 2012). Ceci a mené à de nombreuses méthodes de correction, la plus commune étant l'utilisation de contrastes phylogénétiquement indépendants (PIC, Felsenstein et al 1985). Plus récemment, des méthodes de complexité croissante on tenté de décomposer l'information contenue dans les traits et la phylogénie en une partie « fonctionnelle pure », « phylogénétique pure » et une partie commune (Diniz-Filho et al 2012, de Bello et al 2017). Cependant, dans de nombreux cas, la correction des valeurs de traits par la phylogénie peut s'avérer inutile, voir néfaste à la mise en évidence de certains mécanismes indépendants de l'évolution des espèces (de Bello et al 2015). Pour l'étude de la caractérisation fonctionnelle et la compréhension des mécanismes d'assemblage des communautés à des échelles de temps écologiques, il vaut généralement mieux considérer les indices phylogénétiques comme des informations complémentaires, en considérant le degré de conservatisme des traits utilisés (de Bello et al 2015), comme cela a été fait ici.

Les endémiques – la rareté fonctionnelle ?

La richesse en endémiques augmente avec la teneur en ETM du sol (Duvigneaud & Denaeayer de Smet 1963, Faucon et al 2010). On peut donc se demander si les endémiques possèdent des traits particuliers en comparaison avec le reste de la flore du cuivre. La question de savoir si les espèces à distribution restreinte ont des traits particuliers peut être reformulée comme suit : les traits des endémiques sont-ils redondants ou originaux en comparaison avec ceux

des espèces à plus large distribution (Mouillot et al 2013, Violle et al 2017) ? Notre travail apporte des données permettant d'aborder cette question. Sur un échantillon de 91 espèces de la flore du cuivre, 10 traits ont été mesurés et les valeurs manquantes ont été inférées par la méthode détaillée au chapitre 2. Ensuite, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée et les distances de chaque espèce au centre de l'ACP ont été calculées en multipliant la valeur absolue de la projection de chaque point sur les axes par la valeur propre de chaque axe. En comparant ces distances entre endémiques et non endémiques, on observe que les endémiques ont des traits qui se trouvent à la périphérie du nuage de points (t-test par permutation $t=2,59$, $n_{perm} = 999$, $p = 0.011$, figure 6). Les espèces endémiques montrent donc une originalité plutôt qu'une redondance fonctionnelle, et en particulier, des valeurs de traits plus extrêmes que les plantes à large distribution. Ceci semble cohérent avec les résultats d'études précédentes montrant que les espèces rares à l'échelle régionale sont originales d'un point de vue fonctionnel (Leitao et al 2016).

Cependant, une fois de plus, l'absence de prise en compte de la variabilité intraspécifique peut biaiser ce résultat. Il serait dès lors intéressant d'étudier, à grande échelle, la variabilité phénotypique et génétique des espèces endémiques en comparaison avec leurs congénériques à large distribution afin de minimiser l'effet du conservatisme phylogénétique des traits (Lavergne et al 2003, 2004, Totté et al 2015). Lange et al (2017) montre en effet que chez *A. chinensis*, l'étendue de la variabilité due à de la plasticité phénotypique est plus petite chez les populations métallicoles que chez les populations d'habitats non métallifères. Ils suggèrent d'ailleurs que cette capacité à canaliser les valeurs de traits serait un mécanisme permettant la survie sur des sols aux conditions originales. Cette hypothèse pourrait être testée sur base de couples d'espèces congénériques endémiques/non-endémiques (exemples : *Haumaniastrum robertii*/*H. katangense*, *Ascolepis metallorum*/*A. protea*, *Silene cobalticola*/*S. burchelii*).

Une hypothèse complémentaire intéressante à tester est que les endémiques, même si elles ne possèdent pas nécessairement une variance de traits plus restreinte, auraient un phénotype plus intégré, c'est à dire une coordination fonctionnelle plus forte que les espèces à large distribution (Hermant et al 2013). Dans notre cas, cette hypothèse mériterait d'être creusée car elle pourrait refléter des compromis forts entre la stratégie de tolérance aux ETM et les traits d'acquisition ou de conservation des ressources, montrant ainsi un coût de l'adaptation aux sols hautement contaminés ou un besoin en ETM particuliers (Maestri et al 2010).

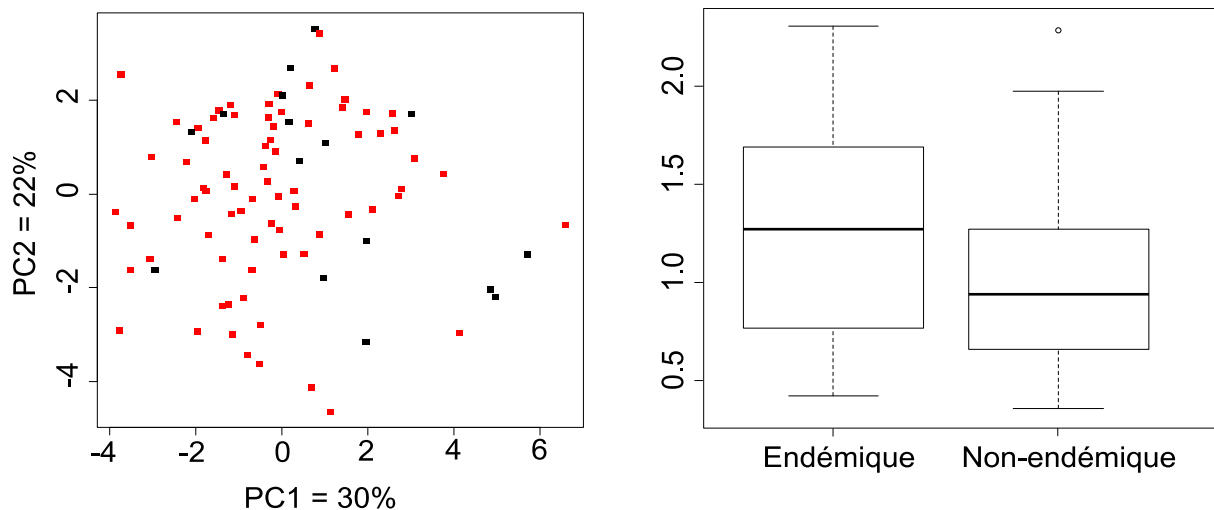


Figure 6 : a) Biplot des deux premières composantes de l'analyse en composantes principales sur les 14 traits considérés pour 91 espèces récoltées sur les sites de Fungurume et Kabwelunono. En rouge, les espèces à large distribution, en noir, les espèces endémiques. b) Boxplot comparant les distances des espèces au centre de l'ACP pour les endémiques et les non endémiques (perm t-test = 2.59, $p = 0.01$). Les espèces endémiques semblent occuper la périphérie de l'espace de la variation fonctionnelle.

Comment mettre en évidence les mécanismes d'assemblage dans une communauté ?

Selon Kraft & Ackerly (2014), l'étude de gradients naturels est une des étapes nécessaires à la compréhension des mécanismes d'assemblage mais ne permet généralement pas d'affirmer avec certitude que les motifs observés sont bien dus à un mécanisme en particulier. Une expérience de co-culture d'espèces, considérant 3 facteurs croisés, permettrait sans doute d'éclaircir la situation. En considérant plusieurs espèces du bas, du centre et du haut de gradient (facteur 1 : position sur le gradient) en culture pure et en co-culture (facteur 2 : association) sur des sols de ces trois zones (facteur 3 : origine du sol), il serait possible de mettre en évidence et de quantifier l'effet de la compétition ou de la facilitation intra et interspécifique, l'effet des paramètres édaphiques (filtre abiotique) ainsi que l'interaction entre ces deux facteurs. On peut ainsi tester plusieurs hypothèses de travail. *Hypothèse 1* : Les espèces du haut de gradient sont capables de survivre sur les sols contaminés et non-contaminés en culture pure ou associées avec d'autres espèces de la même zone d'origine. Ceci démontrerait une équivalence fonctionnelle voire de la facilitation en cas d'amélioration de la performance. Si elles ne sont pas capables de survivre sur des sols non-contaminés en culture pure on peut supposer qu'elles nécessitent une teneur élevée en ETM pour accomplir des fonctions physiologiques particulières ou comme défenses contre les herbivores (p.ex. Faucon et al 2012, Chipeng et al 2010, Kabeya et al 2018). *Hypothèse 2* : Les espèces de sols pauvres en Cu se développeraient probablement bien sur des pauvres en ETM mais seraient incapables de se développer et/ou de se reproduire sur des sols riches en ETM à cause d'un

manque de tolérance à la toxicité métallique. *Hypothèse 3* : La co-culture d'espèces du bas et de haut de pente sur des sols dépourvus d'ETM montrerait la dominance des espèces provenant de sols pauvres en ETM et l'exclusion compétitive des espèces de sol hautement minéralisés et leur coexistence pourrait être possible à des valeurs intermédiaires en ETM grâce à une diminution de la performance des non tolérantes.

Ces modèles expérimentaux permettraient également de mettre en évidence certains traits importants pour la coexistence, notamment via l'utilisation de traits adéquats (Mlambo 2014) et la prise en compte des axes importants de diversité fonctionnelle par l'intermédiaire de relations entre traits (Yang et al 2018). En particulier, la recherche de « soft traits » directement corrélés à la tolérance pourrait être entreprise plus facilement dans des conditions expérimentales. Cependant, la manipulation des paramètres environnementaux est complexe et aboutit souvent à la modification de paramètres non voulus. Par exemple, la modification d'un paramètre du sol (teneur en ETM) peut influencer la disponibilité en nutriment, ou modifier l'équilibre microbiotique du sol. De même, la culture en pots est souvent peu représentative des conditions de terrain. Cette approche pourrait donc être complétée par une expérience d'implantation *in situ* d'espèces possédant des traits variés dans des communautés dont les valeurs optimales de traits sont différentes. Ceci permettrait de tester la performance d'espèces dont les traits sont proches ou éloignées des valeurs moyennes ou des optima locaux des traits de la communauté (HilleRisLambers et al 2012).

Le développement de modèles représentant l'aspect multidimensionnel de la niche des espèces et de son effet direct sur la performance en est encore à ses balbutiements mais promet des résultats intéressants et mérite d'y focaliser des efforts importants (Laughlin & Messier 2015, Maynard et al 2015). Des traits dépendants du contexte de l'étude et l'échantillonnage à très fine échelle (quelques centimètres) des individus et de leur micro-environnement (p.ex. sol de la rhizosphère, voir chapitre 4) sont nécessaires pour mieux caractériser les interactions de proximité entre individus et prédire le fonctionnement et la dynamique de la communauté au niveau local (Blonder et al 2018). Cependant ces modèles nécessitent la récolte de grands jeux de données prenant en compte l'ensemble de la variabilité fonctionnelle des espèces et une approche centrée sur l'individu. Similairement, des modèles de répartition spatiale et de distribution de valeurs de traits dans l'espace à petite échelle pourraient apporter une information complémentaire aux approches utilisées ici (Wiegand and Moloney 2014, Velazquez et al. 2016, Bauman 2018). Un effort de synthèse considérable reste à produire afin de dégager quelques réponses claires et généralisables des mécanismes expliquant la variation de la compositions en espèces sur base des traits fonctionnels (Funk et al 2017) en particulier en étudiant les variations démographiques des populations d'espèces en fonction des conditions environnementales (HilleRisLambers et al 2012, Adler et al 2013, Garnier et al 2018).

La restauration des écosystèmes

La végétation des collines de cuivre est extrêmement menacée par l'industrie minière. De nombreux efforts ont été entrepris afin de conserver ce patrimoine biologique exceptionnel, avec des résultats variables (Faucon et al 2016, Le Stradic et al 2015). Parmi les méthodes utilisées, le transfert de « blocs » de végétation semblent donner des résultats assez prometteurs, en particulier pour les communautés de savane. Ceci semble cohérent avec le fait que les espèces sont adaptées à leur sol d'origine mais également aux individus voisins, en particulier sur les sols les plus pauvres en métaux ou les interactions biotiques semblent particulièrement fortes. L'importance limitée des interactions biotiques, par rapport à la tolérance à la toxicité métallique, des espèces de steppe pourrait expliquer le meilleurs succès du transfert de sol de surface pour les communautés de sol riche en cuivre (Le Stradic et al 2015).

Par contre, certaines espèces semblent ne pas tolérer la transplantation par bloc. Il s'agit essentiellement des géofrutex, qui possèdent des appareils racinaires très profonds. En effet, chez certaines espèces, les racines pivotantes ont été mesurées à une profondeur bien supérieure à 1m50 (p.ex. *Basananthe kisimbae*, *Vernonia sp.*). Il en résulte qu'une proportion trop importante de l'appareil racinaire a été détruite à la transplantation pour permettre la reprise de ces espèces. Ceci est particulièrement problématique dans la reconstitution des communautés de sols modérément riches en cuivre (savane) où les géofrutex représentent une proportion importante de la végétation et structurent la communauté (chapitre 1 et 2). Afin de conserver ces espèces dans les communautés, on peut penser à deux solutions : la transplantation d'individus matures isolés en collectant une grande partie de l'appareil racinaire ou le semis. La première technique est exigeante en temps et en énergie, en particulier pour reconstituer des communautés possédant les mêmes proportions de géofrutex (jusqu'à 70% du recouvrement). De nombreuses espèces montrent en effet de potentiels de germination intéressants, permettant de cultiver des plantules en pépinière jusqu'à leur maturité et une transplantation au sein des communautés. Cependant certaines de ces espèces (*Pleiotaxis rogersii*, *Diplolophium zambesianum*, *Dicoma anomala*) montrent également un potentiel germinatif très faible en culture, ainsi qu'une perte presque totale de pouvoir germinatif après quelques mois voire quelques semaines (Godefroid et al 2013, Sylvain Boisson, comm. pers.). Le semis en place pourrait donc s'avérer être une méthode possible, permettant aux graines et plantules de se trouver dans les conditions naturelles. En particulier, des graines récoltées au sein même des populations à conserver, pourraient améliorer l'établissement d'écotypes adaptés aux conditions abiotiques et aux interactions biotiques locales (Broadhurst et al 2008). La méthode idéale de conservation devrait donc s'étudier au cas par cas.

Plus généralement, le succès d'un processus de restauration dépend de très nombreux facteurs et il est extrêmement complexe, voire illusoire de vouloir conserver les communautés en l'état, c'est-à-dire avec les mêmes compositions en espèces (Hobbs et al 2009). Une

approche moderne de la conservation se base donc sur la diversité fonctionnelle des communautés qui est un meilleur indicateur des propriétés des écosystèmes (services écosystémiques) et de leur résilience potentielle, que l'identité taxonomique des espèces qui la composent (Laughlin 2014). Par exemple, des effets de priorités (van de Voorde et al 2011, Van der Putten et al 2015) peuvent produire des communautés très différentes en fonction de l'ordre d'arrivée des espèces mais contenir une diversité fonctionnelle similaire, leur conférant une fonction comparable (Fukami et al 2005). Le remplacement d'espèces difficile à conserver par d'autres possédant des combinaisons de traits proches et poussant sur des conditions similaires serait donc à privilégier plutôt que de laisser des niches libres (Funk et al 2008). En effet, la colonisation des communautés restaurées ou de substitution par des espèces rudérales, par effet de masse ou grâce à une tolérance suffisante de ces espèces aux nouvelles conditions, pourrait empêcher la reprise de certaines espèces et encore diminuer les chances de récupération d'un état fonctionnel initial. On remarque en effet l'absence de certaines grandes graminées dans les écosystèmes de substitution (*Loudetia simplex*, *Tristachya bequartii*) et l'apparition d'autres espèces, aux caractéristiques morphologiques proches mais absentes des sites de référence (Le Stradic et al 2015).

Nous avons vu également que la plupart des espèces montrent des variations de traits assez restreintes (chapitre 3). Ceci est certainement à mettre en rapport avec la niche assez étroite de la majorité de ces espèces le long du gradient de cuivre. Jusqu'à présent, les efforts de translocation de carpettes de végétation se sont focalisés sur 2 communautés contrastées : la steppe de haut de pente et la savane de bas de pente (Le Stradic et al 2015). Afin de reconstituer des communautés proches de leur état de référence, il serait donc intéressant de reproduire autant que possible un gradient complet, sans quoi certaines espèces aux niches très étroites pourraient ne pas survivre.

Enfin, certaines espèces peuvent montrer des variations de traits considérables au sein d'une population mais également entre populations. Ces variations pouvant être d'ordre génétique, il est fortement conseillé de conserver cette diversité de phénotypes en conservant des individus de plusieurs sites. Cette diversité génétique potentielle pourrait en effet être utile à ces espèces afin de s'adapter à de futurs changements dans leur environnement, mais est également nécessaire au bon fonctionnement de nombreux processus favorisant la coexistence (Hughes & Stachowicz 2004). Cependant, ces différentes populations devraient, idéalement, être conservées sur leurs sols d'origine et au sein de leurs communautés respectives, car elles pourraient être adaptées à leur environnement local. De plus, un nombre suffisant d'individus de chaque site doit être conservé afin d'éviter les effets néfastes d'une trop grande consanguinité. Enfin, les différentes populations conservées devraient être isolées par une distance suffisante, de la même manière que le sont les collines actuelles dans le paysage, afin d'éviter les croisements entre population, qui pourraient diminuer la fertilité ou la tolérance aux conditions locales, et donc la survie de l'espèce (Hufford & Mazer 2003, McKay et al 2005).

Enfin, en plus des teneurs du sol en cuivre et cobalt qui sont parmi les facteurs les plus structurants des communautés, d'autres caractéristiques des collines de cuivre devraient être considérées lors de la mise en place d'écosystèmes de substitution. En particulier, les teneurs en nutriments ainsi que le pH ou la pente peuvent jouer un rôle dans l'établissement de certaines espèces. Par exemple, des sols possédant une rétention d'eau suffisante pendant toute la saison de croissance sont nécessaires à l'établissement des espèces annuelles sur les sols les plus riches en cuivre. La composition chimique du sol de profondeur pourrait également jouer un rôle important dans la conservation à long terme des géofrutex possédant un appareil racinaire profond. Finalement, les feux quasiment annuels devraient être maintenus dans les écosystèmes de substitution. Ils jouent un rôle important dans la structuration de la végétation et permettent sans doute la coexistence de stratégies fonctionnelles variées. Par exemple, en nettoyant la surface du sol de manière non sélective (Bond & Keeley 2005), les feux permettent aux espèces à croissance lente, telles que les géofrutex, de mettre en place leur appareil aérien très tôt dans la saison, lorsqu'il n'y a pas de compétition, favorisant ainsi la coexistence de nombreuses stratégies de vie.

Conclusion

L'observation de la variation de traits fonctionnels le long d'un gradient d'ETM est une première approche intéressante car elle permet de suspecter la présence de mécanismes antagonistes aux deux extrémités du gradient : une compétition intense sur les sols pauvres en métaux et un filtre environnemental sur les sols les plus fortement contaminés. Elle permet de mettre en évidence des traits d'occupation de l'espace, d'utilisation des ressources, de compromis reproductifs ainsi que des stratégies de tolérance qui varient le long de gradients d'ETM, ainsi que les paramètres environnementaux qui influencent la composition de la communauté. Cependant, cette approche assez descriptive ne suffit pas. Il est nécessaire de concentrer les futurs efforts sur les liens entre patterns de répartition d'espèces, de composition phylogénétique et fonctionnelle avec les mécanismes théoriques d'assemblage des communautés. Une approche expérimentale, comprenant à la fois la manipulation de communautés *in situ* et des cultures en conditions semi-contrôlées, permettrait de tester les hypothèses émises sur base des patterns observés ici. Cependant, la variabilité intraspécifique et populationnelle doit absolument être prise en compte afin de comprendre les mécanismes par lesquels les populations se sont adaptées aux conditions locales ou montrent une plasticité aussi variable. Des études de génétique des populations pourraient sans aucun doute contribuer à lever le voile sur les processus d'apparition de la grande diversité tant fonctionnelle que taxonomique qui caractérisent ces environnements.

Bibliographie

- Abratowska, A., Wasowicz, P., Bednarek, P. T., Telka, J., & Wierzbicka, M. (2012). Morphological and genetic distinctiveness of metallicolous and non-metallicolous populations of *Armeria maritima* s.l. (Plumbaginaceae) in Poland. *Plant Biology* **14**: 586-595.
- Ackerly, D. D. (2003). Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences* **164**: S165-S184.
- Adamidis, G. C., Kazakou, E., Fyllas, N. M., & Dimitrakopoulos, P. G. (2014a). Species adaptive strategies and leaf economic relationships across serpentine and non-serpentine habitats on Lesbos, eastern Mediterranean. *PLoS one* **9**: e96034.
- Adler, P. B., Fajardo, A., Kleinhesselink, A. R., & Kraft, N. J. (2013). Trait-based tests of coexistence mechanisms. *Ecology Letters* **16**: 1294-1306.
- Agosta, S. J., & Klemens, J. A. (2008). Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecology Letters* **11**: 1123-1134.
- Agrawal, A. A. (2007). Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in Ecology & Evolution* **22**: 103-109.
- Albert, C. H., Grassein, F., Schurr, F. M., Vieilledent, G., & Violle, C. (2011). When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **13**: 217-225.
- Anderson, M. J., & Legendre, P. (1999). An empirical comparison of permutation methods for tests of partial regression coefficients in a linear model. *Journal of Statistical Computation and Simulation* **62**: 271-303.
- Aubin, I., Munson, A. D., Cardou, F., Burton, P. J., Isabel, N., Pedlar, J. H., ... & Messier, C. (2016). Traits to stay, traits to move: a review of functional traits to assess sensitivity and adaptive capacity of temperate and boreal trees to climate change. *Environmental Reviews* **24**: 164-186.
- Bâ, A. M., Duponnois, R., Moyersoen, B., & Diédhiou, A. G. (2012). Ectomycorrhizal symbiosis of tropical African trees. *Mycorrhiza* **22**: 1-29.
- Baastrup- Spohr, L., Sand- Jensen, K., Nicolajsen, S. V., & Bruun, H. H. (2015). From soaking wet to bone dry: predicting plant community composition along a steep hydrological gradient. *Journal of Vegetation Science* **26**: 619-630.
- Baker, A. J. M., Brooks, R. R., Pease, A. J., & Malaisse, F. (1983). Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Zaïre. *Plant and Soil* **73**: 377-385.
- Baker, A. J., Ernst, W. H., van der Ent, A., Malaisse, F., & Ginocchio, R. (2010). Metallophytes: the unique biological resource, its ecology and conservational status in Europe, central Africa and Latin America. In: Hallberg, K.B., Batty, L.C. (Eds). *Ecology of Industrial Pollution*: 7-40.
- Bauman, D., Raspé, O., Meerts, P., Degreef, J., Ilunga Muledi, J., & Drouet, T. (2016). Multiscale assemblage of an ectomycorrhizal fungal community: the influence of host functional traits and soil properties in a 10-ha miombo forest. *FEMS Microbiology Ecology* **92**. doi: 10.1093/femsec/fiw151
- Bello, F., Šmilauer, P., Diniz- Filho, J. A. F., Carmona, C. P., Lososová, Z., Herben, T., & Götzenberger, L. (2017). Decoupling phylogenetic and functional diversity to reveal hidden signals in community assembly. *Methods in Ecology and Evolution* **8**: 1200-1211.
- Berg, M. P., & Ellers, J. (2010). Trait plasticity in species interactions: a driving force of community dynamics. *Evolutionary Ecology* **24**: 617-629.
- Blanchet, F. G., Legendre, P., & Borcard, D. (2008). Forward selection of explanatory variables. *Ecology* **89**: 2623-2632.
- Blonder, B. (2017). Hypervolume concepts in niche- and trait- based ecology. *Ecography*. doi:10.1111/ecog.03187
- Blonder, B., Kapas, R. E., Dalton, R. M., Graae, B. J., Heiling, J. M., & Opedal, Ø. H. (2018). Microenvironment and functional- trait context dependence predict alpine plant community dynamics. *Journal of Ecology* **106**: 1323-1337.
- Boisson, S., Séleck, M., Le Stradic, S., Collignon, J., Garin, O., Malaisse, F., ... & Mahy, G. (2018). Using phytostabilisation to conserve threatened endemic species in southeastern Democratic Republic of the Congo. *Ecological Research*: 1-10. Doi: 10.1007/s11284-018-1604-2
- Bond, W. J., & Keeley, J. E. (2005). Fire as a global 'herbivore': the ecology and evolution of flammable ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution* **20**: 387-394.
- Bond, W. J., Honig, M., & Maze, K. E. (1999). Seed size and seedling emergence: an allometric relationship and some ecological implications. *Oecologia* **120**: 132-136.
- Brady, K. U., Kruckeberg, A. R., & Bradshaw Jr, H. D. (2005). Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 243-266.
- Broadhurst, L. M., Lowe, A., Coates, D. J., Cunningham, S. A., McDonald, M., Vesk, P. A., & Yates, C. (2008). Seed supply for broadscale restoration: maximizing evolutionary potential. *Evolutionary Applications* **1**: 587-597.
- Burns, J. H., Anacker, B. L., Strauss, S. Y., & Burke, D. J. (2015). Soil microbial community variation correlates most strongly with plant species identity, followed by soil chemistry, spatial location and plant genus. *AoB Plants* **7**: plv030, <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv030>
- Busso, C. A., Briske, D. D., & Olalde- Portugal, V. (2001). Root traits associated with nutrient exploitation following defoliation in three coexisting perennial grasses in a semi- arid savanna. *Oikos* **93**: 332-342.
- Cain, M. L., Milligan, B. G., & Strand, A. E. (2000). Long- distance seed dispersal in plant populations. *American Journal of Botany* **87**: 1217-1227.

- Castro-Díez, P., Montserrat-Martí, G., & Cornelissen, J. H. C. (2003). Trade-offs between phenology, relative growth rate, life form and seed mass among 22 Mediterranean woody species. *Plant Ecology* **166**: 117-129.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D. D., Baum, D. A., & Bazzaz, F. A. (2004). Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *The American Naturalist* **163**: 823-843.
- Cecchi, L., Gabbriellini, R., Arnetoli, M., Gonnelli, C., Hasko, A., & Selvi, F. (2010). Evolutionary lineages of nickel hyperaccumulation and systematics in European Alysseae (Brassicaceae): evidence from nrDNA sequence data. *Annals of Botany* **106**: 751-767.
- Chipeng, F. K., Hermans, C., Colinet, G., Faucon, M. P., Ngongo, M., Meerts, P., & Verbruggen, N. (2010). Copper tolerance in the cuprophyte *Haumaniastrum katangense* (S. Moore) PA Duvign. & Plancke. *Plant and Soil* **328**: 235-244.
- Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* **212**: 475-486.
- Dalling, J. W., Hubbell, S. P., & Silveira, K. (1998). Seed dispersal, seedling establishment and gap partitioning among tropical pioneer trees. *Journal of Ecology* **86**: 674-689.
- Davis, J. I. (1983). Phenotypic plasticity and the selection of taxonomic characters in *Puccinellia* (Poaceae). *Systematic Botany* **8**: 341-353.
- de Bello, F., Berg, M. P., Dias, A. T., Diniz-Filho, J. A. F., Götzenberger, L., Hortal, J., ... & Lepš, J. (2015). On the need for phylogenetic 'corrections' in functional trait-based approaches. *Folia Geobotanica* **50**: 349-357.
- De Plaen, G., Malaisse, F., and Brooks, R.R. (1982). The copper flowers of Central Africa and their significance for prospecting and archaeology. *Endeavour* **6**: 72-77.
- Dechamps, C., Noret, N., Mozek, R., Escarré, J., Lefèbvre, C., Gruber, W., & Meerts, P. (2008). Cost of adaptation to a metalliferous environment for *Thlaspi caerulescens*: a field reciprocal transplantation approach. *New Phytologist* **177**: 167-177.
- Delhaize, E., & Ryan, P. R. (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant physiology* **107**: 315-321.
- Delhay, G., Violle, C., Séleck, M., Ilunga wa Ilunga, E., Daubie, I., Mahy, G., & Meerts, P. (2016). Community variation in plant traits along copper and cobalt gradients. *Journal of vegetation science* **27**: 854-864.
- Díaz, S., Kattge, J., Cornelissen, J. H., Wright, I. J., Lavorel, S., Dray, S., ... & Garnier, E. (2016). The global spectrum of plant form and function. *Nature* **529**: 167-171.
- Diniz Filho, J. A. F., Rangel, T. F., Santos, T., & Bini, L. M. (2012). Exploring patterns of interspecific variation in quantitative traits using sequential phylogenetic eigenvector regressions. *Evolution* **66**: 1079-1090.
- Duvigneaud, P., & Denaeyer-De Smet, S. (1963). Cuivre et Végétation au Katanga. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* **96**: 93-231.
- Ernst, W. H. (2006). Evolution of metal tolerance in higher plants. *Forest Snow and Landscape Research* **80**: 251-274.
- Escudero, A., Núñez, Y., & Pérez-García, F. (2000). Is fire a selective force of seed size in pine species? *Acta Oecologica* **21**: 245-256.
- Faden, R. B. (2012). Commelinaceae. *Flora of Tropical East Africa*. 245 pages.
- Fajardo, A., & Siefert, A. (2016). Phenological variation of leaf functional traits within species. *Oecologia* **180**: 951-959.
- Faucon, M. P., Chipeng, F., Verbruggen, N., Mahy, G., Colinet, G., Shutcha, M., ... & Meerts, P. (2012). Copper tolerance and accumulation in two cuprophytes of South Central Africa: *Crepidiorhapon perennis* and *C. tenuis* (Linderniaceae). *Environmental and Experimental Botany* **84**: 11-16.
- Faucon, M. P., Meersseman, A., Shutcha, M. N., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Malaisse, F., & Meerts, P. (2010). Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18.
- Faucon, M. P., Le Stradic, S., Boisson, S., wa Ilunga, E. I., Séleck, M., Lange, B., ... & Mahy, G. (2016). Implication of plant-soil relationships for conservation and restoration of copper-cobalt ecosystems. *Plant and Soil* **403**: 153-165.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.
- Frérot, H., Hautekèete, N. C., Decombeix, I., Bouchet, M. H., Créach, A., Saumitou-Laprade, P., ... & Pauwels, M. (2017). Habitat heterogeneity in the pseudometallophyte *Arabidopsis halleri* and its structuring effect on natural variation of zinc and cadmium hyperaccumulation. *Plant and Soil* **423**: 157-174.
- Frérot, H., Lefèbvre, C., Gruber, W., Collin, C., Dos Santos, A., & Escarré, J. (2006). Specific interactions between local metallicolous plants improve the phytostabilization of mine soils. *Plant and Soil* **282**: 53-65.
- Fukami, T., Bezemer, T. M., Mortimer, S. R., & van der Putten, W. H. (2005). Species divergence and trait convergence in experimental plant community assembly. *Ecology Letters* **8**: 1283-1290.
- Funk, J. L., & Vitousek, P. M. (2007). Resource-use efficiency and plant invasion in low-resource systems. *Nature* **446**: 1079-1081.
- 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.
- Funk, J. L., Larson, J. E., Ames, G. M., Butterfield, B. J., Cavender-Bares, J., Firn, J., ... & Wright, J. (2017). Revisiting the Holy Grail: using plant functional traits to understand ecological processes. *Biological Reviews* **92**: 1156-1173.
- Gallego, S. M., Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Iannone, M. F., Rosales, E. P., ... & Benavides, M. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* **83**: 33-46.
- Gallien, L. (2017). Intransitive competition and its effects on community functional diversity. *Oikos* **126**: 615-623.

- Garnier, E., & Navas, M. L. (2013). *Diversité fonctionnelle des plantes: traits des organismes, structure des communautés, propriétés des écosystèmes*. De Boeck. 353 pages.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M. L., Roumet, C., Debussche, M., ... & Neill, C. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* **85**: 2630-2637.
- Garnier, E., Fayolle, A., Navas, M. L., Damgaard, C., Cruz, P., Hubert, D., ... & Violle, C. (2018). Plant demographic and functional responses to management intensification: A long-term study in a Mediterranean rangeland. *Journal of Ecology* **106**: 1363-1376.
- Golluscio, R. A., Oesterheld, M., & Aguiar, M. R. (2005). Relationship between phenology and life form: a test with 25 Patagonian species. *Ecography* **28**: 273-282.
- Grime, J. P. (1974). Vegetation classification by reference to strategies. *Nature* **250**: 26-31.
- Grime, J. P. (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* **111**: 1169-1194.
- Grime, J. P., & Pierce, S. (2012). *The evolutionary strategies that shape ecosystems*. John Wiley & Sons. 264 pages.
- Gross, N., Suding, K. N., Lavorel, S., & Roumet, C. (2007). Complementarity as a mechanism of coexistence between functional groups of grasses. *Journal of Ecology* **95**: 1296-1305.
- Guo, T., Lohmann, D., Ratzmann, G., & Tietjen, B. (2016). Response of semi-arid savanna vegetation composition towards grazing along a precipitation gradient—The effect of including plant heterogeneity into an ecohydrological savanna model. *Ecological Modelling* **325**: 47-56.
- Hardy, O. J., & Pavoine, S. (2012). Assessing phylogenetic signal with measurement error: a comparison of mantel tests, blomberg et al.'s K, and phylogenetic distograms. *Evolution* **66**: 2614-2621.
- Harmens, H., Koevoets, P. L., Verkleij, J. A., & Ernst, W. H. (1994). The role of low molecular weight organic acids in the mechanism of increased zinc tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *New Phytologist* **126**: 615-621.
- Hermant, M., Prinzing, A., Vernon, P., Convey, P., & Hennion, F. (2013). Endemic species have highly integrated phenotypes, environmental distributions and phenotype-environment relationships. *Journal of Biogeography* **40**: 1583-1594.
- Hernández, L. E., Sobrino-Plata, J., Montero-Palmero, M. B., Carrasco-Gil, S., Flores-Cáceres, M. L., Ortega-Villasante, C., & Escobar, C. (2015). Contribution of glutathione to the control of cellular redox homeostasis under toxic metal and metalloid stress. *Journal of Experimental Botany* **66**: 2901-2911.
- Hickey, D. A., & McNeilly, T. (1975). Competition between metal tolerant and normal plant populations; a field experiment on normal soil. *Evolution* **29**: 458-464.
- HilleRisLambers, J., Adler, P. B., Harpole, W. S., Levine, J. M., & Mayfield, M. M. (2012). Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **43**: 227-248.
- Hobbs, R. J., Higgs, E., & Harris, J. A. (2009). Novel ecosystems: implications for conservation and restoration. *Trends in Ecology & Evolution* **24**: 599-605.
- Hufford, K. M., & Mazer, S. J. (2003). Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology & Evolution* **18**: 147-155.
- Hughes, A. R., & Stachowicz, J. J. (2004). Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**: 8998-9002.
- Ilunga Kabeya, F. (2016). Variation de la tolérance et de l'accumulation des métaux dans le genre *Haumaniastrum*. Thèse de doctorat. 230 pages.
- Ilunga, E. I., Mahy, G., Piqueray, J., Séleck, M., Shutcha, M. N., Meerts, P., & Faucon, M. P. (2015). Plant functional traits as a promising tool for the ecological restoration of degraded tropical metal-rich habitats and revegetation of metal-rich bare soils: A case study in copper vegetation of Katanga, DRC. *Ecological Engineering* **82**: 214-221.
- Jansen S, Broadley M, Robbrecht E, Smets E. (2002). Aluminium hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *Botanical Review* **68**: 235-269.
- Jones, D., & Muehlchen, A. (1994). Effects of the potentially toxic metals, aluminium, zinc and copper on ectomycorrhizal fungi. *Journal of Environmental Science & Health Part A* **29**: 949-966.
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace elements in soils and plants*. CRC press. 403 pages.
- Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., ... & Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* **88**: 424-438.
- Kos, M., & Poschlod, P. (2010). Why wait? Trait and habitat correlates of variation in germination speed among Kalahari annuals. *Oecologia* **162**: 549-559.
- Kraft, N. J., & Ackerly, D. D. (2014). Assembly of plant communities. In Monson R.K. (Ed). *Ecology and the Environment*. Springer New York. 67-88.
- Kraft, N. J., Godoy, O., & Levine, J. M. (2015). Plant functional traits and the multidimensional nature of species coexistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 797-802.
- Lahoreau, G., Barot, S., Gignoux, J., Hoffmann, W. A., Setterfield, S. A., & Williams, P. R. (2006). Positive effect of seed size on seedling survival in fire-prone savannas of Australia, Brazil and West Africa. *Journal of Tropical Ecology* **22**: 719-722.
- Lange, B., Delhay, G., Boisson, S., Verbruggen, N., Meerts, P., & Faucon, M. P. (2018). Variation in copper and cobalt tolerance and accumulation among six populations of the facultative metallophyte *Anisopappus chinensis* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany* **153**: 1-9.
- Lange, B., Ent, A., Baker, A. J. M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., ... & Faucon, M. P. (2016). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* **213**: 537-551.

- Lange, B., Faucon, M. P., Delhayé, G., Hamiti, N., & Meerts, P. (2017). Functional traits of a facultative metallophyte from tropical Africa: population variation and plasticity in response to cobalt. *Environmental and Experimental Botany* **136**: 1-8.
- Lange, B., Faucon, M. P., Meerts, P., Shutcha, M., Mahy, G., & Pourret, O. (2014). Prediction of the edaphic factors influence upon the copper and cobalt accumulation in two metallophytes using copper and cobalt speciation in soils. *Plant and Soil* **379**: 275-287.
- Laughlin, D. C. (2014). Applying trait-based models to achieve functional targets for theory-driven ecological restoration. *Ecology Letters* **17**: 771-784.
- Laughlin, D. C., & Messier, J. (2015). Fitness of multidimensional phenotypes in dynamic adaptive landscapes. *Trends in Ecology & Evolution* **30**: 487-496.
- Laughlin, D. C., Strahan, R. T., Adler, P. B., & Moore, M. M. (2018). Survival rates indicate that correlations between community-weighted mean traits and environments can be unreliable estimates of the adaptive value of traits. *Ecology Letters* **21**: 411-421.
- Lavergne, S., Garnier, E., & Debussche, M. (2003). Do rock endemic and widespread plant species differ under the Leaf-Height-Seed plant ecology strategy scheme? *Ecology Letters* **6**: 398-404.
- Lavergne, S., Thompson, J. D., Garnier, E., & Debussche, M. (2004). The biology and ecology of narrow endemic and widespread plants: a comparative study of trait variation in 20 congeneric pairs. *Oikos* **107**: 505-518.
- Lavorel, S., McIntyre, S., Landsberg, J., & Forbes, T. D. A. (1997). Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution* **12**: 474-478.
- Legendre, P., Galzin, R., & Harmelin-Vivien, M. L. (1997). Relating behavior to habitat: Solutions to the fourth-corner problem. *Ecology* **78**: 547-562.
- Leishman, M. R., Westoby, M., & Jurado, E. (1995). Correlates of seed size variation: a comparison among five temperate floras. *Journal of Ecology* **83**: 517-529.
- Leishman, M. R., Wright, I. J., Moles, A. T., & Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. In Fenner, M. (Ed). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. 31-57.
- Leitao, R. P., Zuanon, J., Villéger, S., Williams, S. E., Baraloto, C., Fortunel, C., ... & Mouillot, D. (2016). Rare species contribute disproportionately to the functional structure of species assemblages. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**: 20160084. DOI: 10.1098/rspb.2016.0084
- Lenoir, I., Fontaine, J., & Sahraoui, A. L. H. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. *Phytochemistry* **123**: 4-15.
- Le Stradic, S., Séleck, M., Lebrun, J., Boisson, S., Handjila, G., Faucon, M. P., & Mahy, G. (2016). Comparison of translocation methods to conserve metallophyte communities in the Katangan copperbelt, DRC. *Environ Sci Pollut Res* **23**:13681-13692.
- Li, Y., & Shipley, B. (2017). An experimental test of CSR theory using a globally calibrated ordination method. *PloS one* **12**: e0175404.
- Losapio, G., Pugnaire, F. I., O'Brien, M. J., & Schöb, C. (2018). Plant life history stage and nurse age change the development of ecological networks in an arid ecosystem. *Oikos*. doi:10.1111/oik.05199
- Maestri, E., Marmiroli, M., Visioli, G., & Marmiroli, N. (2010). Metal tolerance and hyperaccumulation: costs and trade-offs between traits and environment. *Environmental and Experimental Botany* **68**: 1-13.
- Malaisse, F. P. (1983). Phytogeography of the copper and cobalt flora of Upper Shaba (Zaire), with emphasis on its endemism, origin and evolution mechanisms. *Bothalia* **14**: 497-504.
- Malaisse, F., Schajjes, M., & D'Outreligne, C. (2016). Copper-cobalt flora of Upper Katanga and Copperbelt. Presses agronomiques de Gembloux. Belgium. 422 pages.
- Marks, C. O., & Lechowicz, M. J. (2006). A holistic tree seedling model for the investigation of functional trait diversity. *Ecological Modelling* **193**: 141-181.
- Mayfield, M. M., & Levine, J. M. (2010). Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* **13**: 1085-1093.
- Maynard, D. S., Leonard, K. E., Drake, J. M., Hall, D. W., Crowther, T. W., & Bradford, M. A. (2015). Modelling the multidimensional niche by linking functional traits to competitive performance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **282**: 20150516. 10.1098/rspb.2015.0516
- McIntire, E. J., & Fajardo, A. (2009). Beyond description: the active and effective way to infer processes from spatial patterns. *Ecology* **90**: 46-56.
- McKay, J. K., Christian, C. E., Harrison, S., & Rice, K. J. (2005). "How local is local?"—a review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restoration Ecology* **13**: 432-440.
- Meerts, P. (2017). Geoxylic suffrutices of African savannas: short but remarkably similar to trees. *Journal of Tropical Ecology* **33**: 295-298.
- Meerts, P., & Van Isacker, N. (1997). Heavy metal tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Thlaspi caerulescens* from continental Europe. *Plant Ecology* **133**: 221-231.
- Mengoni, A., Baker, A. J. M., Bazzicalupo, M., Reeves, R. D., Adigüzel, N., Chianni, E., ... & Gonnelli, C. (2003). Evolutionary dynamics of nickel hyperaccumulation in *Alyssum* revealed by ITS nrDNA analysis. *New Phytologist* **159**: 691-699.
- Messier, J., Lechowicz, M. J., McGill, B. J., Violle, C., & Enquist, B. J. (2017). Interspecific integration of trait dimensions at local scales: The plant phenotype as an integrated network. *Journal of Ecology* **105**: 1775-1790.
- Migdałek, G., Woźniak, M., Słomka, A., Godzik, B., Jędrzejczyk-Korycińska, M., Rostański, A., ... & Kuta, E. (2013). Morphological differences between violets growing at heavy metal polluted and non-polluted sites. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **208**: 87-96.
- Milla, R., & Reich, P. B. (2011). Multi-trait interactions, not phylogeny, fine-tune leaf size reduction with increasing altitude. *Annals of Botany* **107**: 455-465.

- Mlambo, M. C. (2014). Not all traits are 'functional': insights from taxonomy and biodiversity-ecosystem functioning research. *Biodiversity and Conservation* **23**: 781-790.
- Moles, A. T., & Westoby, M. (2004). Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *Journal of Ecology* **92**: 372-383
- Mouillot, D., Bellwood, D. R., Baraloto, C., Chave, J., Galzin, R., Harmelin-Vivien, M., ... & Paine, C. T. (2013). Rare species support vulnerable functions in high-diversity ecosystems. *PLoS Biology* **11**: e1001569.
- Muscarella, R., & Uriarte, M. (2016). Do community-weighted mean functional traits reflect optimal strategies? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**: 20152434. doi: 10.1098/rspb.2015.2434.
- Negoita, L., Fridley, J. D., Lomolino, M. V., Mittelhauser, G., Craine, J. M., & Weiher, E. (2016). Isolation- driven functional assembly of plant communities on islands. *Ecography* **39**: 1066-1077.
- Osnas, J. L., Katabuchi, M., Kitajima, K., Wright, S. J., Reich, P. B., Van Bael, S. A., ... & Lichstein, J. W. (2018). Divergent drivers of leaf trait variation within species, among species, and among functional groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**: 5480-5485.
- Pärtel, M. (2002). Local plant diversity patterns and evolutionary history at the regional scale. *Ecology* **83**: 2361-2366.
- Pärtel, M., Zobel, M., Zobel, K., & van der Maarel, E. (1996). The species pool and its relation to species richness: evidence from Estonian plant communities. *Oikos* **75**: 111-117.
- Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., & Borcard, D. (2006). Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology* **87**: 2614-2625.
- Pierce, S., Negreiros, D., Cerabolini, B. E., Kattge, J., Díaz, S., Kleyer, M., ... & van Bodegom, P. M. (2017). A global method for calculating plant CSR ecological strategies applied across biomes world-wide. *Functional Ecology* **31**: 444-457.
- Ramírez, N. (2002). Reproductive phenology, life- forms, and habitats of the Venezuelan Central Plain. *American Journal of Botany* **89**: 836-842.
- Reich, P. B. (2014). The world-wide 'fast-slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* **102**: 275-301.
- Reich, P. B., Wright, I. J., Cavender-Bares, J., Craine, J. M., Oleksyn, J., Westoby, M., & Walters, M. B. (2003). The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences* **164**: S143-S164.
- Rosado, B. H., & de Mattos, E. A. (2017). On the relative importance of CSR ecological strategies and integrative traits to explain species dominance at local scales. *Functional Ecology* **31**: 1969-1974. doi:10.1111/1365-2435.12894
- Saad, L., Parmentier, I., Colinet, G., Malaisse, F., Faucon, M. P., Meerts, P., & Mahy, G. (2012). Investigating the vegetation-soil relationships on the copper-cobalt rock outcrops of Katanga (DR Congo), an essential step in a biodiversity conservation plan. *Restoration Ecology* **20**: 405-415.
- Sarmiento, G., & Monasterio, M. (1983). Life forms and phenology. *Ecosystems of the World* **13**: 79-108.
- Schmitz, A. (1971). La végétation de la plaine de Lubumbashi (Haut-Katanga). Institut national pour l'étude agronomique du Congo. 388pages.
- Séleck, M., Bizoux, J. P., Colinet, G., Faucon, M. P., Guillaume, A., Meerts, P., ... & Mahy, G. (2013). Chemical soil factors influencing plant assemblages along copper-cobalt gradients: implications for conservation and restoration. *Plant and Soil* **373**: 455-469.
- Shipley, B. (2010). From plant traits to vegetation structure: chance and selection in the assembly of ecological communities. Cambridge University Press. 290 pages.
- Siefert, A., Violle, C., Chalmandrier, L., Albert, C. H., Taudiere, A., Fajardo, A., ... & L Dantas, V. (2015). A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecology Letters* **18**: 1406-1419.
- Słomka, A., Libik-Konieczny, M., Kuta, E., & Miszalski, Z. (2008). Metalliferous and non-metalliferous populations of *Viola tricolor* represent similar mode of antioxidative response. *Journal of Plant Physiology* **165**: 1610-1619.
- Stott, I., Franco, M., Carslake, D., Townley, S., & Hodgson, D. (2010). Boom or bust? A comparative analysis of transient population dynamics in plants. *Journal of Ecology* **98**: 302-311.
- Sun, T. R., Cang, L., Wang, Q. Y., Zhou, D. M., Cheng, J. M., & Xu, H. (2010). Roles of abiotic losses, microbes, plant roots, and root exudates on phytoremediation of PAHs in a barren soil. *Journal of Hazardous Materials* **176**: 919-925.
- Tielbörger, K., & Kadmon, R. (2000). Temporal environmental variation tips the balance between facilitation and interference in desert plants. *Ecology* **81**: 1544-1553.
- Tótté, A., Delgado, A., Navarro, T., & Meerts, P. (2015). Narrow endemics of the Almeria Province (Andalusia, Spain) differ in their traits and ecological niche compared to their more widespread congeners. *Folia Geobotanica* **50**: 137-150.
- Ulrich, W., Kubota, Y., Piernik, A., & Gotelli, N. J. (2018). Functional traits and environmental characteristics drive the degree of competitive intransitivity in European saltmarsh plant communities. *Journal of Ecology* **106**: 865-876.
- Van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., Bever, J. D., Bezemer, T. M., Casper, B. B., Fukami, T., ... & Suding, K. N. (2013). Plant-soil feedbacks: the past, the present and future challenges. *Journal of Ecology* **101**: 265-276.
- van de Voorde, T. F., van der Putten, W. H., & Bezemer, T. M. (2011). Intra- and interspecific plant-soil interactions, soil legacies and priority effects during old- field succession. *Journal of Ecology* **99**: 945-953.
- Velázquez, E., Martínez, I., Getzin, S., Moloney, K. A., & Wiegand, T. (2016). An evaluation of the state of spatial point pattern analysis in ecology. *Ecography* **39**: 1042-1055.

- Verslues, P. E., & Sharma, S. (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. *The arabidopsis book*. e0140.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L. I. N., Albert, C. H., Hulshof, C., ... & Messier, J. (2012). The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **27**: 244-252.
- Violle, C., Thuiller, W., Mouquet, N., Munoz, F., Kraft, N. J., Cadotte, M. W., ... & Mouillot, D. (2017). Functional rarity: the ecology of outliers. *Trends in Ecology & Evolution* **32**: 356-367.
- Waters, B. M., & Armbrust, L. C. (2013). Optimal copper supply is required for normal plant iron deficiency responses. *Plant Signaling & Behavior* **8**: e26611.
- Westoby, M., & Wright, I. J. (2006). Land-plant ecology on the basis of functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 261-268.
- White, F. (1983). The vegetation of Africa: A descriptive memoir to accompany the UNESCO/AETFAT/UNSO vegetation map of Africa. UN Educational, Scientific and Cultural Organization. Paris. 352 pages.
- Wiegand, T., & Moloney, K. A. (2013). Handbook of spatial point-pattern analysis in ecology. Chapman and Hall/CRC. 538 pages.
- Wierzbicka, M., & Panufnik, D. (1998). The adaptation of *Silene vulgaris* to growth on a calamine waste heap (S. Poland). *Environmental Pollution* **101**: 415-426.
- Wierzbicka, M., & Pielichowska, M. (2004). Adaptation of *Biscutella laevigata* L, a metal hyperaccumulator, to growth on a zinc-lead waste heap in southern Poland: I: differences between waste-heap and mountain populations. *Chemosphere* **54**: 1663-1674.
- Winkler, I. S., & Mitter, C. (2008). The phylogenetic dimension of insect-plant interactions: a review of recent evidence. In: Tilmon, K. (Ed). *Specialization, speciation, and radiation: the evolutionary biology of herbivorous insects*. 240-263.
- Wright, J. P., & Sutton-Grier, A. (2012). Does the leaf economic spectrum hold within local species pools across varying environmental conditions? *Functional Ecology* **26**: 1390-1398.
- Xu, J., Chai, Y., Wang, M., Dang, H., Guo, Y., Chen, Y., ... & Yue, M. (2018). Shifts in Plant Community Assembly Processes across Growth Forms along a Habitat Severity Gradient: A Test of the Plant Functional Trait Approach. *Frontiers in Plant Science* **9**: doi: 10.3389/fpls.2018.00180
- Yang, J., Cao, M., & Swenson, N. G. (2018). Why functional traits do not predict tree demographic rates. *Trends in Ecology & Evolution* **33**: 326-336.
- Zalecka, R., & Wierzbicka, M. (2002). The adaptation of *Dianthus carthusianorum* L.(Caryophyllaceae) to growth on a zinc-lead heap in southern Poland. *Plant and Soil* **246**: 249-257.
- Zobel, M. (1997). The relative of species pools in determining plant species richness: an alternative explanation of species coexistence? *Trends in Ecology & Evolution* **12**: 266-269.

Annexes

Annexe 1

Table 1 : Tableau reprenant les taxons endémiques stricts (présent uniquement sur les sites métallifère ; ES) et endémiques larges (présent avec plus de 75% d'occurrences sur des sites métallifères), la famille et le statut de la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN). Pour les espèces pour lesquelles le statut n'est pas encore évalué par l'UICN, le statut temporaire est extrait de Faucon et al (2010)* et est marqué d'une *. EX : éteint, CR : en danger critique d'extinction, EN : en danger d'extinction, VU : vulnérable, NT : quasiment menacée, LC : préoccupation mineure, DD : données insuffisantes. Les espèces en gris nécessitent une réévaluation taxonomique.

| Taxon | Famille | Statut UICN | Distribution |
|---|----------------|-------------|--------------|
| <i>Acalypha cupricola</i> W.Robyns ex G.A.Levin | Euphorbiaceae | NT | ES |
| <i>Acalypha dikuluwensis</i> P.A.Duvign. & Dewit | Euphorbiaceae | EX | ES |
| <i>Actiniopteris kornasii</i> Medwecka-Kornas | Pteridaceae | EN | ES |
| <i>Aeollanthus saxatilis</i> P.A.Duvign. & Denaeyer | Lamiaceae | NT | ES |
| <i>Basananthe cupricola</i> A.Robyns | Passifloraceae | EX | ES |
| <i>Batopedina pulvinellata</i> Robbr. subsp. <i>glabrifolia</i> Robbr. | Rubiaceae | CR* | ES |
| <i>Bulbostylis fusiformis</i> Goetgh. | Cyperaceae | CE | ES |
| <i>Cheilanthes inaequalis</i> (Kunze) Mett. var. <i>lanopetiolata</i> P.A.Duvign. | Pteridaceae | CR* | ES |
| <i>Commelina mwatayamvoana</i> P.A.Duvign. & Dewit | Commelinaceae | CE | ES |
| <i>Commelina zigzag</i> P.A.Duvign. & Dewit | Commelinaceae | EN | ES |
| <i>Crepidorhopalon perennis</i> (P.A.Duvign.) Eb.Fisch | Linderniaceae | CR* | ES |
| <i>Crotalaria cobalticola</i> P.A.Duvign. & Plancke | Fabaceae | LC | ES |
| <i>Crotalaria peschiana</i> P.A.Duvign. & Timp | Fabaceae | CR* | ES |
| <i>Euphorbia cupricola</i> (Malaisse & Lecron) Bruyns | Euphorbiaceae | CR* | ES |

| | | | |
|---|-----------------|-----|----|
| <i>Faroa chalcophila</i> P.Taylor | Gentianaceae | CR* | ES |
| <i>Faroa malaissei</i> Bamps | Gentianaceae | CR* | ES |
| <i>Gutenbergia pubescens</i> (S.Moore) C.Jeffrey | Asteraceae | CE | ES |
| <i>Hartliella cupricola</i> Fischer | Linderniaceae | CR* | ES |
| <i>Haumaniastrum robertii</i> (Robyns) P.A.Duvign. & Plancke | Lamiaceae | VU* | ES |
| <i>Lopholaena deltombei</i> P.A.Duvign. | Asteraceae | VU | ES |
| <i>Silene cobalticola</i> P.A.Duvign. & Plancke | Caryophyllaceae | CE | ES |
| <i>Sopubia mannii</i> Skan var. <i>metallorum</i> (P.A.Duvign.) Mielcarek | Orobanchaceae | CR* | ES |
| <i>Triumfetta welwitschii</i> Mast. var. <i>rogersii</i> (N.E.Br.) Brummitt & Seyani | Malvaceae | DD | ES |
| <i>Vernonia duvigneaudii</i> Kalanda | Asteraceae | En | ES |
| <i>Vernonia ledocteana</i> P.A.Duvign. & Van Bockstal | Asteraceae | EX* | ES |
| <i>Vigna dolomitica</i> Wilczek | Fabaceae | CR* | ES |
| <i>Wahlenbergia ericoidella</i> (P.A.Duvign. & Denaeyer) Thulin | Campanulaceae | EN | ES |
| <i>Wahlenbergia malaissei</i> Thulin | Campanulaceae | CE | ES |
| <i>Cyanotis cupricola</i> P.A.Duvign. | Commelinaceae | EN | ES |
| <i>Digitaria nitens</i> Rendle subsp. <i>festucoides</i> P.A.Duvign | Poaceae | DD | ES |
| <i>Loudetia kagerensis</i> (K.Schum.) C.E.Hubb. subsp. <i>jubata</i> P.A.Duvign. | Poaceae | DD | ES |
| <i>Pandiaka metallorum</i> P.A.Duvign. & Van Bockstal | Amaranthaceae | DD | ES |
| <i>Ascolepis metallorum</i> P.A.Duvign. & Léonard | Cyperaceae | EN* | EL |
| <i>Basananthe kisimbae</i> Malaisse & Bamps | Passifloraceae | EN* | EL |
| <i>Batopedina pulvinellata</i> Robbr. subsp. <i>pulvinellata</i> Robbr. | Rubiaceae | EN* | EL |
| <i>Buchnera symoensiana</i> Mielcarek | Orobanchaceae | EN* | EL |
| <i>Bulbostylis cupricola</i> Goetghebeur | Cyperaceae | VU* | EL |
| <i>Bulbostylis pseudoperennis</i> Goetghebeur | Cyperaceae | VU | EL |
| <i>Cyperus kibweanus</i> P.A.Duvign | Cyperaceae | CR* | EL |
| <i>Diplolophium marthozianum</i> P.A.Duvign. | Apiaceae | EN* | EL |
| <i>Dissotis derriksiana</i> P.A.Duvign. | Melastomataceae | EN* | EL |

| | | | |
|--|----------------|-----|----|
| <i>Euphorbia fanshawei</i> L.C.Leach | Euphorbiaceae | EN* | EL |
| <i>Gladiolus ledoctei</i> P.A.Duvign. & Van Bockstal | Iridaceae | EN* | EL |
| <i>Gladiolus robiliartianus</i> P.A.Duvign. | Iridaceae | EN* | EL |
| <i>Helichrysum lejolyanum</i> Lisowski | Asteraceae | VU* | EL |
| <i>Ipomoea linosepala</i> Hallier f. subsp. <i>aureoargentea</i> P.A.Duvign. & Dewit | Convolvulaceae | EN* | EL |
| <i>Justicia metallorum</i> P.A Duvign. | Acanthaceae | VU* | EL |
| <i>Ocimum ericoides</i> (P.A.Duvign. & Plancke) A.J.Paton | Lamiaceae | EN* | EL |
| <i>Ocimum metallorum</i> (P.A.Duvign. & Plancke) A.J.Paton | Lamiaceae | DD | EL |
| <i>Sopubia neptunii</i> P.A.Duvign. & Van Bockstal | Orobanchaceae | VU* | EL |
| <i>Thesium pawlowskianum</i> Lawalrée | Santalaceae | DD | EL |
| <i>Tinnea coerulea</i> Gürke var. <i>obovata</i> (Robyns & Lebrun) Vollesen | Lamiaceae | VU* | EL |
| <i>Triumfetta likasiensis</i> De Wild. | Malvaceae | VU* | EL |
| <i>Xerophyta demesmaekeriana</i> P.A.Duvign. & Dewit | Velloziaceae | DD | EL |
| <i>Ocimum monocotyloides</i> (Plancke ex Ayob.) A.J.Paton | Lamiaceae | DD | EL |
| <i>Monadenium pseudoracemosum</i> Bally var. <i>pseudoracemosum</i> Bally | Euphorbiaceae | DD | EL |

*Faucon, M. P., Meersseman, A., Shutcha, M. N., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Malaisse, F., & Meerts, P. (2010). Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18.

Annexe 2

Table A1: Table of the family, life form and average traits value for the 72 species.

| Species | Family | Life form | Height (cm) | RD (cm) | Leaf Area (mm ²) | LDMC (%) | LT (mm) | SLA (cm ² .g ⁻¹) | N (%) | SM (g) | Cupl (mg.kg ⁻¹) | Copl (mg.kg ⁻¹) |
|-------------------------------------|---------------|-----------|----------------|------------|------------------------------------|-------------|------------|--|----------|-----------|--------------------------------|--------------------------------|
| <i>Acalypha cupricola</i> | Euphorbiaceae | Geofrutex | 30 | 40 | 416 | 0.30 | 0.32 | 10.5 | 1.75 | 0.00172 | 18 | 168 |
| <i>Aeschynomene pygmaea</i> | Fabaceae | Geofrutex | 37 | 100 | 144 | 0.30 | 0.19 | 19.0 | 2.67 | 0.00767 | 9 | 1 |
| <i>Andropogon schirensis</i> | Poaceae | Graminoïd | 47 | 10 | 920 | 0.27 | 0.26 | 14.5 | 1.30 | 0.00164 | 5 | 12 |
| <i>Aneilema welwitschii</i> | Commelinaceae | Geophyte | 20 | 13 | 1712 | 0.17 | 0.39 | 15.4 | 1.97 | 0.00170 | 24 | 24 |
| <i>Anisopappus chinensis</i> | Asteraceae | Geophyte | 12 | 13 | 282 | 0.17 | 0.25 | 23.4 | NA | 0.00041 | 84 | 664 |
| <i>Ascolepis metallorum</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 15 | 5 | 103 | 0.45 | 0.14 | 16.1 | NA | 0.00005 | 141 | 336 |
| <i>Bewisia biflora</i> | Poaceae | Graminoïd | 27 | 20 | 1462 | 0.43 | 0.11 | 20.5 | 0.89 | 0.00012 | 2 | 1 |
| <i>Brachiaria serrata</i> | Poaceae | Graminoïd | 21 | 8 | 414 | 0.42 | 0.14 | 17.4 | NA | 0.00186 | 6 | 7 |
| <i>Buchnera randii</i> | Orobanchaceae | Annual | 24 | 8 | 475 | 0.25 | 0.25 | 17.3 | 1.15 | 0.00007 | 26 | 20 |
| <i>Bulbostylis cupricola</i> | Cyperaceae | Annual | 9 | 5 | 27 | 0.21 | 0.12 | 39.3 | 2.41 | 0.00010 | 1401 | 73 |
| <i>Bulbostylis filamentosa</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 20 | 5 | 72 | 0.62 | 0.09 | 17.9 | 1.95 | 0.00011 | 32 | 27 |
| <i>Bulbostylis macra</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 15 | 8 | 58 | 0.55 | 0.05 | 40.3 | NA | 0.00008 | 11 | 15 |
| <i>Bulbostylis pseudoperenis</i> | Cyperaceae | Annual | 5 | 5 | 266 | 0.39 | 0.08 | 35.7 | 2.20 | 0.00005 | 1068 | 55 |
| <i>Chamaecrista pratensis</i> | Fabaceae | Annual | 24 | 13 | 549 | 0.31 | 0.09 | 36.0 | 2.51 | 0.00220 | 8 | 0.0 |
| <i>Chloris virgata</i> | Poaceae | Annual | 24 | 10 | 229 | 0.38 | 0.16 | 16.7 | 1.60 | 0.00020 | 7 | 5 |
| <i>Chlorophytum subpetiolatum</i> | Asparagaceae | Geophyte | 4 | 8 | 710 | 0.13 | 0.72 | 10.6 | 1.98 | 0.00080 | 33 | 228 |
| <i>Commelina schweinfurthii</i> | Commelinaceae | Geophyte | 13 | 20 | 924 | 0.17 | 0.33 | 18.3 | 2.04 | 0.00254 | 38 | 33 |
| <i>Crotalaria argenteotomentosa</i> | Fabaceae | Annual | 22 | 10 | 42 | 0.29 | 0.21 | 16.6 | NA | 0.00082 | 11 | 13 |
| <i>Crotalaria glauca</i> | Fabaceae | Geofrutex | 43 | 5 | 1199 | 0.16 | 0.18 | 34.2 | 2.87 | 0.00321 | 15 | 0.3 |
| <i>Cryptosepalum maraviense</i> | Fabaceae | Geofrutex | 12 | 90 | 1264 | 0.50 | 0.35 | 5.6 | 1.65 | 0.10790 | 11 | 3 |
| <i>Cyanotis longifolia</i> | Commelinaceae | Geophyte | 12 | 20 | 651 | 0.11 | 0.48 | 18.8 | 1.41 | 0.00087 | 42 | 296 |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------|-----------|----|-----|-------|------|------|------|------|---------|------|------|
| <i>Cyanotis sp</i> | Commelinaceae | Geophyte | 4 | 8 | 475 | 0.10 | 0.71 | 15.0 | 1.61 | 0.00087 | 129 | 56 |
| <i>Cyperus margaritaceus</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 19 | 15 | 380 | 0.33 | 0.25 | 13.1 | 0.68 | 0.00008 | 6 | 30 |
| <i>Cyperus kibweanus</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 31 | 10 | 1184 | 0.33 | 0.39 | 8.1 | 0.71 | 0.00153 | 4 | 12 |
| <i>Diheteropogon grandiflorus</i> | Poaceae | Graminoïd | 63 | 35 | 1820 | NA | NA | 10.7 | 0.87 | 0.00397 | NA | NA |
| <i>Diplolophium marthozianum</i> | Apiaceae | Geofrutex | 19 | 20 | 4676 | 0.18 | 0.56 | 9.7 | 1.24 | 0.00387 | 7 | 251 |
| <i>Dolichos trinervatus</i> | Fabaceae | Geofrutex | 63 | 40 | 6652 | 0.27 | 0.32 | 12.0 | 2.03 | 0.01586 | 9 | 0.3 |
| <i>Endostemon dissitifolius</i> | Lamiaceae | Geofrutex | 26 | 20 | 664 | 0.13 | 0.63 | 12.4 | 1.02 | 0.00040 | 9 | 63 |
| <i>Eragrostis racemosa</i> | Poaceae | Graminoïd | 21 | 8 | 355 | 0.41 | 0.19 | 13.5 | 1.12 | 0.00007 | 22 | 13 |
| <i>Eriosema cordifolium</i> | Fabaceae | Geophyte | 20 | 15 | 3557 | 0.31 | 0.17 | 19.4 | 2.21 | 0.00474 | 12 | 0.4 |
| <i>Eriosema englerianum</i> | Fabaceae | Geofrutex | 37 | 100 | 15538 | 0.31 | 0.25 | 12.8 | 2.14 | 0.03210 | 8 | 3 |
| <i>Eriospermum flagelliforme</i> | Asparagaceae | Geophyte | 17 | 20 | 4026 | 0.26 | 0.44 | 9.1 | 1.13 | 0.01661 | 5 | 21 |
| <i>Eriosema shireense</i> | Fabaceae | Geophyte | 27 | 12 | 2792 | 0.38 | 0.27 | 10.1 | 1.99 | 0.01060 | 10 | 3 |
| <i>Euphorbia zambesiana</i> | Euphorbiaceae | Geofrutex | 18 | 60 | 85 | 0.44 | 0.18 | 13.1 | 1.01 | NA | 6 | 23 |
| <i>Gladiolus gregarius</i> | Iridaceae | Geophyte | 27 | 8 | 2528 | 0.33 | 0.27 | 11.8 | 1.17 | 0.00149 | 4 | 64 |
| <i>Gladiolus ledoctei</i> | Iridaceae | Geophyte | 63 | 5 | 405 | 0.39 | 0.64 | 4.0 | 0.91 | 0.00091 | 6 | 55 |
| <i>Haumaniastrum praealtum</i> | Lamiaceae | Geofrutex | 12 | 13 | 2841 | 0.09 | 0.81 | 14.2 | 1.95 | 0.00079 | 20 | 119 |
| <i>Haumaniastrum robertii</i> | Lamiaceae | Annual | 7 | 10 | 60 | 0.26 | 0.09 | 44.4 | NA | 0.00006 | 52 | 1693 |
| <i>Haumaniastrum rosulatum</i> | Lamiaceae | Geofrutex | 1 | 8 | 1780 | 0.13 | 0.43 | 18.1 | 0.97 | 0.00080 | 48 | 84 |
| <i>Helichrysum mechowianum</i> | Asteraceae | Geofrutex | 25 | 18 | 15410 | 0.24 | 0.36 | 11.7 | 0.80 | 0.00031 | 12 | 1 |
| <i>Hibiscus rhodantus</i> | Malvaceae | Geofrutex | 21 | 45 | 2099 | 0.24 | 0.42 | 10.2 | 2.12 | 0.01150 | 20 | 33 |
| <i>Ipomoea recta</i> | Convolvulaceae | Geophyte | 7 | 10 | 148 | 0.32 | 0.2 | 15.8 | NA | 0.01758 | 94 | 89 |
| <i>Justicia elegantula</i> | Acanthaceae | Geofrutex | 15 | 18 | 257 | 0.30 | 0.18 | 19.2 | NA | 0.00085 | 28 | 77 |
| <i>Loudetia simplex</i> | Poaceae | Graminoïd | 56 | 25 | 645 | 0.26 | 0.33 | 11.5 | 0.85 | 0.00100 | 4 | 3 |
| <i>Microchloa altera</i> | Poaceae | Graminoïd | 37 | 25 | 1699 | 0.24 | 0.49 | 8.9 | 1.49 | 0.00063 | 29 | 206 |
| <i>Monocymbium ceresiiforme</i> | Poaceae | Graminoïd | 26 | 8 | 483 | 0.48 | 0.11 | 19.2 | NA | 0.00099 | 7 | 20 |
| <i>Moraea carsonii</i> | Iridaceae | Geophyte | 49 | 25 | 1054 | 0.32 | 0.61 | 5.6 | 1.24 | 0.00719 | 8 | 10 |
| <i>Ocimum fimbriatum</i> | Lamiaceae | Geofrutex | 26 | 15 | 1063 | 0.24 | 0.44 | 9.5 | 0.96 | 0.00191 | 7 | 74 |
| <i>Oxalis obliquifolia</i> | Oxalidaceae | Geophyte | 0 | 1 | 78 | 0.11 | 0.24 | 39.3 | NA | 0.00020 | NA | NA |
| <i>Pandiaka carsonii</i> | Amaranthaceae | Geophyte | 18 | 55 | 47 | 0.29 | 0.23 | 14.8 | 1.57 | 0.00486 | 1919 | 526 |

| | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|---------------|-------------|----|-----|------|------|------|------|------|---------|-----|------|
| <i>Panicum sp</i> | Poaceae | Graminoïd | 18 | 15 | 540 | 0.26 | 0.16 | 24.2 | 1.01 | 0.00024 | 15 | 42 |
| <i>Pentanisia schweinfurthii</i> | Rubiaceae | Geofrutex | 24 | 50 | 1881 | 0.18 | 0.34 | 16.5 | 1.55 | 0.00546 | 7 | 9 |
| <i>Pimpinella acutidentata</i> | Apiaceae | Geofrutex | 2 | 15 | 4103 | 0.12 | 0.4 | 21.1 | 1.86 | NA | 13 | 6 |
| <i>Pleiotaxis pulcherima</i> | Asteraceae | Geofrutex | 17 | 150 | 2148 | 0.29 | 0.27 | 13.2 | 1.32 | 0.00758 | 38 | 40 |
| <i>Poaceae sp 1</i> | Poaceae | Graminoïd | 39 | 25 | 1232 | 0.26 | 0.32 | 12.0 | 1.93 | NA | 8 | 9 |
| <i>Rhytachne rottboellioides</i> | Poaceae | Graminoïd | 50 | 10 | 534 | 0.49 | 0.2 | 10.3 | NA | 0.00202 | 3 | 1 |
| <i>Sacciolepis transbarbata</i> | Poaceae | Graminoïd | 19 | 8 | 976 | 0.29 | 0.17 | 20.6 | 1.44 | 0.00400 | 14 | 13 |
| <i>Schizachyrium brevifolium</i> | Poaceae | Annual | 6 | 5 | 24 | 0.22 | 0.08 | 57.5 | 0.96 | 0.00020 | NA | NA |
| <i>Scleria bulbifera</i> | Cyperaceae | Graminoïd | 37 | 5 | 424 | 0.36 | 0.16 | 17.9 | 0.90 | 0.00098 | 4 | 3 |
| <i>Sopubia mannii</i> | Orobanchaceae | Geofrutex | 53 | 10 | 111 | 0.28 | 0.35 | 11.1 | 1.44 | 0.00002 | 25 | 1535 |
| <i>Sporobolus congoensis</i> | Poaceae | Graminoïd | 27 | 8 | 268 | 0.39 | 0.17 | 14.8 | 1.05 | 0.00015 | 90 | 8 |
| <i>Thesium atrum</i> | Santalaceae | Geofrutex | 23 | 50 | NA | NA | NA | NA | 1.35 | NA | 173 | 56 |
| <i>Tinnea coerulea</i> | Lamiaceae | Geofrutex | 80 | 120 | 423 | 0.26 | 0.32 | 12.2 | 2.24 | 0.00386 | 12 | 3 |
| <i>Trachypogon spicatus</i> | Poaceae | Graminoïd | 62 | 15 | 967 | 0.32 | 0.27 | 11.9 | 1.08 | 0.00260 | 4 | 3 |
| <i>Tristachya bequaertii</i> | Poaceae | Graminoïd | 44 | 8 | 795 | 0.38 | 0.15 | 18.2 | 1.02 | 0.00400 | 5 | 4 |
| <i>Tristachya sp</i> | Poaceae | Graminoïd | 68 | 25 | 1926 | 0.28 | 0.26 | 14.4 | 1.08 | 0.00600 | 9 | 19 |
| <i>Tristachya superba</i> | Poaceae | Graminoïd | 63 | 35 | 2113 | 0.31 | 0.29 | 11.2 | 1.21 | 0.00568 | 3 | 2 |
| <i>Triumfetta welwitschii</i> | Malvaceae | Geofrutex | 62 | 120 | 856 | 0.39 | 0.28 | 9.8 | 1.56 | 0.04316 | 26 | 53 |
| <i>Vernonia sp</i> | Asteraceae | Geophyte | 32 | 20 | 1949 | 0.14 | 0.48 | 15.8 | 1.60 | 0.00277 | 57 | 5 |
| <i>Vernonia rigidifolia</i> | Asteraceae | Geophyte | 6 | 15 | 4257 | 0.17 | 0.4 | 15.2 | 1.75 | 0.00081 | 48 | 22 |
| <i>Vernonia suprafastigiata</i> | Asteraceae | Geofrutex | 27 | 60 | 751 | 0.31 | 0.37 | 8.8 | NA | 0.00081 | 58 | 23 |
| <i>Xerophyta equisetoides</i> | Velloziaceae | Chamaephyte | 30 | 15 | 2239 | 0.28 | 0.43 | 8.3 | 1.33 | 0.00002 | 7 | 324 |

Annexe 3

Table A1: APG III (2009) family, life cycle, growth form and mean value (standard deviation) of five quantitative traits in the 37 studied species. Growth-forms are classified into 5 classes: Graminoid, Forb (i.e. herbaceous dicot), Geophyte (i.e. non woody underground storage organ), Chamephyte (i.e. with suffruticose shoots) and Xylopod (dicot with woody underground storage organs).

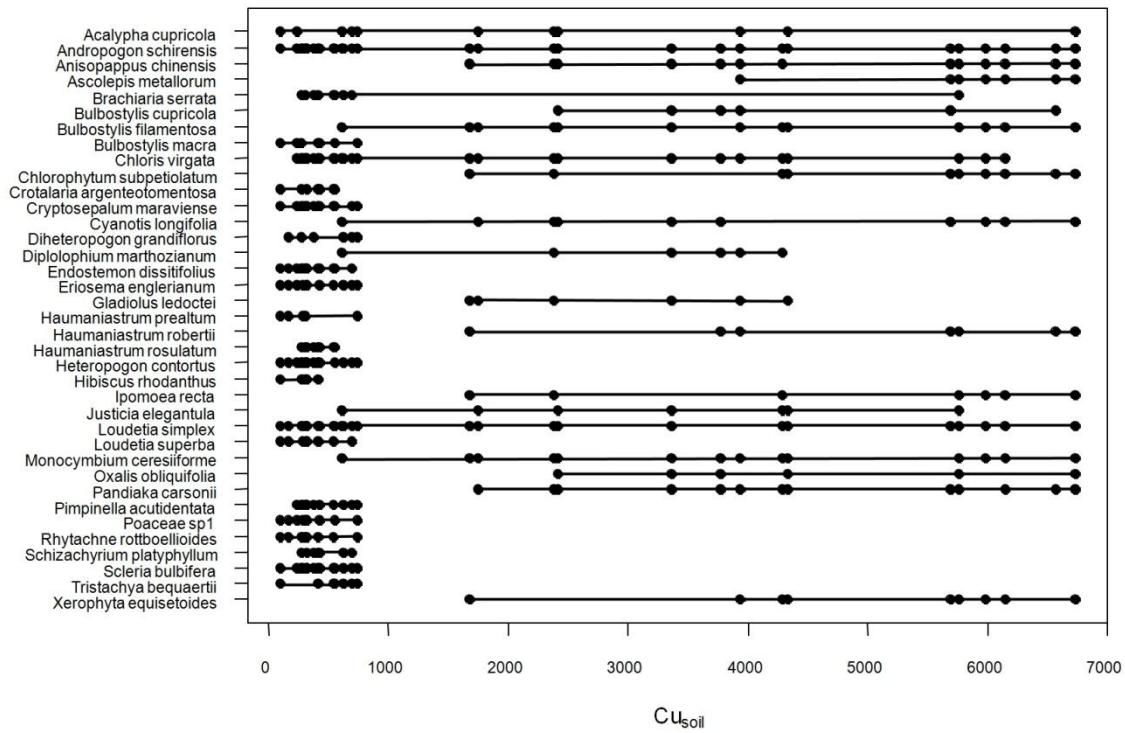
| Species | APG III family | Life cycle | Growth-form | Height (cm) | SLA (m ² .kg ⁻¹) | Leaf area (mm ²) | Cu _{leaf} (mg.kg ⁻¹) | Co _{leaf} (mg.kg ⁻¹) |
|-------------------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|---|------------------------------|---|---|
| <i>Acalypha cupricola</i> | Euphorbiaceae | Perennial | Xylopod | 29.9 (6.5) | 10.5 (1.6) | 416 (182) | 18.0 (8,3) | 168.1 (132.6) |
| <i>Andropogon schirensis</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 46.8 (13.6) | 14.5 (4.2) | 920 (354) | 4.7 (1.7) | 12.2 (12.0) |
| <i>Anisopappus davyii</i> | Asteraceae | Perennial | Geophyte | 11.7 (7.4) | 23.4 (4.1) | 282 (46) | 84.0 (36.3) | 664.3 (460.3) |
| <i>Ascolepis metallorum</i> | Cyperaceae | Perennial | Graminoid | 14.8 (2.7) | 16.1 (2.8) | 103 (41) | 141.1 (42.1) | 336.0 (194.9) |
| <i>Brachiaria serrata</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 21.2 (6.8) | 17.4 (3.3) | 414 (201) | 5.6 (2.5) | 7.3 (4.9) |
| <i>Bulbostylis cupricola</i> | Cyperaceae | Annual | Graminoid | 8.7 (2.1) | 39.3 (7.6) | 27 (11) | 17.9 (6.8) | 35.6 (28.2) |
| <i>Bulbostylis filamentosa</i> | Cyperaceae | Perennial | Graminoid | 20.4 (3.5) | 17.9 (3.3) | 72 (8) | 31.9 (22.7) | 26.5 (15.9) |
| <i>Bulbostylis macra</i> | Cyperaceae | Perennial | Graminoid | 14.6 (8.4) | 40.3 (8.1) | 58 (23) | 11.2 (4.9) | 14.8 (6.7) |
| <i>Chloris cf. virgata</i> | Poaceae | Annual | Graminoid | 23.8 (6.4) | 16.7 (4.7) | 229 (103) | 6.3 (3.1) | 4.9 (3.8) |
| <i>Chlorophytum subpetiolatum</i> | Asparagaceae | Perennial | Geophyte | 4.3 (3.4) | 10.6 (3.2) | 710 (718) | 33.1 (11.7) | 227.8 (179.6) |
| <i>Crotalaria argenteotomentosa</i> | Fabaceae | Annual | Forb | 22.3 (7.9) | 16.6 (5.2) | 42 (10) | 11.4 (6.9) | 13.3 (7.5) |
| <i>Cryptosepalum maraviense</i> | Fabaceae | Perennial | Xylopod | 11.9 (3.4) | 5.6 (1.2) | 1264 (258) | 11.0 (3.1) | 3.1 (1.1) |
| <i>Cyanotis longifolia</i> | Commelinaceae | Perennial | Geophyte | 12.2 (7.5) | 18.8 (6.9) | 651 (425) | 42.2 (17.6) | 295.9 (344.7) |
| <i>Diheteropogon grandiflorus</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 63.0 (12.6) | 10.7 (1.8) | 1820 (350) | / | / |
| <i>Diplolophium marthozianum</i> | Apiaceae | Perennial | Xylopod | 18.7 (4.0) | 9.7 (1.9) | 4676 (1175) | 6.4 (0.8) | 202.1 (213.8) |
| <i>Endostemon dissitifolius</i> | Lamiaceae | Perennial | Xylopod | 25.5 (3.2) | 12.4 (1.35) | 664 (183) | 8.6 (3.4) | 63.4 (43.5) |
| <i>Eriosema englerianum</i> | Fabaceae | Perennial | Xylopod | 36.5 (8.1) | 12.8 (2.36) | 15538 (5020) | 8.4 (1.2) | 3.3 (1.9) |
| <i>Gladiolus ledoctei</i> | Iridaceae | Perennial | Geophyte | 63.3 (7.3) | 4.0 (1.9) | 405 (64) | 5.8 (0.7) | 57.8 (31.6) |
| <i>Haumaniastrum praealtum</i> | Lamiaceae | Perennial | Xylopod | 12.1 (1.1) | 14.1 (0.6) | 2841 (1026) | 30.7 (15.9) | 117.8 (23.4) |
| <i>Haumaniastrum robertii</i> | Lamiaceae | Annual | Forb | 7.1 (3.9) | 44.4 (7.6) | 60 (23) | 52.0 (33.3) | 1692.7 (644.8) |
| <i>Haumaniastrum rosulatum</i> | Lamiaceae | Perennial | Xylopod | 1.2 (0.6) | 18.0 (6.6) | 1780 (756) | 48.0 (25.2) | 83.5 (39.0) |

| | | | | | | | | |
|----------------------------------|----------------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|---------------|
| <i>Trachypogon spicatus</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 62.5 (10.8) | 11.9 (3.0) | 967 (253) | 3.7 (1.3) | 3.0 (1.8) |
| <i>Hibiscus rhodanthus</i> | Malvaceae | Perennial | Xylopod | 20.6 (8.0) | 10.2 (1.7) | 2099 (539) | 20.0 (9.0) | 32.8 (13.4) |
| <i>Ipomoea recta</i> | Convolvulaceae | Perennial | Geophyte | 6.8 (2.7) | 15.8 (1.7) | 148 (108) | 99.4 (49.1) | 108.5 (68.3) |
| <i>Justicia elegantula</i> | Acanthaceae | Perennial | Xylopod | 14.6 (6.6) | 19.2 (4.24) | 257 (113) | 28.0 (15.8) | 77.2 (48.4) |
| <i>Loudetia simplex</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 56.4 (10.6) | 11.5 (2.0) | 645 (199) | 4.0 (2.4) | 3.1 (2.0) |
| <i>Tristachya superba</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 63.4 (11.5) | 11.2 (2.64) | 2113 (801) | 3.1 (0.8) | 1.6 (1.1) |
| <i>Monocymbium cerasiiforme</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 26.3 (3.3) | 19.2 (2.18) | 483 (123) | 6.5 (3.4) | 19.6 (9.5) |
| <i>Oxalis obliquifolia</i> | Oxalidaceae | Perennial | Geophyte | 0.4 (0.3) | 39.3 (15.9) | 78 (101) | / | / |
| <i>Pandiaka carsonii</i> | Amaranthaceae | Perennial | Geophyte | 17.7 (4.7) | 14.8 (3.0) | 47 (15) | 1872.4 (820.8) | 508.3 (493.4) |
| <i>Pimpinella acutidentata</i> | Apiaceae | Perennial | Xylopod | 1.8 (1.1) | 21.1 (3.9) | 4103 (1821) | 13.2 (3.7) | 6.3 (4.9) |
| <i>Poaceae sp6</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 39.3 (6.2) | 12.0 (2.12) | 1232 (297) | 7.8 (1.9) | 9.4 (6.3) |
| <i>Rhynchne rottboellioides</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 49.8 (7.25) | 10.3 (1.4) | 534 (104) | 3.1 (1.4) | 1.5 (1.0) |
| <i>Schizachyrium brevifolium</i> | Poaceae | Annual | Graminoid | 6.1 (1.7) | 57.5 (21.0) | 24 (9) | / | / |
| <i>Scleria bulbifera</i> | Cyperaceae | Perennial | Graminoid | 36.8 (7.5) | 17.9 (6.0) | 424 (157) | 3.7 (1.6) | 2.5 (1.2) |
| <i>Tristachya bequaertii</i> | Poaceae | Perennial | Graminoid | 44.1 (10.0) | 18.2 (1.8) | 795 (374) | 5.2 (2.1) | 4.4 (0.3) |
| <i>Xerophyta equisetoides</i> | Velloziaceae | Perennial | Chamephyte | 29.5 (8.81) | 8.3 (1.13) | 2239 (1940) | 6.9 (1.8) | 324.0 (206.7) |

Reference

APG III 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**: 105-121

Figure A1: Niche breadth of the 37 species along the copper gradient. Each dot represents a quadrat where the species is found. The X-axis represents the soil copper concentration. Most species have a narrow niche, being restricted to either metal poor or metal rich soil. Few species are present along the whole gradient (e.g. *Acalypha cupricola*, *Andropogon schirensis* and *Loudetia simplex*). Most species occurring on the lowermost soil copper concentrations are absent on soil with copper concentration > 1000 mg.kg⁻¹.



Annexe 4

Table A1: Regression tables for the 6 morphological and 2 chemical traits along the copper gradient.

| | Goma | | | Orthodoxe | | | Fungurume | | | Zikule | | | Kinsevere | | |
|------------------------|-------|----------------|-----|-----------|----------------|-----|-----------|----------------|-----|--------|----------------|-----|-----------|----------------|----|
| | Slope | R ² | p | Slope | R ² | p | Slope | R ² | p | Slope | R ² | p | Slope | R ² | p |
| <i>VH</i> | -18.3 | 0.53 | *** | -6.94 | 0.47 | *** | 7.8 | 0.75 | *** | 1.34 | 0.1 | ns | -4.66 | 0.47 | * |
| <i>LA</i> | -1.1 | 0.48 | *** | -0.46 | 0.34 | *** | 0.23 | 0.36 | *** | -0.11 | 0.12 | ns | -0.18 | 0.14 | ns |
| <i>RD</i> | -0.4 | 0.21 | *** | -0.07 | 0.14 | * | 0.38 | 0.62 | *** | 0.04 | 0.12 | ns | 0.08 | 0.39 | * |
| <i>SLA</i> | 1.1 | 0.04 | ns | -0.19 | 0 | ns | -1.97 | 0.44 | *** | -2.14 | 0.52 | *** | -0.01 | 0 | ns |
| <i>LWC</i> | 0 | 0.11 | * | 0.01 | 0.07 | ns | -0.01 | 0.38 | *** | -0.2 | 0.41 | ** | -0.01 | 0.08 | ns |
| <i>CD</i> | 0.5 | 0.14 | ** | 0.18 | 0.02 | ns | -0.1 | 0.03 | ns | 0.12 | 0.03 | ns | -0.48 | 0.25 | ns |
| <i>Cu_{pl}</i> | 0.5 | 0.39 | *** | 0.66 | 0.61 | *** | -0.09 | 0.07 | ns | 0.03 | 0.02 | ns | 0.4 | 0.62 | ** |
| <i>Co_{pl}</i> | 2.1 | 0.72 | *** | 1.27 | 0.59 | *** | 0.69 | 0.59 | *** | -0.23 | 0.08 | ns | -0.08 | 0.04 | ns |

Table A2: Within population coefficients of variation (a) and range (b) of the different traits

a)

| | <i>Goma</i> | <i>Orthodoxe</i> | <i>Fungurume</i> | <i>Zikule</i> | <i>Kinsevere</i> |
|---------------------------|-------------|------------------|------------------|---------------|------------------|
| <i>Vegetative height</i> | 0.80 | 0.88 | 0.86 | 0.34 | 0.41 |
| <i>Leaf area</i> | 1.06 | 0.74 | 0.50 | 0.47 | 0.52 |
| <i>Rooting depth</i> | 0.56 | 0.19 | 0.72 | 0.16 | 0.18 |
| <i>Specific leaf area</i> | 0.20 | 0.23 | 0.28 | 0.28 | 0.27 |
| <i>Leaf water content</i> | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.03 | 0.03 |
| <i>Clonal distance</i> | 0.91 | 0.89 | 0.83 | 0.93 | 1.31 |
| <i>Cu_{pl}</i> | 1.01 | 0.80 | 0.43 | 0.23 | 0.66 |
| <i>Co_{pl}</i> | 1.51 | 1.34 | 1.27 | 2.02 | 0.54 |

b)

| | <i>Goma</i> | <i>Orthodoxe</i> | <i>Fungurume</i> | <i>Zikule</i> | <i>Kinsevere</i> |
|---------------------------|-------------|------------------|------------------|---------------|------------------|
| <i>Vegetative height</i> | 57.0 | 34.0 | 34.0 | 32.5 | 25.5 |
| <i>Leaf area</i> | 123 | 24.9 | 31.2 | 26.5 | 15.4 |
| <i>Rooting depth</i> | 18.0 | 4.0 | 18.0 | 3.0 | 3.0 |
| <i>Specific leaf area</i> | 15.9 | 16.2 | 19.9 | 11.5 | 15.5 |
| <i>Leaf water content</i> | 9.1 | 11.1 | 8.5 | 10.2 | 11.3 |
| <i>Clonal distance</i> | 59.0 | 50.0 | 26.0 | 17.0 | 22.0 |
| <i>Cu_{pl}</i> | 257 | 135 | 242 | 21.1 | 175 |
| <i>Co_{pl}</i> | 999 | 670 | 1686 | 322 | 13.4 |

Annexe 5

Variation morpho-fonctionnelle chez *Cyanotis longifolia* le long d'un gradient de contamination en cuivre : plasticité ou adaptation locale ?

Introduction

Cyanotis longifolia Benth. (Commelinaceae) est une espèce métallophyte facultative pérenne commune en Afrique Tropicale. Cette plante se retrouve le long des gradients d'ETM des collines de cuivre du Katanga. Elle montre une grande variabilité dans sa morphologie le long de gradients de contamination naturelle (Chapitre 4), ce qui a même conduit à sa subdivision en différentes entités taxonomiques. Ainsi, les individus croissant sur les sols les plus contaminés sont de taille réduite et montrent une pubescence très développée; ils ont été décrits comme une espèce distincte et endémique du cuivre (*Cyanotis cupricola* P.A. Duvign.). Toutefois, la validité de ce taxon est mise en doute (Faucon et al 2010). Une étude préliminaire sur base de caractères observés sur herbiers et sur le terrain semble confirmer que *C. cupricola* serait inclus dans la grande variabilité morphologique de *C. longifolia* (Grandjean 2013). D'après Malaisse et al (1979), *C. longifolia* est une espèce hyper-accumulatrice de cuivre et de cobalt avec un maximum de concentration en cuivre de 608 mg.kg⁻¹ et un maximum de concentration en cobalt de 4197 mg.kg⁻¹.

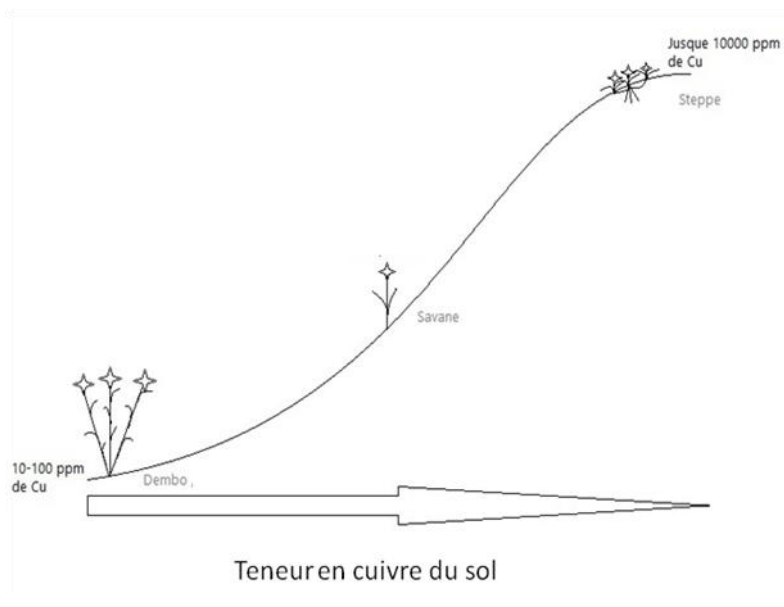


Figure 1 : représentation schématique de la répartition des sous-populations de *C. longifolia* sur une colline de cuivre et des caractéristiques morphologiques principales des individus de ces populations. En bas du gradient, les plantes ont des tiges se développant en faisceaux et sont de grande taille (30-60cm), à mi-pente (en savane), les plantes ont généralement une ou deux tiges, des feuilles souvent fort velues et ont une taille moyenne (10-20cm), au sommet de la colline, sur les sols les plus contaminés en cuivre, les plantes ont un port prostré, des stolons tracant et une petite taille (1-10 cm).

C. longifolia étant une métallophyte facultative, elle est un bon sujet d'étude pour mettre en évidence la divergence de traits fonctionnels sous les pressions de sélection exercées par les sols métallifères (Lange et al 2016). L'étude de différences de traits fonctionnels de plantes provenant d'origines édaphiques variées et leur mise en culture sur des sols à concentrations en cuivre différentes permettrait ainsi d'étudier l'origine de la variation observée *in situ* et de quantifier la proportion de la variance due à la plasticité phénotypique et à des différences génétiques ou épigénétiques (différences entre populations ou au sein des populations). Ainsi, en comparant l'effet des traitements et des communautés d'origines sur la diversité phénotypique, on peut espérer mettre en évidence ces différentes sources de variation

Matériel et méthode

Récolte des graines et mise en culture

Des graines de *C. longifolia* ont été récoltées le long du gradient de cuivre sur 7 collines cuprifères du Katanga. Sur chaque colline, le long du gradient de contamination, 3 sous-populations ont été récoltées, dans la mesure des disponibilités, correspondant à trois secteurs du gradient : peu (dembo), moyennement (savane), hautement contaminé (steppe ; voir figure 1). Ces secteurs ont été déterminés sur base de la physionomie de la végétation car aucune mesure de teneur en métal n'a pu être réalisée. Les graines utilisées pour la suite de l'expérience ont été soigneusement triées à la loupe binoculaire afin de ne conserver que les graines qui semblaient viable. Cet examen a également permis de contrôler la présence d'une enveloppe translucide autour de la graine, qui est le meilleur caractère permettant de distinguer *C. longifolia* des espèces proches en Afrique tropicale (Faden 2012, figure 2).



Figure 2 : photographie des graines de *C. longifolia* de 3 populations différentes montrant l'enveloppe translucide entourant la graine. Gauche : Goma (dembo), Centre : Kansalawile (Steppe), Droite : Kakalawe (Savane).

L'expérience a été mise en place en phytotron dans lequel des conditions comparables au climat du Haut-Katanga ont été maintenue (11h de lumière, 11h d'obscurité et 2h de

transition, 70% d'humidité relative et 20°C). Environ 380 graines ont été semées sur un substrat composé à 2:5 de sable, 2:5 de terreau stérilisé et 1:5 d'argile acide (pH=4) afin d'obtenir un substrat à pH=6, afin de s'approcher des propriétés physiques et chimiques des sols rencontrés *in situ*. Ces substrats ont ensuite été contaminés avec une solution de sulfate de cuivre (CuSO₄.5H₂O) afin d'obtenir trois conditions: une condition témoin avec une faible concentration de cuivre (20 mg kg⁻¹ Cu), une condition avec une teneur modérée en cuivre (100 mg kg⁻¹ Cu) et une condition avec une haute teneur en cuivre (500 mg kg⁻¹ Cu) en suivant les concentrations précédemment utilisées dans d'autres études (Lange et al 2016). Le 21 décembre 2016, pour les sous-populations dont la quantité de graines était suffisante, 20 graines par sous-population ont été semées sur chaque traitement. Pour les autres sous-populations, le lot de graines disponibles a été divisé en 3. Les pots ont été arrosés avec de l'eau déminéralisée tous les 2 jours environs. Des relevés de germination, survie et croissance (nombre de feuilles) ont été réalisés 1 à 3 fois par semaine pendant toute la période de culture des plantes. Les premiers relevés ont été effectués le 16 janvier 2017, et ce jusque début mai. Lors de chaque relevé, le nombre de feuilles ainsi que la présence éventuelle de rejets et drageons (reproduction clonale) a été noté. Au total, 139 graines, toutes populations confondues, ont germé.

Mesure des traits

Après 6 mois de culture les plantes ont été récoltées. Une série de traits fonctionnels en lien avec la l'architecture, l'acquisition et la conservation des ressources ainsi que la tolérance aux ETM ont été mesurés (Pérez-Harguindeguy et al 2013). La hauteur totale de la plante (VH), la hauteur de la tige et le nombre de feuille par tige ont été mesurés. Ces deux dernières mesures ont permis de calculer la densité de feuilles par unité de longueur de tige (FD). La surface foliaire (LA) a été mesurée sur base de scan des feuilles à l'aide du logiciel ImageJ. La teneur en matière sèche foliaire (LDMC) a été mesurée sur deux feuilles pesées fraîches (à la récolte), puis sèches après un passage de 48h dans une étuve à 105°C. La surface foliaire spécifique (SLA) a été calculée comme suit: surface foliaire fraîche/masse sèche. L'épaisseur foliaire a été mesurée au pied a coulisse en dehors de la nervure centrale, à la moitié de la longueur de la feuille. La biomasse sèche, aérienne et souterraine, ont été mesurées après un séchage de 72h dans une étuve à 105°C et ont permis de calculer le rapport biomasse aérienne/souterraine (RapBiom).

Analyses

Le taux de survie très faible des plantes (120 plantes au total dont 65 sur lesquelles les traits précités étaient mesurables) n'a pas permis l'utilisation d'analyse de la variance à facteurs croisés. Ainsi nous n'avons pas pu tester l'existence de différences de valeurs de traits en

comparant à la fois les populations et les traitements (manque de puissance dû au faible effectif). Nous avons donc exploré la variance des traits entre populations et entre traitement à l'aide d'une analyse en composante principale. Deux analyses de la variance multiple par permutation (PERMANOVA) ont été utilisées pour tester les différences multivariées entre traitements et entre communauté d'origine indépendamment. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel R.

Résultats et discussion

On observe que les deux premiers axes de l'ACP expliquent près de 80% de la variance totale (Figure 3). L'axe 1 est positivement corrélé à la hauteur, la surface foliaire et la surface foliaire spécifique et négativement à la densité de feuilles. L'axe 2 est positivement corrélé à la teneur foliaire en matière sèche et négativement à l'épaisseur foliaire (Figure 3a). On observe également que les plantes cultivées sur des substrats différents ne montrent pas les mêmes valeurs de traits (PERMANOVA $F=7.0$, $R^2= 0.18$, $p<0.001$, figure 3b).

Les plantes se développant sur sol témoins et contenant 100 mg.kg^{-1} Cu possèdent des traits qui se recouvrent largement. Par contre, les individus se développant sur un substrat plus contaminé (500 mg.kg^{-1}) sont, en moyenne, plus petites, ont des feuilles plus épaisses et investissent plus dans la biomasse aérienne que racinaire en comparaison avec les plantes des autres traitements. Cette différence pourrait refléter un effet de la toxicité de Cu dans le sol mais également des différences de survie entre population. En effet, en observant la figure 3c, on remarque qu'il y a également de grandes différences de valeurs de traits entre les populations et sous-populations d'origine (PERMANOVA $F=4.2$, $R^2=0.34$, $p<0.001$).

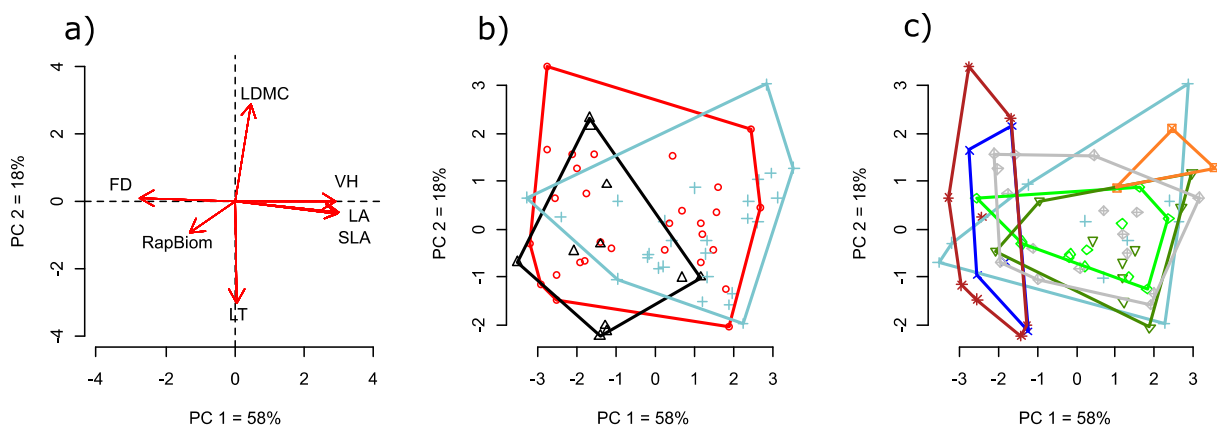


Figure 3 : Analyse en composantes principales des traits de *C. longifolia* de 7 sous-populations cultivées en jardin commun sur 3 concentrations en cuivre. Les deux premiers axes expliquent 76% de la variance totale. a) Répartitions des vecteurs représentant les traits dans l'espace. b) Représentation des trois traitements, chaque polygone représente un traitement : bleu - témoin, rouge - 100 mg.kg^{-1} Cu ; noir - 500 mg.kg^{-1} Cu. c) Représentation des différentes sous-populations : Kansalawile (savane)-vert foncé, Kinsevere (savane)-vert clair, Kansalawile (steppe)-Bleu foncé, Kakavilondo (dembo)-Bleu pale, Orthodoxe (steppe)-marron, Kakavilondo (savane)- Gris. Abréviations : voir texte.

En particulier les individus provenant des steppes (zone fortement contaminées) des collines Orthodoxe et de Kansalavile montrent des traits particuliers, très différents des autres populations, tous traitements confondus. Les individus provenant de ces steppes, qui sont naturellement plus petits *in situ* (comparer avec les valeurs d'Orthodoxe dans le chapitre 4) conservent donc un phénotype différent en culture. Ceci pourrait donc être un signe de l'origine génétique de la petite taille, la SLA faible et le port plus tassé des populations des sols fortement contaminés. Il faudrait cependant confirmer ces résultats préliminaires sur base d'un plus grand nombre d'individus, en testant également l'effet du cobalt sur ces mêmes traits. De plus, dans le cas de la mise en place d'une expérience de plus grande taille, il serait intéressant de mesurer les mêmes traits sur les plantes mères et sur les plantes mises en culture afin de mettre en évidence les traits qui montrent le plus de conservatisme, et ceux qui sont les plus plastique en réponse à la concentration en ETM du sol.



Figure 4 : Illustration de la diversité phénotypique de 4 sous- populations de *C. longifolia* en culture. De gauche à droite : Mikembo (sol non métallifère – non incluses dans les analyses), Kinsevere (savane), Kansalavile (steppe), Kakavilondo (dembo).

Bibliographie

Faucon, M. P., Meersseman, A., Shutcha, M. N., Mahy, G., Luhembwe, M. N., Malaisse, F., & Meerts, P. (2010). Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution* **143**: 5-18.

Grandjean, C. (2013). Variation phénotypique du couple *Cyanotis longifolia* et *C. cupricola* (Commelinaceae) en relation avec la contamination naturelle en Cu/Co du sol au Katanga (R.D.C). Mémoire de master. 80 pages.

Malaisse, F., Grégoire, J., Morrison, R. S., Brooks, R. R., & Reeves, R. D. (1979). Copper and cobalt in vegetation of Fungurume, Shaba Province, Zaïre. *Oikos* **33**: 472-478.

Lange, B., Ent, A., Baker, A. J. M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., ... & Faucon, M. P. (2016). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytologist* **213**: 537-551.

Faden, R. B. (2012). Commelinaceae. *Flora of Tropical East Africa*. 245 pages.

Les mécanismes d'assemblage des communautés de plantes est un sujet central de l'écologie. Ces dernières années, des efforts importants ont été mis en œuvre pour comprendre le fonctionnement de nombreux types d'écosystèmes ainsi que les processus agissant lors de leur mise en place et permettant la coexistence des espèces.

Cependant, bien qu'étant un sujet de prédilection pour les biologistes de l'évolution, les sites métallifères n'ont été que très peu étudiés du point de vue de leur fonctionnement, en particulier au niveau des mécanismes permettant la coexistence des espèces et leur répartition le long de gradients de concentration en métaux.

Dans cette thèse, je me penche sur ces questions en utilisant une approche basée sur les traits fonctionnels le long de gradients de concentration en métaux sur les « Collines de cuivre » du Haut-Katanga (R.D. Congo). Ces écosystèmes sont caractérisés par une flore riche qui se développe sur des gradients naturels en cuivre et en cobalt dépassant largement les concentrations considérées comme toxiques pour la plupart des plantes. En particulier, j'utilise plusieurs méthodes complémentaires afin de comprendre l'importance relative des interactions biotiques et des filtres abiotiques sur les sols pauvres et riches en métaux. J'étudie l'importance de la variabilité intraspécifique des traits par rapport au remplacement d'espèces pour expliquer les patterns de variation des communautés ainsi que l'importance des variations intra et inter-population chez une espèce à large amplitude écologique. Cette thèse apporte ainsi de nouvelles informations permettant de comprendre le fonctionnement de ces écosystèmes remarquables.

