Diversité vs uniformité combiner les approches écologiques et évolutives pour concevoir des systèmes de culture durables

Germain Montazeaud

▶ **To cite this version:**

Germain Montazeaud. Diversité vs uniformité combiner les approches écologiques et évolutives pour concevoir des systèmes de culture durables. Biodiversité. Montpellier SupAgro, 2019. Français. NNT : 2019NSAM0042 . tel-04106831

HAL Id: tel-04106831
https://theses.hal.science/tel-04106831

Submitted on 25 May 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR
DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Biologie des populations et Ecologie

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau
Portée par

Unités de recherche AGAP et CEFE

Diversité *vs* uniformité :
Combiner les approches écologiques et évolutives pour concevoir des systèmes de culture durables

Présentée par Germain Montazeaud
Le 12 Décembre 2019

Sous la direction de Hélène Fréville, Cyrille Violle, et Florian Fort

Devant le jury composé de

M. Jérôme ENJALBERT, Directeur de recherche, INRA	Rapporteur
M. Rubén MILLA, Associate Professor, Universidad Rey Juan Carlos	Rapporteur
Mme Ophélie RONCE, Directrice de recherche, CNRS	Présidente
M. Vincent Allard, Chargé de recherche, INRA	Examinateur
Mme Hélène FREVILLE, Chargée de recherche, INRA	Directrice de thèse
M. Cyrille VIOLLE, Directeur de recherche, CNRS	Co-directeur de thèse
M. Florian FORT, Maître de conférences, Montpellier SupAgro	Invité, co-encadrant

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Montpellier SupAgro

"First, the basic science[s] of ecology [and evolution] seemed to be suffering from a lack of solid empiricism, its major tenets stemming from a combination of theory and speculation based on observed natural patterns. Second, the applied science of intercropping [agronomy] appeared to be void of a systematic theoretical framework within which the voluminous and usually empirical work might be interpreted. It seemed logical that the empiricism of intercropping [agronomy] might be usefully put to the service of ecology [and evolution], whereas the theory[ies] of ecology [and evolution] might similarly form the basis of a framework for intercropping [agronomy]"

Adapted from John Vandermeer (Professor of ecology and evolutionary biology, University of Michigan), *The ecology of intercropping*, 1992

Remerciements

Il y a quelques années, j'affirmais sans sourciller à mes professeurs, à ma famille, à mes amis que je n'étais pas intéressé par le doctorat, que l'exercice de la thèse n'était pas fait pour moi. Quelle ironie du sort : me voilà aujourd'hui docteur, en train de réfléchir à la meilleure façon de remercier toutes ces personnes pour m'avoir permis de le devenir. C'est avec satisfaction et fierté que je regarde aujourd'hui ce parcours, et je ne regrette pour rien au monde de m'y être engagé.

Comme une grande partie des projets conduits dans la recherche publique, le doctorat met en lumière un seul et unique individu, dans ce cas le doctorant. C'est sur lui que se focalise l'attention dès le début de la thèse, et bien plus encore lors de l'exercice final : la soutenance. Une telle focalisation lui permet de s'emparer de son sujet et d'y consacrer toute sa réflexion et son énergie. Pour preuve, les pronoms possessifs s'installent rapidement dans le vocabulaire courant du doctorant : « ma thèse », « mes manips », « mon papier », etc. Cette représentation du travail de recherche, bien qu'utile et vertueuse par certains aspects, est cependant biaisée. Elle ne reflète pas l'aspect collectif et collaboratif d'un tel projet : pas une seule page de ce manuscrit n'aurait pu voir le jour sans le concours d'une multitude de personnes. Je souhaite donc ici leur rendre hommage en tâchant d'illustrer leurs contributions, aussi subtiles et diverses qu'elles soient.

Je commencerai par remercier mes parents qui m'ont élevé et éduqué dans un cadre plus que favorable à plusieurs égards. Il faut sans doute attribuer à cette éducation mon goût pour les choses de la « Nature », et plus particulièrement pour les relations homme-nature dans leur version la plus concrète, c'est-à-dire l'agriculture. Les racines agricoles présentes à la fois du côté paternel et maternel ont toujours été un centre d'intérêt et une fierté pour moi, et il m'apparaît aujourd'hui difficile d'envisager un avenir professionnel éloigné de l'agriculture. Au-delà de cet ancrage, cette thèse m'a permis de comprendre que mes parents m'avaient également transmis certaines des qualités nécessaires pour m'épanouir dans la recherche. J'attribuerai à ma maman la curiosité et le goût pour la lecture et l'écriture, et à mon papa la rigueur et la persévérance. Enfin, je me dois de les remercier pour leur soutien et leur accompagnement tout au long de mes (longues) études, à la fois sur le plan moral et matériel.

Tout au long de ces études a grandi en moi une fascination pour le monde vivant et une volonté irrépressible de le comprendre. Pour cela, je remercie mes nombreux enseignants et professeurs qui ont su attiser cette curiosité et la nourrir de connaissances. Je pense notamment à mes professeurs de biologie : Mme Cardinot au collège Louis Timbal à Châteauponsac, Mme Loméro-Meunier au lycée Jean Giraudoux à Bellac, Mme Fuma et Mr Huile au lycée Camille Guérin à Poitiers.

Mon intérêt pour les sciences de la vie et mon affinité pour les domaines de l'agriculture et l'alimentation m'ont naturellement orienté vers un cursus d'ingénieur agronome. Durant cette formation, j'ai à nouveau été passionné par les enseignements, même si je n'ai pris que tardivement la mesure de la chance que nous avons, en France, de disposer d'un enseignement supérieur aussi qualitatif à moindre coût. Parmi toute l'équipe enseignante de Montpellier

SupAgro, je voudrai particulièrement remercier les Professeurs Jacques David et Jean-Luc Regnard, et Isabelle Martin-Grande. Ce trio peut être fier de la qualité de la formation qu'il a mise en place avec l'option APIMET-SEPMET. Malgré une charge de travail relativement importante, cette dernière année de formation fût pour moi un régal, et un solide tremplin vers le monde de la recherche. Je lui souhaite le meilleur pour l'avenir !

Il semblerait que toutes ces années passées à écouter et à apprendre m'aient donné l'envie de transmettre à mon tour. C'est sans aucune hésitation que j'ai saisi l'opportunité d'enseigner dès le début de ma thèse en m'engageant dans un monitorat à l'université de Montpellier. J'ai eu la chance d'y encadrer des étudiants de différents niveaux, sur différents types d'activités. Je les remercie pour tout ce qu'ils m'ont apporté : la patience, l'humilité, et surtout leur bonne humeur ! Familier d'un système d'enseignement bien différent, j'ai été épaté par l'efficacité et l'organisation de l'université, qui est un espace pourtant beaucoup plus contraint que les écoles d'ingénieur à la fois en terme d'infrastructures, d'effectifs, et de moyens. Le travail et l'engagement des personnels enseignants y sont énormes, et je l'ai particulièrement ressenti en tant que moniteur. Je tiens à remercier les professeurs responsables des modules d'enseignement dans lesquels je suis intervenu pour leur temps et pour leur engagement : Pierrick Labbé, Mélanie Debiais-Thibaud et Pascal Gantet, ainsi que l'ensemble des personnels techniques qui assurent la préparation et le bon déroulement des cours au quotidien.

Le cadre familial, l'éducation, l'enseignement, … j'avais donc toutes les cartes en main pour me lancer dans cette « aventure doctorale ». Cette combinaison de facteurs, bien que favorable, n'aurait cependant pas suffi à me faire franchir le pas si je n'étais pas tombé, presque par hasard, sur le sujet de thèse dont fait l'objet ce manuscrit. J'ai alors découvert une thématique en rupture par rapport aux problématiques dominantes dans mon domaine, *i.e.* l'amélioration des plantes, impliquant plusieurs disciplines, et jonglant subtilement entre une facette très appliquée et une facette beaucoup plus fondamentale. J'en viens donc à remercier les trois personnes à l'origine de ce sujet, mes encadrants Hélène Fréville, Cyrille Violle, et Florian Fort. Après trois années à vos côtés, je ne suis plus du tout étonné de la qualité initiale du sujet de thèse. Je ne peux que saluer votre aptitude à travailler ensemble et à faire dialoguer les disciplines : bravo ! Il est bien d'autres choses pour lesquelles je dois vous remercier. Tout d'abord pour le temps et l'énergie que vous m'avez consacrés pour me préparer au concours de l'Ecole Doctorale, avant même le début des hostilités, donc. Je vous remercie évidemment pour la qualité de votre encadrement tout au long de ces trois années. Je rappellerai ici que les encadrants jouent un rôle central dans le déroulement d'une thèse, probablement beaucoup plus important que ce que la majorité d'entre eux s'imaginent. Hélène, ta bonne humeur et ton optimisme m'ont très souvent rassuré, et remotivé dans les moments plus compliqués. Je suis admiratif de ton ouverture d'esprit, de ta curiosité, et de ta capacité à quitter ta zone de confort pour construire des projets riches, ambitieux, et stimulants. Je te remercie également pour ton aide sur les multiples expériences. Cyrille, tu partages avec Hélène cette forme de courage et d'ambition scientifiques qui se traduisent par ton engagement dans de nombreux projets, parfois très éloignés les uns des autres. Ce fût très inspirant de travailler dans cette atmosphère. J'ai

particulièrement apprécié ton côté provocateur, et je me retrouve totalement dans une partie de ta philosophie de recherche qui consiste à aller là où les autres ne vont pas. Au-delà de ça, j'ai toujours pu compter sur toi lorsque j'ai en eu besoin, et je te remercie pour cette disponibilité. Florian, je ne peux que souligner tes nombreuses qualités d'encadrement : disponibilité, écoute, pédagogie, anticipation, organisation, etc. J'avais déjà bénéficié de ces qualités en APIMET, mais quel confort d'être suivi par quelqu'un comme toi en thèse. Je te remercie également pour ton investissement fort sur la partie expérimentale, notamment sur les mesures de traits racinaires. Un clin d'œil final pour saluer ton talent pour les figures illustratives qui m'ont été bien utiles lors des diverses présentations : merci !

Durant ces trois dernières années, j'ai eu la chance d'évoluer dans deux équipes scientifiques : GE²pop (UMR AGAP) et ECOPAR (UMR CEFE). J'ai ainsi pu m'immerger de façon simultanée dans deux champs de recherche : la génétique et l'amélioration des plantes avec GE²pop, et l'écologie fonctionnelle avec ECOPAR. Ces deux affectations m'ont permis de découvrir des approches totalement différentes du monde vivant, mais aussi de la recherche. J'ai vécu cette expérience d'une façon très positive, et je pense que ma personnalité scientifique s'en trouve aujourd'hui considérablement enrichie. Je voudrais donc remercier l'ensemble des chercheurs, ingénieurs, techniciens, et personnels non-permanents avec qui j'ai eu la chance d'interagir, en m'excusant par avance de ne pas pouvoir citer tout le monde.

Du côté de GE²pop, je pense particulièrement à Pierre Roumet qui a joué un rôle fort dans mon « acclimatation » au monde de la recherche, puisque c'est avec lui et Martin Ecarnot que j'ai réalisé mon premier stage dans un laboratoire il y a maintenant 5 ans. J'ai été particulièrement heureux de vous retrouver et de travailler de nouveau avec vous ! Je remercie également Jacques David, Jean-Marie Prosperi, Johanna Girodolle, Vincent Ranwez, Muriel Tavaud, et toutes les autres personnes qui m'ont accordé leur temps et/ou qui se sont engagés dans des projets avec moi. Je ne saurai oublier le travail inestimable des techniciens et des plateformes, qui m'ont permis de mettre en place et de conduire mes expérimentations dans les meilleures conditions. Je pense plus particulièrement à Aline Rocher, qui a assuré le suivi sur le long court de mon expérimentation au champ, mais également à Frédéric Compan et à Gérard Poux. Enfin, je remercie Véronique Viader pour son investissement sur les expériences en phytotrons. Je tiens également à remercier les agents de la plateforme DIASCOPE (INRAE) et de la plateforme de bio-informatique South Green (CIRAD). L'équipe a la chance d'avoir un secrétariat et un service informatique de proximité : mille mercis à Régine Valette-Teyssier, Nathalie Deroon, Cédric Goby, et Angélique Adiveze pour leur disponibilité au quotidien ! Enfin, je remercie tous mes collègues doctorants pour les moments que nous avons pu partager au bureau, en colloque, et ailleurs : Margaux, Josselin, Yacine, Céline, Pauline. Courage à ceux qui sont encore là en attendant de trinquer avec vous lors de votre soutenance !

L'intégration dans l'équipe ECOPAR était a priori moins évidente, puisque je n'y connaissais quasiment personne et que mon bagage en écologie était plutôt léger. Malgré cela, je me suis rapidement senti à l'aise dans ce collectif. J'ai particulièrement apprécié la qualité des échanges et de l'animation scientifique. Je remercie notamment les chercheurs permanents comme Catherine Roumet et Eric Garnier pour les discussions et les réflexions que j'ai pu

partager avec eux. Je pense également aux nombreux postdocs qui sont passés par le labo et qui ont largement contribué à cette émulation : Caroline Tucker, Mar Sobral, Helena Bestova, Julie Messier, Monique Weemstra, Lucie Mahaut, et ceux que j'oublie probablement. J'ai particulièrement apprécié les échanges que nous avons eus autour de la recherche et des choix auxquels sont confrontés les jeunes chercheurs. Je remercie également François Vasseur avec qui j'ai partagé de nombreuses discussions très intéressantes. J'ai par ailleurs bénéficié de l'appui des services administratif et informatique du CEFE, et c'est toujours avec une grande efficacité qu'ils m'ont aidé dans mes démarches. Je remercie également les agents de la PACE, plateforme expérimentale dans laquelle je me suis rendu à plusieurs reprises pour traiter mes échantillons. Enfin, je remercie amicalement tous les thésards rencontrés à ECOPAR, les anciens (Jules, Agathe, Pierre), les contemporains (Floriane, Matthias, Kevin), et les nouveaux (Aurélien, Marie-Charlotte). Je n'oublierai pas l'ambiance détonante de notre bureau et les instants chaleureux que nous y avons partagés ! Je vous souhaite à tous le meilleur, et j'espère que nous serons amenés à nous recroiser rapidement.

En plus des interactions que j'ai pu avoir au sein de mes deux équipes, j'ai eu l'occasion de collaborer avec de nombreuses personnes qui ont eu la gentillesse et la générosité de m'accorder une partie de leur temps. Je suis très fier de la richesse et de la diversité des projets que j'ai pu mener grâce à eux, et je reste convaincu que cette facilité à travailler ensemble est un des atouts majeurs de la recherche publique. Je remercie dans un premier temps Delphine Luquet, Nourollah Ahmadi, et Brigitte Courtois pour avoir grandement facilité mon début de thèse en ayant contribué à la mise en place de l'expérience sur les mélanges variétaux de riz. Je remercie ensuite Cédric Goby et toute l'équipe AgroTIC (Arnaud Ducanchez, Simon Moinard, Guilhem Brunel) pour m'avoir aidé à développer un capteur permettant de mesurer la hauteur des plantes et ainsi m'avoir épargné de nombreuses heures de souffrance au soleil. Je remercie également Elsa Ballini et Jean-Benoit Morel pour les discussions et les collaborations stimulantes que nous avons pu avoir autour du lien entre la diversité intra-spécifique et la résistance aux pathogènes. Pour les aspects génétiques et statistiques de cette thèse, j'ai eu la chance de travailler avec Timothée Flutre qui m'a accordé du temps et qui a su faire preuve d'une grande pédagogie : mille mercis à lui. Je dois enfin remercier plus particulièrement Sylvain Gandon qui a joué un rôle central dans ce travail. Je le remercie pour sa confiance tout d'abord, il en fallait pour s'engager avec moi sur le terrain théorique alors que je n'y étais pas du tout initié. Je le remercie ensuite pour son temps, sa patience, et sa gentillesse. Je lui reste infiniment reconnaissant pour tout ce qu'il m'a apporté et j'espère que j'aurai à nouveau la chance de travailler avec lui à l'avenir. Mon immersion dans le champ théorique m'a également amené à travailler avec François Rousset et je suis particulièrement heureux d'avoir pu apprendre aux côté d'un chercheur aussi brillant et passionnant : merci à lui.

Je ne manquerai pas d'oublier les contributions très importantes des stagiaires qui se sont investis sur les différentes expériences : Ilyas Bouhaba et Clémence Darley sur l'expérience « riz », Nicolas Delpon et Guillaume Maillet sur l'expérience « blé dur ». Pour ceux que j'ai eu la chance d'encadrer, ce fût un réel plaisir. Je remercie également Pauline Caraglio et Aurélie Souche pour leur aide sur le chantier « racines ».

Pour m’avoir aidé à tenir mon cap et à garder une organisation efficace sur le long terme, je remercie les membres de mon comité de thèse : Sylvain Gandon, Philippe Hinsinger, Isabelle Litrico, Delphine Luquet, et Xavier Perrier.

Je remercie Vincent Allard, Jérôme Enjalbert, Ruben Milla, et Ophélie Ronce pour avoir accepté d’évaluer mon travail ainsi que pour les discussions stimulantes que nous avons pu partager le jour de la soutenance.

Je finirai par remercier ma famille et mes amis de toutes origines : les Limousins, les Poitevins, et les Montpelliérains. Les instants passés avec vous le long de ce parcours ont été de véritables bouffées d’air frais. S’il y a une chose dont je ne suis pas mécontent avec la fin de cette thèse, c’est d’avoir plus de temps pour profiter de vous tous.

Enfin, je remercie celle qui partage ma vie et qui a d’une certaine façon partagé cette aventure avec moi, ma compagne Madline. Merci pour ta bonne humeur, ton soutien indéfectible, ta patience, et tout ce qui me rend la vie plus facile lorsque tu es à mes côtés.

Table des matières

INTRODUCTION 1

1. Dynamique de la diversité intra-spécifique au cours de l'histoire évolutive des espèces cultivées 3

2. Les mélanges variétaux et le regain d'intérêt pour la diversité intra-spécifique 8

3. Les opportunités et les freins associés à la réintroduction de diversité intra-spécifique dans les agrosystèmes 11

4. Un retour nécessaire à la théorie 14

5. Objectifs de la thèse 23

CHAPITRE 1 - Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs 25

1. Présentation générale 27

2. Keywords 29

3. Abstract 29

4. Introduction 29

5. Material and Methods 32

6. Results 35

7. Discussion 38

8. Acknowledgments 42

9. References 42

Supplementary Information 45

1. Supplementary Figures and Tables 47

CHAPITRE 2 - Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: towards ecological assembly rules for varietal mixtures 55

1. Présentation générale 57

2. Keywords 58

3. Abstract 58

4. Introduction 58

5. Material and Methods 61

6. Results 64

7. Discussion 66

8. Data availability statement 68

9. Author’s contributions 68
10. Acknowledgements 68
11. References 68
Supplementary Information 81
1. Supplementary Methods 83
2. References 85
3. Supplementary Figures and Tables 86
CHAPITRE 3 - The dark side of diversity: allelic difference at a single locus decreases grain yield and increases disease severity in wheat varietal mixtures 95
1. Présentation générale 97
2. Abstract 98
3. Introduction 98
4. Methods 99
5. Results 103
6. Discussion 103
7. Data availability 105
8. Code availability 105
9. Author’s contributions 105
10. Acknowledgements 105
11. References 105
Supplementary Information 111
1. Supplementary Methods 113
2. Supplementary Figures and Tables 114
CHAPITRE 4 - Farming plant cooperation in crops 121
1. Présentation générale 123
2. Abstract 125
3. ntroduction 125
4. Methods 126
5. Results 127
6. Discussion 128
7. Data accessibility 130

8. Authors ‘contribution 130
9. Competing interests 130
10. Funding 130
11. Acknowledgments 130
12. References 130
Supplementary Information 133
1. Supplementary methods 135
2. Data availability 141
3. Code availability 141
4. References 141
5. Supplementary Figures and Tables 142
Rappel des objectifs et résultats principaux 149
DISCUSSION 153
1. Vers un compromis entre diversité et uniformité 155
2. Sélection, assemblage, et gestion dynamique des mélanges 167
3. Les espèces cultivées : des modèles pour l’écologie et l’évolution ? 177
BIBLIOGRAPHIE 187

INTRODUCTION

1. Dynamique de la diversité intra-spécifique au cours de l'histoire évolutive des espèces cultivées

Pour comprendre les enjeux liés à la diversité cultivée, il convient de rappeler brièvement les trajectoires qu'elle a empruntées au fil de l'histoire de l'agriculture et de la sélection. La diversité génétique ou diversité intra-spécifique des espèces cultivées telle que nous la connaissons aujourd'hui est issue de processus évolutifs complexes impliquant à la fois l'homme et l'environnement et agissant depuis les origines de l'agriculture, il y a environ 10 000 ans (**Figure 1**) (Harlan, 1992). La domestication des espèces sauvages est l'évènement qui a structuré la diversité initiale des espèces cultivées. Elle représente le processus évolutif d'adaptation des plantes aux environnements et aux pratiques humaines associés à l'agriculture (Gepts 2004). Cette étape est caractérisée par une diminution forte et rapide de la diversité génétique associée à une sélection importante et à une diminution de la taille efficace causée par de forts effets d'échantillonnage de la diversité sauvage (Gepts, 2004 ; Glémin et Bataillon, 2009). En résultent de multiples convergences phénotypiques entre les différentes espèces cultivées, connues sous le nom de « syndrome de domestication » (**Encadré 1**) (Harlan et al., 1973).

Suite à la domestication et jusqu'au milieu du XIX^{e} siècle, la diversité génétique des espèces cultivées a été façonnée par les agriculteurs (Harlan 1992). La sélection et les échanges de semences ont généré un large panel de variétés locales, ou variétés de pays, caractérisées par de forts niveaux de diversités inter- et intra-variétales. La sélection alors pratiquée par les agriculteurs était très empirique : lors de la récolte, les graines issues des plantes présentant les caractéristiques phénotypiques les plus favorables étaient conservées pour le semis suivant ; on parle de sélection « massale » (Gallais 2018). Cette méthode de sélection aboutissait à des variétés hétérogènes : les graines choisies par sélection massale n'étaient pas forcément génétiquement identiques. Par ailleurs, les différents génotypes d'une même variété pouvaient se croiser pendant le cycle de culture. La diversité de ces variétés était donc dynamique : on parle de variétés « populations ». Même si la diversité génétique de ces variétés était plus importante que la diversité rencontrée dans les variétés élites actuelles, elle était déjà considérablement réduite par rapport à la diversité des premières formes domestiquées (Thuillet et al. 2005 ; Haudry et al. 2007), en grande partie à cause de la sélection humaine. L'utilisation de la sélection massale et des variétés populations est aujourd'hui marginale dans les pays développés, mais elle reste importante dans beaucoup d'agrosystèmes traditionnels dans les pays du Sud (Jarvis et al. 2008).

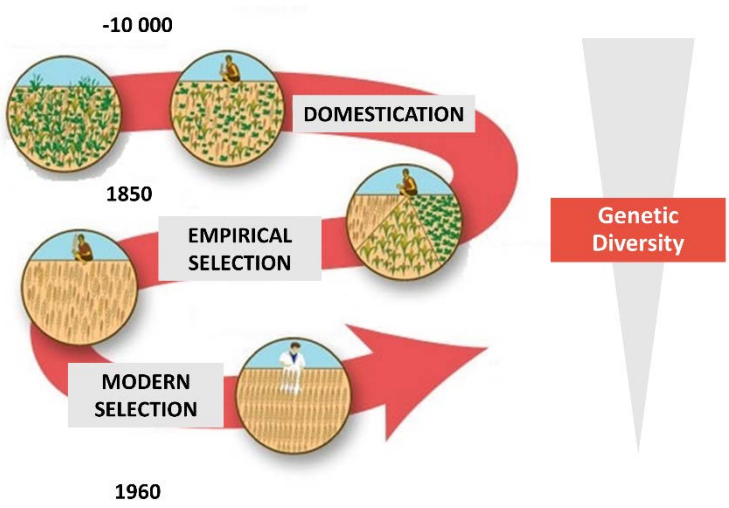


Figure 1 : *Représentation schématique de la dynamique de la diversité cultivée à travers le temps depuis la domestication jusqu'à nos jours. Adapté d'une figure originale du GNIS (https://www.gnis-pedagogie.org)*

Encadré 1 : le syndrome de domestication

Chez les espèces végétales, le syndrome de domestication décrit l'ensemble des changements phénotypiques résultant de l'adaptation des plantes aux environnements et aux pratiques agricoles (Harlan et al. 1973). Le terme de « syndrome » illustre le fait que beaucoup d'espèces ont connu les mêmes changements sur un large ensemble de caractères phénotypiques au cours de leur domestication respective. Ces changements concernent notamment les traits liés à la récolte, tels que la perte de l'aptitude à la dispersion des grains ou des fruits, la disparition de leurs enveloppes, et l'augmentation de leur taille (**Figure 2**) ; les traits liés au semis tel que la disparition progressive des mécanismes de dormance des graines et la vigueur accrue des jeunes plantules ; mais aussi de nombreux autres traits liés à l'architecture, à la phénologie ou encore à la qualité gustative et technologique des produits récoltés (Purugganan & Fuller 2009 ; Meyer et al. 2012).

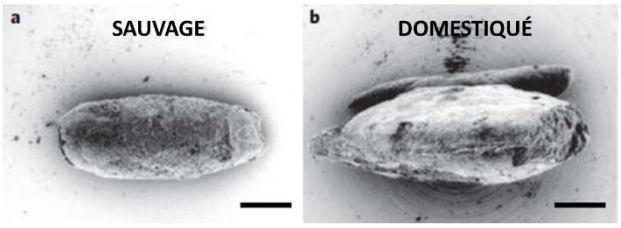


Figure 2 *: Evolution de la taille du grain chez l'engrain (Triticum monococcum) entre sa forme sauvage (a, env. -9300 ans) et sa forme domestiquée (b, env. -8000 ans). D'après Purugganan & Fuller 2009.*

La fin du XIX^{e} siècle marque le début de la sélection « moderne » qui modifiera considérablement la diversité génétique inter- et intra-variétale chez beaucoup d'espèces

cultivées. La redécouverte des travaux de Mendel, ainsi que les travaux empiriques menés par le botaniste danois Johannsen introduisent les notions d'« hérédité » et de « lignées pures » (Gallais 2018). Dès 1856, les prémices d'une nouvelle forme de sélection sont formulées par le français Louis de Vilmorin (Gayon et Zallen, 1998). Au lieu de conduire la sélection sur une « masse » d'individus, comme cela est fait jusqu'alors, ce dernier propose de la conduire sur des « lignées » généalogiques. Ces travaux conduiront à la diffusion de la « sélection généalogique » (**Figure 3A**), méthode aujourd'hui dominante chez beaucoup d'espèces cultivées, notamment chez les céréales (Gallais 2018). Cette technique de sélection consiste à isoler les descendances d'un nombre réduit de croisements et à autoféconder les individus de chaque descendance, c'est-à-dire de les contraindre à se reproduire avec eux-mêmes. Plusieurs générations successives d'autofécondation permettent ensuite de diminuer l'hétérozygotie des individus, ce qui diminue l'hétérogénéité de leur descendance ; on parle de « fixation ». La sélection intervient en même temps que la fixation : au fil des générations d'autofécondation, seules les descendances ayant les caractères les plus intéressants sont retenues (Allard 1960). Les variétés ainsi obtenues après plusieurs générations sont des lignées pures, totalement homozygotes, homogènes, et reproductibles, i.e. leurs descendances leur sont totalement similaires.

L'efficacité de la sélection généalogique et les propriétés des variétés ainsi obtenues ont largement contribué au succès de cette méthode, notamment chez les acteurs publics et privés de la sélection qui sont devenus les principaux moteurs de l'activité semencière au cours du XX^{e} siècle (Bonneuil et Thomas, 2012). Les espèces à reproduction autogame, c'est-à-dire les espèces qui s'autoféconden naturellement comme le blé, l'orge ou le riz sont aujourd'hui majoritairement commercialisées et cultivées sous forme de lignées pures (**Figure 3A**). Chez les espèces allogames, c'est-à-dire les espèces qui se reproduisent par croisements entre des plantes différentes, comme le maïs, le tournesol, ou la tomate, les variétés majoritairement cultivées sont des hybrides F1 (**Figure 3B**). En effet, en 1908, les scientifiques East (1908) et Shull (1908) notent que l'autofécondation a tendance à diminuer les rendements du maïs. Ils remarquent également que des hybrides issus de croisements entre des lignées autofécondées sont beaucoup plus performants que leurs parents, phénomène que Shull appellera « hétérosis » (Shull 1914). Le déterminisme génétique de l'hétérosis reste aujourd'hui peu connu, mais on sait qu'il est proportionnel à la distance génétique entre les parents. Ainsi, à partir des années 1930 aux Etats-Unis, puis dans les années 1950 en France, se sont développées les variétés de type hybrides F_1, qui sont issues du croisement de deux lignées pures génétiquement distantes afin de maximiser l'hétérosis (**Figure 3B**). Une différence majeure distingue les variétés de type lignées pures et hybrides F_1 des variétés populations : tous les individus qui les composent sont des clones ; on parle de variétés monogénotypiques.

La sélection généalogique et la production de lignées pures ont en fait déplacé la problématique de gestion de la diversité intra-spécifique en amont et en aval de la sélection : celle-ci dépend désormais du nombre et de la diversité des parents fondateurs utilisés dans les programmes de sélection et du nombre et de la diversité des variétés cultivées à l'échelle du territoire. La plupart des études portant sur la dynamique de cette diversité au cours du XX^{e}

siècle décrivent le même patron général (voir Bonnin et al., 2014 pour la France et Reif et al., 2005 ou van de Wouw et al., 2010 pour des patrons plus généraux). La diversité intra-spécifique a dans un premier temps fortement diminué avec la structuration du marché des semences améliorées et l'homogénéisation des pratiques agricoles avant d'atteindre son niveau le plus bas dans les années 1960 avec la Révolution Verte. Paroxysme de l'intensification agricole, la Révolution Verte a notamment reposé sur l'utilisation d'un très faible nombre de variétés à fort potentiel de rendement dans des conditions non limitantes en ressources (Evenson et Gollin, 2003). Dans les années 1970, l'érosion significative de la diversité génétique a généré une prise de conscience chez les sélectionneurs qui ont alors réintroduit de la diversité dans leurs programmes de sélection (Harlan 1972). Les niveaux de diversité atteints après les années 1970 n'ont pour autant pas rattrapé les niveaux connus avant la Révolution Verte. Aujourd'hui, l'essentiel de la production alimentaire repose donc sur l'utilisation de variétés monogénotypiques caractérisées par une diversité génétique relativement faible.

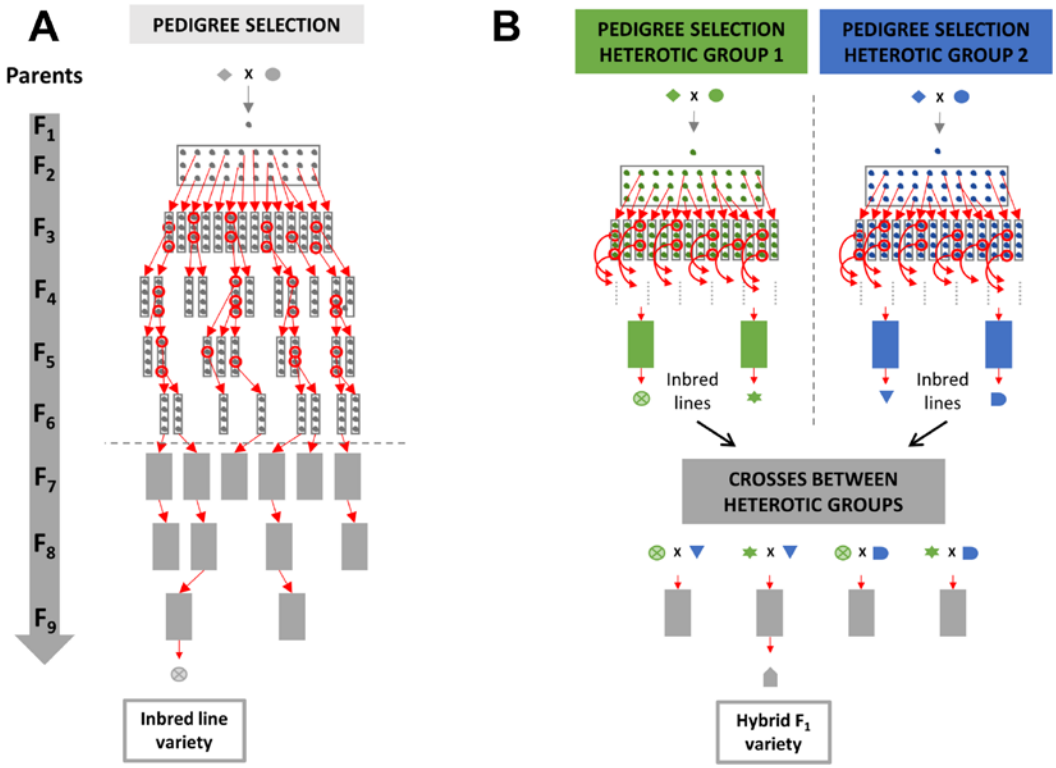


Figure 3 : *Schémas de sélection classiques pour des variétés de type lignée pure (a) et hybride F1 (b).*

*(**A**) : Les variétés de type lignées pures concernent majoritairement les espèces autogames. La sélection commence par un croisement entre deux lignées pures totalement homozygotes. Ce croisement aboutit à un hybride F1, hétérozygote sur tout son génome. Les hybrides F1 sont alors autofécondés (reproduits avec eux-mêmes). La descendance F2 est très hétérogène, car les évènements de méiose génèrent de nouvelles combinaisons d'allèles par recombinaison lors de la création des gamètes en F1. Les plantes F2 sont évaluées de façon isolée (plante à plante), puis les plantes choisies sont à nouveau autofécondées pour générer la F3. Une plante récoltée en F2 génère une ligne plantée en F3. De la F3 à la F6, une à plusieurs plantes par lignes sont retenues pour générer une nouvelle ligne à la génération suivante. Entre chaque génération, les plantes sont autofécondées. A partir de la F6, la sélection passe à l'échelle des familles : les meilleures familles sont retenues, et les descendants d'une même famille sont mélangés pour constituer la génération suivante. Le nombre de graines étant augmenté, en F7 les familles peuvent être évaluées pour leur rendement en parcelles expérimentales. Après quelques générations d'autofécondation et de sélection, une à plusieurs lignées sont retenues par la sélection. Le nombre de locus hétérozygotes diminuant de moitié à chaque génération, les lignées obtenues à la fin de la sélection sont quasiment homozygotes sur tout leur génome.*

*(**B**) : Les variétés de type hybrides F1 concernent majoritairement les espèces allogames. Les lignées pures parentales sont séparées en groupes hétérotiques. Les groupes hétérotiques sont construits par les sélectionneurs selon l'origine géographique des génotypes et selon la structure génétique de l'espèce. L'objectif est de maximiser la distance génétique entre les groupes de façon à maximiser l'hétérosis dans la variété finale. La sélection a lieu en deux temps. Tout d'abord, des lignées pures sont sélectionnées par sélection généalogique dans chaque groupe hétérotique. Durant cette sélection généalogique, il faut noter que les autofécondations ne se font pas naturellement comme chez les espèces autogames mais qu'elles nécessitent une intervention humaine. Ensuite, les lignées de chaque groupe hétérotiques sont croisées entre elles afin d'évaluer leur aptitude à la combinaison. Les descendances F1 sont alors évaluées pour leur productivité en parcelles expérimentales. La variété hybride F1 finalement retenue est celle qui résulte de la meilleure combinaison, c'est-à-dire celle qui a la meilleure productivité.*

2. Les mélanges variétaux et le regain d'intérêt pour la diversité intra-spécifique

Le modèle agricole intensif hérité de la Révolution Verte est aujourd'hui remis en cause (Tilman et al. 2002). Les gains de rendements obtenus grâce à l'utilisation massive de produits phytosanitaires, d'engrais chimiques, et de ressources naturelles non ou peu renouvelables ont en effet généré de multiples externalités négatives sur l'environnement et sur la santé humaine. Nous pouvons par exemple citer la pollution et la dégradation des sols (Lal 2007), la pollution des eaux (Moss 2008), les atteintes à la biodiversité (Jenkins 2003), ou encore les émissions de gaz à effet de serres (10 à 15 % des émissions en Europe sont attribuables au secteur agricole, Danila et al., 2017). Par ailleurs, l'évolution des rendements est aujourd'hui bien éloignée des gains obtenus dans les premières phases de la Révolution Verte : à l'échelle globale, les rendements des principales espèces cultivées stagnent depuis le début des années 1990 (Ray et al. 2012 ; Grassini et al. 2013).

La remise en cause des pratiques culturales associées au modèle intensif conduit également à remettre en cause le matériel végétal utilisé : des variétés homogènes et sélectionnées pour être adaptées à des environnements très artificialisés (donc homogènes) et à hauts niveaux de ressources resteront-elles performantes dans des systèmes où les interventions humaines seront réduites et où les niveaux de ressources seront plus faibles ? D'autant plus que les changements de pratiques ne sont pas les seuls changements susceptibles d'affecter les cultures dans un futur proche. En effet, le changement climatique global est amené à affecter significativement l'environnement de croissance des cultures, notamment en le rendant plus variable (Fischer et al. 2002 ; Lesk et al. 2016). Dans de telles conditions, il semble peu probable que les variétés monogénotypiques actuelles parviennent à maintenir leur avantage agronomique.

La réduction des intrants et le changement climatique sont des défis de taille pour l'amélioration des plantes parce qu'ils démultiplient les critères de sélection nécessaires pour adapter les variétés aux conditions futures (Fess et al. 2011). Tout d'abord, la réduction des produits phytosanitaires implique par exemple une pression plus forte des agents pathogènes sur les cultures (van Bruggen & Finckh 2016). Par ailleurs, la diminution des apports d'engrais chimiques entrainera une disponibilité plus faible et moins immédiate des éléments minéraux (Baresel et al. 2008). La compétition avec les espèces adventices sera également plus forte (Zimdahl 2007). Enfin, les changements globaux sont susceptibles d'amplifier certains stress abiotiques, comme la sécheresse (Lesk et al. 2016). Ainsi, pour être adaptées à de telles conditions, les variétés devront être à la fois productives, mais aussi résistantes aux maladies, tolérantes ou résistantes aux stress abiotiques, compétitives face aux mauvaises herbes, etc. Cette multiplicité de critères remet en cause les variétés monogénotypiques classiques, puisqu'il apparaît assez peu probable d'arriver à réunir toutes ces propriétés dans un seul génotype (Østergård et al. 2009).

Une des idées principales pour remplacer le modèle intensif consiste à s'inspirer des processus à l'œuvre dans les écosystèmes naturels (Dawson et Fry, 1998). L'hypothèse sous-jacente est que les écosystèmes naturels sont composés d'espèces adaptées à leur habitat, présentant le plus souvent des niveaux de ressources variables dans l'espace et le temps, et sont capables de valoriser les ressources naturellement disponibles de façon durable (Malézieux 2012). Ils constituent donc un modèle pertinent pour concevoir de nouveaux systèmes de production. Cette réflexion a encouragé un rapprochement disciplinaire entre l'agronomie et l'écologie, formalisé sous le terme d'« agroécologie[1] » (Altieri 1989). Partant du constat que la plupart des écosystèmes naturels sont beaucoup plus diversifiés que les systèmes cultivés, les pratiques agroécologiques visent notamment à augmenter le nombre d'espèces et de variétés utilisées dans les systèmes cultivés (Altieri 1999).

Au-delà d'être une simple imitation, cet objectif de diversification s'appuie sur des résultats quantitatifs. En effet, plusieurs expériences emblématiques conduites en écologie à la fin des années 1990 ont permis de démontrer que les communautés végétales les plus diversifiées étaient également les plus productives (Loreau et al. 2001 ; Tilman et al. 2001 ; Hooper et al. 2005). Plus généralement, les travaux menés en écologie ont montré que la biodiversité jouait un rôle positif sur de multiples processus écosystémiques comme la régulation des cycles géochimiques ou bien le contrôle des agents pathogènes (Hector et Bagchi, 2007 ; Maestre et al., 2012). Bien que l'essentiel de ces effets aient été attribués à la diversité spécifique, il est aujourd'hui démontré que la diversité intra-spécifique contribue significativement au fonctionnement des écosystèmes (Hughes et al. 2008 ; Bolnick et al. 2011).

Dans ce contexte, les mélanges variétaux font l'objet d'une attention renouvelée depuis plusieurs années (Borg et al., 2018 ; Smithson et Lenné, 1996). Cette pratique consiste à cultiver plusieurs variétés de la même espèce dans un même champ. Le principe des mélanges variétaux est quelque peu différent de celui des variétés populations. Il s'agit de sélectionner consciemment différentes composantes et de les assembler au semis. La composition du mélange est ainsi choisie et fixe, contrairement à celle des variétés populations qui sont soumises à des pressions de sélection externes et qui évoluent au fil du temps. Les composantes assemblées peuvent être des lignées pures ou bien des hybrides F_1.

Les mélanges variétaux pourraient permettre d'optimiser la multifonctionnalité des agrosystèmes, c'est-à-dire de fournir un ensemble de « services » fournis par la culture elle-même et non plus par des interventions externes (Barot et al., 2017 ; Costanzo et Bàrberi, 2014). Parmi ces services, nous pouvons citer la productivité, la stabilisation des rendements, la régulation des cycles biogéochimiques, ou encore la régulation des agents pathogènes. Loin

[1] Nous utilisons ici la définition de l'agroécologie en tant que discipline scientifique : « approche intégrant les concepts et méthodes d'une diversité de disciplines dont l'agronomie, l'écologie, l'économie, la sociologie. Visant à promouvoir les services rendus par les processus naturels, elle analyse à différents niveaux (de la parcelle au territoire, de l'individu à la communauté, du court au long terme) les relations évolutives qui se créent au sein de ces systèmes entre le vivant, son mode de gestion et le contexte écologique, économique et social de cette gestion ». Source : INRA - dictionnaire d'agroécologie (https://dicoagroecologie.fr/)

d’être nouvelle, cette idée d’assemblage et de services est présente dans l’esprit des agriculteurs et des sélectionneurs depuis les premières phases du développement de la sélection moderne. En 1880, Henry de Vilmorin, alors à la tête d’un fleuron de l’industrie semencière en France écrit: « Nous n'aurions pas cependant traité complètement notre sujet, si nous ne disions quelques mots d'une pratique conseillée par beaucoup d'agriculteurs expérimentés et que nous croyons en effet très recommandable : nous voulons parler du mélange de deux ou de plusieurs variétés, fait volontairement dans le but d'obtenir un produit plus abondant et plus assuré […] » (Vilmorin-Andrieux & Cie 1880).

Cette pratique connaît aujourd’hui un intérêt grandissant chez les agriculteurs. En 2019, 12% des surfaces de blé tendre ont été semées avec des mélanges variétaux en France (**Figure 4**, Perronne *et al.* 2017). Plus marquant encore, cette surface a été multipliée par 30 en 20 ans. Du côté de la recherche, l’intérêt pour les mélanges a été particulièrement fort entre les années 1960 et les années 1990. Depuis, le nombre de publications consacrées à ce sujet a plutôt tendance à diminuer (**Figure 5**, Borg et al. 2018). Actuellement, la problématique des mélanges est donc caractérisée par un fort décalage entre les pratiques agricoles et les efforts de recherches.

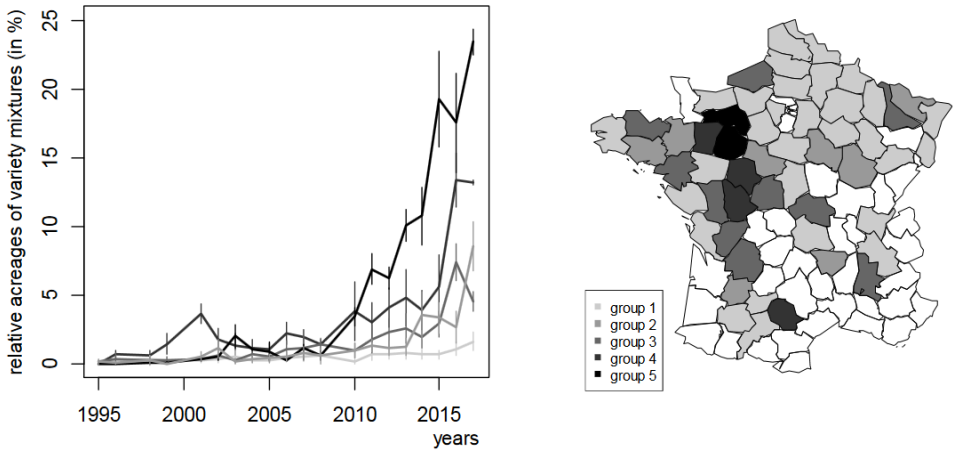


Figure 4 : *Evolution de la proportion des surfaces de blé tendre cultivées en mélange en France entre 1995 et 2017 dans 54 départements représentant 93.6% des surfaces de blé tendre. 5 grands groupes de départements sont distingués en fonction de l’évolution des surfaces cultivées en mélange : plus le dégradé est foncé, plus l’augmentation de la part des mélanges dans l’assolement est rapide. D’après Perronne et al. (2017)*

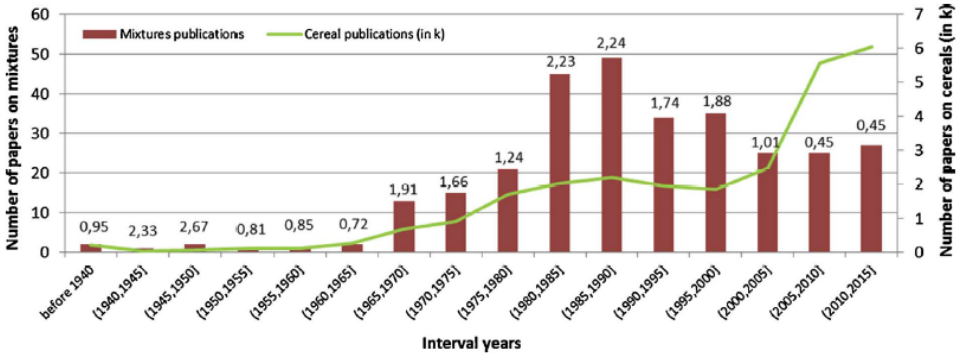


Figure 5 : *Evolution du nombre de publications consacrées aux céréales de façon générale (courbe verte) et aux mélanges variétaux en particulier (barres rouges) entre 1939 et 2015. Les chiffres au-dessus de chaque barre indiquent le pourcentage des publications consacrées aux mélanges variétaux parmi les publications consacrées aux céréales. D'après Borg et al. 2018.*

3. Les opportunités et les freins associés à la réintroduction de diversité intra-spécifique dans les agrosystèmes

Le bénéfice le plus important et le mieux décrit de la diversité génétique intra-spécifique est certainement la lutte contre les agents pathogènes, que ce soit dans les milieux naturels ou dans les mélanges variétaux (Hajjar et al. 2008 ; Barot et al. 2017 ; Borg et al. 2018 ; Ekroth et al. 2019). Chez plusieurs espèces comme le riz ou le blé, il a été montré que les plantes étaient généralement moins atteintes par les maladies fongiques et par les insectes ravageurs lorsqu'elles étaient cultivées en mélange (Finckh et Mundt, 1992 ; Tooker et Frank, 2012 ; Zhu et al., 2000). Plusieurs mécanismes comme l'effet « dilution » ou l'effet « barrière » ont été avancés pour expliquer cet effet protecteur de la diversité génétique (Borg et al. 2018). La dilution des hôtes sensibles dans un couvert où ils sont mélangés avec des hôtes résistants diminue la probabilité de rencontre entre les plantes sensibles et l'agent pathogène (Wolfe 1985 ; Finckh et al. 2000). Par ailleurs, les hôtes résistants peuvent jouer un rôle de barrière physique contraignant la dispersion du pathogène dans le couvert végétal (Wolfe 1985 ; Finckh et al. 2000). En plus de ces effets à court terme, les mélanges peuvent aussi avoir des effets bénéfiques à plus long terme : alors qu'un génotype résistant cultivé en monoculture exerce une forte pression de sélection sur l'agent pathogène favorisant ainsi le contournement de la résistance, un mélange contenant des niveaux de résistance variables ou différents gènes de résistances exerce une pression moins forte sur le pathogène et retarde ainsi le contournement de la résistance (Finckh et al. 2000 ; Borg et al. 2018).

D'après les enquêtes menées dans le cadre du projet Wheatamix[2] s'intéressant aux mélanges variétaux de blé tendre à l'échelle nationale, la résistance accrue des mélanges aux maladies est la première raison motivant cette pratique chez les agriculteurs (« La France Agricole », N°3724, Décembre 2017). En deuxième vient la stabilisation des rendements. Comme nous l'avons mentionné précédemment, la variabilité climatique interannuelle est de plus en plus marquée, notamment en France (Ben-Ari et al. 2018). Le mélange permet de tamponner cette variabilité et de sécuriser la production (Smithson & Lenné 1996; Reiss & Drinkwater 2018). Sur un plan beaucoup plus pratique, le fait de cultiver un unique mélange de variétés plutôt que plusieurs variétés réparties dans différents champs facilite le travail de l'agriculteur. Ce « service » logistique est la troisième raison invoquée par les agriculteurs ayant fait le choix des mélanges. Par exemple, le stockage et le semis des graines sont facilités puisqu'un seul silo et un seul chantier de semis peuvent être mis en place. Aussi, les traitements phytosanitaires peuvent être synchronisés et déclenchés plus sereinement puisque la maladie évolue généralement plus lentement dans les mélanges. Nous constatons donc que certains des services théoriques associés aux mélanges sont d'ores et déjà perceptibles et utilisés dans les systèmes cultivés.

Malgré les avantages techniques des mélanges, leur déploiement à plus grande échelle est limité par d'autres facteurs. Tout d'abord, la législation a longtemps empêché la commercialisation de semences hétérogènes. Ceci n'a pas empêché les agriculteurs de constituer leurs propres mélanges à partir de variétés classiques, mais a considérablement freiné les efforts de recherche et de développement, notamment dans le secteur privé. L'arrêté du 28 Juin 2018 relatif à la commercialisation des semences de céréales a mis fin à ce blocage légal, ouvrant ainsi de nouvelles opportunités de développement en France. Un autre verrou, d'ordre technologique cette fois-ci, continue de dissuader beaucoup d'agriculteurs d'adopter les mélanges. Il s'agit des filières situées en aval de la production, notamment la meunerie, la semoulerie, ou l'amidonnerie qui ont structuré leurs procédés industriels sur la base d'approvisionnements homogènes constitués de lots monovariétaux (Danguy des Déserts et Girodolle, 2018). Même si de rares initiatives locales commencent à intégrer les mélanges dans leurs approvisionnements, cette organisation de filière reste une barrière forte pour les agriculteurs qui peuvent perdre l'accès à certains marchés en faisant le choix des mélanges.

Le principal point de blocage réside cependant à un niveau beaucoup plus fondamental : alors même que l'idée de mélanger des variétés s'appuie en grande partie sur des théories biologiques et écologiques, l'approche utilisée pour étudier et concevoir les mélanges reste très empirique. Il s'agit bien souvent de tester une combinaison finie de mélanges constitués de façon plus ou moins aléatoire et de quantifier a posteriori les effets attribuables aux mélanges en les comparant avec leurs composantes pures (Kiær et al. 2009 ; Borg et al. 2018). Cette

[2] Wheatamix est un projet de recherche de l'ANR Agrobiosphère conduit entre 2014 et 2018. Le but du projet est d'étudier l'intérêt des associations variétales de blé pour renforcer la durabilité de la production agricole dans le Bassin Parisien, ce dans le contexte des changements globaux. Le projet, porté par Jérôme Enjalbert (INRA), est multidisciplinaire et réunit 10 laboratoires de recherche et 6 Chambres d'Agriculture.

approche présente au moins deux limites : (i) elle donne une vision restreinte des mélanges dans la mesure où il est impossible de tester toutes les combinaisons variétales possibles (ii) elle ne permet pas de comprendre les mécanismes à l'origine de la performance d'un mélange. Ainsi, à l'exception du service de régulation des pathogènes, nous ne sommes toujours pas en mesure de sélectionner et d'assembler des mélanges en ciblant des services ou des objectifs agronomiques particuliers (Litrico et Violle, 2015). De nombreuses questions restent en suspens, comme par exemple : dans quelles proportions doit-on mélanger les différents génotypes ? Quelle doit être leur répartition spatiale ? Quel mécanisme de résistance mobiliser ?

En dehors des effets sur les pathogènes, les mélanges ont des effets très variables, notamment sur la productivité. La plupart des méta-analyses ayant estimé l'effet moyen des mélanges sur la productivité rapportent un gain moyen de l'ordre de 3% sur le rendement par rapport à la moyenne des composantes cultivées en monoculture (Borg et al., 2018 ; Kiær et al., 2009 ; Reiss et Drinkwater, 2018). Cette moyenne agrège cependant une grande diversité de situations, y compris de nombreux cas dans lesquels les mélanges sont moins productifs que les monocultures. Cette variabilité rend la performance des mélanges difficilement prédictible, et illustre les limites de l'approche empirique. Des approches alternatives consistent à évaluer l'aptitude au mélange des variétés à l'aide de dispositifs expérimentaux et de modèles statistiques inspirés des plans de croisements classiquement utilisés dans la sélection des variétés hybrides (Gizlice et al. 1989 ; Barot et al. 2017 ; Forst 2018). Ces approches sont cependant elles aussi limitées par des contraintes combinatoires et elles restent peu informatives des mécanismes impliqués dans les interactions entre les variétés.

Enfin, l'évolution temporelle du mélange représente un défi pour la sélection, notamment dans le cadre des semences de ferme, c'est-à-dire les semences produites directement par les agriculteurs. Jusqu'à présent, les agriculteurs assemblent les semences pures de chaque variété au moment du semis, ce qui leur permet de contrôler les proportions de chaque variété dans le mélange (« Réussir Grande Culture » n°304). Dans un mode de gestion plus dynamique, comme c'est le cas pour les variétés populations, les mélanges pourraient être directement semés à partir des graines récoltées dans le mélange l'année précédente. Cela permettrait, comme pour les variétés populations, d'avoir un mélange dynamique, évolutif, et capable de s'adapter aux conditions locales au fil des années. Or, il a très tôt été montré que de telles pratiques conduisent souvent à une diminution des rendements causés par le fait que les variétés les plus compétitives finissent par dominer puis par complétement envahir le mélange (Harlan & Martini 1938 ; Suneson & Wiebe 1942 ; Jennings & Aquino 1968). Or, ces variétés compétitives sont souvent celles qui ont les moins bons rendements en monocultures, alors que les variétés les plus performantes ont souvent de faibles aptitudes à la compétition (Donald 1963, 1968 ; Jennings & Jesus 1968). En fait, cette situation est un cas typique de Tragédie des Communs : la stratégie qui maximise la performance individuelle au détriment de la performance du groupe finit par envahir la population et conduit à une surexploitation des ressources qui diminue la performance globale de la population (Hardin 1968). De tels phénomènes pourraient ainsi compromettre la performance des mélanges au fil du temps dans un mode de gestion dynamique des mélanges.

4. Un retour nécessaire à la théorie

Notre compréhension réduite des interactions plante-plante reste le principal facteur limitant pour mieux intégrer la diversité dans les agrosystèmes. Plusieurs théories ont contribué à mieux comprendre ces interactions dans les systèmes naturels. Dans ce travail, nous proposons ici de les mobiliser dans le contexte des systèmes cultivés.

A. Les théories écologiques

Les effets de biodiversité

Depuis le début des années 1990, le déclin global de la biodiversité causé par les activités humaines a motivé de nombreux travaux expérimentaux et théoriques visant à comprendre le lien entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes (Cardinale et al. 2012 ; Naeem et al. 2012). Chez les plantes, des expériences emblématiques ont montré en manipulant la composition de communautés prairiales que le fonctionnement de ces communautés, estimé via leur production en biomasse, était meilleur lorsqu'elles étaient composées d'un plus grand nombre d'espèces (Loreau et al. 2001 ; Tilman et al. 2001 ; Hooper et al. 2005). Par ailleurs, il a été montré qu'une plus grande diversité intra-spécifique pouvait également avoir un effet positif sur la productivité (Hughes et al. 2008). Trois mécanismes principaux ont été proposés pour expliquer la relation positive entre la diversité inter- et intra-spécifique et la productivité : la facilitation, la complémentarité de niche, et les effets de sélection (Tilman et al. 1997 ; Loreau & Hector 2001).

Ces trois mécanismes ont initialement été proposés pour expliquer l'effet de la diversité à l'échelle inter-spécifique, mais aucune limite conceptuelle n'empêche de changer d'échelle et de remplacer le terme « espèce » par le terme « génotype » dans leur définition, et ainsi de les appliquer aux mélanges variétaux. La facilitation correspond à une situation où la présence d'une espèce crée des conditions favorables pour le développement d'une autre espèce (Stachowicz 2001). Les mécanismes de la facilitation sont très nombreux : l'espèce facilitatrice peut par exemple atténuer un stress ou une perturbation environnementale, mais elle peut aussi augmenter la disponibilité en ressources pour l'autre espèce (Callaway et al. 2002). La complémentarité de niche suppose que des espèces ayant des niches écologiques[3] différentes exploitent une plus large gamme de ressources disponibles dans un habitat et entrent moins en compétition les unes avec les autres du fait de ce partage efficace des ressources (MacArthur et Levins, 1967). Un assemblage d'espèces ayant des niches différentes parviendrait ainsi à transformer une plus grande partie des ressources disponibles dans son habitat en biomasse. Les effets de complémentarité et de facilitation peuvent donc être difficiles à discerner, notamment si l'effet facilitateur correspond à une amélioration de la disponibilité des ressources. Ces deux effets sont donc classiquement regroupés sous le terme « effets de complémentarité » (Loreau & Hector 2001). Enfin, l'effet de sélection traduit le fait qu'une ou plusieurs espèces sont

[3] La niche écologique d'une espèce peut être définie comme la gamme des ressources qu'elle est capable d'utiliser (Roughgarden 1974)

« sélectionnées » dans une communauté, c'est-à-dire qu'elles possèdent certains traits qui leur permettent de dominer les autres espèces. Lorsque l'effet de sélection est fort, la productivité du mélange est quasiment entièrement déterminée par la productivité de l'espèce ou des espèces sélectionnée(s). Si l'espèce sélectionnée est également une espèce très productive, l'effet de sélection peut avoir un effet positif sur la productivité de la communauté (Loreau 2000).

Dans la pratique, les effets de complémentarité et de sélection, qu'on regroupe sous le terme « d'effets de biodiversité », peuvent affecter la productivité des communautés ou des mélanges de façon conjointe, et il peut donc être difficile de les distinguer (Hector et al. 2002). Par ailleurs, ces effets peuvent aussi être négatifs. Dans le cas de l'effet de sélection, il est possible que l'espèce qui domine la communauté soit également celle qui contribue le moins au processus considéré : dans le cas de la productivité, l'espèce qui domine le mélange peut également être la moins productive, ce qui peut se traduire par un effet négatif sur la productivité (Loreau & Hector 2001). Afin de caractériser finement la contribution des différents effets, il convient alors de comparer la productivité de chaque espèce dans la communauté avec sa productivité en monoculture. On utilise alors l'indice 'Relative Yield' (RY) qui est le rapport entre la productivité de l'espèce observée dans le mélange et la productivité de l'espèce en monoculture (Weigelt & Jolliffe 2003). Dans un mélange variétal binaire (composé de deux génotypes), la valeur de référence pour le RY est donc de 0.5. Cette valeur traduit l'hypothèse nulle selon laquelle le génotype considéré produit exactement la même quantité de biomasse en mélange qu'en monoculture. La somme des RY, le RYT (Relative Yield Total), calcule l'écart entre le rendement observé et le rendement attendu sur la base des monocultures. Lorsque le RYT est supérieur à 1, on parle de « sur-rendement » (« overyielding ») c'est-à-dire que le mélange est plus productif qu'attendu sur la base des monocultures (Weigelt & Jolliffe 2003).

Des méthodes statistiques ont été développées pour séparer les contributions de l'effet de complémentarité et de l'effet de sélection à l'overyielding à partir des valeurs de RY de chaque espèce ou de chaque génotype dans le mélange (Loreau & Hector 2001). Dans ce cadre statistique, l'effet de sélection correspond à une covariance entre le rendement des génotypes en monoculture et leur valeur de RY dans le mélange (Loreau & Hector 2001). Si la covariance est positive, ce sont les génotypes les plus productifs en monoculture qui profitent le plus du mélange, et *vice versa* (**Figure 6B** et **C**). L'effet de sélection peut alors être positif si le gain de productivité obtenu par les génotypes les plus productifs ne génère pas de coût pour les autres génotypes, ou si le coût pour les autres génotypes est inférieur au gain reçu par les génotypes les plus productifs (**Figure 6B**). A l'inverse, l'effet de sélection peut être négatif si le coût engendré pour les génotypes les moins productifs est supérieur au gain reçu par les génotypes les plus productifs (**Figure 6C**). L'effet de complémentarité correspond à la moyenne des RY dans le mélange, qui capture la tendance générale de changement de productivité des génotypes entre monoculture et mélange, indépendamment de leur rendement en monoculture (Loreau & Hector 2001). Si les RY sont en moyenne supérieurs à leur valeur de référence (*e.g.* 0.5 pour

des mélanges binaires), indépendamment du rendement des composantes en monoculture, l'effet de complémentarité est positif (**Figure 6A**).

L'approche fonctionnelle

Les caractéristiques phénotypiques des génotypes peuvent ensuite permettre

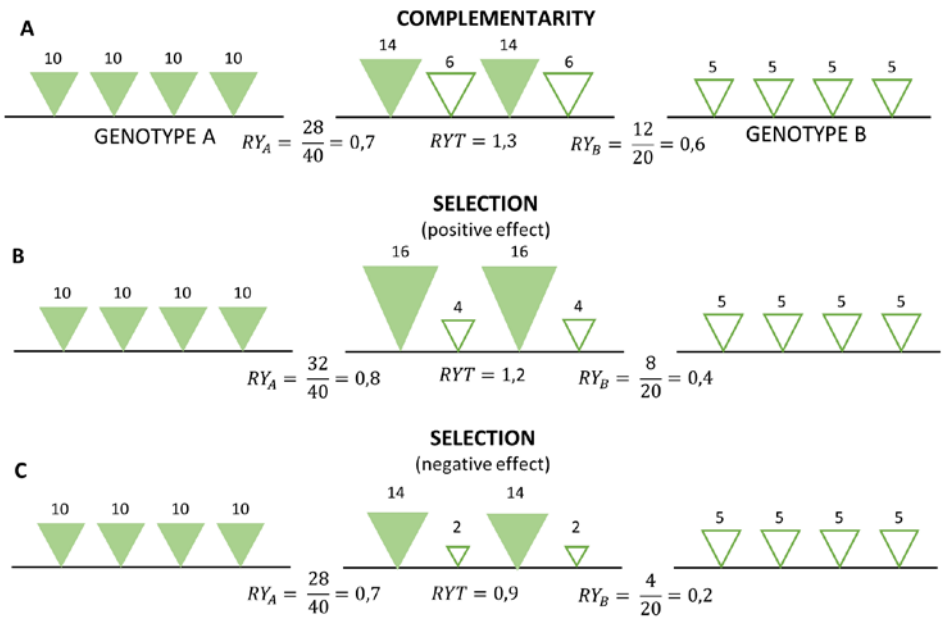


***Figure 6** : Illustration des deux effets de biodiversité : l'effet de complémentarité (**A**) et l'effet de sélection (**B** et **C**). Chaque triangle représente une plante, et les chiffres au-dessus de chaque plante représentent la productivité par plante. Sur les bords gauche et droit sont représentées les monocultures de chaque génotype, et au centre le mélange. Le changement de productivité de chaque génotype entre la monoculture et le mélange est calculé avec l'index Relative Yield (RY). L'overyielding est quantifié avec l'index Relative Yield Total (RYT) qui est la somme des RY des deux génotypes. Dans les deux premiers cas (**A** et **B**) l'effet de la diversité sur la productivité est positif : il y a overyielding en mélange (RYT > 1). Dans le dernier cas (**C**), les mélanges sont moins productifs qu'attendu sur la base de la productivité de leurs composantes en monoculture.*

*(**A**) L'effet de complémentarité est positif : tous les génotypes en moyenne, et indépendamment de leur productivité en monoculture produisent plus en mélange qu'en monoculture.*

*(**B**) L'effet de sélection est positif : seul le génotype le plus productif en monoculture bénéficie du mélange, et le gain de productivité obtenu par le génotype le plus productif est supérieur à la perte de productivité subie par le génotype le moins productif.*

*(**C**) L'effet de sélection est négatif : seul le génotype le plus productif en monoculture bénéficie du mélange, mais le gain de productivité obtenu par le génotype le plus productif est inférieur à la perte de productivité subie par le génotype le moins productif.*

d'interpréter les effets de biodiversité. En effet, la niche écologique des individus peut par exemple être estimée grâce à certains traits liés à l'acquisition ou à l'utilisation des ressources (Van Valen 1965 ; Roughgarden 1974). Par exemple, la position des racines dans le sol indique l'emplacement où sont puisées les ressources souterraines chez les plantes (Parrish et Bazzaz, 1976). Récemment, l'écologie fonctionnelle a réaffirmé l'intérêt d'utiliser certains traits dits

« fonctionnels[4] » pour caractériser les stratégies d'acquisition des ressources des individus (Violle et al. 2007 ; Garnier et al. 2015). Les traits fonctionnels permettent notamment de quantifier les différences de niche entre les espèces ou entre les génotypes (Violle & Jiang 2009). Pour les traits liés à la niche, il est alors attendu que des génotypes ayant des différences de traits plus marquées se partagent mieux le pool de ressources, limitant ainsi l'intensité de la compétition et transformant une plus grande partie de ces ressources en biomasse (Grime 2006). Les traits fonctionnels peuvent donc capturer une partie des effets de complémentarité de niche. En parallèle des indices ont été développés afin de caractériser la diversité fonctionnelle des communautés (p. ex. Ricotta & Moretti 2011). Ces indices peuvent ainsi être utilisés pour identifier les traits impliqués dans les effets de complémentarité de niche (Garnier et al. 2015).

Comme nous l'avons illustré avec les effets de biodiversité, la niche n'est pas le seul facteur qui détermine la productivité des communautés. Les différences d'aptitude à la compétition entre les variétés peuvent aboutir à la dominance d'un seul génotype qui détermine à lui seul la productivité du mélange (Loreau 2000; Loreau & Hector 2001). Dans ce cas, le génotype dominant est sélectionné parce qu'il possède des valeurs de traits qui lui permettent de s'accaparer une plus grande proportion des ressources. Par exemple, des plantes plus grandes peuvent capturer une plus grande proportion de la lumière incidente dans un couvert hétérogène (Violle et al. 2009). On parle alors de « hiérarchie de compétition liée au trait » : la valeur du trait chez un génotype détermine sa position dans la hiérarchie de compétition vis-à-vis des autres (Kunstler et al. 2012). Des différences fortes de traits entre les génotypes aboutissent à de forts écarts d'aptitude à la compétition qui peuvent avoir diverses conséquences. Dans le cas d'un effet de sélection, si la perte de rendement encourue par le génotype dominé est inférieure au gain obtenu pour le génotype dominant, les écarts d'aptitude à la compétition peuvent générer de l'overyielding (Schmid & Niklaus 2017 ; Wagg et al. 2017).

Les effets de biodiversité peuvent donc être interprétés au regard de la diversité fonctionnelle des communautés, ou des mélanges. Cette diversité peut capturer à la fois des effets de complémentarité de niche et des effets de sélection selon qu'elle quantifie des différences de stratégie d'utilisation des ressources, ou bien des différences d'aptitude à la compétition. Il a par ailleurs été montré que la diversité fonctionnelle n'est pas toujours la caractéristique la plus pertinente pour comprendre le fonctionnement des communautés. En effet, le trait moyen des communautés est souvent prépondérant pour expliquer certains processus, notamment la productivité (Mokany et al. 2008; Schumacher & Roscher 2009; Garnier et al. 2015). On parle alors de l'identité fonctionnelle (*vs* diversité fonctionnelle) de la communauté. Ce trait moyen est d'autant plus explicatif qu'il pondère les effets de chaque espèce ou de chaque génotype selon leur biomasse relative (Garnier et al. 2004). En effet, selon l'hypothèse du rapport de masse (« mass ratio hypothesis »), le fonctionnement des écosystèmes est majoritairement déterminé par les traits fonctionnels des espèces qui contribuent le plus à la production de biomasse (Grime 1998). Par exemple, Garnier *et al.*

[4] Un trait fonctionnel est un caractère morphologique, physiologique, ou phénologique mesurable à l'échelle d'un individu sans faire référence à l'environnement ni à aucun autre niveau d'organisation (Violle et al. 2007).

(2004) ont montré que trois traits fonctionnels mesurés à l'échelle de la feuille (surface spécifique foliaire, concentration en azote de la feuille, et teneur en matière sèche) chez les deux espèces dominantes d'une communauté méditerranéenne corrélaient significativement avec des processus mesurés à l'échelle de l'écosystème, comme la productivité en biomasse, ou le stockage du carbone dans le sol. Il est donc possible de décrire la composition fonctionnelle d'une communauté ou d'un mélange selon deux variables quantitatives, la diversité fonctionnelle et l'identité fonctionnelle. Différents indices ont été proposés pour mesurer ces deux variables (Ricotta & Moretti 2011). Nous présentons dans l'encadré 2 les deux principaux, qui sont ceux que nous avons utilisés dans cette thèse.

Encadré 2 : les indices fonctionnels

- L'**identité fonctionnelle** d'une communauté reflète le trait dominant dans la communauté, et elle est calculée comme la moyenne des traits des différentes espèces ou génotypes pondérée par leur biomasse relative (Garnier et al. 2004) :

$$CWM = \sum_{i=1}^{n} p_i \times trait_i$$

avec *CWM* (« Community-Weighted Mean ») le trait moyen pondéré de la communauté composée de *n* espèces ou génotypes, et p_i la biomasse relative de l'espèce ou du génotype *i.*

- La **diversité fonctionnelle** d'une communauté reflète la dispersion de la valeur du trait entre les différentes espèces ou génotypes. Elle peut être calculée avec l'indice de Rao qui quantifie la différence phénotypique entre deux espèces ou deux génotypes échantillonné(e)s au hasard avec remplacement dans la communauté ou dans le mélange (Rao 1982) :

$$F_D = \sum_{i,j}^{S} d_{ij} p_i p_j$$

avec F_D la diversité fonctionnelle de la communauté ou du mélange, p_i et p_j les biomasses relatives des espèces ou des génotypes *i* et *j*, et d_{ij} une mesure de la différence entre les espèces ou les génotypes *i* et *j* (par exemple la distance euclidienne).

B. Les théories de la biologie évolutive

La théorie de sélection de parentèle représente une avancée majeure de la biologie évolutive qui a permis de mieux comprendre l'évolution des interactions entre les individus au sein de la même espèce, notamment l'évolution des comportements sociaux comme l'altruisme (Hamilton 1964a, b ; Griffin & West 2002). La théorie originelle de la sélection naturelle proposée par Darwin repose sur l'idée que l'évolution favorise les individus qui parviennent à obtenir un plus grand succès reproducteur que les autres, et qu'elle tend donc à favoriser les phénotypes qui permettent aux individus d'avoir une valeur sélective[5] supérieure (Darwin 1859). Cette vision de la sélection naturelle permet d'expliquer l'évolution d'un grand nombre de phénotypes que nous pouvons observer aujourd'hui chez les êtres vivants. Cependant, elle ne permet pas d'expliquer l'évolution d'autres phénotypes qui, de fait, ne sont pas optimaux pour le succès reproducteur des individus. C'est par exemple le cas de la stérilité qui est observée chez certaines castes d'insectes sociaux, comme les ouvrières chez abeilles.

L'originalité de la théorie de sélection de parentèle repose sur un changement de paradigme. Il s'agit de considérer la sélection naturelle non plus du point de vue des individus, mais du point de vue des gènes, et plus précisément de leurs copies alternatives : les allèles (Hamilton 1964a). Du point de vue d'un allèle, être favorisé par la sélection naturelle signifie transmettre plus de copies de soi-même qu'une version alternative du gène à la génération suivante, ce qui peut être réalisé de deux façons différentes (Hamilton 1964a) : l'allèle peut avoir un effet bénéfique sur la fitness de l'individu qui le porte (effet direct de fitness), ou bien il peut avoir un effet bénéfique sur la fitness des autres individus en interaction qui portent le même allèle dans la population (effet indirect de fitness). Le succès reproducteur d'un allèle se mesure donc comme la somme de ces deux effets, que l'on appelle la « fitness inclusive » (Hamilton 1964a). Alors que c'est la fitness individuelle qui est maximisée dans la théorie classique de la sélection naturelle, c'est la fitness inclusive qui est maximisée dans la théorie de la sélection de parentèle. Ce cadre théorique est donc adapté pour comprendre l'évolution des traits sociaux, c'est-à-dire les traits qui ont des effets sur la fitness des individus qui les expriment, et des effets sur la fitness de leurs voisins (**Encadré 3**) (Hamilton 1964a). La théorie proposée par Hamilton a été particulièrement utile pour comprendre l'évolution des phénotypes altruistes, c'est-à-dire les phénotypes ayant un effet négatif sur la fitness du porteur et positif sur la fitness de ses voisins (West et al. 2006). La « règle d'Hamilton » fixe la condition nécessaire pour que les allèles impliqués dans de tels phénotypes augmentent en fréquence d'une génération à l'autre dans la population : le coût pour le porteur de l'allèle (c) doit être inférieur au bénéfice reçu par le voisin (b) pondéré par l'apparentement (r) entre le porteur et le voisin : $c < rb$ (Hamilton 1964b). L'apparentement mesure la probabilité qu'un voisin partage le même allèle que le porteur. Ainsi, plus l'apparentement est fort, plus les chances pour que l'altruisme soit sélectionné sont fortes.

[5] La valeur sélective, encore appelée fitness, mesure le succès reproducteur d'un individu dans le contexte de la sélection naturelle. Elle mesure la contribution moyenne de l'individu au pool de gènes de la génération suivante (Futuyama 2013)

Encadré 3 : la sélection de parentèle et l'évolution des traits sociaux

- **trait social** : trait dont le phénotype a un effet à la fois sur la valeur sélective de l'individu qui l'exprime, appelé « acteur » ou « individu focal », et sur la valeur sélective des individus en interaction avec l'acteur, appelés « receveurs » ou « individus voisins ».

- **phénotype altruiste** : phénotype (mesuré sur un trait social) qui est coûteux pour l'acteur, mais bénéfique pour les receveurs, les notions de coût et de bénéfice étant exprimés en terme de valeur sélective. Les différents phénotypes sociaux peuvent être classés comme suit :

	Effet sur les individus voisins	
	+	-
Effet sur l'individu focal		
+	Mutualisme	Égoïsme
-	Altruisme	Malveillance

- **coopération** : partage du phénotype altruiste par l'ensemble des individus de la population

- **règle d'Hamilton** : pour augmenter en fréquence dans la population d'une génération à l'autre, un allèle codant pour un phénotype altruiste doit répondre au critère suivant : le coût associé à l'expression de l'allèle chez l'individu focal (*c*) doit être inférieur au bénéfice reçu par les individus voisins (*b*), pondéré par l'apparentement entre l'individu focal et les individus voisins (*r*) :

$$c < rb$$

D'après Hamilton 1964a, b et West *et al.* 2007

Pour que l'altruisme évolue, il faut donc qu'il soit préférentiellement dirigé vers des individus qui partagent les mêmes allèles que le porteur aux loci impliqués dans le trait social. Dans la théorie d'Hamilton, trois mécanismes permettent cela : la viscosité des populations, la reconnaissance entre apparentés, et l'effet barbe-verte (Hamilton 1964a, b). La viscosité des populations est la tendance des individus/gamètes à rester près de leur lieu de production (Taylor 1992). Dans le monde végétal, les populations visqueuses sont les populations caractérisées par de faibles taux de dispersion des graines et du pollen. Dans de telles configurations, les interactions locales se font préférentiellement entre des individus apparentés, ce qui favorise l'évolution de l'altruisme (Frank 1998). C'est ici l'apparentement généalogique, c'est-à-dire l'apparentement sur l'ensemble du génome, qui détermine l'évolution du trait. Par ailleurs, l'altruisme sélectionné selon ce mécanisme est un altruisme « aveugle » : il s'exprime de façon constante et permanente, quelle que soit l'identité du voisin.

Pour les deux autres mécanismes, la reconnaissance entre apparentés et l'effet barbe-verte, l'évolution de l'altruisme implique un mécanisme de reconnaissance entre les individus

(Gardner 2019). Cette reconnaissance permet aux individus de diriger l'altruisme préférentiellement vers les individus apparentés, ce qui est permis de façon « passive » avec le premier mécanisme à cause du cycle de vie des individus (populations visqueuses). La reconnaissance entre apparentés permet à des individus d'une même famille de se reconnaître entre eux, par exemple grâce à un marqueur phénotypique qui est propre à leur famille (*e.g.* une odeur chez les animaux, Hesse et al. 2012). Des individus fortement apparentés au locus codant pour ce marqueur (ou « locus de reconnaissance ») ont donc de grandes chances d'être fortement apparentés sur le reste de leur génome (à cause de leurs liens généalogiques), et donc au locus impliqué dans le trait social (ou « locus social ») (Gardner & West 2010). En ce sens, le mécanisme de reconnaissance favorise la sélection des allèles altruistes puisqu'il crée une plus grande opportunité pour qu'ils soient dirigés vers des individus qui portent eux aussi ces mêmes allèles. Comme dans le cas des populations visqueuses, c'est donc l'apparentement généalogique qui détermine l'évolution de l'altruisme, et la fixation des allèles altruistes aboutit à un apparentement fort sur l'ensemble du génome (Gardner & West 2010).

L'effet barbe verte repose également sur un mécanisme de reconnaissance, mais il diffère de la reconnaissance entre apparentés (**Figure 7**). Ce mécanisme a initialement été décrit par Hamilton comme une expérience de pensée pour illustrer la généralité de sa théorie (Hamilton 1964a, b). Il voulait notamment montrer que l'évolution de l'altruisme ne dépendait pas directement des relations généalogiques entre les individus, mais uniquement de l'apparentement au locus ou aux loci impliqué(s) dans le trait social. Un fort apparentement généalogique garantit juste une plus grande chance d'avoir un apparentement fort aux loci impliqués dans le trait social. Pour illustrer cette idée, il a imaginé un gène (ou un groupe de gènes en fort déséquilibre de liaison) qui permettait (i) d'exprimer un marqueur phénotypique, (ii) de reconnaître ce marqueur phénotypique chez les autres individus (iii) de rendre les individus altruistes uniquement envers les autres individus exprimant ce marqueur phénotypique (Hamilton 1964a, b). Hamilton a montré qu'un tel gène pouvait être sélectionné dans une population même si les individus ne partageaient aucun autre gène en commun. Cette idée d'un gène capable d'évoluer indépendamment du reste du génome a par la suite été reprise par Dawkins dans son ouvrage *The Selfish Gene* (Dawkins 1976). C'est dans cet ouvrage que l'auteur a utilisé la barbe verte pour représenter le marqueur phénotypique permettant aux individus (ici plutôt aux gènes) de se reconnaître. Depuis, la théorie des gènes barbe verte a été développée et généralisée (Gardner & West 2010; Gardner 2019). Notamment, il a été montré que l'expression d'un marqueur phénotypique n'était pas une condition nécessaire pour l'évolution des gènes barbe verte, mais qu'il suffisait que le mécanisme issu de leur expression aboutisse à un effet positif uniquement sur les individus portant les mêmes gènes. Par ailleurs, quatre types d'effets barbe verte ont été distingués (**Figure 8**, Gardner & West 2010). Dans tous les cas, la différence majeure entre les gènes barbe verte et la reconnaissance entre apparentés est que le gène barbe verte évolue indépendamment des relations généalogiques entre les individus : c'est le déséquilibre de liaison entre le locus de reconnaissance et le locus social qui assure l'appariement préférentiel des allèles altruistes (**Figure 7**, Gardner & West 2010). Ainsi,

la fixation d'un allèle à effet barbe verte aboutit à un apparentement fort uniquement au locus barbe verte.

C. L'application aux mélanges variétaux

D'après les théories écologiques présentées dans le paragraphe précédent, plusieurs effets bénéfiques peuvent être associés à une plus grande diversité intra-spécifique, notamment

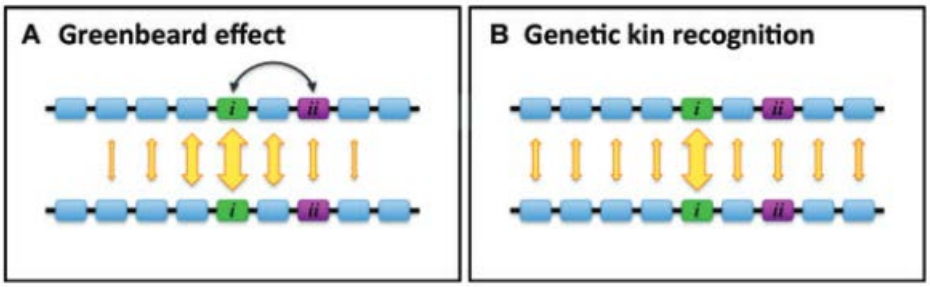


***Figure 7** : Différence entre l'effet barbe verte et la reconnaissance entre apparentés. (**A**) : l'effet barbe verte dépend d'un déséquilibre de liaison (flèche noire) entre le locus de reconnaissance (i) et le locus social (ii). Ici, les deux individus en interactions (individus dont les génomes sont alignés) sont très fortement apparentés au locus de reconnaissance (r = 1) et donc également fortement apparentés aux loci en déséquilibre de liaison avec le locus de reconnaissance, qui peuvent contenir un gène ayant un effet social. (**B**) : la reconnaissance entre apparentés dépend de l'apparentement généalogique entre les individus. Les individus partageant le même marqueur phénotypique, et donc le même allèle codant pour ce marqueur au locus de reconnaissance (i), ont une forte probabilité d'être génétiquement similaires (r >0) sur tout leur génome, y compris aux loci ayant des effets sociaux (ii). D'après Gardner & West 2010.*

les effets de complémentarité de niche et de sélection. Dans la littérature théorique sur les

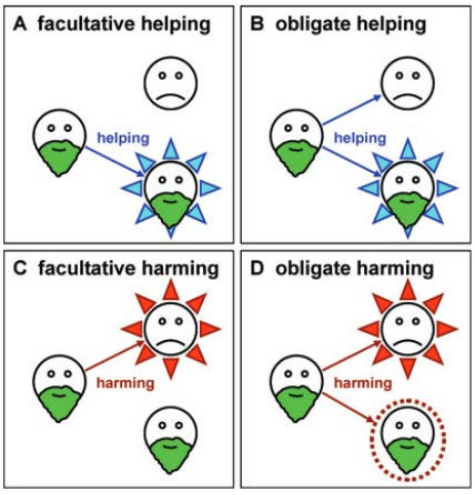


***Figure 8 :** Les quatre effets « barbe verte ». (**A**) : Dans le cas d'un altruisme facultatif, l'individu focal ajuste son phénotype social de sorte à n'exprimer l'altruisme que dans les interactions sociales impliquant des individus portant eux aussi l'allèle barbe verte. (**B**) : Dans le cas d'un altruisme obligatoire, l'individu focal exprime un phénotype altruiste dans toutes ses interactions sociales, mais seuls les individus portant l'allèle barbe verte peuvent en bénéficier. (**C**) Dans le cas d'une malveillance facultative, l'individu focal ajuste son phénotype social de sorte à n'être nuisible qu'avec les individus ne portant pas l'allèle barbe verte. (**D**) : Dans le cas d'une malveillance obligatoire, l'individu focal exprime un phénotype nuisible dans toutes ses interactions, mais les individus portant l'allèle barbe verte en sont prémunis. D'après Gardner & West 2010.*

mélanges variétaux, il a été proposé d'utiliser ces effets, notamment l'effet de complémentarité de niche, pour optimiser la performance des mélanges (Litrico & Violle 2015 ; Barot et al. 2017 ; Borg et al. 2018). Il reste cependant difficile de comprendre comment ces effets agissent dans les mélanges sachant qu'ils n'ont pas été testés empiriquement dans ce contexte.

D'après certaines théories de biologie évolutive, notamment la théorie de reconnaissance entre apparentés, une plus grande diversité intra-spécifique pourrait au contraire avoir des effets négatifs sur la performance agronomique, puisqu'elle conduirait à diminuer l'apparentement entre les plantes voisines, et donc leur coopération. Chez les plantes, des expériences ont en effet montré que certaines espèces sont capables d'être plus coopératives envers des voisins apparentés, par exemple en stimulant leurs mécanismes de défense (Karban Richard et al. 2013), ou encore en attirant des pollinisateurs pour faciliter leur reproduction (Torices et al. 2018). Très peu d'études ont été conduites chez les espèces cultivées et il reste donc difficile d'évaluer l'impact de ces mécanismes sur la performance agronomique dans le contexte des mélanges variétaux (Fréville *et al.* 2019).

Enfin, les éventuelles différences d'aptitude à la compétition entre les variétés représentent un défi pour la sélection dynamique des mélanges variétaux. Il apparaît en effet difficile d'empêcher les variétés les plus compétitives d'envahir le mélange au bout d'un certain nombre de générations, ce qui peut avoir des conséquences négatives sur la productivité. Récemment, certains auteurs ont suggéré d'utiliser les principes de la biologie évolutive, notamment la théorie de la sélection de parentèle, pour sélectionner des variétés moins compétitives et plus coopératives (Denison et al. 2003 ; Denison 2012 ; Murphy et al. 2017 ; Weiner et al. 2017). Cependant, les conditions pratiques pour implémenter une telle sélection restent assez floues.

5. Objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre les effets de la diversité intra-spécifique sur la performance agronomique dans le contexte des mélanges variétaux. Nous cherchons plus particulièrement à répondre à trois questions :

(1) Comment la diversité intra-spécifique impacte-t-elle la performance agronomique ?

(2) Quels sont les mécanismes impliqués dans la relation entre la diversité intra-spécifique et la performance agronomique ?

(3) Comment sélectionner et assembler des variétés pour tirer le meilleur parti de la diversité-intra spécifique ?

Pour répondre à ces problématiques, nous adoptons une démarche interdisciplinaire, mêlant l'agronomie, l'écologie, et la biologie évolutive. Nous utilisons le riz (*Oryza sativa*) et le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) dans nos approches expérimentales, et nous combinons ces approches avec de la modélisation.

Dans le premier chapitre, nous utilisons une expérience en conditions contrôlées pour tester l'hypothèse de complémentarité de niche à partir de mélanges de variétés de riz. Nous

nous intéressons en particulier à la complémentarité d'utilisation des ressources souterraines associée aux différences de profondeurs racinaires entre les variétés. Selon l'hypothèse de complémentarité de niche, les mélanges composés de génotypes ayant des profondeurs racinaires différentes devraient être plus productifs que la moyenne de leurs monocultures grâce à un meilleur partage des ressources. Pour tester cette hypothèse, nous utilisons quatre génotypes dont deux lignées isogéniques, c'est-à-dire strictement identiques génétiquement, sauf à un locus associé à la profondeur racinaire. Nous cultivons ces génotypes en mélanges binaires sous deux niveaux de fertilisation en phosphate, l'élément minéral le plus limitant dans la culture du riz, et nous comparons la biomasse produite par les mélanges avec la biomasse produite dans les monocultures. Nous utilisons par ailleurs d'autres traits aériens et racinaires pour interpréter la productivité des mélanges.

Dans le deuxième chapitre, nous testons l'effet conjoint de la diversité fonctionnelle et de l'identité fonctionnelle des mélanges sur leur performance agronomique en intégrant 19 traits aériens et racinaires, dans le but d'identifier les traits les plus déterminants pour la performance agronomique. Nous utilisons une expérience au champ avec 220 mélanges binaires de blé dur. A l'aide d'une analyse multivariée, nous cherchons les traits qui affectent le plus significativement la performance agronomique des mélanges, soit via leur valeur moyenne, soit via leur variabilité. Nous caractérisons l'effet de la composition fonctionnelle des mélanges sur quatre composantes de la performance agronomique liés à la quantité et à la qualité de la récolte. Enfin, nous établissons une classification fonctionnelle des génotypes afin d'identifier des règles d'assemblage permettant d'optimiser plusieurs composantes de la performance agronomique.

Dans le troisième chapitre, nous testons les différents mécanismes décrits en écologie (complémentarité et sélection) et en biologie évolutive (effet barbe verte) à l'échelle allélique. A partir des données acquises sur les 220 mélanges de blés durs cultivés au champ, et d'une caractérisation génotypique nous donnant accès à 28 000 sites polymorphes sur le génome (SNPs : Single Nucleotide Polymorphisms), nous cherchons dans un premier temps les loci auxquels la diversité allélique est significativement associée (positivement ou négativement) à la performance des mélanges. Nous testons ensuite si les effets de diversité allélique détectés sur la performance des mélanges sont liés à la résistance à la septoriose, une des principales maladies fongiques du blé.

Enfin, dans la perspective d'une gestion dynamique de la diversité intra-spécifique, nous nous intéressons à l'évolution des traits liés à la compétition chez les espèces cultivées. A partir d'un modèle basé sur la théorie de la sélection de parentèle, nous comparons l'évolution de la hauteur dans un réseau de parcelles selon différents schémas de sélection, dans le but d'identifier les paramètres facilement contrôlables par l'agriculteur ou le sélectionneur qui permettent de sélectionner des phénotypes altruistes, c'est-à-dire moins compétitifs, qui maximisent le rendement.

CHAPITRE 1

Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs

Article publié

Montazeaud Germain, Cyrille Violle, Hélène Fréville, Delphine Luquet, Nourollah Ahmadi, Brigitte Courtois, Ilyas Bouhaba, and Florian Fort. 2018. “Crop mixtures: Does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs.” *Plant and Soil* 424 (1): 187–202.

https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2.

1. Présentation générale

Dans ce chapitre, nous testons si une hypothèse centrale et séminale en écologie, la complémentarité de niche, peut être vérifiée dans les mélanges variétaux. Selon cette théorie, un mélange de génotypes ayant des niches écologiques différentes devrait utiliser les ressources de façon plus optimale et donc être plus productif qu'une variété monogénotypique, parce que les différences de niches entre les génotypes devraient permettre un meilleur partage des ressources (MacArthur et Levins 1967). Nous nous intéressons plus particulièrement à une des dimensions de la niche écologique, qui est l'utilisation des ressources souterraines, et plus particulièrement des éléments minéraux du sol. Par ailleurs, nous testons une forme particulière de complémentarité qui est la complémentarité spatiale d'utilisation des ressources souterraines issue des différences de profondeurs racinaires entre les variétés.

Pour tester cette théorie, nous utilisons un dispositif expérimental en pots dans lesquels nous cultivons des mélanges et des monocultures constitués à partir de 4 génotypes de riz (*Oryza sativa*) ayant des phénotypes variés à la fois dans le compartiment aérien et dans le compartiment souterrain. Nous utilisons des mélanges binaires, c'est-à-dire des mélanges composés de deux génotypes. Il y a donc 6 mélanges et 4 monocultures. Le test de l'hypothèse de complémentarité d'utilisation des ressources souterraines repose surtout sur un des mélanges composés de deux lignées isogéniques appartenant à la sous-espèce *indica*. Ces deux lignées pures sont strictement identiques génétiquement, sauf à un locus codant pour la profondeur racinaire. Cette variation génétique très localisée entraîne une croissance racinaire plus importante sur une des deux lignées, qui conserve par ailleurs un phénotype identique à l'autre. Ainsi, le mélange des deux lignées permet de tester l'effet de la différence de profondeur racinaire à lui seul. Les deux autres génotypes appartiennent à la sous-espèce *japonica*, et diffèrent considérablement des deux lignées isogéniques à la fois sur les traits aériens et sur les traits racinaires. Ainsi, les autres mélanges nous permettent de tester les effets des différences phénotypiques sur 10 autres traits aériens et racinaires liés à l'utilisation des ressources. Les 6 mélanges et les 4 monocultures sont cultivés selon deux niveaux de fertilisation en phosphate : fertilisé ou non fertilisé. Le phosphate est l'élément minéral le plus limitant dans la culture du riz (Ismail et al. 2007). Par ailleurs, c'est un élément très peu mobile dans le sol (Lambers et al. 2008), ce qui peut en théorie renforcer les potentiels effets de complémentarité spatiale entre les génotypes.

Nous testons l'hypothèse de complémentarité spatiale d'utilisation des ressources souterraines en comparant la biomasse produite par les mélanges avec la biomasse produite par leurs composantes en monoculture. Nous nous intéressons plus particulièrement à l'écart entre la productivité des mélanges et la productivité de la meilleure de leurs composantes en monoculture. Cet écart, appelé « transgressive overyielding », est différent de l'overyielding présenté en introduction, qui quantifie l'écart entre la productivité du mélange et la moyenne des productivités de ses composantes en monoculture (Hooper et Dukes 2004). Nous avons ici voulu être plus stricts dans l'évaluation des mélanges afin de nous rapprocher de ce que pourrait attendre un agriculteur qui cultive une unique variété et qui ne veut pas perdre en production en

adoptant un mélange de variétés. Comme nous le mentionnons dans la partie « Matériel et Méthodes », les résultats obtenus avec l'overyielding classique étaient très similaires aux résultats présentés dans ce chapitre. Nous testons ensuite l'effet des différences phénotypiques entre les génotypes sur la productivité relative des mélanges par rapport à leur meilleure composante en monoculture. Pour distinguer les effets de complémentarité et les effets de sélection, nous analysons également la productivité relative de chacune des composantes dans les mélanges (RY). Nous intégrons le niveau de fertilisation dans ces analyses pour estimer l'impact de la disponibilité en ressources sur les potentiels effets de complémentarité ou de sélection.

Author's personal copy

Plant Soil
https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2

REGULAR ARTICLE

Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs

Germain Montazeaud · Cyrille Violle · Hélène Fréville · Delphine Luquet · Nourollah Ahmadi · Brigitte Courtois · Ilyas Bouhaba · Florian Fort

Received: 31 March 2017 / Accepted: 10 November 2017
© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2017

Abstract
Aims Genotypic mixtures have been receiving a growing interest as genetic diversity could increase crop productivity. Resource-use complementarity is an expected key underlying mechanism, provided that varieties in the mixture differ in resource-related traits, notably root traits. We aimed at examining how trait differences and resource-use complementarity drive biomass production of genotypic mixtures.

Methods Four rice (*Oryza sativa*) genotypes including two Near-Isogenic Lines only differing in root depth were grown in monoculture and in two-way mixtures in pots under two levels of phosphorus supply. We analyzed the relative difference between mixture biomass and the best monoculture biomass in relation to between-genotype phenotypic distance on ten resource-related traits.
Results Mixtures never outperformed the best monoculture. However, relative mixture productivity increased with increasing between-genotype distance in biovolume, specific leaf area and top soil root biomass. This was mainly driven by a "selection effect": trait differences led to competitive ability differences and the dominant genotypes tended to gain more in mixture than the subdominant genotypes lost compared to monoculture.
Conclusions Rather than trying to minimize competition through resource-use complementarity, we argue that promoting interactions between genotypes that have different competitive abilities may be a more promising approach to design productive crop mixtures.

Keywords Crop mixture · Functional diversity · Near-isogenic lines · Resource-use complementarity · Rice · Root traits · Selection effect

Responsible Editor: Hans Lambers

Electronic supplementary material The online version of this article (https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2) contains supplementary material, which is available to authorized users.

G. Montazeaud (✉) · F. Fort
CEFE, Montpellier SupAgro, CNRS, Université de Montpellier, Université Paul Valéry Montpellier 3, EPHE, IRD, Montpellier, France
e-mail: g.montazeaud@gmail.com

G. Montazeaud
AGAP, Montpellier SupAgro, INRA, CIRAD, Université de Montpellier, Montpellier, France

C. Violle · I. Bouhaba
CEFE, CNRS, Université de Montpellier, Université Paul Valéry Montpellier 3, EPHE, IRD, Montpellier, France

H. Fréville
AGAP, INRA, CIRAD, Montpellier SupAgro, Université de Montpellier, Montpellier, France

D. Luquet · N. Ahmadi · B. Courtois
AGAP, CIRAD, INRA, Montpellier SupAgro, Université de Montpellier, Montpellier, France

Introduction

Agronomy and ecology have been converging for decades on a similar question while studying their own systems

Published online: 27 November 2017

Author's personal copy

(agrosystems and ecosystems, respectively): is greater diversity the key to success (Hajjar et al. 2008; Hughes et al. 2008)? By greater diversity, one can refer to greater genetic and specific diversity and, possibly, greater phenotypic diversity within inter- or intraspecific plant mixtures (Litrico and Violle 2015). "Success" suggests an improvement in the overall functioning of a system, leading, for instance, to higher benefits for human societies, so-called "ecosystem services". Reintroducing diversity within agrosystems has been identified both as a target to adapt current cropping systems to accelerating rates of environmental changes and as a way to compensate, to some extent, for lower levels of chemical inputs (fertilizers and pesticides) in a more sustainable agriculture (Østergård et al. 2009; Costanzo and Bàrberi 2014). Despite ongoing efforts to translate ecological results into agronomical innovations, designing crop mixtures still represents a challenge for agronomists, physiologists and plant breeders.

Over the past two decades, the loss of biodiversity has stimulated both theoretical and experimental studies in ecology on the role of biodiversity in ecosystem functioning (Cardinale et al. 2012; Naeem et al. 2012). The most widespread response variable chosen in these studies to measure ecosystem functioning is net primary productivity, often approximated by aboveground biomass production (Scurlock et al. 2002). A positive relationship between diversity and productivity was experimentally shown for a wide range of ecosystems (Tilman et al. 2001; Loreau et al. 2001; Hooper and Dukes 2004; Craven et al. 2016). Analyzing 26 agronomic trials on intra-specific cereal mixtures published since 1969, Kiær et al. (2009) also showed a positive effect of genetic diversity on productivity, with a 2.7% grain yield increase on average in mixtures compared to monocultures. Yet large variation in mixture performance has been shown in the literature (Smithson and Lenné 1996; Kiær et al. 2009; Zeller et al. 2012), which calls for a better understanding of the mechanisms that drive plant-plant interactions and how they impact productivity.

One of the main ecological theories proposed to explain such a positive link between diversity and productivity is niche complementarity (Macarthur and Levins 1967). Species' niches can be represented by three axes (Chase and Leibold 2003): (i) resources, (ii) natural enemies, and (iii) abiotic stresses. These niche axes are theoretically associated to suites of phenotypic traits (Van Valen 1965; Schoener and Gorman 1968; Roughgarden 1974; Violle and Jiang 2009). As such, competition among species, or genotypes within species is predicted to generate phenotypic trait divergence and thus potential niche differentiation in ecological communities (Hutchinson 1957; Silvertown 2004; McGill et al. 2006; Zuppinger-Dingley et al. 2014). Among-species and among-genotype differentiation along the natural enemy axis has been shown to increase biomass production in both natural communities and crop mixtures (Finckh et al. 2000; Tooker and Frank 2012). Apart from natural enemies, differentiation along the resource-use axis is the most often called mechanism to explain greater productivity in diverse ecosystems (Turnbull et al. 2016). Indeed, a community composed of species or genotypes that use resources differently might use more efficiently the total amount of available resources and is expected to transform a greater amount of resources into biomass compared to monospecific or monogenotypic communities, a phenomenon called overyielding (Hooper and Dukes 2004). Although largely mentioned, both in theoretical studies and in the interpretation of experimental results, the resource-use complementarity mechanism has proved difficult to demonstrate experimentally.

The recent rise of trait-based ecology (Violle et al. 2007; Garnier et al. 2015) has emphasized the link between resource-use complementarity and variation in some key phenotypic traits (Silvertown 2004; McGill et al. 2006; Violle and Jiang 2009). Root depth has been identified as an important trait that drives plant-plant interactions when plants compete for soil resources (Dimitrakopoulos and Schmid 2004; Fargione and Tilman 2005; Grassein et al. 2015). Early work on plants indeed showed that mature communities such as grasslands were characterized by lower overlap in the use of the belowground resources among coexisting species than early successional communities and stronger phenotypic differences on traits that characterize root distribution (Parrish and Bazzaz 1976). The belowground compartment contains fundamental resources for plant growth such as water and mineral resources, which can have low mobility and/or display large heterogeneity in spatial and temporal availability. Resource-use complementarity could thus be reached in crop mixtures by growing genotypes with different root depths (Litrico and Violle 2015).

However, root depth is often correlated with plant height, a trait highly related to plant competitive ability (Gaudet and Keddy 1988; Violle et al. 2009). Competitive ability and niches are two drivers of species and/or genotype assembly in natural communities and thus of ecosystem functioning (Chesson 2000), and both can affect mixture overyielding. Whenever phenotypic traits (e.g., root depth) are related to niches phenotypic

Author's personal copy

divergence can reduce the competition between genotypes through resource-use partitioning. In this case, all genotypes grow on average better in mixtures than in monoculture, which correspond to the "complementarity" effect describe by Loreau and Hector (2001). In contrast, some traits are related to competitive ability, as described in the "competition-trait hierarchy" framework (Mayfield and Levine 2010; Kunstler et al. 2012). For instance, small individuals hardly sustain competition when grown with tall individuals (Violle et al. 2009). In this case, only genotypes that are positioned higher in the competition hierarchy are expected to produce more biomass in mixture than predicted from monoculture performance. Overyielding can arise from this mechanism, for example, when the stronger competitor wins more than the weaker competitor loses. Such a process represents one facet of the "selection effect" described by Loreau and Hector (2001). Strong correlations between resource-related traits (e.g., root depth) and competitive ability-related traits (e.g., plant height), makes the development of crop mixtures particularly challenging. Litrico and Violle (2015) suggested that plant breeding could provide interesting tools to decouple such traits.

The relative effects of competition-trait hierarchy and resource-use complementarity on biomass productivity can depend on the amount of available resources (Goldberg 1996). Experimental works on the relationship between diversity and ecosystem functioning along environmental gradients formalized the "stress-gradient-hypothesis" (Bertness and Callaway 1994; Maestre et al. 2009; Jucker and Coomes 2012): negative interactions, such as those driven by competition-trait hierarchy, dominate under favorable conditions whereas positive interactions, such as those arising from resource-use complementarity, increase when the environment becomes harsher. In a recent meta-analysis based on 16 grassland experiments across North America, Craven et al. (2016) found that ecosystem productivity increased with both species richness and nutrient supply, but that their interaction was not significant. However, this interaction was significant on the complementarity effect (Loreau and Hector 2001), the relationship between complementarity and diversity being stronger under low nutrient conditions. However, a stronger relationship between plant diversity and ecosystem functioning under more favorable conditions has also been documented (e.g., Reich et al. 2001; He et al. 2002). Therefore, controlling for the amount of resources is crucial when studying the effect of diversity on ecosystem productivity, especially regarding crops for which major environmental and agronomical changes are expected in the future (Clark and Tilman 2017).

In this study, we aim to examine whether and how trait differences and resource-use complementarity drive biomass production of genotypic mixtures using rice as a model species. Rice (*Oryza sativa*) is the most important staple food for half of the world's population (Muthayya et al. 2014). This crop is particularly affected by phosphorus (P) scarcity. Almost 50% of rice soils are considered P deficient (Ismail et al. 2007). Furthermore, P fertilizers are expensive for subsidence farmers and based on non-renewable resources (Lynch 2007). In many agrosystems, P is hardly available for plants as it is highly bound to chemical or biological soil components. Low mobility and solubility of P in the soil induce spatial and temporal heterogeneous availability (Lambers et al. 2008), which may be efficiently offset by belowground resource-use complementarity (Postma and Lynch 2012). The wide belowground phenotypic diversity observed among rice subspecies and varieties (Coudert et al. 2010; Vejchasarn et al. 2016) makes this crop a relevant model to test for the effect of phenotypic diversity on mixture productivity along the resource axis. We grew all pairwise combinations of four rice genotypes in pots under two levels of P availability. Genotypes were chosen to exhibit contrasted aboveground and belowground resource-use strategies. Two of them were Near-Isogenic Lines (NILs) having the same genome except at a specific region of chromosome 9 identified as a Quantitative Trait Locus (QTL) for root depth (Yadav et al. 1997; Shen et al. 2001). These genotypes were expected to only differ in their belowground niche while being similar for all other traits including plant height, which is as an important prerequisite regarding our experiment (Litrico and Violle 2015). Resource-use complementarity was assessed by relating mixture biomass productivity and transgressive overyielding (i.e. relative difference between mixture biomass and the best monoculture biomass) to between genotype phenotypic distance on ten aboveground and belowground traits that have already been found to relate with mixture productivity through resource-use complementarity.

Author's personal copy

Material and methods

Plant material

Four rice genotypes that exhibit a large range of phenotypic diversity on several above and belowground traits were selected: Ketan Konir (hereafter Ketan), Padi Boenar (hereafter Padi), IR64 and IR64+. Ketan and Padi are landraces from Indonesia belonging to the tropical *japonica* subspecies. Ketan is cultivated under upland conditions whereas Padi, which belongs to the bulus ecotype, is cultivated under rainfed lowland conditions. Ketan has a higher aboveground stature than Padi. The two landraces also differ in their root system architecture: Ketan has a deep root system with low root density and narrow root system cone angle (angle to the vertical <90°), whereas Padi has a shallow root system with high superficial root density and wide root system cone angle (angle to the vertical >90°), IR64 is a modern semi-dwarf cultivar belonging to the *indica* subspecies and is cultivated in irrigated agrosystems. It exhibits a medium deep root system, with high superficial root density and wide (> 90°) root system cone (Yoshida and Hasegawa 1982). IR64+ was designed to share IR64 phenotypic characteristics except for root depth. IR64+ is a NIL of IR64, from which it differs for a specific region of chromosome 9 that carries a Quantitative Trait Locus for root depth (QTL 9). QTL 9 was first identified in a population of doubled-haploid lines derived from IR64 x Azucena cross (Yadav et al. 1997), the latter being a deep-rooted *japonica* landrace cultivated in upland agrosystems. Three cycles of backcross with IR64 as the recurrent parent allowed producing a first set of NILs that indeed confirmed the effect of QTL9 on Maximum Root Length and Deep Root Weight, measured as root weight below 30 cm (Shen et al. 2001). IR64+ is derived from three additional cycles of backcross that have further reduced the remaining contribution of Azucena in the background genome and the length of the introgressed segment to 32 kb (unpublished data).

Experimental design

The experiment was conducted in a plastic polytunnel in Montpellier, France (CEFE, Plateforme des Terrains d'expériences, Labex CeMEB). Plants were grown in pots, in pairs, either in monoculture (two plants of the same genotype) or in mixture (two plants of different genotypes). This design resulted in a set of 10 different combinations (4 monocultures and 6 mixtures) that were grown in two phosphorus conditions: high P supply and low P supply. The genotypic combinations x P-treatments were replicated across 5 blocks. Thus, the experiment was carried on 200 plants grown in 100 pots (10 × 2 × 5).

Growth conditions

Seeds were sown in boxes filled with the same soil used to fill the pots. Seven-day old seedlings were transplanted to 15-cm diameter × 60-cm deep pots. The two seedlings were positioned 2 cm away from the center of pots. Each pot contained 17 kg (dry weight basis) of sandy loam soil (642 mg sand.kg $soil^{-1}$, 231 mg silt.kg $soil^{-1}$, 127 mg clay.kg $soil^{-1}$) with an alkaline pH (7.8), which had not been fertilized for the last 40 years. Its Olsen *P* value (Olsen 1954) was 0.05 g P.kg $soil^{-1}$ and the total N concentration was 1.17 g N.kg $soil^{-1}$. As we aimed at examining P use complementarity among genotypes, N and water were provided ad libitum to prevent competition for those resources. At the beginning of the experiment, each pot was fertilized with 0.08 g of N (NH_4NO_3). Then N was applied two times during the course of the experiment (0.08 g $N.pot^{-1}$). Pots of the high P supply treatment received two inputs of a triple superphosphate (45% P_2O_5) nutritive solution applied on the soil surface: 0.16 g nine days after planting and 0.8 g thirty days after planting. Pot water content was maintained close to field capacity by watering pots three times a week. The daily mean temperature varied between 20.4 °C and 35 °C and the mean radiation intensity was 615 ± 156 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$. Plants were harvested 49 days after transplanting, just before bolting. The experiment was stopped at this phenological stage since the vegetative phase is the main period during which competition is at play (Violle et al. 2009). Moreover vegetative biomass and grain yield are also often well correlated in rice (Zhu et al. 2016). As such, our results should also have implications for the final reproductive yield, the component of economic interest in rice.

Plant measurements

Trait descriptions are provided in Supplementary Table S1. Just before transplanting, five seedlings of each genotype were randomly chosen to measure their aboveground and belowground biomass at the

Author's personal copy

beginning of the experiment. Two days before harvesting, plant aboveground stature was estimated through a measurement of standing plant height (PH). We also used plant height and two horizontal perpendicular axes (major and minor axes) to estimate the aboveground biovolume as a half-ellipsoid. We also counted the number of tillers per plant. The last mature leaf of the main stem of each plant was harvested and stored one night in water to allow leaf water saturation. Leaves were then scanned at 400 dpi and dried at least 48 h at 60 °C. Leaf area was estimated using ImageJ software. Specific Leaf Area (SLA, $m^2.kg^{-1}$) was calculated as the ratio between leaf area and leaf dry mass.

At harvest, plant shoots were clipped at the root base, dried at least 48 h at 60 °C and weighed to determine aboveground biomass (AB). For each pot, the root system of the whole mesocosm was separated into a topsoil layer (0–20 cm) and a deep soil layer (20–60 cm) and was carefully washed with water to remove soil particles. Roots of both individuals from the topsoil layer were carefully separated from each other and a subsample of basal and adventitious roots was frozen (−18 °C). Basal roots correspond to both radicle roots emerged from the seed, and embryonic crown roots emerged from the node of the coleoptile. Adventitious roots correspond to postembryonic roots developed from the main stem and tillers nodes; they occur naturally in rice and in most monocots, where they represent an important part of the root system (Kato and Okami 2010; E et al. 2012). Roots from the deep soil layer could not be individualized due to strong entanglement. All roots were dried at least 48 h at 60 °C. Root biomass in the topsoil layer (RB_{top}) was measured for each individual of the pair as the sum of root biomass in the subsample and the remaining topsoil root biomass. Root biomass from the deep soil layer (RB_{deep}) corresponded to the total root system produced by both plants. Subsamples of basal and adventitious roots were scanned to characterize root architecture: roots were defrosted in cold water and then scanned separately for each plant (600 dpi). Images were analyzed using WinRHIZO pro (Version 2009; Regent Instrument, Quebec, Canada) to assess number of root tips, root length distribution among diameter classes and total root length, surface and volume. After scanning, roots were dried at least 48 h at 60 °C and weighed. Proportions of fine roots in basal roots (PfR_{bas}) and in adventitious roots (PfR_{ad}) were computed as the ratio of total fine root length (diameter < 0.1 mm) over total root length. Mean root diameters of basal roots and adventitious roots were calculated as the mean of the median root diameters of each diameter class weighted by the root length in each class. Specific Root Length (SRL_{bas} and SRL_{ad}) was calculated by dividing the subsample root length by its dry mass. Root tissue density (RTD_{bas} and RTD_{ad}) corresponded to the ratio of the sample root dry mass to its volume (Cornelissen et al. 2003). Root branching intensity (RBI_{bas} and RBI_{ad}) was computed as the number of root tips divided by total root length (Kramer-Walter et al. 2016). Pot productivity was estimated as the total biomass (aboveground and belowground) produced by the two plants.

Calculation of mixture relative productivity

To disentangle resource-use complementarity effect from selection effect, we quantified how biomass production of each component of the mixture was affected compared to monoculture by computing individual relative yields (RY, Weigelt and Jolliffe 2003) following eq. [1]:

$$RY_{ijkl} = \frac{AB_{ijkl}}{\overline{AB_{iik}}} \quad (1)$$

RY_{ijkl} is the relative yield of genotype i grown with genotype j as neighbor in P treatment k, in block l. AB_{ijkl} is the single plant aboveground biomass of genotype i grown with genotype j as neighbor in P treatment k and block l. $\overline{AB_{iikl}}$ is the two-plants aboveground biomass of genotype i grown with genotype i as neighbor (monoculture) in P treatment k, averaged across blocks. RY equals to 0.5 when a genotype produces proportionally the same amount of biomass in mixture and in monoculture. RY < 0.5 indicates lower biomass production in mixture than in monoculture and RY > 0.5 larger production in mixture. Note that this index was calculated for aboveground biomass, belowground biomass being only available at the pot level.

Then, we compared mixture productivity with monoculture productivity. Overyielding quantifies the degree to which a mixture produces more biomass than the mean of its component in a monoculture situation. In our case, we wanted to be more restrictive and to quantify the degree to which a mixture produces more biomass than the best of its component in a monoculture situation, phenomenon called transgressive overyielding. Note that all analyses were first run considering overyielding and ended up with very similar

Author's personal copy

results. Transgressive overyielding, a potential interesting target in agriculture, was estimated by calculating D_{max} (Hooper and Dukes 2004) following eq. [2]:

$$Dmax_{ijkl} = \frac{B_{mix_{ijkl}} - \overline{B_{max_{ijk}}}}{\overline{B_{max_{ijk}}}} \quad (2)$$

$Dmax_{ijkl}$ corresponds to the D_{max} index for mixture of genotype *i* and *j* in P treatment *k* and block *l*. $B_{mix_{ijkl}}$ is the total biomass (above and belowground) of mixture of genotype *i* and genotype *j* in P treatment *k* and block *l*. $\overline{B_{max_{ijk}}}$ is the maximum total biomass production between monocultures of genotype *i* and monocultures of genotype *j* in P treatment *k*, averaged across blocks. $D_{max} > 0$ indicates transgressive overyielding.

To estimate RY and D_{max} values, we used monoculture productivity averaged across blocks. Indeed, no block effect was identified on monoculture biomass (Table 1) and monoculture productivity was here used as a reference value that characterizes each genotype.

Data analysis

All statistical analyses were performed with R software v.3.3.2 (R Core Team 2017).

A PCA was run on the monoculture data to describe above and belowground phenotypic diversity across the four rice genotypes, using the R package {FactoMineR}. All biomass-related traits that we used as a proxy for productivity were removed from this analysis, except root biomass in deep soil layer (RB_{deep}), this trait being our most obvious candidate to explain resource-use complementarity. Root traits measured on basal roots were highly correlated to root traits measured on adventitious roots (Supplementary Table S2). We thus chose to only use adventitious root traits in the PCA given that our results showed a stronger link between pot productivity and between-genotype phenotypic distance on adventitious root traits. Basal root traits were treated as "supplementary" variables. PCA variables were characterized at the pot level: number of tiller, biovolume and root biomass in top soil layer were thus summed over plants sharing a pot, whereas remaining variables were averaged over plants within pots. Phenotypic variation among genotypes along the Principal Components (PC) was tested with an Analysis of Variance (ANOVA) following eq. [3], all effects being fixed except residual error:

$$y_{ikl} = \mu + \alpha_i + \theta_k + \tau_l + \delta_{ik} + \varepsilon_{ikl} \quad (3)$$

With y_{ikl} the PC coordinate of genotype *i* grown in monoculture under phosphorus treatment *k* in block *l*; μ: overall mean; α_i: genotype *i* effect ($i \in [1:4]$); θ_k: phosphorus treatment *k* effect ($k \in [1:2]$); τ_l: block *l* effect ($l \in [1:5]$); δ_{ik}: interaction between genotype i effect and phosphorus treatment k effect;ε_{ikl}: random error term. ANOVA post hoc tests were performed using Fisher-LSD test (R package {agricolae}).

Table 1 Analysis of Variance (ANOVA) of productivity traits measured on monocultures: root biomass in the topsoil layer (0–20 cm), root biomass in the deep soil layer (20–60 cm) and aboveground biomass. Genotype effect, Phosphorus effect, Block effect and Genotype x Phosphorus interaction were tested. F and *P* values in bold indicate significant effect at the level of 0,05, while F and P values in italics correspond to *p*-values between 0.05 and 0.10

Variable	d.f.	Effect	F-value	p-value
Root Biomass 0–20 cm	4	Block	1.30	0.294
	3	**Genotype**	**21.69**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.16	0.691
	3	*Genotype x Phosphorus*	*2.44*	*0.086*
Root Biomass 20–60 cm	4	Block	0.58	0.682
	3	**Genotype**	**20.81**	**<0.001**
	1	*Phosphorus*	*3.47*	*0.073*
	3	**Genotype x Phosphorus**	**4.13**	**0.016**
Aboveground Biomass	4	Block	1.03	0.411
	3	**Genotype**	**11.52**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.99	0.328
	3	*Genotype x Phosphorus*	*2.74*	*0.062*

Author's personal copy

Variation in individual plant productivity was assessed with ANOVAs, following the model described in eq. [4], with all effects except residuals set as fixed effects:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \theta_k + \tau_l + \delta_{ij} + \delta_{ik} + \delta_{jk} + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (4)$$

With y_{ijkl} the dependent variable measured on genotype i with genotype j as neighbor in P treatment k in block l; μ: overall mean; α_i: genotype i effect ($i \in [1:4]$); β_j: genotype j (neighbor) effect ($j \in [1:4]$); θ_k: P treatment k effect ($k \in [1:2]$); τ_l: block l effect ($l \in [1:5]$); δ: interaction terms; ε_{ijkl}: random error term.

Within each pair, RY was analyzed in relation with the phenotypic distance between the focal genotype (the one for which we consider RY) and its neighbor with an Analysis of Covariance (ANCOVA) following model [5]:

$$y_{ijkl} = \mu + D_{ij} + \theta_k + \tau_l + \delta_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} \quad (5)$$

With y_{ijkl} the RY value for genotype i with genotype j as neighbor in P treatment k in block l; μ: overall mean; D_{ij}: Phenotypic hierarchical distance between genotypes i and j ($Trait_i - Trait_j$), using trait measured in mixture; θ_k: P treatment k effect ($k \in [1:2]$); τ_l: block l effect ($l \in [1:5]$); δ: interaction terms; ε_{ijkl}: random error term.

Variations of productivity at the pot level (e.g., total biomass or D_{max}) were analyzed following model [6]:

$$Y_{(ij)kl} = \mu + A_{(ij)} + \theta_k + \tau_l + \delta_{(ij)k} + \varepsilon_{(ij)kl} \quad (6)$$

With $Y_{(ij)kl}$ the dependent variable measured on genotypic pair ij in P treatment k in block l and $A_{(ij)}$ the genotypic pair ij effect. The same model was used to test for an overall difference between mixtures and monocultures by substituting the genotypic pair variable $A_{(ij)}$ by a variable with two levels, "mixture" or "monoculture".

To disentangle resource-use complementarity from selection effects, total mixture biomass (aboveground and belowground biomass of the two plants) and D_{max} were analyzed in relation with between-genotype absolute phenotypic distance ($|Trait_i - Trait_j|$) on several resource-related traits using model [5]. In addition, they were analyzed in relation with absolute distance on RY. By doing so, we could assess whether the relative productivity of the mixture was rather driven by the two genotypes growing better in mixture than in monoculture, as expected for resource-use complementarity, or by a single genotype growing better in mixture than in monoculture, as expected for a selection effect.

Results

Above and belowground phenotypic diversity

The two first PC axes accounted for nearly 76% of total variance (Fig. 1a & b). PC1 was highly correlated to biovolume, plant height, mean adventitious root diameter, adventitious root tissue density (positive correlations), and specific adventitious root length, SLA, number of tillers, and proportion of fine roots in adventitious root system (negative correlations), while PC2 was positively correlated to adventitious root branching intensity and root biomass in the deep soil layer (Fig. 1a). Genotype identity had a strong effect on both PC1 and PC2 individual coordinates (Supplementary Table S3). The two IR64 Near-Isogenic Lines did not differ by their coordinates on PC1, while Ketan and Padi significantly differed from the *indica* lines and from each other on this Component (post hoc Fisher-LSD test). Along PC2, only Padi differed from the other genotypes (post hoc Fisher-LSD test). The correlations between phenotypic traits and PC1 and PC2 (Fig. 1a) were in agreement with the expected phenotypic diversity (see Materials and Methods, Plant material): *indica* lines had higher tiller number and higher SLA but were shorter and occupied a lower biovolume than Ketan and Padi (Fig. 1b). Regarding belowground traits, the two *indica* lines had higher SRL and root branching intensity and lower root diameter than Ketan and Padi. Ketan had a higher root tissue density and invested more biomass in the deep soil layer (20–60 cm). As expected, the two NILs, IR64 and IR64+, were phenotypically very close for aboveground traits. They did not differ in plant height, biovolume, tiller number nor SLA (Supplementary Fig. S1). However, IR64+ had higher root biomass in the deep soil layer (RB_{deep} in Fig. 1a), which corresponds to the expected QTL effect. Phosphorus treatment was almost significant on PC2 individual coordinates (p-value = 0.064). Individuals from P0 treatment tended to have higher root biomass in the deep soil layer and higher root branching intensity.

Author's personal copy

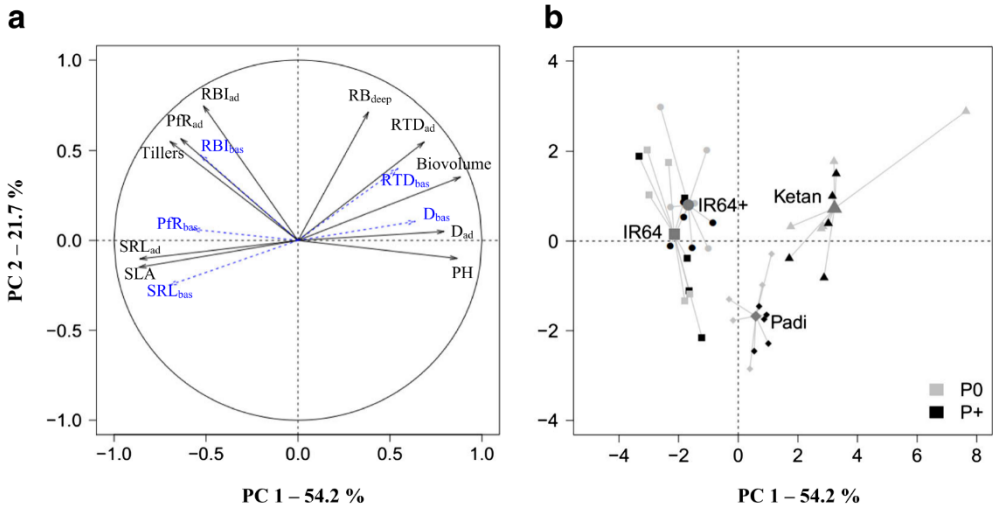


Fig. 1 Principal component analysis (PCA) for aboveground and belowground functional traits measured in four rice genotypes grown in monoculture. **a**) Correlation circle between variables and PCA components 1 and 2. Active variables used to compute PCA are colored in "black" while supplementary variables are colored in "blue". Trait abbreviations are available in Supplementary Table S1, **b**) Genotypes representation on PCA component 1 and 2. Triangle = Ketan, Diamond = Padi, Square = IR64 and Circle = IR64+; Light grey symbols = P0, Black symbols = P+. Dark grey symbols represent barycenter of each genotype

Above and belowground individual productivity

Regarding root biomass, there was a strong genotypic effect for both 0–20 cm and 20–60 cm soil layers (Table 1). In both P treatments, Ketan produced the highest amount of root biomass in the topsoil layer, while Padi produced the lowest (4.4 g and 1.5 g respectively). *Indica* genotypes had intermediates values (Supplementary Fig. S1 F). Genotype x phosphorus interaction had no significant effect on root biomass from the topsoil layer (Table 1). In the deeper soil layer (20–60 cm), genotype x phosphorus interaction had a significant effect on biomass productivity and IR64+ produced significantly more root biomass than IR64 in P+ condition (Supplementary Fig. S1 G). Ketan produced significantly less root biomass in P+ than in P0 and did not differ from IR64 and IR64+ in this treatment. Padi always produced the lowest amount of root biomass in the deeper layer (Supplementary Fig. S1 G).

Regarding aboveground biomass, there were strong significant differences among genotypes (Table 1, Supplementary Fig. S1 A). Ketan and IR64 were the most productive in the P0 treatment (20.4 g and 16.4 g, respectively). IR64+ did not differ from IR64 and produced 14.4 g of aboveground biomass, while Padi significantly differed from the three other genotypes with a mean of 9.3 g aboveground biomass (Supplementary Fig. S1 A). Genotype x phosphorus interaction effect was not significant on aboveground biomass. In the P+ treatment, IR64+ produced more aboveground biomass than IR64 (17.4 g and 12.8 g, respectively). Padi was still the least productive genotype (9.9 g).

Aboveground and belowground pot productivity

Total biomass (aboveground and belowground biomass of the two plants) did not significantly differ between mixtures and monocultures (ANOVA, p-value = 0.629) but was dependent upon the identity of genotypic pairs (Supplementary Table S5 & Fig. 2). Ketan monoculture was the most productive pair with a mean of 24.6 g. The most productive mixtures were those that included Ketan. In contrast, Padi monoculture produced the lowest biomass and the less productive mixtures were those including Padi. Combinations including IR64+ and IR64 had intermediate values. Productivity of the IR64 – IR64+ mixture was close to the average of its components in monoculture, in both P conditions. Ketan monoculture was the only pair for which biomass production was significantly different between P0 and P+, with higher biomass in P0.

Author's personal copy

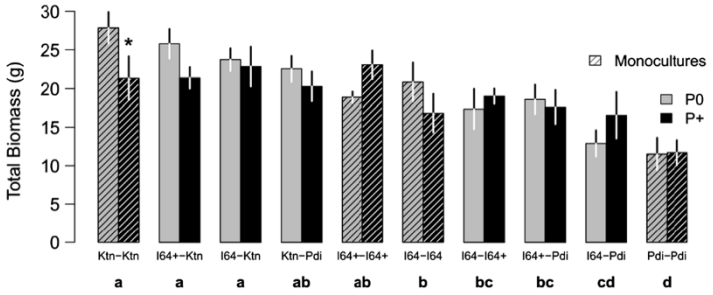


Fig. 2 Total biomass production (above and belowground) of genotypic pairs without phosphorus input ('grey') and with phosphorus input ('black'). Barplots represent means across blocks. Error bars represent Standard Errors. Pairs of identical genotypes (monocultures) are hatched. Means with different letters are significantly different at $P < 0.05$ based on P0 and P+ mean (Fisher-LSD test). "*": P0 and P+ conditions are significantly different at $P < 0.05$ (Fisher-LSD test)

Relative productivity in monoculture and mixture

At the plant level, there was a significant difference in RY among genotypes, with a strong genotype x phosphorus interaction effect (Table 2). Neighbor genotype and the genotype x neighbor genotype interaction did not significantly affect RY. In the P+ treatment, Ketan had the highest mean RY value (0.66) and did not significantly differ from IR64 but had a significantly higher RY than IR64+ and Padi (Fig. 3). In the P0 treatment, only IR64 showed a significantly lower RY than the three other genotypes. Ketan was the only genotype that produced significantly more biomass in mixture than in monoculture in both P0 and P+ treatments. IR64 was the only genotype that produced significantly less biomass in mixture than in monoculture in the P0 treatment. IR64+ and Padi productivities were not different when grown in mixture compared to monoculture (RY not significantly different from 0.5).

At the pot level, no mixture showed significant transgressive overyielding: D_{max} was never significantly higher than 0 (Fig. 4). D_{max} was not significantly affected by phosphorus availability nor by the interaction between genotypic pair identity and phosphorus availability. In the P0 treatment, three mixtures out of six showed a D_{max} significantly lower than 0 (IR64-Ketan, Padi-Ketan and IR64-Padi). In the P+ treatment, two mixtures (IR64 + −IR64 and IR64 + −Padi) had D_{max} values significantly lower than 0.

Relationship between mixture productivity and phenotypic distance

RY was strongly correlated to the phenotypic hierarchical distance on biovolume, SLA and root biomass in the top soil (p-values <0.001, Supplementary Table S8). The relationship was positive for the distance on biovolume and root biomass in the top soil and negative for the distance on SLA (Fig. 5a, b and c). This indicates that, for biovolume and root biomass in the top soil, the more negative the hierarchical distance was, the more the neighbor negatively affected the growth of the focal genotype compared to intra-genotypic interaction. The opposite was observed for SLA. The correlation was much stronger in P+ than in P0 for biovolume and top soil root biomass whereas it was not significantly affected by the P treatment for SLA. To a lesser extent, it was also significantly correlated to the mean diameter of adventitious roots and to adventitious specific root length (p-value = 0.012 and 0.010 respectively, Supplementary Table S8). The relationship was positive with the former and negative with the latter (Fig. 5d and e), and it was not affected by the P treatment.

Total biomass of the mixture and D_{max} were significantly positively related with the absolute between-genotype distance on biovolume (Fig. 6a, Supplementary Tables S6 and S7), on SLA (Fig. 6b, Supplementary Tables S6 and S7), and on root biomass in the top soil layer (Fig. 6c, Supplementary Tables S6 and S7). In contrast, distances measured on several adventitious root traits exhibited a negative relationship with total biomass and/or D_{max}. Distance on PfR_{ad} was negatively correlated to total biomass (Supplementary Table S6), while distance on SRL_{ad} was negatively correlated to D_{max} (Fig. 6f). Distance on mean diameter of adventitious roots had a significant negative relationship with D_{max} (Fig. 6e) and an almost significant negative relationship with total biomass (p-value = 0.07, Supplementary Table S6). For all traits for which distances were significantly related to total biomass or D_{max}, no

Author's personal copy

Table 2 Analysis of Variance (ANOVA) of Relative Yield (RY) and D_{max}. Genotype effect, Neighbor Genotype effect, Phosphorus effect, Block effect and their interactions are tested for RY. Genotypic pair idendity effect, Phosphorus effect, Block effect and Genotypic pair identity x Phosphorus interaction effect are tested for D_{max}. Degrees of freedom, F values and P values are reported. Bold characters indicate significant effect at the level of 0,05, while italic characters correspond to p-values between 0.05 and 0.10

Variable	d.f.	Effect	F-value	p-value
Relative Yield (RY)	4	Block	1.20	0.318
	3	**Genotype**	**3.60**	**0.016**
	3	Neighbor Genotype	0.74	0.531
	1	Phosphorus	0.02	0.888
	5	Genotype x Neighbor Genotype	0.45	0.814
	3	**Genotype x Phosphorus**	**7.01**	**<0.001**
	3	Neighbor Genotype x Phosphorus	1.19	0.318
	5	Genotype x Neighbor Genotype x Phosphorus	0.46	0.805
D_{max}	*4*	*Block*	*2.21*	*0.083*
	5	Genotypic pair identity	0.81	0.550
	1	Phosphorus	2.44	0.126
	5	*Genotypic pair identity x Phosphorus*	*2.42*	*0.051*

interaction with the phosphorus treatment was detected, allowing us to fit a single linear regression (Fig. 6). D_{max} was also positively related with the distance on RY (Fig. 6d), whereas a marginally significant relationship was observed between total biomass and RY distance (p-value = 0.07, Supplementary Table S6).

Discussion

Establishing assembly rules represents a challenge for designing productive crop mixtures in an agroecological context. Theoretical predictions suggest greater yield in mixtures composed of different phenotypes for traits related to resource-use and similar phenotypes for traits related to competitive ability (Litrico and Violle 2015; Anten and Vermeulen 2016; Barot et al. 2017). Such predictions had not yet been validated experimentally in an agronomic context. Here we tested these predictions using Near-Isogenic Lines (NILs) only differing by their deep soil exploration and found no positive mixing effect. More generally, we did not detect benefits of mixing varieties in any rice mixture, neither under low nor high phosphorus supply. Nonetheless, mixture productivity and transgressive overyielding were related to between-genotype distance on several phenotypic traits.

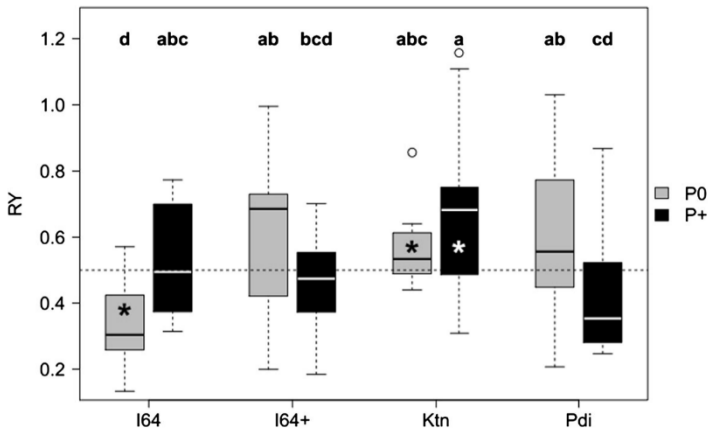


Fig. 3 Relative Yields (RY) at the plant level of four rice genotypes without phosphorus input ("grey") and with phosphorus input ("black"). RY means significantly different from 0.5 are represented with a star (t.test, P < 0.05). Means with different letters are significantly different at P < 0.05 (Fisher-LSD test)

Author's personal copy

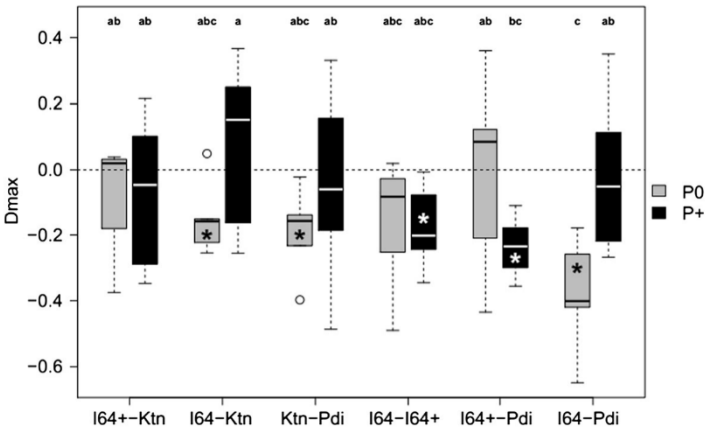


Fig. 4 D_{max} values of six rice mixtures without phosphorus input ("grey") and with phosphorus input ("black"). D_{max} means significantly different from 0 are represented with a star (t.test, $P < 0.05$). Means with different letters are significantly different at $P < 0.05$ (Fisher-LSD test)

Those relationships shed light on the mechanisms that drive plant-plant interactions and their impact on productivity, allowing us to suggest rules for designing productive crop mixtures.

The four rice genotypes used in our experiment significantly differed for many traits. IR64 NILs were smaller than the *japonica* genotypes, produced more tillers and had an intermediate biomass productivity for both aboveground and belowground compartments relative to Padi and Ketan. They also had higher SLA and SRL. Such a trait combination corresponds to modern irrigated rice cultivars, designed to prevent lodging and maximize grain yield, in particular panicle number, under non-limited conditions of nutrient and water availability (Yoshida and Hasegawa 1982). Ketan and Padi landraces displayed opposite phenotypes, which was in agreement with their history: they experienced a much lower human selection pressure compared to IR64 (Yoshida and Hasegawa 1982). Phenotypic variation was also observed among *japonica* genotypes, especially for biomass production and root architecture. While Ketan produced high amount of biomass in both above and belowground compartment, especially in the deeper soil, Padi was much less productive and had a much superficial root system.

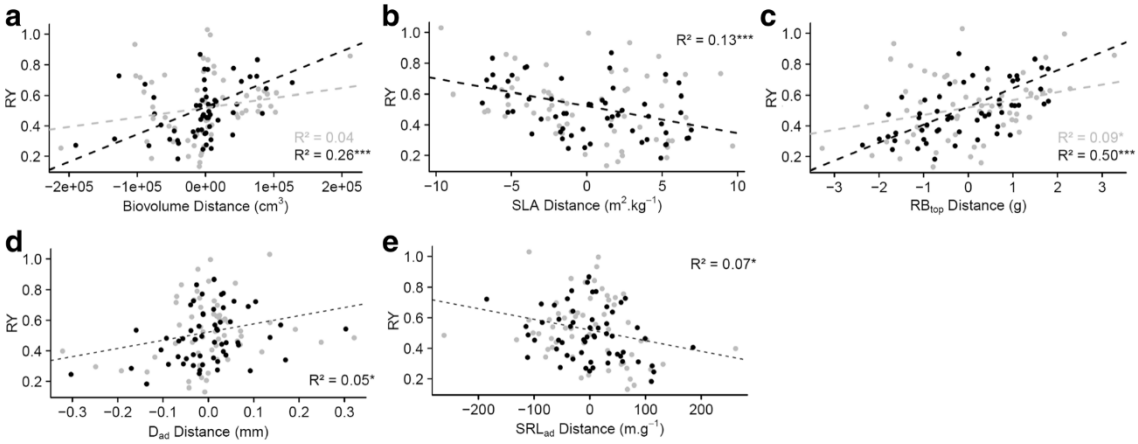


Fig. 5 Relative Yield (RY) represented as a function of hierarchical trait distance between the focal genotype (the one for which RY is considered) and its neighbor without phosphorus input ("grey") and with phosphorus input ("black"). Trait distance was computed for Biovolume (**a**), Specific Leaf Area (SLA, **b**), Root Biomass on the top soil (RB_{top}, **c**), Adventitious roots mean diameter (D_{ad}, **d**) and adventitious roots Specific Root Length (SRL_{ad}, **e**). Traits were measured in mixture. A linear regression was fitted (hatched line) for both P treatments when the trait distance by phosphorus treatment interaction was significant. R squared are reported ("***": p-value < 0.001, "**": p-value < 0.01, "*": p-value < 0.05)

Author's personal copy

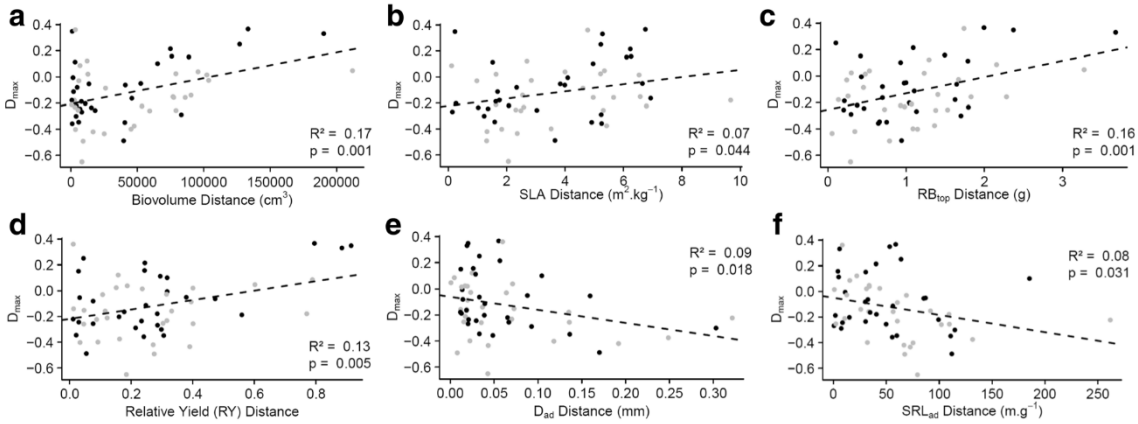


Fig. 6 Transgressive overyielding (D_{max}) represented as a function of trait distance between genotypes without phosphorus input ("grey") and with phosphorus input ("black"). Trait distance was computed for Biovolume (**a**), Specific Leaf Area (SLA, **b**), Root Biomass on the top soil (RB_{top}, **c**), Relative Yield (RY, **d**), adventitious roots mean diameter (D_{ad}, **e**) and adventitious roots Specific Root Length (SRL_{ad}, **f**) as the absolute Euclidian distance between the two components of the pair. Traits were measured in mixture. A single linear regression was fitted (hatched line) since there were no trait distance by phosphorus treatment interaction effect. R squared and *p*-values are reported

The two IR64 NILs were designed to only differ in root depth, a key trait known to be related to resource-use. Large differences in phenotypic response to P supply were observed between the two NILs. While IR64 tended to produce less root biomass in high P than in low P supply, the opposite pattern was observed for IR64+. This suggests that QTL9 introgressed in IR64+ rather promotes higher investment in roots when P is highly available, this effect being stronger below 20 cm. In the end, root depth difference between the two NILs was not significant under low phosphorus availability, which means that this particular genetic material needs enough resources to express its phenotypic potential. Such pattern suggests that low resource availability could impede positive diversity effects (e.g., resource-use complementarity) expected for crop mixture under low-input agrosystems. Under high P availability, the two NILs effectively differed in root depth and had similar plant height. Nevertheless, no transgressive overyielding was observed for IR64-IR64+ mixture under high P availability. Overall, we did not observe transgressive overyielding across all pairwise genotypic combinations. Thus, our study does not provide evidence for resource-use complementarity, even when controlling for competition-related traits.

Several explanations can be provided to explain the observed patterns. First, examining published experiments that support stronger complementarity effects under low nutrients availability (e.g., Harpole and Tilman 2007; Craven et al. 2016) we may question our experimental conditions. IR64+ was the only genotype that produced less biomass in the P0 treatment compared to the P+ treatment, the three other genotypes producing similar or even higher amount of biomass. Then, P availability may not have been as limiting as required for resource-use complementarity to occur. In particular, as discussed above for the IR64-IR64+ pair, root plasticity in response to phosphorus availability may have cancelled the conditions for resource-use complementarity to occur, given that genotypes converged towards similar trait values. Second, it has been shown that belowground niche partitioning require all components to have a sufficient biotope space to fit their own niche (Dimitrakopoulos and Schmid 2004). If not the case, resource-use complementarity may not occur. Sufficient soil depth (60 cm) was chosen to prevent roots to reach the bottom of the pots before harvesting. However, pot diameter may have limited the lateral root exploration for the shallow-rooted genotypes such as Padi, thus limiting the positive effect of spatial complementarity.

Despite no overall positive mixing effect, both mixture productivity and mixture transgressive overyielding were significantly related to between-genotype phenotypic distance. However, this was more indicative of a selection effect than a complementarity effect arising

Author's personal copy

from resource-use complementarity. The positive relationship between D_{max} and RY distance indicates that mixture productivity was greater when one of the associated genotype produced more biomass in mixture than in monoculture while the other produced less biomass in mixture than in monoculture. In line with the competition-trait hierarchy hypothesis (Kunstler et al. 2012), the identity of the component that grew better in mixture was well predicted from its trait value. For example, genotypes that had lower SLA values compared to their neighbor were those that benefited the most from growing in mixture. In a recent experiment published by Wagg et al. (2017), differences in SLA were also found to drive the productivity of mixture of grass and forbs through selection effect rather than complementarity effect, which is consistent with our results. Biovolume was also found to be a good predictor of the genotype that benefitted the most from growing in mixture: genotypes with higher biovolume compared to their neighbors were those that produced more biomass in mixture compared to monoculture. However, this was only true under high P availability. As a consequence, the positive relationship observed between D_{max} and phenotypic distance on biovolume probably arose from selection effect under high P availability, but it might have arisen from another effect under low P availability. This effect could be a complementarity effect arising from light-use complementarity. Recent results showed that vertical space partitioning between tree species could generate overyielding (Niklaus et al. 2017; Williams et al. 2017). As pointed out by Schmid and Niklaus (2017), differences in tree biovolumes can drive overyielding through selection effects rather than complementarity effects in this case. In wheat, the association of genotypes with contrasted statures has already been shown to improve the yield of mixtures (Knott and Mundt 1990). We observed a similar pattern for the top soil root biomass. Genotypes that had higher top soil root biomass compared to their neighbor were those that benefitted the most from growing in mixture in high P supply. Then, the positive relationship observed between D_{max} and phenotypic distance on top soil root biomass probably arose from a selection effect under high P availability and from another mechanism under low P availability. It could be a complementarity effect arising from one genotype preferentially foraging deep layers whereas the other invests more biomass in the top soil. However, we did not have access to individual root biomass in the deep soil nor to maximum root length. Further investigation is thus needed to assess the role of resource-use complementarity driven by differences in root systems.

Relationships between mixture productivity and morphological root traits provided additional information regarding genotypic interactions. Increasing phenotypic distance on those traits decreased mixture productivity. Mixtures were more productive when genotypes were similar on the proportion of fine roots from the adventitious root system, and mixture performance was closer to the best monoculture when genotype distance was limited on mean adventitious root diameter and on SRL. Moreover, SRL and mean root diameter hierarchical distances were found to correlate with RY in both P treatments, although relationships were much weaker than those found for aboveground traits. Genotypes with higher mean root diameter and lower SRL tended to have a higher RY in mixture, and vice versa. Mommer et al. (2011) found that high root length density and high specific root length were associated with greater competitive ability in two-species mixtures (*F. rubra & A. odoratum*) due to a reduction of the root metabolic costs. Fort et al. (2014) obtained very similar results with grass mixtures, highlighting that competition intensity increased in relation to hierarchical distances between the focal species and its neighbor based on root morphological traits. Overall, our results suggest that differences in root morphological traits that are involved in a competition-trait hierarchy result in mixture underyielding.

The primary aim of our study was to ask whether designing mixtures to take profit from resource-use complementarity in agrosystems is a reasonable goal (Isbell 2015). Instead of trying to reduce competition among genotypes in mixture, as expected under niche theory (Levine and HilleRisLambers 2009), we argue that mixing genotypes that have different competitive abilities may be a more promising approach. Indeed, our study shows that productive mixtures ("ideomixes" sensu Litrico and Violle 2015), having similar or slightly higher productivity than corresponding monocultures, could be designed by optimizing competition-trait hierarchy, and thus competitive ability differences (one facet of the selection effect) among genotypes. To do so, it may be promising to mix genotypes with different aboveground competitive profiles, through traits like biovolume or SLA, or different investments in their top soil root system. Indeed, according to our results, we expect the most competitive genotype (with lower

Author's personal copy

SLA, higher biovolume and/or higher top soil root biomass) to gain more biomass than the weakest competitors (with higher SLA, lower biovolume and/or lower top soil root biomass) loses compared to their monoculture, leading to mixture overyielding. Conversely, belowground traits related to resource acquisition, e.g., specific root length, mean root diameter or proportion of fine roots should be kept homogeneous within the mixture, allowing each genotype to have similar levels of competitive-ability for nutrient acquisition, in accordance with Litrico and Violle (2015)'s framework. Altogether, our results suggest that matching diversity and productivity in agrosystems might be more complex than simply promoting plant trait differences. Our conclusions apply to biomass production in a plant-plant interaction situation, but it should be stressed that other services than productivity could be provided by promoting genetic diversity in agriculture such as yield stability (Prieto et al. 2015), disease and pest management, weed competitiveness or abiotic stress tolerance (Østergård et al. 2009; Costanzo and Bàrberi 2014). Overall, more experiments, with large sets of genotypes and environments, are needed to strengthen the bridges between ecology and agriculture.

Acknowledgements This work was funded by the European Research Council (ERC) Starting Grant Project "Ecophysiological and biophysical constraints on domestication in crop plants" (Grant ERC-StG-2014-639706-CONSTRAINTS). We thank Clemence Darley for her dedicated technical help and the 'Terrain d'expériences' and 'PACE' platforms at CEFE (technical facilities of the Labex Centre Méditerranéen de l'Environnement et de la Biodiversite, CEMEB) for providing all the facilities and technical support.

References

Anten NPR, Vermeulen PJ (2016) Tragedies and crops: understanding natural selection to improve cropping systems. Trends Ecol Evol 31:429–439

Barot S, Allard V, Cantarel A, Enjalbert J, Gauffreteau A, Goldringer I, Lata J-C, Roux XL, Niboyet A, Porcher E (2017) Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. Agron Sustain Dev 37:13

Bertness MD, Callaway R (1994) Positive interactions in communities. Trends Ecol Evol 9:191–193

Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, Hooper DU, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace GM, Tilman D, Wardle DA et al (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. Nature 486:59–67

Chase JM, Leibold MA (2003) Ecological niches: linking classical and contemporary approaches. University of Chicago Press, Chicago

Chesson (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. Annu Rev Ecol Syst 31:343–366

Clark M, Tilman D (2017) Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. Environ Res Lett 12:064016

Core Team R (2017) R: a language and environment for statistical computing. R Found. Stat, Comput

Cornelissen JHC, Lavorel S, Garnier E, Díaz S, Buchmann N, Gurvich DE, Reich PB, Ter Steege H, Morgan HD, Van Der Heijden MG a et al (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. Aust. J Bot 51:335

Costanzo A, Bàrberi P (2014) Functional agrobiodiversity and agroecosystem services in sustainable wheat production. A review. Agron Sustain Dev 34:327–348

Coudert Y, Périn C, Courtois B, Khong NG, Gantet P (2010) Genetic control of root development in rice, the model cereal. Trends Plant Sci 15:219–226

Craven D, Isbell, F, Manning P, Connolly J, Bruelheide H, Ebeling A, Roscher C, van Ruijven J, Weigelt A, Wilsey B et al (2016) Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. Philos Trans R Soc B Biol Sci 371

Dimitrakopoulos PG, Schmid B (2004) Biodiversity effects increase linearly with biotope space. Ecol Lett 7:574–583

E Z-G, Ge L, Wang L (2012) Molecular mechanism of adventitious root formation in rice. Plant Growth Regul 68: 325–331

Fargione J, Tilman D (2005) Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. Oecologia 143:598–606

Finckh MR, Gacek ES, Goyeau H, Lannou C, Merz U, Mundt CC, Munk L, Nadziak J, Newton AC, de Vallavieille-Pope C et al (2000) Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. Agronomie 20:813–837

Fort F, Cruz P, Jouany C (2014) Hierarchy of root functional trait values and plasticity drive early-stage competition for water and phosphorus among grasses. Funct Ecol 28:1030–1040

Garnier E, Navas M-L, Grigulis K (2015) Plant functional diversity: organism traits, community structure, and ecosystem properties. Oxford University Press, Oxford

Gaudet CL, Keddy PA (1988) A comparative approach to predicting competitive ability from plant traits. Nature 334: 242–243

Goldberg DE (1996) Competitive ability: definitions, contingency and correlated traits. Philos Trans Biol Sci 351:1377–1385

Grassein F, Lemauviel-Lavenant S, Lavorel S, Bahn M, Bardgett RD, Desclos-Theveniau M, Laîné P (2015) Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. Ann Bot 115:107–115

Hajjar R, Jarvis DI, Gemmill-Herren B (2008) The utility of crop genetic diversity in maintaining ecosystem services. Agric Ecosyst Environ 123:261–270

Harpole WS, Tilman D (2007) Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. Nature 446:791–793

Author's personal copy

He J-S, Bazzaz FA, Schmid B (2002) Interactive effects of diversity, nutrients and elevated CO2 on experimental plant communities. Oikos 97:337–348

Hooper DU, Dukes JS (2004) Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment. Ecol Lett 7:95–105

Hughes AR, Inouye BD, Johnson MTJ, Underwood N, Vellend M (2008) Ecological consequences of genetic diversity. Ecol Lett 11:609–623

Hutchinson GE (1957) The multivariate niche. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, In, pp 415–421

Isbell F (2015) Agroecology: agroecosystem diversification. Nat Plants 1:15041

Ismail AM, Heuer S, Thomson MJ, Wissuwa M (2007) Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. Plant Mol Biol 65:547–570

Jucker T, Coomes DA (2012) Comment on "plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands". Science 337:155–155

Kato Y, Okami M (2010) Root growth dynamics and stomatal behaviour of rice (Oryza Sativa L.) grown under aerobic and flooded conditions. Field Crop Res. 117:9–17

Kiær LP, Skovgaard IM, Østergård H (2009) Grain yield increase in cereal variety mixtures: a meta-analysis of field trials. Field Crop Res 114:361–373

Knott EA, Mundt CC (1990) Mixing ability analysis of wheat cultivar mixtures under diseased and nondiseased conditions. Theor Appl Genet 80:313–320

Kramer-Walter KR, Bellingham PJ, Millar TR, Smissen RD, Richardson SJ, Laughlin DC (2016) Root traits are multidimensional: specific root length is independent from root tissue density and the plant economic spectrum. J Ecol 104: 1299–1310

Kunstler G, Lavergne S, Courbaud B, Thuiller W, Vieilledent G, Zimmermann NE, Kattge J, Coomes DA (2012) Competitive interactions between forest trees are driven by species' trait hierarchy, not phylogenetic or functional similarity: implications for forest community assembly. Ecol Lett 15:831–840

Lambers H, Raven JA, Shaver GR, Smith SE (2008) Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. Trends Ecol Evol 23:95–103

Levine JM, HilleRisLambers J (2009) The importance of niches for the maintenance of species diversity. Nature 461:254–257

Litrico I, Violle C (2015) Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. Trends Plant Sci 20:604–613

Loreau M, Hector A (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. Nature 412:72–76

Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Bengtsson J, Grime JP, Hector A, Hooper DU, Huston MA, Raffaelli D, Schmid B et al (2001) Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. Science 294:804–808

Lynch JP (2007) Roots of the second green revolution. Aust J Bot 55:493–512

Macarthur R, Levins R (1967) The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. Am Nat 101: 377–385

Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. J Ecol 97:199–205

Mayfield MM, Levine JM (2010) Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. Ecol Lett 13:1085–1093

McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, Westoby M (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. Trends Ecol Evol 21:178–185

Mommer, L., Visser, E.J.W., Ruijven, J. van, Caluwe, H. de, Pierik, R., and Kroon, H. de (2011). Contrasting root behaviour in two grass species: a test of functionality in dynamic heterogeneous conditions. Plant Soil 344, 347

Muthayya S, Sugimoto JD, Montgomery S, Maberly GF (2014) An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. Ann N Y Acad Sci 1324:7–14

Naeem S, Duffy JE, Zavaleta E (2012) The functions of biological diversity in an age of extinction. Science 336:1401–1406

Niklaus PA, Baruffol M, He J-S, Ma K, Schmid B (2017) Can niche plasticity promote biodiversity–productivity relationships through increased complementarity? Ecology 98:1104–1116

Olsen, S.R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (United States department of agriculture; Washington)

Østergård H, Finckh MR, Fontaine L, Goldringer I, Hoad SP, Kristensen K, Lammerts van Bueren ET, Mascher F, Munk L, Wolfe MS (2009) Time for a shift in crop production: embracing complexity through diversity at all levels. J Sci Food Agric 89:1439–1445

Parrish JAD, Bazzaz FA (1976) Underground niche separation in successional plants. Ecology 57:1281–1288

Postma JA, Lynch JP (2012) Complementarity in root architecture for nutrient uptake in ancient maize/bean and maize/bean/squash polycultures. Ann Bot 110:521–534

Prieto I, Violle C, Barre P, Durand J-L, Ghesquiere M, Litrico I (2015) Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. Nat. Plants 1:15033. https://doi.org/10.1038/nplants.2015.33

Reich PB, Knops J, Tilman D, Craine J, Ellsworth D, Tjoelker M, Lee T, Wedin D, Naeem S, Bahauddin D et al (2001) Plant diversity enhances ecosystem responses to elevated CO2 and nitrogen deposition. Nature 410:809–810

Roughgarden J (1974) Niche width: biogeographic patterns among Anolis lizard populations. Am Nat 108:429–442

Schmid B, Niklaus PA (2017) Biodiversity: complementary canopies. Nat. Ecol. Evol. 1:0104

Schoener TW, Gorman GC (1968) Some niche differences in three lesser Antillean lizards of the genus Anolis. Ecology 49:819–830

Scurlock JMO, Johnson K, Olson RJ (2002) Estimating net primary productivity from grassland biomass dynamics measurements. Glob Change Biol 8:736–753

Shen L, Courtois B, McNally KL, Robin S, Li Z (2001) Evaluation of near-isogenic lines of rice introgressed with QTLs for root depth through marker-aided selection. Theor Appl Genet 103:75–83

Silvertown J (2004) Plant coexistence and the niche. Trends Ecol Evol 19:605–611

Smithson JB, Lenné JM (1996) Varietal mixtures: a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. Ann Appl Biol 128:127–158

Tilman D, Reich PB, Knops J, Wedin D, Mielke T, Lehman C (2001) Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. Science 294:843–845

Tooker JF, Frank SD (2012) Genotypically diverse cultivar mixtures for insect pest management and increased crop yields. J Appl Ecol 49:974–985

Author's personal copy

Turnbull LA, Isbell F, Purves DW, Loreau M, Hector A (2016) Understanding the value of plant diversity for ecosystem functioning through niche theory. Proc R Soc B 283:20160536

Van Valen L (1965) Morphological variation and width of ecological niche. Am Nat 99:377–390

Vejchasarn P, Lynch JP, Brown KM (2016) Genetic variability in phosphorus responses of Rice root phenotypes. Rice 9:29

Violle C, Jiang L (2009) Towards a trait-based quantification of species niche. J Plant Ecol 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

Violle C, Garnier E, Lecoeur J, Roumet C, Podeur C, Blanchard A, Navas M-L (2009) Competition, traits and resource depletion in plant communities. Oecologia 160:747–755

Wagg C, Ebeling A, Roscher C, Ravenek J, Bachmann D, Eisenhauer N, Mommer L, Buchmann N, Hillebrand H, Schmid B et al (2017) Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. Funct Ecol. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12945

Weigelt A, Jolliffe P (2003) Indices of plant competition. J Ecol 91:707–720

Williams, L.J., Paquette, A., Cavender-Bares, J., Messier, C., and Reich, P.B. (2017). Spatial complementarity in tree crowns explains overyielding in species mixtures. Nat Ecol Evol 1, 0063

Yadav R, Courtois B, Huang N, McLaren G (1997) Mapping genes controlling root morphology and root distribution in a doubled-haploid population of rice. Theor Appl Genet 94: 619–632

Yoshida S, Hasegawa S (1982) The rice root system: its development and function. In: Drought resistance in crops with emphasis on rice. Int. Rice Res. Inst., Los Baños

Zeller SL, Kalinina O, Flynn DFB, Schmid B (2012) Mixtures of genetically modified wheat lines outperform monocultures. Ecol Appl 22:1817–1826

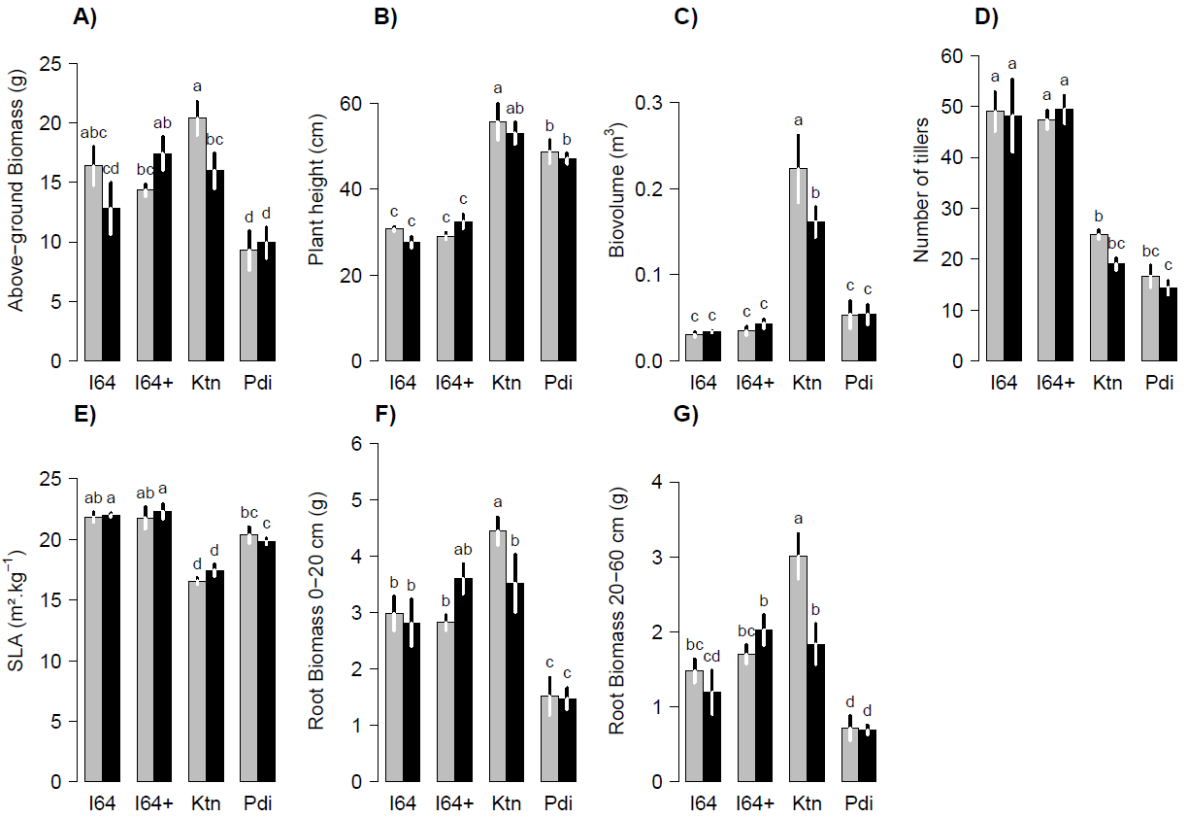
Zhu, G., Peng, S., Huang, J., Cui, K., Nie, L., and Wang, F. (2016). Genetic Improvements in Rice Yield and Concomitant Increases in Radiation- and Nitrogen-Use Efficiency in Middle Reaches of Yangtze River. Sci. Rep. *6*, srep21049

Zuppinger-Dingley D, Schmid B, Petermann JS, Yadav V, De Deyn GB, Flynn DFB (2014) Selection for niche differentiation in plant communities increases biodiversity effects. Nature 515:108–111

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs

1. Supplementary Figures and Tables



Supplementary Figure S1: *Aboveground biomass (A), Plant height (B), Biovolume (C), Number of Tillers (D), Specific Leaf Area (E), Root biomass in the top soil (F) and Root biomass in the deep soil (G) of four rice genotypes grown in monoculture without phosphorus input ('grey bars') and with phosphorus input ('black bars'). Variables were calculated at the pot level. Error bars represent standard errors. Different letters indicate significant differences at P<0.05 (Fisher-LSD test).*

Supplementary Table S1: *Description of the traits used to characterize both above and below-ground phenotypic diversity.*

Trait	***Unit***	***Signification***
AB	g	Above-ground biomass
PH	cm	Plant Height
Maj_{axis}	cm	Plant horizontal major axis
Min_{axis}	cm	Plant horizontal minor axis (perpendicular to Maj_{axis})
Biovolume	cm^3	Plant Biovolume = ((4/3) x π x (Maj_{axis} /2) x (Min_{axis} /2) x (PH))/2
SLA	$m^2.g^{-1}$	Specific Leaf Area
RB_{top}	g	Root biomass in the 0-20 cm soil layer
RB_{deep}	g	Root biomass in the 20-60 cm soil layer
D_{ad}	mm	Mean root diameter of adventitious roots
D_{bas}	mm	Mean root diameter of basal roots
SRL_{ad}	$m.g^{-1}$	Specific Root Length of adventitious roots
SRL_{bas}	$m.g^{-1}$	Specific Root Length of basal roots
RTD_{ad}	$mg.cm^{-3}$	Root Tissue Density of adventitious roots
RTD_{bas}	$mg.cm^{-3}$	Root Tissue Density of basal roots
RBI_{ad}	Nb of $tips.cm^{-1}$	Root Branching Intensity of adventitious roots
RBI_{bas}	Nb of $tips.cm^{-1}$	Root Branching Intensity of basal roots
PfR_{ad}	∅	Proportion, in total root length, of roots with diameter < 0.1 mm for adventitious roots
PfR_{bas}	∅	Proportion, in total root length, of roots with diameter < 0.1 mm for basal roots

Supplementary Table S2*: Correlation coefficients between basal and adventitious roots for different root traits. R and p-values are shown. Pearson method was used for SRL and RBI. Spearman method was used for all other traits.*

Root Trait	Basal-Adventitious correlation coefficient	p-value
D	0.60	<0.001
SRL	0.70	<0.001
RTD	0.59	<0.001
RBI	0.67	<0.001
PfR	0.63	<0.001

Supplementary Table S3*: Analysis of Variance (ANOVA) of monoculture coordinates on the two first Principal Components (PC) built from a Principal Component Analysis (PCA) on several above and below-ground phenotypic traits. Genotype effect, Phosphorus effect, Block effect and their interactions were tested. F and p values in bold indicate significant effect at the level of 0,05, while F and P values in italics correspond to p-values between 0.05 and 0.10.*

Variable	***d.f.***	***Effect***	***F-value***	***p-value***
PC1	4	Block	0.90	0.475
	3	**Genotype**	**60.00**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.00	0.972
	3	Genotype x Phosphorus	0.88	0.461
PC2	4	Block	0.51	0.731
	3	**Genotype**	**9.75**	**<0.001**
	1	*Phosphorus*	*3.73*	*0.064*
	3	Genotype x Phosphorus	0.08	0.968

Supplementary Table S4: *Analysis of Variance (ANOVA) of several above-ground traits: Plant height, Biovolume, Number of tillers and SLA. Genotype effect, Phosphorus effect, Block effect and their interactions were tested. F and p values in bold indicate significant effect at the level of 0,05, while F and P values in italics correspond to p-values between 0.05 and 0.10*

Variable	***d.f.***	***Effect***	***F-value***	***p-value***
Plant Height	4	Block	1.40	0.261
	3	**Genotype**	**68.90**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.46	0.503
	3	Genotype x Phosphorus	1.00	0.407
Biovolume	4	Block	0.68	0.612
	3	**Genotype**	**38.55**	**<0.001**
	1	Phosphorus	1.04	0.317
	3	Genotype x Phosphorus	1.83	0.165
Number of tillers	4	Block	1.50	0.230
	3	**Genotype**	**59.98**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.57	0.456
	3	Genotype x Phosphorus	0.52	0.671
SLA	4	Block	0.79	0.542
	3	**Genotype**	**37.99**	**<0.001**
	1	Phosphorus	0.50	0.486
	3	Genotype x Phosphorus	0.62	0.606

Supplementary Table S5: *Analysis of Variance (ANOVA) table of genotypic pairs' above and below-ground biomass. Genotypic pair identity effect, Phosphorus effect, Block effect and their interactions are tested. F and p values in bold or italic indicate p-values below 0.05 and comprised between 0.05 and 0.10 respectively.*

Variable	***d.f.***	***Effect***	***F-value***	***p-value***
Genotypic pair's total biomass	4	*Block*	*2.15*	*0.083*
	9	**Genotypic pair identity**	**7.87**	**<0.001**
	1	Phosphorus	1.01	0.318
	9	Genotypic pair identity x Phosphorus	1.48	0.171

***Supplementary Table S6**: Analysis of Covariance (ANCOVA) of genotypic pair's total biomass. Trait distance effect, Phosphorus effect, Block effect and their interaction are tested. F-values (F) and p-values (P) are shown. F and p values in bold or italic indicate p-values below 0.05 and comprised between 0.05 and 0.10 respectively.*

		Tlr		PH		Biovolume		SLA		RY		RB_{top}		D_{bas}		SRL_{bas}	
		d.f.	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Total Mixture Biomass	Block	4	1.59	0.191	1.75	0.154	1.16	0.338	**3.51**	**0.013**	1.38	0.254	1.22	0.315	1.36	0.261	1.73	0.158
	Distance	1	0.00	0.960	0.94	0.337	**45.12**	**<0.001**	**17.56**	**<0.001**	*3.40*	*0.071*	**9.15**	**0.004**	2.41	0.127	1.79	0.187
	Phosphorus	1	0.06	0.813	0.01	0.913	0.05	0.823	0.01	0.914	0.12	0.733	0.07	0.787	0.27	0.606	0.43	0.516
	D x P	1	0.00	0.948	0.37	0.544	0.56	0.460	0.21	0.652	2.20	0.144	0.66	0.420	0.54	0.466	0.88	0.352

		RTD_{bas}		RBI_{bas}		PfR_{bas}		D_{ad}		SRL_{ad}		RTD_{ad}		RBI_{ad}		PfR_{ad}	
		d.f.	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Total Mixture Biomass	Block	4	1.64	0.179	1.66	0.174	1.61	0.187	1.34	0.269	1.24	0.307	1.92	0.121	1.61	0.186	1.21	0.319
	Distance	1	0.17	0.683	1.22	0.275	1.31	0.258	*3.02*	*0.088*	1.85	0.180	0.41	0.525	0.74	0.395	**6.42**	**0.014**
	Phosphorus	1	0.39	0.537	0.1	0.747	0.27	0.608	0.10	0.759	0.14	0.705	0.04	0.845	0.01	0.935	0.02	0.878
	D x P	1	0.15	0.700	0.31	0.580	2.13	0.150	0.05	0.831	0.62	0.435	0.16	0.690	0.52	0.224	0.32	0.576

Supplementary Table S7: *Analysis of Covariance (ANCOVA) for Dmax. Trait distance effect, Phosphorus effect, Block effect and their interaction are tested. F-values (F) and p-values (P) are shown. F and p values in bold or italic indicate p-values below 0.05 and comprised between 0.05 and 0.10 respectively.*

			Tlr		PH		Biovolume		SLA		RY		RB_{top}		D_{bas}		SRL_{bas}	
		d.f.	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
D_{max}	Block	4	1.85	0.133	*2.16*	*0.087*	1.51	0.212	**2.91**	**0.030**	1.67	0.171	1.53	0.207	1.83	0.138	*2.15*	*0.088*
	Distance	1	2.40	0.128	0.68	0.108	**12.70**	**<0.001**	**4.89**	**0.031**	**9.21**	**0.004**	**11.69**	**0.001**	*3.21*	*0.079*	0.74	0.392
	Phosphorus	1	2.16	0.148	2.67	0.108	*3.77*	*0.058*	*2.86*	*0.097*	2.11	0.153	2.51	0.119	1.82	0.183	1.46	0.232
	D x P	1	0.41	0.526	0.02	0.888	2.02	0.162	0.28	0.600	2.67	0.109	0.01	0.924	2.75	0.104	1.71	0.167

			RTD_{bas}		RBI_{bas}		PfR_{bas}		D_{ad}		SRL_{ad}		RTD_{ad}		RBI_{ad}		PfR_{ad}	
		d.f.	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
D_{max}	Block	4	*2.11*	*0.093*	*2.13*	*0.091*	*2.21*	*0.081*	1.63	0.181	1.38	0.253	1.98	0.112	1.93	0.120	1.75	0.153
	Distance	1	0.23	0.636	0.02	0.887	0.00	0.965	**6.19**	**0.016**	**5.12**	**0.028**	0.10	0.755	0.46	0.501	0.75	0.390
	Phosphorus	1	1.42	0.239	1.54	0.220	1.58	0.215	2.09	0.154	1.69	0.199	2.16	0.149	2.73	0.104	2.30	0.136
	D x P	1	0.94	0.338	1.69	0.199	*3.15*	*0.082*	0.00	0.954	1.14	0.291	0.10	0.749	0.20	0.659	0.01	0.912

CHAPITRE 2

Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: towards ecological assembly rules for varietal mixtures

Article en révision

Montazeaud Germain, Cyrille Violle, Pierre Roumet, Aline Rocher, Martin Ecarnot, Frédéric Compan, Guillaume Maillet, Florian Fort*, and Hélène Fréville*. 2019. “Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: towards ecological assembly rules for varietal mixtures” *Journal of Applied Ecology*. Under revision. * These authors contribued equally to this work.

1. Présentation générale

Dans le chapitre précèdent, nous avons montré que les différences de profondeurs racinaires à elles seules ne permettaient pas de générer un gain de productivité via un effet de complémentarité spatiale d'utilisation des ressources souterraines dans des mélanges de variétés de riz. Nous avons cependant pu mettre en évidence plusieurs relations entre les différences phénotypiques des génotypes et la productivité relative des mélanges. Ces relations, impliquant à la fois des traits fonctionnels aériens et racinaires, suggèrent que d'autres effets que la complémentarité de niche peuvent générer des gains de productivité dans les mélanges par rapport aux monocultures.

Dans ce deuxième chapitre, nous adoptons à nouveau une approche fonctionnelle, mais nous choisissons de ne pas privilégier un trait en particulier dans nos hypothèses de travail. Nous nous demandons ici quels sont les traits fonctionnels qui affectent le plus la performance agronomique des mélanges. Pour répondre à cette question, nous utilisons un grand nombre de génotypes et un grand nombre de mélanges afin d'obtenir des combinaisons de traits variés, à la fois dans le compartiment aérien et dans le compartiment souterrain. A partir d'une population de 180 génotypes de blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum)* très diversifiés, nous constituons 220 mélanges binaires, et nous les comparons à leurs composantes en monoculture. Nous travaillons dans des conditions expérimentales beaucoup plus proches des conditions de cultures réelles, en cultivant les monocultures et les mélanges au champ, en parcelles expérimentales.

Nous décrivons la composition fonctionnelle des mélanges en calculant leur identité fonctionnelle et leur diversité fonctionnelle sur 19 traits aériens et racinaires mesurés au champ dans les parcelles en monoculture. Nous utilisons ensuite une approche statistique multivariée afin d'identifier les combinaisons de traits et d'effets (diversité *vs* identité) qui expliquent le mieux la performance agronomique des mélanges. Nous mesurons plusieurs composantes de la performance agronomique, notamment dans le but de décrire le compromis entre la quantité et la qualité de la production des mélanges. En effet, il existe chez la plupart des céréales un compromis physiologique fort entre la masse des grains (le rendement en grains) et leur teneur en protéines (Simmonds, 1995). Ainsi, une variété à fort rendement produit généralement des grains à faible teneur en protéines, et inversement. Nous caractérisons donc ces deux composantes afin d'évaluer l'aptitude des mélanges à dévier de ce compromis qui limite la performance agronomique en monoculture. Enfin, nous établissons une classification fonctionnelle afin de regrouper les génotypes ayant des stratégies écologiques similaires. Sur la base de ces groupes, nous identifions ensuite les associations fonctionnelles les plus favorables pour les différentes facettes de la performance agronomique.

2. Keywords

Durum wheat, functional group, functional trait, grain protein content, grain yield, mixing effects, translational ecology

3. Abstract

Cultivating mixtures of varieties represents an easy way to re-introduce crop diversity in agrosystems and might thus help increasing agricultural sustainability. Indeed, results from emblematic ecological studies suggest that genetic diversity can increase natural ecosystem productivity. So far, the literature on varietal mixtures has shown mixed results. Studying mixtures through the lens of fundamental ecological theories can help better mobilize diversity for crop production.

We use a trait-based approach to investigate the effects of functional identity and functional diversity on agronomic performance of varietal mixtures in durum wheat, *Triticum turgidum* ssp. *durum*, a major source of staple food. Using a set of highly genetically diverse lines, we grew 220 two-way mixtures and their corresponding monocultures in field conditions, and we measured 19 functional traits including both above- and belowground traits. We quantified relative performance as the mixture deviation to the mean monoculture performance on two variables related to productivity, vegetative biomass yield and grain yield, and two variables related to grain quality, grain protein content, and grain protein deviation, i.e. the residual of the negative relationship between grain yield and grain quality.

We found that biomass and grain yield increased by 4% overall in mixtures relative to their monoculture components. In contrast, mixing effects were overall non-significant on grain protein content and grain protein deviation. The combined effects of functional identity and functional diversity explained 15% to 24% of the agronomic performance of the mixtures, quality-related variables being better predicted than productivity-related variables. Root traits explained most of the variation in mixing effects for productivity-related variables, whereas aboveground and phenological traits were the most explicative for quality-related variables. Clustering varieties into functional groups allowed us to identify the most beneficial associations for multifaceted agronomic performance.

Synthesis and applications: Functional traits explained part of the benefit of mixing. They can thus serve as a basis to identify groups of varieties whose combinations are expected to generate positive mixing effects. Selection could then target convergence between groups for some traits and divergence between groups for other traits using the empirically-derived relationships between functional traits and agronomic performance as a guideline.

4. Introduction

The reintroduction of genetic diversity into cropping systems is one of the pillars of the agro-ecological approach (Malézieux, 2012). Currently, food production mostly relies on monogenotypic varieties that have been selected to perform under intensive and homogeneous

conditions (Evenson & Gollin, 2003). Changes towards more sustainable practices such as chemical input reduction, as well as climate change are expected to strongly modify crop environment and making it more variable (Fischer, Shah, & Van Velthuizen, 2002; Lesk, Rowhani, & Ramankutty, 2016). In this context, growing varietal mixtures instead of mono-genotypic crops could help maintaining sufficient levels of production while limiting environmental impacts of agriculture (Barot et al., 2017; Litrico & Violle, 2015). Numerous studies have shown a positive relationship between biodiversity and productivity in unmanaged ecosystems (Hooper et al., 2005; Loreau et al., 2001; Tilman et al., 2001). Although most of these effects were first attributed to species richness, intraspecific diversity is now being recognized as an important driver of ecological processes, including productivity (Bolnick et al., 2011; Hughes, Inouye, Johnson, Underwood, & Vellend, 2008). Results on crop varietal mixtures are more contrasted (Kiær, Skovgaard, & Østergård, 2009; Reiss & Drinkwater, 2018; Smithson & Lenné, 1996): although slightly positive on average, mixing effects are highly variable on yields and can even be negative. This calls for a better understanding of the mechanisms that drive the biodiversity-productivity relationship in crops. Ecological theories can help address this challenge to promote positive diversity effects in agrosystems (Barot et al., 2017; Borg et al., 2018).

The expected benefits of mixtures lie on a central and seminal theory of ecology: niche complementarity. This theory assumes that organisms that differ in their ecological niche experience reduced competition because they use resources differently, which leads to enhanced productivity (MacArthur & Levins, 1967). Species niche can be estimated using a set of phenotypic traits (Violle & Jiang, 2009), referred to as functional traits (Violle et al., 2007). These traits are used to position species along niche axes and to quantify niche differences between species (McGill, Enquist, Weiher, & Westoby, 2006). In natural communities, spatial aboveground (Schmid & Niklaus, 2017; Williams, Paquette, Cavender-Bares, Messier, & Reich, 2017), spatial belowground (Berendse, 1981; Mueller, Tilman, Fornara, & Hobbie, 2013), or temporal complementarity (Fargione & Tilman, 2005) have been shown to increase productivity. In crops, experimental studies quantifying the role of niche complementarity in varietal mixtures are still rare (Montazeaud et al., 2018). The relationship between trait diversity and agrosystem functioning is mainly investigated through functional-structural models. These models suggest that differences in plant architecture can increase yield through complementarity for light capture (Barillot et al., 2019; Zhu, Werf, Anten, Vos, & Evers, 2015), but provide contrasted conclusions for the belowground compartment where differences in root architecture do not systematically result in complementarity effects (Postma & Lynch, 2012).

The study of the relationship between species abundance and ecosystem functioning through a functional lens has also led to the mass ratio theory (Grime, 1998). This theory lies on two assumptions: (i) ecosystem properties are determined by the average trait value of the community; (ii) ecosystem processes are mainly determined by the dominant species in the community. Several studies support these predictions (Garnier et al., 2004; Polley, Wilsey, Derner, Johnson, & Sanabria, 2006). For example, the average characteristics (specific leaf area, leaf dry matter content and leaf nitrogen content) of two dominant species were sufficient

to capture processes related to carbon and nitrogen cycles, including ecosystem productivity, in Mediterranean old fields (Garnier et al., 2004). Despite being widely investigated in ecology, the mass ratio hypothesis remains unexplored in the context of varietal mixtures where most studies focus on diversity effects quantified by the number of varieties or by phenotypic differences between varieties (Barot et al., 2017; Prieto et al., 2015).

The niche complementarity theory and the mass ratio theory are not mutually exclusive, and functional ecology has allowed to integrate them into a single framework (Garnier, Navas, & Grigulis, 2015; McGill et al., 2006; Violle & Jiang, 2009). In this framework, functional traits are incorporated into indexes to characterize the functional diversity and the functional identity of ecosystems (Ricotta & Moretti, 2011). Functional diversity quantifies the dispersion of the trait values within the community and is expected to be closely related to niche complementarity (Garnier et al., 2015). Functional identity can be quantified by weighing trait values of the species of the community with their relative abundance (Violle et al., 2007), and refers to the effect of the dominant phenotypes. Quantifying functional identity and functional diversity on multiple ecological dimensions has proven useful to understand the link between traits and ecosystem processes in ecology (Lavorel et al., 2008; Mokany, Ash, & Roxburgh, 2008; Roscher et al., 2012). Yet, despite repeated calls (Damour, Navas, & Garnier, 2018; Martin & Isaac, 2015), this has not been done in crops.

Which traits to use to quantify ecosystem processes and which combination of phenotypic values optimize these processes remain open questions (Petchey & Gaston, 2006). Recent results suggest that ecosystem processes, including productivity, could be explained by a multivariate combination of traits related to resource-use and size (Cadotte, 2017; Kraft, Godoy, & Levine, 2015), the two main dimensions of phenotypic variation among vascular plants (Díaz et al., 2016; Westoby, Falster, Moles, Vesk, & Wright, 2002). Importantly, these studies also show that root traits are major drivers of ecosystem processes. In crops, while belowground complementarity is often invocated to explain higher yield in mixtures (Barot et al., 2017; Litrico & Violle, 2015), this mechanism remains poorly investigated (but see Montazeaud et al., 2018). Improving belowground trait characterization might help better understand the ecological mechanisms driving plant-plant interactions in varietal mixtures.

As ecosystem functioning (Hector & Bagchi, 2007), agronomic performance can be assessed through multiple facets. Varietal mixtures are often evaluated on their productivity relative to monocultures (Kiær et al., 2009; Reiss & Drinkwater, 2018; Smithson & Lenné, 1996). Depending on the species and on the valued part of the plant, either grain or vegetative biomass yield can be targeted. In most cereals, quality is as important as productivity to determine the final value of the product. Still, the benefit of mixing on quality is poorly documented (Borg et al., 2018). Moreover, increasing both quantity and quality represents a key challenge for crop breeding because these two facets are often negatively correlated (Simmonds, 1995). The ability to deviate from the negative relationship between grain protein content and grain yield, namely grain protein deviation, has even become an important selection target in cereals (Monaghan, Snape, Chojecki, & Kettlewell, 2001). Focusing on single

components of agronomic performance could thus lead to underestimate the potential of varietal mixtures.

In this study, we use a functional approach to understand the relationship between trait composition (functional identity and functional diversity) and agronomic performance of varietal mixtures in durum wheat, *Triticum turgidum* ssp. *durum*. We used a highly genetically diverse population of genotypes that we characterized in monocultures on 19 functional traits including 11 root traits. We grew 220 two-way mixtures in field conditions and we assessed agronomic performance relative to monoculture for biomass yield, grain yield, grain protein content, and grain protein deviation. Then, we used a multivariate approach to understand the relationship between agronomic performance and trait composition of mixtures. Finally, we clustered genotypes into functional groups to identify assembly rules that allow maximizing mixing effects on several dimensions of agronomic performance.

5. Material and Methods

A. Experimental design

We used 180 inbred lines from the EPO population developed at INRA Montpellier, France (David et al., 2014). These lines show high phenotypic variability for both above- and belowground traits (unpublished data). We randomly constituted 220 two-way mixtures to explore a wide range of trait combinations. We only excluded pairs having more than three weeks' difference in heading date, assuming that larger time lag would not be acceptable in real cultivation conditions. Mixtures and monocultures were grown in 6-row field plots (1.5 m long, 0.2 m between-rows) at Mauguio, France (43°37'02''N, 3°51'18''E). In mixtures, one genotype was grown on rows 1, 3 and 5, and the other on rows 2, 4, and 6. Biotic damages and resource limitations were prevented by applying pesticides and fertilizers (Supplementary Information). The final dataset included 179 monocultures and 197 mixtures after removing plots with incomplete data due to sowing or sampling problems.

B. Plant trait and yield measurements

We characterized the 179 genotypes in monoculture plots. At the end of the tillering stage, we measured early biomass per capita (Ear. bio.), tiller number per capita (Till. nb.), leaf nitrogen content (Leaf N), and specific leaf area (SLA), the ratio between leaf area and leaf dry mass. We recorded two phenological stages, heading date (Heading) and maturity date (Maturity). We measured the angle between the two most distant tillers ($Angle_{aer}$) at heading, and plant height (Height) at maturity. We collected root samples at the end of the tillering stage. We separated the seminal and the adventitious root systems and we quantified morphological traits through image analysis (WinRHIZO pro Version 2009; Regent Instrument, Quebec, Canada). We computed mean root diameters ($Diam_{sem}$ and $Diam_{adv}$), Specific Root Length (SRL_{sem} and SRL_{adv}, root length / root dry mass), Root Tissue Density (RTD_{sem} and RTD_{adv}, root dry mass / root volume), Root Length Density (RLD_{sem} and RLD_{adv}, root length / soil

volume), and Root Branching Intensity (RBI_{sem} and RBI_{adv}, number of root tips / total root length). At maturity, we measured the angle between the two most distant roots ($Angle_{root}$).

At harvest, we measured vegetative biomass yield (hereafter biomass yield) and grain yield for each monoculture and for each genotype within mixtures. We did the same for grain protein content using a spectroscopic method. We computed grain protein deviation as the residual of the linear regression between grain protein content and grain yield.

Details on trait and agronomic performance measurements can be found in the Supplementary Information.

C. Computation of trait indices

We characterized mixture functional identity by computing the community-weighted mean (CWM) value of each trait. Following Garnier et al. (2004), we weighed the trait values of each component with its respective relative biomass on stems, leaves, and spikes:

[1] $$CWM_{ij} = \frac{B_i x_i + B_j x_j}{B_i + B_j}$$

Where CWM_{ij} is the community-weighted mean of the mixture containing genotypes *i* and *j*, B_i and B_j are the total aboveground biomass of genotypes *i* and *j*, and x_i and x_j are the trait values of genotypes *i* and *j*, respectively.

For each trait, we also quantified the functional diversity of the mixture by computing the Rao quadratic diversity index, which quantifies the expected dissimilarity between two genotypes sampled at random within the mixture (Rao, 1982):

[2] $$F_{D_{ij}} = d_{ij} \times \frac{B_i}{B_i + B_j} \times \frac{B_j}{B_i + B_j}$$

Where $F_{D_{ij}}$ is the functional diversity of the mixture containing genotypes *i* and *j*, and d_{ij} is a measure of dissimilarity between genotypes *i* and *j* that we quantified with the Euclidian distance.

D. Agronomic performance

We computed mixture relative performance using Relative Yield Total (RYT) indices (Weigelt & Jolliffe, 2003). For biomass and grain yield, RYT was computed as follows:

[4] $$RYT_{ij} = \frac{\frac{Y_{i_{mixt}}}{Y_{i_{monoc}}} + \frac{Y_{j_{mixt}}}{Y_{j_{monoc}}}}{2}$$

Where RYT_{ij} is the Relative Yield Total of the mixture containing genotypes *i* and *j*, $Y_{i_{mixt}}$ and $Y_{j_{mixt}}$ are the grain or biomass yield of genotypes *i* and *j*, and $Y_{i_{monoc}}$ and $Y_{j_{monoc}}$ are the grain or biomass yield of genotypes *i* and *j* in monocultures. Grain protein content RYT was computed as follows:

[5] $$RYT_{ij} = \frac{\frac{Y_{i_{mixt}} \times GPC_{i_{mixt}} + Y_{j_{mixt}} \times GPC_{j_{mixt}}}{Y_{i_{mixt}} + Y_{j_{mixt}}}}{\frac{Y_{i_{monoc}} \times GPC_{i_{monoc}} + Y_{j_{monoc}} \times GPC_{j_{monoc}}}{Y_{i_{monoc}} + Y_{j_{monoc}}}}$$

Where $Y_{i_{mixt}}$ and $Y_{j_{mixt}}$ are the grain yield of genotypes *i* and *j* in mixture, $Y_{i_{monoc}}$ and $Y_{j_{monoc}}$ are the grain yield of genotypes *i* and *j* in monoculture, $GPC_{i_{mixt}}$ and $GPC_{j_{mixt}}$ are the grain protein content of genotypes *i* and *j* in mixture, and $GPC_{i_{monoc}}$ and $GPC_{j_{monoc}}$ are the grain protein content of genotypes *i* and *j* in monoculture. Finally, grain protein deviation RYT was computed as follows:

[6] $$RYT_{ij} = GPD_{ij_{obs}} - GPD_{ij_{exp}}$$

Where $GPD_{ij_{obs}}$ is the observed grain protein deviation for the mixture containing genotypes *i* and *j*, and $GPD_{ij_{exp}}$ is the expected grain protein deviation based on monocultures of genotypes *i* and *j* (Supplementary Information).

Under no mixing effects, RYT for biomass yield, grain yield, and grain protein content equals 1, whereas it equals 0 for grain protein deviation. RYT > 1 (respectively 0 for GPD) means that the mixture performed better than the average of the two monocultures (positive mixing effect), whereas RYT < 1 (respectively 0 for GPD) means that the mixture performed worse (negative mixing effect).

E. Statistical analysis

All statistical analysis were performed with R v. 3.5.3 (R Core Team, 2019).

We estimated genotypic effects for each trait and each component of agronomic performance by fitting a mixed model with genotype identity as a random effect (*lmer()* function from *lme4* package). To account for spatial trends of auto-correlation, we corrected genotypic estimations for each component with the P-splines method using the *SpATS* package (Rodríguez-Álvarez et al., 2018) by fitting a mixed model with genotype identity, row identity, and column identity as random effects, and a smooth bivariate surface function (Supplementary Figure 2).

We then used a multivariate approach to assess how the 19 functional traits affected mixing effects. For each component of performance, we first fitted a complete linear model with all trait CWMs and all trait F_{Ds} as independent variables, and RYT as the dependent variable (*lm()* function from the *stats* package). We then ran a backward model selection procedure using Akaike Information Criterion (AIC, Akaike, 1974) to retain the most parsimonious model (*stepAIC()* function from the *MASS* package).

Finally, we clustered the 179 genotypes into functional groups to test whether the structure of the phenotypic variability observed in the population allowed creating beneficial trait associations for multiple components of agronomic performance. We used a scaled genotype-by-trait matrix to compute a pairwise Euclidian distance matrix. We then performed Ascending Hierarchical Clustering (ACH) with the *agnes()* function from the *cluster* package

using the pairwise Euclidian distance matrix and the Ward aggregation criterion (Ward, 1963). We chose the number of groups based on the height of the tree branches (Supplementary Figure 3).

6. Results

A. Functional trait variability

The 19 functional traits showed contrasted patterns of variability among genotypes (Table 1). Ear. bio. and Till. nb. were the most variable traits aboveground with respective CVs of 0.42 and 0.26, and mean values of 0.88 g.ind-1 and 3.49 tillers.ind-1. Heading and Maturity were the least variable traits, the difference between the earliest and the latest genotype being 250 GDD (around 2.5 weeks) for both traits, which showed CVs of 0.03 and 0.02, respectively. Angleaer, SLA, Leaf N, and Height displayed intermediate levels of variability. Of belowground traits, RLD was the most variable trait, with a CV of 0.48 for seminal roots and 0.46 for adventitious roots, and about a ten-fold difference between minimum and maximum values: 0.07 to 0.65 cm.cm-3 and 0.04 to 0.47 cm.cm-3 for seminal and adventitious roots, respectively. Diam, RTD, and RBI were the least variable traits with CVs around 0.10 for both root types. Angleroot and SRL had intermediate levels of variability (Table 1).

The strongest trait correlation was between SRLsem and Diamsem ($r = -0.84$, $p < 0.001$). The belowground compartment was characterized by strong positive correlations between RBI and Diam, and between SRL and RLD (Supplementary Figure 4). The crossed-correlations between these two groups of variables were negative. Aboveground, we identified strong positive correlations between Till. nb. and Ear. bio. ($r = 0.71$, $p < 0.001$), Heading and Maturity ($r = 0.58$, $p < 0.001$), and Leaf N and SLA ($r = 0.42$, $p < 0.001$). Some aboveground traits showed strong positive correlations with belowground traits, such as Ear. bio. and Till. nb. with RLDadv ($r = 0.75$ and $r = 0.56$, respectively, $p < 0.001$) and Leaf N with RBIsem ($r = 0.37$, $p < 0.001$).

B. Agronomic performance of mixtures

The mean RYTs for biomass yield and grain yield both equaled 1.04 and were significantly larger than 1 (Fig. 2 a and b), meaning that mixtures produced on average 4% more biomass and grains than expected from monoculture components. RYT variation was high for both variables (sd ≥ 0.14), ranging from 0.61 to 1.53 for biomass yield and from 0.56 to 1.56 for grain yield. Mixing effects were non-significant for grain protein content (mean RYT = 1.00) and grain protein deviation (mean RYT = -0.03) (Fig. 2 c and d). RYT variation was lower for grain protein content (sd = 0.04), RYT values ranging from 0.90 to 1.13. Although the standard deviation was higher for grain protein deviation RYT (sd = 0.56), variation was of the same order than for grain protein content RYT due to the fact that these two variables were not expressed in the same unit (grain protein content RYT has no unit whereas grain protein deviation RYT is expressed in mass fraction of nitrogen, see Material and Methods).

C. Relationship between functional trait composition and agronomic performance of mixtures

Functional trait composition explained between 15% (grain yield) and 24% (grain protein content) of the variability observed on the relative agronomic performance of mixtures (Fig. 3). Depending on the performance component, 5 to 7 traits were retained in the model, with a mix of above- and belowground traits in each case. The most explicative variables were CWMs for three out of four components (Fig. 3). Yet, both CWM and F_D contributed to explain the observed variability in relative mixture performance for all performance components. Two root traits explained a large proportion of variability in biomass yield RYT and grain yield RYT: RBI_{sem} F_D and RTD_{adv} CWM, both of which being positively correlated with the two components (Fig. 3 a and b). Biomass yield RYT increased with increasing Heading CWM and $Diam_{adv}$ F_D, whereas it decreased with increasing Leaf N CWM. Remaining traits that affected grain yield RYT also affected grain protein content RYT in opposite directions: increasing $Diam_{sem}$ F_D increased grain yield RYT but decreased grain protein content RYT, while increasing RTD_{adv} F_D decreased grain yield RYT but increased grain protein content RYT (Fig. 3 b and c). Increasing Till. nb. CWM, Maturity CWM, and $Angle_{aer}$ CWM increased both grain protein content RYT and grain protein deviation RYT (Fig. 3 c and d). Moreover, increasing Till. nb. F_D decreased both grain yield RYT and grain protein deviation RYT (Fig. 3 b and d).

D. Functional groups

We identified three functional groups that differed on several functional traits (Figure 4 & Supplementary Table 2). Aboveground, genotypes from group 1 had few tillers, high SLA and leaf nitrogen content, and produced low biomass compared to groups 2 and 3. They were early for heading and maturity. Belowground, they had an intermediate root angle, produced low root length per unit soil volume, and their roots had low-density tissues. Genotypes from group 2 were tall, produced numerous tillers and high biomass. They had low SLA and low leaf nitrogen content, and were early at heading but late at maturity. They had a narrow root angle, but produced more root length per unit soil volume. Their roots were thin and had a low branching intensity. Finally, genotypes from group 3 were short, had a wide aerial angle, and produced intermediate amounts of tillers and biomass. They had low SLA and low leaf nitrogen content. They were late for heading and maturity. Unlike group 2, they had a wide root angle, their roots were thick and dense, and they had high branching intensity.

Mixtures associating genotypes from groups 2 and 3 had the highest RYTs for biomass yield and grain yield, and showed a significant positive mixing effect on both components (Fig. 5 a and b). Mixtures associating genotypes from group 2 had a significant positive mixing effect on biomass yield. Mixtures associating genotypes from group 1 had a significant positive mixing effect on grain yield but a significant negative mixing effect on grain protein content (Fig. 5 b and c). Other functional associations did not show significant mixing effects on RYTs for biomass yield, grain yield, or grain protein content. Mixtures associating genotypes from group 1 and group 3 had the lowest RYTs for grain protein deviation, and showed a significant negative mixing effect on this component (Fig. 5 d).

7. Discussion

Our study provides a general assessment of multifaceted agronomic performance for varietal mixtures and allows a thorough investigation of the relationship between mixing effects and trait composition of the mixtures. We report stronger mixing effects for productivity-related variables, *i.e.* grain yield and biomass yield, than for quality-related variables, *i.e.* grain protein content and grain protein deviation. However, functional traits better explain quality-related mixing effects than productivity-related mixing effects. In line with recent evidence on grassland species (Cadotte, 2017; Kraft et al., 2015), our results suggest that niche complementarity and mass ratio effects jointly determine the agronomic performance of the mixtures. Clustering genotypes into functional groups allows us to tackle part of this complexity by discriminating among the most favorable and the most unfavorable functional associations.

The average mixing effects on grain yield and biomass yield are consistent with values reported in the literature (Kiær et al., 2009; Reiss & Drinkwater, 2018; Smithson & Lenné, 1996). The average and the variability of the mixing effects detected on grain protein content were weak, strengthening sparse data observed on such components (Gallandt, Dofing, Reisenauer, & Donaldson, 2001; Sammons & Baenziger, 1985). However, most of these experiments did not explain mixing effect variability. Here, multivariate combinations of trait means and trait dispersions explain from 15% to 24% of the variation in mixing effects, this proportion being larger for quality-related mixing effects than for quantity-related mixing effects.

Most mixing effects on yields were explained by root trait composition of the mixtures: biomass and grain yield RYTs were mainly explained by a joint positive effect of functional diversity on seminal root branching intensity and community-weighted mean of adventitious root tissue density. High root branching intensity is expected to provide intense soil exploration around the principal roots, while low branching intensity is expected to lead to more extensive soil foraging (Richardson et al., 2011). Combining such mining and foraging strategies in mixtures could therefore result in belowground spatial complementarity. In crops, the complementarity effects observed in the historic “three sisters” (maize/bean/squash) polyculture was also attributed to differences in root foraging strategies (Zhang, Postma, York, & Lynch, 2014). The positive effect of community-weighted mean of adventitious root tissue density on biomass and grain yield RYTs might result from improved soil anchoring at a stage where plants are sensitive to lodging. Root morphological traits, including root tissue density, determine the biomechanical properties of the roots, which are known to be involved in sensitivity to lodging (Ennos & Fitter, 1992; Liu, Li, Zhu, & Song, 2018). This interpretation was partly supported by monoculture data, where we detected a marginal negative correlation between adventitious root tissue density and lodging score ($P = 0.06$, data not shown).

Quality-related mixing effects were in contrast mostly explained by aboveground traits and phenology: grain protein content and grain protein deviation RYTs correlated positively with tiller number, aerial angle, and maturity CWMs. Such a positive effect on grain protein content could have resulted from a negative effect on grain mass, as expected from the classical

trade-off between grain mass and grain protein content in cereals (Simmonds, 1995). RYT on grain specific weight, the ratio between grain mass and grain volume, correlated negatively with the three CWMs (Supplementary Figure 6a), giving some support to this hypothesis. Yet, how this trait combination resulted in a decreased grain filling in mixtures remains unclear. We would expect a later maturity to increase grain filling time and thus to increase grain mass rather than decrease it. Such disconnection suggests that other factors such as phenotypic plasticity could have affected grain protein content in mixtures. Interestingly, the three CWMs did not affect grain yield RYTs, which explains why they positively affected grain protein deviation RYT. This suggests that such negative effects on grain filling were compensated by positive mixing effects on other yield components. Indeed, functional diversity on seminal root branching intensity and CWM on adventitious root tissue density both correlated positively with the number of spikes per square meter (Supplementary Figure 6b), suggesting that the positive mixing effects we detected on grain yield arose from an increased spike density rather than from an increased grain mass. Results from emblematic biodiversity experiments also suggest that much of the biodiversity effects related to species richness are driven by an increase in plant module density rather than by an increase in plant module size (Marquard et al., 2009). Altogether, our results suggest that varietal mixtures could be an interesting way to escape trade-offs that are known to constraint agronomic performance in monocultures, as proposed theoretically (Litrico & Violle, 2015).

Clustering species into functional groups is a common approach in ecology (*e.g.* Hooper & Dukes, 2004). Our study shows that this approach is also highly relevant at the intraspecific level, and can thus help designing assembly rules for varietal mixtures. Indeed, the three groups we identified allowed distinguishing several functional associations with significant positive mixing effects on multiple facets of agronomic performance. Moreover, the trait composition characterizing these beneficial associations was in agreement with the patterns identified with the multivariate approach. For example, mixtures associating genotypes from groups 2 and 3 exhibited positive mixing effects on biomass and grain yield: functional groups 2 and 3 have respectively low and high seminal root branching intensities and have both high adventitious root tissue densities. Mixtures associating genotypes from group 1 had positive mixing effects on grain yield but negative mixing effects on grain protein content: group 1 had a low variability for both tiller number and adventitious root tissue density (Supplementary Table 2). This example suggests that functional redundancy cannot help escaping the trade-off constraining agronomic performance at the individual level. Overall, functional clustering allows preventing functional redundancy, and is thus very promising to identify the most favorable varietal associations for multifaceted crop yield.

Combining positive effects of functional identity and functional diversity represents a major challenge for breeding. Indeed, this raises the question as to how to select mixtures of genotypes that differ on some traits but remain uniform for others (Litrico & Violle, 2015). Functional clustering could be used as a first step to structure the phenotypic variability present in the founding population, and to identify the most beneficial associations. Then, selection practices could draw on breeding methods used in hybrid crops, where selection first takes place

in separate groups, *i.e.* heterotic groups, and aims at selecting genes not only for their own value but also for their expected value in combination with genes from other groups. Similarly, selection for high performant mixtures could first take place within each functional group, by promoting trait convergence between groups to foster functional identity-driven effects, and divergent selection to promote functional diversity-driven effects. In this context, extending the dialogue between ecology and agronomy could help develop more sustainable agriculture by developing optimized varietal mixtures for multifaceted crop yield.

8. Data availability statement

Data for this study are available at:

https://github.com/germmtz/multifaceted_FD_multifaceted_YLD

9. Author's contributions

GeMo, CV, FF, and HF designed the experiment. AR supervised the field work, and GeMo, AR, FC, GuMa, FF, and HF contributed to data collection and trait measurements. GuMa conducted root trait analysis. ME conducted NIRS measurements on leaves, and FC conducted NIRS measurements on grains. GeMo analyzed the data and wrote the manuscript. Significant inputs from PR helped to interpret and discuss the results. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

10. Acknowledgements

This work was funded by the European Research Council (ERC) Starting Grant Project "Ecophysiological and biophysical constraints on domestication in crop plants" (Grant ERC-StG-2014-639706-CONSTRAINTS) and by the project "Supporting Agrobiodiversity in Mediterranean Agroecosystems to improve Drought Adaptation" (SAADA); an Open Science project of Agropolis Fondation. We thank Nicolas Delpon, Pauline Caraglio, and Aurélie Souche for their dedicated technical help, the DIASCOPE platform (INRA, Mauguio, FRANCE), and the PACE platform (technical facilities of the Labex Centre Méditerranéen de l'Environnement et de la Biodiversité, CEMEB, Montpellier, FRANCE) for providing all the facilities and technical support.

11. References

Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, *19*(6), 716–723. doi: 10.1109/TAC.1974.1100705

Barillot, R., Chambon, C., Fournier, C., Combes, D., Pradal, C., & Andrieu, B. (2019). Investigation of complex canopies with a functional–structural plant model as exemplified by leaf inclination effect on the functioning of pure and mixed stands of wheat during grain filling. *Annals of Botany*, *123*(4), 727–742. doi: 10.1093/aob/mcy208

Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., … Porcher, E. (2017). Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *37*(2), 13. doi: 10.1007/s13593-017-0418-x

Berendse, F. (1981). Competition between plant populations with different rooting depths II. Pot experiments. *Oecologia*, *48*(3), 334–341. doi: 10.1007/BF00346491

Bolnick, D. I., Amarasekare, P., Araújo, M. S., Bürger, R., Levine, J. M., Novak, M., … Vasseur, D. (2011). Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, *26*(4), 183–192. doi: 10.1016/j.tree.2011.01.009

Borg, J., Kiær, L. P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., … Enjalbert, J. (2018). Unfolding the potential of wheat cultivar mixtures: A meta-analysis perspective and identification of knowledge gaps. *Field Crops Research*, *221*, 298–313. doi: 10.1016/j.fcr.2017.09.006

Cadotte, M. W. (2017). Functional traits explain ecosystem function through opposing mechanisms. *Ecology Letters*, *20*(8), 989–996. doi: 10.1111/ele.12796

Damour, G., Navas, M. L., & Garnier, E. (2018). A revised trait-based framework for agroecosystems including decision rules. *Journal of Applied Ecology*, *55*(1), 12–24. doi: 10.1111/1365-2664.12986

David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., … Tavaud-Pirra, M. (2014). Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Molecular Breeding*, *34*(4), 1531–1548. doi: 10.1007/s11032-014-0179-z

Díaz, S., Kattge, J., Cornelissen, J. H. C., Wright, I. J., Lavorel, S., Dray, S., … Gorné, L. D. (2016). The global spectrum of plant form and function. *Nature*, *529*(7585), 167. doi: 10.1038/nature16489

Ennos, A. R., & Fitter, A. H. (1992). Comparative functional morphology of the anchorage systems of annual dicots. *Functional Ecology*, *6*(1), 71–78. doi: 10.2307/2389773

Evenson, R. E., & Gollin, D. (2003). Assessing the impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science*, *300*(5620), 758–762. doi: 10.1126/science.1078710

Fargione, J., & Tilman, D. (2005). Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. *Oecologia*, *143*(4), 598–606. doi: 10.1007/s00442-005-0010-y

Fischer, G., Shah, M. M., & Van Velthuizen, H. (2002). *Climate change and agricultural vulnerability*. Laxenburg, Austria: IIASA.

Gallandt, E. R., Dofing, S. M., Reisenauer, P. E., & Donaldson, E. (2001). Diallel analysis of cultivar mixtures in winter wheat. *Crop Science*, *41*(3), 792–796. doi: 10.2135/cropsci2001.413792x

Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., … Toussaint, J.-P. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, *85*(9), 2630–2637. doi: 10.1890/03-0799

Garnier, E., Navas, M.-L., & Grigulis, K. (2015). *Plant functional diversity: organism traits, community structure, and ecosystem properties*. Oxford, New York: Oxford University Press.

Grime, J. P. (1998). Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, *86*(6), 902–910. doi: 10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x

Hector, A., & Bagchi, R. (2007). Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, *448*(7150), 188–190. doi: 10.1038/nature05947

Hooper, D. U., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., … Wardle, D. A. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, *75*(1), 3–35. doi: 10.1890/04-0922

Hooper, D. U., & Dukes, J. S. (2004). Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment. *Ecology Letters*, *7*(2), 95–105. doi: 10.1046/j.1461-0248.2003.00555.x

Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, *11*(6), 609–623. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x

Kiær, L. P., Skovgaard, I. M., & Østergård, H. (2009). Grain yield increase in cereal variety mixtures: A meta-analysis of field trials. *Field Crops Research*, *114*(3), 361–373. doi: 10.1016/j.fcr.2009.09.006

Kraft, N. J. B., Godoy, O., & Levine, J. M. (2015). Plant functional traits and the multidimensional nature of species coexistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(3), 797–802. doi: 10.1073/pnas.1413650112

Lavorel, S., Grigulis, K., McIntyre, S., Williams, N. S. G., Garden, D., Dorrough, J., … Bonis, A. (2008). Assessing functional diversity in the field – methodology matters! *Functional Ecology*, *22*(1), 134–147. doi: 10.1111/j.1365-2435.2007.01339.x

Lesk, C., Rowhani, P., & Ramankutty, N. (2016). Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature*, *529*(7584), 84–87. doi: 10.1038/nature16467

Litrico, I., & Violle, C. (2015). Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends in Plant Science*, *20*(10), 604–613. doi: 10.1016/j.tplants.2015.07.007

Liu, S., Li, X., Zhu, X., & Song, F. (2018). Tensile properties of seminal and nodal roots and their relationship with the root diameter and planting density of maize (Zea mays). *Crop and Pasture Science*, *69*(7), 717–723. doi: 10.1071/CP18005

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A., … Wardle, D. A. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science (New York, N.Y.)*, *294*(5543), 804–808. doi: 10.1126/science.1064088

MacArthur, R., & Levins, R. (1967). The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. *The American Naturalist*, *101*(921), 377–385.

Malézieux, E. (2012). Designing cropping systems from nature. *Agronomy for Sustainable Development*, *32*(1), 15–29. doi: 10.1007/s13593-011-0027-z

Marquard, E., Weigelt, A., Roscher, C., Gubsch, M., Lipowsky, A., & Schmid, B. (2009). Positive biodiversity–productivity relationship due to increased plant density. *Journal of Ecology*, *97*(4), 696–704. doi: 10.1111/j.1365-2745.2009.01521.x

Martin, A. R., & Isaac, M. E. (2015). Plant functional traits in agroecosystems: a blueprint for research. *Journal of Applied Ecology*, *52*(6), 1425–1435. doi: 10.1111/1365-2664.12526

McGill, B. J., Enquist, B. J., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution*, *21*(4), 178–185. doi: 10.1016/j.tree.2006.02.002

Mokany, K., Ash, J., & Roxburgh, S. (2008). Functional identity is more important than diversity in influencing ecosystem processes in a temperate native grassland. *Journal of Ecology*, *96*(5), 884–893. doi: 10.1111/j.1365-2745.2008.01395.x

Monaghan, J. M., Snape, J. W., Chojecki, A. J. S., & Kettlewell, P. S. (2001). The use of grain protein deviation for identifying wheat cultivars with high grain protein concentration and yield. *Euphytica*, *122*(2), 309–317. doi: 10.1023/A:1012961703208

Montazeaud, G., Violle, C., Fréville, H., Luquet, D., Ahmadi, N., Courtois, B., … Fort, F. (2018). Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs. *Plant and Soil*, *424*(1), 187–202. doi: 10.1007/s11104-017-3496-2

Mueller, K. E., Tilman, D., Fornara, D. A., & Hobbie, S. E. (2013). Root depth distribution and the diversity–productivity relationship in a long-term grassland experiment. *Ecology*, *94*(4), 787–793. doi: 10.1890/12-1399.1

Petchey, O. L., & Gaston, K. J. (2006). Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology Letters*, *9*(6), 741–758. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00924.x

Polley, H. W., Wilsey, B. J., Derner, J. D., Johnson, H. B., & Sanabria, J. (2006). Early-successional plants regulate grassland productivity and species composition: a removal experiment. *Oikos*, *113*(2), 287–295. doi: 10.1111/j.2006.0030-1299.14267.x

Postma, J. A., & Lynch, J. P. (2012). Complementarity in root architecture for nutrient uptake in ancient maize/bean and maize/bean/squash polycultures. *Annals of Botany*, *110*(2), 521–534. doi: 10.1093/aob/mcs082

Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.-L., Ghesquiere, M., & Litrico, I. (2015). Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants*, *1*, 15033.

R Core Team. (2019). R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*. Retrieved from https://www.R-project.org/

Rao, C. R. (1982). Diversity and dissimilarity coefficients: a unified approach. *Theoretical Population Biology*, *21*(1), 24–43. doi: 10.1016/0040-5809(82)90004-1

Reiss, E. R., & Drinkwater, L. E. (2018). Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications*, *28*(1), 62–77. doi: 10.1002/eap.1629

Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., … Simpson, R. J. (2011). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, *349*(1), 121–156. doi: 10.1007/s11104-011-0950-4

Ricotta, C., & Moretti, M. (2011). CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. *Oecologia*, *167*(1), 181–188.

Rodríguez-Álvarez, M. X., Boer, M. P., van Eeuwijk, F. A., & Eilers, P. H. C. (2018). Correcting for spatial heterogeneity in plant breeding experiments with P-splines. *Spatial Statistics*, *23*, 52–71. doi: 10.1016/j.spasta.2017.10.003

Roscher, C., Schumacher, J., Gubsch, M., Lipowsky, A., Weigelt, A., Buchmann, N., … Schulze, E.-D. (2012). Using plant functional traits to explain diversity–productivity relationships. *PLOS ONE*, *7*(5), e36760. doi: 10.1371/journal.pone.0036760

Sammons, D. J., & Baenziger, P. S. (1985). Performance of four winter wheat cultivars in blended populations. *Field Crops Research*, *10*, 135–142. doi: 10.1016/0378-4290(85)90021-8

Schmid, B., & Niklaus, P. A. (2017). Biodiversity: complementary canopies. *Nature Ecology & Evolution*, *1*, 0104. doi: 10.1038/s41559-017-0104

Simmonds, N. W. (1995). The relation between yield and protein in cereal grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *67*(3), 309–315. doi: 10.1002/jsfa.2740670306

Smithson, J. B., & Lenné, J. M. (1996). Varietal mixtures: a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Annals of Applied Biology*, *128*(1), 127–158. doi: 10.1111/j.1744-7348.1996.tb07096.x

Tilman, D., Reich, P. B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T., & Lehman, C. (2001). Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, *294*(5543), 843–845. doi: 10.1126/science.1060391

Violle, C., & Jiang, L. (2009). Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology*, *2*(2), 87–93. doi: 10.1093/jpe/rtp007

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*(5), 882–892. doi: 10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x

Ward, J. H., Jr. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association, 58*(301), 236–244. doi: 10.1080/01621459.1963.10500845

Weigelt, A., & Jolliffe, P. (2003). Indices of plant competition. *Journal of Ecology, 91*(5), 707–720.

Westoby, M., Falster, D. S., Moles, A. T., Vesk, P. A., & Wright, I. J. (2002). Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics, 33*, 125–159.

Williams, L. J., Paquette, A., Cavender-Bares, J., Messier, C., & Reich, P. B. (2017). Spatial complementarity in tree crowns explains overyielding in species mixtures. *Nature Ecology & Evolution, 1*, 0063. doi: 10.1038/s41559-016-0063

Zhang, C., Postma, J. A., York, L. M., & Lynch, J. P. (2014). Root foraging elicits niche complementarity-dependent yield advantage in the ancient 'three sisters' (maize/bean/squash) polyculture. *Annals of Botany*, *114*(8), 1719–1733. doi: 10.1093/aob/mcu191

Zhu, J., Werf, W. van der, Anten, N. P. R., Vos, J., & Evers, J. B. (2015). The contribution of phenotypic plasticity to complementary light capture in plant mixtures. *New Phytologist*, *207*(4), 1213–1222. doi: 10.1111/nph.13416

***Table 1**: Phenotypic diversity characterized for 19 functional traits across 179 durum wheat genotypes grown in monoculture. Minimum, maximum, mean (standard deviation), and coefficient of variation are reported for each trait. Traits are ranked according to decreasing CV values.*

	trait	unit	min	max	mean (sd)	CV
Aboveground	Ear. bio.	$g.ind^{-1}$	0.28	2.23	0.88 (0.37)	0.42
	Till. nb.	nb $till.ind^{-1}$	1.67	7.50	3.49 (0.90)	0.26
	$Angle_{aer}$	°	11.50	28.50	16.56 (2.83)	0.17
	SLA	$m^2.kg^{-1}$	14.88	36.37	20.56 (3.21)	0.16
	Leaf N	%	2.85	4.78	3.76 (0.39)	0.10
	Height	cm	75.70	129.50	97.94 (9.13)	0.09
	Heading	GDD	1424.00	1696.30	1549.45 (47.10)	0.03
	Maturity	GDD	2219.80	2458.00	2281.75 (43.27)	0.02
Belowground	RLD_{sem}	$cm.cm^{-3}$	0.07	0.65	0.22 (0.11)	0.48
	RLD_{adv}	$cm.cm^{-3}$	0.04	0.47	0.17 (0.08)	0.46
	SRL_{sem}	$m.g^{-1}$	48.50	188.75	103.48 (24.30)	0.23
	SRL_{adv}	$m.g^{-1}$	24.02	65.50	43.74 (8.28)	0.19
	$Angle_{root}$	°	66.33	158.33	112.42 (18.59)	0.17
	RTD_{sem}	$g.cm^{-3}$	0.11	0.20	0.15 (0.02)	0.12
	RTD_{adv}	$g.cm^{-3}$	0.05	0.09	0.07 (0.01)	0.12
	RBI_{sem}	$tips.cm^{-1}$	0.94	1.67	1.27 (0.14)	0.11
	$Diam_{adv}$	mm	0.40	0.74	0.52 (0.06)	0.11
	RBI_{adv}	$tips.cm^{-1}$	1.00	1.61	1.27 (0.13)	0.10
	$Diam_{sem}$	mm	0.21	0.36	0.27 (0.02)	0.09

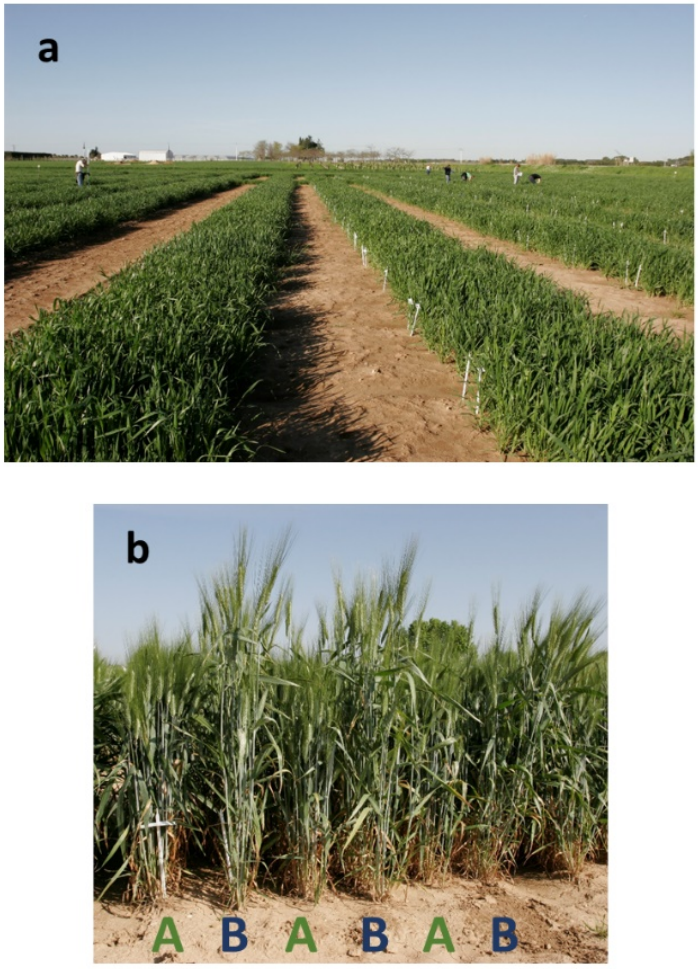


Figure 1: *(a) Experimental field. (b) Mixture plot with two genotypes ("A" and "B") sown in alternate rows.*

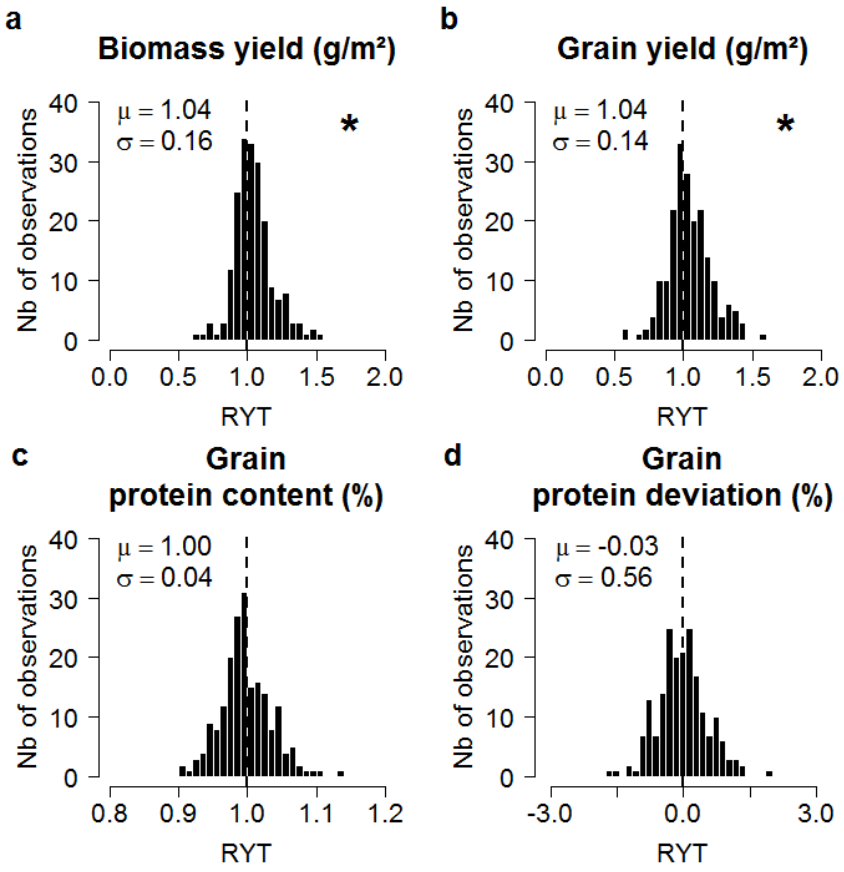


Figure 2: *Mixing effect distributions on biomass yield (a), grain yield (b), grain protein content (c), and grain protein deviation (d). Mixing effects were quantified with the RYT index (cf Material and Methods). Means (μ) and standard deviations (σ) are reported. A star symbol indicates a mean RYT significantly different from the reference value at $P < 0.05$, the reference value being 1 for biomass yield, grain yield, and grain protein content, and 0 for grain protein deviation.*

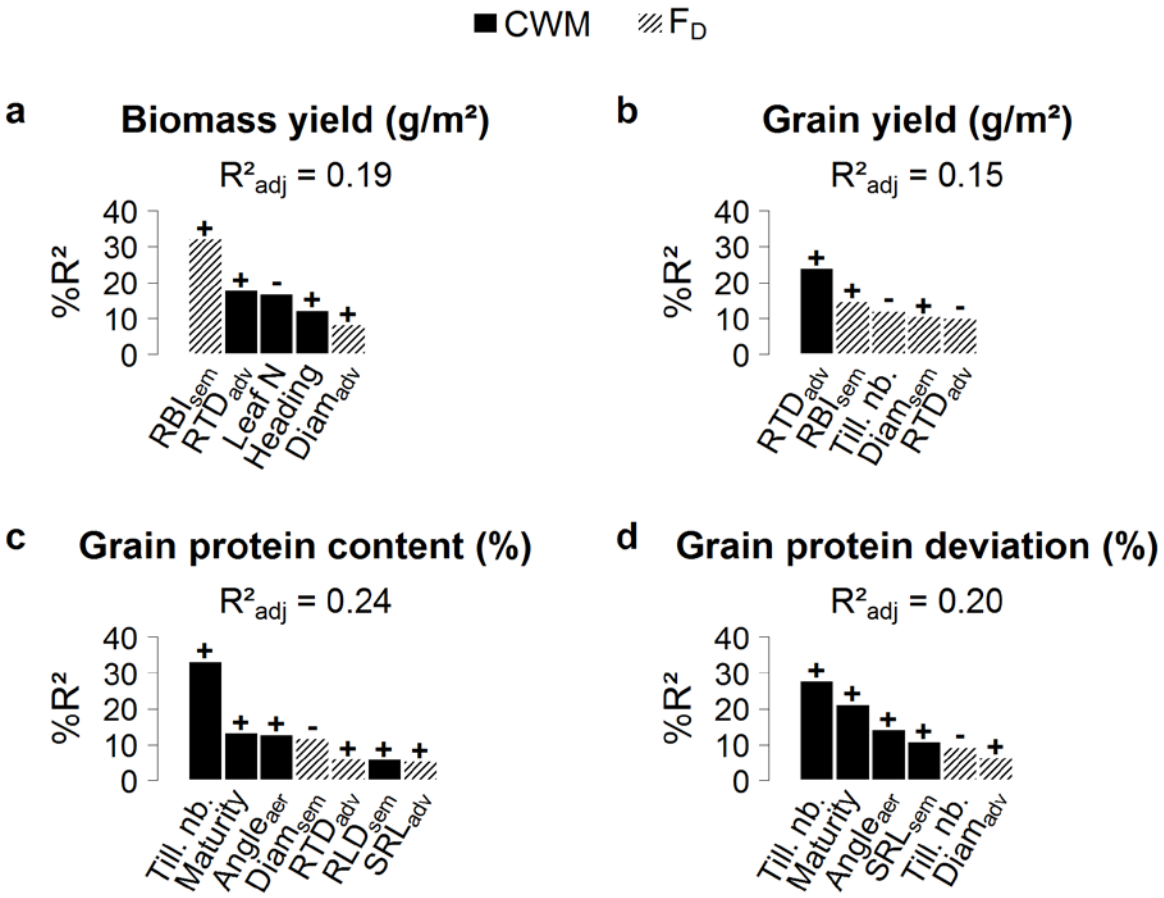


Figure 3: *Percentage of explained variance in a multiple regression model for RYTs calculated on biomass yield (a), grain yield (b), grain protein content (c), and grain protein deviation (d), using trait values measured in monocultures as explicative variables. A stepwise AIC procedure was applied from the full model with CWM (filled bars) and FD (hatched bars) used as explicative variables. Only variables with a significant effect (P < 0.05) in the best model are reported. The percentages of explained variance were computed as the ratio between the sum of squares of the variable and the total sum of squares for all retained variables in the best model. The sign of the estimated regression coefficient is reported above each bar. Adjusted R² from the best model is also reported.*

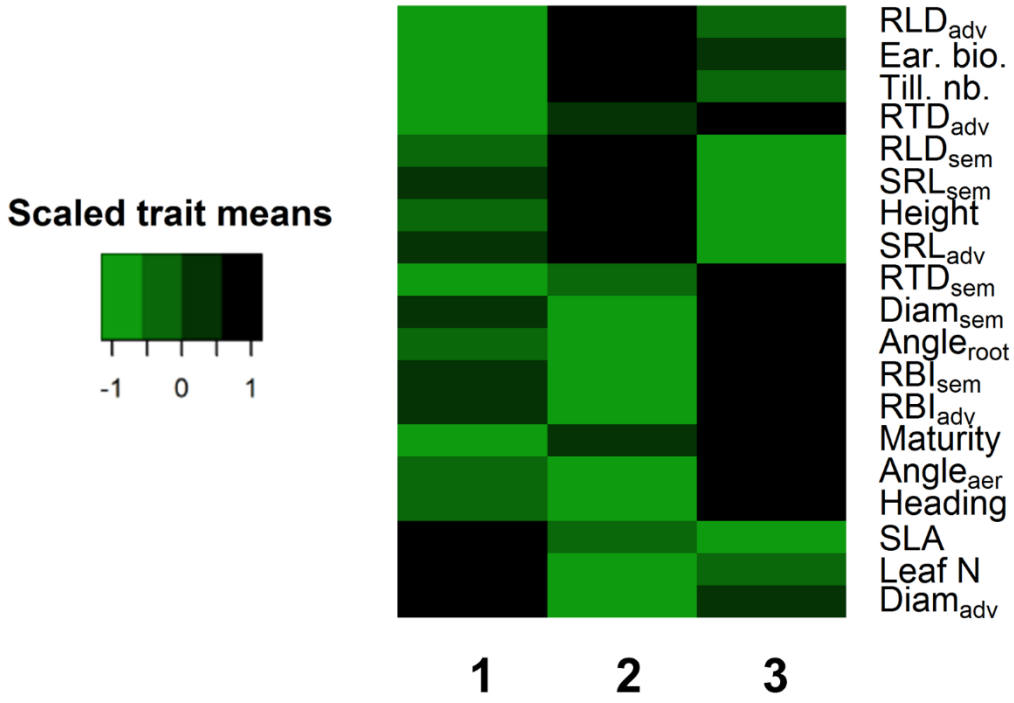


Figure 4: *Characterization of the three functional groups based on their trait mean measured in monoculture. Variables were scaled and clustered so that traits with similar variation on their mean over the three groups are clustered together. Values increase from green (lower values) to black (higher values).*

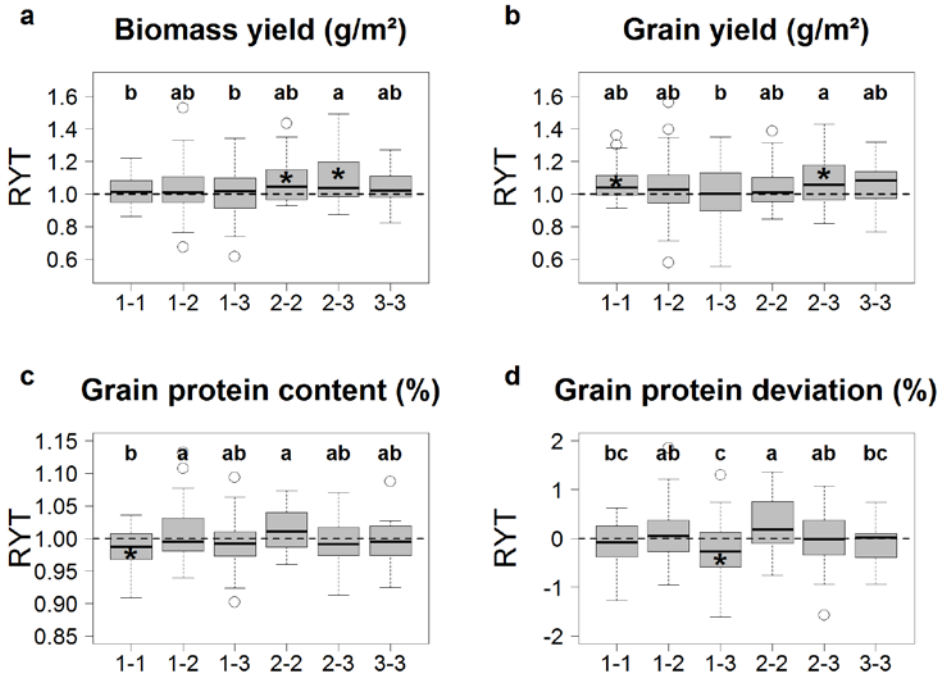


***Figure 5**: Comparison of mixtures' RYTs between different functional associations for biomass yield (a), grain yield (b), grain protein content (c), and grain protein deviation (d). Boxplots with different letters are significantly different at $P < 0.05$ (Fisher-LSD test). Stars within boxplots indicate that the mean RYT value is significantly different from 1 (0 for grain protein deviation) at $P < 0.05$ (t-test).*

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: towards ecological assembly rules for varietal mixtures

1. Supplementary Methods

A. Plant material

We used 180 inbred lines from the EPO durum wheat population developed at INRA Montpellier, France (David et al., 2014). EPO was obtained from a composite cross population in which a male sterility recessive nuclear gene was segregating. In 1997, genetic diversity from wild and primitive Triticum turgidum subspecies was introduced in that population. Over 12 years, seeds have been collected on both outcrossed sterile plants (20%) and self-fertilized hermaphrodite plants (80%), and then bulked to constitute the next generation. In 2009, 500 spikes were extracted and underwent five generations of selfing to obtain inbred lines. Based on genotypic data, 180 inbred lines were chosen to constitute a core collection that encompassed most of the genetic variability present in the original 500 lines. Overall, EPO was selected to capture a high proportion of the phenotypic variability of the Triticum turgidum subspecies. While remaining large compared to elite genotypes, this variability was reduced for a few traits such as plant height and heading date to stay within an acceptable range of values for cultivation conditions. Such an evolutionary history resulted in a set of fixed lines that are well-adapted to cultivation and harbor a broad phenotypic diversity, making this material highly relevant to test ecological approaches in varietal mixtures.

B. Plant growth conditions

Plots were sown on November 21, 2017 and harvested between June 25 and 27, 2018. Soil was stony loam with about 1% organic matter and a pH of 8.7. Sowing density was about 250 seeds m^{-2}. Nitrogen fertilization was applied on February 22, 2018 and April 23, 2018 with 109 $kg.ha^{-1}$ and 87 $kg.ha^{-1}$ of Nexen® (46 % urea nitrogen). Broad leaf herbicides and graminicides were applied on March 23, 2018 with Pointer®UltraSX® (30 $g.ha^{-1}$) and Auzon®Duo (1 $L.ha^{-1}$). Two fungicide treatments were applied on April 20, 2018 and May 18, 2018 with Priori®Xtra (1 $L.ha^{-1}$). Insecticides were applied on May 18, 2018 with Karate®Xflow (0.063 $L.ha^{-1}$). The mean temperature over the growing season was 13.6 °C with a minimum temperature of -6 °C and a maximum temperature of 31.5°C. The cumulated precipitation between November 2017 and June 2018 was 633 mm (see Supplementary Table 1 for monthly meteorological data).

C. Plant trait and yield measurements

We characterized each of the 180 genotypes in monoculture plots. Root traits (except root angle), early biomass per capita (Ear. bio.), tiller number per capita (Till. nb.), specific leaf area (SLA), and leaf nitrogen content (Leaf N) were measured at the end of the tillering stage. We sampled two soil cores (10 cm diameter and 15 cm depth) randomly in each monoculture plots avoiding external rows (1 and 6). We then counted the number of individual plants within each core before cutting aboveground biomass and washing roots to remove soil particles. For each aboveground sample, we randomly collected four foliar discs using a punch tool of 6 mm diameter. All discs and the remaining biomass were then dried separately at 60°C for 48h before

being weighed to determine SLA (ratio between leaf area and leaf dry mass) and early biomass per capita (Ear. bio.). We also counted the number of tillers per capita (Till. nb.), and we estimated Leaf N by measuring spectral reflectance on the four foliar discs with a LabSpec® 4 equipped with bifurcated probe. Spectra were converted into Leaf N values using the calibration detailed in Ecarnot, Compan, & Roumet (2013), The calibration (referred as Calib2013) of the Labspec4© spectrometer detailed in (Ecarnot et al., 2013) was developed from spectra acquired with the "Contact Probe" accessory. This probe receives light in a 20 mm diameter surface. Since foliar discs of this study had 6 mm diameters, the "bifurcated probe" accessory was used. Its acquisition surface was 3 mm. In order to use Calib2013, a bias-slope standardization was done (Bouveresse & Massart, 1996). The nitrogen concentration of the all the foliar discs was first estimated from Calib2013 (LeafNC2013). 30 foliar discs were then selected so that their LeafNC2013 values were characterized by a uniform distribution and no genotype appears twice. These 30 discs were grounded with a ball mill (Resch MM 2000 Vibrogrinder) and then sent to laboratory for reference analysis (wet chemistry). Reference nitrogen concentrations (Leaf Nref) were obtained with a TOC-VCSH + TNM-1 Shimadzu® analyzer (UMR Eco& Sol, Montpellier). This protocol is the same as Calib2013. LeafNC2013 of the 30 selected discs were linearly fitted to LeafNref values (see Fig. S1). The best fit relationship was: LeafNref = LeafNC2013 x 1.0082 -0.8382. Coefficient of determination was 0.934. This linear model was then applied to the whole set of foliar discs, to change LeafNC2013 into an estimation of LeafNref (called Leaf N in the rest of the article).

After sampling, roots were washed and stored in water at -18°C before treatment. After defrosting, we stained root samples with methyl violet. We then separated the seminal and the adventitious root systems that we scanned at 800 dpi. Using WinRHIZO pro (Version 2009; Regent Instrument, Quebec, Canada), we estimated the number of root tips, the root length distribution among diameter classes, and the total root length, surface, and volume. Roots were then dried for 48h at 60°C and weighed. Mean root diameters ($Diam_{sem}$ and $Diam_{adv}$) were computed as the mean of the median root diameters of each diameter class weighted by the root length in each class, Specific Root Lengths (SRL_{sem} and SRL_{adv}) were computed as the ratio between total root length and root dry mass, Root Tissue Densities (RTD_{sem} and RTD_{adv}) as the ratio between root dry mass and root volume, Root Length Densities (RLD_{sem} and RLD_{adv}) as the ratio between root length and soil volume, and Root Branching Intensities (RBI_{sem} and RBI_{adv}) as the ratio between the number of root tips and the total root length.

We assessed Heading date (Heading) and maturity date (Maturity) visually for each plot by recording the date at which spikes were visible for 50% of the plants and the date at which 50% of the peduncles were ripe, respectively. We converted these dates in growing degree days (GDD) by summing the daily average temperatures since sowing using a 0°C base temperature. Using a digital angle ruler positioned at the crown level, we measured aerial angle ($Angle_{aer}$) between the two most distant tillers, with two measurements per plot at heading time. We measured root angle ($Angle_{root}$) at maturity: for each genotype, we extracted three plants from the soil and we measured the angle between the two most distant roots. Plant height was measured at maturity with three measurements per plot.

We measured agronomic performance in monoculture and in mixture plots. At harvest, we collected aboveground biomass on the four central rows of each plot on 70 cm length, leaving 40 cm on each side to avoid edge effects. For each monoculture plot, we collected two samples by pooling rows 2 and 3, and rows 4 and 5. In mixture plots, we collected two samples per genotype by separating rows 2 and 4 for the first component genotype, and rows 3 and 5 for the second component genotype. Samples were then stored in a drier for 48h. Spikes were cut and trashed and both grains and vegetative biomass (stems and leaves) were weighed to estimate grain and biomass yield. We estimated grain protein content using spectroscopic method with a Perkin Elmer New frontier FT-NIR spectrometer. This spectrometer works in diffuse reflectance, in the 1000-2500 nm wavelength range (spectral sampling = 1 nm). One sample represents around 100g (approx. 2000 grains). Since 2003, 1798 durum wheat grain samples were scanned with this spectrometer, which means 2 refilled spectra. Each sample was then analyzed for its protein content with Kjeldhal method. This spectral/protein data set is characterized by a wide range of genotypes and growing conditions, which means that it is representative of any durum wheat genotype and environment. Spectra were first normalized with Standard Normal Variate (Barnes, Dhanoa, & Lister, 1989), and derived with Savitzky-Golay filter (derivative order:1, polynomial degree :2, Window :5). A Partial Least Squares (PLS) regression with k-fold cross-validation was carried out giving the following results: standard error of cross-validation=0.321 %, coefficient of determination (cross-validation) = 0.960. Each sample of this study was measured in the same conditions, and then pre-treatements and calibration were applied to estimate their protein content. Grain protein deviation was computed by first fitting a linear regression model between grain protein content and grain yield using all data points for which we had a value for both variables (monoculture data and individualized mixture data). Observed GPD (GPD_{obs}) was computed as the difference between the grain protein content observed in the mixture (Eq. [5] numerator in the main text) and the grain protein content predicted from the regression equation and the mean grain yield of the two mixture components. Expected GPD (GPD_{exp}) was computed as the difference between the grain protein content predicted from monoculture (Eq. [5] denominator in the main text) and the grain protein content predicted from the regression equation and the mean grain yield of the components in monoculture.

2. References

Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., & Lister, S. J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, *43*(5), 772–777. doi: 10.1366/0003702894202201

Bouveresse, E., & Massart, D. L. (1996). Standardisation of near-infrared spectrometric instruments: A review. *Vibrational Spectroscopy*, *11*(1), 3–15. doi: 10.1016/0924-2031(95)00055-0

Ecarnot, M., Compan, F., & Roumet, P. (2013). Assessing leaf nitrogen content and leaf mass per unit area of wheat in the field throughout plant cycle with a portable spectrometer. *Field Crops Research*, *140*, 44–50. doi: 10.1016/j.fcr.2012.10.013

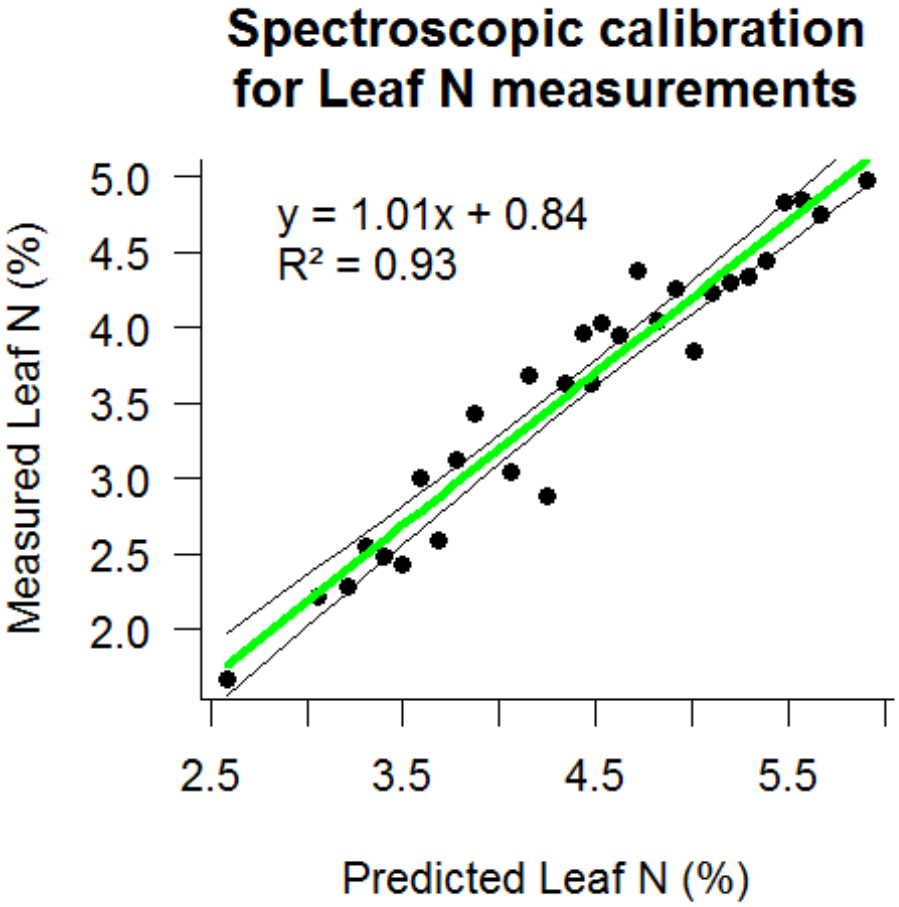
3. Supplementary Figures and Tables

Supplementary Table 1: *Monthly meteorological data measured at Mauguio (FRANCE, 43°36' N, 3°59' E): solar radiation (Rad.), maximum temperature (Tmax), minimum temperature (Tmin), mean temperature (Tmean), and precipitations (Prec). Data were extracted from the INRA CLIMATIK data base (https://intranet.inra.fr/climatik_v2).*

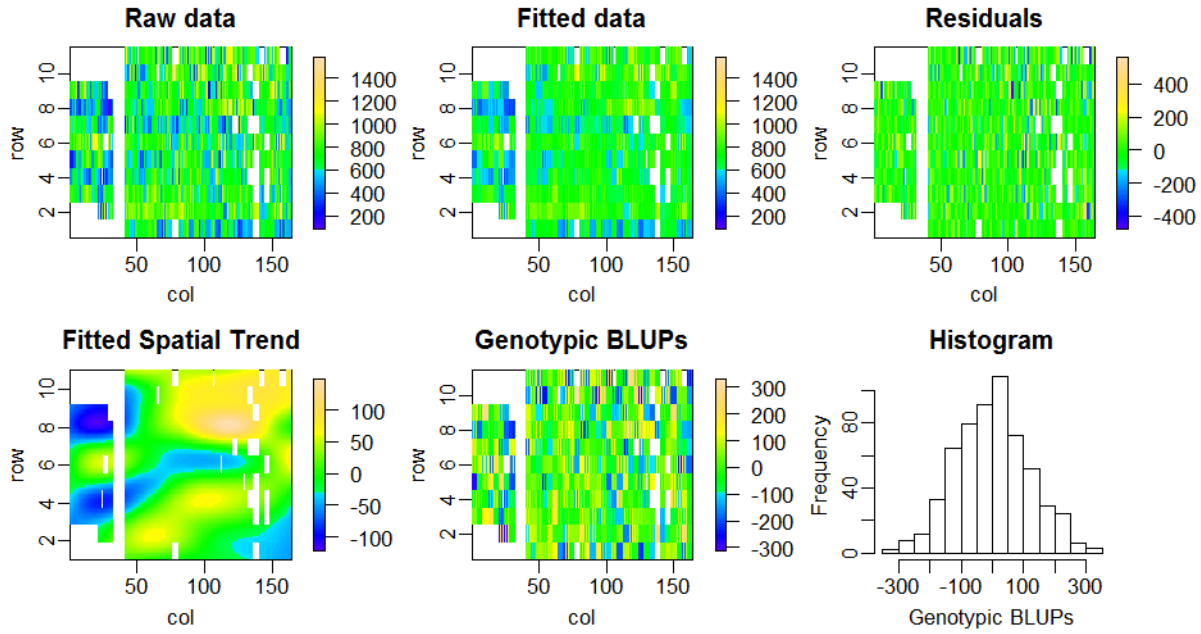
	Nov.	**Dec.**	**Jan.**	**Feb.**	**Mar.**	**Apr.**	**May**	**Jun.**
Rad (dJ.cm^{-2})	2409	1681	1735	2617	4096	5056	6348	7783
Tmax (°C)	15.7	12.2	14.5	10	15.2	19.7	22.8	27.5
Tmin (°C)	5.7	1.3	7.1	1.3	6.4	9.5	12.9	15.9
Tmean (°C)	10.3	6.3	10.8	5.2	10.6	14.7	17.5	21.9
Prec (mm)	30	12	202	86.5	103	82.5	65.5	51.5

***Supplementary Table 2**: Functional trait means (standard deviations) per functional group for 19 traits including 8 aerial traits and 11 root traits. Means with different letters are significantly different at P < 0.05 (Fisher-LSD test).*

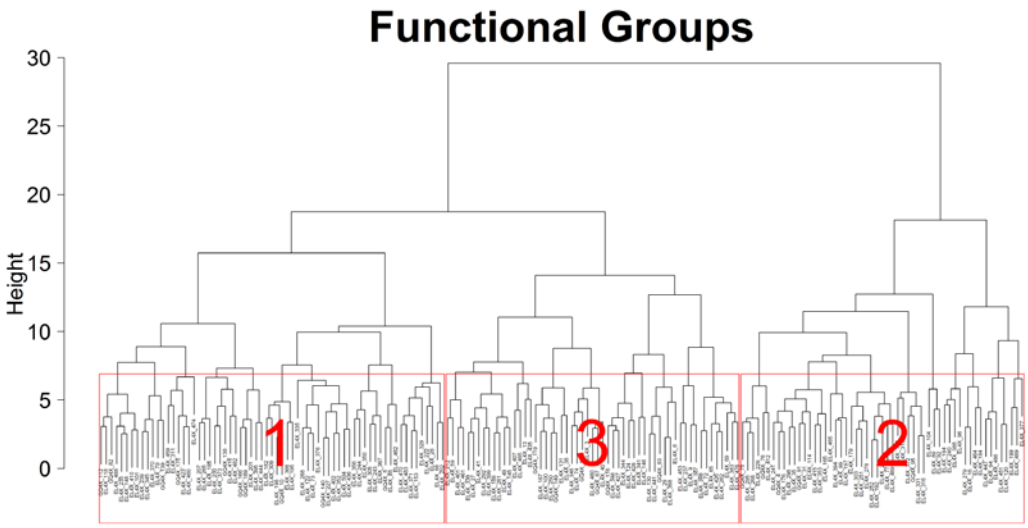
		1	**2**	**3**
Aboveground	$Angle_{aer}$	16.50 (2.89)^{a}	16.32 (3.24)^{a}	16.87 (2.32)^{a}
	Till. nb.	3.10 (0.58)^{b}	4.07 (1.13)^{a}	3.37 (0.65)^{b}
	Ear. bio.	0.65 (0.20)^{c}	1.13 (0.41)^{a}	0.91 (0.30)^{b}
	SLA	21.15 (3.40)^{a}	20.26 (2.72)^{a}	20.18 (3.36)^{a}
	Leaf N	3.93 (0.39)^{a}	3.57 (0.34)^{c}	3.74 (0.33)^{b}
	Height	97.52 (10.64)^{ab}	100.54 (8.72)^{a}	95.91 (6.86)^{b}
	Heading	1549.23 (43.26)^{a}	1548.25 (50.94)^{a}	1550.87 (48.37)^{a}
	Maturity	2277.62 (37.35)^{a}	2282.97 (47.28)^{a}	2285.41 (46.00)^{a}
Belowground	$Angle_{root}$	111.69 (18.41)^{b}	106.28 (18.64)^{b}	119.19 (16.71)^{a}
	$Diam_{sem}$	0.27 (0.02)^{b}	0.25 (0.02)^{c}	0.28 (0.02)^{a}
	SRL_{sem}	104.00 (17.12)^{b}	123.12 (23.71)^{a}	83.94 (14.87)^{c}
	RTD_{sem}	0.14 (0.02)^{b}	0.14 (0.02)^{b}	0.16 (0.01)^{a}
	RBI_{sem}	1.28 (0.12)^{b}	1.19 (0.13)^{c}	1.34 (0.14)^{a}
	RLD_{sem}	0.20 (0.08)^{b}	0.31 (0.12)^{a}	0.17 (0.08)^{c}
	$Diam_{adv}$	0.55 (0.05)^{a}	0.48 (0.05)^{b}	0.53 (0.05)^{a}
	SRL_{adv}	44.18 (7.88)^{b}	47.72 (8.61)^{a}	39.38 (6.15)^{c}
	RTD_{adv}	0.06 (0.01)^{b}	0.07 (0.01)^{a}	0.07 (0.01)^{a}
	RBI_{adv}	1.29 (0.12)^{a}	1.20 (0.13)^{b}	1.31 (0.13)^{a}
	RLD_{adv}	0.12 (0.04)^{c}	0.24 (0.08)^{a}	0.17 (0.07)^{b}



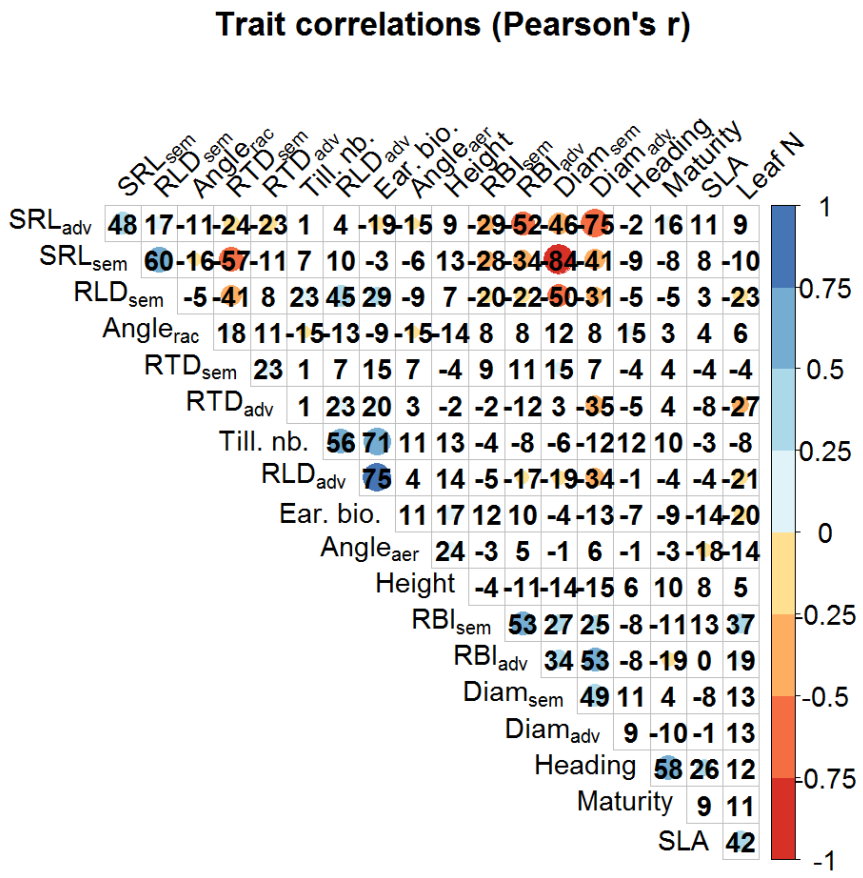
Supplementary Figure 1: *Relationship between predicted and observed leaf nitrogen content (Leaf N). Predicted values were obtained from spectroscopic reflectance measurements (LabSpec® 4 and bifurcated probe) and its reference calibration equation. Measured values were obtained from the laboratory where discs were grounded and analyzed with a TOC-VCSH + TNM-1 Shimadzu® analyzer. Lines represent predictions from the linear model equation (green line) and 95% confidence interval (black lines).*



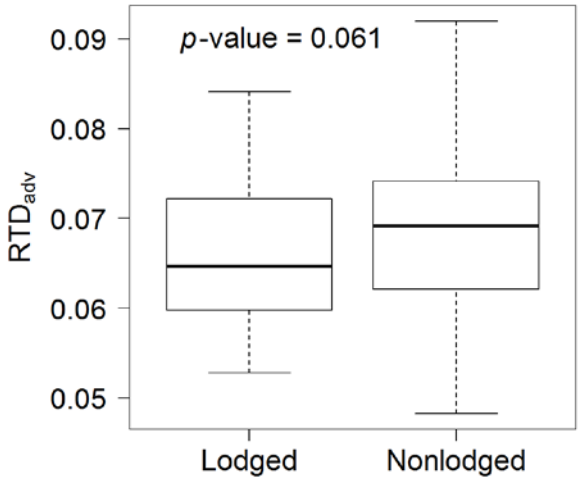
Supplementary Figure 2: *Representation of the field spatial effect modeled by SpATS for grain yield. Each plot is represented by its 2-D coordinates (row and column) (A) raw grain yield data, (B) grain yield data fitted with the model, (C) residuals from the model, (D) smooth bivariate surface estimated by the model, (E) genotypic BLUPs extracted from the model, (F) Distribution of the genotypic BLUPs.*



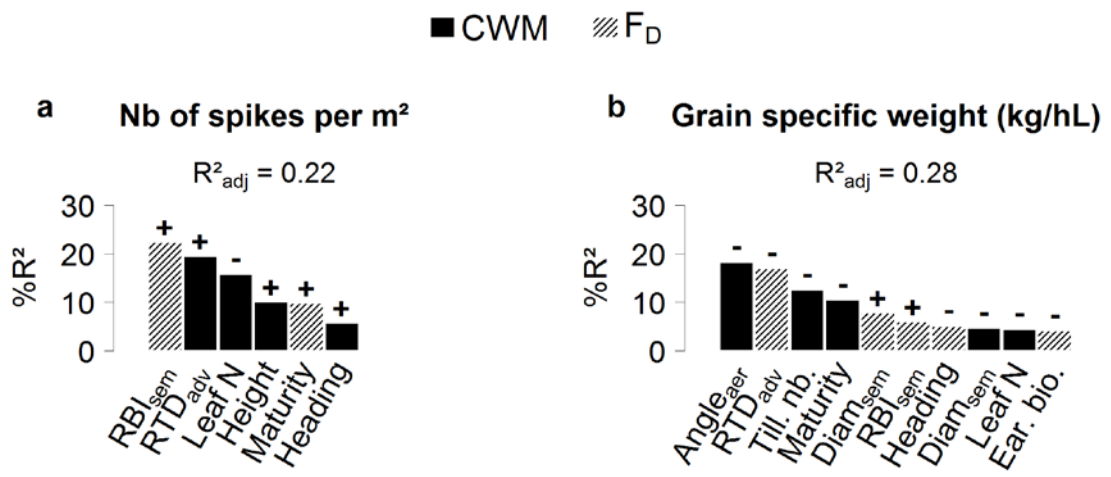
Supplementary Figure 3: *Dendrogram representing the Ascending Hierarchical Classification (AHC) of the 179 genotypes based on 19 functional traits. The three selected grouped are framed in red.*



Supplementary Figure 4: *Pairwise correlations between functional traits. Correlations were computed with Pearson coefficient (r). Colored circles represent the strength of the significance, with blue circles representing positive correlations, red circles representing negative correlations, and the absence of circle meaning that the correlation is not significant.*



Supplementary Figure 5: *Effect of adventitious root tissue density (RTD_{adv}) on wheat lodging. We scored lodging in monoculture plots on May 22th after a strong wind event. Lodging occurred through reduced root-soil connection (root lodging), not through stem failure (stem lodging).*



Supplementary Figure 6: *Percentage of explained variance in a multiple regression model for RYTs calculated on the number of spikes per square meter (a) and grain specific weight (b). A stepwise AIC procedure was applied from the full model with CWM (filled bars) and FD (hatched bars) used as explicative variables. Only variables with a significant effect (P < 0.05) in the best model are reported. The percentages of explained variance were computed as the ratio between the sum of squares of the variable and the total sum of squares for all retained variables in the best model. The sign of the estimated regression coefficient is reported above each bar. Adjusted R^2 from the best model is also reported.*

CHAPITRE 3

The dark side of diversity: allelic difference at a single locus decreases grain yield and increases disease severity in wheat varietal mixtures

Article en préparation

Montazeaud Germain, Timothée Flutre, Elsa Ballini, Jean-Benoit Morel, Jacques David, Johanna Girodolle, Aline Rocher, Aurélie Ducasse, Cyrille Violle, Florian Fort, and Hélène Fréville. “The dark side of diversity: allelic difference at a single locus decreases grain yield and increases disease severity in wheat varietal mixtures”. In prep.

1. Présentation générale

L'expérience présentée dans le chapitre précèdent a révélé la complexité des relations liant la composition fonctionnelle des mélanges et leur performance agronomique. Nous avons montré qu'une multitude de traits fonctionnels, à la fois aériens et racinaires, expliquaient de façon conjointe et à travers différents effets les multiples facettes de la performance agronomique. Dans cette expérience, nous n'avons pas mis en évidence de relations significatives entre la productivité relative de chacune des composantes dans les mélanges (RY) et leurs valeurs de trait relatives par rapport à l'autre composante, comme ce fut le cas dans le premier chapitre. Nous n'avons donc pas détecté de traits impliqués dans des effets de sélection. Alors que les effets liés à la diversité fonctionnelle ont été interprétés comme des effets de complémentarité de niche, les effets liés à l'identité fonctionnelle ont plutôt été interprétés comme des adaptations à l'environnement abiotique, et ici plus particulièrement au vent.

L'approche fonctionnelle nous permet de caractériser les stratégies écologiques des génotypes à travers leurs valeurs de traits, et de comprendre comment ces stratégies affectent la performance des mélanges. Cependant, il est impossible de connaître et de mesurer tous les traits potentiellement impliqués dans les interactions entre les génotypes. Dans ce troisième chapitre, nous utilisons une approche génétique afin d'explorer de façon plus large les mécanismes affectant la performance des mélanges. Nous testons ici les effets prédits par les théories écologiques (complémentarité et sélection) et par les théories de la biologie évolutive (effet barbe verte) à l'échelle allélique. Pour ce faire, nous utilisons des données issues de l'expérience au champ présentée dans le chapitre précédent, que nous combinons avec une caractérisation génotypique fine des 180 génotypes de blé dur nous donnant accès à environ 28 000 sites polymorphes répartis le long du génome.

Dans un premier temps, nous testons locus par locus l'effet de la diversité allélique sur la performance des mélanges, ici mesurée avec le rendement en grain. Nous cherchons ainsi les locus auxquels la diversité allélique a un effet significatif, positif ou négatif, sur le rendement. Nous testons ensuite si les effets de la diversité allélique détectés sur les rendements sont associés à la résistance à *Zymoseptoria tritici*, le champignon responsable de la septoriose qui est une des principales maladies fongiques du blé en Europe (Fones & Gurr, 2015). En effet, la capacité des mélanges variétaux à mieux résister aux maladies grâce à la diversité des gènes ou des allèles de résistance présents dans les différentes variétés est un des effets les mieux décrits dans la littérature (Wolfe, 1985 ; Finckh & Mundt, 1992 ; Finckh, 2000 ; Zhu, 2000). Enfin, afin de mieux comprendre les mécanismes à l'origine des effets alléliques détectés à l'échelle des mélanges, nous testons comment les allèles portés par chacun des génotypes dans les mélanges affectent la productivité et la résistance de leur porteur ainsi que la productivité et la résistance du génotype voisin.

2. Abstract

Deciphering the mechanisms that drive the relationship between biodiversity and crop productivity represents a key challenge for improving agricultural sustainability. Here, we identified a major effect locus at which allelic differences between genotypes resulted in a decreased grain yield and an increased severity of septoria tritici blotch in wheat varietal mixtures. This result illustrates the challenge of introducing greater diversity into cropping systems, and calls for integrating genomic-scale approaches in diversity-oriented breeding programs.

3. Introduction

Increasing biodiversity in cultivated systems is considered a potential lever to improve agricultural sustainability[1,2]. This idea finds support in the ecological literature, where theoretical and experimental studies have long shown positive effects of biodiversity on ecosystem functioning[3,4]. Accordingly, more diverse agrosystems could provide a bunch of services such as increased productivity, higher yield stability, or improved pathogen control[5,6]. Growing mixtures of varieties instead of mono-genotypic crop stands can be an easy way to promote positive diversity effects at the intra-specific level[7]. Yet, results on varietal mixtures are so far contrasted: whereas strong positive diversity effects have been reported on pathogen control, the overall diversity effect on productivity is highly variable [8–10].

From a theoretical perspective, the link between biodiversity and productivity is not straightforward. Whereas most ecological theories predict higher productivity in genetically diverse crop stands[5,11], some evolutionary biology theories rather predict that communities with higher level of genetic relatedness among interacting plants will outcompete genetically heterogeneous communities[12,13]. The rationale for such opposite predictions can be illustrated with the example of plant-pathogen interactions. Mixing genotypes has been shown to increase crop yield through improved pathogen regulation[14]. Among other effects, genetic diversity can lead to a dilution effect where a given pathogen strain is less likely to encounter its susceptible host due to the lower density of susceptible plants in the mixture[15]. On the other hand, kin recognition has also been shown to improve plant defence in some plant species such as *Artemisia tridentate*[16]. In this case, plants exposed to airborne signals emitted by related individuals showed an increased resistance to herbivory compared to plants that received cues from unrelated individuals. Altogether, these results call for a better understanding of biodiversity effects on productivity to promote positive effects in agriculture.

The development of modern genomic tools giving access to allelic variations along the genome at a moderate cost[17] has opened promising opportunities to identify the genetic basis of biodiversity effects [18]. Moreover, most ecological and evolutionary theories that link biodiversity effects to mechanisms can be formulated at the allelic level. A proof of concept has recently been published by Wuest and Niklaus (2018) who identified a single genomic region of 310 kilobases explaining a positive biodiversity effect on biomass production in pairwise genotype mixtures of *Arabidopsis thaliana*[19]. Although very promising in the context of varietal mixtures, this approach has not been developed in crops.

Here, we investigate genomic-scale biodiversity effects on grain yield of genotype mixtures of durum wheat. We used 180 highly genetically divergent inbred lines derived from a pre-breeding population[20], and grew 220 two-way mixtures in field conditions. We then used 28K Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) distributed along the durum wheat genome to investigate the effect of allelic diversity on grain yield. We compared the productivity of mono-allelic vs. bi-allelic mixtures for each locus. Since genotypes are fully homozygous and SNPs are bi-allelic polymorphisms, we compared grain yield among three allelic combinations at each locus: “A-A”, “A-B”, and “B-B”, “A” and “B” being the two SNP alleles. Bi-allelic mixtures (A-B) producing more than mono-allelic mixtures (A-A and B-B) was interpreted as a positive diversity effect, and the reverse situation as a negative diversity effect. We then tested whether allelic diversity effects on yield could be explained by variations in disease susceptibility to *Zymoseptoria tritici*, a fungal agent responsible of Septoria Tritici Blotch (STB) disease. STB is one of the most devastating foliar disease in wheat, especially in temperate countries where it can cause up to 50% yield losses during severe outbreaks[21]. To decipher the mechanisms underlying the allelic diversity effects detected at the mixture level, we then examined how these alleles affected the productivity and disease sensitivity of each component within the mixtures.

4. Methods

A. Plant material & experimental design

We used 180 inbred lines from the EPO population developed at INRA Montpellier, France[20]. These lines show high genetic variability[20], and high phenotypic variability for both above- and belowground traits (unpublished data). We randomly constituted 220 two-way mixtures from the 180 lines, independently of their phenotypic and genetic characteristics in order to explore a wide range of allelic combinations. We only excluded mixtures of genotypes having more than three weeks’ difference in heading date, assuming that larger phenological lag would not be acceptable in real cultivation conditions. We restricted our design to two-component mixtures to better dissect the mechanisms underlying plant-plant interactions and their consequences on mixture productivity The 220 mixtures and the 180 monocultures were grown in 6- row experimental plots in the field at Mauguio, southern France (INRA - UE DIASCOPE - 43°36’ N, 3°59’ E, 12 m above the sea level). Plots were 1.5 m long and 1 m wide (inter-row distance of 20 cm). In mixtures, one genotype was grown on rows 1, 3 and 5, and the other one on rows 2, 4, and 6. The final dataset included 202 mixture plots after removing plots with incomplete data due to sowing or sampling problems.

B. Genotyping data

The 180 inbred lines were genotyped with the TaBW280K high-throughput genotyping array[32] which provided 280K Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). Non-polymorphic SNPs and SNPs for which the least frequent allelic combination represented less than 5% of the 202 mixture plots were discarded. We ended up with 28K usable SNPs. SNPs positions on

durum wheat genome as well as functional annotations were retrieved from the durum wheat reference genome[33].

C. Symptom measurements

We measured the impact of Septoria Tritici Blotch (STB) in a subset of 60 mixture plots at the jointing stage (March 29, 2018), *i.e.* before any fungicide application. Biotic damages and resource limitations were further prevented by applying pesticides and fertilizers (Supplementary Information). For each genotype in the mixtures, we quantified disease symptoms by scoring two categorical variables. The first variable quantifies the size of the leaf symptoms and the number of pycnidia, and the second variable quantifies the horizontal and vertical spread of the damages at the plot level. Both variables ranged from 0 to 3, 0 representing no symptom and 3 being the highest infection level. We computed disease severity by multiplying these two variables.

D. Productivity measurements

Productivity was quantified by measuring spike density, grain yield, and Thousand Kernel Weight (TKW) for each monocultures and for each genotype within the mixtures. At harvest, we collected aboveground biomass on the four central rows of each plot on 70 cm length, leaving 40 cm on each side to avoid edge effects. For each monoculture plot, we collected two samples by pooling rows 2 and 3, and rows 4 and 5. In mixture plots, we collected two samples per genotype by separating rows 2 and 4 for the first component genotype, and rows 3 and 5 for the second component genotype.

. Samples were then stored in a drier for 48h. Spikes were clipped out and counted to determine spike number.m^{-2}. They were then trashed and grains were weighed to determine grain yield. A subset of 250 grains were counted and weighed to determine TKW.

E. Statistical analysis

All statistical analysis were performed with R v. 3.5.3[34].

Spatial corrections

We corrected the three productivity variables for spatial autocorrelation with the P-splines method (*SpATS* package)[35]. To this end, for each variable, we fitted a mixed model with genotype identity, row identity, and column identity as random effects and a smooth bivariate surface function (Supplementary Fig. 3). We used the Best Linear Unbiased Predictors (BLUPs) obtained from this model as response variables for all subsequent analysis.

Detection of biodiversity effects at the mixture level

We first analysed biodiversity effects on productivity variables, using a similar approach as those described in Wuest and Niklaus (2018)[19], but with a slightly different formalism to account for our specific experimental design. For each SNP, we used the following linear mixed model:

[1] $$\boldsymbol{y} = \mathbf{1}\mu + \boldsymbol{x_l}\beta_l + \boldsymbol{m} + \boldsymbol{\varepsilon}$$

Where $\boldsymbol{y}$ denotes the vector of 202 observations of productivity, μ the mean productivity across all mixtures, $\boldsymbol{x_l}$ the 202 x 1 vector of allelic diversity at locus *l* encoded as 0 for mixtures in which the two genotypes share the same allele and 1 for mixtures in which the two genotypes have a different allele, β_l the effect of allelic diversity at locus *l*, $\boldsymbol{m}$ the 202 x 1 vector of mixture identity, which account for the polygenic effect of all loci other than those tested, and $\boldsymbol{\varepsilon}$ the 202 x 1 vector of error terms which are assumed to be independent and identically distributed: $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N(0, \sigma_r^2 I)$. Random effects of mixture identity were assumed to be normally distributed with mean zero and variance σ_m^2, and to be structured with a 202 x 202 matrix K_m, such that $\boldsymbol{m} \sim N(0, \sigma_m^2 K_m)$. Indeed, as EPO lines are genetically related, mixtures are not independent. K_m measures the pairwise genetic similarity between mixtures, and was computed as the probability to draw the same allele when sampling randomly an allele in each of the two mixtures, averaged over all loci:

[2] $$K_{m_{ij}} = 1 - \frac{1}{4L}\sum_{l=1}^{L}(x_{i1l} + x_{i2l} + x_{j1l} + x_{j2l}) + \frac{1}{8L}\sum_{l=1}^{L}(x_{i1l}x_{j1l} + x_{i1l}x_{j2l} + x_{i2l}x_{j1l} + x_{i2l}x_{j2l})$$

x_{i1l} and x_{i2l} being the SNP genotypes of respectively, line 1 and line 2 at locus *l* in the mixture *i*; x_{j1l} and x_{j2l} the SNP genotypes of respectively, line 1 and line 2 at locus *l* in the mixture *j; L* the total number of SNPs. SNP genotypes were encoded as the number of copies of the minor allele in the pool of 202 mixtures which was either 0 or 2 since we use diploid inbred lines. Structuring mixture identity random effect with K_m allowed us to adjust the p-value distribution so that we minimized the detection of false positive (Supplementary Fig. 4). We also limited type 1 error by controlling the Family-Wise Error Rate (FWER) at 5 % with the Bonferroni correction. Since the 28K tests were not independent due to linkage disequilibrium, we computed the effective number of independent test using the Galwey method[36]. Linkage disequilibrium around the significant hit (cfn0881580) is reported in Supplementary Fig. 5. This model allowed us to detect SNPs at which allelic diversity generated a significant effect on mixture productivity. We then tested the effect of these SNPs significantly associated with productivity on disease impact. To do so, we used Equation [1] with disease score as the response variable and the selected SNPs genotypes in the $\boldsymbol{x_l}$ vector.

Genotype-level effects underlying mixture-level biodiversity effects

We then investigated the contribution of each genotype within the mixtures to the biodiversity effect detected at the mixture level. To this end, we analysed the productivity and the disease score of each genotype in relation to its allelic state and to its neighbour's allelic state at the loci involved in biodiversity effects, using the following linear mixed model:

[3] $$\boldsymbol{y} = \mathbf{1}\mu + \boldsymbol{x_{f_l}}\beta_{f_l} + \boldsymbol{x_{n_l}}\beta_{n_l} + \boldsymbol{x_{fn_l}}\beta_{fn_l} + Z_f\boldsymbol{f} + Z_n\boldsymbol{n} + \boldsymbol{\varepsilon}$$

Where $\boldsymbol{y}$ denotes the 404 x 1 vector of productivity or symptoms measured in the 202 mixtures on each component referred to as the focal genotype, μ the mean value across all mixture components, $\boldsymbol{x_{f_l}}$ the 404 x 1 vector of the number of copies of the minor allele at locus *l* of the focal genotype (encoded as 0 or 2), β_{f_l} the focal allelic effect at locus *l*, $\boldsymbol{x_{n_l}}$ the 404 x 1

vector of the number of copies of the minor allele at locus *l* of the neighbouring genotype (encoded as 0 or 2), β_{n_l} the neighbour allelic effect at locus *l*, $\boldsymbol{x_{fn_l}}$ the 404 x 1 vector of combinations of allelic state in the focal and in the neighbour genotype at locus *l*, β_{fn_l} the interaction effect between focal and neighbour alleles at locus *l*, $\boldsymbol{f}$ the 180 x 1 vector of focal genotypes, which account for the polygenic effect of all loci other than those tested in the focal genotype, $\boldsymbol{n}$ the 180 x 1 vector of neighbour genotypes, which account for the polygenic effect of all loci other than those tested in the neighbour genotype, Z_f and Z_n their corresponding 404 x 180 incidence matrices, and $\boldsymbol{\varepsilon}$ the 404 x 1 vector of error terms assumed to be independent and identically distributed: $\boldsymbol{\varepsilon} \sim N(0, \sigma_r^2 I)$. Focal and neighbour genotype random effects were assumed to be normally distributed with zero mean and variance σ_f^2 and σ_n^2, respectively, and to be structured with a 180 x 180 matrix of relatedness between genotypes in the mixture, K_c such as $\boldsymbol{f} \sim N(0, \sigma_f^2 K_c)$, and $\boldsymbol{n} \sim N(0, \sigma_n^2 K_c)$. K_c is the VanRaden additive genetic relatedness matrix[37], which we computed with the *estimGenRel()* function (*rutilstimflutre* package).

Assuming that grain yield is a good proxy for fitness, β_{f_l} and β_{n_l} can be interpreted as the social effects of locus *l*. In the kin selection framework, social effects are the fitness consequences of an allelic substitution in the focal individual (direct fitness effect) and on the neighbour individual (indirect fitness effect)[12]. The two partial regression coefficients β_{f_l} and β_{n_l} have been shown to be equivalent to these direct and indirect fitness effects, respectively[38]. Therefore, we can test whether SNP alleles that generate deviation to additivity for productivity and symptoms measured at the mixture level have social effects within the mixture. The interaction term β_{fn_l} allowed us to detect allelic effects that would be conditional to the allele carried by the neighbouring genotype, a pattern expected for greenbeard genes. Results from the full model are reported in Supplementary Table 1. Results presented in the main text are faceted according to the allele of the focal individuals. For each allelic state of the focal (either "A" or "B"), we used Equation [3] in which we dropped the focal allele and the focal allele by neighbour allele interaction effects to perform the significance tests reported in Fig. 2.

Percentage of variance explained by each SNP

For all analysis, we estimated model parameters with the *lmerA()* function (*rutilsftimflutre* package). The Proportion of Variance Explained (PVE) by each SNP was computed as follows:

[4] $$PVE = \frac{var(x\beta)}{var(y)}$$

Where $\boldsymbol{y}$ denotes the vector of the response variable, $\boldsymbol{x}$ is the vector of allelic state over SNPs (encoded as 0 or 1 for allelic diversity effects, and 0 or 2 for social effects) and β is the slope associated with the effect of the SNP of interest. We can estimate $var(\boldsymbol{x}\beta)$ with $var(\boldsymbol{x}\hat{\beta})$. Assuming that $\hat{\beta}$ and $\boldsymbol{x}$ are independent, we then have:

$$var(\boldsymbol{x}\hat{\beta}) = var(\boldsymbol{x}) \times var(\hat{\beta}) + E(\boldsymbol{x})^2 \times var(\hat{\beta}) + var(\boldsymbol{x}) \times E(\hat{\beta})^2$$

With $E(\hat{\beta}) = \hat{\beta}$, PVE can thus be expressed as follows:

[5] $$PVE = \frac{var(\boldsymbol{x}) \times var(\widehat{\beta}) + E(\boldsymbol{x})^2 \times var(\widehat{\beta}) + var(\boldsymbol{x}) \times \widehat{\beta}^{\,2}}{var(\boldsymbol{y})}$$

5. Results

Mixtures produced on average 4% more grains than expected from their component monocultures, but around 43% of the mixtures were less productive than the average their component monoculture (Fig. S1). We identified a single SNP, cfn0881580, located at the end of the 6B chromosome for which allelic diversity was significantly associated with grain yield of the mixture (Fig. 1A). Allelic diversity at cfn0881580 explained 9% of the variance in grain yield (Fig. 1B). At this locus, mixtures of genotypes having different alleles had a significantly lower yield than mixtures of genotypes with similar alleles (Fig. 1B). Allelic diversity at cfn0881580 was strongly associated with STB severity for which it explained 23% of the variance (Fig. 1C). A-B mixtures were more impacted by STB than A-A and B-B mixtures (Fig. 1C). We did not detect any significant difference between A-A and B-B mixtures on both grain yield and STB symptoms. We detected a strong interaction between the alleles carried by the two mixture components at cfn0881580 on both grain yield and STB symptoms recorded on each component (Supplementary Table 1 and Fig. 2): genotypes growing with a neighbour sharing the same allele at cfn0881580 had higher yields and were less damaged by STB than genotypes growing with a neighbour having a different allele (Fig. 2).

6. Discussion

Our results contrast with the classical expectation that greater genetic diversity should increase productivity and improve disease control in crops[14,15]. In our case, we can suspect the lower yield in bi-allelic mixtures to be a direct consequence of greater STB damages compared to mono-allelic mixtures. Indeed, grain yield was mostly affected by a reduction in spike density, and STB infection occurred around tillering, a critical stage that determines the number of spikes per m² (Supplementary Fig. 2), after which plots were treated with a fungicide.

In our study, genotypes were more productive and less affected by STB when grown with a neighbour that shared the same allelic copy at cfn0881580. This pattern is consistent with a greenbeard effect. The greenbeard effect is a thought experiment developed around the idea of the “selfish gene” in evolutionary biology: a single gene (or a cluster of tightly-linked genes inherited as a single unit) could favour its own transmission by making individuals more altruistic towards other individuals that share the same gene copy[22,23]. Greenbeards differ from genetic kin recognition[22]. Kin recognition involves the ability for genealogically related individuals to recognize themselves, for example with a phenotypic marker attesting their family membership. If family members behave altruistically, the recognition mechanisms will allow individuals to preferentially direct this altruistic behaviour towards other family members, which have a high probability to display the altruistic behaviour too because they are genealogically related. In such a situation, the evolution of the altruistic behaviour is driven by the whole-genome relatedness (kinship relatedness)[22]. Greenbeard genes evolves independently from genealogical relatedness: the association between the recognition locus (“beard locus”)

and the altruistic locus ("behaviour locus") is based on linkage disequilibrium alone[22,24]. As a consequence, relatedness at the greenbeard site (beard and behaviour loci) alone drives the evolution of the altruistic behaviour[23].

Other studies have reported that plant defences could be reduced in genetically heterogeneous groups[16,25], but the results were more consistent with a kin recognition mechanism. While greenbeard genes have been documented in animals[26] and microorganisms[27], they have never been reported in plants[18,28]. Thus, our approach offers a promising way to investigate the existence of greenbeard genes in plants. As greenbeard effects are mediated by linkage disequilibrium between the beard locus and the behavior locus, we tested whether we could find a STB resistance gene in the genomic region of cfn0881580, which might explain why STB symptoms are reduced when mixture components share the same allele at cfn0881580. Genes coding for NBS-LRR resistance proteins were the most represented ontologies in the causal region (12 genes out of 49, Supplementary Data 1). So far, none of these genes have been reported as involved in *Zymoseptoria tritici* resistance. A gene providing a specific resistance to STB, *Stb6*, was recently cloned in bread wheat[29]. This gene locates on the short arm of chromosome 3A and encodes for a wall-associated receptor kinase-like protein. We found 8 functional annotations referring to genes coding for receptor kinase-like proteins in the 6B genomic region of interest (Supplementary Data 1). However, the sequence homology between *Stb6* and each of these 8 genes was low (results not shown). Further investigation is needed to test for the role of candidate genes on STB resistance in the 6B genomic region of interest.

Alternatively, the negative allelic mixing effect we detected at cfn0881580 could be explained by an harming greenbeard effect, where individuals are more harmful towards individuals that do not share the same greenbeard allele[22], and might thus reduce the level of resistance of their neighbour. Allelopathy, which is one of the most documented form of chemical interaction in plants, could also be involved in the greenbeard mechanisms[28]. In this case, the greenbeard gene could code for an allelopathic compound that is not toxic to individuals sharing the same copy of the gene but is toxic to others. This toxicity could in turn decrease the plant immunity of the individuals who bear a different greenbeard allele. Among the functional annotations available in the genomic region associated with the biodiversity effect, we noticed a reference to an enzyme involved in the synthesis of 4- hydroxybenzoic acid (4-HBA), a common allelopathic compound in cereals[30,31].

By disentangling genetically-driven negative and positive mixing effects at the allelic level, our approach offers new perspectives for designing productive mixtures, where negative interactions among genotypes are prevented and positive ones are promoted. Moreover, scaling down from group-level to individual-level allelic effects, as presented here, could be a promising avenue to improve our understanding of the mechanisms that drive plant-plant interactions. Once pinpointed, candidate genes could be tested by classical gene validation experiments (fine-mapping, mutants, gene transfers, etc). Overall, investigating plant-plant interactions at the allelic level may be relevant for tackling both applied issues in the agricultural context, and theoretical issues in ecology and evolutionary biology.

7. Data availability

Data for this study are available at [to be completed upon final acceptance]

8. Code availability

Analysis codes for this study are available at [to be completed upon final acceptance]

9. Author's contributions

[to be completed]

10. Acknowledgements

This work was funded by the European Research Council (ERC) Starting Grant Project "Ecophysiological and biophysical constraints on domestication in crop plants" (Grant ERC-StG-2014-639706-CONSTRAINTS) and by the project "Supporting Agrobiodiversity in Mediterranean Agroecosystems to improve Drought Adaptation" (SAADA), an Open Science project of Agropolis Fondation. We thank Frédéric Compan, Guillaume Maillet, and Nicolas Delpon for their dedicated technical help and to the DIASCOPE platform (INRA, Mauguio, FRANCE) for providing all the facilities and technical support.

11. References

1. Isbell, F. Agroecology: Agroecosystem diversification. *Nature Plants* **1**, 15041 (2015).

2. Altieri, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **74**, 19–31 (1999).

3. Tilman, D. *et al.* Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science* **294**, 843–845 (2001).

4. Loreau, M. *et al.* Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* **294**, 804–808 (2001).

5. Hajjar, R., Jarvis, D. I. & Gemmill-Herren, B. The utility of crop genetic diversity in maintaining ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **123**, 261–270 (2008).

6. Jackson, L. E., Pascual, U. & Hodgkin, T. Utilizing and conserving agrobiodiversity in agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **121**, 196–210 (2007).

7. Barot, S. *et al.* Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **37**, 13 (2017).

8. Borg, J. *et al.* Unfolding the potential of wheat cultivar mixtures: A meta-analysis perspective and identification of knowledge gaps. *Field Crops Research* **221**, 298–313 (2018).

9. Kiær, L. P., Skovgaard, I. M. & Østergård, H. Grain yield increase in cereal variety mixtures: A meta-analysis of field trials. *Field Crops Research* **114**, 361–373 (2009).

10. Reiss, E. R. & Drinkwater, L. E. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications* **28**, 62–77 (2018).

11. Litrico, I. & Violle, C. Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends in Plant Science* **20**, 604–613 (2015).

12. Hamilton, W. D. The genetical evolution of social behaviour. II. *Journal of Theoretical Biology* **7**, 17–52 (1964).

13. Murphy, G. P., Swanton, C. J., Acker, R. C. V. & Dudley, S. A. Kin recognition, multilevel selection and altruism in crop sustainability. *Journal of Ecology* **105**, 930–934 (2017).

14. Zhu, Y. *et al.* Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* **406**, 718–722 (2000).

15. Finckh, M. R. *et al.* Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie* **20**, 813–837 (2000).

16. Karban Richard, Shiojiri Kaori, Ishizaki Satomi, Wetzel William C. & Evans Richard Y. Kin recognition affects plant communication and defence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**, 20123062 (2013).

17. Metzker, M. L. Sequencing technologies - the next generation. *Nature Reviews Genetics* **11**, 31–46 (2010).

18. Subrahmaniam, H. J. *et al.* The genetics underlying natural variation of plant-plant interactions, a beloved but forgotten member of the family of biotic interactions. *The Plant Journal* **93**, 747–770 (2018).

19. Wuest, S. E. & Niklaus, P. A. A plant biodiversity effect resolved to a single chromosomal region. *Nature Ecology & Evolution* **2**, 1933–1939 (2018).

20. David, J. *et al.* Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Molecular Breeding* **34**, 1531–1548 (2014).

21. Fones, H. & Gurr, S. The impact of Septoria tritici Blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genetics and Biology* **79**, 3–7 (2015).

22. Gardner, A. & West, S. A. Greenbeards. *Evolution* **64**, 25–38 (2010).

23. Gardner, A. The greenbeard effect. *Current Biology* **29**, R430–R431 (2019).

24. Biernaskie, J. M., West, S. A. & Gardner, A. Are greenbeards intragenomic outlaws? *Evolution* **65**, 2729–2742 (2011).

25. Karban, R. & Shiojiri, K. Self-recognition affects plant communication and defense. *Ecology Letters* **12**, 502–506 (2009).

26. Keller, L. & Ross, K. G. Selfish genes: a green beard in the red fire ant. *Nature* **394**, 573–575 (1998).

27. Heller, J. *et al.* Characterization of greenbeard genes involved in long-distance kind discrimination in a microbial eukaryote. *PLOS Biology* **14**, e1002431 (2016).

28. Biedrzycki, M. L. & Bais, H. P. Kin recognition in plants: a mysterious behaviour unsolved. *Journal of Experimental Botany* **61**, 4123–4128 (2010).

29. Saintenac, C. *et al.* Wheat receptor-kinase-like protein Stb6 controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen Zymoseptoria tritici. *Nature Genetics* **50**, 368–374 (2018).

30. Chou, C.-H. & Patrick, Z. A. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. *Journal of Chemical Ecology* **2**, 369–387 (1976).

31. Guenzi, W. D. & McCalla, T. M. Phenolic acids in oats, wheat, sorghum, and corn residues and their phytotoxicity. *Agronomy Journal* **58**, 303–304 (1966).

32. Rimbert, H. *et al.* High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. *PLoS ONE* **13**, e0186329 (2018).

33. Maccaferri, M. *et al.* Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets. *Nature Genetics* **51**, 885–895 (2019).

34. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing* (2019).

35. Rodríguez-Álvarez, M. X., Boer, M. P., van Eeuwijk, F. A. & Eilers, P. H. C. Correcting for spatial heterogeneity in plant breeding experiments with P-splines. *Spatial Statistics* **23**, 52–71 (2018).

36. Galwey, N. W. A new measure of the effective number of tests, a practical tool for comparing families of non-independent significance tests. *Genetic Epidemiology* **33**, 559–568 (2009).

37. VanRaden, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science* **91**, 4414–4423 (2008).

38. Rousset, F. Regression, least squares, and the general version of inclusive fitness. *Evolution* **69**, 2963–2970 (2015).

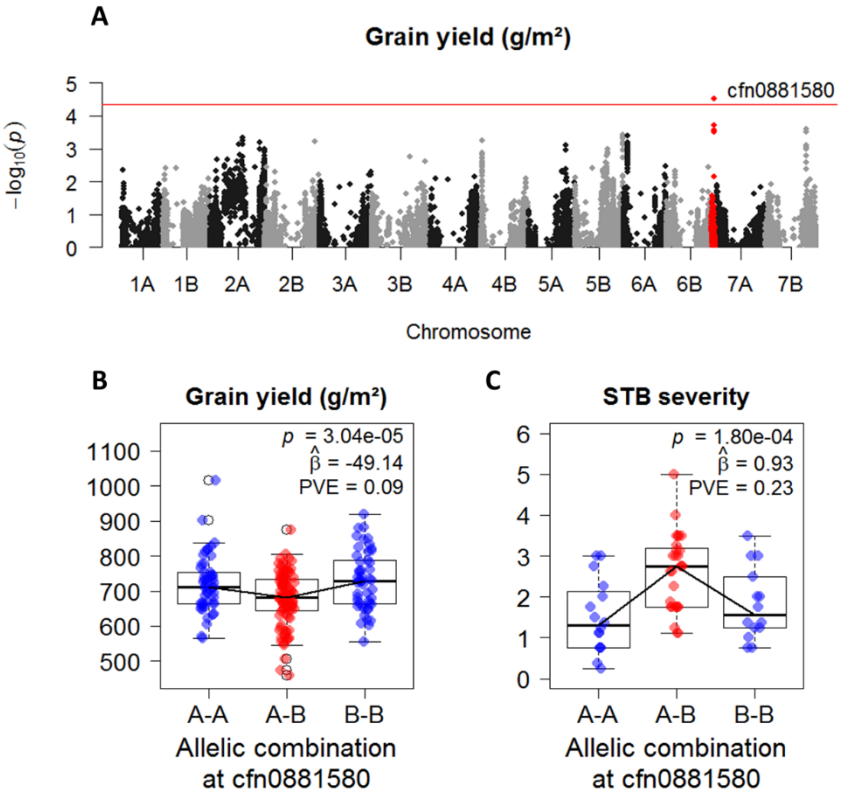


Figure 1 *| Relationships between allelic diversity at cfn0881580, grain yield, and Septoria Tritici Blotch (STB) severity in varietal mixtures. (A) Manhattan plot reporting p-values (-log10 transformed) for the association tests between grain yield and allelic diversity at 28K SNPs distributed along the durum wheat genome. The solid red line represents the Family-Wise Error Rate (FWER) of 5% computed with the Galwey method. (B) Effect of allelic combination at the most significant SNP (cfn0881580) on grain yield, and (C) Effect of allelic combination at the most significant SNP (cfn0881580) on STB severity. Reported statistics refer to the comparison between mono-allelic (blue points) and bi-allelic (red points) mixtures. p: p-value associated with the effect of allelic diversity at cfn0881580,* $\hat{\beta}$*: estimate of the effect size of allelic diversity at cfn0881580, PVE: Percentage of Variance Explained by allelic diversity at cfn0881580.*

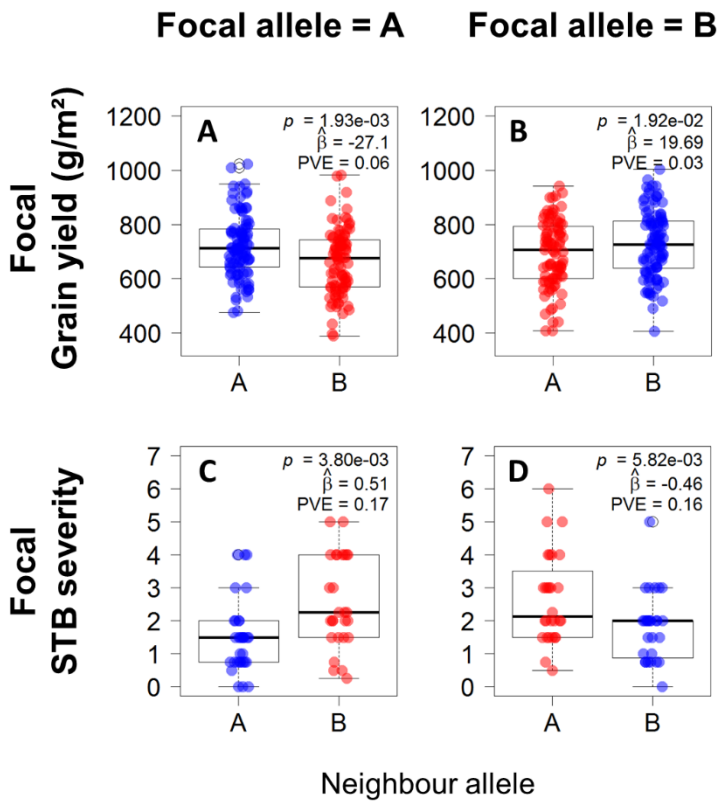


Figure 2 *| Effects of the interaction between focal allele and neighbor allele at cfn0881580 on grain yield (A, B) and STB severity (C, D). Reported statistics refer to the effect of the allele carried by the neighbour genotype. p: p-value associated with the effect of the allele carried by the neighbour genotype,* $\hat{\beta}$*: estimate of the effect size of the allele carried by the neighbour genotype, PVE: Percentage of Variance Explained by the allele carried by the neighbour genotypes.*

SUPPLEMENTARY INFORMATION

The dark side of diversity: allelic difference at a single locus decreases grain yield and increases disease severity in wheat varietal mixtures

1. Supplementary Methods

A. Plant material

We used 180 inbred lines from the EPO durum wheat population developed at INRA Montpellier, France. EPO was obtained from a composite cross population in which a male sterility recessive nuclear gene was segregating. In 1997, genetic diversity from wild and primitive *Triticum turgidum* subspecies was introduced in that population. Over 12 years, seeds have been collected on both outcrossed sterile plants (20%) and self-fertilized hermaphrodite plants (80%), and then bulked to constitute the next generation. In 2009, 500 spikes were extracted and underwent five generations of selfing to obtain inbred lines. Based on genotypic data, 180 inbred lines were chosen to constitute a core collection that encompassed most of the genetic variability present in the original 500 lines. Overall, EPO was selected to capture a high proportion of the phenotypic variability of the *Triticum turgidum* subspecies. While remaining large compared to elite genotypes, this variability was reduced for a few traits such as plant height and heading date to stay within an acceptable range of values for cultivation conditions. Such an evolutionary history resulted in a set of fixed lines that are well-adapted to cultivation and harbour a broad phenotypic diversity, making this material highly relevant for both genetic and ecological studies.

B. Plant growth conditions

Plots were sown on November 21, 2017 and harvested between June 25 and 27, 2018. Soil was stony loam with about 1% organic matter and a pH of 8.7. Sowing density was about 250 seeds m^{-2}. Nitrogen fertilization was applied on February 22, 2018 and April 23, 2018 with 109 $kg.ha^{-1}$ and 87 $kg.ha^{-1}$ of Nexen® (46 % urea nitrogen). Broad leaf herbicides and graminicides were applied on March 23, 2018 with Pointer®UltraSX® (30 $g.ha^{-1}$) and Auzon®Duo (1 $L.ha^{-1}$). Two fungicide treatments were applied on April 20, 2018 and May 18, 2018 with Priori®Xtra (1 $L.ha^{-1}$). Insecticides were applied on May 18, 2018 with Karate®Xflow (0.063 $L.ha^{-1}$). The mean temperature over the growing season was 13.6 °C with a minimum temperature of -6 °C and a maximum temperature of 31.5°C. The cumulated precipitation between November 2017 and June 2018 was 633 mm (see Supplementary Table 2 for monthly meteorological data).

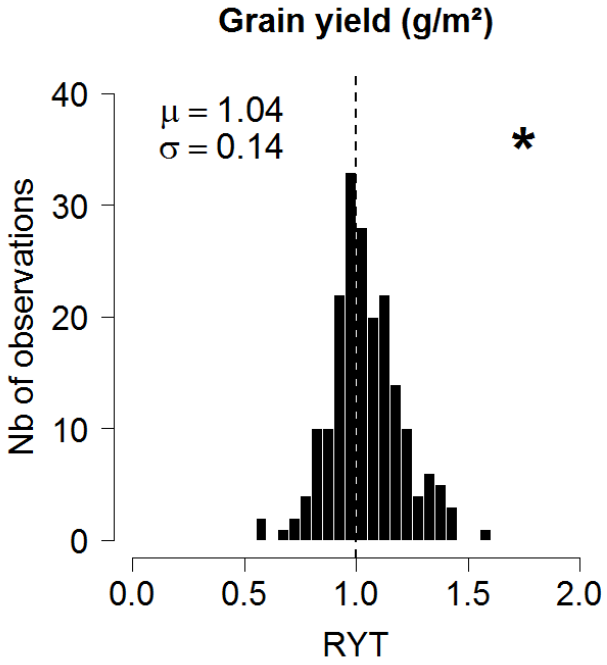
2. Supplementary Figures and Tables

***Supplementary Table 1** | Focal and neighbour effect of allelic variation at cfn0881580 on grain yield and STB severity. The first model (Model 1) includes focal allele identity and neighbour allele identity as main effects without interaction, whereas the second model (Model 2) accounts for the interaction between focal and neighbour allele identity. Degrees of freedom (d.f.), t-values, and p-values are reported. Note that the effects of the allele carried by the focal and by the neighbour individual were only significant when the interaction term was included in the model, which confirmed that the focal and neighbour effect of allelic variation at cfn0881580 were conditional to the allele carried by the other individual (Fig. 2).*

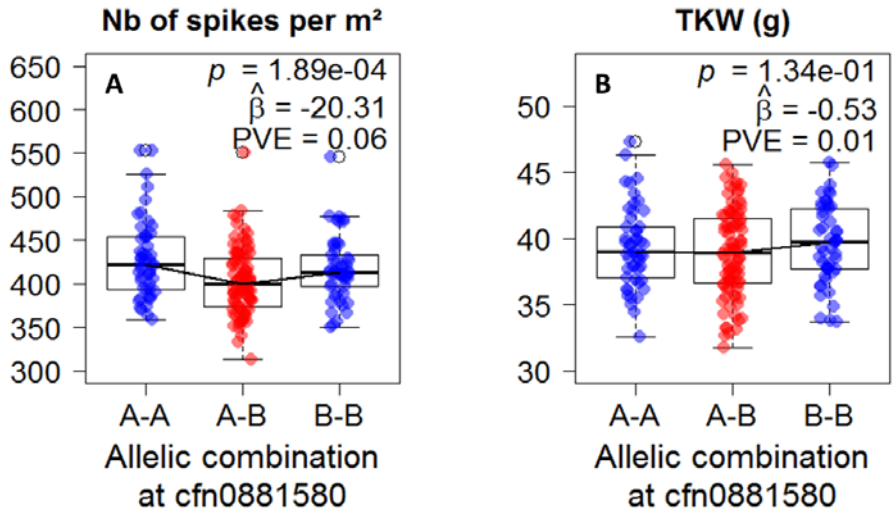
		Grain yield (g/m²)			**STB severity**		
		d.f.	*t*-value	*p*-value	d.f.	*t*-value	*p*-value
Model 1	Focal allele	1	1.192	0.234	1	1.029	0.306
	Neighbour allele	1	-0.400	0.689	1	0.427	0.670
Model 2	Focal allele	1	-1.472	0.142	1	3.636	***<0.001***
	Neighbour allele	1	-3.018	***0.003***	1	3.223	***0.002***
	F. allele x N. allele	1	3.870	***<0.001***	1	-4.152	***<0.001***

Supplementary Table 2 | *Monthly meteorological data measured at Mauguio (FRANCE, 43°36' N, 3°59' E): solar radiation (Rad.), maximum temperature (Tmax), minimum temperature (Tmin), mean temperature (Tmean), and precipitations (Prec). Data were extracted from the INRA CLIMATIK data base (https://intranet.inra.fr/climatik_v2).*

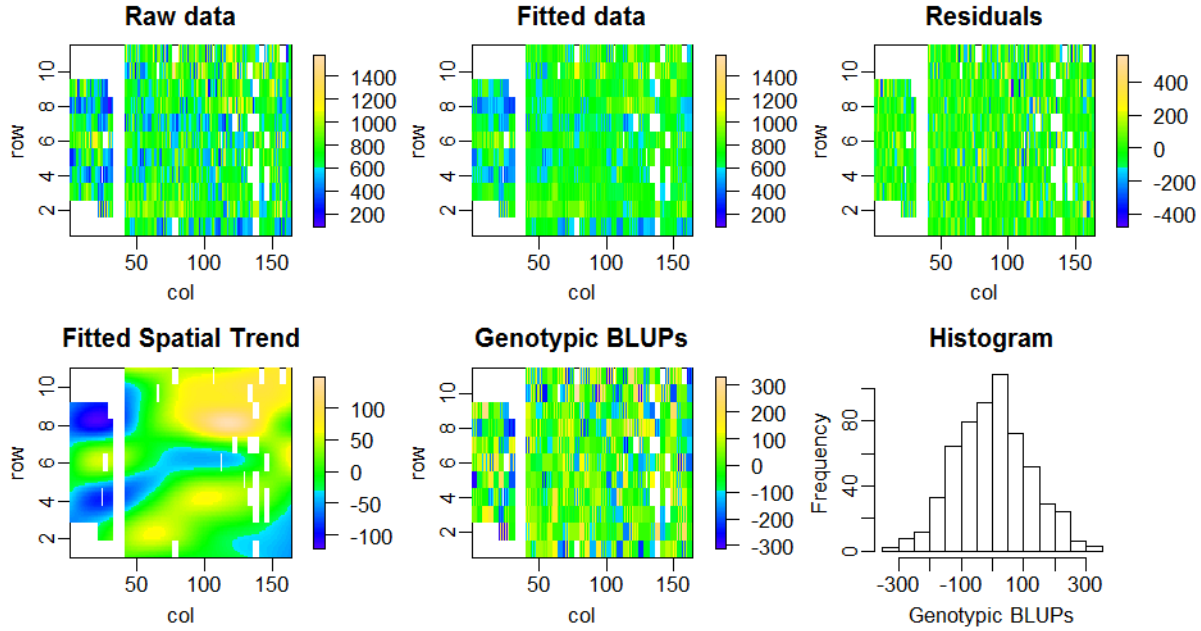
	Nov.	**Dec.**	**Jan.**	**Feb.**	**Mar.**	**Apr.**	**May**	**Jun.**
Rad ($dJ.cm^{-2}$)	2409	1681	1735	2617	4096	5056	6348	7783
Tmax (°C)	15.7	12.2	14.5	10	15.2	19.7	22.8	27.5
Tmin (°C)	5.7	1.3	7.1	1.3	6.4	9.5	12.9	15.9
Tmean (°C)	10.3	6.3	10.8	5.2	10.6	14.7	17.5	21.9
Prec (mm)	30	12	202	86.5	103	82.5	65.5	51.5



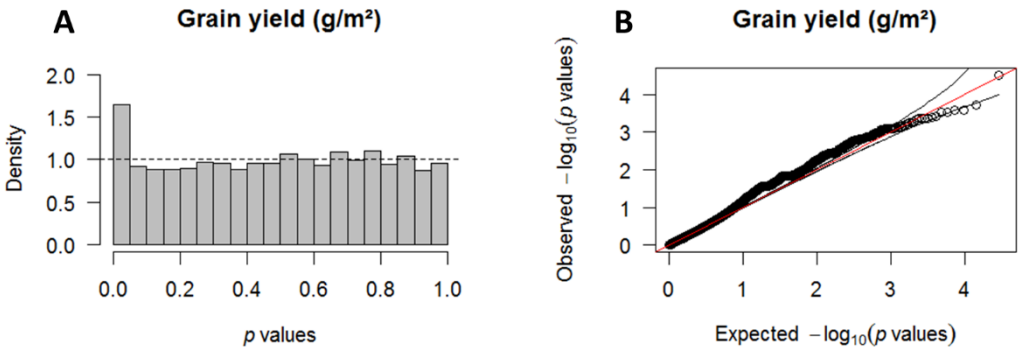
Supplementary Figure 1 *| Distribution of Relative Yield Totals (RYTs) across 202 mixtures. RYT quantifies the deviation between the realized yield of the mixture and the yield expected from the average of the component monocultures. RYT > 1 (right side of the plot) are cases where mixtures produced more grains than expected from their component monocultures. RYT < 1 (left side of the plot) are cases where mixtures produced less grains than expected from their component monocultures. Mean (μ) and standard deviations (σ) are reported. The star indicates the mean is significantly different from 1 at P < 0.05.*



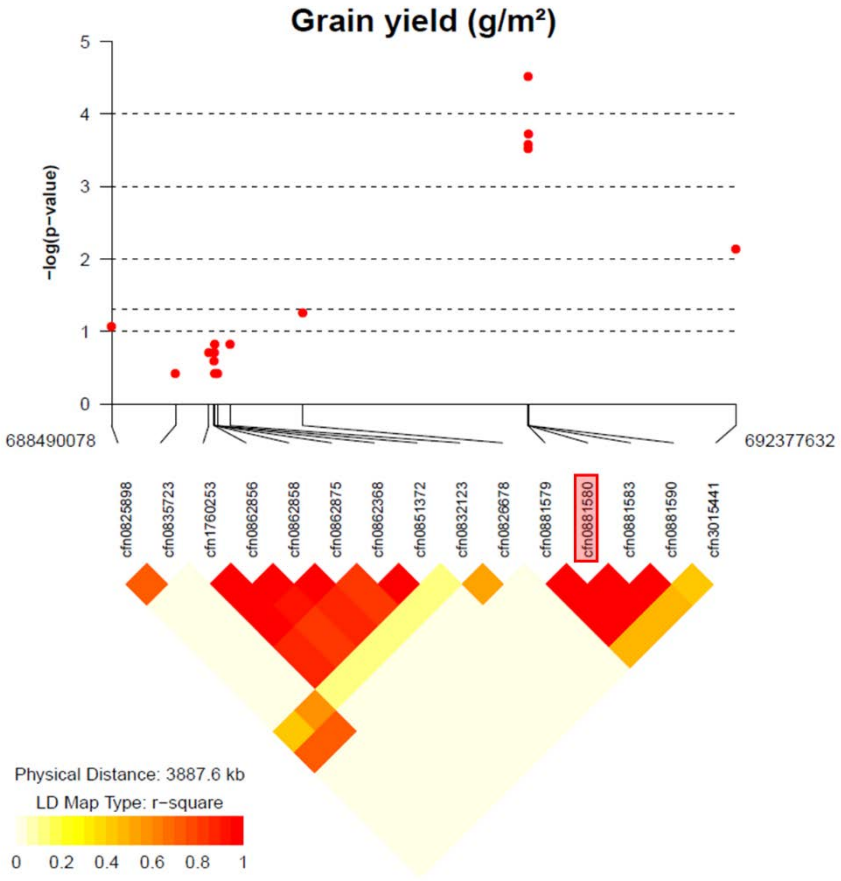
Supplementary Figure 2 *| Effect of allelic combination at cfn0881580 on spike density (A) and Thousand Kernel Weight (TKW) (B). Reported statistics refer to the comparison between mono-allelic (blue points) and bi-allelic (red points) mixtures: p: p-value associated with the effect of allelic diversity at cfn0881580,* $\hat{\beta}$*: estimate of the effect size of allelic diversity at cfn0881580, PVE: Percentage of Variance Explained by allelic diversity at cfn0881580.*



Supplementary Figure 3 *| Representation of the field spatial effect modeled by SpATS for grain yield. Each plot is represented by its 2-D coordinates (row and column) (A) raw grain yield data, (B) grain yield data fitted with the model, (C) residuals from the model, (D) smooth bivariate surface estimated by the model, (E) genotypic BLUPs extracted from the model, (F) Distribution of the genotypic BLUPs.*



Supplementary Figure 4 *| p-value distribution. Distribution of the 28K p-values obtained with the genome-wide association test between allelic diversity and grain yield in varietal mixtures. (A) Histogram representation, the dotted line represents the theoretical uniform distribution under H0, (B) Q-Q plot representing the observed vs expected quantiles of the p-value distribution. Solid lines show the expected quantiles under the null hypothesis (red) and their 95% confidence interval (black).*



Supplementary Figure 5 *| Linkage disequilibrium (LD) in the genomic region (end of chromosome 6B) associated with biodiversity effects. The upper part of the chart represents the p-values (-log10 transformed) of the association test between allelic diversity and grain yield for the 15 SNPs presents in the region. The bottom part depicts the LD (r^2) between the different SNPs, with white squares representing low LD and red squares representing high LD. SNPs positions reflect their relative physical position on the chromosome. The SNP with the most significant signal, cfn0881580, is highlighted with a red square.*

CHAPITRE 4

Farming plant cooperation in crops

Article publié

Montazeaud Germain, François Rousset, Florian Fort, Cyrille Violle, Hélène Fréville*, and Sylvain Gandon*. 2020. “Farming plant cooperation in crops” *Proceedings of the Royal Society B*: *Biological Sciences* 287, 20191290. * These authors contributed equally to this work.

https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1290

1. Présentation générale

L'approche génétique utilisée dans le chapitre précédent suggère que la diversité allélique à certains loci peut avoir des effets négatifs sur la performance des mélanges. D'autres effets issus de la diversité intra-spécifique peuvent potentiellement réduire la performance agronomique. Comme nous l'avons montré dans le premier chapitre, l'effet de sélection est positif seulement si le gain de productivité obtenu par le génotype dominant dépasse la perte de productivité encourue par le génotype dominé. Dans le cas contraire, la performance du mélange est inférieure à la moyenne des performances de ses composantes en monoculture. La diversité peut donc avoir des conséquences négatives sur la performance si elle génère des écarts de compétitivité trop fort entre les génotypes.

Les effets de sélection et les écarts de compétitivité entre les génotypes sont par ailleurs problématiques dans le cadre d'une gestion dynamique de la diversité intra-spécifique. L'effet de sélection décrit par Loreau et Hector est inspiré de l'effet de la sélection naturelle ; c'est d'ailleurs à partir d'une équation permettant de décrire le processus de sélection naturelle, l'équation de Price, qu'il est défini (Loreau & Hector, 2001). Ainsi, cet effet tend, par définition, à sélectionner les génotypes les plus compétitifs. Au fil des générations, si chaque parcelle est re-semée directement à partir de sa propre récolte, ces génotypes compétitifs vont finir par complétement envahir la parcelle (Harlan & Martini, 1938 ; Suneson & Wiebe, 1942). A mesure qu'ils augmentent en fréquence, ces génotypes peuvent diminuer la productivité parce qu'ils augmentent l'intensité de la compétition intra-spécifique. Cette situation est un cas typique de Tragédie des Communs : lorsque les individus sont en compétition pour une ressource limitée, chaque individu cherche à maximiser sa propre performance et donc à utiliser un maximum des ressources disponibles, ce qui finit par diminuer le niveau de global des ressources pour l'ensemble des individus, et donc la performance de la population (Hardin, 1968).

En agronomie, l'idée de limiter la compétition intra-spécifique pour maximiser les rendements a été avancée dès les années 1960 (Donald, 1963, 1968). Chez les céréales, Donald définissait alors la variété idéale comme une variété petite, avec une faible surface foliaire, et une tige unique de sorte à pouvoir être cultivée à forte densité sans payer le coût associé à la compétition (Donald, 1968). Depuis, cette idée a été revisitée à la lumière des théories de la biologie évolutive, notamment la théorie de la sélection de parentèle (Denison et al. 2003 ; Denison 2012 ; Murphy et al. 2017 ; Weiner et al. 2017). En effet, le portrait de la variété idéale décrit par Donald dans les années 1960 correspond à la définition d'un phénotype altruiste, tel que défini par Hamilton à peu près à la même époque (Hamilton, 1964). Ainsi, pour sélectionner la variété idéale selon Donald et maximiser les rendements, il pourrait être intéressant de mobiliser les principes de la sélection de parentèle.

Même si ce sujet reçoit un intérêt grandissant dans la littérature, il reste difficile de comprendre comment mobiliser la sélection de parentèle dans des schémas de sélection. Dans ce quatrième et dernier chapitre, nous développons donc un modèle théorique basé sur la théorie de sélection

de parentèle afin d’identifier les paramètres facilement manipulables par les agriculteurs et par les sélectionneurs afin de sélectionner des variétés plus coopératives.

PROCEEDINGS B

royalsocietypublishing.org/journal/rspb

Research

Cite this article: Montazeaud G, Rousset F, Fort F, Violle C, Fréville H, Gandon S. 2020 Farming plant cooperation in crops. *Proc. R. Soc. B* **287**: 20191290. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.1290

Received: 1 June 2019
Accepted: 15 December 2019

Subject Category:
Evolution

Subject Areas:
evolution, plant science, ecology

Keywords:
crops, cooperation, kin selection, domestication, plant breeding

Author for correspondence:
Germain Montazeaud
e-mail: g.montazeaud@gmail.com

†These authors contributed equally to this study.

Electronic supplementary material is available online at https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.4803219.

THE ROYAL SOCIETY PUBLISHING

Farming plant cooperation in crops

Germain Montazeaud[1,2], François Rousset[3], Florian Fort[2], Cyrille Violle[4], Hélène Fréville[1,†] and Sylvain Gandon[4,†]

[1]AGAP, Université de Montpellier, CIRAD, INRAE, Montpellier SupAgro, Montpellier, France
[2]CEFE, Université de Montpellier, Montpellier SupAgro, CNRS, EPHE, IRD, Université Paul Valéry, Montpellier, France
[3]ISEM, Université de Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France
[4]CEFE, Université de Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Université Paul Valéry, Montpellier, France

GM, 0000-0002-5249-3404; FR, 0000-0003-4670-0371; FF, 0000-0001-7983-6254; CV, 0000-0002-2471-9226; HF, 0000-0003-4212-0097; SG, 0000-0003-2624-7856

Selection of the fittest can promote individual competitiveness but often results in the erosion of group performance. Recently, several authors revisited this idea in crop production and proposed new practices based on selection for cooperative phenotypes, i.e. phenotypes that increase crop yield through decreased competitiveness. These recommendations, however, remain difficult to evaluate without a formal description of crop evolutionary dynamics under different selection strategies. Here, we develop a theoretical framework to investigate the evolution of cooperation-related traits in crops, using plant height as a case study. Our model is tailored to realistic agricultural practices and shows that combining high plant density, high relatedness and selection among groups favours the evolution of shorter plants that maximize grain yield. Our model allows us to revisit past and current breeding practices in light of kin selection theory, and yields practical recommendations to increase cooperation among crops and promote sustainable agriculture.

1. Introduction

Ever since the dawn of agriculture, humans have imposed artificial selection on plants to increase the quality and the quantity of crop production [1,2]. The domestication of wild species led to the selection of phenotypes that would never have been favoured by natural selection under unmanaged conditions, such as the loss of seed dispersal or the decrease in defence compound production [3,4]. This was further amplified in the twentieth century with the progressive mechanization of fieldwork and the increasing use of herbicides and fertilizers. Agronomists indeed observed that varieties with weak competitive abilities performed better than competitive ones under such conditions [5–7]. This led Donald to define a cereal ideotype designed to perform 'as a community' by having a set of phenotypic characteristics such as a short stem, few tillers and few erected leaves [5]. As such, Donald disseminated the idea that phenotypes which maximize group productivity, or crop yield, also decrease individual competitiveness.

This idea was further generalized as the 'tragedy of the commons' (TOC): phenotypes that maximize group performance are necessarily sub-optimal for individual performance, making them susceptible to invasion by selfish phenotypes [8]. TOCs were widely investigated in crops using evolutionary game theory approaches (reviewed in [9]), most studies concluding that humans have to work against natural selection to prevent invasions of the best performing groups by competitive phenotypes. This was early observed by plant breeders in bulk breeding programmes, where the most favourable phenotypes for yield, such as short plants, were lost over few generations due to intraspecific competition [6,7,10].

At the same time, the evolutionary biologist William Hamilton formalized the kin selection theory which aimed at understanding the evolution of social interactions, notably altruism where individuals act to increase the fitness of

© 2020 The Author(s) Published by the Royal Society. All rights reserved.

their social partners at the expense of their own reproduction [11,12]. Hamilton proposed a very simple rule which states that altruistic phenotypes can be selected if the fitness cost for the actor, c, is outweighed by the benefit received by the partners, b, weighted by the relatedness between the actor and the partners, R, i.e. when $c < Rb$. With this rule, Hamilton explicitly incorporated the contribution of relatives in transmitting genes that are shared with the actor to the next generations. Later works have emphasized that $-c + Rb$ provides a representation of the average effect of an allelic substitution on individual fitness (e.g. [13]) rather than an alternative to individual fitness: $-c + Rb$ gives the expected effects of copies of an allele in different individuals on the expected fitness of individuals who bear the allele. Kin selection has been extremely successful in explaining a wide range of altruistic phenotypes such as sterility in eusocial insects [12] or helping behaviours in birds [14], and it has received increasing attention in plants in recent decades (reviewed in [15]).

Since farmers are more interested in productivity per unit area than in individual plant productivity, it was early advanced that plant breeding should take advantage of the mechanisms that maximize group productivity to increase crop yield [16]. More recently, several authors argued that plant breeding had not fully explored the trade-off between group productivity and individual performance and that significant yield gain could be achieved by reversing past natural selection for competitiveness [17–20]. To do so, recommendations drawn from the general principles of kin selection or group selection have been proposed [17,18, 20–22]. Yet, it remains difficult to assess the extent to which plant breeding could benefit from these principles as long as they are not formally applied to crops.

Current crop improvement programmes do not explicitly take into account social interactions among plants [18,21]. Conversely, significant work has been achieved to integrate the effects of social interactions into breeding programmes of farm animals [23]. Indeed, reducing competitiveness among group-housed animals is critical for both productivity and animal welfare [24]. Based on the early work of Griffing [25], quantitative genetic models have been developed to account for the effect of the genes of the focal individual on its own phenotypic traits, known as the direct genetic effect, and the effects of the genes of individuals interacting with the focal individual, known as the indirect genetic effect (IGE) [26–28]. Experiments have shown that IGEs can represent a significant proportion of the heritable variation on traits such as growth rate in pigs [29] or survival rate in laying hens [30]. Therefore, the genetic response to selection can significantly be improved by accounting for IGEs [26]. Theoretical studies have shown how the IGEs frameworks connects with kin selection theory and how relatedness affects the genetic response to selection in the presence of IGEs [31,32]. To a lesser extent, this framework has also been applied in tree breeding [33,34]. Yet we still poorly understand how social interactions affect the evolution of plant phenotypes, and the extent to which crop breeding schemes can improve yield depending on the intensity of social interactions.

To fill these gaps, we develop a kin selection model to investigate the evolution of cooperation in crops. The model allows us to identify the most important parameters that promote cooperation and increase crop yield, and to revisit crop evolutionary history in light of the kin selection theory.

2. Material and methods

We define cooperation as the evolution of a phenotype that decreases the intensity of intraspecific competition. We focus on competition for light, using plant height as the competitive trait for three main reasons. Over the different axes of phenotypic variation in plants, height is classically reported as the main driver of competitive ability [35,36]. Second, the impact of competition for light on plant fitness has been widely documented [35,37,38] including in crops [39,40], enabling us to have a reasonably realistic mathematical formalism. Finally, plant height is one of the traits for which we have important historical data in crops [41–44], making it possible to interpret our results in light of human selection practices. It must be stressed that we deliberately kept the mechanistic and genetic aspects of the model simple to focus on processes of interest in this study, which are evolutionary dynamics and their interaction with human practices.

Crop populations are spatially structured, either in fields when grown by a farmer, or in experimental plots when evaluated by a plant breeder. In our model, we assume that the crop population is made of n_F fields, with n_P plants per field. In agreement with experimental evidence on several crop species [39,41], we assume that there is an optimal height $\hat{x}$ that maximizes plant fecundity, i.e. individual seed production, in the absence of competition for light (figure 1*b*). We model competition for light with the drop shadows of neighbouring plants (figure 1*a*). Plant fecundity is assumed to decrease proportionally to the size of the overlapping area between drop shadows and thus with the height of the neighbours, as observed in experimental studies [35,38,40] (figure 1*c*). One of the main parameters that drives intraspecific competition in crops is plant density [5,40]. In the model, plant density is governed by the parameter d, the distance between plants. The intensity of competition for light also depends on the angle a at the apex of the triangle used to represent drop shadows (figure 1*a*). We computed crop yield as the total number of seeds produced in a field divided by the field area (see electronic supplementary material, §1.1). As expected, the plant height that maximizes crop yield decreases with the distance between plants (figure 3 and electronic supplementary material, figure S2), and crop yield is maximized by growing short plants at high density [5,40]. To fit as closely as possible to the specifics of real crops such as wheat, we set the optimal plant height $\hat{x}$ to 100 cm and the angle a to $\pi/50$ rad. Such a small angle allowed us to generate a moderate and realistic intensity of competition at low plant–plant distances such as those classically encountered in cereals. Note that the choice of parameter values did not affect our results qualitatively.

We compared the efficiency of three selection strategies (figure 2). In the within-field (WF) strategy, seeds sown in a given field are exclusively sampled in the harvest of this same field; in the among-field (AF) strategy, fields are sown with seeds sampled after pooling the harvest of all fields; in the top-field (TF) strategy, fields are sown with seeds exclusively sampled in the harvest of the most productive field. In the WF strategy, the best performing plants within their fields contribute more to the next generation, whereas in the AF strategy, the best performing fields within the crop population contribute more to the next generation, this phenomenon being magnified in the TF strategy. Relatedness, a key parameter of kin selection theory, is modulated by the parameter n_S, the number of founding seeds (electronic supplementary material, §1.3 and figure S3). For cases where $n_S < n_P$, we multiply each founding seed in equal proportion, i.e. no selection during this step, until we obtain enough seeds to have n_P plants in each field.

We developed an analytical model from which we derived approximations for the evolutionary stable strategy (ESS) for plant height, that is the strategy that cannot be invaded by any alternative strategy [45] (electronic supplementary material, §1.2).

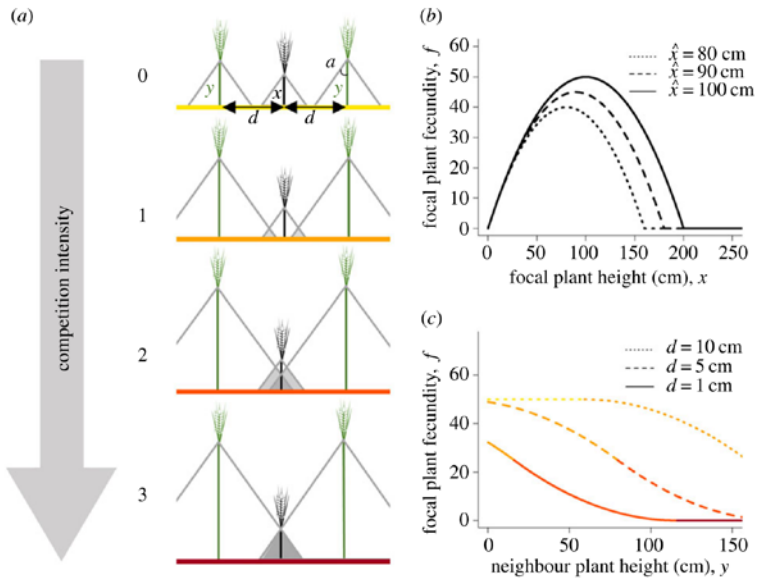


Figure 1. Geometrical representation of plant competition for light. (*a*) We used triangles to represent drop shadows around the plants (grey triangles). The focal individual is represented in black, neighbours are represented in green. Neighbours are positioned at equal distance, *d*, from the focal individual. For simplicity, we here represented the left and right neighbours with the same plant height, *y*. Competition for light happens when triangles overlap. Competition intensity increases with increasing overlap (from yellow to red), with no competition (competition intensity 0), low competition (competition intensity 1), intermediate competition (competition intensity 2) and intense competition (competition intensity 3). (*b*) Relationship between focal plant fecundity, *f*, and focal plant height, *x*. We assumed that, for an isolated plant, there is an optimal plant height $\hat{x}$ which maximizes individual fecundity. The relationship is shown for three optimal plant height values $\hat{x} = 80$ cm (dotted line), $\hat{x} = 90$ cm (dashed line), and $\hat{x} = 100$ cm (solid line). (*c*) Relationship between focal plant fecundity, *f*, and neighbours' plant height, *y*. We computed the cost of competition as the proportion of shaded area of the focal triangle. The relationship is shown for a focal plant height equal to the optimal plant height so that $x = \hat{x} = 100$ cm, an angle $a = \pi/50$, and three plant–plant distances $d = 10$ cm (dotted line), $d = 5$ cm (dashed line), and $d = 1$ cm (solid line). Competition intensity increases from yellow to red. Symbol: 'Wheat' by efi kaperoni from the Noun Project. (Online version in colour.)

The ESS approach is widely used in evolutionary biology to predict the outcome of long-term evolutionary processes where fitness depends on the frequencies of the different phenotypes present in the population. In our study, we adopt the kin selection approach to account for the spatial structure of crops [46]: as mentioned above, the crop population is distributed into different fields, or different groups, that can be connected by migration. These groups delineate social interactions: individuals only interact within groups. The evolution of social traits is driven by the genetic similarity between actors and recipients and thus by genetic similarity between group members at the loci involved in social traits [12]. Relatedness (R) quantifies this similarity and measures the extent to which an actor is more likely to share an allele (and thus share a common phenotype) with an individual sampled in its own group than with an individual sampled in another group [47,48] (electronic supplementary material, §1.3). Compared to traditional definitions of relatedness from pedigrees, the definition of relatedness used here averages pedigree relatedness over the distribution of pedigrees of gene copies within groups [49]. As this distribution depends on other features of the life cycle such as migration rates, relatedness depends on the life cycle (electronic supplementary material, figure S3).

In addition to the ESS approach, we ran individual-based simulations to track the evolution of plant height across generations (electronic supplementary material, §1.4): we simulated the life cycle of all plants from sowing to harvest over thousands of generations until the selection–drift–mutation equilibrium was reached. Finally, we compared the mean plant height at equilibrium with ESS approximations. We hereafter present ESS and simulation results for the three selection strategies (WF, AF and TF) with varying planting density and relatedness.

3. Results

Overall, ESS predictions agreed very well with simulation results and equilibriums were always monomorphic, meaning that a single phenotype was present in the population at the end of the simulations (figure 3, black dots). When plants were grown at low densities ($d > 12$), they did not compete for light and thus the mean phenotype at equilibrium was the optimal phenotype for individual fecundity, i.e. $\hat{x}$ (competition intensity 0 in figure 1*a*). At intermediate densities ($7 < d < 12$), plants evolved smaller than their optimal phenotype in all scenarios. Indeed, when competition is low (competition intensity 1 in figure 1*a*), shorter phenotypes result in greater plant fecundity because the fecundity loss incurred by moving away from the optimum is overcompensated by the fecundity gain obtained by avoiding the shadow of the neighbours. At high densities ($d < 7$), where competition is more intense (competition intensity 2 in figure 1*a*), evolutionary outcomes differed greatly among scenarios. With the WF strategy, the higher the density (the lower d), the taller the plant evolved. At equilibrium, plants were well above the optimal height $\hat{x}$, leading to very low yields whatever the number of founding seeds (figure 3*a*,*d* and *g*). By contrast, both AF and TF strategies resulted in the evolution of short high-yielding phenotypes when the number of founding seeds was low (figure 3*b*,*c* and *f*). Increasing the number of founding seeds reduced relatedness (electronic supplementary material, figure S3), drove the evolution of taller plants, and lowered crop yield (figure 3*e*,*h* and *i*).

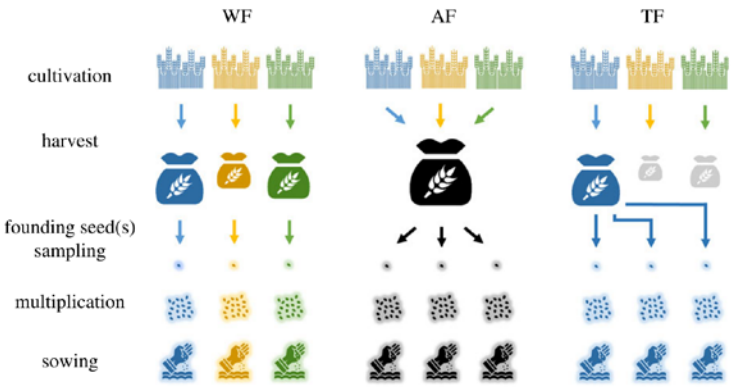


Figure 2. Strategies of selection. The crop is grown in a farm composed of n_F fields. Here, $n_F = 3$, with fields respectively coloured in blue, yellow and green. In the Within-Field (WF) selection strategy, fields are sown with seeds exclusively sampled in their own harvest. Consequently, the crop evolves separately in the different fields. In the Among-Field (AF) selection strategy, seeds from the different fields are pooled together at harvest. Then, each field is sown with seeds sampled in that pool. In the Top-Field (TF) selection strategy, only the most productive field is retained for the next generation. Then, each field is sown with seeds exclusively sampled in the harvest of that top field. For all strategies, a multiplication stage precedes sowing when there are not enough founding seeds to re-populate the n_F fields. Symbols: 'Wheat' by lastspark from the Noun Project, 'seed' by corpus delicti from the Noun Project, and 'sow' by Symbolon from the Noun Project. (Online version in colour.)

Shorter phenotypes evolved under the TF strategy compared to the AF strategy, as a result of stronger selection among fields in the TF strategy (figure 3*e*,*f*). Interestingly, with both AF and TF strategies, two alternative evolutionary outcomes were possible for certain ranges of d (e.g. figure 3*e* when $2 < d < 3.5$ cm). When such evolutionary bistability occurred, which evolutionary outcome was reached depended on the initial phenotypic value of the population (electronic supplementary material, figure S4).

The ESS analysis captures the long-term evolutionary outcome of the model but does not predict the speed of phenotypic evolution towards the ESS. To explore the short-term evolutionary dynamics of plant height under realistic agricultural practices, we carried out individual-based simulations under the three selection strategies for 20 generations with a small number of fields ($n_F = 5$, figure 4). The WF strategy and the AF strategy generated slow evolution compared to the TF strategy (figure 4*a*). Consequently, the relative efficiency in increasing yield differed markedly among selection strategies: after 20 generations, yield had decreased by 5% with the WF strategy whereas it has increased by 15% with the AF strategy and by 110% with the TF strategy (figure 4*b*).

4. Discussion

While most studies concluded that phenotypes which maximize group productivity are not evolutionarily stable [9,50], our model demonstrates that evolutionary principles can be used to select for cooperation and increase crop yield. Our results thus provide new insights into the relative importance of parameters that could be used to select for cooperation in breeding programmes. First, as widely acknowledged in agronomy, plant density has a critical role in controlling the balance between individual competitiveness and group performance [17]. The closer the plants, the stronger the direct and indirect fitness effects, resulting in stronger selection for either selfish tall phenotype or altruistic short phenotype depending on relatedness. Yet, the effect of density is not monotonic. Therefore, the phenotypic value of the crop population at the beginning of the breeding programme can constrain selection even if all conditions are met for cooperation to evolve. For example, starting with tall plants might hamper the evolution of short phenotypes. Second, although selection at the group level is indeed mandatory to select altruistic phenotypes [17,18,21], our results demonstrate that group-level selection is not sufficient: when relatedness becomes too low, the AF and TF strategies fail to select for short phenotypes. More precisely, as the number of founding seeds increases, the within-field variability increases and the between-field variability decreases. This reduces relatedness and limits the ability to discriminate the different fields based on their productivity, thus reducing the strength of among-field selection. Such an important role of relatedness in interaction with group-level selection has been missed in the literature on cultivated plants.

The potential of group selection in agriculture was early demonstrated in poultry. In a seminal experiment, Muir demonstrated that selection at the family level (half-sib families) was very efficient to increase egg production and to reduce mortality in laying hens [51]. Moreover, such practices have been shown experimentally to be more efficient when groups are composed of relatives [26]. These results are in line with our study and previous theoretical works in quantitative genetics showing that relatedness and the degree of group selection jointly affect genetic response to selection [31,32]. More generally, the convergence between our results and the findings obtained in quantitative genetics and animal breeding literature suggest that the principles and the tools (e.g. mixed model [26,34]) developed in these areas could be applied in crops whenever breeding programmes can rely on strong phenotyping efforts.

In crops, the very common pedigree selection is quite similar to the TF strategy, at least in the last generations of selection where plots are planted with single genotypes, and only the most productive plots are retained from one generation to another, which generates both among-field selection and high relatedness. Yet, as mentioned in previous studies, such programmes could be even more efficient in improving yield by increasing plant density [17] and by

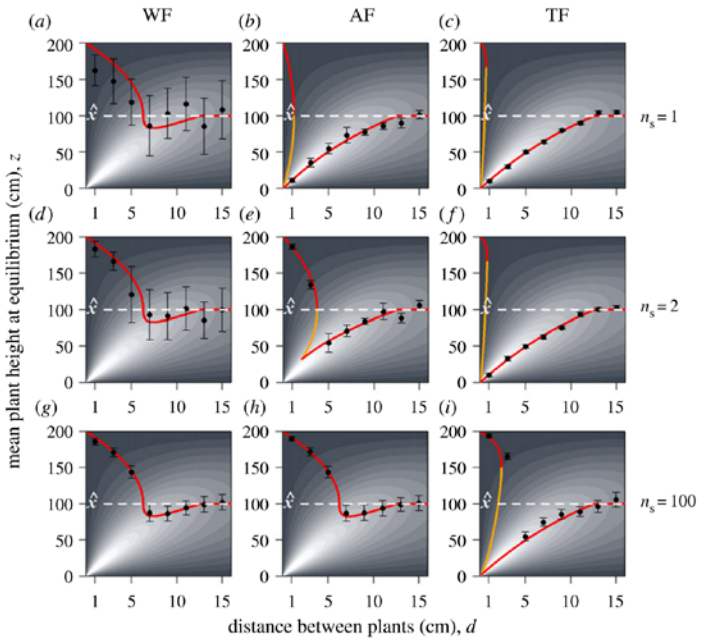


Figure 3. Relationship between the mean plant height in the meta-population at equilibrium, z, and the physical distance between plants, d. Evolutionary stable strategies (ESS) predicted from the analytical model are reported as a red solid line. Results from individual-based simulation are reported in black, with dots (error bars) representing the mean (standard deviation) plant height in the meta-population after 5000 generations. Grain yield is represented in the background of the graphs and increases with lighter grey shade (see electronic supplementary material, figure S2). We tested the three seed selection strategies (WF, AF and TF) with three numbers of founding seeds $n_S = 1$ (*a–c*), $n_S = 2$ (*d–f*) and $n_S = 100$ (*g–i*). Simulations were performed with $n_F = 20$ fields and $n_P = 200$ plants per field. In the first generation, the population was monomorphic, i.e. all plants had the same height z, with $z = \hat{x} = 100$ cm. Phenotypic variability was then generated by mutations. Mutation rate equalled 10% meaning that on average one individual out of 10 differed in height from its parent. Mutation effect was set to ±5 cm. We varied the plant–plant physical distance from 1 to 15 cm with steps of 2 cm. After 5000 generations, the selection–mutation–drift equilibrium was reached in all simulations. Orange solid lines represent unstable equilibriums, i.e. equilibriums at which any mutation makes the mean phenotype deviate further from its original value, either in the upward or in the downward direction. (Online version in colour.)

selecting at the group level from the very beginning [21]. In practice, the TF strategy could be implemented with a number of experimental plots as limited as five, with 200 or 300 plants per plot (figure 4). Increasing the number of plots would increase the effective population size and thus increase the evolutionary speed. To take into account the effect of environmental variability on the evaluation of crop yield and on the selection procedure, it could be useful to replicate the plots or to sample founding seeds in a handful of the most productive fields (electronic supplementary material, figure S5). Then, founding seeds could be multiplied in a greenhouse between two growing seasons by growing plants at low densities to maximize the seed multiplication rate. Controlled or uncontrolled crosses could be used to generate new allelic combinations and new phenotypes over generations.

Our results shed new light on the evolution of plant height during the evolutionary history of crops. For most cereals, plant height has increased between their wild ancestor and their earliest domesticated form [42,43]. Moreover, most of these primitive domesticated forms remained tall, or even evolved taller until the end of the nineteenth century [4]. The practices associated with the transition from gathering to cultivation [1], as well as the most common selection method over this period, namely mass selection, could be regarded in light of the kin selection: grains were collected from isolated plants (or low-density grown plants), these plants being selected for their individual features and grains (or spikes) from different plants being mixed before sowing [52]. Such practices leading to low among-field selection and low relatedness inevitably select for selfish phenotypes. Even if tallness might have deliberately been selected for other needs such as chaff production or weed control [4], our model suggests that mass selection might have reinforced selection for increased plant height.

Initiating breeding programmes with plants that are too tall can hamper the evolution of short high-yielding phenotypes. This might have happened at least twice in the evolutionary history of crops. First, there is evidence that farmers chose relatively tall plants in the wild to start cultivation [53]. Second, for most cereals the main reduction in plant height was achieved in the 1960s by introgressing dwarf genes from Asian varieties [54]. At that time, most wheat varieties were very tall in USA [55] and Europe [41], and we could wonder whether plant breeding would have achieved such shortening by crossing and selecting among the local pool varieties.

Reducing plant height in crops was motivated by the need for varieties that better respond to intensive cultivation practices, notably through increased allocation to grains and decreased sensitivity to lodging [56]. Although such varieties achieved significant yield gain, yield improvement was perceived more as an improvement in individual plant properties, i.e. grain allocation and lodging resistance, than

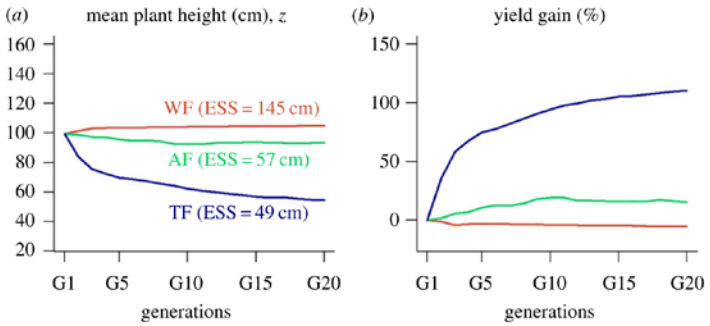


Figure 4. Selection efficiency. We modelled the evolution of plant height (*a*) and we measured the yield gains (*b*) realized after 20 generations with the three selection strategies (WF in red, AF in green and TF in blue). We performed simulations with $n_f = 5$ fields, $n_p = 200$ plants per field, and a 5 cm plant–plant distance. At generation 1 (G1), each field was initiated by sampling two founding seeds in a normally distributed plant population with mean and standard deviation on plant height, respectively, equal to 100 and 20 cm. For all subsequent generations, we draw two founding seeds in the harvest to re-populate each field. Funding seeds were multiplied in equal proportion (x100 each) to obtain 200 seeds per field. Mutation rate was equal to 10% with a ±5 cm mutation effect. Reported values are averaged over 20 simulation runs. (Online version in colour.)

as an improvement in community properties, i.e. lower intraspecific competition [41]. As a consequence, plant height is still mainly selected at the single-plant level by eliminating tall plants in the early steps of breeding programmes than through indirect selection for group performance, as described in this study. Such direct selection on a plant trait can indeed prove very efficient when the trait measurement is cheap and heritable, which might not be the case of all traits involved in plant–plant interactions.

We explored particular combinations of parameters that we thought relevant for a typical cereal crop. Yet, additional selection scenarios could be evaluated for applications in a broader set of crops including non-grain crops. Moreover, traits other than plant height can be important in driving competitive interactions. For example, root morphological traits can play a key role in the competition for soil resources in perennial species [57]. Flower size might also be important for cross-pollinated species [58]. More generally, many traits have been reported to be involved in plant–plant interactions, which offer as many opportunities to increase cooperation in crops [9]. Because of recurrent bottlenecks during the evolutionary history of crops [59] and historical practices of cultivation and breeding (see above for an illustration for plant height), altruistic phenotypes might have been lost in the pool of modern varieties. As illustrated with dwarf genes introduced from Japan, it might thus be useful to further enlarge phenotypic variation available at the start of breeding programmes by exploring gene pools such as landraces or wild relatives. Moreover, studying the genetic determinism of these traits could help to select for optimized mixtures of genotypes instead of mono-genotypic varieties. Indeed, not all genes need to be shared in the population for cooperation to evolve, only those involved in competitive interactions. In practice, the identification of specific genes (or linked molecular markers) encoding for competitive traits would allow to sample individuals which are highly related only at these specific loci instead of sampling individuals which are highly related on the whole genome, as illustrated in this study. These practices could select for mixtures of varieties that combine low variability on traits related to competitive ability and high variability on traits linked to other functions such as pathogen resistance, resource-use or stress tolerance. Such mixtures of varieties combining the positive effects of cooperation and biodiversity could help farmers facing the need for more sustainable agriculture [60].

Data accessibility. No datasets were used during the current study. Scripts used for the analysis and simulations are available at https://github.com/germmtz/farming-plant-cooperation.

Authors' contribution. S.G., G.M., F.R. and H.F. conceptualized the model, with inputs from F.F. and C.V. G.M. ran the simulations and wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed substantially to revisions.

Competing interests. We declare we have no competing interests.

Funding. This work was supported by a PhD grant from the Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation to GM, the CIRAD - UMR AGAP HPC Data Center of the South Green Bioinformatics platform (htttp://www.southgreeen.fr/), the European Research Council (ERC) Starting Grant Project 'Ecophysiological and biophysical constraints on domestication in crop plants' (grant no. ERC-StG-2014-639706-CONSTRAINTS), and the Agence Nationale de la Recherche (ANR) project 'Selecting for cooperative crops to develop sustainable agriculture' (SCOOP, grant no. ANR-19-CE32-0011).

Acknowledgements. We thank R. F. Denison, S. A. West, J. Biernaskie, J. David and A. Rodrigues for helpful comments on earlier versions. We thank V. Ranwez for his assistance in the development of the simulation algorithm.

References

1. Harlan JR, Wet JMJ de, Price EG. 1973 Comparative evolution of cereals. *Evolution* **27**, 311–325. (doi:10.1111/j.1558-5646.1973.tb00676.x)
2. Meyer RS, DuVal AE, Jensen HR. 2012 Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytol.* **196**, 29–48. (doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04253.x)
3. Darwin C. 1859 *On the origin of species by means of natural selection*. London, UK: John Murray.
4. Donald CM, Hamblin J. 1983 The convergent evolution of annual seed crops in agriculture. In *Advances in agronomy* (ed. NC Brady), pp. 97–143. New York, NY: Academic Press.

5. Donald CM. 1968 The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* **17**, 385–403. (doi:10.1007/BF00056241)
6. Jennings PR, de Jesus J. 1968 Studies on competition in rice I. Competition in mixtures of varieties. *Evolution* **22**, 119–124. (doi:10.1111/j.1558-5646.1968.tb03455.x)
7. Jennings PR, Herrera RM. 1968 Studies on competition in rice II. Competition in segregating populations. *Evolution* **22**, 332–336. (doi:10.1111/j.1558-5646.1968.tb05901.x)
8. Hardin G. 1968 The tragedy of the commons. *Science* **162**, 1243–1248. (doi:10.1126/science.162.3859.1243)
9. Anten NPR, Vermeulen PJ. 2016 Tragedies and crops: understanding natural selection to improve cropping systems. *Trends Ecol. Evol.* **31**, 429–439. (doi:10.1016/j.tree.2016.02.010)
10. Suneson CA, Wiebe GA. 1942 Survival of barley and wheat varieties in mixtures. *J. Amer. Soc. Agron.* **34**, 1052–1056. (doi:10.2134/agronj1942.00021962003400110010x)
11. Hamilton WD. 1964 The genetical evolution of social behaviour. I. *J. Theor. Biol.* **7**, 1–16. (doi:10.1016/0022-5193(64)90038-4)
12. Hamilton WD. 1964 The genetical evolution of social behaviour. II. *J. Theor. Biol.* **7**, 17–52. (doi:10.1016/0022-5193(64)90039-6)
13. Dawkins R. 1982 *The extended phenotype*. Oxford, UK: Oxford University Press.
14. Emlen ST, Wrege PH. 1988 The role of kinship in helping decisions among white-fronted bee-eaters. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **23**, 305–315. (doi:10.1007/BF00300577)
15. File AL, Murphy GP, Dudley SA. 2012 Fitness consequences of plants growing with siblings: reconciling kin selection, niche partitioning and competitive ability. *Proc. R. Soc. B* **279**, 209–218. (doi:10.1098/rspb.2011.1995)
16. Harper JL. 1977 *Population biology of plants*. London, UK: Academic Press.
17. Weiner J, Andersen SB, Wille WK-M, Griepentrog HW, Olsen JM. 2010 Evolutionary agroecology: the potential for cooperative, high density, weed-suppressing cereals. *Evol. Appl.* **3**, 473–479. (doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00144.x)
18. Denison RF, Kiers ET, West SA. 2003 Darwinian agriculture: when can humans find solutions beyond the reach of natural selection? *Q. Rev. Biol.* **78**, 145–168. (doi:10.1086/374951)
19. Denison RF. 2012 *Darwinian agriculture: how understanding evolution can improve agriculture*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
20. Weiner J, Du Y-L, Zhang C, Qin X-L, Li F-M. 2017 Evolutionary agroecology: individual fitness and population yield in wheat (*Triticum aestivum*). *Ecology* **98**, 2261–2266. (doi:10.1002/ecy.1934)
21. Murphy GP, Swanton CJ, Acker RCV, Dudley SA. 2017 Kin recognition, multilevel selection and altruism in crop sustainability. *J. Ecol.* **105**, 930–934. (doi:10.1111/1365-2745.12787)
22. Kiers ET, Denison RF. 2014 Inclusive fitness in agriculture. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**, 20130367. (doi:10.1098/rstb.2013.0367)
23. Wade MJ, Bijma P, Ellen ED, Muir W. 2010 Group selection and social evolution in domesticated animals. *Evol. Appl.* **3**, 453–465. (doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00147.x)
24. Rodenburg T, Bijma P, Ellen E, Bergsma R, De Vries S, Bolhuis J, Kemp B, Van Arendonk J. 2010 Breeding amiable animals? Improving farm animal welfare by including social effects in breeding programmes. *Anim. Welfare* **19**, 77–82.
25. Griffing B. 1967 Selection in reference to biological groups. I. Individual and group selection applied to populations of unordered groups. *Aust. J. Biol. Sci.* **20**, 127–139. (doi:10.1071/BI9670127)
26. Muir WM. 2005 Incorporation of competitive effects in forest tree or animal breeding programs. *Genetics* **170**, 1247–1259. (doi:10.1534/genetics.104.035956)
27. Bijma P, Muir WM, Van Arendonk JAM. 2007 Multilevel selection 1: quantitative genetics of inheritance and response to selection. *Genetics* **175**, 277–288. (doi:10.1534/genetics.106.062711)
28. Bijma P, Muir WM, Ellen ED, Wolf JB, Van Arendonk JAM. 2007 Multilevel selection 2: estimating the genetic parameters determining inheritance and response to selection. *Genetics* **175**, 289–299. (doi:10.1534/genetics.106.062729)
29. Bergsma R, Kanis E, Knol EF, Bijma P. 2008 The contribution of social effects to heritable variation in finishing traits of domestic pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* **178**, 1559–1570. (doi:10.1534/genetics.107.084236)
30. Ellen ED, Visscher J, van Arendonk JAM, Bijma P. 2008 Survival of laying hens: genetic parameters for direct and associative effects in three purebred layer lines. *Poult. Sci.* **87**, 233–239. (doi:10.3382/ps.2007-00374)
31. Bijma P, Wade MJ. 2008 The joint effects of kin, multilevel selection and indirect genetic effects on response to genetic selection. *J. Evol. Biol.* **21**, 1175–1188. (doi:10.1111/j.1420-9101.2008.01550.x)
32. McGlothlin JW, Wolf JB, Brodie ED, Moore AJ. 2014 Quantitative genetic versions of Hamilton's rule with empirical applications. *Phil. Trans. R. Soc. B* **369**, 20130358. (doi:10.1098/rstb.2013.0358)
33. Cappa EP, Cantet RJC. 2008 Direct and competition additive effects in tree breeding: Bayesian estimation from an individual tree mixed model. *Silvae Genet.* **57**, 45–56. (doi:10.1515/sg-2008-0008)
34. Costa e Silva J, Kerr RJ. 2013 Accounting for competition in genetic analysis, with particular emphasis on forest genetic trials. *Tree Genet. Genomes* **9**, 1–17. (doi:10.1007/s11295-012-0521-8)
35. Gaudet CL, Keddy PA. 1988 A comparative approach to predicting competitive ability from plant traits. *Nature* **334**, 242–243. (doi:10.1038/334242a0)
36. Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. 2002 Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **33**, 125–159. (doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150452)
37. Weiner J. 1990 Asymmetric competition in plant populations. *Trends Ecol. Evol.* **5**, 360–364. (doi:10.1016/0169-5347(90)90095-U)
38. Violle C, Garnier E, Lecoeur J, Roumet C, Podeur C, Blanchard A, Navas M-L. 2009 Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia* **160**, 747–755. (doi:10.1007/s00442-009-1333-x)
39. Flintham JE, Börner A, Worland AJ, Gale MD. 1997 Optimizing wheat grain yield: effects of Rht (gibberellin-insensitive) dwarfing genes. *J. Agric. Sci.* **128**, 11–25. (doi:10.1017/S0021859696003942)
40. Donald CM. 1963 Competition among crop and pasture plants. In *Advances in agronomy* (ed. AG Norman), pp. 1–118. New York, NY: Academic Press.
41. Austin RB, Bingham J, Blackwell RD, Evans LT, Ford MA, Morgan CL, Taylor M. 1980 Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *J. Agric. Sci.* **94**, 675–689. (doi:10.1017/S0021859600028665)
42. Roucou A, Violle C, Fort F, Roumet P, Ecarnot M, Vile D. 2018 Shifts in plant functional strategies over the course of wheat domestication. *J. Appl. Ecol.* **55**, 25–37. (doi:10.1111/1365-2664.13029)
43. Milla R, Morente-López J, Alonso-Rodrigo JM, Martín-Robles N, Chapin FS. 2014 Shifts and disruptions in resource-use trait syndromes during the evolution of herbaceous crops. *Proc. R. Soc. B* **281**, 20141429. (doi:10.1098/rspb.2014.1429)
44. Milla R *et al.* 2018 Phylogenetic patterns and phenotypic profiles of the species of plants and mammals farmed for food. *Nat. Ecol. Evol.* **2**, 1808. (doi:10.1038/s41559-018-0690-4)
45. Geritz SA, Mesze G, Metz JA. 1998 Evolutionarily singular strategies and the adaptive growth and branching of the evolutionary tree. *Evol. Ecol.* **12**, 35–57. (doi:10.1023/A:1006554906681)
46. Taylor PD, Frank SA. 1996 How to make a kin selection model. *J. Theor. Biol.* **180**, 27–37. (doi:10.1006/jtbi.1996.0075)
47. Frank SA. 1998 *Foundations of social evolution*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
48. Rousset F, Billiard S. 2000 A theoretical basis for measures of kin selection in subdivided populations: finite populations and localized dispersal. *J. Evol. Biol.* **13**, 814–825. (doi:10.1046/j.1420-9101.2000.00219.x)
49. Rousset F. 2002 Inbreeding and relatedness coefficients: what do they measure? *Heredity* **88**, 371–380. (doi:10.1038/sj.hdy.6800065)
50. Falster DS, Westoby M. 2003 Plant height and evolutionary games. *Trends Ecol. Evol.* **18**, 337–343. (doi:10.1016/S0169-5347(03)00061-2)
51. Muir WM. 1996 Group selection for adaptation to multiple-hen cages: selection program and direct responses. *Poult. Sci.* **75**, 447–458. (doi:10.3382/ps.0750447)
52. Allard RW. 1960 *Principles of plant breeding*. New York, NY: John Wiley & Sons.
53. Cunniff J, Wilkinson S, Charles M, Jones G, Rees M, Osborne CP. 2014 Functional traits differ between cereal crop progenitors and other wild grasses gathered in the Neolithic Fertile Crescent. *PLoS ONE* **9**, e87586. (doi:10.1371/journal.pone.0087586)

54. Peng J *et al*. 1999 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature* **400**, 256–261. (doi:10.1038/22307)
55. Cox TS, Shroyer JP, Ben-Hui L, Sears RG, Martin TJ. 1988 Genetic improvement in agronomic traits of hard red winter wheat cultivars 1919 to 1987. *Crop Sci.* **28**, 756–760. (doi:10.2135/cropsci1988.0011183X002800050006x)
56. Hedden P. 2003 The genes of the Green Revolution. *Trends Genet.* **19**, 5–9. (doi:10.1016/S0168-9525(02)00009-4)
57. Casper BB, Jackson RB. 1997 Plant competition underground. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **28**, 545–570. (doi:10.1146/annurev.ecolsys.28.1.545)
58. Parachnowitsch AL, Kessler A. 2010 Pollinators exert natural selection on flower size and floral display in *Penstemon digitalis*. *New Phytologist* **188**, 393–402. (doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03410.x)
59. Glémin S, Bataillon T. 2009 A comparative view of the evolution of grasses under domestication. *New Phytologist* **183**, 273–290. (doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02884.x)
60. Litrico I, Violle C. 2015 Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends Plant Sci.* **20**, 604–613. (doi:10.1016/j.tplants.2015.07.007)

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Farming plant cooperation in crops

1. Supplementary methods

A. The life cycle

We assume that the crop is distributed in a number n_{F} of fields. All the fields contain the same number n_{P} of plants. These plants are distributed in a single line and we assume the distance between neighboring plants on the same line is d. The height of plant ik (plant i in field k) is denoted x_{ik}. The vector of heights of the $n_{\mathrm{P}} - 1$ neighbors of plant ik is denoted $\mathbf{y}_{ik}$. The vector of heights of plants in the $n_{\mathrm{F}} - 1$ other fields is denoted $\mathbf{z}_k$. In the following, the indices i and k may be dropped when it is clear from context that all variables are relative to a focal plant i in field k.

Fecundity

In the absence of competition, each plant is assumed to have a baseline fecundity $f(x)$ and produces a random, Poisson distributed, number of seeds $\mathcal{P}(f(x))$ which is a function of plant height, x. We assume that there is an optimal height $\hat{x}$ that maximizes baseline fecundity, and fecundity then decreases to zero when plant height is higher than $2\hat{x}$. Baseline fecundity was thus expressed as follows:

$$f(x) = \begin{cases} x\left(1 - \frac{x}{2\hat{x}}\right) & \text{if} \quad x \leq 2\hat{x} \\ 0 & \text{if} \quad x \geq 2\hat{x} \end{cases} \tag{1}$$

Competition for light

Within fields, plants compete for light with neighboring plants. Each plant is represented as an isosceles triangle of height x and angle a at the summit **(see Figure 1)**. Plants are competing for light as soon as their respective triangles overlap. A focal plant of height x that competes with neighbors of height $\mathbf{y}$ thus have an expected fecundity equal to:

$$F(x, \mathbf{y}) = f(x)(1 - C(x, \mathbf{y})) \tag{2}$$

with $C(x, \mathbf{y})$ measuring the proportion of the triangle of the focal individual which overlaps with those of its neighbors. Shades from different neighbors that overlap in the focal individuals are only counted once, so that $C(x, \mathbf{y})$ can never exceed 1.

In a monomorphic population where the phenotype of all individuals is equal to a given value z, the productivity, here defined as the total number of seeds produced in a field, is $F(z, z) := F(z, (z, \ldots, z))$. In such a population, productivity per unit area is then computed as $F(z, z)/d$ (**Fig. S2**).

Migration

Fields are sown with seeds harvested in the previous generation. To sow each field, a fraction $(1-m)$ of the n_{P} seeds are sampled in the harvest of that field, with m the seed migration rate among fields. The remaining harvests of all fields are then mixed together and constitute a migrant seed pool. The remaining $m\,n_{\mathrm{P}}$ seeds needed for sowing are then sampled in the migrant seed pool for each field. We distinguished three seed sampling scenarios based on different modalities of migration.

• In the **Within-Fields scenario (WF)**, $m = 0$: fields are sown with seeds exclusively sampled in their own harvest.

• In the **Among-Fields scenario (AF)**, $m = 1$: fields are sown with seeds exclusively sampled in the migrant seed pool.

• In the **Top-Field scenario (TF)**, $m = 1$ again, but fields are sown with seeds exclusively sampled in the harvest of the most productive field.

To represent different levels of among-field competition occurring in the pool of migrant seeds, ranging from the AF to the TF scenario, we will assume that the probability that a given immigrant seed comes from field k is proportional to the product of the field productivity times a function of the productivity of this field relative to the productivities of all fields:

$$B := \frac{e^{\alpha \mathcal{P}\left(\sum_{j=1}^{n_{\mathrm{P}}} F(x_{jk}, \mathbf{y}_{jk})\right)}}{\frac{1}{n_{\mathrm{F}}}\sum_{l=1}^{n_{\mathrm{F}}} e^{\alpha \mathcal{P}\left(\sum_{j=1}^{n_{\mathrm{P}}} F(x_{jl}, \mathbf{y}_{jl})\right)}} \tag{3}$$

where α modulates the magnitude of among-field competition. B is a random variable, function of the realized values of Poisson-distributed fecundities in each field. To keep the analytical model tractable, we approximated B deterministically by

$$b(\mathbf{y}_k^{\mathrm{R}}, \mathbf{z}) := \frac{e^{\alpha\left(\sum_{j=1}^{n_{\mathrm{P}}} F(x_{jk}, \mathbf{y}_{jk})\right)}}{\frac{1}{n_{\mathrm{F}}}\sum_{l=1}^{n_{\mathrm{F}}} e^{\alpha\left(\sum_{j=1}^{n_{\mathrm{P}}} F(x_{jl}, \mathbf{y}_{jl})\right)}} \tag{4}$$

where $\mathbf{y}_k^{\mathrm{R}}$ is the vector of plant heights in field k ($\mathbf{y}_k^{\mathrm{R}} = (x_{ik}, \mathbf{y}_{ik})$ for plant i in field k). However, in the simulations, we still considered that the relative contributions of each field are weighted by B which is the information available to the farmers managing the fields.

If all plants have the same height z, $b((z, \ldots, z), (z, \ldots, z)) = 1$, and all fields have the same productivity, hence for any α, they have the same relative probability of contributing a given immigrant seed. In the baseline case $\alpha = 0$, $b(\mathbf{y}_k^{\mathrm{R}}, \mathbf{z}) = 1$, so that all the fields contribute to the pool of migrant seeds proportionally to their productivity (AF scenario). When α increases, the probability that an immigrant seed is picked from the most productive field is magnified. In the limit case where $\alpha \to \infty$, only the most productive field contributes (TF scenario). In other words, increasing α increases the magnitude of selection among fields relative to the selection within fields.

B. Fitness and selection gradient

Fitness function

We want to derive the fitness function of a focal individual in the meta-population of n_F fields. The fitness of a focal plant is its expected number of adult progenies in the next generation. This fitness w is a function of all plant heights x, $\mathbf{y}$ and $\mathbf{z}$ in the meta-population. It is the sum of the expected number of staying offspring (those growing in the field of the focal individual in the next season) and migrant offspring (note, however, that after random dispersal among fields, migrants have a probability $1/n_\mathrm{F}$ to go back to the field of the focal individual), which yields:

$$w(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = (1-m)\underbrace{w_1(x,\mathbf{y},\mathbf{z})}_{staying} + m\left(\frac{1}{n_\mathrm{F}}\underbrace{w_2(x,\mathbf{y},\mathbf{z})}_{\substack{migrant\ back\ in \\ the\ focal\ field}} + \frac{n_\mathrm{F}-1}{n_\mathrm{F}}\underbrace{w_3(x,\mathbf{y},\mathbf{z})}_{\substack{migrant\ in\ a \\ new\ field}}\right) \quad (5)$$

wherein the three fitness components are

$$w_1(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = n_\mathrm{P}\mathrm{E}\left[\frac{\mathcal{P}(F(x,\mathbf{y}))}{S_{1,k}+S_{2,k}+S_{3,k}}\right], \quad (6)$$

$$w_2(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = n_\mathrm{P}\mathrm{E}\left[\frac{\mathcal{P}(F(x,\mathbf{y})b(\mathbf{y}_k^\mathrm{R},\mathbf{z}))}{S_{1,k}+S_{2,k}+S_{3,k}}\right], \quad (7)$$

and

$$w_3(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = \frac{n_\mathrm{P}}{n_\mathrm{F}-1}\sum_{l\neq k}\mathrm{E}\left[\frac{\mathcal{P}(F(x,\mathbf{y})b(\mathbf{y}_k^\mathrm{R},\mathbf{z}))}{S_{2,k}+S_{3,k}+S_{4,l}}\right] \quad (8)$$

where

$$S_{1,k} := \sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}}\mathcal{P}((1-m)F(x_{jk},\mathbf{y}_k)) \quad (9)$$

for locally sampled seeds from the focal field k,

$$S_{2,k} := \sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}}\mathcal{P}\left(\frac{m}{n_\mathrm{F}}F(x_{jk},\mathbf{y}_k)b(\mathbf{y}_k^\mathrm{R},\mathbf{z})\right) \quad (10)$$

for seeds from the focal field k sampled from the migrant pool, and

$$S_{3,k} := \sum_{l\neq k}^{n_\mathrm{F}}\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}}\mathcal{P}\left(\frac{m}{n_\mathrm{F}}F(x_{jl},\mathbf{y}_l)b(\mathbf{y}_l^\mathrm{R},\mathbf{z})\right) \quad (11)$$

for seeds from other fields sampled from the migrant pool, and

$$S_{4,l} := \sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}}\mathcal{P}((1-m)F(x_{jl},\mathbf{y}_l)) \quad (12)$$

for locally sampled seeds from the destination field l.

Each fitness component involves the expectation of ratio of draws from Poisson-distributed random variables. The draws of variable in the denominators are independent, and the draw on the numerator is included in the denominator. In that case, the expectation of the ratio is the ratio of the expectations of the variables in the numerator and denominator. Hence each fitness component can be expressed in terms of the expectations:

$$w_1(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = \frac{F(x,\mathbf{y})}{(1-m)\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_j,\mathbf{y}) + \frac{m}{n_\mathrm{F}}\sum_{l=1}^{n_\mathrm{F}}\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_{jl},\mathbf{y}_l) b(\mathbf{y}_l^\mathrm{R},\mathbf{z})}, \tag{13}$$

$$w_2(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = \frac{F(x,\mathbf{y}) b(\mathbf{y}_k^\mathrm{R},\mathbf{z})}{(1-m)\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_j,\mathbf{y}) + \frac{m}{n_\mathrm{F}}\sum_{l=1}^{n_\mathrm{F}}\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_{jl},\mathbf{y}_l) b(\mathbf{y}_l^\mathrm{R},\mathbf{z})}, \tag{14}$$

and

$$w_3(x,\mathbf{y},\mathbf{z}) = \frac{1}{n_\mathrm{F}-1}\sum_{l\neq k} \frac{F(x,\mathbf{y}) b(\mathbf{y}_k^\mathrm{R},\mathbf{z})}{(1-m)\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_{jl},\mathbf{y}_l) + \frac{m}{n_\mathrm{F}}\sum_{l=1}^{n_\mathrm{F}}\sum_{j=1}^{n_\mathrm{P}} F(x_{jl},\mathbf{y}_l) b(\mathbf{y}_l^\mathrm{R},\mathbf{z})} \tag{15}$$

Selection gradient

We derive the selection gradient acting on plant height under the assumption that selection is weak. Using the direct fitness method [1,2], the selection gradient can be written in terms of the partial derivatives of the fitness function for a focal individual, as

$$\Delta S = \frac{\partial w(x,\mathbf{y},\mathbf{z})}{\partial x} + \sum_i \frac{\partial w(x,\mathbf{y},\mathbf{z})}{\partial y_i} R_i, \tag{16}$$

where the sum is over all neighbours i of a focal individual, and R_i is the expected relatedness between the actor and neighbour i. All derivatives are evaluated at points where all plant heights are equal to a common value z ("the resident state"). However, we can immediately simplify the above expression of the selection gradient by noting that all R_i coefficients are identical to a single relatedness coefficient R. Indeed, although the plants are distributed along one dimension, there is no isolation by distance because seeds are randomly distributed in the field. The relatedness coefficient is derived in the following section.

The above expression of the gradient of selection depends on a sum of partial derivatives. In order to evaluate the selection gradient we use several simplifications and approximations in the following. First, because the focal plant interacts mostly with its nearest neighbors, we will consider only the effects of the two nearest neighbours on fitness (in contrast to the simulations where we keep track of the effects of all other neighbours). In this case we can approximate fitness as a function $w(x,\mathbf{y}=(y_{-1},y_1),\mathbf{z})$ of the heights y_{-1} and y_1 of the two nearest neighbours.

Second, by the chain rule for differentiation, any sum of partial derivatives, all evaluated in the resident state z, can be exactly written as the single partial derivative of a compound function with respect to a single variable. In particular, we may consider only the simplified fitness function $w(x,y,z) := w(x,\mathbf{y}=(y_{-1}=y,y_1=y),\mathbf{z}=(z,\ldots,z))$, since the sum of

derivatives with respect to the two elements of **y** is $\partial w(x,y,z)/\partial y$. We need different variables x, y and z only to distinguish actors with different expected relatednesses to the focal individual, and can thus proceed as if the two nearest neighbours had the same height (but no such assumption is made when computing relatedness). Functions C, F and B with scalar arguments are defined from their vector-argument counterparts exactly as for w. In this case, from eq. 2, $F(x,y) = f(x)(1 - C(x,y))$ where $C(x,y)$ is detailed in **Fig. S1**.

Third, when both n_P and n_F are large this fitness function further reduces to

$$w(x,y,z) \approx \tilde{w}(x,y,z) = (1-m)\frac{F(x,y)}{(1-m)F(y,y)+mF(z,z)} + m\frac{F(x,y)b(y,z)}{F(z,z)} \tag{17}$$

This yields a further approximation for the selection gradient,

$$\Delta\tilde{S} = \frac{\partial\tilde{w}(x,y,z)}{\partial x} + R\frac{\partial\tilde{w}(x,y,z)}{\partial y}. \tag{18}$$

The selection gradients derived from $w(x,y,z)$ or $\tilde{w}(x,y,z)$ can be used to identify the singular strategies, where such gradients equal zero by definition. The results obtained with the more approximate gradient $\Delta\tilde{S}$ provide a very good fit with the results obtained with ΔS as soon as $n_\mathrm{F} > 10$ and $n_\mathrm{P} > 100$, which are realistic parameter values for crops. We used $\Delta\tilde{S}$ to predict the evolutionary stable strategies in **Fig. 3**.

C. Relatedness

R depends upon multiple factors such as seed sampling rules and crop reproductive biology. We compute R under the following assumptions. Individuals are haploid and reproduce asexually. Plant height is determined by a single locus. Progenies can differ in height from their parent with probability μ, the mutation rate. We further assume that the farmer draws a number of founding seeds, n_S, in the harvest, which are multiplied before sowing. In the finite island model, relatedness can be expressed as follows [1]:

$$R = \lim_{\mu\to 0}\frac{(Q_0 - Q_1)}{(1-Q_1)} \tag{19}$$

where Q_0 is the probability that two plants within a field have identical alleles for plant height and Q_1 the probability that two plants from different fields share the same allele for plant height. Following [3], we define the following quantities:

$$p_w = (1-m)^2 + m^2\left(\phi + \frac{(1-\phi)}{n_\mathrm{F}}\right) \tag{20}$$

$$p_a = \frac{2m(1-m)}{n_\mathrm{F}} + m^2\left(\phi + \frac{(1-\phi)}{n_\mathrm{F}}\right) \tag{21}$$

with p_w the probability that two founding seeds of a field at time t were produced in the same field at time $t-1$ and p_a the probability that two founding seeds of distinct fields at time t were produced in the same field at time $t-1$. The parameter ϕ controls the probability

that two founding seeds sampled in the migrant seed pool originate from the same field. When α, the parameter that scales the magnitude of among-field competition (see above) equals zero, then $\phi = 0$. In that case, fields contribute to the migrant seed pool proportionally to their productivity (scenario AF), and the probability that two seeds sampled in the migrant seed pool originate from the same field is $1/n_{\mathrm{F}}$. In contrast, when α tends toward infinity, $\phi = 1$. In that case, all the seeds in the seed pool originate from the most productive field (scenario TF). Probabilities of identities at t can thus be expressed as a function of those at $t-1$, as follows:

$$Q_{0,t} = \gamma\left(\frac{1}{n_{\mathrm{S}}} + \frac{(n_{\mathrm{S}}-1)}{n_{\mathrm{S}}}\left(p_w\left(\frac{1}{n_{\mathrm{P}}} + \frac{(n_{\mathrm{P}}-1)}{n_{\mathrm{P}}}Q_{0,(t-1)}\right) + (1-p_w)Q_{1,t-1}\right)\right) \quad (22)$$

$$Q_{1,t} = \gamma\left(p_a\left(\frac{1}{n_{\mathrm{P}}} + \frac{(n_{\mathrm{P}}-1)}{n_{\mathrm{P}}}Q_{0,(t-1)}\right) + (1-p_a)Q_{1,(t-1)}\right) \quad (23)$$

with $\gamma = (1-\mu)^2$. Solving $Q_{0,t} = Q_{0,(t-1)}$ and $Q_{1,t} = Q_{1,(t-1)}$ yields the equilibrium values $\hat{Q}_0$ and $\hat{Q}_1$, and then R as a limit when $\gamma \to 1$. When both n_{F} and n_{P} are large, relatedness reduces to:

$$R = \frac{1}{(1-m)^2 + \phi m^2 + n_{\mathrm{S}}(1-(1-m)^2)} \quad (24)$$

This expression provides a very good approximation for R as soon as $n_{\mathrm{F}} > 10$ and $n_{\mathrm{P}} > 100$, which are realistic parameter values for crops. We thus only present results obtained with the reduced expression in the manuscript. **Fig. S3** illustrates the effect of parameters m, ϕ and n_{S} on relatedness.

D. Individual-based simulations

We track the evolution of plant height by simulating the crop life cycle over 5000 generations. Simulations start with a monomorphic meta-population. Fields are circular, so that all plants have a neighbor on each side. Each plant produces a Poisson distributed number of seeds, with an expected value computed according to equation 2. Shading with all other $n_{\mathrm{P}} - 1$ individuals in the focal field are considered. Seeds are then harvested and sown just has described in the migration section, following three different scenarios (WF, AF and TF). Before sowing, founding seeds are multiplied without selection (same multiplication factor for all founding seeds). During the multiplication stage, progenies have a probability μ to deviate from their parental phenotype, with a mutation effect of $\pm 5cm$. The n_{P} seeds are then positioned randomly in the fields at sowing. We verified that the mutation-selection-drift equilibrium was reached after 5000 generations (see **Fig. S4**).

2. Data availability

Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated or analysed during the current study.

3. Code availability

All the code used in this article is available at https://github.com/germmtz/farming-plant-cooperation

4. References

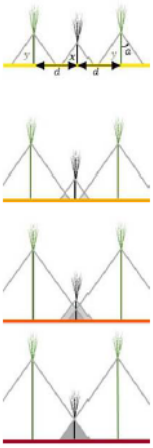
1. Rousset F, Billiard S. 2000 A theoretical basis for measures of kin selection in subdivided populations: finite populations and localized dispersal. Journal of Evolutionary Biology 13, 814–825. (doi:10.1046/j.1420-9101.2000.00219.x)

2. Taylor PD, Frank SA. 1996 How to make a kin selection model. Journal of Theoretical Biology 180, 27–37. (doi:10.1006/jtbi.1996.0075)

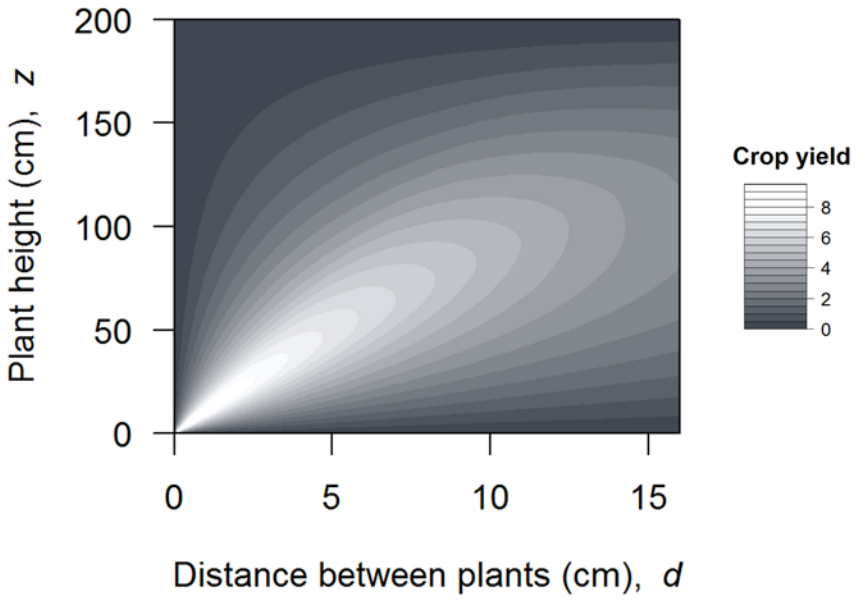
3. Cockerham CC, Weir BS. 1987 Correlations, descent measures: drift with migration and mutation. Proceedings of the National Academy of Sciences 84, 8512–8514. (doi:10.1073/pnas.84.23.8512)

5. Supplementary Figures and Tables

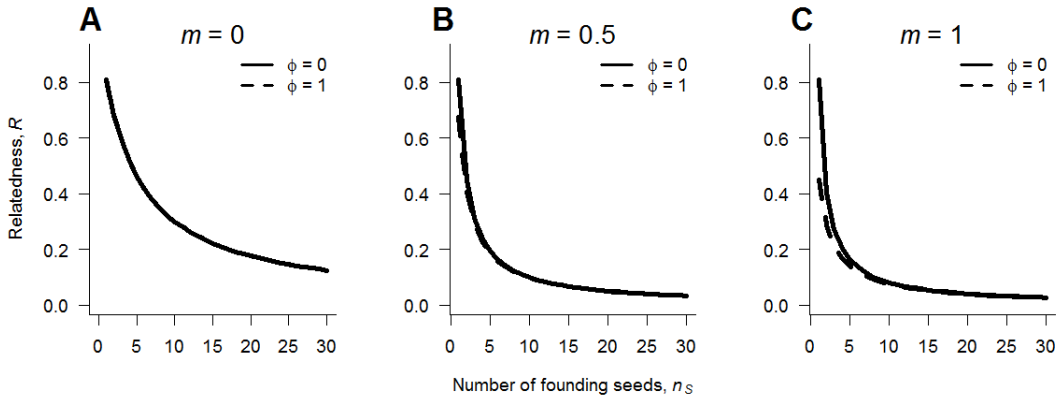
$$C(x,y) = \begin{cases} 0 & \text{if } y < \frac{d}{\tan(a)} - x \\ 1 - \frac{\tan(a)x^2 - \frac{(\tan(a)(x+y)-d)^2}{2\tan(a)}}{\tan(a)x^2} & \text{if } \frac{d}{\tan(a)} - x \leq y < \frac{d}{\tan(a)} \\ 1 - \frac{\tan(a)x^2 - \frac{(\tan(a)(x+y)-d)^2}{2\tan(a)} + \frac{(\tan(a)y-d)^2}{\tan(a)}}{\tan(a)x^2} & \text{if } \frac{d}{\tan(a)} \leq y < \frac{d}{\tan(a)} + x \\ 1 & \text{if } y \geq \frac{d}{\tan(a)} + x \end{cases}$$



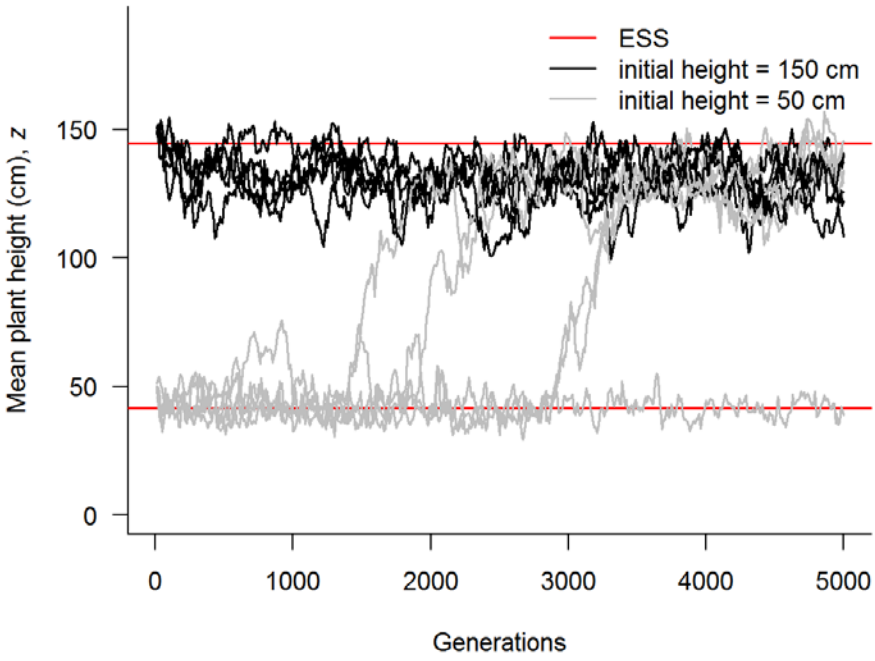
Supplementary Figure 1 *| Competition for light. Values of the C(x,y) function for different levels of competition.*



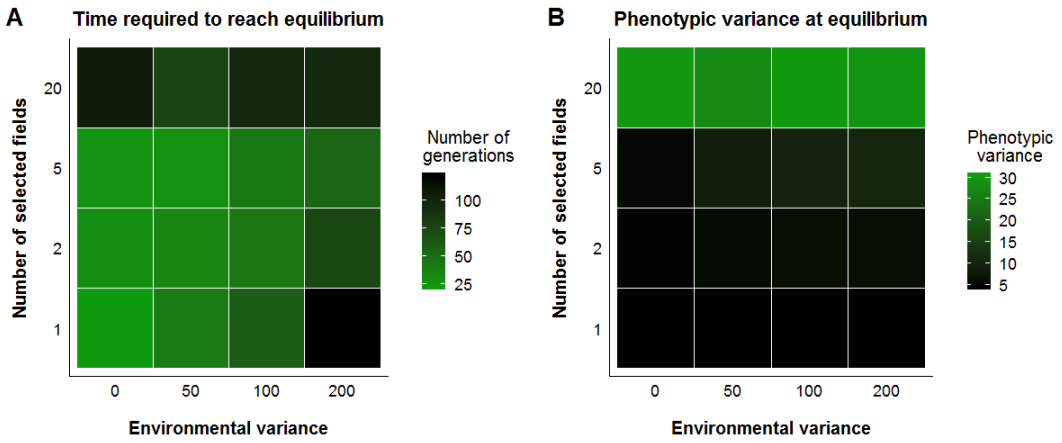
Supplementary Figure 2 *| Productivity. Grain yield was computed as* $F(z,z)/d$*. The darker the surface, the lower grain yield.*



Supplementary Figure 3 *| Relatedness. Relationship between relatedness and the number of founding seeds, n_S, for three different seed migration rates: $m = 0$, $m = 0.5$, $m = 1$. We computed relatedness according equation (24) from Supplementary Information. We tested two values for parameter ϕ, 0 (solid line) and 1 (dashed line).*



Supplementary Figure 4 *| Bistability. Evolution of plant height over 5000 generations with the AF strategy. These simulations are similar to those reported in Fig. 3E in the main text: the meta-population was composed of 20 fields, with 200 plants per field and 2 founding seeds were used to re-populate each field at each generation. In the first generation, the population was monomorphic, i.e. all plants had the same height z, with either z = 150 cm (black solid line) or z = 50 cm (grey solid line). Phenotypic variability was then generated by mutations. Mutation rate equalled 10%, meaning that on average 1 individual out of 10 differed in height from its parent. Mutation effect was set to ± 5 cm. Five runs of simulations are reported for each initial state. The curve represents the mean plant height in the meta-population every ten generations. The red horizontal lines show the predicted ESS.*



Supplementary Figure 5 *| Environmental stochasticity. We modeled the environmental stochasticity by adding a random normally distributed environmental effect of standard deviation 0 (no environmental effect), 50, 100 or 200 to field productivity at each generation. (A) Time required to reach the selection-mutation-drift equilibrium. We defined an interval of ± 2 sd around the ESS with sd the standard deviation of the mean plant height in the meta-population over the last 200 generations. We considered that equilibrium was reached when the mean plant height in the meta-population was within that interval for the first time. The darker the square, the later the equilibrium was reached. (B) Phenotypic variance at equilibrium. We computed the phenotypic variance as the mean phenotypic variance over the last 200 generations. The darker the square, the lower the phenotypic variance. (A) and (B): simulations were performed with 20 fields, 200 plants per field and 1 founding seed. In the first generation, the population was monomorphic, i.e. all plants had the same height z, with* $z = \hat{x} = 100$ *cm. Phenotypic variability was then generated by mutations. Mutation rate equalled 10%, meaning that on average 1 individual out of 10 differed in height from its parent. Mutation effect was set to ± 5 cm. The physical distance between plants, d, was set to 7 cm. For each environmental variance, we either selected the top 1 (TF strategy), 2, 5 or 20 (AF strategy) fields to sample the founding seed at each generation. Reported values are averaged over 10 simulations runs.*

Supplementary Table 1 | *Main notations.*

n_{F}	Number of fields in the meta-population
n_{P}	Number of plants per field
n_{S}	Number of founding seeds (seeds that are sampled and multiplied before sowing)
d	Distance between plants
x	Focal plant height
$\hat{x}$	Optimal focal plant height: height that maximizes the baseline fecundity of the plant
a	Light interception ability: angle at the summit of the triangle in the model
$\mathbf{y}_{iK}$, $\mathbf{y}_K$, $\mathbf{y}$	Vector of heights of the neighbors of the ith plant in the Kth field; one or both indices may be dropped when clear from context
$\mathbf{y}_K^{\mathrm{R}}$	Vector of heights of all plants in the Kth field
$\mathbf{z}_K$, $\mathbf{z}$	Vector of heights of the $n_{\mathrm{P}}(n_{\mathrm{P}}-1)$ plants in all fields except the Kth one; the index may be dropped when clear from context
y, z	Common values, assigned to all elements of $\mathbf{y}$ and $\mathbf{z}$, respectively, sufficient for the computation of the selection gradient
m	Seed migration rate: proportion of seeds sampled from the pool of migrant seeds
α	Among-field competition intensity
R	Relatedness
ΔS	Selection gradient
$\Delta\tilde{S}$	Approximate selection gradient
μ	Mutation rate
s	Mutation effect
Q_0	Probability for two plants in the same field to share the same allele for plant height
Q_1	Probability for two plants in different fields to share the same allele for plant height
p_w	Probability that two founding seeds of a field at time t were produced in the same field at time $t-1$
p_a	Probability that two founding seeds of distinct fields at time t were produced in the same field at time $t-1$
ϕ	Parameter that controls the probability that two founding seeds sampled in the pool of migrant seeds originate from the same field

RAPPEL DES OBJECTIFS ET RESULTATS PRINCIPAUX

Alors que la réintroduction de diversité génétique dans les agrosystèmes constitue une étape clé dans la transition vers des modes de production plus durables, notre compréhension des effets de la diversité génétique sur la performance agronomique est toujours limitée, notamment chez les grandes cultures. Cette thèse visait à mieux comprendre les interactions entre génotypes dans le cadre des mélanges variétaux afin d'identifier des stratégies de sélection et d'assemblage permettant d'optimiser l'utilisation de la diversité génétique en agriculture. Nous avons abordé cette problématique sous différents angles, en utilisant notamment des théories issues de l'écologie et de la biologie évolutive. Nous avons testé expérimentalement si ces théories permettaient d'expliquer la performance des mélanges en utilisant le blé et le riz comme des espèces modèles. Enfin nous avons utilisé un modèle théorique pour étudier la dynamique temporelle de la diversité dans les mélanges selon différents schémas de sélection.

Dans un premier temps nous avons testé si, conformément à l'hypothèse de complémentarité de niche, les différences phénotypiques entre les variétés sur les traits liés à l'utilisation des ressources généraient une productivité supérieure dans les mélanges grâce à un meilleur partage des ressources par rapport aux monocultures. Nous avons montré que les différences de profondeurs racinaires entre des variétés de riz n'étaient pas associées à une meilleure performance des mélanges, contrairement au patron attendu sous l'hypothèse d'une complémentarité de niche.

Notre deuxième expérience, conduite au champ avec des variétés de blé dur suggère que la relation entre la diversité phénotypique des variétés et la performance des mélanges est plus complexe que la relation positive directe prévue par la théorie de complémentarité de niche, et implique une combinaison de traits à la fois aériens et souterrains. Par ailleurs, ces deux expériences suggèrent que d'autres mécanismes que la complémentarité de niches peuvent expliquer la performance des mélanges, notamment des effets associés aux traits moyens des mélanges. L'approche basée sur les traits nous a permis d'identifier les combinaisons de stratégies écologiques les plus bénéfiques pour plusieurs composantes de la performance agronomique.

Ensuite, une approche génétique conduite sur les mélanges de blé dur cultivés au champ nous a permis d'identifier un effet négatif de la diversité allélique à un locus sur la performance des mélanges et la résistance à la septoriose. A ce locus, les génotypes cultivés avec un voisin ayant un allèle différent du leur étaient à la fois plus atteints par la maladie et moins productifs. Le patron génétique identifié est en accord avec un effet « barbe verte », selon lequel des gènes peuvent favoriser leur propre transmission en rendant les individus qui les portent plus coopératifs envers les individus partageant ce même gène ou plus compétitifs envers les individus possédant une copie différente.

Enfin, via un modèle théorique basé sur la théorie de sélection de parentèle, nous avons montré comment l'apparentement et la sélection à l'échelle du groupe pouvaient être mobilisés pour sélectionner des phénotypes altruistes, c'est-à-dire peu compétitifs, et ainsi maximiser les rendements de la population dans son ensemble. Ces résultats permettent d'envisager des méthodes de sélection et de gestion des mélanges avec lesquelles les phénotypes les plus

favorables pour la productivité ne sont pas perdus au fil des générations à cause de la compétition entre plantes.

DISCUSSION

1. Vers un compromis entre diversité et uniformité

Nos résultats révèlent la complexité de la relation qui lie la diversité intra-spécifique à la performance agronomique. Nous montrons notamment que les effets positifs de la diversité sur les rendements ne sont pas forcément liés à une forte diversité sur les traits les plus attendus. Par ailleurs, nous montrons que les mélanges ne sont performants que s'ils sont uniformes sur certains traits. A l'échelle génomique, il semble même que la diversité allélique puisse avoir des effets négatifs sur la performance. Une description multivariée de la composition fonctionnelle des mélanges et de la performance agronomique permet de mieux capturer cette complexité.

A. Les mécanismes à l'origine des effets positifs de la diversité

La complémentarité de niche

La conception théorique des mélanges variétaux repose souvent sur l'idée qu'associer des variétés avec des caractères phénotypiques différents va aboutir à un « bon » rendement de l'association. Cela a poussé certains auteurs à proposer de mélanger des variétés caractérisées par des valeurs différentes pour certains traits liés à l'acquisition et à l'utilisation des ressources, comme la profondeur racinaire (e.g. Barot et al. 2017 ; Litrico et Violle 2015). Par ailleurs, la complémentarité spatiale d'utilisation des ressources souterraines est un des mécanismes avancés pour expliquer les relations positives entre la biodiversité et la productivité dans les écosystèmes naturels (Berendse 1981 ; Mueller et al. 2013). L'expérience présentée et analysée dans le premier chapitre suggère que les différences de profondeurs racinaires à elles seules ne génèrent pas de gain de productivité en biomasse, et ne supporte donc pas l'hypothèse d'une complémentarité spatiale d'utilisation des ressources souterraines (Montazeaud *et al.* 2018). Les conditions expérimentales choisies étaient plutôt favorables pour détecter un tel effet s'il existe. Tout d'abord, les lignées isogéniques nous ont permis de nous affranchir des effets confondants liés aux variations phénotypiques sur d'autres traits, comme par exemple la hauteur. Ensuite, nous avons utilisé un traitement limitant en ressources induisant une hétérogénéité spatiale de la disponibilité en phosphore, ce qui aurait théoriquement pu renforcer les effets de complémentarité (Craven *et al.* 2016). Nos résultats mériteraient d'être testés au champ, mais ils semblent cohérents par rapport aux conclusions qui émergent des études menées en écologie au cours des dernières années. En effet dans une récente méta-analyse recoupant 21 expériences menées dans des communautés prairiales, Barry *et al.* (2019) n'ont trouvé aucun lien entre la distribution spatiale des racines dans le sol et la productivité.

Avec les mélanges de blé dur, il n'a pas été possible de mesurer la profondeur racinaire au champ. Cependant, nous avons pu estimer l'encombrement horizontal du système racinaire en mesurant l'angle du cône racinaire de chaque génotype. A nouveau, nous n'avons trouvé aucune relation entre la performance agronomique des mélanges et les différences d'angle racinaire entre les génotypes. Ainsi, nos résultats montrent dans l'ensemble que la diversité spatiale des systèmes racinaires ne semble pas jouer un rôle significatif dans la performance

des mélanges. Cela est certainement lié au fait que notre représentation du sol et des interactions qui s'y déroulent est trop simpliste. Par exemple, la répartition spatiale et temporelle des ressources est probablement beaucoup plus hétérogène à la fois dans l'espace et dans le temps que ce que nous imaginons quand nous faisons l'hypothèse d'une complémentarité d'utilisation des ressources basée uniquement sur une variabilité des profondeurs racinaires (Lynch 2007). Ainsi, d'autres formes de complémentarité pourraient être plus efficaces à mobiliser pour les mélanges variétaux, comme le suggèrent nos résultats dans cette expérience. Nous avons en effet montré que des différences de stratégies d'exploration du sol basées sur des intensités de branchements racinaires variables avaient un effet positif sur la productivité des mélanges. Alors que les racines très ramifiées explorent le sol de façon intensive en produisant beaucoup de longueur de racines secondaires autour de la racine principale, les racines moins ramifiées explorent le sol de façon plus extensive mais leurs distances inter-ramifications élevées leur permettent d'explorer également de grands volumes de sol (Hodge 2004 ; Liese, Alings, et Meier 2017). La combinaison de génotypes présentant ces deux types de stratégies pourrait permettre de valoriser de façon efficace des ressources spatialement hétérogènes.

L'effet de sélection

Contrairement à l'effet de complémentarité qui est très souvent mentionné dans la littérature traitant des mélanges variétaux, l'effet de sélection que nous avons mis en évidence dans l'expérience avec les mélanges de variétés de riz est très peu discuté, et encore moins considéré comme mobilisable pour augmenter la productivité des mélanges (Barot et al. 2017 ; Borg et al. 2018 ; Litrico et Violle 2015). Pour rappel, l'effet de sélection décrit le fait que dans un mélange, certaines espèces ou certains génotypes peuvent avoir des phénotypes qui leur permettent de s'attribuer une proportion plus importante des ressources que les autres et ainsi de contribuer de façon disproportionnée au rendement du mélange (Loreau & Hector 2001). L'effet de sélection peut être positif lorsque les génotypes qui contribuent le plus à la productivité du mélange sont également les plus productifs en monoculture. L'acquisition disproportionnée des ressources par les génotypes dominants peut se faire au détriment des génotypes moins compétitifs. Dans ce cas, l'effet de sélection est positif seulement si le gain de productivité des génotypes dominants est supérieur à la perte subie par les génotypes dominés.

Dans les écosystèmes naturels, l'effet de sélection peut contribuer de façon importante à la productivité des communautés végétales (e.g. Fargione et al., 2007 ; Polley et al., 2003 ou Wagg et al., 2017). En agronomie, l'effet de sélection a surtout été discuté dans le contexte des cultures associées (Willey 1985 ; Zhang et Li 2003). Cette pratique consiste à cultiver plusieurs espèces dans une même parcelle, par exemple du blé et de la féverole, ou bien de l'orge et du pois. Dans cette littérature, même s'il n'est pas aussi finement formulé que par Loreau et Hector (2001), l'effet sélectif est déjà bien décrit et il est interprété comme une différence d'aptitude à la compétition entre les espèces (Willey & Rao 1980). Cet effet est intégré dans la réflexion économique du choix de l'association d'espèces puisqu'il conduit à privilégier le rendement d'une espèce par rapport aux autres, tout en conservant un bénéfice global par rapport à des cultures pures (Lithourgidis et al. 2011 ; Willey 1985).

Dans le cas des mélanges variétaux, l'effet de sélection a essentiellement été discuté dans le contexte de la réponse aux pathogènes (Finckh *et al.* 2000). La réduction des maladies en mélange peut en effet être causée par un effet de sélection. Dans ce cas, le génotype le plus résistant représente une proportion plus importante qu'attendue de la biomasse végétale. Ainsi, lors de la notation visuelle des symptômes, il pèse un poids plus important qu'attendu dans l'évaluation de la sévérité de la maladie et contribue de façon disproportionnée à faire baisser la note globale de sévérité de la maladie (Finckh & Mundt 1992). Cet effet pourrait cependant être utilisé indirectement pour optimiser d'autres services comme par exemple la qualité des grains. En effet nous avons montré que le fait d'avoir associé des génotypes compétitifs aboutissait à une compétition accrue dans les mélanges de variétés de blé dur après la floraison et pouvait augmenter le taux de protéines dans les grains par rapport aux variétés pures. Ce phénomène déjà observé pour les cultures associées (Bedoussac *et al.* 2015) peut avoir un vrai intérêt pour améliorer la qualité de la production d'un mélange variétal. Ainsi, ces résultats soulignent que les interactions négatives entre les variétés, telles que les interactions compétitives, peuvent *in fine* être bénéfiques pour certaines composantes de la performance agronomique des mélanges. Il semble cependant difficile de mobiliser de tels effets de façon durable dans des mélanges dynamiques, c'est-à-dire des mélanges qui sont ressemés à partir de leur propre récolte. En effet, de tels écarts d'aptitude à la compétition entre les variétés vont générer des écarts forts de rendements entre les variétés dominantes et les variétés dominées. Ainsi, la proportion de grains issus des variétés dominantes va augmenter au fil du temps, et les variétés dominantes vont finir par envahir le mélange (Harlan et Martini 1938 ; Suneson et Wiebe 1942). Comme décrit dans le cadre de la Tragédie des Communs (Hardin 1968), cette situation entrainera une diminution de la productivité à cause de l'intensité de la compétition croissante entre les variétés (Jennings et Jesus 1968 ; Donald 1963; 1968). Les effets de sélection sont donc potentiellement intéressants pour des mélanges « fixes », c'est-à-dire assemblés à chaque semis en contrôlant la proportion de chaque variété, mais ils ne sont pas durables dans le cas de mélanges dynamiques.

B. Interprétation du lien entre le trait moyen et la performance des mélanges

Les mélanges variétaux s'inscrivent dans une démarche générale qui vise à augmenter les niveaux de diversité dans les agrosystèmes, notamment pour les amener à des niveaux de diversités plus proches de ceux qui peuvent être rencontrés dans les écosystèmes naturels (Barot et al. 2017 ; Violle et al. 2007). Cependant, la diversité n'est pas le seul facteur déterminant pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes naturels. La structure fonctionnelle des communautés naturelles dépend également des propriétés moyennes des espèces et des individus qui les composent (Grime 1998), qui peuvent être décrites par le calcul des traits moyens pondérés par les abondances relatives des différentes espèces (Garnier, Navas, et Grigulis 2015 ; Violle et al. 2007). De nombreux travaux d'écologie ont montré le rôle significatif de l'identité fonctionnelle des communautés dans le fonctionnement des écosystèmes, notamment pour la productivité (Mokany, Ash, et Roxburgh 2008 ; Schumacher et Roscher 2009 ; Garnier, Navas, et Grigulis 2015).

L'approche fonctionnelle développée autour du trait moyen est ancrée dans la théorie du rapport de masse (« mass ratio theory », Grime 1998) : le trait moyen est calculé de sorte à représenter le phénotype dominant de la communauté. Ainsi, la façon la plus commune d'interpréter un lien entre le trait moyen et la productivité de la communauté est d'invoquer un effet de sélection (Garnier, Navas, et Grigulis 2015 ; Cadotte 2017). Il s'agit de l'interprétation la plus parcimonieuse, mais elle fait cependant une hypothèse qui ne peut être vérifiée uniquement à partir de la relation CWM-performance : elle suppose que ce phénotype dominant a été « sélectionné » par le mélange, c'est-à-dire que la productivité relative des individus qui l'exprime a augmenté dans le mélange par rapport à leur monoculture. L'effet de sélection traduit en effet une corrélation entre le rendement en monoculture et le changement de rendement entre monoculture et mélange (*cf* Introduction & Loreau et Hector 2001). Dans le premier chapitre, nous avons montré à l'aide des relations entre la productivité relative (Relative Yield, RY) en biomasse des génotypes de riz et leur valeur de trait que la surface spécifique foliaire était impliquée dans un effet de sélection : les génotypes ayant des surfaces spécifiques foliaires plus faibles que leur voisin voyaient leur productivité augmenter en mélange par rapport à leur monoculture (**Figure 1b**). Cependant, la relation entre le trait moyen pondéré (CWM) des mélanges calculés sur la surface spécifique foliaire et leur rendement relatif (RYT) n'est pas significative (**Figure 1a**). Ainsi, nous n'aurions pas pu détecter cet effet de sélection en passant par le CWM. De même, dans le deuxième chapitre, nous avons montré que le CWM calculé sur la densité des tissus racinaires adventifs était relié positivement à la productivité relative des mélanges en biomasse (**Figure 1d**). Cependant, la productivité relative de chacun des génotypes dans le mélange ne semble pas avoir été affectée par la valeur de densité des tissus racinaires relative de chacun des génotypes (**Figure 1e**). Ainsi, il ne semble pas que l'effet de la densité des tissus racinaires soit interprétable comme un effet de sélection.

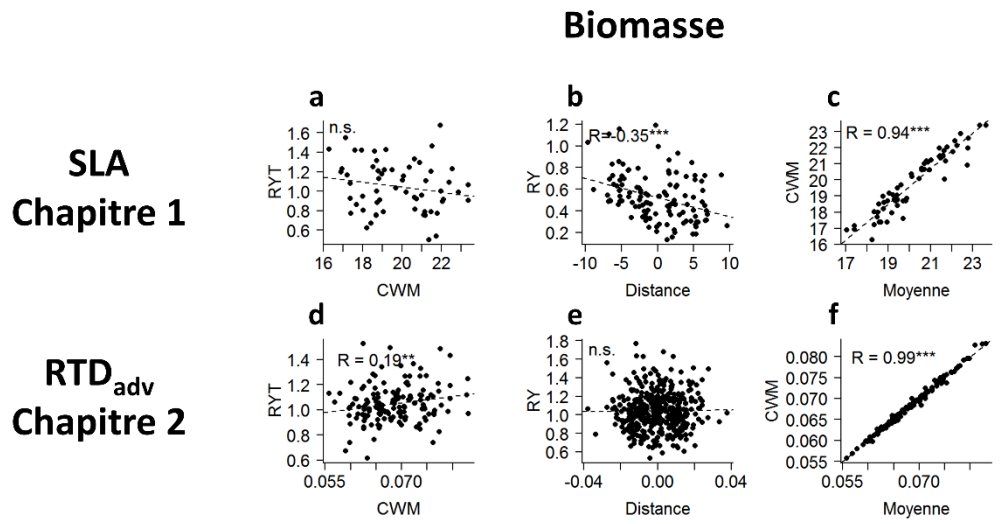


Figure 1 *: Interprétation du lien entre le trait moyen pondéré des mélanges (CWM) et leur performance relative par rapport aux monocultures correspondantes (RYT). (**a**) et (**d**) : relation entre le RYT mesuré sur le rendement en biomasse dans les mélanges de riz (**a**) et de blé dur (**d**) et la valeur du trait moyen pondéré des mélanges (CWM) calculé sur la surface spécifique foliaire (**a**) et sur la densité des tissus racinaires adventifs (**b**). (**b**) et (**e**) : relation entre le rendement relatif en biomasse de chaque génotype dans les mélanges de riz (**b**) et de blé dur (**e**) et la distance phénotypique hiérarchique entre le génotype et son voisin sur la surface spécifique foliaire (**b**) et sur la densité des tissus racinaires adventifs (**e**). (**c**) et (**f**) : relations entre les traits moyens pondérés (CWM) et non-pondérés des mélanges calculés sur la surface spécifique foliaire (**c**) et sur la densité des tissus racinaires adventifs (**f**).*

Globalement, il semble donc assez difficile d'interpréter les relations performance-CWM comme des effets de sélection avec nos données. Cette déconnexion avec le cadre théorique classique de l'écologie fonctionnelle peut s'expliquer par le changement d'échelle entre les analyses inter-spécifiques et les analyses intra-spécifiques. Les différences de biomasse entre les espèces sont globalement plus marquées que les différences de biomasses entre les génotypes à l'intérieur des espèces. Ainsi, le fait de pondérer les valeurs de traits par les biomasses relatives change considérablement la valeur du trait moyen des communautés par rapport à une moyenne non-pondérée. Ce changement peut capturer l'effet de sélection si les espèces qui représentent les plus fortes biomasses sont aussi celles dont la biomasse augmente le plus en mélange par rapport à leur monoculture. A l'échelle intra-spécifique, les différences de biomasse entre les génotypes sont beaucoup moins marquées. Ainsi, la pondération des valeurs de traits n'apporte pas d'information supplémentaire par rapport à la valeur non pondérée, c'est tout du moins ce que semblent indiquer nos données (**Figure 1c et f**).

Ainsi, d'après nos résultats, la relation CWM-performance semble devoir être interprétée comme une relation entre le phénotype moyen (et non comme le phénotype dominant) du mélange et sa performance. Selon la nature des traits impliqués, deux interprétations alternatives sont possibles: (i) pour les traits dont la valeur phénotypique n'affecte que la performance des individus, et pas celle de leur voisin, la relation phénotype moyen-performance détectée à l'échelle du mélange n'est que le reflet de la relation phénotype-performance mesurée à l'échelle des individus ; (ii) pour les traits dont la valeur phénotypique affecte la performance des individus, mais aussi celle de leur voisin, la relation phénotype

moyen-performance détectée à l'échelle du mélange reflète le compromis entre performance individuelle et performance de groupe.

Les traits s'inscrivant dans la première catégorie regroupent les traits d'adaptation à l'environnement abiotique et certains traits agronomiques qui déterminent la productivité à l'échelle de la plante seule, comme l'efficience de la photosynthèse. L'effet positif de la densité moyenne des tissus racinaires sur le rendement des mélanges que nous avons identifié dans le deuxième chapitre de cette thèse peut être interprété comme une adaptation à l'environnement abiotique. En effet, la densité des tissus peut être reliée aux propriétés biomécaniques des racines, notamment à leur résistance à l'arrachement (Ennos et Fitter 1992 ; Liu et al. 2018). Ainsi, des plantes avec des densités racinaires plus fortes résistent mieux à l'arrachement et donc à la verse. Cet effet est bénéfique à la fois à l'échelle individuelle et à l'échelle du groupe et il reflète globalement une adaptation à des conditions de vents forts. Nous pourrions également imaginer un caractère lié à l'adaptation au type de sol. Ces traits affectent donc essentiellement la performance des individus qui les expriment, mais pas directement celle de leur voisin. Dans l'objectif de sélectionner les phénotypes les plus favorables pour optimiser la performance d'un mélange, ces traits pourraient être sélectionnés sur chacune des variétés individuellement, et les effets bénéfiques obtenus par sélection sur chacune des variétés devraient s'additionner dans le mélange.

Les traits appartenant à la deuxième catégorie sont impliqués dans les interactions intra-spécifiques, notamment en lien avec la compétition pour les ressources. La relation entre la valeur moyenne de ces traits dans le mélange et la performance des mélanges peut être vue comme une démonstration de l'idée originale de Donald, selon laquelle l'intensité de la compétition intra-spécifique doit être minimisée afin de maximiser les rendements (Donald 1968). Nous pouvons également interpréter l'effet de la densité des tissus racinaires selon cet effet. En effet, la densité des tissus racinaires est aussi liée à la stratégie d'acquisition des ressources des plantes (Craine *et al.* 2003). Elle donne une estimation la quantité de matière sèche investie par volume de racine et quantifie donc le coût en carbone des tissus racinaires. De fortes densités de tissus racinaires sont généralement associées à des stratégies d'utilisation des ressources plutôt conservatives, c'est-à-dire à des activités métaboliques faibles, à des vitesses de croissance lentes et à des capacités d'exploration du sol limitées (Roumet, Urcelay, et Díaz 2006 ; Ryser 1996). Les espèces ou les plantes qui ont de fortes densités de tissus racinaires sont par conséquent généralement peu productives et peu compétitrices (Kramer-Walter et al. 2016 ; Wahl et Ryser 2000). Sur cette base, l'effet positif de la densité des tissus racinaires moyenne sur les rendements pourrait être lié à une diminution de la compétition intra-spécifique à l'échelle du mélange. De la même façon, de fortes teneurs en azote dans les feuilles reflètent généralement des stratégies plutôt acquisitives, et donc compétitives (Westoby 1998 ; Wright et al. 2004). Ainsi, l'effet négatif de la teneur en azote moyenne des feuilles sur la production de biomasse des mélanges détecté dans le deuxième chapitre pourrait être interprété de la même façon : les mélanges ayant combiné des génotypes avec de fortes concentrations en azote dans les feuilles ont pu connaître une compétition plus forte pour les ressources qui a abouti à une productivité plus faible en biomasse.

Ainsi, l'effet du trait moyen du mélange peut aussi être interprété dans le cadre théorique de la sélection multi-niveau (« multilevel » selection) développé en biologie évolutive (Goodnight 1985 ; Stevens, Goodnight, et Kalisz 1995). Cette approche de la sélection considère que, dans le cas d'une population structurée spatialement, les traits sont soumis à deux gradients de sélection : un gradient de sélection à l'échelle individuelle, et un gradient de sélection à l'échelle du groupe. Le premier gradient décrit la relation entre la valeur sélective d'un individu et sa propre valeur de trait, alors que le deuxième gradient décrit la relation entre la valeur sélective de l'individu et la valeur moyenne du trait des individus dans son groupe. Il a été montré que l'approche théorique développée dans le cadre de la sélection multi-niveau était très proche de la théorie de la sélection de parentèle (Lion *et al.* 2011). En effet, si le gradient de sélection individuel et le gradient de sélection de groupe sont de signes opposés, l'altruisme peut devenir une stratégie avantageuse à l'échelle du groupe.

En suivant ce cadre théorique, les traits n'ayant pas d'effets sur la performance des plantes voisines peuvent être qualifiés de « non-sociaux ». Ainsi, on s'attend à ce qu'ils ne soient soumis qu'à un gradient de sélection à l'échelle individuelle, et pas à l'échelle du groupe (**Figure 2A**). Ces traits peuvent donc être sélectionnés en monoculture, voire en plante isolée. A l'inverse, les traits ayant des effets sur la performance des plantes voisines sont des traits « sociaux », ils sont donc soumis à un double gradient de sélection : un gradient à l'échelle de l'individu, et un gradient à l'échelle du groupe. Nous n'avons pas détecté de traits dont les effets seraient compatibles avec des gradients de sélections allant dans la même direction à l'échelle de l'individu et à l'échelle du groupe. Il semblerait que les traits identifiés (p. ex. densité des tissus racinaires adventifs ou teneur en azote des feuilles) soient plutôt soumis à des gradients de sélection de sens opposés à l'échelle de l'individu et à l'échelle du groupe : (**Figure 2B**). Pour maximiser la performance de groupe, qui est la grandeur intéressante pour une espèce cultivée, il est donc nécessaire de mobiliser la sélection de parentèle afin de sélectionner des phénotypes altruistes. L'idée d'utiliser la sélection de parentèle pour sélectionner de tels phénotypes chez les espèces cultivées reçoit de plus en plus d'intérêt dans la littérature (Denison 2012 ; Murphy et al. 2017 ; Weiner 2019 ; Weiner et al. 2017). Nous avons montré dans le dernier chapitre de cette thèse comment utiliser l'apparentement et la sélection à l'échelle du groupe dans des schémas de sélection pour sélectionner des phénotypes altruistes. L'analyse des relations entre le trait moyen des mélanges et leur performance pourrait donc permettre de repérer d'autres traits sociaux intéressants pour augmenter la coopération dans les mélanges.

Selon ces interprétations, nous aurions pu nous attendre à observer une relation entre la

***Figure 2** : Représentation schématique des deux interprétations possibles de la relation entre le trait moyen et la performance du mélange d'après nos résultats. (**A**) Sur certains traits, la valeur du phénotype de l'individu n'affecte pas la performance de ses plantes voisines, on parle de trait « non-sociaux ». Ainsi, la relation observée entre le trait moyen et la performance du mélange n'est que le reflet de la relation qui est observée entre la valeur du trait des individus et leur propre performance. Dans le cadre de la sélection multi-niveau, ces traits sont uniquement soumis à un gradient de sélection à l'échelle individuelle, le gradient de sélection à l'échelle du groupe est nul. Ainsi, les gains qui peuvent être obtenus en terme de productivité à l'échelle du groupe ne sont que la somme des gains qui peuvent être obtenus directement par sélection sur chacun des individus. Les traits d'adaptation à l'environnement abiotique sont soumis à ce type de gradient de sélection. (**B**) Sur d'autres traits, la valeur du phénotype des individus affecte la performance des plantes voisines, on parle de traits « sociaux ». La relation entre le trait moyen et la performance du mélange reflète donc la somme des gradients de sélection à l'échelle de l'individu et à l'échelle du groupe. Dans notre cas, les patrons identifiés semblent indiquer des gradients de sélection opposés à l'échelle de l'individu et à l'échelle du groupe : pour augmenter la performance du mélange, il faut donc déplacer la valeur du trait dans la direction qui diminue la performance individuelle, comme formalisé dans la Tragédie des Communs. Les traits impliqués dans la compétition pour les ressources sont soumis à ce type de gradient de sélection. D'après Weiner (2019).*

performance des mélanges et leur hauteur moyenne. En effet, ce trait est bien connu pour avoir un lien à la fois avec la compétitivité des espèces mais aussi avec leur rendement que ce soit en culture pure ou en association (Donald 1963; 1968 ; Jennings et Aquino 1968). C'est d'ailleurs pour cela que nous l'avons choisi pour étudier l'altruisme dans le dernier chapitre. Comme nous l'avons formalisé dans ce dernier chapitre, les gradients de sélection sur ce trait ne sont pas linéaires. A l'échelle individuelle la relation fécondité-hauteur est quadratique : la hauteur qui maximise la performance des individus est une hauteur intermédiaire. A l'échelle du groupe, la fécondité de la plante focale décroit de façon sigmoïde avec la hauteur moyenne des plantes voisines. La combinaison de ces deux gradients de sélection se traduit en une relation quadratique entre la performance du groupe et sa hauteur moyenne, comme cela peut être observé sur la Figure 3 du Chapitre 4 pour une densité donnée. Nous aurions donc pu nous attendre à observer une telle relation quadratique entre la performance des mélanges et leur hauteur moyenne (ou CWM), ce qui n'as pas été le cas. Il semblerait que la plasticité phénotypique entre les mélanges et les monocultures soit à l'origine de cette déconnexion. Des analyses complémentaires (**Figure 3**) basées sur les traits mesurés dans les mélanges montrent que contrairement à ce que nous avons observé avec les données des cultures pures (Chapitre 2), la hauteur mesurée dans les mélanges est le principal trait aérien qui explique la performance des mélanges, et que la relation entre la hauteur moyenne des mélanges et leur performance est quadratique, en accord avec les hypothèses faites dans notre modèle théorique (Chapitre 4). Ce résultat suggère qu'il est important de prendre en compte la plasticité phénotypique entre les monocultures et les mélanges afin de mieux comprendre les liens entre la composition fonctionnelle et la performance des mélanges.

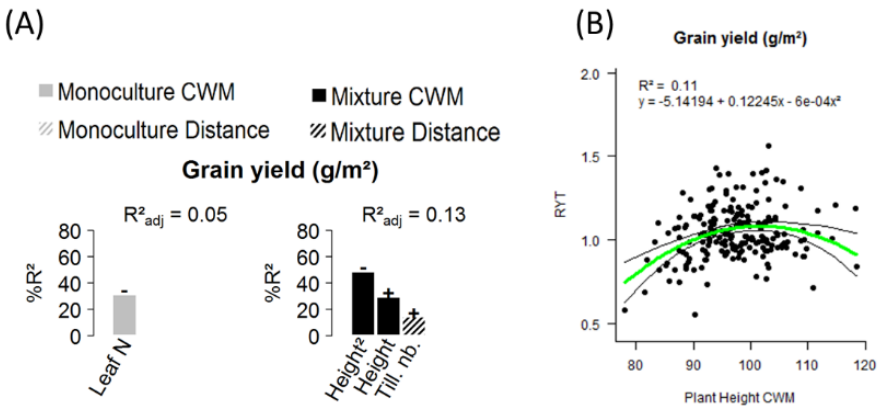


***Figure 3** : Effet de la hauteur moyenne pondérée (CWM) des variétés sur le rendement des mélanges. (**A**) Résultats d'une procédure de sélection de modèle visant à expliquer le rendement relatif des mélanges (RYT) par la diversité fonctionnelle (ici mesurée comme la distance phénotypique, en barres hachurées) et l'identité fonctionnelle (CWM, en barres pleines) des mélanges mesurée sur 8 traits aériens (biomasse par individu, nombre de talles par individu, angle aérien, surface spécifique foliaire, azote foliaire, hauteur, date d'épiaison, date de maturité physiologique). En gris sont reportés les résultats de la sélection de modèle pour les traits mesurés en monoculture. En noir, les résultats sont obtenus à partir des traits des mélanges. Les barres représentent les pourcentages de variance expliqués par les variables dans le modèle le plus parcimonieux. (**B**) Relation entre le rendement relatif (RYT) des mélanges et la hauteur moyenne pondérée (CWM) de leurs composantes variétales. Le modèle quadratique était ici plus parcimonieux qu'un modèle de régression linéaire : $\Delta_{AIC\ quatratique-linéaire} = -14$*

C. Les mécanismes à l'origine des effets négatifs de la diversité

Dans les deux expériences que nous avons menées, certains mélanges ont été moins productifs que la moyenne de leurs composantes en monoculture. C'était par exemple le cas de 43% des mélanges de blé durs cultivés au champ (Chapitre 2, Figure 2b). Ce résultat est en accord avec les données accumulées plus généralement sur les mélanges à ce jour (Borg et al. 2018 ; Kiær, Skovgaard, et Østergård 2009 ; Reiss et Drinkwater 2018). Deux mécanismes peuvent expliquer ces effets négatifs de la diversité.

Tout d'abord, il est possible que la diversité introduite génère des différences d'aptitude à la compétition entre les variétés. Ces différences peuvent *in fine* aboutir à des gains de rendement si la variété la plus compétitive profite plus du mélange que la variété la moins compétitive, comme nous l'avons montré dans le premier chapitre avec l'effet de sélection. Cependant, la hiérarchie de compétition peut également aboutir à une productivité plus faible, par exemple si la perte de productivité subie par la variété la moins compétitive est supérieure au gain de la variété la plus compétitive. Il a été montré que des mélanges de variétés ayant des hauteurs différentes pouvaient être moins performants que des mélanges plus homogènes (Donald 1963 ; Jennings et Aquino 1968). Ce patron a par ailleurs été confirmé par notre modèle ESS (Chapitre 4) : nous n'avons pas pu identifier de scénarios où à l'équilibre, la performance

de groupe est maximisée par la coexistence de plusieurs phénotypes de hauteur dans la même parcelle.

Ensuite, un mécanisme de reconnaissance entre apparentés ou de reconnaissance entre gènes (effet barbe verte) pourrait également réduire la performance des mélanges. En analysant les interactions entre génotypes à l'échelle allélique, nous avons mis en évidence un effet négatif de la diversité allélique à un locus sur la performance des mélanges et la résistance à la septoriose. Ce patron est compatible avec un effet barbe verte. Un tel effet n'a à ce jour jamais été démontré dans la littérature s'intéressant à la génétique des interactions plante-plante (Subrahmaniam *et al.* 2018). A ce stade, il reste difficile de visualiser comment pourrait s'opérer l'interaction entre les génotypes, et des expériences plus approfondies seraient nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents. L'effet négatif de la diversité allélique pourrait émerger de deux phénomènes différents : un génotype donné pourrait être plus coopératif envers des voisins partageant le même allèle au locus concerné, ou bien il pourrait être plus compétitif envers des voisins ayant un allèle différent. Comme discuté dans le troisième chapitre, le modèle le plus proche de nos résultats chez les plantes est *Artemisia tridentate*. Chez cet arbuste, il a été montré que les mécanismes de défense à l'herbivorie (sécrétion de tannins) étaient stimulés lorsque les individus étaient exposés à des composés organiques volatiles émis par des individus apparentés (Karban et Shiojiri 2009 ; Karban Richard et al. 2013). Dans ce cas l'effet associé à l'apparentement est donc une coopération plus forte en présence de voisins apparentés, et non une compétitivité accrue envers les voisins non-apparentés. Cependant, l'approche expérimentale utilisée par les auteurs ne permet pas de cibler les locus impliqués dans la reconnaissance et/ou l'émission du signal et/ou la réception du signal. L'hypothèse la plus parcimonieuse pour expliquer ces résultats est donc la reconnaissance entre apparentés, et non l'effet barbe verte.

Il est intéressant de noter la plus-value de l'approche allélique pour discerner les deux types d'effets négatifs que peut avoir la diversité génétique sur la performance : les écarts d'aptitude à la compétition d'une part, et les effets de reconnaissance d'autre part (reconnaissance entre apparentés et effet barbe verte). Si les résultats obtenus par Karban et al. chez *Artemisia tridentate* sont convaincants puisqu'ils utilisent directement une manipulation du signal de reconnaissance (les composés organiques volatiles), beaucoup d'autres études affirmant l'existence de mécanismes de reconnaissance chez les plantes ont été beaucoup plus controversés (Klemens 2008 ; Till-Bottraud et Villemereuil 2016 ; Pennisi 2019). Différents travaux ont testé l'existence de ce mécanisme en comparant la performance de plantes cultivées dans des groupes d'individus apparentés à la performance de plantes cultivées dans des groupes d'individus non-apparentés (Biernaskie 2011 ; Cheplick et Kane 2004 ; Donohue 2003 ; Rubén Milla et al. 2009 ; Stachowicz et al. 2013). Ces travaux ont obtenu des résultats très variables, avec dans certains cas une performance supérieure des groupes apparentés (Andalo, Goldringer, et Godelle 2001 ; Donohue 2003 ; Stachowicz et al. 2013), dans d'autres cas le résultat inverse (Milla *et al.* 2009). Il a par la suite été montré que les écarts d'aptitude à la compétition entre les génotypes pouvaient expliquer à eux seuls les résultats obtenus dans ces expériences (Masclaux *et al.* 2010). En effet, un groupe de plantes apparentées et peu compétitives peut être

plus performant qu'un groupe de plantes non apparentées avec des aptitudes à la compétition variables. A l'inverse, un groupe de plantes apparentées et très compétitives peut être moins performant qu'un groupe de plantes non apparentées avec des aptitudes à la compétition variable : la compétitivité des individus sur lesquels sont menées ces expérimentations interfère donc avec l'effet de l'apparentement, et de telles approches ne parviennent pas à démontrer de façon convaincante l'implication d'un mécanisme de reconnaissance. Chez le blé, les expériences ayant explicitement testé l'effet de reconnaissance en prenant en compte les différences de compétitivité entre les variétés n'ont pas pu mettre en évidence une reconnaissance entre les variétés apparentées à ce jour (Fréville *et al.* 2019). Cependant, ces expériences ont uniquement fait varier l'apparentement généalogique entre les variétés, et n'étaient donc pas en mesure de tester l'effet d'un apparentement localisé au niveau d'un seul locus ou de quelques locus en déséquilibre de liaison, comme attendu sous l'effet barbe verte. Ainsi, l'approche allélique semble prometteuse pour détecter et étudier ces effets de reconnaissance qui restent pour l'instant assez peu décrits chez les plantes.

D. La nature multivariée de la relation diversité génétique-performance

Les avancées récentes de l'écologie fonctionnelle montrent que les effets de complémentarité et de sélection jouent de concert dans les écosystèmes (Cadotte, 2017 ; Wagg et al., 2017). L'utilisation des traits fonctionnels peut permettre de mieux comprendre comment les différences phénotypiques entre les individus contribuent à l'un, à l'autre, ou aux deux effets. Par ailleurs, les résultats de ces travaux suggèrent que les effets de biodiversité sont plutôt expliqués par des combinaisons multivariées de traits que par des traits individuels, notamment l'effet de complémentarité (Kraft et al., 2015 ; Schroeder-Georgi et al., 2016). Ceci illustre notamment la nature multivariée de la niche écologique des espèces (Hutchinson 1957) qui utilisent plusieurs ressources, et qui ont une utilisation variable de ces ressources à la fois dans le temps et dans l'espace. Les résultats obtenus par Wagg et al. (2017) illustrent l'implication des multiples dimensions de la niche écologique dans les effets de complémentarité. Les auteurs ont assemblé des communautés multi-spécifiques selon deux modalités : (i) les espèces assemblées étaient choisies pour leur variabilité sur les traits liés à la stratégie spatiale d'acquisition des ressources (hauteur, surface foliaire, profondeur racinaire, etc), (ii) les espèces assemblées étaient choisies pour leur variabilité sur les traits liés à la stratégie spatiale d'acquisition des ressources et sur les traits liés à la stratégie temporelle d'acquisition des ressources (date du pic de croissance, date de floraison, etc). Les auteurs n'ont pas mis en évidence de complémentarité de niche dans les communautés assemblées uniquement sur la base de la variabilité spatiale d'acquisition des ressources. En revanche, les effets de complémentarité sont devenus significatifs lorsque les communautés ont été assemblées à la fois sur un critère de variabilité spatiale et sur un critère de variabilité temporelle. Nos résultats sont donc en accord avec les patrons observés plus globalement en écologie et suggèrent d'aborder la question des mélanges variétaux sous un angle multivarié au risque de se focaliser sur des traits qui à eux seuls n'ont pas une grande importance fonctionnelle. Comme nous l'avons montré dans le premier chapitre, et en accord avec les

résultats obtenus par Wagg et al. (2017), les différences de profondeurs racinaires à elles seules ne sont probablement pas suffisantes pour promouvoir des effets de complémentarité. Par ailleurs, il semble que les effets issus de la diversité ne soient pas les seuls effets importants pour que les mélanges soient productifs, il faut que cette diversité soit combinée à une uniformité sur d'autres traits qui sont soit directement liés à la performance des individus (trait non sociaux), soit liés à la compétition et donc à la performance du groupe (traits sociaux), comme nous l'avons montré dans le deuxième chapitre. En plus de ces effets liés au phénotype, il semble important de gommer la diversité allélique à certains locus, comme nous avons pu le montrer dans le troisième chapitre.

Dans les systèmes naturels, il a été montré que la diversité inter- et intra- spécifique supportait la multifonctionnalité des écosystèmes, c'est-à-dire leur aptitude à remplir plusieurs fonctions simultanément (productivité primaire, cycles et stockage des éléments minéraux, …), et que plus le nombre de fonctions considérées était important, plus il fallait d'espèces pour assurer le fonctionnement de l'écosystème (Andy Hector et Bagchi 2007 ; Maestre et al. 2012). L'augmentation de la diversité génétique dans les agrosystèmes pourrait également apporter des solutions en terme de multifonctionnalité (Barot *et al.* 2017). Comme nous l'avons rappelé en introduction, les fonctions que devront remplir les variétés dans les agrosystèmes de demain (productivité, régulation des pathogènes, stabilisation des rendements, régulations des populations adventices, etc) sont beaucoup plus nombreuses que les fonctions qu'elles remplissent dans les agrosystèmes intensifs actuels (essentiellement productivité) (Østergård *et al.* 2009). Dans le deuxième chapitre de cette thèse, nous nous sommes intéressés à la productivité et à la qualité des grains, et nous avons montré que les principaux effets qui affectaient ces deux composantes de la performance agronomique étaient indépendants (Chapitre 2, Figure 3b et c). Par exemple, la diversité fonctionnelle mesurée sur l'intensité de branchement des racines séminales avait un effet positif sur les rendements, mais n'affectait pas le taux de protéines de grains. Réciproquement, l'identité fonctionnelle mesurée sur le nombre de talles moyen par individu avait un effet positif sur le taux de protéines des grains mais n'affectait pas les rendements. Cela signifie que ces deux composantes de la performance agronomique peuvent dans une certaine mesure être améliorées de façon indépendante dans le cas des mélanges, alors que l'amélioration de l'une implique une dégradation de l'autre en monoculture (Simmonds 1995 ; Monaghan et al. 2001). Ces résultats confirment l'effet positif de la diversité intra-spécifique sur la multifonctionnalité des agrosystèmes, et suggèrent que les mélanges variétaux peuvent représenter une solution intéressante pour échapper à des compromis physiologiques ou génétiques qui contraignent la performance agronomique en monoculture.

2. Sélection, assemblage, et gestion dynamique des mélanges

A. Quels traits cibler ?

Globalement, nous avons confirmé l'intérêt d'utiliser l'approche fonctionnelle pour capturer les processus à l'œuvre dans les mélanges. Dans un champ cultivé, l'interaction principale entre les plantes est la compétition pour les différentes ressources (lumière, eau, éléments minéraux). Ainsi, les informations fournies par les traits fonctionnels liés à l'aptitude à la compétition (*e.g.* hauteur) ou aux stratégies d'acquisition des ressources (*e.g.* surface spécifique foliaire ou densité des tissus racinaires) permettent de mieux comprendre le fonctionnement général du couvert. Nos résultats suggèrent que ces traits peuvent être utilisés dans la sélection et l'assemblage des mélanges pour mobiliser différents effets : les effets de complémentarité et de sélection, qui reposent sur la diversité ; et les effets liés à l'optimisation de la performance individuelle ou bien à la coopération, qui reposent au contraire sur l'uniformité. Ces effets peuvent jouer sur différentes composantes de la performance agronomique comme le rendement en biomasse, le rendement en grains, ou encore la teneur en protéines des grains (**Tableau 1**). Chez le blé dur, nous avons montré que les effets qui affectaient le rendement en grains n'étaient pas liés aux effets qui affectaient le taux de protéines des grains (**Tableau 1**). La spécificité des effets liés aux traits fonctionnels dans les mélanges semble donc particulièrement intéressante puisqu'elle pourrait permettre d'échapper à des compromis limitant la performance agronomique en monoculture, comme le compromis entre la quantité et la qualité des grains. Comme nous l'avons discuté pour les effets observés sur la teneur en protéines des grains chez le blé dur, l'interprétation de l'effet des traits sur la performance agronomique peut être compliquée lorsque les traits sont mesurés en monoculture, notamment à cause de la plasticité des traits en réponse à la compétition intra-génotype (monoculture) et inter-génotypes (mélange) (**Tableau 1**). La compréhension mécaniste des effets liés à la diversité ou à l'identité fonctionnelle n'est cependant pas fondamentale dans un objectif de sélection : les relations statistiques entre la valeur des traits en monoculture et la performance en mélange sont suffisantes pour guider une sélection directionnelle sur chacune des composantes du mélange en monoculture, en amont de leur assemblage. Les relations traits-performance semblent en revanche être assez spécifiques de l'espèce et des conditions de culture considérées : nous n'avons pas trouvé d'effets communs entre les mélanges de riz et les mélanges de blé dur sur la productivité relative en biomasse (**Tableau 1**). Il semble donc important, de définir les relations entre la composition fonctionnelle des mélanges et leur performance dans des conditions proches des futures conditions de culture des mélanges chez l'espèce d'intérêt.

Tableau 1 : *Principaux effets de la diversité et de l'identité fonctionnelle détectés sur différentes composantes de la performance agronomiques chez le riz et chez le blé dur.*

Composante de la performance agronomique	Espèce	Trait	Indice fonctionnel	Effet
Rendement biomasse (g/m^2)	riz	Biovolume	F_D	Effet de sélection positif
		SLA	F_D	Effet de sélection positif
		RB_{top}	F_D	Effet de sélection positif
		D_{ad}	F_D	Effet de sélection négatif
		SRL_{ad}	F_D	Effet de sélection négatif
	blé dur	RBI_{sem}	F_D	Effet de complémentarité positif
		RTD_{ad}	CWM	Effet d'optimisation individuelle positif ou Effet de coopération positif
Rendement grains (g/m^2)	blé dur	RBI_{sem}	F_D	Effet de complémentarité positif
		RTD_{ad}	CWM	Effet d'optimisation individuelle positif ou Effet de coopération positif
Teneur en protéines des grains (%)	blé dur	Till. Nb.	CWM	?
		Maturity	CWM	?

Nos résultats soulignent le rôle important des traits racinaires dans les relations liant le phénotype des variétés à la productivité des mélanges. Les traits identifiés ne sont cependant pas les plus communément discutés dans le contexte des mélanges variétaux (Barot et al. 2017 ; Litrico et Violle 2015) : nous n'avons pas mis en évidence de rôle important de la profondeur racinaire (expérience n°1) ni de l'angle racinaire (expérience n°2). Il semble que les traits morphologiques et anatomiques tels que le diamètre moyen des racines, leur intensité de branchement, ou la densité de leurs tissus soient plus déterminants pour comprendre la performance des mélanges. Ce résultat souligne l'importance d'une caractérisation fine des racines, caractérisation rarement prise en compte dans les programmes de sélection classiques, et encore moins dans le contexte des mélanges variétaux (Borg *et al.* 2018). En effet, les difficultés et les lourdeurs techniques liés à l'emplacement souterrain de ces organes conduisent souvent à les négliger (Araus & Cairns 2014). Même si le phénotypage racinaire connaît des avancées importantes, les racines sont souvent caractérisées dans des plateformes de phénotypage à haut-débit sur des plantes très jeunes, et dans des conditions de croissance assez éloignées des conditions rencontrées au champ (Atkinson et al. 2019 ; de Dorlodot et al. 2007). Par conséquent, il reste difficile d'estimer la variabilité réellement mobilisable sur ces traits dans des conditions réelles de culture. Etant donnée l'importance de ces traits dans les interactions plante-plante à la fois dans les écosystèmes naturels (Bardgett *et al.* 2014) et dans les mélanges variétaux (cette étude), il semble important de développer davantage les protocoles de phénotypage racinaire au champ (Borg *et al.* 2018).

D’autres types de traits n’ont pas été considérés dans cette thèse mais pourraient potentiellement jouer un rôle important dans les interactions entre les génotypes dans les mélanges. Nous donnons quelques exemples en fin de discussion (section « Perspective pour les recherches futures »).

B. Où trouver la diversité ?

Comme nous l’avons mentionné dans l’introduction, la diversité génétique et phénotypique des espèces cultivées a fortement diminué au cours du temps. Ainsi, il est probable que des phénotypes bénéfiques pour mobiliser des effets issus de la diversité ou de l’uniformité aient été perdus au cours du temps. Des travaux récents ont revisité la domestication des espèces végétales sous l’angle de l’écologie fonctionnelle, et se sont plus spécifiquement intéressés à l’évolution des traits liés à l’utilisation des ressources et à l’aptitude à la compétition (Rubén Milla et al. 2014 ; 2015 ; 2018). Ces travaux suggèrent que les formes domestiquées seraient plus compétitives que leurs ancêtres sauvages, notamment pour la lumière. Chez les herbacées, les formes cultivées sont plus grandes, ont des surfaces foliaires plus développées, et ont des stratégie d’utilisation des ressources plus acquisitives que leurs ancêtres sauvages (**Figure 4**) (Milla et Matesanz, 2017 ; Roucou et al., 2018 ; Tribouillois et al., 2015). De telles caractéristiques sont typiques des espèces adaptées aux environnements à hauts niveaux de ressources dans les écosystèmes naturels (Grime 1977; Freschet *et al.* 2015). Ce résultat suggère donc une adaptation des plantes lors de la domestication conduisant à favoriser les phénotypes qui maximisent leur propre performance dans un milieu plus riche en ressources, *i.e.* le milieu cultivé. Dans le cadre de la coopération, ce résultat est particulièrement intéressant puisqu’il suggère que, sur d’autres traits que la hauteur, les phénotypes des variétés

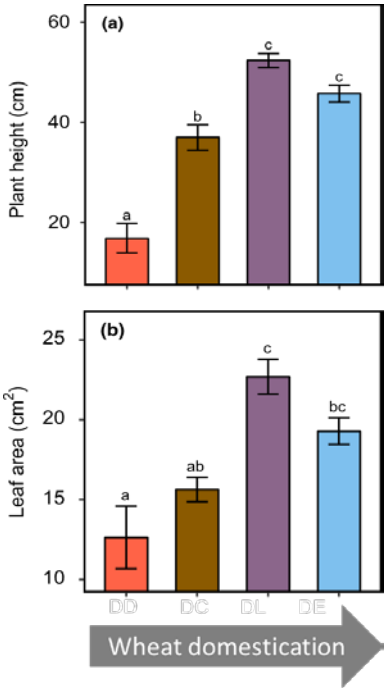


Figure 4 : *Evolution de la hauteur (a) et de la surface foliaire (b) au cours de la domestication du blé dur. Les quatre couleurs représentent Triticum turgidum ssp. dicoccoides (orange), Triticum turgidum ssp. dicoccum (marron), Triticum turgidum ssp. durum – variétés anciennes (violet), et Triticum turgidum ssp. durum – variétés modernes (bleu). D’après Roucou et al. (2018)*

actuelles ne sont probablement pas optimaux pour maximiser la productivité puisqu'ils entrainent une forte compétition intra-spécifique. Ainsi, il y aurait de multiples façons d'augmenter les rendements en renversant la sélection opérée dans les premières phases de la domestication et de la sélection (Denison, Kiers, et West 2003 ; Weiner 2019).

Un tel renversement de la sélection pourrait cependant être limité par la variabilité phénotypique disponible dans le pool de variétés modernes. L'évolution de la hauteur illustre parfaitement ce point. Avant la Révolution Verte, la majorité des variétés de blé cultivées dans l'hémisphère Nord mesurait plus d'1,20 m (Austin et al. 1980 ; Cox et al. 1988 ; Ledent et Stoy 1988). La hauteur des variétés a alors été réduite de façon très rapide pour atteindre moins de 90 cm en quelques années grâce à l'introduction de gènes de nanisme présents dans des variétés locales japonaises (Borojevic & Borojevic 2005). Une sélection directionnelle classique basée sur des croisements entre les variétés pré-Révolution verte aurait sûrement mis beaucoup plus de temps pour atteindre des phénotypes aussi courts. Si nous faisons l'hypothèse que, comme la hauteur, les autres traits liés à la compétition et à l'acquisition des ressources ont évolué de façon continue vers des formes très compétitives depuis la domestication, il pourrait être intéressant d'explorer des compartiments génétiques anciens (formes sauvages, premières formes domestiquées, variétés de pays, etc) pour récupérer de façon plus rapide des phénotypes intéressants du point de vue de la coopération.

Dans la partie la plus récente de leur histoire évolutive, la plupart des espèces cultivées actuelles ont été sélectionnées pour être performantes en situation de monoculture. Ainsi, des adaptations permettant de maximiser la performance en situation de mélange via des effets de biodiversité (effets de complémentarité et effets de sélection) ont pu être perdues. Dans les communautés naturelles, de tels effets se mettent en place au long cours, la séparation spatiale des niches écologiques augmente avec le temps (Parrish & Bazzaz 1976). Il a également été montré que les effets de complémentarité associés étaient de plus en plus forts. Ainsi, Zuppinger-Dingley et al. (2014) ont montré que, à composition égale, les effets de complémentarité de niche étaient plus forts dans des communautés de plantes pérennes ayant évolué en mélange pendant huit années que dans des communautés assemblées *de novo*. Chez les espèces cultivées, une étude a récemment montré que les effets de biodiversité étaient beaucoup plus forts dans des mélanges plurispécifiques assemblés avec des formes sauvages que dans des mélanges équivalents assemblés avec des formes domestiquées (**Figure 5**) (Chacón-Labella *et al.* 2019). Conduite sur huit espèces différentes, l'étude montre que les effets de sélection sont beaucoup plus forts dans les mélanges assemblés avec des formes sauvages, notamment parce que les différences phénotypiques entre les espèces sont beaucoup plus marquées que chez les formes domestiquées sur certains traits comme la surface foliaire (Chacón-Labella *et al.* 2019). Les auteurs formulent deux hypothèses pour expliquer ce patron : la sélection exercée par l'homme au cours de la domestication et de la sélection aurait pu gommer la variabilité existante sur les traits impliqués dans les effets de biodiversité (ici la surface spécifique foliaire), ou bien la domestication et la sélection auraient pu supprimer la plasticité phénotypique sur ces mêmes traits. Dans tous les cas, ces résultats confirment l'intérêt

de retourner à un matériel végétal plus ancien pour rechercher une variation phénotypique intéressante sur les traits liés aux effets de biodiversité.

C. Comment mener la sélection ?

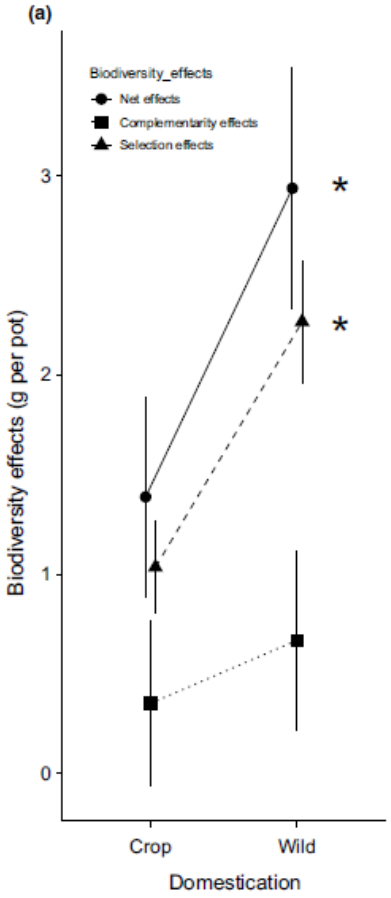


Figure 5 : *Effets de complémentarité et effets de sélection mesurés dans des communautés multi-spécifiques composées à partir de forme sauvages ou de formes domestiquées de 8 espèces cultivées (tournesol, tomate, blé dur, avoine, sorgho, millet, pois, pois chiche). Chaque communauté est composée de 2 ou 4 espèces. D'après Chacón-Labella et al. (2019).*

Sur la base de l'ensemble de ce travail de thèse nous pouvons proposer deux approches différentes pour sélectionner et assembler les mélanges variétaux en utilisant les mécanismes écologiques et évolutifs. La première approche consiste à sélectionner un mélange fixe, constitué de lignées pures, et à re-assembler à chaque saison : cette solution est facile à mettre en œuvre dans les système de sélection et de distribution classiques des semences (**Figure 6**). La deuxième approche consiste à sélectionner un mélange dynamique plus proche d'une variété population et plus à même de correspondre aux pratiques de sélection par les agriculteurs (participative ou non, **Figure 7**).

Dans les deux cas, nous proposons de partir d'une population de lignées pures issues d'un brassage large de la diversité génétique de l'espèce considérée (**Figure 6 & Figure 7**). Une telle population peut être obtenue par des croisements aléatoires entre des variétés modernes, des variétés de pays, des formes domestiquées primitives, voire des ancêtres sauvages ; suivis de plusieurs générations d'autofécondations. Pour le blé dur, la sélection pourrait donc commencer avec la population EPO (David *et al.* 2014), utilisée dans les deuxième et troisième chapitres de cette thèse.

Les génotypes sont tout d'abord évalués en monoculture. L'objectif de cette première étape est de sélectionner les génotypes sur la base de leurs traits non sociaux, c'est-à-dire à la fois sur les traits liés à l'adaptation à l'environnement abiotique, et les traits liés à la valeur agronomique mesurée à l'échelle de la plante individuelle. Dans la première catégorie, nous pourrions citer l'adaptation aux conditions climatiques, ou bien au type de sol. Il n'est probablement pas pertinent d'éliminer totalement les variétés sensibles aux pathogènes locaux à cette étape, notamment les pathogènes foliaires, étant donné l'intérêt démontré des mélanges de variétés sensibles et résistantes dans le contrôle des maladies (Finckh & Mundt 1992; Zhu *et al.* 2000). Dans la deuxième catégorie, nous pouvons citer les traits non-sociaux sur lesquels la domestication et la sélection ont permis de sélectionner les phénotypes optimaux à l'échelle de la plante individuelle et qui peuvent avoir divergé de l'optimum dans la population initiale à cause des croisements avec les formes peu sélectionnées voir sauvages. Nous pouvons par exemple citer l'efficience photosynthétique, la synchronisation des floraisons sur les différentes talles, ou encore la perte de l'adhérence des enveloppes autour des grains. Cette étape peut être assimilée au filtre abiotique en écologie des communautés. En effet, lors de la formation d'une nouvelle communauté, l'environnement abiotique est le premier facteur qui détermine quelles espèces parmi le pool régional pourront potentiellement s'établir (Weiher & Keddy 2001). Nous rajoutons ici la sélection pour la valeur agronomique individuelle.

La sélection diffère ensuite entre les mélanges fixes et les mélanges dynamiques. Pour les mélanges fixes, les génotypes retenus à la suite de la sélection en monoculture sont cultivés en mélanges assemblés de façon aléatoire (**Figure 6**). Nous utilisons ici l'exemple de mélanges binaires mais la méthode s'applique également avec un plus grand nombre de composantes. Le but est d'identifier à partir de la variabilité phénotypique disponible quels sont les effets d'interaction susceptibles d'être les plus intéressants pour les services recherchés. Dans l'assemblage des communautés naturelles, cette étape s'apparente au filtre biotique. C'est le moment où se mettent en place les interactions compétitives entre les espèces ayant franchi le filtre abiotique, et ces interactions déterminent quelles espèces finiront par cohabiter dans la communautés (Weiher & Keddy 2001).

Dans le cas des mélanges fixes, nous établissons alors les liens entre la performance et la composition fonctionnelle des mélanges (**Figure 6**). Des relations significatives entre la diversité fonctionnelle (F_D) et la performance indiquent des effets de sélection ou des effets de complémentarité. Le comportement individuel de chaque composante du mélange peut permettre de distinguer les deux effets, mais une telle distinction n'est pas forcément utile pour conduire la sélection. Des relations significatives entre le trait moyen du mélange et la performance indiquent soit des gradients de sélection individuels non nuls (traits non-sociaux), soit des gradients de sélection de groupe non nuls (traits sociaux). Là encore, la distinction n'est pas forcément utile pour conduire la sélection ; il suffit de connaître la direction des gradients qui permettent d'augmenter la performance des mélanges. Comme mentionné précédemment, pour les traits non-sociaux, la relation trait-moyen performance est juste le reflet de la relation trait individuel-performance individuelle. Elle indique à ce stade qu'il reste de la variabilité dans la population sur les traits liés à l'adaptation à l'environnement abiotique ou bien sur les

traits liés à la performance agronomique mesurée à l'échelle des plantes individuelles. Nous appelons cet effet l'effet d'« optimisation individuelle » : les mélanges les plus productifs sont ceux dans lesquels les valeurs des traits des individus sont les plus proches de la valeur qui maximise leur performance individuelle. Pour les traits sociaux, la relation trait moyen-performance illustre le compromis entre la performance individuelle et la performance de groupe. Nous appelons cet effet l'effet de « coopération » : les mélanges les plus productifs sont ceux dans lesquels les individus ont des valeurs de traits qui minimisent leur compétitivité. Ensuite, une étape de classification hiérarchique permet de distinguer les grands groupes fonctionnels dans la population et ainsi d'identifier les associations les plus bénéfiques pour la performance du mélange. Les meilleures associations fonctionnelles sont retenues pour constituer des groupes hétérotiques (**Figure 6**). Comme pour la sélection des hybrides, par exemple chez le maïs (Reif *et al.* 2005), la sélection est ensuite conduite séparément dans chaque groupe hétérotique (*cf* Introduction), que nous appelons ici groupe fonctionnel. Dans chaque groupe, la sélection vise à (i) amplifier les différences phénotypiques entre les deux groupes sur les traits impliqués dans les effets de sélection et/ou les effets de complémentarité, (ii) faire converger le phénotype des groupes vers la valeur optimale pour les traits impliqués dans des effets d'optimisation individuelle ou de coopération. Pour conduire cette sélection, nous avons ici choisi la sélection généalogique récurrente, mais d'autres méthodes pourraient être utilisées (filiation unipare, sélection en bulks, etc). A l'issue de la sélection et de la fixation, plusieurs lignées sont obtenues et peuvent directement être assemblées pour constituer un mélange, ou alors être réinjectées au début du programme juste après l'étape de sélection abiotique pour poursuivre la sélection.

Dans le cas des mélanges dynamiques, les génotypes sélectionnés sur la base de leurs monocultures sont assemblés aléatoirement en mélanges binaires (**Figure 7**). Des croisements entre les génotypes sont possibles pendant le cycle de culture. Ces croisements peuvent se faire naturellement chez les espèces allogames, ou bien à l'aide d'un gène de stérilité mâle chez les espèces autogames. A la fin du cycle, les récoltes des parcelles les plus productives sont mélangées. Pour chaque parcelle expérimentale à resemer, deux graines sont tirées dans la récolte des parcelles les plus productives. Ces graines sont ensuite multipliées en serre avant le semis suivant. Le cycle se répète ainsi sur plusieurs générations. Ce schéma est inspiré du scenario de sélection Top Field (TF) présenté dans le dernier chapitre. Nous utilisons ici deux graines fondatrices afin de générer de la diversité phénotypique par croisement dans les parcelles, ce qui ne serait pas possible avec une seule graine fondatrice. Par ailleurs, nous sélectionnons les grains dans plusieurs parcelles parmi les parcelles les plus productives pour prendre en compte la variabilité environnementale entre les parcelles (*cf* discussion Chapitre 4 et Figure S5 Chapitre 4). Comme discuté dans ce chapitre, la sélection peut être plus efficace et plus rapide en augmentant le nombre de parcelles expérimentales et en augmentant la densité de semis. Le faible nombre de graines fondatrices utilisées pour chaque parcelle rend ce schéma irréaliste pour combiner les activités de production et de sélection. Avec cette méthode, le nombre de graines obtenues par multiplication à l'issue d'une génération d'autofécondation peut être suffisant pour semer une petite parcelle expérimentale si la densité des plantes est

suffisamment faible lors de l'étape de multiplication. Lorsque le mélange a atteint la performance souhaitée en parcelles expérimentales, il est alors possible de le multiplier pour l'utiliser en production. Afin d'éviter cette déconnexion entre la sélection et la production, il faudrait être capable de sélectionner directement un grand nombre de graines fondatrices, tout en s'assurant que les plantes issues de ces graines fondatrices auront des phénotypes identiques sur les traits sociaux à la génération suivante : par exemple, qu'elles feront toutes la même hauteur. De récents travaux ont révélé le potentiel intéressant des données mesurées par spectroscopie proche infra-rouge sur les grains pour prédire les phénotypes des futures plantes adultes, dans ce cas la date d'épiaison et les rendements (Rincent *et al.* 2018). La spectroscopie proche infra-rouge consiste à émettre un signal lumineux sur un tissu, par exemple un tissu végétal, et à mesurer la nature du signal lumineux réfléchi par le tissu. La nature du signal réfléchi reflète les propriétés physico-chimiques du tissu qui dépendent elles-mêmes de l'information génétique portée par l'individu. Ainsi, il est possible d'entrainer des modèles statistiques qui, à partir du spectre lumineux réfléchi, prédisent la valeur d'un phénotype (Foley et al. 1998 ; Aguate et al. 2017). De telles techniques pourraient être utilisées pour prédire la hauteur d'une plante à partir d'un spectre lumineux mesuré au stade graine. Il serait alors possible de trier les graines récoltées dans les champs les plus productifs sur la base de leur phénotype social prédit par spectroscopie proche infrarouge.

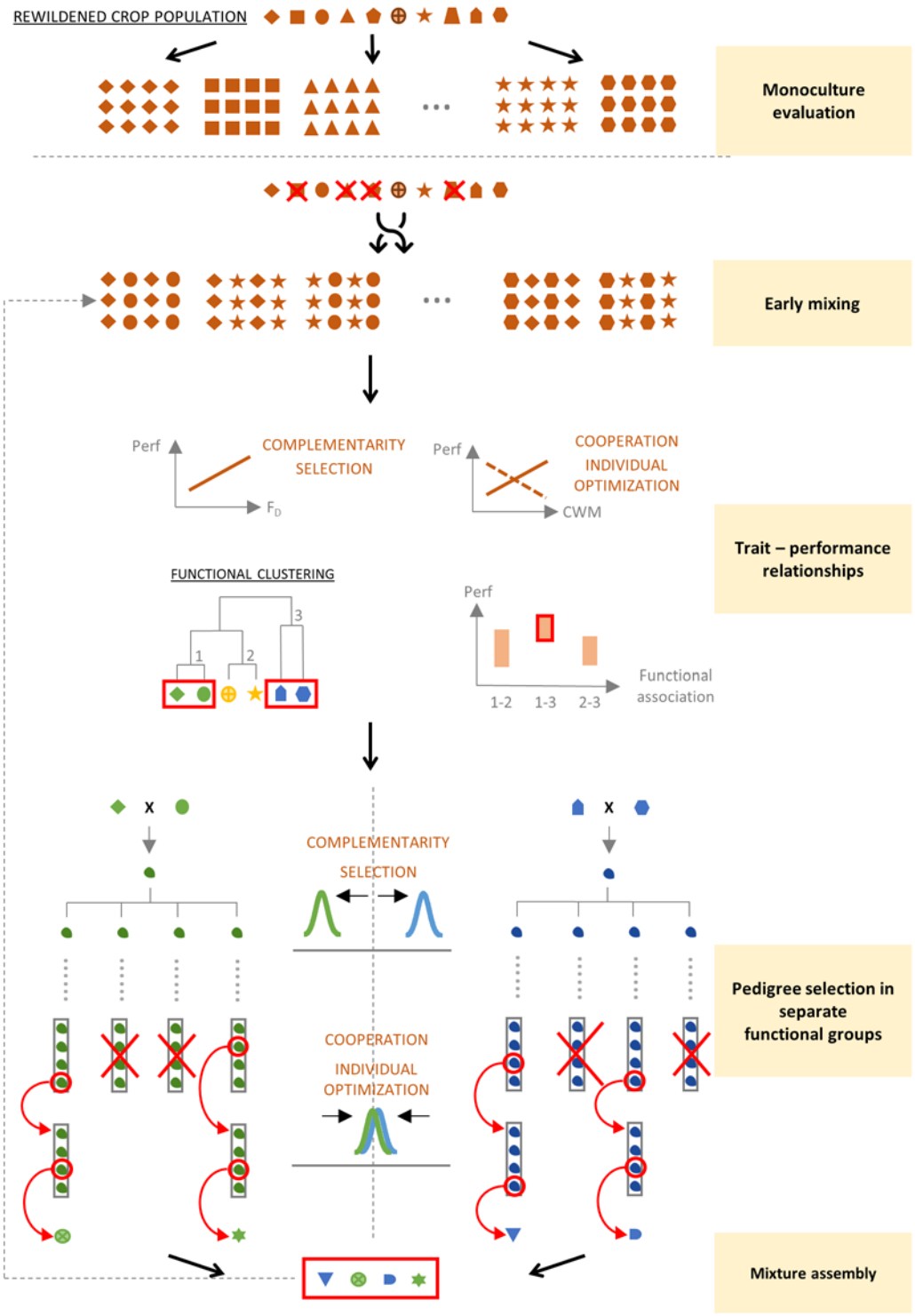


Figure 6 : *Proposition de schéma de sélection pour un mélange à composition fixe. Les symboles représentent les différents génotypes.*

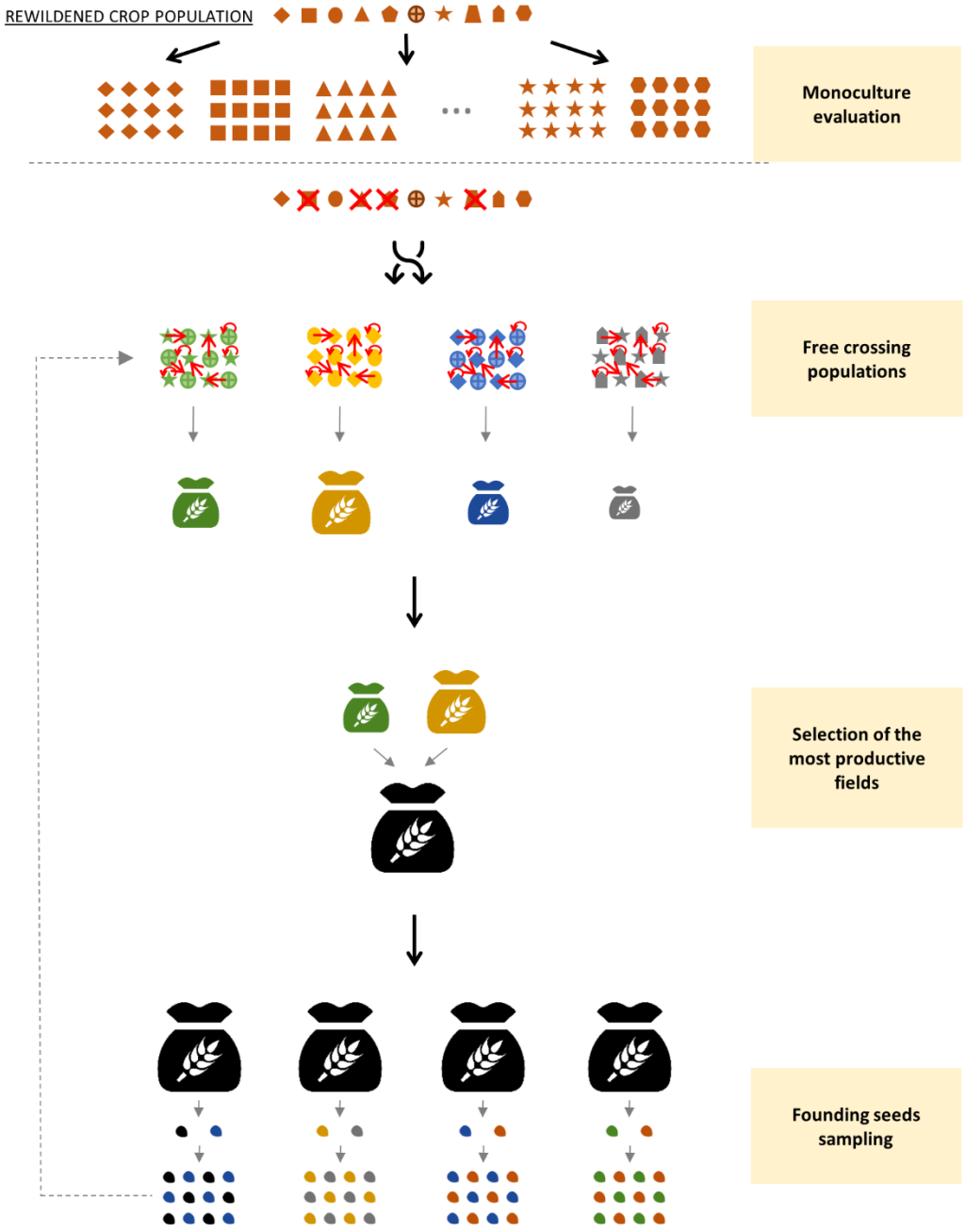


Figure 7 : *Proposition de schéma de sélection pour un mélange à composition dynamique. Les symboles représentent les différents génotypes.*

Alors que le premier type de mélange permet de mobiliser à la fois les effets de sélection, de complémentarité, et de coopération, il nécessite un plus gros effort de phénotypage puisque la sélection est basée sur la mesure des traits liés à ces effets. Le deuxième type de mélange, tel que présenté dans la **Figure 7**, ne permet quant à lui que de sélectionner les phénotypes liés à la coopération. En revanche, il ne nécessite aucune mesure phénotypique. Ces deux propositions de schéma de sélection pourraient se nourrir d'informations génétiques pour guider la sélection. Le modèle que nous avons utilisé dans le troisième chapitre de cette thèse pourrait par exemple être utile pour détecter les locus impliqués dans les effets de complémentarité, de sélection, et les potentiels effets négatifs type « barbe verte ». Ainsi, les individus pourraient être sélectionnés sur la base des allèles qu'ils portent au locus d'intérêt, plutôt que sur la base de leur phénotype. Si nous reprenons l'exemple de l'effet barbe verte, et que nous l'intégrons dans le premier schéma de sélection, il faudrait sélectionner des individus portant le même allèle à ce locus dans chacun des deux groupes fonctionnels. Dans la même logique, la connaissance du déterminisme génétique des traits sociaux pourrait permettre d'éviter la phase de multiplication des graines dans le deuxième schéma de sélection et d'échantillonner directement le nombre de graines nécessaire dans la récolte précédente. Il suffirait de s'assurer que toutes ces graines partagent les mêmes allèles aux locus associés au trait social.

3. Les espèces cultivées : des modèles pour l'écologie et l'évolution ?

A. L'intérêt de l'approche interdisciplinaire

La problématique des mélanges variétaux illustre comment plusieurs disciplines peuvent contribuer à une question de recherche commune et se compléter, voire s'apporter mutuellement. Dans cette thèse, l'écologie et l'évolution ont fourni des cadres théoriques à l'agronomie pour interpréter les patrons observés dans les mélanges. Les données empiriques collectées sur les mélanges ont permis de tester les théories écologiques et évolutives. Enfin la problématique des mélanges variétaux a permis une rencontre et un dialogue entre l'écologie et l'évolution.

Les résultats obtenus dans le premier chapitre de cette thèse montrent l'intérêt du dialogue entre l'écologie et l'agronomie. En effet, la complémentarité d'utilisation des ressources souterraines basée sur une ségrégation verticale des systèmes racinaires est une hypothèse centrale pour expliquer la coexistence et le fonctionnement des communautés végétales naturelles. Cependant, la littérature à ce sujet révèle les difficultés expérimentales rencontrées en écologie. De nombreux travaux ont montré des effets positifs (Fargione et Tilman 2005 ; Parrish et Bazzaz 1976) ou l'absence d'effet (von Felten et Schmid 2008 ; Mueller et al. 2013) de la diversité des distributions verticales des racines au sein des écosystèmes naturels. Cette divergence de résultats illustre la difficulté d'isoler les effets attribuables uniquement à la variabilité des profondeurs racinaires. Dans ces dispositifs, souvent plurispécifiques, bien d'autres traits covarient avec la profondeur racinaire, notamment dans le compartiment aérien. Ces covariations diminuent la puissance statistique permettant de détecter

les effets de la diversité des profils racinaires sur la productivité. Comme nous l'avons montré dans le premier chapitre, les espèces agronomiques et les connaissances acquises sur leurs génomes peuvent être utiles pour contourner ces difficultés expérimentales. L'utilisation des croisements entre génotypes, combinés avec l'information génétique disponible sur les emplacements et les effets des locus impliqués dans le trait d'intérêt permettent de contrôler la variabilité phénotypique de façon fine, par exemple en sélectionnant des lignées isogéniques comme nous l'avons fait dans le Chapitre 1.

En biologie évolutive, la théorie de sélection de parentèle a révolutionné notre vision de la sélection naturelle. Chez les plantes, des travaux séminaux ont montré que les conditions démographiques et génétiques pouvaient être réunies chez certaines espèces pour que certains traits soient soumis à la sélection de parentèle (Donohue 2003 ; Kelly 1996 ; Stevens, Goodnight, et Kalisz 1995). Il reste cependant compliqué de suivre la généalogie et la démographie d'une population naturelle dans le temps, et ainsi d'interpréter l'évolution d'un phénotype du point de vue de la sélection de parentèle. La perspective d'appliquer le cadre théorique de la sélection de parentèle aux espèces cultivées pourrait apporter un nouvel éclairage sur l'évolution des traits sociaux dans les populations naturelles d'espèces non domestiquées. Par exemple, les travaux conduits dans le dernier chapitre de cette thèse visant à comprendre l'évolution de la hauteur chez les espèces cultivées pourraient alimenter les réflexions sur l'évolution de la hauteur dans les communautés naturelles, qui a très peu été abordée sous l'angle de la sélection de parentèle à l'échelle globale (e.g. Aarssen et al., 2006 ; Falster and Westoby, 2003).

Par ailleurs, alors que les mécanismes de reconnaissance entre apparentés ont pu être mis en évidence chez certains organismes comme les araignées (Evans 1999), les bactéries (Pathak *et al.* 2013), ou les amibes (Strassmann 2016), les exemples chez les plantes restent très rares (Biedrzycki & Bais 2010; Karban Richard *et al.* 2013). Les mécanismes de reconnaissance basés sur un ou quelques gènes n'ont même jamais été reportés (Subrahmaniam *et al.* 2018). Il a été proposé que l'existence de tel mécanisme soit hautement improbable chez les espèces cultivées de par leur histoire évolutive (Murphy *et al.* 2017; Fréville *et al.* 2019). Tout d'abord, une reconnaissance implique un polymorphisme génétique à un ou plusieurs locus permettant une discrimination entre les individus. Or, la diversité génétique des espèces cultivées a été considérablement réduite au cours de la domestication et de la sélection comme nous l'avons détaillé dans l'introduction (Fréville *et al.* 2019). Par ailleurs, depuis l'avènement de la sélection généalogique, les plantes sont essentiellement sélectionnées et cultivées dans des groupes fortement apparentés, ce qui diminue considérablement l'avantage sélectif que pourrait avoir un tel mécanisme de reconnaissance (Murphy *et al.* 2017 ; Fréville *et al.* 2019). Ceci étant dit, nous avons réussi à mettre en évidence un locus pour lequel un apparentement fort avait un effet positif sur l'immunité et sur la productivité du blé dur. Sans avoir tous les éléments pour affirmer que ce locus est bien impliqué dans un effet barbe verte, ce résultat suggère que les espèces cultivées peuvent être intéressantes pour mieux comprendre les interactions plante-plante, notamment les mécanismes de reconnaissance dans le contexte de la sélection de parentèle.

Enfin, l'étude des mélanges variétaux nous a poussés à aborder les interactions plante-plante à l'échelle génétique. Paradoxalement, utiliser une échelle aussi fine nous a permis d'intégrer les concepts théoriques de façon beaucoup plus large. En effet, l'approche phénotypique compartimente le raisonnement, notamment parce que les traits sont interprétés de façon différente selon les disciplines. Par exemple, l'écologie interprète la surface spécifique foliaire plutôt comme un trait étant à l'interface entre l'individu et sa ressource (« trait fonctionnel »), alors que la biologie évolutive se place plutôt au niveau de l'interface entre l'individu et son voisin (« trait social »). En fait, il y a un continuum entre l'individu, la ressource, et l'individu voisin, ce continuum est segmenté par l'approche phénotypique. L'information génétique constitue un dénominateur commun sur lequel peuvent s'appuyer l'ensemble des théories. Dans notre cas, nous avons montré qu'un modèle unique, *i.e.* le modèle génétique utilisé dans le Chapitre 3, pouvait être utilisé pour détecter des effets de complémentarité, de sélection, ou des effets de reconnaissance (barbe verte). Des ponts entre l'évolution des traits sociaux et la génétique quantitative ont déjà été établis sur le plan théorique (Bijma et Wade 2008 ; McGlothlin et al. 2014), et sur le plan appliqué (Rodenburg et al. 2010 ; Wade et al. 2010). Cependant, ces approches n'ont pas été utilisées pour détecter des locus impliqués dans les interactions sociales. En écologie, les effets de biodiversité sont très rarement abordés sous l'angle de la génétique quantitative (Wuest & Niklaus 2018). Ainsi, la génétique des interactions plante-plante pourrait former un nouvel espace de dialogue entre l'écologie et l'évolution, dialogue duquel pourraient émerger des solutions appliquées pour la sélection des mélanges variétaux.

B. Regard critique sur nos dispositifs expérimentaux et limites à la transférabilité des théories écologiques et évolutives

La mesure dans laquelle nos résultats peuvent être interprétés et discutés en relation avec les théories écologiques et évolutives dépend de plusieurs facteurs relatifs à nos choix expérimentaux, mais aussi aux propriétés intrinsèques des espèces cultivées. Tout d'abord, les théories écologiques que nous avons mobilisées ont bien souvent été formulées à l'échelle inter-spécifique. Même si certains patrons observés à l'échelle inter-spécifique ont pu également être observés à l'échelle intra-spécifique, comme la relation positive biodiversité-productivité (Hughes *et al.* 2008), il est légitime de se demander dans quelle mesure ces théories sont transférables à des communautés constituées d'individus appartenant à la même espèce. On pourrait par exemple penser que la variation phénotypique est trop faible entre des individus de la même espèce pour que des effets de complémentarité puissent se mettre en place. Cette variation pourrait être encore plus faible chez les espèces cultivées qui ont connu une forte diminution de leur diversité intra-spécifique avec l'histoire de la sélection (*cf.* Introduction). Au niveau inter-spécifique, Chacón-Labella et al. (2019) ont en effet montré que les effets de biodiversité étaient plus forts dans des communautés constituées avec les ancêtre sauvages de huit espèces cultivées que dans des communautés équivalentes constituées avec leurs formes domestiquées, notamment parce que les différences phénotypiques étaient plus marquées entre les espèces sauvages. Si nous comparons la variation phénotypique observée dans la population de blé dur EPO utilisé dans les Chapitres 2 et 3, avec les variations observées

au sein des espèces sauvages sur certains traits fonctionnels, nous voyons que la population EPO couvre une portion significative de la gamme de variabilité observée chez les *Poacae* sauvages (**Tableau 2**). Cette comparaison suggère que les mécanismes qui reposent sur ces traits à l'échelle inter-spécifique devraient également s'appliquer à l'échelle intra-spécifique.

***Tableau 2** : Comparaison de la variabilité phénotypique intra-spécifique mesurée dans la population de blé dur EPO avec la variabilité inter-spécifique rapportée dans plusieurs autres études sur quatre traits fonctionnels. Source : Kattge et al. 2011 ; Iversen et al. 2017.*

Trait	Etude/base de données	Espèces	Min	Max
SLA (m^2.kg-1)	Montazeaud et al., 2019	180 génotypes de Blé dur	14.88	36.37
	TRY	530 espèces de Poaceae	7.8	44.73
Leaf N (%)	Montazeaud et al., 2019	180 génotypes de Blé dur	2.85	4.78
	TRY	530 espèces de Poaceae	0.84	3.58
SRL (m.kg-1)	Montazeaud et al., 2019	180 génotypes de Blé dur	24.02	188.75
	FRED	85 espèces de Poaceae	9.40	217.41
RTD (g.cm-3)	Montazeaud et al., 2019	180 génotypes de Blé dur	0.05	0.20
	FRED	112 espèces de Poaceae	0.08	0.41

Dans les deux expériences présentées, nous avons fait le choix de limiter la composition des mélanges à deux génotypes. Cette simplification est bien évidemment très forte par rapport à la diversité rencontrée dans les écosystèmes naturels. En écologie, les expériences étudiant les effets de la biodiversité sur la productivité utilisent généralement des communautés allant de deux à une vingtaine d'espèces (A. Hector et al. 1999 ; Tilman, Wedin, et Knops 1996 ; Tilman et al. 2001). Dans le cas des mélanges variétaux, d'autres dispositifs expérimentaux utilisent des mélanges plus complexes (Kiær *et al.* 2009), comme peuvent le faire les agriculteurs (« La France Agricole », N°3724, Décembre 2017). Ici, nous avons choisi des mélanges binaires afin de simplifier le système en le résumant à une interaction entre deux parties. Ainsi, nous pouvons directement attribuer les causes des phénomènes observés sur une des composantes du mélange à l'autre composante. En plus de caractériser la réponse des individus au mélange, nous pouvons donc également caractériser leur effet sur le mélange, ce qui serait beaucoup plus compliqué dans des mélanges d'ordre supérieur. Par exemple, dans la première expérience, nous avons pu montrer que le rendement relatif (RY) de chacun des génotypes dépendait beaucoup plus de leur propre identité que de l'identité de leur voisin (Chapitre 1, Tableau 2). Par ailleurs, un système à deux parties simplifie la formalisation des

interactions sociales dans le cadre de la sélection de parentèle. A nouveau, l'effet du voisin est directement identifiable : dans le chapitre 3, nous avons pu étudier des effets d'interaction entre allèle focal et allèle voisin (Chapitre 3, Table S1), ce qui aurait été impossible dans un dispositif avec plus de génotypes. Cette simplification est donc essentiellement heuristique. Il se peut cependant que ce type de dispositif soit par contre peu puissant pour détecter des effets de biodiversité. En effet, les résultats obtenus dans les communautés naturelles suggèrent que ces effets augmentent avec le nombre d'espèces (Hooper *et al.* 2005).

Nous avons également choisi dans l'expérience au champ de séparer spatialement les deux composantes du mélange en les semant en rangs alternes. Cette spatialisation nous a permis d'individualiser les mesures sur chaque composante du mélange, notamment les rendements. En effet, au niveau intra-spécifique, les différences visibles entre les génotypes sont parfois très faibles, et il aurait été difficile voire impossible d'estimer les rendements relatifs de chaque composante dans un dispositif totalement randomisé. Une telle disposition est assez éloignée des pratiques agricoles qui consistent à mélanger les semences de plusieurs variétés de façon aléatoire. Elle est également éloignée des situations rencontrées dans les écosystèmes naturels. Cette disposition peut avoir eu une influence sur nos résultats. En effet, comme la distance entre les plantes est beaucoup plus petite sur le rang (~ 1 cm) qu'entre les rangs (~ 15 cm), le dispositif donne plus de poids à la compétition intra-génotypique (sur le rang) qu'à la compétition inter-génotypique (entre les rangs). Ainsi, il est possible que nous n'ayons pas détecté l'impact de certains traits ou locus qui auraient eu un effet plus fort avec des distances spatiales plus faibles entre les génotypes en interaction.

Dans cette même expérience, nous avons fait le choix de conduire les plantes en conditions non limitantes, c'est-à-dire d'apporter une fertilisation classique pour obtenir un rendement moyen avec une culture de blé dur. Il aurait pu être pertinent de répliquer l'expérience dans des conditions de ressources plus limitantes. En effet, les mélanges variétaux s'inscrivent dans une démarche de changement global des pratiques agricoles dans lesquelles les apports d'intrants, notamment les fertilisants chimiques, sont réduits. Par ailleurs, comme nous l'avons discuté dans le premier chapitre, nous pourrions nous attendre à ce que les effets de complémentarité de niche soient plus forts dans des conditions plus limitantes. C'est ce qui est prédit par l'hypothèse du gradient de stress, ou « stress-gradient hypothesis », selon laquelle les interactions négatives dominent en conditions non limitantes, alors que les interactions positives sont plus fortes en conditions limitantes (Maestre et al. 2012 ; Callaway et al. 2002). Des résultats empiriques semblent par ailleurs confirmer ce patron (Craven *et al.* 2016). Alors que nous avons pu tester l'effet de deux niveaux de fertilisation phosphorée dans la première expérience qui reposait sur un nombre réduit de génotypes, l'utilisation d'un deuxième niveau de fertilisation dans la seconde expérience aurait conduit à un nombre de parcelles beaucoup trop important pour caractériser aussi finement les génotypes. En effet, l'objectif de cette expérience était de comparer un grand nombre de combinaisons de génotypes dans une démarche exploratoire, sans *a priori* sur les traits ou les locus impliqués dans les interactions entre les génotypes. Dans des expériences futures, ne nécessitant pas un aussi grand nombre de combinaisons génotypiques, il serait intéressant de contraster les niveaux de ressources, ce qui

permettrait de se rapprocher de conditions agricoles bas-intrants, et ce qui faciliterait les comparaisons avec les mécanismes à l'œuvre dans les écosystèmes naturels.

C. Perspectives pour les futures recherches

Sur les bases des travaux conduits dans cette thèse, plusieurs pistes de recherche pourraient être développées afin de mieux comprendre les mécanismes liant la diversité intra-spécifique et la performance des mélanges variétaux. Une grande partie des idées présentées dans cette partie seront explorées dans des projets portés par mes encadrants dans un futur proche (par exemple l'ANR SCOOP – « Selecting for COOPperative crops to develop sustainable agriculture », porté par Hélène Fréville).

Tout d'abord, il apparaît important de mieux caractériser l'aspect mécaniste de la relation entre la composition fonctionnelle des mélanges et leur performance agronomique. Par exemple, si nous reprenons les résultats obtenus dans le deuxième chapitre, il serait intéressant de reconduire des expériences avec un nombre réduit de génotypes choisis sur la base de leur variation phénotypique sur quelques traits, par exemple l'intensité de branchement des racines, ou bien la densité des tissus racinaires. Ces expériences permettraient de comprendre comment la variabilité phénotypique du mélange se traduit en une productivité supérieure. Nous pourrions tester si les différences d'intensité de branchement des racines se traduisent par des différences dans le positionnement des racines dans le sol, par des différences dans le type de nutriments utilisés, ou encore par des variations dans la temporalité d'utilisation de ces ressources. Pour la densité des tissus racinaires, nous pourrions vérifier si l'effet détecté relève d'une adaptation abiotique, ou bien s'il s'agit d'un effet de coopération, comme discuté précédemment.

Dans la perspective d'optimiser la coopération dans les mélanges, il serait intéressant de mieux quantifier les effets sociaux de certains traits qui ont pour l'instant été peu analysés sous cet angle. C'est le cas des traits fonctionnels liés aux stratégies d'acquisition des ressources. D'une part, les modèles de théorie des jeux appliqués sur ces traits suggèrent qu'il pourrait être intéressant de contre-sélectionner les stratégies acquisitives pour optimiser les rendements (Schieving et Poorter 1999 ; Vermeulen et al. 2013). D'autre part, les études comparatives conduites en écologie laissent penser que les variétés actuelles ont plutôt des comportements acquisitifs par rapport à leurs formes plus primitives ou à leurs ancêtres sauvages (Rubén Milla et al. 2014 ; Roucou et al. 2018). Ainsi, il semble y avoir un fort potentiel d'amélioration des rendements en sélectionnant des phénotypes coopératifs sur des traits comme la surface spécifique foliaire, la longueur spécifique racinaire, ou la densité de tissus racinaires par exemple (Anten & Vermeulen 2016). Pour évaluer ce potentiel, il serait intéressant de quantifier expérimentalement les effets de fitness direct et indirect de ces traits, c'est-à-dire leur impact sur la performance des individus qui les expriment, et sur la performance de leurs voisins.

Dans le même esprit, les traits liés aux interactions avec les micro-organismes mutualistes du sol semblent particulièrement intéressants et peu explorés sous l'angle de la coopération entre les plantes (Anten et Vermeulen 2016 ; Kiers et Denison 2014). Par exemple,

les mycorhizes sont des champignons du sol qui colonisent les tissus racinaires des plantes et utilisent une partie des sucres qu'elles produisent pour leur propre métabolisme. En échange, les champignons fournissent des éléments minéraux comme l'azote ou le phosphore et de l'eau à la plante. Il a été montré que des groupes de plantes apparentés bénéficiaient plus de la présence de champignons mycorhiziens dans le sol que des groupes non apparentés (Ronsheim & Anderson 2001 ; File *et al.* 2012). Cet effet pourrait être interprété comme un effet de coopération où l'ensemble des individus partagent le coût carbone associé à la symbiose avec le champignon et bénéficient en retour d'une plus grande quantité de nutriments par rapport à des groupes où seuls quelques individus établissent une symbiose avec le champignon et où les autres individus bénéficient des nutriments sans payer le coût carbone associé (Mikkelsen *et al.* 2008). Ainsi, l'aptitude à établir des symbioses et à sécréter des composés utilisables par les micro-organismes du sol pourraient être des traits intéressants à intégrer dans la réflexion sur la sélection et l'assemblage des mélanges (Kiers & Denison 2014).

De plus il reste assez difficile de savoir comment la plasticité phénotypique affecte les différents effets que nous avons abordés (complémentarité, sélection, coopération). Alors que l'approche classique consiste à utiliser les traits mesurés en monoculture pour expliquer des patrons observés en mélanges, nous savons qu'un changement de voisin peut entrainer un changement de phénotype. C'est par exemple ce que décrit le syndrome d'évitement de l'ombre (« shade avoidance syndrome », Pierik and de Wit, 2014). En effet, les plantes sont capables de détecter des changements de qualité de la lumière causés par la présence de plantes voisines, et de réagir en modifiant leur phénotype afin d'échapper à un potentiel ombrage futur (Ballaré *et al.* 1990). Par exemple, la réponse peut se traduire par un allongement de la tige, une diminution de la surface des feuilles, ou encore une diminution du nombre de talles chez les céréales (Smith & Whitelam 1997). Le phénotype de la plante voisine (sa taille, sa surface foliaire, etc) affecte la nature du signal lumineux émis et notamment le ratio de longueur d'ondes rouge clair *vs* rouge sombre, et donc l'amplitude de la réponse. Ces réponses plastiques pourraient avoir des implications diverses sur la productivité. Afin de promouvoir un effet de coopération, il pourrait par exemple être intéressant de minimiser la réponse plastique d'allongement des tiges (Anten & Vermeulen 2016). Au contraire, la diminution plastique du nombre de talles pourrait être favorisée puisqu'elle permettrait de réduire la compétition. Une telle plasticité pourrait également renforcer ou diminuer les effets de biodiversité dans les mélanges. Ainsi, il apparaît intéressant d'intégrer cette réflexion sur la plasticité à la conception des mélanges variétaux. Dans le cadre de cette thèse, nous avons réalisé quelques expériences préliminaires en chambre de culture afin de mieux caractériser la variabilité génétique de la réponse plastique aux signaux lumineux entre lignées EPO chez le blé dur. Si nos résultats montrent bien que les génotypes sont plus grands quand on les fait pousser sous un ratio rouge clair/rouge sombre qui mime la présence de compétiteurs, nous n'avons pas pu mettre en évidence de variation de réponse plastique entre génotypes (résultats non présentés), et n'avons donc pas poussé plus loin les expérimentations dans le cadre de cette thèse.

Alors que tous ces traits sont plus au moins identifiables et mesurables, il est très probable que nous ne puissions pas accéder à tous les traits impliqués dans les interactions

plante-plante avec une approche phénotypique. En ce sens, l'approche génétique semble particulièrement prometteuse. A ce jour, assez peu d'études se sont intéressées à la génétique des interactions plante-plante (Subrahmaniam *et al.* 2018). Par ailleurs, une large partie des analyses qui ont été conduites ont utilisé des modèles de génétique quantitative classiques qui n'intègrent pas les théories écologiques et évolutives des interactions (Subrahmaniam *et al.* 2018). Au niveau théorique, des travaux ont déjà établi des parallèles entre certains modèles de génétique quantitative (« effets génétiques indirects », (Wolf *et al.* 1998) et la sélection de parentèle (Bijma et Wade 2008 ; McGlothlin et al. 2014). Cependant, ces approches restent très peu utilisées empiriquement, surtout chez les plantes. De plus, ces modèles n'intègrent pas explicitement les effets décrits en écologie comme la complémentarité de niche. Les modèles que nous avons utilisés dans le troisième chapitre, notamment celui précédemment utilisé par Wuest et Niklaus (2018) s'inscrivent plus facilement dans ces cadres théoriques. Ces modèles pourraient faire l'objet de développements plus approfondis afin d'intégrer une plus grande diversité d'architectures génétiques. En effet, jusqu'ici seuls les effets reposant sur un faible nombre de locus à effet fort peuvent être détectés. Or, il est assez raisonnable de penser que les effets de biodiversité peuvent résulter d'une architecture génétique beaucoup plus complexe, notamment parce qu'ils impliquent beaucoup de traits, et que les valeurs de ces traits sont elles-mêmes déterminées par beaucoup de locus. De même, bon nombre de traits ayant des effets sociaux sont très certainement des traits quantitatifs déterminés par de nombreux gènes. Les perspectives de ces approches génétiques sont nombreuses. D'abord, l'identification de locus impliqués dans les interactions peut permettre d'identifier des gènes candidats, et ainsi de remonter jusqu'aux mécanismes sous-jacents aux interactions plante-plante. Ce serait par exemple une perspective de recherche intéressante pour caractériser le locus identifié dans le troisième chapitre et ainsi tester un effet « barbe verte ». Ensuite, de tels modèles pourraient être utilisés pour repérer des locus sociaux. Le modèle utilisé dans le Chapitre 3 (eq. [3]) pourrait par exemple être utilisé dans une démarche marqueur-à-marqueur afin de quantifier les effets directs (paramètre *c* dans le modèle d'Hamilton) et indirects (paramètre *b* dans le modèle d'Hamilton) de chaque locus. En comparant les génomes de différentes espèces, ou bien de différentes variétés le long d'un gradient de domestication, il serait alors possible de savoir si des allèles altruistes ont été sélectionnés ou au contraire éliminés au cours de l'histoire évolutive des espèces cultivées. Enfin, dans une démarche beaucoup plus appliquée, ces modèles pourraient être entraînés pour faire des prédictions génomiques, c'est-à-dire pour prédire la performance d'un mélange uniquement en connaissant les allèles portés par ses composantes. De telles prédictions sont couramment utilisées dans les programmes de sélection classiques afin de réduire les coûts associés au phénotypage (Meuwissen *et al.* 2001) ; elles pourraient également permettre de limiter la lourdeur du phénotypage dans des programme de sélection de mélanges variétaux.

Les connaissances acquises sur la base des analyses phénotypiques et génétiques pourraient être intégrées dans des approches ESS comme celle que nous avons utilisée dans le dernier chapitre. Ainsi, il serait possible de tester les stratégies de sélection identifiées pour la hauteur sur d'autres traits et d'évaluer si ces stratégies sont optimales pour sélectionner

l'altruisme d'une façon plus générale. Ces modèles pourraient par exemple être complexifiés pour mieux rendre compte des contraintes biologiques susceptibles d'affecter l'évolution de la coopération. Notamment, ils pourraient modéliser l'évolution de plusieurs traits simultanément en prenant en compte leurs corrélations génétiques (Frank 1997). Dans ces modèles, il serait intéressant d'explorer l'espace des paramètres afin de rechercher des situations dans lesquelles plusieurs phénotypes peuvent co-exister (« branching » évolutif, Geritz *et al.* 1998). Ainsi, nous pourrions imaginer des scénarios de sélection de mélanges dynamiques dans lesquels certains traits convergeraient vers un phénotype altruiste et d'autres traits divergeraient vers des phénotypes permettant la mise en place d'effets de biodiversité (complémentarité, sélection). Les prédictions de ces modèles pourraient enfin être confrontées au réel grâce à des expériences d'évolution expérimentale dans lesquelles les trajectoires phénotypiques et génétiques des populations soumises aux différents scénarios de sélection que nous avons proposés dans le Chapitre 4 pourraient être comparées sur plusieurs générations.

Pour finir, nous avons essentiellement abordé la question des mélanges à travers le prisme de la productivité, et dans une moindre mesure de la qualité des grains. Cependant, beaucoup d'autres critères peuvent être importants pour la conception et l'assemblage des mélanges variétaux. En effet, la diversité intra-spécifique pourrait soutenir la multifonctionnalité des agrosystèmes, c'est-à-dire leur permettre d'assurer plusieurs services (Barot et al. 2017 ; Hajjar, Jarvis, et Gemmill-Herren 2008). Ainsi, comme nous l'avons montré avec la qualité des grains, il semble important d'évaluer la performance des mélanges sur de multiples dimensions. Dans des modes de productions plus économes en intrants, plusieurs critères semblent particulièrement importants : le contrôle des agents pathogènes, la résistance aux stress abiotiques, la compétitivité face aux espèces adventices, ou encore l'efficience d'utilisation des ressources. Ces attentes multiples soulèvent de nombreuses questions qui restent à explorer : Quels sont les traits les plus importants pour répondre à chaque critère ? Quels mécanismes privilégier entre la complémentarité de niche, l'effet de sélection, ou la coopération ? Existe-t-il des compromis entre chacun de ces critères ?

BIBLIOGRAPHIE

Aarssen, L.W., Schamp, B.S. & Pither, J. (2006). Why are there so many small plants? Implications for species coexistence. *Journal of Ecology*, 94, 569–580.

Aguate, F.M., Trachsel, S., Pérez, L.G., Burgueño, J., Crossa, J., Balzarini, M., *et al.* (2017). Use of hyperspectral image data outperforms vegetation indices in prediction of maize yield. *Crop Science*, 57, 2517–2524.

Allard, R.W. (1960). *Principles of plant breeding*. John Wiley & Sons.

Altieri, M.A. (1989). Agroecology: A new research and development paradigm for world agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, International Symposium on Agricultural Ecology and Environment, 27, 37–46.

Altieri, M.A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74, 19–31.

Andalo, C., Goldringer, I. & Godelle, B. (2001). Inter- and intragenotypic competition under elevated carbon dioxide in arabidopsis thaliana. *Ecology*, 82, 157–164.

Anten, N.P.R. & Vermeulen, P.J. (2016). Tragedies and crops: understanding natural selection to improve cropping systems. *Trends in Ecology & Evolution*, 31, 429–439.

Araus, J.L. & Cairns, J.E. (2014). Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends in Plant Science*, 19, 52–61.

Atkinson, J.A., Pound, M.P., Bennett, M.J. & Wells, D.M. (2019). Uncovering the hidden half of plants using new advances in root phenotyping. *Current Opinion in Biotechnology*, Analytical Biotechnology, 55, 1–8.

Austin, R.B., Bingham, J., Blackwell, R.D., Evans, L.T., Ford, M.A., Morgan, C.L., *et al.* (1980). Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *The Journal of Agricultural Science*, 94, 675–689.

Ballaré, C.L., Scopel, A.L. & Sánchez, R.A. (1990). Far-red radiation reflected from adjacent leaves: an early signal of competition in plant canopies. *Science*, 247, 329–332.

Bardgett, R.D., Mommer, L. & De Vries, F.T. (2014). Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, 29, 692–699.

Baresel, J., Zimmermann, G. & Reents, H. (2008). Effects of genotype and environment on N uptake and N partition in organically grown winter wheat (Triticum aestivum L.) in Germany. *Euphytica*, 163, 347–354.

Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., *et al.* (2017). Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, 13.

Barry, K.E., Ruijven, J. van, Mommer, L., Bai, Y., Beierkuhnlein, C., Buchmann, N., *et al.* (2019). Limited evidence for spatial resource partitioning across temperate grassland biodiversity experiments. *Ecology*, Advance online publication.

Bedoussac, L., Journet, E.-P., Hauggaard-Nielsen, H., Naudin, C., Corre-Hellou, G., Jensen, E.S., *et al.* (2015). Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 911–935.

Ben-Ari, T., Boé, J., Ciais, P., Lecerf, R., Velde, M.V. der & Makowski, D. (2018). Causes and implications of the unforeseen 2016 extreme yield loss in the breadbasket of France. *Nature Communications*, 9, 1627.

Berendse, F. (1981). Competition between plant populations with different rooting depths II. Pot experiments. *Oecologia*, 48, 334–341.

Biedrzycki, M.L. & Bais, H.P. (2010). Kin recognition in plants: a mysterious behaviour unsolved. *Journal of Experimental Botany*, 61, 4123–4128.

Biernaskie, J.M. (2011). Evidence for competition and cooperation among climbing plants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278, 1989–1996.

Bijma, P. & Wade, M.J. (2008). The joint effects of kin, multilevel selection and indirect genetic effects on response to genetic selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1175–1188.

Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araújo, M.S., Bürger, R., Levine, J.M., Novak, M., *et al.* (2011). Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 183–192.

Bonneuil, C. & Thomas, F. (2012). *Semences, une histoire politique : amélioration des plantes, agriculture et alimentation en France depuis la Seconde Guerre mondiale*. Charles Léopold Mayer. Paris.

Bonnin, I., Bonneuil, C., Goffaux, R., Montalent, P. & Goldringer, I. (2014). Explaining the decrease in the genetic diversity of wheat in France over the 20th century. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 195, 183–192.

Borg, J., Kiær, L.P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., *et al.* (2018). Unfolding the potential of wheat cultivar mixtures: A meta-analysis perspective and identification of knowledge gaps. *Field Crops Research*, 221, 298–313.

Borojevic, K. & Borojevic, K. (2005). The transfer and history of “reduced height genes” (Rht) in wheat from Japan to Europe. *The Journal of Heredity*, 96, 455–459.

van Bruggen, A.H.C. & Finckh, M.R. (2016). Plant diseases and management approaches in organic farming systems. *Annual Review of Phytopathology*, 54, 25–54.

Cadotte, M.W. (2017). Functional traits explain ecosystem function through opposing mechanisms. *Ecology Letters*, 20, 989–996.

Callaway, R.M., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Michalet, R., *et al.* (2002). Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature*, 417, 844–848.

Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., *et al.* (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486, 59–67.

Chacón-Labella, J., Palacios, P.G., Matesanz, S., Schöb, C. & Milla, R. (2019). Plant domestication disrupts biodiversity effects across major crop types. *Ecology Letters*, 22, 1472–1482.

Cheplick, G.P. & Kane, K.H. (2004). Genetic relatedness and competition in Triplasis purpurea (poaceae): Resource partitioning or kin selection? *International Journal of Plant Sciences*, 165, 623–630.

Costanzo, A. & Bàrberi, P. (2014). Functional agrobiodiversity and agroecosystem services in sustainable wheat production. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 327–348.

Cox, T.S., Shroyer, J.P., Ben-Hui, L., Sears, R.G. & Martin, T.J. (1988). Genetic improvement in agronomic traits of hard red winter wheat cultivars 1919 to 1987. *Crop Science*, 28, 756–760.

Craine, J.M., Wedin, D.A., Chapin, F.S. & Reich, P.B. (2003). Relationship between the structure of root systems and resource use for 11 North American grassland plants. *Plant Ecology*, 165, 85–100.

Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruelheide, H., Ebeling, A., *et al.* (2016). Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371.

Danguy des Déserts, A. & Girodolle, J. (2018). *Stratégies et opinions d'acteurs sur les mélanges variétaux de blé tendre en France* (Rapport, Ingénieur Agronome, option APIMET). Montpellier SupAgro, Montpellier.

Danila, A.M., Fernandez, R., Qoul, C., Mandl, N. & Rigler, E. (2017). Annual European Union greenhouse gas inventory 1990–2015 and inventory report 2017.

Darwin, C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection*. John Murray, London.

David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., *et al.* (2014). Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Molecular Breeding*, 34, 1531–1548.

Dawkins, R. (1976). *The selfish gene*. Oxford University Press, Oxford.

Dawson, T. & Fry, R. (1998). Agriculture in Nature's image. *Trends in Ecology & Evolution*, 13, 50–51.

Denison, R.F. (2012). *Darwinian Agriculture: how understanding evolution can improve agriculture*. Princeton University Press, Princeton; Oxford.

Denison, R.F., Kiers, E.T. & West, S.A. (2003). Darwinian Agriculture: when can humans find solutions beyond the reach of natural selection? *The Quarterly Review of Biology*, 78, 145–168.

Donald, C.M. (1963). Competition among crop and pasture plants. In: *Advances in Agronomy* (ed. Norman, A.G.). Academic Press, pp. 1–118.

Donald, C.M. (1968). The breeding of crop ideotypes. *Euphytica*, 17, 385–403.

Donohue, K. (2003). The influence of neighbor relatedness on multilevel selection in the Great Lakes sea rocket. *The American Naturalist*, 162, 77–92.

de Dorlodot, S., Forster, B., Pagès, L., Price, A., Tuberosa, R. & Draye, X. (2007). Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. *Trends in Plant Science*, 12, 474–481.

East, E.M. (1908). Inbreeding in corn. *Annual Report of the Connecticut Agricultural Experimental Station*, 1907, 419–428.

Ekroth, A.K.E., Rafaluk-Mohr, C. & King, K.C. (2019). Host genetic diversity limits parasite success beyond agricultural systems: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286, 20191811.

Ennos, A.R. & Fitter, A.H. (1992). Comparative functional morphology of the anchorage systems of annual dicots. *Functional Ecology*, 6, 71–78.

Evans, T.A. (1999). Kin recognition in a social spider. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 266, 287–292.

Evenson, R.E. & Gollin, D. (2003). Assessing the impact of the Green Revolution, 1960 to 2000. *Science*, 300, 758–762.

Falster, D.S. & Westoby, M. (2003). Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 337–343.

Fargione, J. & Tilman, D. (2005). Niche differences in phenology and rooting depth promote coexistence with a dominant C4 bunchgrass. *Oecologia*, 143, 598–606.

Fargione, J., Tilman, D., Dybzinski, R., Lambers, J.H.R., Clark, C., Harpole, W.S., *et al.* (2007). From selection to complementarity: shifts in the causes of biodiversity–productivity relationships in a long-term biodiversity experiment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 871–876.

von Felten, S. & Schmid, B. (2008). Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. *Journal of Plant Ecology*, 1, 33–41.

Fess, T.L., Kotcon, J.B. & Benedito, V.A. (2011). Crop breeding for low input agriculture: A sustainable response to feed a growing world population. *Sustainability*, 3, 1742–1772.

File, A.L., Klironomos, J., Maherali, H. & Dudley, S.A. (2012). Plant kin recognition enhances abundance of symbiotic microbial partner. *PLOS ONE*, 7, e45648.

Finckh, M.R., Gacek, E.S., Goyeau, H., Lannou, C., Merz, U., Mundt, C.C., *et al.* (2000). Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie*, 20, 813–837.

Finckh, M.R. & Mundt, C.C. (1992). Stripe rust, yield, and plant competition in wheat cultivar mixtures. *Phytopathology*, 82, 905–913.

Fischer, G., Shah, M.M. & Van Velthuizen, H. (2002). *Climate change and agricultural vulnerability*. IIASA, Laxenburg, Austria.

Foley, W.J., McIlwee, A., Lawler, I., Aragones, L., Woolnough, A.P. & Berding, N. (1998). Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy – a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. *Oecologia*, 116, 293–305.

Forst, E. (2018). Développement de méthodes d'estimation de l'aptitude au mélange pour la prédiction des performances et la sélection de mélanges variétaux chez le blé tendre, et co-conception d'idéotypes de mélanges adaptés à l'agriculture biologique.

Frank, S.A. (1997). Multivariate analysis of correlated selection and kin selection, with an ESS maximization method. *Journal of Theoretical Biology*, 189, 307–316.

Frank, S.A. (1998). *Foundations of Social Evolution*. Princeton University Press.

Freschet, G.T., Swart, E.M. & Cornelissen, J.H.C. (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.

Fréville, H., Roumet, P., Rode, N.O., Rocher, A., Latreille, M., Muller, M.-H., *et al.* (2019). Preferential helping to relatives: A potential mechanism responsible for lower yield of crop variety mixtures? *Evolutionary Applications*, 12, 1837–1849.

Futuyama, D.J. (2013). *Evolutionary Biology*. Third Edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Gallais, A. (2018). *Histoire de la génétique et de l'amélioration des plantes*. Editions Quae.

Gardner, A. (2019). The greenbeard effect. *Current Biology*, 29, R430–R431.

Gardner, A. & West, S.A. (2010). Greenbeards. *Evolution*, 64, 25–38.

Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., *et al.* (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85, 2630–2637.

Garnier, E., Navas, M.-L. & Grigulis, K. (2015). *Plant functional diversity: organism traits, community structure, and ecosystem properties*. Oxford University Press, Oxford, New York.

Gayon, J. & Zallen, D.T. (1998). The role of the Vilmorin Company in the promotion and diffusion of the experimental science of heredity in France, 1840-1920. *Journal of the History of Biology*, 31, 241–262.

Gepts, P. (2004). Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant breeding reviews*, 24, 1–44.

Geritz, S.A.H., Kisdi, E., Mesze´NA, G. & Metz, J.A.J. (1998). Evolutionarily singular strategies and the adaptive growth and branching of the evolutionary tree. *Evolutionary Ecology*, 12, 35–57.

Gizlice, Z., Carter, T.E., Burton, J.W. & Emigh, T.H. (1989). Partitioning of blending ability using two-way blends and component lines of soybean. *Crop Science*, 29, 885–889.

Glémin, S. & Bataillon, T. (2009). A comparative view of the evolution of grasses under domestication. *New Phytologist*, 183, 273–290.

Goodnight, C.J. (1985). The influence of environmental variation on group and individual selection in a cress. *Evolution*, 39, 545–558.

Grassini, P., Eskridge, K.M. & Cassman, K.G. (2013). Distinguishing between yield advances and yield plateaus in historical crop production trends. *Nature Communications*, 4.

Griffin, A.S. & West, S.A. (2002). Kin selection: fact and fiction. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 15–21.

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. (1998). Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology*, 86, 902–910.

Grime, J.P. (2006). Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science*, 17, 255–260.

Hajjar, R., Jarvis, D.I. & Gemmill-Herren, B. (2008). The utility of crop genetic diversity in maintaining ecosystem services. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 123, 261–270.

Hamilton, W.D. (1964a). The genetical evolution of social behaviour. I. *Journal of Theoretical Biology*, 7, 1–16.

Hamilton, W.D. (1964b). The genetical evolution of social behaviour. II. *Journal of Theoretical Biology*, 7, 17–52.

Hardin, G. (1968). The tragedy of the commons. *Science*, 162, 1243–1248.

Harlan, H. & Martini, M.L. (1938). The effect of natural selection in a mixture of barley varieties. *Journal of Agricultural Research*, 57.

Harlan, J.R. (1972). Genetics of disaster. *Journal of Environmental Quality*, 1, 212–215.

Harlan, J.R. (1992). *Crops and Man, 2nd Edition*. 2nd edition. American Society of Agronomy-Crop Science Society, Madison, Wis., USA.

Harlan, J.R., Wet, J.M.J. de & Price, E.G. (1973). Comparative evolution of cereals. *Evolution*, 27, 311–325.

Haudry, A., Cenci, A., Ravel, C., Bataillon, T., Brunel, D., Poncet, C., *et al.* (2007). Grinding up wheat: A massive loss of nucleotide diversity since domestication. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 1506–1517.

Hector, A. & Bagchi, R. (2007). Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature*, 448, 188–190.

Hector, A., Loreau, M., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M., Diemer, M., *et al.* (2002). Biodiversity manipulation experiments: studies replicated at multiple sites. *Biodiversity and ecosystem functioning: synthesis and perspectives. Oxford University Press, Oxford, UK*, 36–46.

Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., *et al.* (1999). Plant diversity and productivity experiments in european grasslands. *Science*, 286, 1123–1127.

Hesse, S., Bakker, T.C.M., Baldauf, S.A. & Thünken, T. (2012). Kin recognition by phenotype matching is family- rather than self-referential in juvenile cichlid fish. *Animal Behaviour*, 84, 451–457.

Hodge, A. (2004). The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytologist*, 162, 9–24.

Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., *et al.* (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3–35.

Hughes, A.R., Inouye, B.D., Johnson, M.T.J., Underwood, N. & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11, 609–623.

Hutchinson, G.E. (1957). Concluding Remarks. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 22, 415–427.

Jarvis, D.I., Brown, A.H.D., Cuong, P.H., Collado-Panduro, L., Latournerie-Moreno, L., Gyawali, S., *et al.* (2008). A global perspective of the richness and evenness of traditional crop-variety diversity maintained by farming communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 5326–5331.

Jenkins, M. (2003). Prospects for biodiversity. *Science*, 302, 1175–1177.

Jennings, P.R. & Aquino, R.C. (1968). Studies on competition in rice III. The mechanism of competition among phenotypes. *Evolution*, 22, 529–542.

Jennings, P.R. & Jesus, J. de. (1968). Studies on competition in rice I. Competition in mixtures of varieties. *Evolution*, 22, 119–124.

Karban, R. & Shiojiri, K. (2009). Self-recognition affects plant communication and defense. *Ecology Letters*, 12, 502–506.

Karban Richard, Shiojiri Kaori, Ishizaki Satomi, Wetzel William C. & Evans Richard Y. (2013). Kin recognition affects plant communication and defence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280, 20123062.

Kelly, J.K. (1996). Kin selection in the annual plant Impatiens capensis. *The American Naturalist*, 147, 899–918.

Kiær, L.P., Skovgaard, I.M. & Østergård, H. (2009). Grain yield increase in cereal variety mixtures: A meta-analysis of field trials. *Field Crops Research*, 114, 361–373.

Kiers, E.T. & Denison, R.F. (2014). Inclusive fitness in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 369, 20130367.

Klemens, J.A. (2008). Kin recognition in plants? *Biology Letters*, 4, 67–68.

Kraft, N.J.B., 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.

Kramer-Walter, K.R., Bellingham, P.J., Millar, T.R., Smissen, R.D., Richardson, S.J. & Laughlin, D.C. (2016). Root traits are multidimensional: specific root length is independent from root tissue density and the plant economic spectrum. *Journal of Ecology*, 104, 1299–1310.

Kunstler, G., Lavergne, S., Courbaud, B., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., *et al.* (2012). Competitive interactions between forest trees are driven by species' trait hierarchy, not phylogenetic or functional similarity: implications for forest community assembly. *Ecology Letters*, 15, 831–840.

Lal, R. (2007). Anthropogenic influences on world soils and implications to global food security. In: *Advances in Agronomy* (ed. Sparks, D.L.). Academic Press, pp. 69–93.

Ledent, J.F. & Stoy, V. (1988). Yield of winter wheat. A comparison of genotypes from 1910 to 1976. *Cereal Research Communications*, 16, 151–156.

Lesk, C., Rowhani, P. & Ramankutty, N. (2016). Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature*, 529, 84–87.

Liese, R., Alings, K. & Meier, I.C. (2017). Root branching is a leading root trait of the plant economics spectrum in temperate trees. *Frontiers in Plant Science*, 8.

Lion, S., Jansen, V.A.A. & Day, T. (2011). Evolution in structured populations: beyond the kin versus group debate. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 193–201.

Lithourgidis, A.S., Vlachostergios, D.N., Dordas, C.A. & Damalas, C.A. (2011). Dry matter yield, nitrogen content, and competition in pea–cereal intercropping systems. *European Journal of Agronomy*, 34, 287–294.

Litrico, I. & Violle, C. (2015). Diversity in plant breeding: a new conceptual framework. *Trends in Plant Science*, 20, 604–613.

Liu, S., Li, X., Zhu, X. & Song, F. (2018). Tensile properties of seminal and nodal roots and their relationship with the root diameter and planting density of maize (Zea mays). *Crop and Pasture Science*, 69, 717–723.

Loreau, M. (2000). Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos*, 91, 3–17.

Loreau, M. & Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412, 72–76.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., *et al.* (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, 294, 804–808.

Lynch, J.P. (2007). Roots of the Second Green Revolution. *Australian Journal of Botany*, 55, 493–512.

MacArthur, R. & Levins, R. (1967). The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. *The American Naturalist*, 101, 377–385.

Maestre, F.T., Quero, J.L., Gotelli, N.J., Escudero, A., Ochoa, V., Delgado-Baquerizo, M., *et al.* (2012). Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science*, 335, 214–218.

Malézieux, E. (2012). Designing cropping systems from nature. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 15–29.

Masclaux, F., Hammond, R.L., Meunier, J., Gouhier-Darimont, C., Keller, L. & Reymond, P. (2010). Competitive ability not kinship affects growth of Arabidopsis thaliana accessions. *The New Phytologist*, 185, 322–331.

McGlothlin, J.W., Wolf, J.B., Brodie, E.D. & Moore, A.J. (2014). Quantitative genetic versions of Hamilton's rule with empirical applications. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369.

Meuwissen, T.H., Hayes, B.J. & Goddard, M.E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157, 1819–1829.

Meyer, R.S., DuVal, A.E. & Jensen, H.R. (2012). Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist*, 196, 29–48.

Mikkelsen, B.L., Rosendahl, S. & Jakobsen, I. (2008). Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*, 180, 890–898.

Milla, R., Bastida, J.M., Turcotte, M.M., Jones, G., Violle, C., Osborne, C.P., *et al.* (2018). Phylogenetic patterns and phenotypic profiles of the species of plants and mammals farmed for food. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 1808.

Milla, R., Forero, D.M., Escudero, A. & Iriondo, J.M. (2009). Growing with siblings: a common ground for cooperation or for fiercer competition among plants? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276, 2531–2540.

Milla, R. & Matesanz, S. (2017). Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, 19, 475–483.

Milla, R., Morente-López, J., Alonso-Rodrigo, J.M., Martín-Robles, N. & Chapin, F.S. (2014). Shifts and disruptions in resource-use trait syndromes during the evolution of herbaceous crops. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 281, 20141429.

Milla, R., Osborne, C.P., Turcotte, M.M. & Violle, C. (2015). Plant domestication through an ecological lens. *Trends in Ecology & Evolution*, 30, 463–469.

Mokany, K., Ash, J. & Roxburgh, S. (2008). Functional identity is more important than diversity in influencing ecosystem processes in a temperate native grassland. *Journal of Ecology*, 96, 884–893.

Monaghan, J.M., Snape, J.W., Chojecki, A.J.S. & Kettlewell, P.S. (2001). The use of grain protein deviation for identifying wheat cultivars with high grain protein concentration and yield. *Euphytica*, 122, 309–317.

Montazeaud, G., Violle, C., Fréville, H., Luquet, D., Ahmadi, N., Courtois, B., *et al.* (2018). Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs. *Plant and Soil*, 424, 187–202.

Moss, B. (2008). Water pollution by agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363, 659–666.

Mueller, K.E., Tilman, D., Fornara, D.A. & Hobbie, S.E. (2013). Root depth distribution and the diversity–productivity relationship in a long-term grassland experiment. *Ecology*, 94, 787–793.

Murphy, G.P., Swanton, C.J., Acker, R.C.V. & Dudley, S.A. (2017). Kin recognition, multilevel selection and altruism in crop sustainability. *Journal of Ecology*, 105, 930–934.

Naeem, S., Duffy, J.E. & Zavaleta, E. (2012). The functions of biological diversity in an age of extinction. *Science*, 336, 1401–1406.

Østergård, H., Finckh, M.R., Fontaine, L., Goldringer, I., Hoad, S.P., Kristensen, K., *et al.* (2009). Time for a shift in crop production: embracing complexity through diversity at all levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1439–1445.

Parrish, J. a. D. & Bazzaz, F.A. (1976). Underground niche separation in successional plants. *Ecology*, 57, 1281–1288.

Pathak, D.T., Wei, X., Dey, A. & Wall, D. (2013). Molecular recognition by a polymorphic cell surface receptor governs cooperative behaviors in bacteria. *PLOS Genetics*, 9, e1003891.

Pennisi, E. (2019). Do plants favor their kin? *Science*, 363, 15–16.

Perronne, R., Rolland, B., Mabire, C., Enjalbert, J., Borg, J., Forst, E., *et al.* (2017). *Evolution of adoption of variety mixtures and low-input multi-resistant bread wheat varieties since two decades in France: Increased use of these agroecological levers*.

Pierik, R. & de Wit, M. (2014). Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *Journal of Experimental Botany*, 65, 2815–2824.

Polley, H.W., Wilsey, B.J. & Derner, J.D. (2003). Do species evenness and plant density influence the magnitude of selection and complementarity effects in annual plant species mixtures? *Ecology Letters*, 6, 248–256.

Purugganan, M.D. & Fuller, D.Q. (2009). The nature of selection during plant domestication. *Nature*, 457, 843–848.

Rao, C.R. (1982). Diversity and dissimilarity coefficients: a unified approach. *Theoretical Population Biology*, 21, 24–43.

Ray, D.K., Ramankutty, N., Mueller, N.D., West, P.C. & Foley, J.A. (2012). Recent patterns of crop yield growth and stagnation. *Nature Communications*, 3, 1–7.

Reif, J.C., Zhang, P., Dreisigacker, S., Warburton, M.L., van Ginkel, M., Hoisington, D., *et al.* (2005). Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 110, 859–864.

Reiss, E.R. & Drinkwater, L.E. (2018). Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications*, 28, 62–77.

Ricotta, C. & Moretti, M. (2011). CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. *Oecologia*, 167, 181–188.

Rincent, R., Charpentier, J.-P., Faivre-Rampant, P., Paux, E., Gouis, J.L., Bastien, C., *et al.* (2018). Phenomic selection is a low-cost and high-throughput method based on indirect predictions: Proof of concept on wheat and poplar. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8, 3961–3972.

Rodenburg, T., Bijma, P., Ellen, E., Bergsma, R., De Vries, S., Bolhuis, J., *et al.* (2010). Breeding amiable animals? Improving farm animal welfare by including social effects in breeding programmes. *Animal Welfare*, 19, 77–82.

Ronsheim, M.L. & Anderson, S.E. (2001). Population-level specificity in the plant-mycorrhizae association alters intraspecific interactions among neighboring plants. *Oecologia*, 128, 77–84.

Roucou, A., Violle, C., Fort, F., Roumet, P., Ecarnot, M. & Vile, D. (2018). Shifts in plant functional strategies over the course of wheat domestication. *Journal of Applied Ecology*, 55, 25–37.

Roughgarden, J. (1974). Niche width: biogeographic patterns among anolis lizard populations. *The American Naturalist*, 108, 429–442.

Roumet, C., Urcelay, C. & Díaz, S. (2006). Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist*, 170, 357–368.

Ryser, P. (1996). The importance of tissue density for growth and life span of leaves and roots: A comparison of five ecologically contrasting grasses. *Functional Ecology*, 10, 717–723.

Schieving, F. & Poorter, H. (1999). Carbon gain in a multispecies canopy: the role of specific leaf area and photosynthetic nitrogen-use efficiency in the tragedy of the commons. *New Phytologist*, 143, 201–211.

Schmid, B. & Niklaus, P.A. (2017). Biodiversity: complementary canopies. *Nature Ecology & Evolution*, 1, 0104.

Schroeder-Georgi, T., Wirth, C., Nadrowski, K., Meyer, S.T., Mommer, L. & Weigelt, A. (2016). From pots to plots: hierarchical trait-based prediction of plant performance in a mesic grassland. *Journal of Ecology*, 104, 206–218.

Schumacher, J. & Roscher, C. (2009). Differential effects of functional traits on aboveground biomass in semi-natural grasslands. *Oikos*, 118, 1659–1668.

Shull, G.H. (1908). The composition of a field of maize. *Journal of Heredity*, 296–301.

Shull, G.H. (1914). Duplicate genes for capsule-form inBursa bursa-pastoris. *Molecular and General Genetics MGG*, 12, 97–149.

Simmonds, N.W. (1995). The relation between yield and protein in cereal grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 309–315.

Smith, H. & Whitelam, G.C. (1997). The shade avoidance syndrome: multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell & Environment*, 20, 840–844.

Smithson, J.B. & Lenné, J.M. (1996). Varietal mixtures: a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Annals of Applied Biology*, 128, 127–158.

Stachowicz, J.J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities by reducing physical or biotic stresses in existing habitats and by creating new habitats on which many species depend. *BioScience*, 51, 235–246.

Stachowicz, J.J., Kamel, S.J., Hughes, A.R. & Grosberg, R.K. (2013). Genetic relatedness influences plant biomass accumulation in eelgrass (Zostera marina). *The American Naturalist*, 181, 715–724.

Stevens, L., Goodnight, C.J. & Kalisz, S. (1995). Multilevel selection in natural populations of Impatiens capensis. *The American Naturalist*, 145, 513–526.

Strassmann, J.E. (2016). Kin discrimination in dictyostelium social amoebae. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 63, 378–383.

Subrahmaniam, H.J., Libourel, C., Journet, E.-P., Morel, J.-B., Muños, S., Niebel, A., *et al.* (2018). The genetics underlying natural variation of plant-plant interactions, a beloved but forgotten member of the family of biotic interactions. *The Plant Journal*, 93, 747–770.

Suneson, C.A. & Wiebe, G.A. (1942). Survival of barley and wheat varities in mixtures. *Journal of the American Society of Agronomy*, 34, 1052–1056.

Taylor, P.D. (1992). Altruism in viscous populations — an inclusive fitness model. *Evolutionary Ecology*, 6, 352–356.

Thuillet, A.-C., Bataillon, T., Poirier, S., Santoni, S. & David, J.L. (2005). Estimation of long-term effective population sizes through the history of durum wheat using microsatellite data. *Genetics*, 169, 1589–1599.

Till-Bottraud, I. & Villemereuil, P. de. (2016). Kin recognition or phenotype matching? *New Phytologist*, 209, 13–14.

Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671–677.

Tilman, D., Lehman, C.L. & Thomson, K.T. (1997). Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 1857.

Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T. & Lehman, C. (2001). Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, 294, 843–845.

Tilman, D., Wedin, D. & Knops, J. (1996). Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature*, 379, 718.

Tooker, J.F. & Frank, S.D. (2012). Genotypically diverse cultivar mixtures for insect pest management and increased crop yields. *Journal of Applied Ecology*, 49, 974–985.

Torices, R., Gómez, J.M. & Pannell, J.R. (2018). Kin discrimination allows plants to modify investment towards pollinator attraction. *Nature Communications*, 9, 1–6.

Tribouillois, H., Fort, F., Cruz, P., Charles, R., Flores, O., Garnier, E., *et al.* (2015). A functional characterisation of a wide range of cover crop species: growth and nitrogen acquisition rates, leaf traits and ecological strategies. *PLOS ONE*, 10, e0122156.

Van Valen, L. (1965). Morphological variation and width of ecological niche. *The American Naturalist*, 99, 377–390.

Vermeulen, P.J., Anten, N.P.R., Stuefer, J.F. & During, H.J. (2013). Whole-canopy carbon gain as a result of selection on individual performance of ten genotypes of a clonal plant. *Oecologia*, 172, 327–337.

Vilmorin-Andrieux & Cie. (1880). *Les meilleurs blés*. Vilmorin-Andrieux, Paris.

Violle, C., Garnier, E., Lecoeur, J., Roumet, C., Podeur, C., Blanchard, A., *et al.* (2009). Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia*, 160, 747–755.

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., *et al.* (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116, 882–892.

Wade, M.J., Bijma, P., Ellen, E.D. & Muir, W. (2010). Group selection and social evolution in domesticated animals. *Evolutionary Applications*, 3, 453–465.

Wagg, C., Ebeling, A., Roscher, C., Ravenek, J., Bachmann, D., Eisenhauer, N., *et al.* (2017). Functional trait dissimilarity drives both species complementarity and competitive disparity. *Functional Ecology*, 31, 2320–2329.

Wahl, S. & Ryser, P. (2000). Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist*, 148, 459–471.

Weigelt, A. & Jolliffe, P. (2003). Indices of plant competition. *Journal of Ecology*, 91, 707–720.

Weiher, E. & Keddy, P. (2001). *Ecological assembly rules: perspectives, advances, retreats*. Cambridge University Press.

Weiner, J. (2019). Looking in the wrong direction for higher-yielding crop genotypes. *Trends in Plant Science*, 24, 927–933.

Weiner, J., Du, Y.-L., Zhang, C., Qin, X.-L. & Li, F.-M. (2017). Evolutionary agroecology: individual fitness and population yield in wheat (Triticum aestivum). *Ecology*, 98, 2261–2266.

West, S.A., Gardner, A. & Griffin, A.S. (2006). Altruism. *Current Biology*, 16, R482–R483.

West, S.A., Griffin, A.S. & Gardner, A. (2007). Social semantics: altruism, cooperation, mutualism, strong reciprocity and group selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 415–432.

Westoby, M. (1998). A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil*, 199, 213–227.

Willey, R.W. (1985). Evaluation and presentation of intercropping advantages. *Experimental Agriculture*, 21, 119–133.

Willey, R.W. & Rao, M.R. (1980). A competitive ratio for quantifying competition between intercrops. *Experimental Agriculture*, 16, 117–125.

Wolf, J.B., Brodie III, E.D., Cheverud, J.M., Moore, A.J. & Wade, M.J. (1998). Evolutionary consequences of indirect genetic effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13, 64–69.

Wolfe, M.S. (1985). The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 251–273.

van de Wouw, M., van Hintum, T., Kik, C., van Treuren, R. & Visser, B. (2010). Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 1241–1252.

Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., *et al.* (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428, 821.

Wuest, S.E. & Niklaus, P.A. (2018). A plant biodiversity effect resolved to a single chromosomal region. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 1933–1939.

Zhang, F. & Li, L. (2003). Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency. *Plant and Soil*, 248, 305–312.

Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., *et al.* (2000). Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 406, 718–722.

Zimdahl, R.L. (2007). *Weed-crop competition: A review*. John Wiley & Sons.

Zuppinger-Dingley, D., Schmid, B., Petermann, J.S., Yadav, V., De Deyn, G.B. & Flynn, D.F.B. (2014). Selection for niche differentiation in plant communities increases biodiversity effects. *Nature*, 515, 108–111.

Résumé

Une grande partie de la production alimentaire mondiale repose sur des variétés génétiquement homogènes, c'est-à-dire composées d'un seul génotype. Cependant, les patrons observés dans les écosystèmes naturels suggèrent qu'une diversité génétique plus importante pourrait rendre les agrosystèmes plus durables. Une façon simple d'augmenter la diversité dans les agrosystèmes consiste à cultiver plusieurs variétés d'une même espèce en mélange. A ce jour, cette pratique a fourni des résultats contrastés, et la performance des mélanges variétaux reste difficile à prédire. L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre la relation entre la diversité génétique et la performance agronomique à la lumière des théories écologiques et évolutives. Nous combinons des approches expérimentales et théoriques, et nous utilisons le riz (*Oryza sativa*) et le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) comme espèces modèles. Dans une première expérience en conditions contrôlées, nous montrons que les différences de profondeurs racinaires entre des variétés de riz cultivées en mélange ne génèrent pas une productivité supérieure en mélange, comme cela pourrait être attendu sous l'hypothèse de complémentarité d'utilisation des ressources. Dans une deuxième expérience conduite au champ avec des mélanges de blé dur, nous montrons qu'une description multivariée de la niche écologique des génotypes permet de mieux comprendre les effets de la diversité génétique sur plusieurs composantes de la performance agronomique. Ensuite, nous testons les théories écologiques et évolutives au niveau génomique. Sur la base des données acquises dans les mélanges de blé dur, nous identifions un locus auquel une plus grande diversité allélique est associée à des rendements plus faibles et à une incidence plus forte de la septoriose. Le patron génétique identifié est compatible avec un effet « barbe verte », classiquement décrit en biologie évolutive pour caractériser un gène capable de favoriser sa propre transmission en rendant les individus qui le portent plus coopératifs envers les individus partageant ce même gène. Enfin, nous nous intéressons aux effets temporels de la diversité génétique dans le contexte d'une gestion dynamique de la diversité cultivée. Comme formalisé par le concept de la Tragédie des Communs, les phénotypes les plus compétitifs dans un mélange sont en effet amenés à augmenter en fréquence au fil des générations, entraînant une diminution de la performance du groupe. Nous développons donc un modèle théorique afin d'identifier des méthodes de sélection permettant d'empêcher les variétés les plus compétitives d'augmenter en fréquence. Dans l'ensemble, l'approche interdisciplinaire développée dans cette thèse permet de progresser dans la détection, la compréhension, et la sélection des effets issus des interactions plante-plante, ouvrant ainsi des opportunités stimulantes dans le domaine appliqué et dans le domaine théorique.

Mots clés : biodiversité, agriculture, mélanges variétaux, complémentarité de niche, sélection de parentèles

---

Abstract

Most of the worldwide food production is based on genetically homogeneous crop varieties, that is single-genotype varieties. However, the patterns observed in natural ecosystems suggest that higher levels of genetic diversity could increase agricultural sustainability. A straightforward method to increase diversity in agrosystems is to grow varietal mixtures. So far, the results accumulated on varietal mixtures are very contrasted and it remains difficult to predict mixture performance. The aim of the thesis is to better understand the relationship between genetic diversity and agronomic performance in light of ecological and evolutionary theories. We combine experimental and theoretical approaches, using rice (*Oryza sativa*) and durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) as model species. A first experiment in controlled conditions fails to demonstrate any productivity benefit associated with root depth differences in rice mixtures, contrasting with the pattern expected under the resource-use complementarity theory. In a second experiment conducted in field conditions with durum wheat mixtures, we show that a multivariate description of the niche allows us to capture a significant proportion of the mixing effects on several components of the agronomic performance. Using the same experiment, we show that allelic diversity at a single locus decreases grain yield and increases disease susceptibility in the mixtures. Such a negative effect of allelic diversity is consistent with a "greenbeard" effect, classically described in evolutionary biology to characterize genes which are able to favor their own transmission by making their bearer more cooperative towards individuals who bear the same gene copy. Lastly, we investigate the temporal effects associated with genetic diversity in the context of a dynamic management of diversity. Indeed, as formalized by the Tragedy of the Commons, phenotypes that are more competitive are expected to increase in frequency over generations, thus reducing the whole group performance. We thus develop a theoretical model to identify selection methods that allow us to prevent invasion by competitive phenotypes that lower yield. Overall, the interdisciplinary approach developed in this thesis has provided invaluable insights into the understanding, detection, and selection of the effects that arise from plan-plant interactions, which opens up promising opportunities for tackling both applied issues in agriculture and theoretical issues in ecology and evolutionary biology.

Keywords: biodiversity, agriculture, varietal mixtures, niche complementarity, kin selection