



**HAL**  
open science

# Décrypter les déterminants génétiques et écologiques des interactions entre géotypes dans les mélanges de blé dur pour valoriser les interactions entre plantes

Michel Colombo

► **To cite this version:**

Michel Colombo. Décrypter les déterminants génétiques et écologiques des interactions entre géotypes dans les mélanges de blé dur pour valoriser les interactions entre plantes. Sciences agricoles. Montpellier SupAgro, 2023. Français. NNT : 2023NSAM0035 . tel-04589729

**HAL Id: tel-04589729**

**<https://theses.hal.science/tel-04589729>**

Submitted on 27 May 2024

**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 L'INSTITUT AGRO MONTPELLIER

En Sciences de l'agronomie

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

Portée par

UMR Amélioration génétique et adaptation des plantes (AGAP)

UMR Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE)

Décrypter les déterminants génétiques et écologiques des  
interactions entre géotypes dans les mélanges de blé  
dur pour valoriser les interactions entre plantes

Présentée par Michel COLOMBO

Le 30 novembre 2023

Sous la direction d'Hélène FREVILLE,  
Cyrille VIOLLE et Florian FORT

Devant le jury composé de

Laurence MOREAU, directrice de recherche, INRAE

Michel-Pierre FAUCON, Directeur à la Recherche et Enseignant-chercheur, Institut  
polytechnique UniLaSalle

Adeline BARNAUD, directrice de recherche, IRD

Noémie GAUDIO, chargée de recherche, INRAE

Hélène FREVILLE, directrice de recherche, INRAE

Cyrille VIOLLE, directeur de recherche, CNRS

Florian FORT, maître de conférence, Institut Agro

Rapporteure

Rapporteur

Examinatrice & Présidente

Examinatrice

Directrice de thèse

Co-directeur de thèse

Co-directeur de thèse



UNIVERSITÉ  
DE MONTPELLIER

L'INSTITUT  
agro Montpellier

Remerciements,

Avant de remercier spécifiquement des gens, je tiens à remercier tous les gens qui ont été présents durant cette thèse, qui a été l'un des moments les plus intenses de ma vie, tant par le travail réalisé que par les événements qui sont survenus.

Cette thèse est le fruit du travail d'un grand nombre de personnes. Tout d'abord, elle n'aurait pas été possible sans les financements du projet SCOOP portés par mes encadrants de thèse que je tiens à remercier pour leurs trois années d'encadrement. Merci à Hélène Freville, Cyrille Violle et Florian Fort de m'avoir encadré durant cette thèse. Nous avons traversé de nombreux moments intenses au cours de ces trois ans, dont un début de thèse en confinement, de nombreuses discussions scientifiques, des expérimentations sur le terrain, des moments de tension, des moments de confrontation, d'incompréhension, de soulagement, de réussite, de joie, en somme, la vie. Merci pour votre patience tout au long de ces trois ans. Merci à Florian pour ta franchise et ton soutien technique dans de nombreux aspects de cette thèse. Merci à Cyrille pour tout le temps que tu m'as consacré durant ces trois ans pour discuter de sciences, d'articles ou de la vie. Merci d'être passionné et si investi. Merci pour toutes ces heures de travail que tu as investies, tant pendant tes heures de travail que pendant tes vacances, merci d'avoir partagé ta vision de la science avec moi et merci pour toute cette stimulation intellectuelle. Merci à Hélène pour ta diplomatie, merci pour toutes les responsabilités que tu prends pour l'équipe, merci pour ton soutien, pour toute la gestion de cette thèse, et ta patience, particulièrement pour tous les moments de relecture de mes écrits en fin de thèse. Merci à vous trois d'avoir été patients et de m'avoir mené au bout de cette épreuve très émotionnelle. Vous avez accompli le plus important pour moi. Et merci à tous les encadrants de doctorants qui continuent à encadrer les doctorants et à les mener jusqu'au bout.

Je tiens également à remercier toute l'équipe GE2POP qui a accompagné mon quotidien et a partagé ces premiers moments de ma vie active avec moi. Vous avez tous été une source d'inspiration à votre manière. Je vais commencer par remercier l'ancien doyen de cette équipe. Merci à Pierre pour tous tes conseils, tous tes partages, ta joie, et tes expressions si imagées, je suis vraiment content d'avoir pu bénéficier de tes derniers moments à l'INRAE avant ta retraite. Merci pour les moments passés à Changins, je m'en souviendrai longtemps de ce passage de douane un peu rocambolesque. Merci à Sylvain, pour tous les moments passés à discuter, merci pour toutes ses opinions, merci pour ton incroyable capacité à dévier toutes les conversations vers le sport. Merci pour tes discours du matin dans la salle des doctorants. Merci à Jacques pour son incroyable curiosité et tout le temps qu'il passe avec les étudiants, même s'ils ne sont pas les siens. Merci pour toutes les discussions en fin de journée à pas d'heure, les réflexions pédagogiques, les encouragements, et toute la stimulation intellectuelle que tu provoques en nous quand tu viens passer dans la salle des doctorants. Merci à Aline, pour son honnêteté, son accompagnement, ses conseils et tout le travail titanesque qu'elle a fait pour la partie expérimentale de cette thèse. Merci à Audrey et Christine toujours fidèles au poste, merci à vous d'avoir partagé tous ces moments de vie à Arcad. Merci aux anciens doctorants qui ont partagé leurs fins de thèse quand je suis arrivé : merci à Pauline et Céline. Merci à tout le reste de l'équipe qui participe à la bonne ambiance de l'équipe GE2POP.

Je tiens également à remercier l'équipe ECOPAR avec qui j'ai passé moins de temps mais qui m'a toujours accueilli avec bienveillance. Merci à tous pour votre accueil, et tous les moments partagés : les repas partagés, les discussions, et les moments passés dans les expérimentations.

Une thèse, c'est aussi la fin de ses études et c'est l'occasion de dire merci à tous les professeurs qui m'ont marqué et qui m'ont fait grandir. Je remercie aussi Renaud Rincet, mon maître de stage de fin d'étude, qui m'a beaucoup accompagné en début de thèse, et qui m'a donné envie d'aller en thèse. Je

remercie également Vincent Allard, qui devrait réellement envisager d'ouvrir un cabinet de coach de vie pour arrondir ses fins de mois.

Une thèse, c'est aussi des gros soutiens entre doctorants ou anciens doctorants. Tout d'abord, il y a ceux qui m'ont accompagné dès le début. Merci à Emma, Taina, Leo, Dylan, Léo, Mathilde et en particulier à Lison. Merci à Lison qui a été à l'écoute tout au long de cette thèse. Merci aussi aux doctorants de Montpellier et d'ailleurs qui ont partagé des moments de thèse. Merci à Clément, Eva, Charlotte, Céline, Pauline, Léo, Margot, Etienne et tous les autres que j'oublie. Et il y a aussi les incroyables stagiaires, Nicolas et Léa, qui m'ont accompagné durant l'année des expérimentations et ceux qui ont fait des allers et venues jusqu'à finir en thèse eux-mêmes, pour le meilleur et pour le pire.

Et puis il y a les soutiens extérieurs à la thèse qui ont été là à ce moment charnière de ma vie. Je tiens à remercier tous les scouts qui m'ont accompagné durant ces trois ans à Montpellier, vous avez été une vraie bouffée d'air. Merci à Pierre et Celia, probablement l'une des meilleures maîtrises que je n'ai jamais eues. Merci à tous les autres qui ont été présents à un moment ou l'autre de cette thèse, un vrai plaisir qu'on ait progressé ensemble ces trois dernières années, en particulier : Merci à Margot, Thomas, Virginie, Lucas, Maylis, Line, Eole, Ilka, Jennifer, Hubert, François, Lucille, Nicolas, Angelina, Hugo, Juliana, Camille, Rachel, Alix, Clarisse, Julie, Thibault, et tous les jeunes (et leurs parents) que j'ai vu grandir ces trois dernières années, en particulier tous ces collégiens devenus lycéens ou étudiants. Merci pour tous ces moments de simplicité, d'humanité, tous ces moments à imaginer des jeux complètement farfelus. Merci de m'avoir permis de parler de dragons, de joueurs de pipeaux, de plantes carnivores, de mariages animés par le Grand Schtroumpf, du Donjon de Naheulbeuk, et de plein de trucs trop stylés pour décompresser de la thèse. Merci pour tous les moments vécus ensemble sous la tente le week-end, les partages d'apéros, les débats sur l'éducation et les temps spis. Ça m'a vraiment aidé à me donner à fond durant toutes les semaines de ces trois dernières années. Merci à tous.

Et puis dans une thèse, il y a les piliers de toujours, dont les mots ne suffiront jamais à décrire la relation qui nous unit et le soutien que vous m'avez apporté. Merci à mes frères, Daniel, Pierre et François, à mon père, mes grands-parents, mes oncles et mes tantes, et tous mes cousins, et merci à ma maman.

Et puis il y a les amis qui vont et viennent, qu'on revoit de temps en temps pour nous sortir du quotidien, mais qui restent toujours dans le cœur. La liste est longue, mais elle commence par Mathieu et toute sa famille, Clément, Elisa, Cécile, Éléonore, Arthur, Maé, Xavier, Mathieu, Loïc, Léa, Julie, Elie, Suzanne, Alice, Caroline, Erambert, Daniel, Camille, Henri, Emma. J'espère que je n'oublie pas les plus importants.

Finalement, je tiens à remercier les membres du comité de thèse qui ont suivi cette thèse : Arnaud Gauffreteau, Simon Boitard, Vincent Allard, Timothée Flutre et Joelle Ronfort, ainsi que les membres du Jury qui ont accepté d'évaluer ce travail : Laurence Moreau, Adeline Barnaud, Noémie Gaudio et Michel Pierre Faucon.

# Résumé

Les mélanges variétaux de céréales sont de plus en plus présents dans le paysage agricole français mais leurs taux d'adoption et leurs performances varient spatialement. Comprendre les raisons de cette variabilité est important pour accompagner et raisonner leurs adoptions. D'un point de vue théorique, les mélanges variétaux sont un assemblage de génotypes qui inter-réagissent entre eux. L'étude des interactions entre génotypes dans un couvert végétal est donc fondamentale pour comprendre la variabilité des performances des mélanges variétaux.

En écologie des communautés, les interactions entre plantes ont été extrêmement étudiées à la fois au niveau interspécifique et intra spécifique. A ces deux niveaux, l'écologie fonctionnelle s'est principalement concentrée sur la recherche de mécanismes sous-tendant les interactions entre plantes (i.e. compétition, complémentarité, facilitation) via la description de patrons d'association entre les traits des plantes (par ex, hauteur, surface foliaire, longueur racinaire, etc.) et la productivité des communautés végétales. D'un point de vue génétique, les interactions plante-plante ont été peu abordées. Pourtant, il est essentiel de déchiffrer les bases génétiques des interactions entre plantes afin de mieux appréhender l'impact de la diversité sur la productivité des communautés cultivées et de mieux comprendre les réponses des communautés face à des changements d'environnement.

Dans ce contexte, cette thèse structurée en quatre chapitres propose de répondre à quatre questions de recherche en utilisant le blé dur comme modèle d'étude des céréales. Dans un premier temps, nous réalisons une analyse rétrospective de l'évolution des interactions entre plantes depuis la révolution verte pour comprendre comment les programmes d'amélioration des plantes du XXème siècle ont modifié les interactions entre plantes. Dans un second temps, nous évaluons le potentiel des mélanges pour réduire la fertilisation dans le contexte de la transition agro-écologique. Plus précisément, nous nous posons la question : Le niveau de ressources influence-t-il les interactions entre génotypes et la production des parcelles de mélange de blé dur ? Dans un troisième temps, nous analyserons si la manière d'agencer les variétés de blés dans une parcelle influence la nature des interactions entre génotypes et la performance des mélanges de génotypes. Finalement, dans une dernière partie, nous nous intéressons à l'analyse des traits de communautés fongiques. Ces traits sont supposés jouer un rôle important dans la performance des plantes et les interactions entre plantes via les fonctions de nutriments ou de protections contre des pathogènes. Cependant les communautés fongiques sont difficiles à décrire d'un point de vue statistique. Dans cette dernière partie, nous proposons une méthode de description des communautés fongiques et nous analyserons le potentiel d'incorporation des communautés fongiques dans un programme d'amélioration des plantes visant à développer des mélanges variétaux. Nous finirons par discuter des implications de ces questions pour l'élaboration de nouvelles expériences et le développement de nouveaux schémas de sélection.

## Table des matières

<i>Introduction</i> .....	4
1. La domestication et la sélection du blé : une réduction de la diversité au profit de la productivité.....	5
a. La domestication : une sélection inconsciente. ....	5
b. La sélection massale : une sélection empirique. ....	6
c. La sélection moderne .....	8
d. Limites du modèle agricole .....	10
i. Montée de la conscience environnementale et pression sociétale pour développer une agriculture plus respectueuse de l'environnement .....	10
ii. Impact du changement climatique.....	11
iii. Contexte économique sur la production agricole .....	12
e. Les mélanges variétaux : une voie à explorer .....	12
2. Importance des interactions plantes-plantes et de la diversité dans le fonctionnement des écosystèmes naturels et des agrosystèmes. ....	14
a. Comment décrire et étudier la diversité ? Diversité compositionnelle ou diversité fonctionnelle et notion de phénotype étendu.....	14
b. Effet des interactions plantes-plantes sur la productivité des éco & agrosystèmes .....	16
c. Mécanisme d'interactions plantes-plantes.....	17
i. La théorie de la biodiversité et du fonctionnement des écosystèmes (BEF) .....	18
ii. L'utilisation des traits fonctionnels et la "trait driver theory" .....	21
iii. La plasticité phénotypique .....	22
3. Sélectionner et assembler des variétés pour faire des mélanges .....	26
a. La méthode par sélection directe .....	26
i. Généralités .....	26
ii. Application à la constitution de mélanges .....	27
b. La sélection indirecte. ....	28
i. Généralités .....	28
ii. Quels proxys mesurés ? .....	28
iii. Application aux mélanges : l'"idéomixage" .....	32
4. Objectifs de la thèse .....	34
5. Cadres statistiques pour la compréhension des interactions entre plantes. ....	35
a. L'effet net de la biodiversité .....	35
b. Décomposition de la variance d'un mélange .....	36
c. Apport de la génétique quantitative pour l'étude des mélanges.....	40
6. Contexte de la thèse dans les sciences agronomiques.....	42
7. Matériel expérimental & Modèles d'études .....	44

a.	Le blé dur comme espèce modèle .....	44
b.	EPO, une population idéale pour l'expérimentation .....	45
8.	References citées dans l'introduction .....	46
	<i>Chapitres</i> .....	57
1.	Comment les interactions entre plantes ont-elles évolué depuis la révolution verte ?.....	58
a.	Approche indirecte.....	59
b.	Approche directe.....	83
c.	Transition.....	112
2.	Le niveau de ressource influence-t-il les résultats des interactions entre les plantes dans les parcelles de mélange de blé dur ?.....	113
3.	L'agencement spatial des variétés dans une parcelle influence-t-il les résultats des interactions entre les plantes dans les parcelles de mélange de blé dur ? .....	144
4.	Les traits de diversité fongique présentent-ils un intérêt à être incorporés dans un schéma de sélection pour développer des mélanges ? .....	174
	<i>Discussion Générale</i> .....	199
1.	Rappel des résultats principaux .....	200
2.	Limites de l'objet d'étude de cette thèse .....	203
3.	Itinéraire technique dans les expérimentations agronomiques sur les mélanges. ....	204
4.	Importance de la connaissance de la variabilité génétique des collections pour interpréter les résultats des expériences sur les mélanges. ....	206
5.	Impact de la domestication et de la sélection sur les mécanismes déterminant les performances des mélanges variétaux.....	208
a.	Évolution de la performance des variétés en parcelle mono-génotypique au cours de l'amélioration des plantes.....	209
b.	Importance des effets de sélection pour les performances dans des mélanges de variétés anciennes et des mélanges de variétés modernes.....	210
c.	Importance des interactions entre plantes et micro-organismes pour les performances des plantes dans des mélanges de variétés anciennes et des mélanges de variétés modernes. 211	
d.	Importance des effets de complémentarité pour la performance dans des mélanges de variétés modernes et des mélanges de variétés modernes.....	212
e.	Bilan.....	213
6.	Mise en évidence de l'importance du contexte environnemental dans la conception des mélanges. ....	214
a.	Contextualisation des résultats de la thèse.....	214
b.	Pistes pour la recherche.....	215
7.	Sélectionner des interactions plantes-plantes contextes dépendantes .....	219
a.	Sélectionner et assembler des génotypes pour les mélanges variétaux.....	219
b.	Sélection indirecte ou sélection directe : Quel proxy des performances devons-nous mesurer ?.....	224

8. Perspectives .....	227
9. Commentaires .....	229
a. Limites des approches de QTLs et avantage des approches de type sélections génomiques.....	229
b. Analogie entre traits fonctionnels et gènes.....	230
10. Publications réalisées pendant la thèse.....	231



# ***Introduction***

# **1. La domestication et la sélection du blé : une réduction de la diversité au profit de la productivité**

## **a. La domestication : une sélection inconsciente.**

La domestication est un processus évolutif au cours duquel une espèce s'adapte, par le biais de la sélection, à un nouvel environnement créé par l'activité agricole humaine (Glémin et Bataillon, 2009). Cela a entraîné des changements morphologiques, physico-chimiques et génétiques chez les plantes en contact avec l'homme. La domestication du blé peut être divisée en deux phases distinctes (Pieri et al., 2023). La première phase, appelée domestication primaire, s'est déroulée entre 12 000 et 2 000 avant Jésus-Christ. Elle a marqué la transition d'un paysage dominé par les amidonniers sauvages à un paysage dominé par les amidonniers cultivés. La domestication secondaire a commencé il y a environ 2 000 ans au Moyen-Orient et a abouti à la création des variétés de blé actuelles.

La domestication primaire des amidonniers cultivés se caractérise par le renforcement du rachis, qui devient non cassant, des épillets non déhiscent favorisant la récolte de multiples grains sur un même épi, une augmentation de la taille des épis et des grains pour une récolte plus efficace, une perte de dormance des graines et un port érigé des plantes. Des recherches récentes suggèrent que certains de ces caractères auraient été présélectionnés au contact de grands mammifères bien avant l'émergence de la proto-agriculture et l'arrivée de l'homme dans les écosystèmes contenant ces proto-plantes cultivées (Spengler and Mueller, 2019). Par conséquent, la domestication primaire peut être considérée comme un processus s'inscrivant dans la continuité de la coévolution entre les plantes et les herbivores déjà présente dans les écosystèmes abritant les amidonniers, l'homme reprenant simplement le rôle précédemment joué par d'autres grands mammifères.

À partir de l'introduction de la traction animale vers 5 000 avant Jésus-Christ et le développement des pratiques de désherbage et de fumure (Bogaard, 2004), l'agriculture a fortement modifié l'environnement de croissance des plantes, ce qui a modifié la structure et la forme des plantes notamment la taille des grains et des épis. Une des principales différences observées entre les espèces domestiquées adaptées à ces environnements et leurs homologues sauvages est l'augmentation de la production de biomasse en réponse à la fertilisation (Matesanz and Milla, 2018). Des études transcriptomiques ont confirmé ces

observations initiales et ont montré que la domestication primaire se caractérise notamment par la sélection de caractères (caractéristique d'une plante) liés à la réponse à l'azote.

Dans la suite de cette section, nous examinerons en détails les principales étapes de la domestication secondaire et ses effets sur la diversité des plantes cultivées.

## **b. La sélection massale : une sélection empirique.**

Les premières manifestations de la sélection délibérée remontent à l'époque romaine, comme en témoignent les écrits d'auteurs tels que Virgile dans son traité d'agronomie intitulé "Les Géorgiques", rédigé entre 30 et 37 avant J.C. Dans cet ouvrage, Virgile souligne que les grains les plus prospères risquent de dégénérer si l'homme ne sélectionne pas soigneusement chaque année la meilleure semence, soulignant ainsi l'importance de cette pratique.

*Les grains les plus heureux malgré tous ces apprêts,  
Dégénèrent enfin si l'homme avec prudence,  
Tous les ans ne choisit la plus belle semence,  
Tel est l'arrêt du sort, tout tend vers son déclin.*

Celse, un philosophe et agronome latin de l'Antiquité, est également cité par Charles Darwin dans son ouvrage "The Variation of Animals and Plants under Domestication". Celse met en avant le fait que même les plus grosses graines peuvent dégénérer si elles ne sont pas régulièrement sélectionnées par une main laborieuse.

*"I've seen the largest seeds, tho' view'd with care,  
Degenerate, unless th' industrious hand  
Did yearly cull the largest."*

D'un point de vue scientifique, les observations de Virgile et Celse illustrent un phénomène bien connu. Dans une parcelle agricole, les ressources telles que l'eau et les nutriments sont réparties de manière hétérogène, ce qui entraîne une variabilité de la production de graines entre plantes en fonction de la quantité de ressources disponibles localement. La sélection et la conservation des graines issues des plantes les plus vigoureuses garantissent que les semences de l'année suivante bénéficieront d'une réserve adéquate et d'une vigueur précoce, favorisant ainsi de meilleurs rendements. Cependant, dès que ce processus est interrompu, la qualité de la récolte se dégrade en seulement une génération. Il est important de noter que cette méthode génère peu de progrès génétique (i.e :

progrès réalisé lorsque la valeur génétique moyenne de la progéniture est supérieure à la valeur génétique moyenne de la génération précédente) mais elle contribue à créer des conditions propices à la réussite des semis de l'année suivante (Miège, 1923).

Dès les premières périodes de l'histoire, les échanges de semences au sein des communautés agricoles tendent à favoriser la similarité locale des populations de plantes en sélectionnant celles qui sont les mieux adaptées aux besoins économiques locaux, tels que le rendement ou l'utilisation spécifique des produits agricoles (par exemple, la production de pain, de chapeaux ou de paniers). Dès l'an 800, sous le règne de Charlemagne, des décrets recommandent aux agriculteurs de renouveler leurs semences en les achetant sur les marchés auprès de semenciers (agriculteurs spécialisés dans la production de semence), ce qui contribue à uniformiser les variétés au sein des communautés et à réduire la diversité cultivée. Cette tendance représente une forme précoce de simplification des agrosystèmes (Boulaine, 1992).

La sélection massale est une méthode de sélection basée sur le choix des plantes qui semblent les plus intéressantes dans une population (meilleurs épis, meilleurs fruits, meilleures productions de graines etc.). Les graines de ces plantes sont ensuite utilisées comme semence pour les semis de l'année suivante. Cette méthode permettait de sélectionner des caractères très héréditaires, en particulier des caractères morphologiques liés aux usages locaux, tels que la teneur en protéines, la taille des plantes, la phénologie ou certaines caractéristiques de la paille des blés. Par exemple, Loiseleur-Deslongchamps, dans son ouvrage *Considérations sur les céréales*, publié en 1842, note que les variétés de blé en Sicile avaient une paille longue et fine, idéale pour la fabrication de chapeaux, une industrie importante dans la région. De même, Darwin rapporte que les variétés de céréales cultivées au Néolithique présentaient des grains plus petits et des épillets plus horizontaux que ceux de son époque. Cette méthode de sélection, qualifiée de "non méthodique" par Darwin, permettait donc d'adapter les plantes à des conditions agricoles et des usages spécifiques. Il est toutefois difficile d'évaluer l'impact précis de cette méthode sur l'augmentation du rendement, car les changements observés dans les rendements au fil de l'histoire sont attribuables à la fois aux progrès génétiques et aux avancées dans d'autres pratiques agricoles, telles que le labour et la fertilisation. La méthode de sélection massale est restée largement utilisée en amélioration des plantes jusqu'au XIXe siècle, en particulier au sein des communautés agricoles qui produisaient leurs propres semences.

L'impact combiné des progrès génétiques et des autres pratiques culturelles sur le rendement peut être estimé à partir des inventaires réalisés par le clergé et les collecteurs d'impôts, qui devaient connaître avec précision la production agricole pour la taxation. Par exemple, à l'époque de Caton, au temps de l'Empire romain, le blé produisait quatre graines pour une graine plantée, tandis qu'à l'époque d'Olivier de Serres au XVIe siècle, le rendement

était de huit pour une. En comparaison, les rendements actuels sont de cinquante pour un, soit 70 quintaux par hectare. Cette unité montre la bi-fonctionnalité des graines comme produit de subsistance et comme semail pour les semis de l'année suivante. Aujourd'hui, cette unité de mesure, appelée le "facteur de multiplication", est toujours utilisée pour la commercialisation des semences.

Les populations issues de sélections massales sont des populations composées de multiples génotypes. La diversité génétique des mélanges de plantes co-cultivées dans une parcelle est le résultat de processus évolutifs tels que la sélection naturelle, la migration, la dérive génétique et la mutation qui se sont produits au cours de la saison précédente. Cette évolution de la diversité génétique en population se caractérise par une sélection progressive conforme à l'adoption de nouvelles pratiques agricoles et par la valorisation de ressources génétiques qui évoluent dans des environnements peu contrôlés. Cette approche engendre une grande variabilité entre les individus, et le "progrès génétique" n'est pas l'objectif principal. Les variétés évoluent en réponse à l'attrait pour la nouveauté ou pour faire face à des événements tels que l'émergence de parasites et des maladies, les famines et la sécheresse, grâce à des échanges ponctuels de semences. Cette méthode favorise la variabilité génétique entre communautés de paysans qui n'échangent pas leurs semences, la variabilité intra-parcellaire et l'adaptation locale des populations, contribuant ainsi au maintien de la diversité dans les agrosystèmes.

### **c. La sélection moderne**

La sélection moderne des plantes se différencie des méthodes de sélection traditionnelles à partir du XIXe siècle, notamment grâce à la découverte des lois de l'hérédité et de la notion de lignée pure, qui constitue un matériel végétal reproductible sur lequel des expérimentations peuvent être menées. Les travaux de Louis Lévêque de Vilmorin en 1856 ont jeté les bases du développement des variétés en établissant que le rendement de la descendance d'une plante-mère reflète la production de cette plante-mère et révèle ainsi sa valeur génétique. Cette avancée a donné naissance à la sélection généalogique, permettant d'accroître considérablement la précision de sélection sur les populations cultivées. Initialement, l'objectif était de sélectionner les meilleures lignées au sein des populations locales par le biais de successions d'auto-fécondations. À chaque autofécondation, en espérance 50% des locus hétérozygotes restants étaient rendus homozygotes, jusqu'à obtenir une lignée pure homozygote à tous les loci. Ces lignées étaient reproductibles à l'infini, constituant ainsi un matériel essentiel pour les expérimentations et la diffusion du progrès génétique. Par la suite, en France, pour le blé, cette phase de fixation a été précédée par l'hybridation des populations locales avec des populations importées de Suède,

d'Angleterre (des pays pionniers dans la mise en place des premières stations au XIXe siècle). L'objectif était de réintroduire de nouveaux caractères dans les populations en cours de sélection. Les lignées issues de ces croisements ont été triées en fonction de leur capacité à combiner les caractéristiques bénéfiques des deux populations parentales et, par conséquent, en fonction de leurs performances. L'augmentation spectaculaire du rendement des lignées pures par rapport aux populations de pays durant cette période est due à la plus grande efficacité des schémas de sélection généalogique que la sélection massale. Cela a permis une adaptation plus rapide de ces lignées aux nouvelles conditions de fertilité accrue par rapport aux populations issues de sélection massale. Le progrès génétique réalisé sur les lignées pures est principalement lié à la sélection pour une meilleure adaptation des lignées aux scénarios climatiques locaux via la phénologie et à la réduction de la taille qui permet de limiter la verse et d'augmenter l'indice de récolte.

Eugène Tisserand a remarqué lors de son voyage en Suède vers 1855 que la sélection pouvait améliorer le rendement à condition d'améliorer simultanément les conditions environnementales via des pratiques agricoles (en particulier liées à la fertilisation). Les lignées pures sont ainsi devenues à la fois le vecteur du progrès génétique et le support de la diffusion des pratiques agricoles modernes, ce qui a contribué à une diminution significative de la diversité génétique au sein des parcelles agricoles. Ces résultats sont confirmés par une étude transcriptomique montrant que durant la domestication secondaire, la sélection de gènes impliqués dans le métabolisme des acides aminés, qui s'expriment différemment dans des environnements riches ou pauvres en azote (Pieri et al., 2023).

Cette combinaison pose des questions quant aux avantages escomptés de l'amélioration variétale actuelle à une époque où la tendance est à la réduction de l'artificialisation de l'environnement.

Après la Seconde Guerre mondiale, l'objectif principal de l'agriculture française était d'assurer l'indépendance alimentaire du pays en augmentant la production agricole. Cette ambition a été largement atteinte grâce à l'utilisation intensive de produits agrochimiques. Au cours de cette période, des approches systématiques d'application de produits phytosanitaires et de régulateurs de croissance, axées sur la prévention, se sont généralisées, ce qui a conduit à une réduction des risques de maladies et de verse. Parallèlement, le développement de la méthode du fractionnement des apports azotés (Coïc, 1956) et de la méthode des bilans (Hébert, 1969) a amélioré la gestion des apports en azote. Toutefois, malgré l'utilisation de variétés sélectionnées pour leur petite taille et l'utilisation de régulateurs de croissance, la limitation de la verse par les variétés naines a favorisé une alimentation azotée souvent excédentaire tout au long du cycle de culture. Les critères de sélection des variétés se sont alors principalement concentrés sur leur productivité en grains dans des conditions optimales (Meynard and Girardin, 1991). Les variétés, en tant que levier génétique, étaient utilisées pour

maximiser la transformation des intrants en rendement, tandis que d'autres problèmes agricoles tels que la gestion des ravageurs, des adventices des cultures et de la fertilité des sols étaient gérés par les intrants chimiques. Cette réduction de la diversité est due à la disparition de la diversité au sein des variétés (remplacement initial des variétés locales par des lignées anciennes plus homogènes, puis par des lignées pures modernes), à l'homogénéisation spatiale survenue au cours de la dernière période du XXe siècle avec les différents départements (territoires administratifs français) cultivant progressivement les mêmes variétés, et à leurs similitudes génétiques croissantes (Bonnin et al., 2014). Les agriculteurs ont également simplifié leurs rotations de cultures pour ne cultiver que les cultures les plus rentables (Meynard and Girardin, 1991), ce qui a entraîné une réduction de la diversité des espèces cultivées.

## **d. Limites du modèle agricole**

Le développement du modèle agricole précédemment évoqué résulte de l'effet combiné des conjectures économiques, des volontés des politiques et des découvertes en agronomie. En particulier, le développement de l'agriculture moderne basé sur l'optimisation de la production a été fortement influencé par les politiques étatiques dans le but de faire de la France, un pays auto-suffisant (Bonneuil and Thomas, 2012). Cependant à l'aube du XXIème de nouveaux enjeux apparissent remettant en cause ce modèle.

### **i. Montée de la conscience environnementale et pression sociétale pour développer une agriculture plus respectueuse de l'environnement.**

À la fin du XXe siècle, à la suite de la déclaration de Stockholm en 1972 et du Sommet de Rio en 1992, la prise de conscience des impacts environnementaux négatifs du système agricole industriel et intensif s'est généralisée. Ces impacts comprennent la contamination des nappes phréatiques par les engrais et les pesticides, la pollution de l'air due aux pesticides et aux gaz à effet de serre, ainsi que la réduction de la biodiversité, notamment des populations d'insectes. L'ensemble de ces conséquences a été documenté dans une étude regroupant des milliers d'experts, connue sous le nom de Millenium Ecosystem Assessment (MEA 2005).

Dans le but de réduire l'utilisation d'intrants tout en adaptant plus efficacement leur utilisation aux diverses situations agricoles, des outils d'aide à la décision ont été développés. Cependant, en parallèle, le processus de spécialisation des systèmes agricoles s'est poursuivi, ne permettant pas d'observer une véritable diminution de la consommation

d'intrants chimiques par l'usage de ces outils d'aide à la décision. Dans les années 1990, certains agriculteurs ont adopté des systèmes de culture alternatifs tels que les conduites à bas niveaux d'intrants (de Vallavieille-Pope, 2004). Malgré cela, ces approches alternatives ont été moins largement diffusées auprès des agriculteurs que les outils d'aide à la décision visant à optimiser les traitements phytosanitaires tout en réduisant la logistique (Meynard, 2010). L'une des raisons de la faible adoption de ces pratiques alternatives réside dans les exigences des filières qui se sont construites autour du paradigme des cultures intensives. Par exemple, les conduites à bas niveau d'intrants se heurtent aux réticences des collecteurs, qui craignent une diminution des volumes de collecte, affectant ainsi leur compétitivité économique (Meynard, 2010).

## **ii. Impact du changement climatique**

L'augmentation de la variabilité climatique interannuelle pose un défi croissant au développement de variétés adaptées à toutes les années climatiques que va subir un territoire, et les événements climatiques extrêmes deviennent de plus en plus fréquents (Coumou and Rahmstorf, 2012). Un exemple concret de cette problématique s'est manifesté en 2021, lorsque le syndicat des industriels fabricants de pâtes alimentaires en France et le comité français de la semoulerie industrielle ont annoncé dans un communiqué de presse : "Le dérèglement climatique met en péril le marché des pâtes alimentaires : des précipitations excessives en Europe et une sécheresse sans précédent au Canada ont entraîné une pénurie de blé dur, la seule matière première des pâtes alimentaires, et une augmentation historique des prix mondiaux".

Le temps nécessaire au développement de nouvelles variétés, même raccourci grâce à la sélection génomique, devient de plus en plus complexe à gérer dans un contexte où l'environnement cible devient moins prédictible en raison de la variabilité climatique croissante. De ce fait, l'utilisation généralisée de lignées pures et d'une uniformité variétale sur de vastes zones en France est de plus en plus remise en question. Ces problématiques liées à la variabilité climatique étaient déjà rencontrées par les premiers sélectionneurs de blé dur en Afrique du Nord à l'échelle locale dans les années 1920. En conséquence, les lignées pures développées dans les stations de recherche situées en plaine ont eu du mal à s'imposer dans des zones aux conditions climatiques interannuelles plus variables des régions montagneuses d'Afrique du Nord (Miège, 1923).



### **iii. Contexte économique sur la production agricole**

De 1950 à 1980, l'agriculture en France était orientée vers un modèle productiviste dont l'objectif principal était d'assurer la sécurité alimentaire du pays et son autosuffisance. À cette époque, l'efficacité de l'agriculture était évaluée principalement en fonction de critères économiques, et l'optimum économique était défini en termes de rendement maximal (Galais, 2015). Les choix de sélection des variétés et les pratiques agricoles étaient en accord avec cette priorité.

Pendant, aujourd'hui, la situation a évolué en raison de la fluctuation des prix, de l'augmentation des coûts de production et des mécanismes d'aides mis en place par la Politique Agricole Commune (PAC). Ces facteurs ont modifié la définition de l'optimum économique qui ne se limite plus nécessairement à la recherche de rendements maximums. Cela nous invite à repenser nos modèles agricoles pour les adapter aux nouvelles réalités.

### **e. Les mélanges variétaux : une voie à explorer**

Pour réduire les externalités négatives des systèmes agricoles intensifs, s'adapter aux changements climatiques et renforcer l'autonomie des agriculteurs, l'agroécologie peut apporter des solutions. *“L'agroécologie est une façon de concevoir des systèmes de production qui s'appuient sur les fonctionnalités offertes par les écosystèmes”* (Gliessman et al., 1998). Elle permettrait de substituer l'usage d'intrants chimiques par la mobilisation des processus naturels comme facteur de production. Cette vision de la transition agroécologique se définit principalement par opposition avec l'intensification, la simplification et l'homogénéisation des pratiques culturales, des espèces et des variétés (Duru et al., 2014). Cette diversification peut avoir lieu au niveau du paysage et de l'exploitation agricole, en diversifiant et allongeant les rotations de culture, et au niveau parcellaire, en associant différentes espèces ou variétés d'une même espèce ou encore en mobilisant les interactions entre les plantes et le microbiote du sol.

De nombreux freins à cette diversification ont été identifiés. Par exemple pour le cas des mélanges variétaux de blé, en 2018, une étude intitulée “Freins et leviers socio-économiques à la diffusion des mélanges variétaux pour la production de blé : Une comparaison entre France et Danemark”, publié par le centre d'Etudes et de Prospectives du ministère de l'alimentation et de l'agriculture indique : “L'adoption des mélanges variétaux par les agriculteurs français est aujourd'hui relativement faible. [...] L'analyse d'entretiens menés auprès des acteurs amont et aval de la filière blé tendre française, ainsi qu'une étude comparée avec la filière orge du Danemark, mettent en évidence trois freins principaux : 1) un frein réglementaire, les mélanges n'étant à ce jour pas autorisés à la commercialisation en

France, 2) un frein lié aux standards de qualité exigés par certains débouchés aval comme la meunerie et surtout 3) un frein lié à un manque de connaissances sur les avantages et les effets des mélanges, ainsi que sur les règles de conception des mélanges”.

Depuis 2018, certains éléments du rapport ont évolué. En France, suite à l'arrêté du 26/06/2018 modifiant l'arrêté du 15/09/1982, les mélanges de semences de plusieurs espèces ou de variétés d'une seule de ces espèces, qui répondent avant mélange aux règles de certification ou de commercialisation qui leur sont applicables, sont autorisés à la commercialisation. De même certaines entreprises comme le groupe Soufflet ou de nombreux paysans-boulangers utilisent déjà des mélanges ou des variétés populations (réseau RSP) pour la meunerie levant une partie du verrou industriel même si de nombreux industriels restent réticents (Communication Personnel de Dario Fossati, sélectionneur suisse à Agroscope). Cette dynamique d'adoption des mélanges est également observée dans les enquêtes annuelles menées par Arvalis-Institut du végétal. Selon cette institution, les mélanges variétaux de blé tendre représentaient 12% en 2019-2020, 17% en 2020-2021, 17.5% en 2021-2022 et 19.5% en 2022-2023 des surfaces semées en blé tendre. Selon les régions, la surface de blé tendre implantée par des mélanges intraspécifiques varie et peut atteindre jusqu'à plus de 30 % de la sole, les régions Nouvelle-Aquitaine et Centre-Val de Loire étant les deux régions affichant les plus grandes proportions. Pour le blé dur, aucune augmentation de l'usage des mélanges n'a été observée ces dernières années jusqu'à la campagne 2021-2022 (4.4% de la sole national semé en mélange en 2021-2022). Durant la campagne 2022-2023, une augmentation de 1.9% a porté la sole nationale semée en mélange de blé dur à 6.3%. La plupart des mélanges semés en blé tendre et blé dur sont des mélanges des variétés majoritairement cultivées en pure dans la région et la plupart sont des mélanges réalisés à la ferme. Ainsi, on observe moins de 3% des mélanges réalisés à partir de mélanges commercialisés.

Afin d'accompagner le développement des pratiques des mélanges variétaux et de raisonner leurs choix d'adoption, il est nécessaire de mieux comprendre comment mobiliser les interactions entre plantes pour favoriser l'émergence de systèmes de cultures bas-intrants, respectueux de l'environnement et économiquement viable.

## **2.Importance des interactions plantes-plantes et de la diversité dans le fonctionnement des écosystèmes naturels et des agrosystèmes.**

Au cours de son cycle de vie, une plante peut établir des interactions avec une ou plusieurs plantes voisines. Ces interactions peuvent être directes ou indirectes, que ce soit dans l'espace ou dans le temps. Par exemple, elles peuvent se produire via la modification de la disponibilité locale en ressources. Ces interactions entre les plantes jouent un rôle crucial dans la régulation de paramètres clés du fonctionnement des écosystèmes, tels que la productivité en matière sèche. Au fil des décennies, la recherche expérimentale ainsi que les théories développées en écologie, en génétique, en biologie évolutive et en agronomie ont souligné l'importance des interactions entre les plantes en tant que facteur majeur façonnant la productivité et la dynamique des communautés végétales (Griffing, 1967). Dans un écosystème donné, la diversité de ces interactions crée une diversité de relations entre les plantes, ce qui a un impact significatif sur le fonctionnement global de l'écosystème. L'objectif de déterminer le niveau optimal de diversité et le type adéquat d'interactions pour maximiser certains services écosystémiques est un sujet d'étude commun aux sciences agronomiques et écologiques appliquées.

### **a. Comment décrire et étudier la diversité ?**

#### **Diversité compositionnelle ou diversité fonctionnelle et notion de phénotype étendu.**

La diversité biologique peut être appréhendée de deux manières : l'approche basée sur la composition spécifique et l'approche fonctionnelle. Ces deux approches offrent des perspectives complémentaires pour comprendre la complexité de la vie et son rôle dans les écosystèmes.

L'approche basée sur la composition spécifique se concentre sur la classification hiérarchique des entités biologiques, notamment à travers des systèmes comme la hiérarchie taxonomique basée sur l'histoire évolutive. Cette approche classe les niveaux d'organisation du vivant, allant des allèles aux groupes, en mettant l'accent sur les réplicateurs, tels que les gènes selon Dawkins ou les organismes selon Darwin. La diversité génétique, la diversité

fongique et la diversité spécifique sont des exemples de diversité compositionnelle (Corriveau-Dussault, 2016).

En revanche, l'approche fonctionnelle s'intéresse aux fonctions et aux processus écologiques. Elle met l'accent sur la dimension dynamique du vivant. Cette approche vise à étudier les causes du maintien et de l'évolution du vivant, en examinant les fonctions à différents niveaux d'organisation, des allèles aux écosystèmes (Corriveau-Dussault, 2016). Une partie des approches fonctionnelles repose sur la mesure et l'interprétation des traits fonctionnels, c'est-à-dire des caractéristiques physiologiques, morphologiques ou phénologiques, qui influencent les performances des organismes (Violle et al., 2007).

En écologie des communautés, l'approche compositionnelle a primé jusque dans les années 1960. L'approche fonctionnelle a ensuite pris son essor pour sa capacité à généraliser (McGill et al., 2006). L'approche fonctionnelle propose des approches permettant de prendre en compte la nature complexe des communautés et de pallier l'impossibilité expérimentale de tester des milliers de combinaisons d'espèces pour inférer des mécanismes. Les phénotypes et les traits fonctionnels des organismes sont un point central de cette approche car ils peuvent être reliés à des gradients environnementaux ou des processus écosystémiques via des fonctions incluant l'efficacité d'utilisation de certaines ressources ou la capacité à collecter une ressource particulière. Les phénotypes sur les traits étudiés peuvent être simplement l'ensemble des caractéristiques d'un organisme mais peuvent aussi dépasser les limites de l'organisme et s'étendre à toute sa zone d'influence au sein d'un écosystème, c'est ce qu'on appelle phénotype étendu (Dawkins, 2016). Ces phénotypes étendus représentent l'expression des gènes au-delà de l'organisme et peuvent donc désigner des traits d'autres organismes, des traits d'un groupe et même pour certains des traits d'un écosystème comme la capacité à recruter des organismes fongiques associés. Cette notion est donc particulièrement importante pour décrire des interactions entre plantes. Un phénotype étendu de plus en plus étudié est le microbiote des plantes. Le microbiote des plantes inclut de nombreuses espèces de bactéries et de champignons qui peuvent interagir avec la plante directement via des échanges physico-chimiques ou indirectement via l'interaction avec d'autres organismes qui interagissent eux avec la plante ou en modifiant des paramètres du milieu de croissance de la plante. Un phylum particulièrement intéressant qui peut constituer un phénotype étendu intéressant pour la plante est le phylum des Glomeromycota capable de réaliser des mycorhizes et pouvant potentiellement améliorer la fonction de nutrition des plantes (Hetrick et al., 1992). Dans le cadre d'une approche fonctionnelle, l'abondance et la diversité des champignons microbiens peuvent être des phénotypes étendus intéressants à étudier en lien avec les capacités de nutrition des plantes. Les phénotypes étendus impactant des fonctions des plantes sont des traits fonctionnels.

## **b. Effet des interactions plantes-plantes sur la productivité des éco & agrosystèmes**

Dès les débuts de la généralisation de l'usage des lignées pures, des auteurs ont examiné l'intérêt des mélanges de lignées pures ou de mélanges composées de plusieurs lignées pures (mélanges multi-lignées) et ont suggéré que ces mélanges et les interactions entre les variétés pouvaient jouer un rôle crucial dans la détermination du rendement (Gustafsson, 1953; Montgomery, 1912). En effet, l'utilisation de mélanges variétaux se révèle particulièrement bénéfique dans le cadre des conduites à bas niveaux d'intrants, car ils permettent de réduire la pression pathogène et de limiter l'utilisation de pesticides (Mundt, 2002). L'utilisation de mélanges variétaux peut ainsi être envisagée comme une stratégie pour maîtriser les coûts de production en réduisant la dépendance aux intrants chimiques. Ils peuvent également être utilisés pour gérer les risques de mauvaises récoltes généralisées dues aux variations climatiques inter-annuelles qui sont amenées à augmenter avec le changement climatique (Fletcher et al., 2019).

Une des premières études visant à tester l'influence de la diversité spécifique sur le fonctionnement des écosystèmes en écologie a été réalisée en 1994 (Naeem et al., 1994). Les auteurs ont examiné 14 types de microcosmes terrestres cultivés en écotrons, présentant des niveaux de diversité spécifique variés (faible diversité avec neuf espèces, diversité moyenne avec 15 espèces et haut niveau de diversité avec 31 espèces). Les résultats ont montré une augmentation de la production de biomasse avec le nombre d'espèces. Ces expériences ont été complétées par (Tilman et al., 1997a), qui ont été parmi les premiers à démontrer un effet similaire de la diversité en utilisant des parcelles de 9m<sup>2</sup> sur un total de 147 communautés composées de 1 à 24 espèces. Dans une étude ultérieure (Tilman et al., 1997b), il a été établi que la relation entre la productivité des écosystèmes et la richesse spécifique suit une tendance de type log linéaire. Cette relation positive entre la diversité spécifique et la productivité a été confirmée par de nombreuses autres analyses expérimentales (Flombaum and Sala, 2008; Naeem et al., 1996; van Ruijven and Berendse, 2005; Van Ruijven and Berendse, 2003). Toutefois, il convient de noter que cette relation diversité-productivité n'est pas systématique dans toutes les expérimentations (Grace, 2012; Hector et al., 1999, 1999), soulignant ainsi l'importance du contexte dans cette relation (Eisenhauer et al., 2022).

Un autre aspect important de la relation diversité-productivité est le niveau de diversité étudié. Des publications récentes ont montré l'importance de la variabilité intra-spécifique (Raffard et al., 2019). Dans les agrosystèmes, dont l'étude nous intéresse particulièrement dans cette thèse, l'effet de la diversité intra-spécifique sur la productivité a récemment fait

l'objet de plusieurs méta-analyses synthétisant des décennies de recherches (Borg et al., 2018; Kiær et al., 2009; Mundt, 2002; Reiss and Drinkwater, 2018; Smithson and Lenné, 1996). Les trois méta-analyses les plus récentes suggèrent que la diversification variétale des parcelles entraîne un gain moyen positif de rendement de l'ordre de quelques pourcents (respectivement, 2,2 %, 2,7 %, 3,2 %).

Dans la première méta-analyse, Smithson and Lenné (1996) rapportent de nombreuses analyses quantitatives du rendement comparant les rendements en parcelles mono-génotypiques et en mélanges de variétés. Les auteurs décrivent quelques mécanismes pouvant expliquer les différences entre composantes et leurs liens avec la productivité ou la stabilité mais l'approche mécanistique reste peu présente. Ces mécanismes incluent la résistance à la verse, aux maladies, ou à des événements climatiques extrêmes comme le froid, mais aussi les interactions plante-plante comme la compétition et la facilitation. Dans la revue (Mundt, 2002), l'auteur se concentre sur l'aspect gestion des maladies. Dans les revues, les plus récentes (Borg et al., 2018; Reiss and Drinkwater, 2018), les auteurs rapportent un intérêt de la communauté scientifique pour l'étude des mécanismes écologiques impliqués dans les services écosystémiques que pourraient potentiellement procurer les mélanges variétaux comme l'exploitation de l'eau ou le contrôle de ravageurs des cultures comme les insectes. Dans ces méta-analyses, des analyses de la relation entre rendement et intensité de stress environnemental reportent une tendance à l'augmentation des effets bénéfiques des mélanges en conditions de stress accrues. L'effet est cependant très dépendant du type de stress environnemental (pH, quantité de matière organique).

Bien que l'étude des mélanges variétaux sous formes de réseaux d'essais remonte au début du XXème siècle (Smithson and Lenné, 1996), peu de mécanismes biologiques ou écologiques ont permis d'expliquer les déterminismes des effets (positifs ou négatifs) d'interactions entre variétés dans les mélanges.

### **c. Mécanisme d'interactions plantes-plantes**

La diversité et la répartition de la vie végétale, animale et microbienne reflètent des processus évolutifs et écologiques contraints par de larges gradients abiotiques de disponibilité en énergie, de ressources et de conditions météorologiques. Une partie de l'écologie fonctionnelle s'intéresse au lien entre composition et fonctionnement des écosystèmes : c'est la théorie de la biodiversité-fonctionnement de l'écosystème (BEF). L'application de la BEF aux systèmes agronomiques consiste à étudier les déterminismes du rendement dans une parcelle agricole.

## **i. La théorie de la biodiversité et du fonctionnement des écosystèmes (BEF)**

La BEF consiste à isoler des voies causales par lesquelles le changement de biodiversité modifie l'ampleur et la stabilité des processus de l'écosystème (Cardinale, 2011). La théorie a joué un rôle majeur dans l'établissement de prédictions et la validation des interprétations des données. D'un point de vue biologique, différents mécanismes (définis dans la suite de cette partie) expliquent les effets négatifs ou positifs de la biodiversité sur la productivité :

- La complémentarité de niches à la fois dans la collecte et l'utilisation des ressources
- La facilitation abiotique
- Les interactions biotiques avec d'autres niveaux trophiques
- Les effets de sélection

Bien que ces différents effets aient été théorisés principalement au niveau de la diversité interspécifique, ils peuvent également s'appliquer au niveau intraspécifique. Dans la suite de cette partie nous décrirons plus en profondeur ces mécanismes.

### Complémentarité de niches

La théorie de la complémentarité de niche stipule que des communautés constituées d'espèces ayant des niches écologiques<sup>1</sup> différentes exploitent une gamme plus large de ressources disponibles dans un habitat, ce qui limite la compétition au sein du couvert (Macarthur and Levins, 1967). Par opposition, la compétition se définit lorsque des communautés sont constituées d'espèces ayant les mêmes niches écologiques (Figure 1). Ainsi, un assemblage d'espèces présentant des niches différentes peut exploiter une plus grande partie des ressources disponibles dans son habitat et ainsi avoir une meilleure productivité. Plusieurs types de complémentarité peuvent s'établir :

- Une complémentarité sur l'acquisition des ressources. En cas de répartition des ressources dans différents compartiments chimiques (présence de différentes formes d'azotes dans le sol), spatiales (hétérogénéité de répartition de l'eau en profondeur) ou temporelles (répartition hétérogène des précipitations dans l'année), l'association

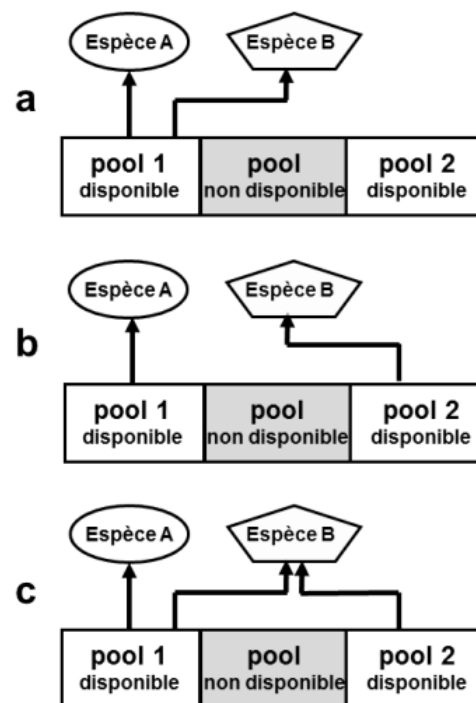
---

<sup>1</sup> La niche écologique d'une espèce peut être considérée comme un espace à n-dimensions (Li et al., 2003). Ces dimensions représentent la gamme de gradients environnementaux requise pour que l'espèce puisse exister. La niche fondamentale d'une espèce représente l'ensemble des conditions environnementales permettant sa persistance hors de toutes interactions biotiques alors que la niche réalisée représente le volume restreint occupée par une espèce sous contraintes biotiques.

d'organismes ayant des capacités d'extraction de ressources différentes peut permettre d'augmenter la quantité totale de ressources extraites par la communauté.

- Une complémentarité basée sur des besoins différents en ressources. Par exemple associer des organismes ayant de forts besoins en azote et faible en potassium avec des organismes ayant de forts besoins en potassium et faible en azote pourrait permettre d'exploiter au mieux les ressources d'azote et potassium présentes dans un milieu.

**Figure 1 : Diverses situations d'interactions entre espèces et processus écologiques sous-jacents (a : compétition ; b : complémentarité de niche ; c : compétition et complémentarité de niche) pour l'acquisition des ressources abiotiques en peuplements plurispécifiques (schéma issu de (Hinsinger et al., 2011)).** Les pools représentent des ressources aux caractéristiques différentes. Ces caractéristiques peuvent être dues à la nature des ressources (forme d'azote différente :  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ), à la localisation (profondeur de la ressource en azote), ou à la disponibilité temporelle (disponible en début ou en fin de cycle).

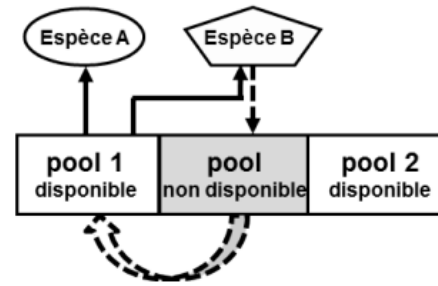


## Facilitation

La facilitation (Figure 2) se produit lorsque la présence d'une espèce crée des conditions favorables au développement d'une autre espèce (Stachowicz, 2001). Les mécanismes de facilitation incluent l'accroissement de la disponibilité pour les ressources telles que l'eau, l'azote, le phosphore, la lumière, soit de façon directe (interactions plante-plante au niveau racinaire), soit de façon indirecte en mettant en jeu des interactions via les communautés microbiennes du sol (Callaway et al., 2002).



**Figure 2 : Schéma du mécanisme de facilitation pour l'acquisition des ressources abiotiques en peuplements plurispécifiques (schéma issu de Hinsinger et al., 2011a).** L'espèce B peut rendre accessible la ressource "pool" à l'espèce A. Cette ressource ne serait pas accessible par l'espèce A en absence de l'espèce B. L'espèce A et l'espèce B sont également en compétition pour la ressource pool 1.



### Interactions avec d'autres espèces ou niveaux trophiques

La diversité des plantes peut influencer les interactions entre les plantes et d'autres niveaux trophiques, que l'on appelle rétroactions biotiques (Eisenhauer et al., 2019). Les rétroactions biotiques des autres niveaux trophiques peuvent influencer le fonctionnement de l'écosystème. Par exemple dans le cadre des maladies du blé, ces mécanismes incluent : un effet de dilution des pathogènes (via une diminution de l'efficacité de l'infection en cas de mélange de lignées avec des résistances variables), un effet de compensation ou une variété non affectée par le pathogène peut taller davantage pour compenser la perte de rendement subit par l'autre variété, des phénomènes de résistance induites, ou un ralentissement du contournement de résistance. Dans la revue de Kiaer et al, 2009, outre les mécanismes précédents, les auteurs rapportent un effet du nombre de variétés, de la diversité de la capacité à supprimer les mauvaises herbes.

### Effet de sélection

L'effet de sélection est une augmentation de la probabilité d'avoir un génotype ou une espèce particulièrement performant une année donnée dans un mélange comprenant une grande diversité (Mulder et al. 2002). L'effet de sélection traduit le fait qu'une ou plusieurs espèces sont sélectionnées au sein d'une communauté en raison de certains phénotypes qui leur permettent d'avoir une meilleure compétitivité que les autres espèces. Ces phénotypes deviennent dominant dans la communauté et représente une plus grande proportion de la biomasse à la récolte. Si l'effet de sélection est marqué, la productivité de la communauté est principalement déterminée par la productivité de l'espèce ou des espèces sélectionnées. Si l'espèce la plus compétitrice est également l'une des espèces les plus efficaces en termes de valorisation des ressources en biomasse, l'effet de sélection peut avoir un effet positif sur la productivité de la communauté ; dans le cas contraire, l'effet de sélection sera négatif (Loreau,

2000). L'effet de sélection résulte de la différence d'aptitude compétitive entre deux composantes du mélange qui peut résulter d'adaptation aux contraintes environnementales à un moment donné. Le signe de l'effet de sélection (positif ou négatif) dépend de la productivité dans l'environnement de culture de la variété la plus compétitive qui devient dominante. Si la variété la plus productive est aussi la plus compétitive, l'effet sera positif, sinon, l'effet sera négatif.

Pour caractériser, ces différents mécanismes, il peut être intéressant de quantifier les différentes niches écologiques des composantes des communautés ou des mélanges et la relation entre ces niches et certains services écosystémiques d'intérêt. Pour cela, on peut étudier la consommation en ressources, la proportion ou les performances des différentes composantes des mélanges de variétés ou des communautés. Cependant, ces données ne sont pas toujours très faciles d'accès.

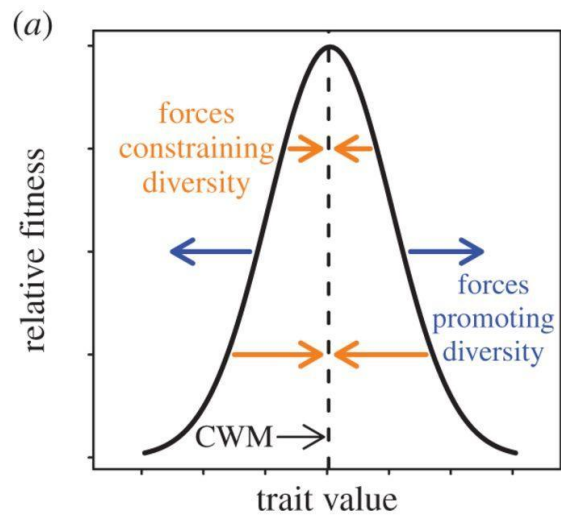
## **ii. L'utilisation des traits fonctionnels et la "trait driver theory"**

La trait driver theory affirme que les moments d'ordre 1, 2, 3 et 4 (moyenne, variance, asymétrie et kurtosis) de la distribution des traits fonctionnels d'une communauté peuvent servir de proxy à plusieurs processus écosystémiques. Les moyennes pondérées par la communauté (Community-weighted mean, CWM) représentent les valeurs des traits fonctionnels du phénotype dominant (identité fonctionnelle), cette dominance étant estimée par la biomasse produite par les individus selon l'hypothèse du rapport de masse ou mass-ratio hypothesis (Garnier et al., 2004; Grime, 1998). La variance pondérée par la communauté (Community-weighted variance, CWV) et la kurtosis pondérée par la communauté (Community-weighted kurtosis, CWK) capturent différents aspects de la diversité des stratégies écologiques (diversité fonctionnelle). Elles caractérisent l'écart moyen des individus par rapport à la stratégie optimale vis-à-vis du service écosystémique étudié. L'asymétrie pondérée par la communauté (Community-weighted skewness CWS) représente la nature asymétrique de la distribution des traits, et donc la présence de coexistence entre différentes stratégies écologiques. Cela peut résulter, par exemple, des changements environnementaux rapides (Enquist et al., 2015). Il existe des preuves croissantes que ces différents moments sont utiles pour mieux comprendre la structure fonctionnelle des communautés végétales et prédire l'effet de la diversité fonctionnelle sur le fonctionnement des écosystèmes (Garnier et al., 2016; Wiczynski et al., 2019). Une interprétation possible de ces métriques est la suivante : la moyenne pondérée ou identité fonctionnelle caractérise une adaptation à l'environnement abiotique et donc représente une sélection directionnelle (en régime

transitoire) ou stabilisatrice (une fois l'équilibre atteint) alors que la diversité fonctionnelle caractérise une sélection disruptive (Figure 3).

**Figure 3: Illustration de l'impact de la sélection sur la diversité.**

La fitness relative représente la fitness par rapport à l'organisme le plus adapté localement. La variation des caractéristiques de CWM entre communautés traduit une sélection vers une valeur de caractéristique localement optimale (flèches dirigées vers l'intérieur). Cependant, la diversité fonctionnelle locale implique des mécanismes opposés qui favorisent la diversité fonctionnelle locale (flèches dirigées vers l'extérieur). Figure de (Muscarella and Uriarte, 2016).

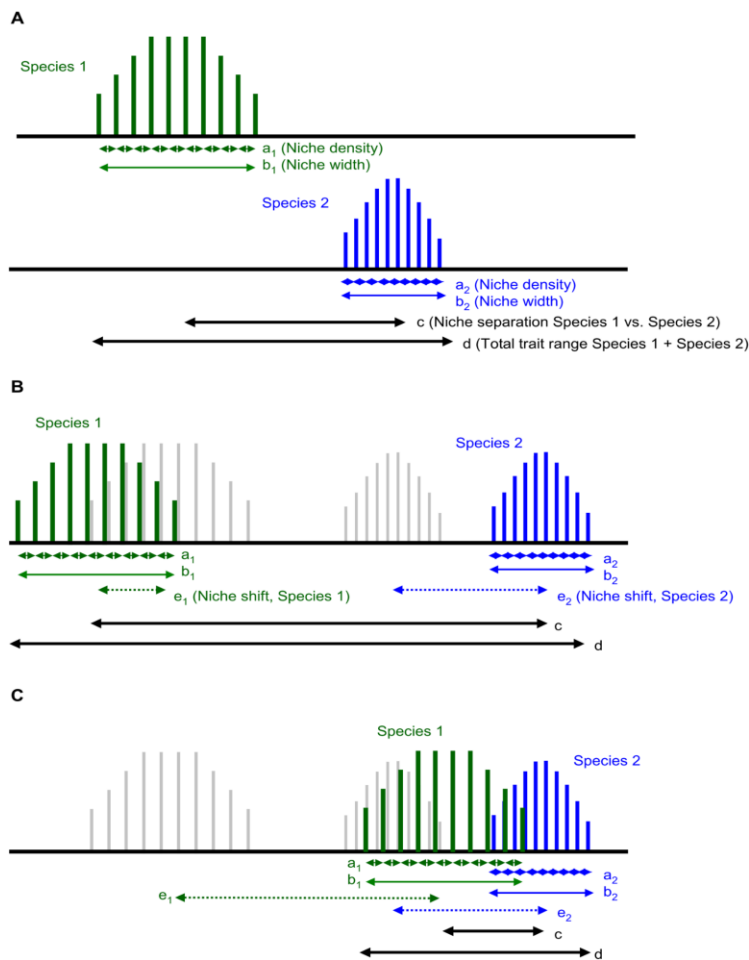


### iii. La plasticité phénotypique

Lorsque deux génotypes sont mis en mélange, leur phénotype sur un trait donné peut changer en réponse à ce changement d'environnement biotique : c'est la plasticité phénotypique. La plasticité peut se définir comme la capacité d'un organisme à changer sa physiologie, sa morphologie ou son développement (Klingenberg, 2019) en réponse à un stimulus environnemental. La plasticité est une propriété d'un trait, ce n'est pas une caractéristique général d'un organisme. La plasticité a longtemps été considérée comme du bruit environnemental par les sélectionneurs (Hill and Mackay, 2004). Cependant la plasticité d'un trait est un caractère en soi qui peut être déterminé génétiquement (Bradshaw, 1965). C'est une source importante de diversité phénotypique sur laquelle les forces évolutives agissent (Sultan, 2004). Cela peut donc être une cible de sélection et un facteur important dans la compréhension des relations entre diversité et productivité. La plasticité phénotypique peut avoir plusieurs effets sur la diversité fonctionnelle (Figure 4):

- Si la plasticité phénotypique résulte en une augmentation de la diversité fonctionnelle (= divergence phénotypique), cela peut résulter en une augmentation des performances des communautés en cas d'effet de complémentarité ou à une réduction des performances en cas de compétition.
- Si la plasticité phénotypique résulte en une diminution de la diversité fonctionnelle (= convergence phénotypique), on peut s'attendre à une augmentation des performances

du couvert en cas de compétition ou à une diminution des performances en cas de présence d'effet de complémentarité.



**Figure 4 (Roscher et al., 2015) : Pour plus de simplicité, seules deux espèces (Espèce 1, Espèce 2) sont prises en compte en cultures mono-spécifiques (A) et dans un scénario de (B) divergence des traits et de (C) convergence des traits en mélange.** Les flèches indiquent la largeur de niche en culture mono spécifique et en mélange, la séparation de niche entre l'Espèce 1 et l'Espèce 2 (c), la plage totale des caractéristiques à travers les deux espèces (d) et le déplacement de niche ( $e_1, e_2$ ) de chaque espèce dans le mélange par rapport à la monoculture. Les lignes ombrées en gris dans (B, C) visualisent la position de l'Espèce 1 et de l'Espèce 2 respectivement en culture mono-spécifique.

D'un point de vue mécanisme physiologique, la plasticité en réponse à des plantes voisines se base sur la détection de modifications physico-chimiques induites par la présence de ces voisins (Pierik and de Wit, 2014). Ensuite, la plante met en place une série de réponses qui peuvent être adaptatives ou non selon le contexte. La capacité de détecter et de répondre à la présence d'une plante voisine sont deux traits indépendants qui peuvent chacun avoir leur propre variabilité génétique. Une des réponses les plus documentées est la réponse à

l'absence de lumière qui provoque une élongation accrue des tiges (Huber et al., 2021). La capacité à répondre à des changements de condition lumineuse en quantité et en qualité, et l'ampleur de la réponse à ces signaux varient d'un génotype à l'autre (Dahlin et al., 2020). Ce syndrome d'évitement de l'ombre est un exemple bien connu de plasticité phénotypique en réponse à un changement d'environnement biotique, et il existe une grande littérature sur l'intérêt agronomique de ce syndrome (Wille et al., 2017). De nombreux auteurs suggèrent que la performance des mélanges pourrait être reliée à leur capacité à exprimer cette plasticité en réponse à des voisins génétiquement différents. Cet évitement de l'ombre pourrait en effet participer à l'homogénéisation de la hauteur des plantes du couvert et ainsi limiter la compétition (Huber et al., 2021) augmentant ainsi la productivité des mélanges. Au contraire, certains auteurs voient la plasticité des organes collecteurs de ressources (racines, feuilles, tiges) comme un facteur de tragédie des communs<sup>2</sup> (Hardin, 1968) et un surinvestissement de la plante dans les organes collecteurs de ressources au détriment du rendement (Falster and Westoby, 2003; Gersani et al., 2001). Ainsi le syndrome d'évitement de l'ombre participerait à une augmentation de la taille du couvert végétal et donc à une diminution de l'indice de récolte ce qui pourrait résulter en une diminution de la productivité. Finalement, dans des modélisations de mélanges de blé et de maïs, il a été montré que la plasticité phénotypique pourrait augmenter de 23% la quantité de lumière capturée par un mélange (Zhu et al., 2015), indiquant ainsi que la plasticité phénotypique pourrait jouer un rôle dans la complémentarité ou la compétition.

La détection d'une plante voisine par une plante focale peut se faire via:

- Des contacts physiques. La réponse des plantes à des stimuli mécaniques est appelée thigmomorphogenèse (Jaffe, 1973). La plupart des effets documentés chez le blé en réponse à des contacts physiques impliquent une réduction de la croissance et de l'élongation de la tige et un tallage accru (Iida, 2014).
- Des modifications de la disponibilité en ressource locale induite par les plantes voisines. Ces ressources peuvent être des nutriments (Hodge, 2004), de l'eau (Ehdaie et al., 2012).

---

<sup>2</sup> La tragédie des biens communs, ou tragédie des communs, est un concept décrivant un phénomène collectif de surexploitation d'une ressource commune que l'on retrouve en économie, en écologie, en sociologie, etc. La tragédie des biens communs doit se produire dans une situation de compétition pour l'accès à une ressource limitée (créant un conflit entre l'intérêt individuel et le bien commun) face à laquelle la stratégie économique rationnelle aboutit à un résultat perdant-perdant (Source : Wikipédia). La tragédie des communs appliquée aux sciences agronomiques décrit le fait que s'il existe des traits corrélés positivement à la productivité d'une communauté (performance de groupe comme le rendement) et négativement à l'aptitude à la compétition (capacité à se reproduire) alors dans un système où la sélection naturelle est la principale force évolutive : la productivité de la communauté va chuter et la communauté va se faire envahir par des organismes ayant une forte aptitude à la compétition.

- Les plantes peuvent détecter la présence de plantes voisines via des exsudats racinaires (Biedrzycki et al., 2010) et des composés organiques volatiles (COVs) émis par les organes aériens (Ninkovic, 2003). Ces derniers seraient émis à des stades précoces et les plantes y seraient également réceptifs à des stades très précoces (Ninkovic et al., 2016) permettant ainsi à la plante de s'adapter très tôt à la présence d'une plante voisine et d'induire de la plasticité développementale. De la variabilité génétique associée à l'émission et la réponse à l'allélopathie a été détectée chez le blé en culture de boîte de Pétri (Kiær et al., 2020). Chez certains génotypes d'orge, des expériences ont montré que l'émission et la sensibilité au COVs sont couplées à des phénomènes de détection de changement de qualité et quantité de lumière induite par la présence de plantes voisines (Ninkovic, 2003). Par exemple, l'éthylène émis par les plantes peut inhiber la croissance des racines chez les plantes voisines (Kegge and Pierik, 2010).

### **3. Sélectionner et assembler des variétés pour faire des mélanges**

Le rendement d'une parcelle de blé est la quantité de matière sèche de grain récolté par unité de surface. Du point de vue de l'agriculteur, le rendement est une variable importante de son revenu qu'il faut souvent associer à la qualité de la récolte (% de protéine par exemple).

D'un point de vue génétique, le rendement est un caractère extrêmement complexe qui traduit la capacité d'un ensemble de plantes à bien se développer et transformer du carbone atmosphérique en sucre tout au long de son développement. Cette capacité dépend de ses gènes qui codent des protéines qui forment la structure de tous les organes de la plante. Le but de l'amélioration variétale est de cumuler un maximum de gènes permettant de former des organes de la plante adaptée aux conditions du milieu et à l'usage des agriculteurs. La majorité du temps, chez des céréales comme le blé, l'usage des agriculteurs se résume à la mesure du rendement grain. D'un point de vue de la sélection, le rendement est un caractère complexe peu héritable, c'est-à-dire très affecté par le milieu.

#### **a. La méthode par sélection directe**

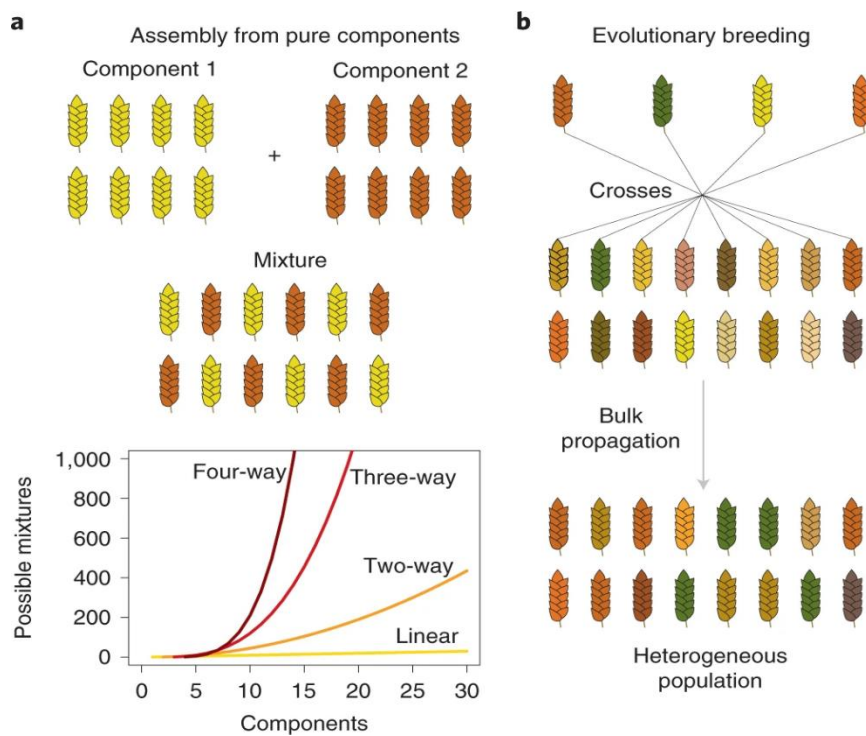
##### **i. Généralités**

Dans les méthodes de sélection classique, la sélection est généralement directe. La sélection est directe lorsqu'on améliore un caractère d'intérêt économique (rendement, qualité) via la mesure directe de ce caractère (Vincourt and Gallais, 1983). Cependant, le rendement d'une culture est le rendement d'un groupe de plantes et non celui d'une plante isolée. Pour évaluer le rendement, la méthode consiste à produire des descendants de plantes à évaluer que l'on plante dans une parcelle. Les descendants sont produits soit par autofécondation (la plante est croisée avec elle-même), soit par haplodiploïdisation (on régénère des graines et des plantes à partir de ses gamètes). On peut alors étudier ses descendants en petites parcelles et approcher une valeur génétique pour la famille et donc les parents des génotypes testés.

Le rendement étant un caractère influencé par le milieu, pour prendre en compte ces effets, on réalise des essais dans plusieurs milieux différents. La mise en place de ces essais à large échelle géographique a permis de sélectionner des blés aux performances plus régulières et plus adaptées à de nombreux milieux (sécheresse, maladie...).

## ii. Application à la constitution de mélanges

Pour le développement de mélanges, cette méthode peut se révéler particulièrement compliquée à mettre en place. En effet, en considérant des mélanges binaires, supposons que nous voulions tester  $n$  variétés, il faut tester alors  $n \times (n-1)/2$  mélanges binaires pour identifier la meilleure combinaison de mélange (Figure 5). Par exemple, pour trouver la meilleure combinaison parmi 10 variétés, il faut tester 45 mélanges. Le nombre de combinaisons de mélanges à tester est beaucoup trop important pour pouvoir être testé en parcelles. Il faut donc trouver des méthodes pour déduire à priori des bonnes combinaisons à tester et ainsi réduire le nombre de parcelles mobilisées. Une autre façon de procéder est d'effectuer de la sélection sur des populations dont l'identité et la diversité génétique sont contrôlées (Wuest et al., 2021).



**Figure 5 : a, En haut : le mélange de composants sélectionnés séparément. En bas : augmentation du nombre de combinaisons de mélange possibles avec le nombre croissant de composants, pour les mélanges à deux, trois et quatre composants, illustrant qu'il devient rapidement prohibitif d'évaluer toutes les combinaisons possibles. b, Sélection de population.** La méthode utilise des populations hétérogènes issues de croisements multiples entre plusieurs lignées fondatrices, suivies d'une propagation en masse des populations in situ, c'est-à-dire, dans l'environnement cible. La sélection naturelle agissant sur les fréquences alléliques est souvent relativement libre, mais une sélection dirigée peut être appliquée par un sélectionneur ou un agriculteur.



## **b. La sélection indirecte.**

### **i. Généralités**

La sélection est indirecte lorsqu'on améliore un caractère d'intérêt économique (rendement, qualité) via la sélection de caractères secondaires (Hill and Mackay, 2004; Vincourt and Gallais, 1983). La sélection indirecte ou sélection par idéotypage peut être définie comme une méthode de sélection visant à améliorer le potentiel génétique de rendement en modifiant les caractéristiques individuelles pour chaque trait spécifié dans l'objectif de sélection. Ce qui distingue la sélection par idéotypage de la sélection traditionnelle, c'est la fixation d'objectifs et la description d'un modèle de plante pour son utilisation (Rasmusson, 1991). L'idéotype est donc "la combinaison optimale des caractères morphologiques et physiologiques (traits) ou de leurs déterminants génétiques conférant à un matériel végétal une adéquation satisfaisante à un environnement, à un mode de production et d'utilisation donnés" (Debaeke et Quilotturion, 2014).

La sélection indirecte utilise des caractères associés génétiquement aux caractères d'intérêt économique. Cette association peut résulter de deux raisons : soit les gènes impliqués dans le déterminisme de ces traits secondaires sont localisés à proximité de ceux impliqués dans le caractère d'intérêt économiques, soit les gènes impliqués dans le déterminisme des traits associés aux traits d'intérêt économique sont les mêmes que les gènes impliqués dans ces traits secondaires. Pour que la sélection indirecte fonctionne, il faut que les caractères associés génétiquement aux rendements soient moins affectés par le milieu que le rendement (forte héritabilité). D'un point de vue mathématique, un trait est intéressant en sélection indirecte si (Hill and Mackay, 2004):

$$H(\text{Trait})^2 \times \text{cor}(\text{Trait}, \text{Rdt}) > H(\text{Rdt})^2$$

Où  $H^2$  représente la fonction héritabilité,  $Rdt$  représente le rendement et  $Trait$  représente une caractéristique du couvert.

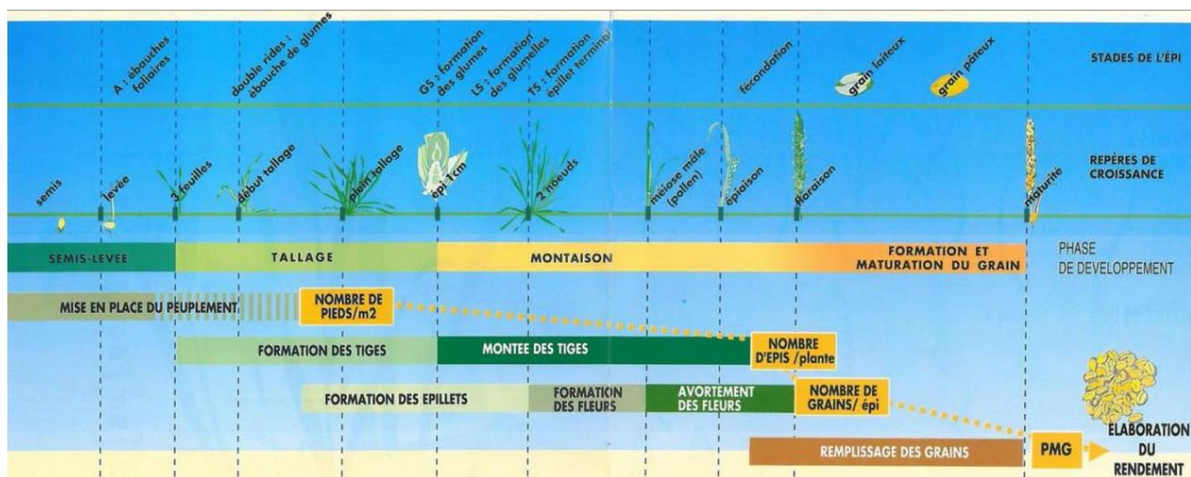
### **ii. Quels proxys mesurés ?**

Le choix des proxys à utiliser en sélection indirecte peut se baser sur plusieurs corpus théoriques, le plus souvent issus de modélisations. Dans un papier "Let's the concept of trait be functional" ("Laissons le concept de trait être fonctionnel"), Violle et al (2009) ont proposé un cadre de classification des traits fonctionnels. Les auteurs y définissent les propriétés des communautés : "des caractéristiques ou processus mesurées à l'échelle de la communauté" c'est ce qu'on pourrait appeler des propriétés émergentes du couvert en agronomie. Ils les

distinguent des paramètres fonctionnels de communautés qui résultent de l'agrégation de traits fonctionnels via une fonction d'intégration comme les moments d'ordre 1, 2,3,et 4 évoqués plus hauts (Violle et al., 2007) L'utilisation de traits fonctionnels se base sur l'utilisation d'a priori théoriques dans le choix des traits fonctionnels à étudier. De nombreux traits fonctionnels ont été associés au fonctionnement des écosystèmes. Liu et al (2021) en ont fait une liste non exhaustive : les caractéristiques spécifiques des feuilles, telles que la surface foliaire spécifique et la teneur en azote des feuilles, sont corrélées avec la productivité primaire nette (Reich 2012). Les caractéristiques des racines, comme la longueur spécifique des racines, sont corrélées avec la disponibilité des nutriments et la colonisation mycorhizienne (Bardgett and van der Putten, 2014; Guo et al., 2008). L'écologie fonctionnelle se base sur l'étude des traits pour définir des stratégies écologiques et des groupes fonctionnels afin établir des liens structures-fonctions chez la plante qui permettent de choisir de façon rationnelle un certain nombre de traits à étudier. Ces traits ont permis d'opposer des stratégies de fonctionnement des végétaux basés sur l'acquisition et la conservation des ressources (Reich, 2014).

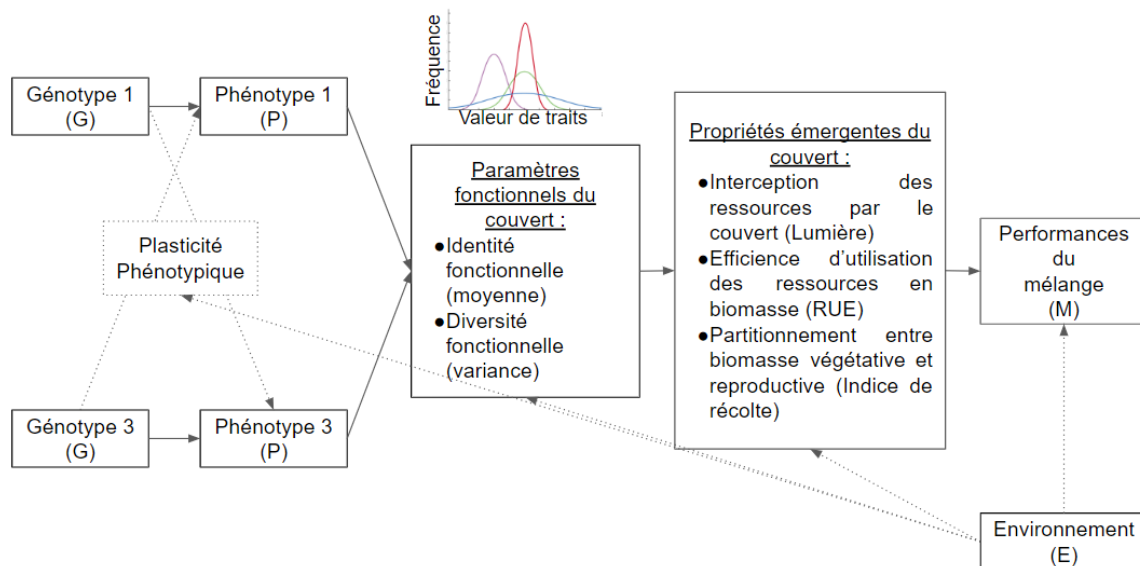
Les paramètres fonctionnels de communautés ont déjà été définis dans la partie précédente. Deux paramètres fonctionnels très utilisés sont l'identité fonctionnelle et la diversité fonctionnelle des traits fonctionnels. Les paramètres fonctionnels de communauté et les propriétés des communautés (ou propriété émergente du couvert) peuvent tous les deux servir de proxy dans la sélection indirecte car ce sont des variables mesurées au niveau de la communauté comme le rendement. Différents modèles de décomposition du rendement permettent de définir des propriétés des communautés de plantes cultivées, i.e. des propriétés émergentes du couvert. La plupart de ces décompositions établissent des correspondances entre les propriétés émergentes du couvert et les conditions environnementales à un certain moment du cycle de la culture. La décomposition mathématique du rendement (Leboeuf, 1928), est probablement la décomposition la plus utilisée dans la littérature à cause de la facilité d'accès des différentes composantes de cette décomposition. L'avantage de cette décomposition est que chaque variable de la décomposition du rendement se détermine à un stade précis du cycle de la plante (Figure 6). Ainsi jusqu'au début du tallage, la levée détermine le nombre de plantes par m<sup>2</sup>. Lors de la phase de tallage, on détermine le nombre d'épis par m<sup>2</sup> (classiquement entre 400 et 600 épis par m<sup>2</sup>). Lors de cette phase, tout stress tend à faire régresser les talles. Ensuite vient la formation du nombre de grains par épi (classiquement entre 35 et 55 grains/épi). Cette phase est particulièrement sensible aux rayonnements ou aux températures trop faibles ou trop intenses. Finalement vient la phase de remplissage du grain qui détermine le poids de mille grains (PMG). Cette composante de rendement est directement liée à la taille des grains. Elle est très sensible à l'échaudage de fin de cycle et au manque d'eau pendant la phase de remplissage du grain (particulièrement

au stade grain laiteux). L'utilisation des composantes de rendement permet de déduire des types de blé adaptés à certains environnements. Par exemple, la combinaison d'un fort tallage avec un nombre de grains par épis élevé conduit à des variétés productives dans des conditions favorables pour la production de céréales (absence de stress abiotique de fin de cycle). Les variétés à tallage modéré et à gros grain ont un potentiel moindre car ces deux caractères limitent le nombre de grains par m<sup>2</sup>. En revanche, elles seront adaptées aux situations difficiles de fin de cycle, notamment en cas de sécheresses pendant le remplissage du grain car la plante aura moins de structure végétative à entretenir donc un besoin en ressource plus faible. En plus de leurs composantes de rendement, leur précocité à maturité permet d'avoir des informations relatives aux positionnements des stades les plus sensibles vis-à-vis du scénario climatique de la région permettant ainsi d'identifier des stratégies d'esquive des stress de fin de cycle par exemple ([Les clés d'optimisation du rendement du blé \(basf.fr\)](http://www.basf.fr)). Bien que cette décomposition du rendement soit extrêmement utilisée, elle présente le désavantage de ne pas représenter correctement des processus biologiques.



**Figure 6: Elaboration des étapes du rendement chez les céréales** (Source : Arvalis).

Les paramètres fonctionnels de communautés issus de l'agrégation de traits fonctionnels mesurés à l'échelle d'une plante individuelle sont des proxys des propriétés émergentes du couvert, comme l'énergie lumineuse interceptée, l'efficacité d'utilisation de l'énergie lumineuse, de l'eau ou de l'azote, le partitionnement des ressources au sein du couvert. Ces paramètres de communauté déterminent ensuite le rendement (Figure 7). Ainsi, les propriétés émergentes du couvert sont en général de meilleurs proxy du rendement que les paramètres fonctionnels de communauté.



**Figure 7 : Schéma conceptuel de l'étude des performances d'un mélange par une approche fonctionnelle.** Les performances des mélanges sont déterminées par les propriétés émergentes du couvert qui résultent elles même de la distribution des traits fonctionnels au sein du couvert. La distribution des traits fonctionnels du couvert résulte de l'expression des gènes et de la plasticité phénotypique, qui dépendent elles-mêmes de l'environnement. Tous ces liens peuvent être affectés par l'environnement.

Cependant les propriétés émergentes du couvert peuvent être plus coûteuses à recueillir, ce qui peut limiter leurs utilisations en sélection indirecte. L'usage des paramètres fonctionnels de communauté est particulièrement utile dans les couverts multi-composants (espèces ou variétés) car il permet de faire le lien entre les propriétés émergentes du couvert et les plantes individuelles, ce qui permet de définir des objectifs de sélection pour chacune des composantes du mélange. Cette nécessité n'est pas forcément présente dans les couverts mono-génotypiques ou mono-spécifiques : en effet, si l'on applique le cadre défini précédemment à des couverts mono-génotypiques ou à des couverts mono-spécifiques, la diversité fonctionnelle se réduit à de la diversité intra-génotypique qui est bien plus faible que la diversité inter-génotypique. Seule l'identité fonctionnelle reste donc à étudier, ce qui limite l'intérêt de ce cadre conceptuel.

### **iii. Application aux mélanges : l'“idéomixage”**

Le concept d'idéotype variétal décrit par Donald (1968) est particulièrement intéressant pour comprendre les déterminants de l'adaptation et de la performance de variétés dans des environnements donnés (i.e. efficacité d'utilisation des ressources, collecte optimale des ressources, adaptation aux climats, etc). Suivant ce concept, certains chercheurs ont proposé d'étendre le concept d'idéotype à des mélanges d'espèces ou de variétés pour créer des idéomixes (Litrico and Violle, 2015) : mélanges optimisés de génotypes sur la base de traits agronomiques et de traits d'interaction. Dans ce cadre, les traits sont interprétés comme des proxys de fonctions biologiques pour proposer des hypothèses sur le fonctionnement des mélanges variétaux (Violle et al., 2007). Par exemples les traits peuvent être liés à l'acquisition des ressources. Ils peuvent ainsi refléter la quantité de ressource extraite par une plante dans un milieu ou une efficacité de transformation de ressources. Ainsi, l'intensité de branchement d'un système racinaire (nombre de ramification) représente la quantité de sol accessible par le système de racine et peut donc être un proxy du volume de sol exploré par la racine et donc de son accès à une certaine quantité d'eau ou de nutriments (Freschet et al., 2021). La hauteur d'une plante représente sa capacité à accéder et à collecter la lumière dans un couvert hétérogène (Falster and Westoby, 2003).

Les traits fonctionnels impliqués dans les interactions plante-plante intraspécifiques ou interspécifiques comme la hauteur des plantes via les interactions de compétitions sont appelés traits d'interactions (Litrico et Violle, 2015). Au contraire, d'autres traits caractérisent plus un gradient d'adaptation à des contraintes pédoclimatiques ou à l'environnement agricole (précocité, qualité boulangère, taux de protéines ...) : ces traits sont appelés traits agronomiques. Des traits fonctionnels peuvent être à la fois des traits d'interactions et des traits agronomiques. Ainsi la hauteur d'une plante est à la fois un trait d'interaction impliqué dans la compétition mais est aussi un trait agronomique car elle est reliée à l'indice de récolte qui représente la proportion de biomasse allouée à la reproduction. Un des enjeux de la sélection indirecte pour des mélanges est ainsi d'identifier des traits d'interactions et des traits agronomiques.

Les traits agronomiques et d'interactions peuvent être corrélés : certaines valeurs de traits agronomiques peuvent contraindre certaines valeurs de traits d'interactions ou inversement en raison de contraintes physiologiques ou génétiques. Par exemple, dans de nombreux environnements et pour de nombreuses populations, la hauteur à épiaison est corrélée à la date d'épiaison : les génotypes les plus précoces ont une croissance précoce et donc une hauteur à épiaison plus élevée. Dépasser les contraintes génétiques peut être réalisé en pratiquant de la sélection. Cela peut ainsi permettre de découpler les valeurs entre

traits. Selon les environnements, on peut alors garder de la diversité pour certains traits d'interactions tout en homogénéisant les traits agronomiques. Le processus d'amélioration des plantes proposés dans Litrico et Violle (2015) peut être résumé en deux étapes :

- Une étape de sélection de variétés en lignées pures en utilisant les techniques de sélection classique pour obtenir des valeurs spécifiques de critères agronomiques classiques ou de traits d'interactions.
- Une étape d'assemblage pour obtenir un niveau de diversité optimal pour chaque trait basé sur les théories d'écologie des communautés et d'écologie fonctionnelle.

Le progrès génétique des mélanges variétaux dépend donc à la fois des progrès génétiques réalisés en réalisant de la sélection directionnelle ou stabilisatrice des traits agronomiques vers la valeur optimale des traits agronomiques dans un environnement donné et de la capacité des programmes de sélection à réaliser de la sélection disruptive sur des traits d'interactions liés à des effets de complémentarité, et de la sélection directionnelle sur des traits pour lesquels la diversité est associée à un effet négatif de la compétition sur la productivité des mélanges. Un des critères agronomiques importants pour la performance d'un couvert est l'aptitude à la compétition (Donald, 1968). Ce critère peut être lié dans certaines populations à l'optimisation de la collecte de ressource par les plantes (e.g: l'interception lumineuse). L'aptitude à la compétition peut dépendre de la taille des organes collecteurs de ressources. Ainsi la taille des plantes peut-être un bon proxy de l'aptitude à la compétition dans certaines populations et dans certains environnements. Dans la lignée de Donald, on peut supposer qu'un bon critère agronomique dans un mélange conduit en condition agronomique optimale, est une aptitude à la compétition réduite.

## 4. Objectifs de la thèse

Dans cette introduction, nous avons décrit la réduction de la diversité génétique au profit de la productivité dans le paysage agricole français. Nous avons ensuite présenté un ensemble de données expérimentales suggérant que les mélanges variétaux pouvaient avoir un effet bénéfique sur le rendement. Malgré ces données, peu de mécanismes permettent d'identifier les conditions et les mécanismes expliquant l'effet bénéfique des mélanges variétaux sur le rendement. Cette thèse structurée en quatre chapitres propose donc de répondre à 3 questions pour identifier des mécanismes biologiques et des conditions de cultures favorisant les performances des mélanges :

Q1/ Les variétés modernes ont-elles de meilleures performances en mélanges que les variétés anciennes ? Cette question traitée dans le premier chapitre vise à comprendre l'impact de la sélection sur la performance des variétés cultivées en mélanges variétales. L'hypothèse sous-jacente est que les variétés modernes ayant une aptitude à la compétition réduite ont de meilleures performances en mélanges que les variétés anciennes.

Q2/ Dans quelles conditions de cultures, la culture de mélanges variétales est-elle avantageuse ? Cette question fera l'objet du chapitre 2 et 3. Le chapitre 2 sera consacré à étudier l'influence des ressources sur le fonctionnement des mélanges. Pour ce chapitre notre hypothèse est que la diminution du nombre de ressources limitantes via la fertilisation et l'irrigation favorise la compétition, ce qui diminue la performance des mélanges avec de fortes asymétries d'aptitudes à la compétition entre composantes. Le chapitre 3 sera consacré à l'étude de l'influence de la configuration spatiale sur le fonctionnement des mélanges. Notre hypothèse est que la configuration spatiale modifie la répartition des géotypes dans la parcelle ce qui peut favoriser des interactions compétitives ou des interactions de complémentarités selon la proximité géographique des géotypes au sein du mélange.

Q3/ Les traits de description des communautés fongiques peuvent-ils être incorporés dans un schéma de sélection pour les mélanges ? Pour être incorporés dans un schéma de sélection un trait doit être héritable. Le chapitre 4 sera donc consacré à l'étude de l'héritabilité d'un ensemble de variables statistiques décrivant les communautés fongiques.

## 5. Cadres statistiques pour la compréhension des interactions entre plantes.

Les cadres statistiques pour étudier les mélanges variétaux sont nombreux et répondent à deux objectifs principaux :

- Mesurer le gain ou la perte associé(e) à la culture de mélanges par rapport à de la culture en parcelle mono-génotypique. Cet objectif est souvent rempli par la constitution d'indices dont les plus utilisés sont le sur-rendement ou l'effet net de la biodiversité.
- Comprendre le fonctionnement des mélanges. Pour ce faire l'objectif principal est de tester si le fonctionnement d'un écosystème correspond à la somme du fonctionnement de ces composantes (fonctionnement additif) ou s'il y a des propriétés émergentes (Grime, 1998; Hector, 1998). L'objectif est donc d'étudier les comportements additifs et non-additifs des communautés.

### a. L'effet net de la biodiversité

En écologie, dans le cadre de l'étude de communautés multi-espèces (ou multi-génotypes), on définit l'effet net de la biodiversité comme la différence entre une performance en mélange et la moyenne des performances de ces mêmes espèces ou variétés cultivées en parcelle mono-génotypique. Dans le cadre de mélanges binaires de génotypes, on peut écrire :

$$\text{Effet net de la biodiversité}_{ij} = Perf_{ij} - \left( \frac{Perf_{ii} + Perf_{jj}}{2} \right)$$

où  $Perf_{ij}$  est la performance du mélange contenant le génotype  $i$  avec le génotype  $j$ .

Cet indice est souvent interprété en écologie d'un point de vue mécanistique. Dans la décomposition de Loreau et Hector (2001), une des plus utilisées en écologie, cet effet est interprété comme l'effet des interactions entre composantes du mélange. L'objectif de cet indice est de retirer de la variabilité des performances des mélanges, la variabilité associée aux performances des génotypes cultivés en conditions de parcelles mono-génotypiques. Ici les performances des génotypes en cultivés en parcelles mono-génotypiques sont vues comme une nuisance au sens de Clark (Clarke and Green, 1988). Pour réaliser cet objectif, il faut étudier les résidus de la relation :  $Perf_{ij} \sim \left( \frac{Perf_{ii} + Perf_{jj}}{2} \right)$ , une approche que nous expliciterons davantage dans le chapitre 3.



## b. Décomposition de la variance d'un mélange

L'effet d'interaction entre deux variétés cultivées en mélange est un effet d'interactions donc biologiquement non additif. Pour pouvoir étudier cette non-additivité biologique, il est important de bien pouvoir l'estimer. L'enjeu des méthodes statistiques visant à étudier les performances des communautés est donc de pouvoir isoler de la **non-additivité statistique** dans les performances des mélanges et de pouvoir l'interpréter comme de la **non-additivité biologique**. L'usage des indices est peu adapté à l'isolement de cette non-additivité en particulier lorsqu'ils correspondent à des ratios comme le sur-rendement : pratiquer des analyses de variance (ANOVA) sur des ratios peut créer de la non-additivité due à des variances différentes entre numérateur et dénominateur et donc des corrélations artificielles entre ces ratios et l'une ou l'autre des composantes de ce ratio (Atchley and Anderson, 1978). On peut retrouver le même problème avec l'effet net de la biodiversité dans le cas où la variance de la performance des monocultures est bien supérieure à celle du mélange. Ainsi, une autre méthode se base sur la méthode de la décomposition de la variance basée sur les travaux de Fisher qui s'est imposé comme l'une des méthodes les plus utilisées en sciences expérimentales (Pandit, 2010). Appliquée au mélange cette méthode vise à séparer les sources de variances des performances des mélanges dues aux effets additifs des variétés dans les mélanges des effets non-additifs dues aux interactions entre variétés.

La décomposition de la variance des performances d'un mélange en variance additive et non-additive s'appuie sur le modèle hybride (Jensen and Federer, 1965; McGilchrist, 1965). L'aptitude générale au mélange (GMA) représente la performance moyenne d'une lignée pure dans les mélanges, tandis que l'aptitude spécifique au mélange (SMA) quantifie les écarts de performance des mélanges par rapport aux prédictions de GMA (Gallandt et al., 2001). La GMA d'une lignée peut ensuite être décomposée (Gizlice et al., 1989) en l'aptitude à produire en culture pure (General performing ability GPA) et une aptitude à influencer la réponse des mélanges (Véritable aptitude à la performance en mélange ou True general mixing ability, TGMA). La partition de la GMA en GPA et TGMA nécessite l'analyse de la réponse au mélange en comparant la production du mélange à la moyenne des composants en peuplement pur. D'un point de vue mathématique, cette approche correspond à l'équation suivante dans le cas de mélanges binaires semés en équi-proportions :

$$Rdt_{ij} = \frac{1}{2}GMA_i + \frac{1}{2}GMA_j + SMA_{ij} + \varepsilon_{ij}$$
$$GMA_i = b \times GPA_i + TGMA_i$$

Dans le cas où la GMA est égale à la GPA, la SMA correspond à l'effet net de la biodiversité :

$$\begin{aligned}
 Rdt_{ij} - \left(\frac{1}{2}GMA_i + \frac{1}{2}GMA_j\right) &= SMA_{ij} + \varepsilon_{ij} \\
 SMA_{ij} + \varepsilon_{ij} &= Rdt_{ij} - \left(\frac{1}{2}GPA_i + \frac{1}{2}GPA_j\right) = Perf_{ij} - \frac{Perf_{ii} + Perf_{jj}}{2} \\
 &= \text{Effet net de la biodiversité}_{ij}
 \end{aligned}$$

Ainsi en présence de non-correspondance parfaite entre GMA et GPA, il existe de l'additivité dans l'effet net de la biodiversité, un effet biologique lié aux interactions entre plantes donc biologiquement non-additif.

Les mélanges peuvent aussi être étudiés du point de vue des performances (ou fitness) de leurs composantes (Wright, 1982) en utilisant le principe de l'effet producteur (Pr) et de l'effet associé (As). Dans un mélange variétal, l'effet producteur représente l'effet d'un génotype sur la performance de la plante qui porte ce même génotype : c'est un effet génétique direct (DGE). En revanche, l'effet associé représente l'effet d'une variété sur la performance des autres variétés avec laquelle elle est associée : c'est un effet génétique indirect (IGE). Ces deux effets correspondent à des effets additifs (Haug et al., 2021). On peut alors écrire (Haug et al., 2021) :

$$\begin{aligned}
 GMA_i &= DGE_i + IGE_i \\
 SMA_{ij} &= DGE_i \times IGE_j + IGE_j \times DGE_i \\
 IGE_i &= As_i \\
 DGE_i &= Pr_i
 \end{aligned}$$

où  $Pr_i$  représente l'effet producteur de la variété i et  $As_i$  représente l'effet associé de la variété i,  $DGE_i$  représente l'effet génétique direct de la variété i,  $IGE_i$  représente l'effet génétique indirect de la variété i et  $DGE_i IGE_j$  &  $DGE_j IGE_i$  représentent les interactions entre effets producteurs et effets associés. On peut également décomposer l'effet DGE et l'effet IGE en effet due aux interactions génotypiques et effet due aux performances en parcelles mono-génotypiques en effectuant la régression des performances en parcelles mono-génotypiques et ces effets. Pour estimer les effets DGE et IGE il est nécessaire d'avoir accès aux performances des génotypes dans le mélange.

Ces modèles peuvent être complexifiées en cas d'essai multi-environnement avec l'ajout d'un terme Environnemental (E) et d'interaction SMA x E et GMA x E.

L'effet net de la biodiversité (NBE) et des décompositions de cet effet est utilisé avec des indices de traits fonctionnels (moyenne ou diversité de traits fonctionnels) pour inférer des mécanismes responsables des effets de biodiversité (Loreau and Hector, 2019; Ricotta and Moretti, 2011). Mettre en relation directement NBE et indices fonctionnels peut amener de fausses interprétations en raison d'effets non linéaires entre productivité et indice fonctionnel, ou d'effet non linéaire dérivant de l'agrégation de propriété individuelle au niveau de la communauté. Ces effets sont simplement liés à la coexistence des variétés et non à des interactions entre plantes (Pillai and Gouhier, 2019). Pour pallier ces mauvaises interprétations, il est plus rigoureux d'expliquer les composantes additives des mélanges par des traits fonctionnels en utilisant la GMA plutôt que des indices, et d'expliquer la partie non-additive des performances des mélanges (SMA) par des indices de diversité qui peuvent être non-additif (diversité fonctionnelle). Nous verrons cela dans le chapitre 3. Cette approche est très similaire à celle de Haug. Haug et al. (2021) suggèrent de corrélérer à la fois les effets génétiques directs (DGE) et indirects (IGE) avec des traits liés aux interactions entre les variétés dans le mélange. Cela permettrait d'identifier les caractères qui produisent des interactions biologiques favorables à l'échelle de la communauté. Réaliser cette approche directement sur la GMA permet de se passer de la collecte de données sur les composantes des mélanges (génotypes) qui peut s'avérer compliqué dans le cas de mélange intra-spécifique car elle requiert l'identification des génotypes du mélange. En effet, l'approche GMA/SMA permet de tirer des conclusions directement à l'échelle du mélange et nécessite de collecter que des données à l'échelle du mélange alors que l'approche DGE/IGE (ou Pr/As) nécessite de collecter des données au niveau des génotypes individuellement.

La GMA qui est une caractéristique d'un génotype dans un essai peut être liée à des valeurs de traits d'un génotype alors que la SMA est une caractéristique d'un mélange et nécessite donc des combinaisons de valeurs de traits. L'étude de la SMA nécessite donc d'étudier des indices agglomérant des propriétés liées aux différentes composantes du mélange comme par exemple la diversité fonctionnelle.

$$GMA_i \text{ (ou } Pr_i \text{ ou } As_i) = b_i \times Trait_i + \varepsilon_i$$

$$SMA_{ij} (Pr_i As_j \text{ ou } Pr_j As_i) = f(Trait_i, Trait_j) + \varepsilon_i$$

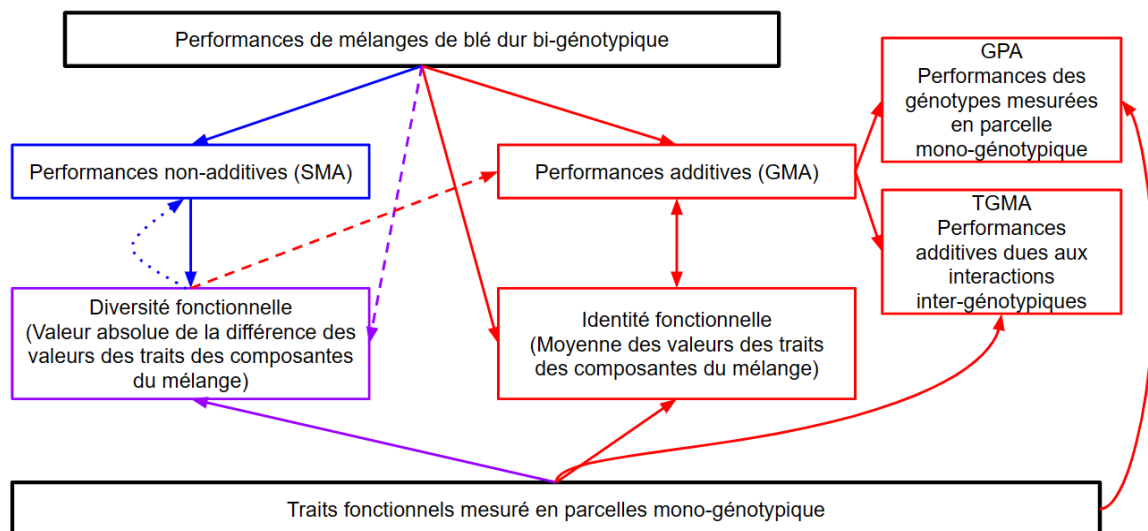
Différentes fonctions d'intégration  $f$  existent dans la littérature. La plus connue est le modèle d'interaction multiplicatif émergent du modèle linéaire :

$$SMA_{ij} (Pr_i As_j \text{ ou } Pr_j As_i) = b \times Trait_i \times Trait_j$$

La fonction d'intégration soustractive qui permet de caractériser la différence de traits fonctionnels est également très utilisée.

$$SMA_{ij} (Pr_iAs_j \text{ ou } Pr_jAs_i) = b \times |Trait_i - Trait_j|$$

Ces modèles sont similaires aux modèles de génétique quantitative dans lesquels  $Trait_i$  représenterait alors la dose allélique de l'allèle (trait)  $i$  dans le mélange (0, 1 ou 2). L'articulation de ces modèles est résumée dans la figure 8. Dans le cas de variables catégorielles comme dans l'exemple des doses alléliques, les modèles d'interactions multiplicatifs et soustractifs sont équivalents. Cette similarité est particulièrement intéressante car elle permet aux deux disciplines d'aborder un langage commun. Dans la partie suivante, nous aborderons comment la génétique quantitative peut compléter les traits dans la compréhension des mélanges.



**Figure 8: Cadres statistiques pour l'étude de mélange de blé dur bi-génotypique.**

La variance des performances des mélanges peut être décomposée en variance des performances additives (rouges) et variance des performances non-additives (bleues). La variance additive peut ensuite être décomposée en une variance associée aux performances des génotypes cultivés en parcelle mono-génotypique (variance due à la compétition intra-spécifique et à l'adaptation aux conditions pédoclimatiques) et une variance associée aux interactions inter-génotypiques. Les traits fonctionnels peuvent servir à inférer des mécanismes associés à chacune de ces performances. A partir des mesures de traits fonctionnels en parcelle mono-génotypique on peut construire un indice d'identité fonctionnelle et un indice de diversité fonctionnelle pour chaque trait fonctionnel mesuré. La moyenne des valeurs des traits fonctionnels mesurés en parcelle mono-génotypique des

composantes d'un mélange est un indice additif par construction et peut être directement relié à la performance de mélange de blé dur bi-génotypique pour estimer des comportements additifs. Pour étudier la part de ces comportements additifs dues aux interactions entre génotypes ou dues à la performance des génotypes en parcelle mono-génotypique, il faut directement associer les valeurs de traits fonctionnels mesurés en parcelle mono-génotypique à la TGMA ou à la GPA. La valeur absolue de la différence des valeurs des traits des composantes d'un mélange mesuré en parcelle mono-génotypique est un indice non-additif mais qui peut être additif dans le cas de design incomplet. Pour interpréter les relations entre cet indice et des interactions entre génotypes dues à des performances non-additives (SMA), il faut associer cet indice à de la SMA et non aux performances des mélanges.

### **c. Apport de la génétique quantitative pour l'étude des mélanges**

Les traits fonctionnels évoqués précédemment caractérisent les phénotypes des plantes c'est-à-dire les entités qui interagissent directement avec l'environnement de sélection. Le phénotype est la réalisation du génotype qui caractérise l'ensemble des gènes d'un individu. Les gènes sont l'entité qui se copient dans le processus évolutif. Coupler l'étude des gènes (génétiques) avec l'étude des traits fonctionnels permet donc de faire du lien entre l'environnement de sélection (le mélange) et les gènes qui transmettent l'information génétique d'une génération à l'autre. La génétique quantitative étudie le lien entre les gènes et les traits. Elle utilise le génotypage et des approches probabilistes pour déterminer les facteurs génétiques (gènes, allèles) qui impactent l'expression des traits. La génétique quantitative manipule également beaucoup le concept d'héritabilité qui correspond à la proportion de variance expliquée par l'effet génotype dans une expérimentation (héritabilité au sens large), par l'effet génotype additif (héritabilité au sens strict). La racine carrée de l'héritabilité ( $h$ ) est une composante importante de l'équation du sélectionneur (Hill and Mackay, 2004) et détermine ainsi directement le gain génétique avec l'intensité de sélection ( $i$ ) et l'écart type génétique ( $\sigma_G$ )

$$\text{Gain génétique} = i \times h \times \sigma_G$$

Un trait avec une grande héritabilité peut ainsi être facilement sélectionnable. Les traits peuvent avoir différents types d'architecture génétique (distribution des tailles d'effets des facteurs génétiques). On distingue les architectures multi-géniques où les traits sont déterminés par de nombreux gènes à faibles effets et les architectures polygéniques où les

traits sont déterminés par quelques gènes avec des effets forts. La génétique quantitative s'appuie sur deux méthodes : les études d'associations pangénomiques (GWAS) et les études de prédictibilité via des modèles de sélection génomique. Les GWAS visent à localiser des positions (loci) dans le génome au niveau desquelles les mutations impactent l'expression de ces traits pour déterminer les fonctions des gènes impliqués dans le déterminisme génétique d'un trait. Cette méthode fait l'hypothèse d'une architecture polygénique. De nombreuses méthodes ont été développées pour étudier le déterminisme des interactions entre plantes via de la GWAS (Alsabbagh et al., 2022; Baron et al., 2015; Becker et al., 2023; Libourel et al., 2019; Montazeaud et al., 2022; Sato et al., 2021). L'approche du score local (Bonhomme et al., 2019) permettant de détecter des QTLs ayant de faibles effets a grandement facilité l'étude du déterminisme génétique des interactions entre plantes qui est un trait complexe (Becker et al., 2023). Les modèles de sélection génomique s'intéressent à la prédiction des performances des génotypes sur la base de leurs compositions alléliques (valeurs génétiques), ils font dans de nombreux cas l'hypothèse que l'architecture des traits est infinitésimale (tous les gènes ont un faible effet sur le phénotype).

Les données de marquage génétique peuvent contribuer de deux manières à la compréhension du fonctionnement des mélanges :

- En étudiant directement la relation entre diversité génétique et performance du mélange (Alsabbagh et al., 2022). Dans ce cadre-là, les méthodes statistiques employées sont similaires à celles étudiées dans la partie précédente et les données de marquage deviennent l'analogue des traits fonctionnels. Dans ce cas-là, il faut faire particulièrement attention à la décomposition entre effets génétiques additifs et non-additifs.
- En étudiant les déterminants génétiques des traits fonctionnels impliqués dans les interactions entre plantes pour estimer l'efficacité de la sélection indirecte par rapport à la sélection directe par exemple.

Bien d'autres objectifs sont également possibles.

## 6. Contexte de la thèse dans les sciences agronomiques

Différents régimes d'innovation (RI) ont prévalu au cours des dernières décennies (Salembier et al., 2018):

- un régime d'innovation basé sur les pratiques agricoles (à partir de 1750, RI1). La théorie agronomique est à ses débuts et les agronomes s'organisent pour produire des recommandations basées sur la science plutôt que sur la spéculation. Les pratiques des agriculteurs sont des ressources clés pour eux.
- un régime d'innovation basé sur les intrants chimiques (à partir de 1850, RI2). Ce régime d'innovation apparaît avec l'hégémonie de la chimie et la standardisation de l'expérimentation. Les agronomes cherchent à trouver les meilleurs intrants agricoles conçus hors de l'exploitation agricole : l'agronome est un chimiste
- un régime d'innovation basé sur l'optimisation de l'usage des intrants chimiques (à partir de 1950, RI3) : on cherche à trouver la meilleure variété pour optimiser le retour sur investissement de l'usage des intrants : l'agronome est un généticien.
- un régime d'innovation basé sur le choix de la bonne combinaison de pratiques pour différents types de fermes (à partir de 1970, RI4). Avec RI4, les critiques d'une déconnexion entre la science et les agriculteurs et l'intérêt croissant pour les questions environnementales ont entraîné une nouvelle transition. Les agronomes ont d'abord cherché à comprendre les pratiques utilisées par les agriculteurs, en se concentrant sur de petites régions, puis à identifier les échecs de performance. Ils ont utilisé des approches systémiques pour concevoir des combinaisons d'options techniques plus efficaces.
- un régime d'innovation basé sur l'inclusion des agriculteurs dans l'innovation (à partir de 2000, RI5). RI5 s'est basée sur deux observations : d'une part, les agronomes ne peuvent pas seuls concevoir des systèmes multi-performants pour chaque exploitation agricole, et d'autre part, les agriculteurs sont des concepteurs. Ils utilisent également des approches systémiques pour co-concevoir avec les agriculteurs des pratiques innovantes répondant aux problématiques locales et sociétales.

Chacun des cinq régimes de conception a émergé en lien avec les évolutions dans l'organisation de la recherche et développement agricole (R&D) et les changements dans les tendances épistémologiques de l'agronomie. Cette thèse s'inscrit dans le régime d'innovation RI4. Cette thèse peut servir de bases scientifiques pour nourrir les approches plus

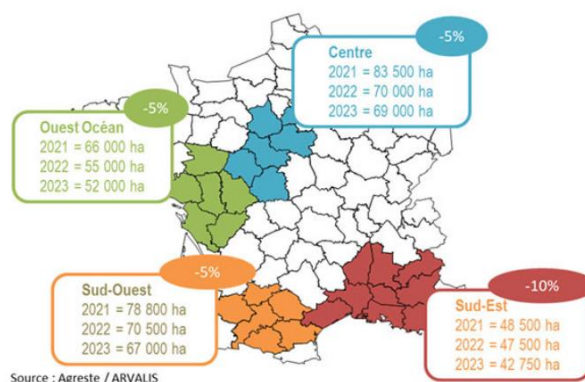
systemiques notamment via la co-conception de pratiques innovantes avec les agriculteurs (régime d'innovation RI5).



# 7. Matériel expérimental & Modèles d'études

## a. Le blé dur comme espèce modèle

Nous avons choisi le blé dur comme modèle d'étude. Appelé *Triticum turgidum* L. subsp. *Durum*, le blé dur est une céréale moderne tétraploïde issue d'un croisement entre *Triticum urartu* (génome AA) et *Aegilops speltoides* (génome BB). Le blé dur est la quatrième céréale cultivée en France avec une production de 1,8 Mt par an, soit 2,2% de la production de céréales en France (Passion céréales, 2013). A l'échelle européenne, la France est le 2ème producteur de blé dur derrière l'Italie (Passion céréales, 2013). Le blé dur est une céréale de printemps semé en automne et récoltée en été, principalement utilisée pour la fabrication de semoule et de pâtes. Il est cultivé avec une densité d'environ 200-300 plantes/m<sup>2</sup>. Aujourd'hui, la production de blé dur est répartie sur quatre zones : le Sud-Est, le Sud-Ouest, l'Ouest Océan et le Centre / Île-de-France (Figure 9). Dans le Sud-Est, zone d'expérimentation principale de notre thèse, le blé dur représente 80 % des surfaces en céréales. Le déficit hydrique et la douceur de l'hiver sont les principales caractéristiques climatiques associés à la culture du blé dur, mais aussi parfois l'excès d'eau en automne. La variabilité des pluies induit une grande variabilité des rendements. Le blé dur est essentiellement cultivé dans des sols à réserve en eau moyenne à très élevée (120 à plus de 200 mm) et sans irrigation. Bien conduit, il produit en moyenne de 30 à 60 q/ha selon la réserve en eau du sol mais la teneur en protéines définissant la qualité du grain est extrêmement variables due à la sécheresse ([Panorama de la culture du blé dur en 2023 en France | ARVALIS](#)).



**Figure 9: Répartition de la sole du blé dur en France.**

## **b. EPO, une population idéale pour l'expérimentation**

La diversité génétique chez le blé dur, *Triticum turgidum durum*, a été fortement réduite depuis la domestication du blé sauvage *Triticum turgidum dicoccoides* et à chaque étape de sélection (Haudry et al., 2007). L'étude du déterminisme génétique des caractères chez le blé dur et l'étude de l'évolution de ces caractères nécessitent la construction de populations très diversifiées permettant la comparaison de l'effet de différents allèles sur le phénotype. Le croisement composite de blé dur incorporant des taxons tétraploïdes apparentés, tels que le blé amidonnier sauvage et domestiqué, est une méthode pré-breeding qui permet de constituer des populations d'études très diversifiées. Ces populations alliées à du séquençage de polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) ségrégant dans de telles populations, offrent la possibilité de pratiquer des études d'association pangénomique (GWAS) et des programmes de sélection génomique (GS). Ces populations sont caractérisées par un fort niveau de diversité et un faible niveau de déséquilibre de liaison (<40Mb). EPO est une population de blé dur dont le nom signifie population de pré-breeding évolutive (David et al., 2014). 180 lignées issues de cette population par autofécondation ont été extensivement utilisées dans cette thèse. Ces lignées ont été échantillonnées parmi un grand nombre de lignée pour obtenir une population de lignée dont la variance d'apparentement est faible. Cette propriété est idéale pour réaliser de la GWAS ou calibrer des modèles de GS ou réaliser des études de diversité et d'identification de traits impliqués dans le rendement (David et al., 2014). La plupart des approches expérimentales réalisées dans cette thèse ont été réalisées sur cette population.

## 8. References citées dans l'introduction

- Adak, A., Murray, S.C., Anderson, S.L., 2023. Temporal phenomic predictions from unoccupied aerial systems can outperform genomic predictions. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 13, jkac294. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkac294>
- Alsabbagh, P., Gay, L., Colombo, M., Montazeaud, G., Ardisson, M., Rocher, A., Allard, V., David, J.L., 2022. Diversity matters in wheat mixtures: A genomic survey of the impact of genetic diversity on the performance of 12 way durum wheat mixtures grown in two contrasted and controlled environments. *PLOS ONE* 17, e0276223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276223>
- Atchley, W.R., Anderson, D., 1978. Ratios and the Statistical Analysis of Biological Data. *Systematic Zoology* 27, 71–78. <https://doi.org/10.2307/2412816>
- Bardgett, R.D., van der Putten, W.H., 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515, 505–511. <https://doi.org/10.1038/nature13855>
- Baron, E., Richirt, J., Villoutreix, R., Amsellem, L., Roux, F., 2015. The genetics of intra- and interspecific competitive response and effect in a local population of an annual plant species. *Functional Ecology* 29, 1361–1370. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12436>
- Becker, C., Berthomé, R., Delavault, P., Flutre, T., Fréville, H., Gibot-Leclerc, S., Corre, V.L., Morel, J.-B., Moutier, N., Muños, S., Richard-Molard, C., Westwood, J., Courty, P.-E., Germain, A. de S., Louarn, G., Roux, F., 2023. The ecologically relevant genetics of plant–plant interactions. *Trends in Plant Science* 28, 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.08.014>
- Bergmann, J., Weigelt, A., van der Plas, F., Laughlin, D.C., Kuyper, T.W., Guerrero-Ramirez, N., Valverde-Barrantes, O.J., Bruelheide, H., Freschet, G.T., Iversen, C.M., Kattge, J., McCormack, M.L., Meier, I.C., Rillig, M.C., Roumet, C., Semchenko, M., Sweeney, C.J., van Ruijven, J., York, L.M., Mommer, L., 2020. The fungal collaboration gradient dominates the root economics space in plants. *Science Advances* 6, eaba3756. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba3756>
- Biedrzycki, M.L., Jilany, T.A., Dudley, S.A., Bais, H.P., 2010. Root exudates mediate kin recognition in plants. *Communicative & Integrative Biology* 3, 28–35. <https://doi.org/10.4161/cib.3.1.10118>
- Bogaard, A., 2004. The nature of early farming in Central and South-east Europe. *Documenta Praehistorica* 31, 49–58. <https://doi.org/10.4312/dp.31.4>
- Bonhomme, M., Fariello, M.I., Navier, H., Hajri, A., Badis, Y., Miteul, H., Samac, D.A., Dumas, B., Baranger, A., Jacquet, C., Pilet-Nayel, M.-L., 2019. A local score

- approach improves GWAS resolution and detects minor QTL: application to *Medicago truncatula* quantitative disease resistance to multiple *Aphanomyces euteiches* isolates. *Heredity* 123, 517–531. <https://doi.org/10.1038/s41437-019-0235-x>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.06.003>
- Borg, J., Kiær, L.P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., Barot, 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.006>
- Bradshaw, A.D., 1965. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants, in: Caspari, E.W., Thoday, J.M. (Eds.), *Advances in Genetics*. Academic Press, pp. 115–155. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60048-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60048-6)
- Callaway, R.M., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Lortie, C.J., Michalet, R., Paolini, L., Pugnaire, F.I., Newingham, B., Aschehoug, E.T., Armas, C., Kikodze, D., Cook, B.J., 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature* 417, 844–848. <https://doi.org/10.1038/nature00812>
- Cardinale, B.J., 2011. Biodiversity improves water quality through niche partitioning. *Nature* 472, 86–89. <https://doi.org/10.1038/nature09904>
- Cavaleri, A., Bak, F., Garcia-Lemos, A.M., Weiner, J., Nicolaisen, M.H., Nybroe, O., 2020. Effects of Intra- and Interspecific Plant Density on Rhizosphere Bacterial Communities. *Frontiers in Microbiology* 11.
- Chen, J., Sharifi, R., Khan, M.S.S., Islam, F., Bhat, J.A., Kui, L., Majeed, A., 2022. Wheat Microbiome: Structure, Dynamics, and Role in Improving Performance Under Stress Environments. *Frontiers in Microbiology* 12.
- Clarke, K.R., Green, R.H., 1988. Statistical design and analysis for a “biological effects” study. *Marine Ecology Progress Series* 46, 213–226.
- Colombo, M., Roumet, P., Salon, C., Jeudy, C., Lamboeuf, M., Lafarge, S., Dumas, A.-V., Dubreuil, P., Ngo, W., Derepas, B., Beauchêne, K., Allard, V., Le Gouis, J., Rincant, R., 2022. Genetic Analysis of Platform-Phenotyped Root System Architecture of Bread and Durum Wheat in Relation to Agronomic Traits. *Frontiers in Plant Science* 13.
- Corriveau-Dussault, A., 2016. Qu’est-ce que le bien des écosystèmes? Fondements philosophiques des notions de fonction écologique et de santé écosystémique.
- Dahlin, I., Kiær, L.P., Bergkvist, G., Weih, M., Ninkovic, V., 2020. Plasticity of barley in

- response to plant neighbors in cultivar mixtures. *Plant Soil* 447, 537–551.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-019-04406-1>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Dawkins, R., 2016. *The Selfish Gene*. Oxford University Press.
- de Vallavieille-Pope, C., 2004. Management of disease resistance diversity of cultivars of a species in single fields: controlling epidemics. *Comptes Rendus Biologies* 327, 611–620. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2003.11.014>
- Donald, C.M., 1968. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17, 385–403.  
<https://doi.org/10.1007/BF00056241>
- Duru, M., Fares, M., Therond, O., 2014. Un cadre conceptuel pour penser maintenant (et organiser demain) la transition agroécologique de l’agriculture dans les territoires. *Cahiers Agricultures* 23, 84-95 (1). <https://doi.org/10.1684/agr.2014.0691>
- Ehdaie, B., Layne, A.P., Waines, J.G., 2012. Root system plasticity to drought influences grain yield in bread wheat. *Euphytica* 186, 219–232. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0585-9>
- Eisenhauer, N., Bonfante, P., Buscot, F., Cesarz, S., Guerra, C., Heintz-Buschart, A., Hines, J., Patoine, G., Rillig, M., Schmid, B., Verheyen, K., Wirth, C., Ferlian, O., 2022. Biotic interactions as mediators of context-dependent biodiversity-ecosystem functioning relationships. *RESEARCH IDEAS AND OUTCOMES* 8.  
<https://doi.org/10.3897/rio.8.e85873>
- Eisenhauer, N., Schielzeth, H., Barnes, A.D., Barry, K.E., Bonn, A., Brose, U., Bruelheide, H., Buchmann, N., Buscot, F., Ebeling, A., Ferlian, O., Freschet, G.T., Giling, D.P., Hättenschwiler, S., Hillebrand, H., Hines, J., Isbell, F., Koller-France, E., König-Ries, B., de Kroon, H., Meyer, S.T., Milcu, A., Müller, J., Nock, C.A., Petermann, J.S., Roscher, C., Scherber, C., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Schnitzer, S.A., Schuldt, A., Tschardt, T., Türke, M., van Dam, N.M., van der Plas, F., Vogel, A., Wagg, C., Wardle, D.A., Weigelt, A., Weisser, W.W., Wirth, C., Jochum, M., 2019. Chapter One - A multitrophic perspective on biodiversity–ecosystem functioning research, in: Eisenhauer, N., Bohan, D.A., Dumbrell, A.J. (Eds.), *Advances in Ecological Research, Mechanisms Underlying the Relationship between Biodiversity and Ecosystem Function*. Academic Press, pp. 1–54.  
<https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2019.06.001>
- Enquist, B.J., Norberg, J., Bonser, S.P., Violle, C., Webb, C.T., Henderson, A., Sloat, L.L., Savage, V.M., 2015. Chapter Nine - Scaling from Traits to Ecosystems: Developing a

- General Trait Driver Theory via Integrating Trait-Based and Metabolic Scaling Theories, in: Pawar, S., Woodward, G., Dell, A.I. (Eds.), *Advances in Ecological Research, Trait-Based Ecology - From Structure to Function*. Academic Press, pp. 249–318. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2015.02.001>
- Falster, D.S., Westoby, M., 2003. Plant height and evolutionary games. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 337–343. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00061-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00061-2)
- Fernandez, M., Vernay, A., Henneron, L., Adamik, L., Malagoli, P., Balandier, P., 2022. Plant N economics and the extended phenotype: Integrating the functional traits of plants and associated soil biota into plant–plant interactions. *Journal of Ecology* 110, 2015–2032. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13934>
- Fletcher, A., Ogden, G., Sharma, D., 2019. Mixing it up – wheat cultivar mixtures can increase yield and buffer the risk of flowering too early or too late. *European Journal of Agronomy* 103, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.12.001>
- Flombaum, P., Sala, O.E., 2008. Higher effect of plant species diversity on productivity in natural than artificial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 6087–6090. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704801105>
- Forero, L.E., Kulmatiski, A., Grenzer, J., Norton, J.M., 2021. Plant-soil feedbacks help explain biodiversity-productivity relationships. *Commun Biol* 4, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02329-1>
- Freschet, G.T., Pagès, L., Iversen, C.M., Comas, L.H., Rewald, B., Roumet, C., Klimešová, J., Zadworny, M., Poorter, H., Postma, J.A., Adams, T.S., Bagniewska-Zadworna, A., Bengough, A.G., Blancaflor, E.B., Brunner, I., Cornelissen, J.H.C., Garnier, E., Gessler, A., Hobbie, S.E., Meier, I.C., Mommer, L., Picon-Cochard, C., Rose, L., Ryser, P., Scherer-Lorenzen, M., Soudzilovskaia, N.A., Stokes, A., Sun, T., Valverde-Barrantes, O.J., Weemstra, M., Weigelt, A., Wurzbürger, N., York, L.M., Batterman, S.A., Gomes de Moraes, M., Janeček, Š., Lambers, H., Salmon, V., Tharayil, N., McCormack, M.L., 2021. A starting guide to root ecology: strengthening ecological concepts and standardising root classification, sampling, processing and trait measurements. *New Phytologist* 232, 973–1122. <https://doi.org/10.1111/nph.17572>
- Gallandt, E. r., Dofing, S. m., Reisenauer, P. e., Donaldson, E., 2001. Diallel Analysis of Cultivar Mixtures in Winter Wheat. *Crop Science* 41, 792–796. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.413792x>
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C., Toussaint, J.-P., 2004. Plant Functional Markers Capture Ecosystem Properties During Secondary Succession. *Ecology* 85, 2630–2637. <https://doi.org/10.1890/03-0799>

- Garnier, E., Navas, M.-L., Grigulis, K., 2016. *Plant Functional Diversity: Organism Traits, Community Structure, and Ecosystem Properties*. Oxford University Press.
- Gersani, M., Brown, J. s., O'Brien, E.E., Maina, G.M., Abramsky, Z., 2001. Tragedy of the commons as a result of root competition. *Journal of Ecology* 89, 660–669. <https://doi.org/10.1046/j.0022-0477.2001.00609.x>
- Gholizadeh, S., Mohammadi, S.A., Salekdeh, G.H., 2022. Changes in root microbiome during wheat evolution. *BMC Microbiology* 22, 64. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02467-4>
- Gizlice, Z., Carter Jr., 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, [cropsci1989.0011183X002900040008x](https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900040008x). <https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900040008x>
- Glémin, S., Bataillon, T., 2009. A comparative view of the evolution of grasses under domestication. *New Phytologist* 183, 273–290. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02884.x>
- Gliessman, S.R., Engles, E., Krieger, R., 1998. *Agroecology: Ecological Processes in Sustainable Agriculture*. CRC Press.
- Grace, J., 2012. *Perspectives on Plant Competition*. Elsevier.
- Griffing, B., 1967. Selection in Reference to Biological Groups I. Individual and Group Selection Applied to Populations of Unordered Groups. *Aust. Jnl. Of Bio. Sci.* 20, 127–140. <https://doi.org/10.1071/bi9670127>
- Grime, J.P., 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* 86, 902–910. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x>
- Grime, J.P., 1973. Competition and Diversity in Herbaceous Vegetation (reply). *Nature* 244, 311–311. <https://doi.org/10.1038/244311a0>
- Guo, D., Mitchell, R.J., Withington, J.M., Fan, P.-P., Hendricks, J.J., 2008. Endogenous and exogenous controls of root life span, mortality and nitrogen flux in a longleaf pine forest: root branch order predominates. *Journal of Ecology* 96, 737–745. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01385.x>
- Gustafsson, Å., 1953. The Cooperation of Genotypes in Barley. *Hereditas* 39, 1–18. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1953.tb03396.x>
- Hardin, G., 1968. The Tragedy of the Commons. *Science, New Series* 162, 1243–1248.
- Haudry, A., Cenci, A., Ravel, C., Bataillon, T., Brunel, D., Poncet, C., Hochu, I., Poirier, S., Santoni, S., Glémin, S., David, J., 2007. Grinding up Wheat: A Massive Loss of Nucleotide Diversity Since Domestication. *Molecular Biology and Evolution* 24, 1506–1517. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm077>

- Haug, B., Messmer, M.M., Enjalbert, J., Goldringer, I., Forst, E., Flutre, T., Mary-Huard, T., Hohmann, P., 2021. Advances in Breeding for Mixed Cropping – Incomplete Factorials and the Producer/Associate Concept. *Front. Plant Sci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.620400>
- Hector, A., 1998. The Effect of Diversity on Productivity: Detecting the Role of Species Complementarity. *Oikos* 82, 597–599. <https://doi.org/10.2307/3546380>
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Körner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Siamantziouras, A.-S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S., Lawton, J.H., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. *Science* 286, 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.286.5442.1123>
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Cox, T.S., 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Can. J. Bot.* 70, 2032–2040. <https://doi.org/10.1139/b92-253>
- Hill, W.G., Mackay, T.F.C., 2004. D. S. Falconer and Introduction to Quantitative Genetics. *Genetics* 167, 1529–1536. <https://doi.org/10.1093/genetics/167.4.1529>
- Hinsinger, P., Betencourt, E., Bernard, L., Brauman, A., Plassard, C., Shen, J., Tang, X., Zhang, F., 2011. P for Two, Sharing a Scarce Resource: Soil Phosphorus Acquisition in the Rhizosphere of Intercropped Species. *Plant Physiology* 156, 1078–1086. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175331>
- Hodge, A., 2004. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytologist* 162, 9–24. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01015.x>
- Hol, W.H.G., Boer, W. de, Hooven, F. ten, Putten, W.H. van der, 2013. Competition Increases Sensitivity of Wheat (*Triticum aestivum*) to Biotic Plant-Soil Feedback. *PLOS ONE* 8, e66085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066085>
- Huber, M., Nieuwendijk, N.M., Pantazopoulou, C.K., Pierik, R., 2021. Light signalling shapes plant–plant interactions in dense canopies. *Plant, Cell & Environment* 44, 1014–1029. <https://doi.org/10.1111/pce.13912>
- Iida, H., 2014. Mugifumi, a beneficial farm work of adding mechanical stress by treading to wheat and barley seedlings. *Frontiers in Plant Science* 5.
- Jaffe, M.J., 1973. Thigmomorphogenesis: The response of plant growth and development to mechanical stimulation. *Planta* 114, 143–157. <https://doi.org/10.1007/BF00387472>
- Jensen, N.F., Federer, W.T., 1965. Competing Ability in Wheat1. *Crop Science* 5, [cropsci1965.0011183X000500050022x](https://doi.org/10.24702/cropsci1965.0011183X000500050022x).



- <https://doi.org/10.2135/cropsci1965.0011183X000500050022x>
- Kebrom, T.H., Brutnell, T.P., 2007. The molecular analysis of the shade avoidance syndrome in the grasses has begun. *Journal of Experimental Botany* 58, 3079–3089. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm205>
- Kegge, W., Pierik, R., 2010. Biogenic volatile organic compounds and plant competition. *Trends in Plant Science* 15, 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.007>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.006>
- Kiær, L.P., Weiner, J., Rasmussen, C.R., 2020. Effects of kin recognition on root traits of wheat germplasm over 100 years of breeding. <https://doi.org/10.1101/2020.09.04.243758>
- Klingenberg, C.P., 2019. Phenotypic Plasticity, Developmental Instability, and Robustness: The Concepts and How They Are Connected. *Frontiers in Ecology and Evolution* 7, 56. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00056>
- Li, J., Zhu, J., Zhu, Q., 2003. A review on niche theory and niche metric. *Journal of Beijing Forestry University* 25, 100–107.
- Li, Y., Ruperao, P., Batley, J., Edwards, D., Martin, W., Hobson, K., Sutton, T., 2022. Genomic prediction of preliminary yield trials in chickpea: Effect of functional annotation of SNPs and environment. *The Plant Genome* 15, e20166. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20166>
- Libourel, C., Baron, E., Lenglet, J., Amsellem, L., Roby, D., Roux, F., 2019. The genomic architecture of competitive response of *Arabidopsis thaliana* is highly flexible between monospecific and plurispecific neighborhoods. <https://doi.org/10.1101/536953>
- Lienin, P., Kleyer, M., 2012. Plant trait responses to the environment and effects on ecosystem properties. *Basic and Applied Ecology* 13, 301–311. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.05.002>
- Litrico, I., Violle, C., 2015. Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* 20, 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Liu, C., Li, Y., Yan, P., He, N., 2021. How to Improve the Predictions of Plant Functional Traits on Ecosystem Functioning? *Frontiers in Plant Science* 12.
- Loreau, M., 2000. Biodiversity and ecosystem functioning: recent theoretical advances. *Oikos* 91, 3–17. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.910101.x>
- Loreau, M., Hector, A., 2019. Not even wrong: Comment by Loreau and Hector. *Ecology* 100, e02794. <https://doi.org/10.1002/ecy.2794>
- MacArthur, R., Levins, R., 1967. The Limiting Similarity, Convergence, and Divergence of

- Coexisting Species. *The American Naturalist* 101, 377–385.  
<https://doi.org/10.1086/282505>
- Matesanz, S., Milla, R., 2018. Differential plasticity to water and nutrients between crops and their wild progenitors. *Environmental and Experimental Botany* 145, 54–63.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.014>
- McGilchrist, C.A., 1965. Analysis of Competition Experiments. *Biometrics* 21, 975–985.  
<https://doi.org/10.2307/2528258>
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 178–185.  
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>
- Meynard, J.-M., 2010. DÉVELOPPEMENT DURABLE-Réduire les pesticides, c'est possible. *Pour la science* 16.
- Meynard, J.-M., Girardin, P., 1991. Produire autrement. *COURRIER DE LA CELLULE ENVIRONNEMENT INRA* 15, 1–19.
- Miège, É., 1923. Les Variétés d'élite dans les Céréales. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée* 3, 305–321. <https://doi.org/10.3406/jatba.1923.4076>
- Montazeaud, G., Flutre, T., Ballini, E., Morel, J.-B., David, J., Girodolle, J., Rocher, A., Ducasse, A., Violle, C., Fort, F., Fréville, H., 2022. From cultivar mixtures to allelic mixtures: opposite effects of allelic richness between genotypes and genotype richness in wheat. *New Phytologist* 233, 2573–2584.  
<https://doi.org/10.1111/nph.17915>
- Montgomery, E.G., 1912. Competition in Cereals. *Journal of Heredity* os-7, 118–127.  
<https://doi.org/10.1093/jhered/os-7.1.118>
- Mundt, C.C., 2002. Use of Multiline Cultivars and Cultivar Mixtures for Disease Management. *Annual Review of Phytopathology* 40, 381–410.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.011402.113723>
- Muscarella, R., Uriarte, M., 2016. Do community-weighted mean functional traits reflect optimal strategies? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283, 20152434. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2434>
- Naeem, S., Håkansson, K., Lawton, J.H., Crawley, M.J., Thompson, L.J., 1996. Biodiversity and Plant Productivity in a Model Assemblage of Plant Species. *Oikos* 76, 259–264.  
<https://doi.org/10.2307/3546198>
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H., Woodfin, R.M., 1994. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature* 368, 734–737.  
<https://doi.org/10.1038/368734a0>
- Ninkovic, V., 2003. Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. *Journal of Experimental Botany* 54, 1931–1939. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg192>

- Ninkovic, V., Markovic, D., Dahlin, I., 2016. Decoding neighbour volatiles in preparation for future competition and implications for tritrophic interactions. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 23, 11–17.  
<https://doi.org/10.1016/j.ppees.2016.09.005>
- Paz-Vidal, P., Castillo-Rosales, D., López, M.D., Tejos, I.M., Noriega, F., Schoebitz, M., 2023. Root Morphological and Physiological Traits, Rhizosphere Biological Activity, and Mycorrhizal Colonization of 14 Winter Wheat Varieties Released in Chile Between 1965 and 2020. *J Soil Sci Plant Nutr.* <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01409-x>
- Pieri, A., Beleggia, R., Gioia, T., Tong, H., Vittori, V. di, Frascarelli, G., Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Fiorani, F., Pecchioni, N., Marzario, S., Quattro, C.D., Limongi, A.R., Vita, P.D., Rossato, M., Schurr, U., David, J.L., Nikoloski, Z., Papa, R., 2023. Nitrogen availability during domestication shaped the divergence of tetraploid wheat. <https://doi.org/10.1101/2023.08.31.555682>
- Pillai, P., Gouhier, T.C., 2019. Not even wrong: the spurious measurement of biodiversity's effects on ecosystem functioning. *Ecology* 100, e02645.  
<https://doi.org/10.1002/ecy.2645>
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J., Blanchet, S., 2019. The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis. *Biological Reviews* 94, 648–661. <https://doi.org/10.1111/brv.12472>
- Rasmusson, D.C., 1991. A plant breeder's experience with ideotype breeding. *Field Crops Research, Ideotypes and physiology: Tailoring plants for increased production* 26, 191–200. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(91\)90035-T](https://doi.org/10.1016/0378-4290(91)90035-T)
- Reich, P.B., 2014. The world-wide 'fast–slow' plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* 102, 275–301. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12211>
- Reiss, E., Drinkwater, L., 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological applications : a publication of the Ecological Society of America.* <https://doi.org/10.1002/eap.1629>
- Rice, E.L., 1979. Allelopathy—An update. *Bot. Rev* 45, 15–109.  
<https://doi.org/10.1007/BF02869951>
- Ricotta, C., Moretti, M., 2011. CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. *Oecologia* 167, 181–188. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1965-5>
- Rodríguez-Echeverría, S., Armas, C., Pistón, N., Hortal, S., Pugnaire, F.I., 2013. A role for below-ground biota in plant–plant facilitation. *Journal of Ecology* 101, 1420–1428.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12159>
- Roscher, C., Schumacher, J., Schmid, B., Schulze, E.-D., 2015. Contrasting Effects of

- Intraspecific Trait Variation on Trait-Based Niches and Performance of Legumes in Plant Mixtures. *PLOS ONE* 10, e0119786.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119786>
- Salembier, C., Segrestin, B., Berthet, E., Weil, B., Meynard, J.-M., 2018. Genealogy of design reasoning in agronomy: Lessons for supporting the design of agricultural systems. *Agricultural Systems* 164, 277–290.  
<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2018.05.005>
- Sato, Y., Yamamoto, E., Shimizu, K.K., Nagano, A.J., 2021. Neighbor GWAS: incorporating neighbor genotypic identity into genome-wide association studies of field herbivory. *Heredity* 126, 597–614. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-00401-w>
- Singh, A.K., Hamel, C., DePauw, R.M., Knox, R.E., 2012. Genetic variability in arbuscular mycorrhizal fungi compatibility supports the selection of durum wheat genotypes for enhancing soil ecological services and cropping systems in Canada. *Can. J. Microbiol.* 58, 293–302. <https://doi.org/10.1139/w11-140>
- 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.  
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1996.tb07096.x>
- Spengler, R.N., Mueller, N.G., 2019. Grazing animals drove domestication of grain crops. *Nat. Plants* 5, 656–662. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0470-4>
- 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.  
[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0235:MFATSO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0235:MFATSO]2.0.CO;2)
- Sultan, S.E., 2004. Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 6, 227–233. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00082>
- Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M., Siemann, E., 1997a. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. *Science* 277, 1300–1302. <https://doi.org/10.1126/science.277.5330.1300>
- Tilman, D., Lehman, C.L., Thomson, K.T., 1997b. Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 1857–1861. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.5.1857>
- Tkacz, A., Pini, F., Turner, T.R., Bestion, E., Simmonds, J., Howell, P., Greenland, A., Cheema, J., Emms, D.M., Uauy, C., Poole, P.S., 2020. Agricultural Selection of Wheat Has Been Shaped by Plant-Microbe Interactions. *Frontiers in Microbiology* 11.
- Ulcuango, K., Navas, M., Centurión, N., Ibañez, M.Á., Hontoria, C., Mariscal-Sancho, I.,

2021. Interaction of Inherited Microbiota from Cover Crops with Cash Crops. *Agronomy* 11, 2199. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112199>
- van Ruijven, J., Berendse, F., 2005. Diversity–productivity relationships: Initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 695–700. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407524102>
- Van Ruijven, J., Berendse, F., 2003. Positive effects of plant species diversity on productivity in the absence of legumes. *Ecology Letters* 6, 170–175. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00427.x>
- Vincourt, P., Gallais, A., 1983. Sur la recherche de critères de sélection : la régression géno-phénotypique. *Agronomie* 3, 827–830.
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A., Navas, M.-L., 2009. Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia* 160, 747–755. <https://doi.org/10.1007/s00442-009-1333-x>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x>
- Wieczynski, D.J., Boyle, B., Buzzard, V., Duran, S.M., Henderson, A.N., Hulshof, C.M., Kerkhoff, A.J., McCarthy, M.C., Michaletz, S.T., Swenson, N.G., Asner, G.P., Bentley, L.P., Enquist, B.J., Savage, V.M., 2019. Climate shapes and shifts functional biodiversity in forests worldwide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116, 587–592. <https://doi.org/10.1073/pnas.1813723116>
- Wilke, B.J., Snapp, S.S., 2008. Winter cover crops for local ecosystems: linking plant traits and ecosystem function. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 551–557. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3149>
- Wright, A.J., 1982. Some implications of a first-order model of inter-plant competition for the means and variances of complex mixtures. *Theoret. Appl. Genetics* 64, 91–96. <https://doi.org/10.1007/BF00303658>
- Wuest, S.E., Peter, R., Niklaus, P.A., 2021. Ecological and evolutionary approaches to improving crop variety mixtures. *Nat Ecol Evol* 5, 1068–1077. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01497-x>
- Zhu, J., van der Werf, W., 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, 1213–1222. <https://doi.org/10.1111/nph.13416>

# ***Chapitres***

# 1. Comment les interactions entre plantes ont-elles évolué depuis la révolution verte ?

Un des premiers aspects à prendre en compte pour la constitution de mélanges variétaux est la compétition entre variétés. L'impact négatif de la compétition (c'est-à-dire "la tendance des plantes voisines à utiliser le même quantum de lumière, les mêmes ions minéraux (nutriments), la même molécule d'eau, ou le même volume de l'espace" ; (Grime, 1973)) sur la production d'une parcelle est un patron bien connu des agriculteurs et des agronomes. Historiquement, l'un des premiers leviers utilisés pour minimiser la compétition entre plantes a été le développement des semoirs en Italie au XVIème siècle permettant de régulariser la distance entre graines. Au cours du XXème siècle, les phénomènes de compétition entre variétés et individus au sein d'un couvert ont mis en évidence son impact négatif sur la productivité (Donald, 1968). Suite à cela, de nombreux scientifiques ont débattu et proposé des méthodes de sélection pour sélectionner un matériel végétal adapté. Donald, l'un des pionniers en la matière, a proposé une méthode de sélection indirecte. En étudiant les caractères morphologiques, physiologiques et phénologiques des variétés, Donald a proposé le concept d'idéotype : ensemble des caractéristiques qu'une plante devrait avoir pour être performante dans des conditions environnementales données. Pour illustrer ce concept, Donald a décrit le premier idéotype de céréale adapté à un contexte de fertilisation intense et de forte densité. Selon lui, ces variétés devaient avoir des caractéristiques qui limitent les interactions de compétition néfastes aux rendements. En effet, dans des conditions de compétition intense, les plantes investissent davantage de carbone dans les organes végétatifs extracteurs de ressources (feuille et tige pour la lumière, racine pour l'eau et les nutriments) sans captation supplémentaire de ressources, provoquant une diminution de l'investissement de carbone dans les parties reproductives, entraînant ainsi une chute du rendement de la communauté. Donald a alors suggéré le développement de variétés dotées d'une faible aptitude à la compétition (aptitude à capter des ressources) basées sur la mesure de traits non compétitifs. Dans un couvert de mélange variétal, la compétition pour les ressources est également un élément à minimiser. En effet, lorsqu'elle est trop intense, elle peut amener, via l'effet de sélection, à la suppression d'une composante du mélange et donc à tous les effets bénéfiques associés à la diversité. Pour minimiser cette compétition, il est important de savoir si dans les variétés modernes, il existe une grande variabilité génétique de l'aptitude à la compétition et de comprendre si ce caractère a évolué au cours de la sélection moderne. En cas de diversité génétique réduite au sein du pool élite et d'évolution de l'aptitude à la compétition vers des génotypes moins compétitifs, peu d'efforts seraient à

faire sur ce critère durant la phase d'assemblage des mélanges. Au contraire, en cas de forte diversité et d'absence d'évolution, ce trait deviendrait un critère important à sélectionner pour maintenir de la diversité de génotypes tout au long du cycle cultural, voire au fil des cycles quand la production est en partie utilisée pour ressemer, sans exclusion de composante du mélange. Pour étudier l'évolution de l'aptitude à la compétition, nous nous sommes basés sur deux approches : une première approche visant à décrire l'évolution de traits impliqués dans la compétition (approche indirecte) et une seconde décrivant directement l'évolution de la réponse des variétés à la compétition (approche directe).

### **a. Approche indirecte**

La compétition pour la lumière est une compétition non symétrique du point de vue de la taille des organes : la collecte de lumière n'est pas proportionnelle à la taille des organes ; les plantes les plus hautes gagnent davantage de lumière que les plantes les plus basses. Dans de nombreuses études, la hauteur des plantes et la plasticité de la hauteur en réponse à un changement lumineux induit par la présence de plantes voisines (= compétiteurs) ont été documentées comme impliquées dans l'aptitude à la compétition pour la lumière (Kebrom and Brutnell, 2007). En effet, l'absence de lumière chez les plantes peut provoquer deux types de mécanismes distincts : le syndrome de tolérance à l'ombre ou le syndrome d'évitement de l'ombre. Alors que le premier se caractérise par des changements phénotypiques liés à l'adaptation à un milieu faible en ressources lumineuses, le second se caractérise par un changement phénotypique lié à la recherche de source lumineuse : la plante s'étirole en direction de la lumière vers le niveau de la canopée en passant au-dessus des autres plantes. Ce syndrome est très présent chez les espèces des prairies tempérées. Dans cette première analyse, nous étudierons l'évolution de ce syndrome chez le blé suite à la révolution verte et l'introduction des gènes de nanismes Rht qui ont fait le succès des variétés post-révolution verte.



# A genome-wide analysis suggests pleiotropic effects of Green Revolution genes on shade avoidance in wheat

## Abstract

A classic example of phenotypic plasticity in plants is the suite of phenotypic responses induced by a change in the ratio of red to far-red light (R:FR) as a result of shading, also known as the shade avoidance syndrome (SAS). While the adaptive consequences of this syndrome have been extensively discussed in natural ecosystems, how SAS varies within crop populations and how SAS evolved during crop domestication and breeding remain poorly known. In this study, we grew a panel of 180 durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) genotypes spanning diversity from wild, early domesticated, and elite genetic compartments under light quality conditions mimicking shade (low R:FR light) and no shade (high R:FR) in phytotrons. We first quantified the genetic variability of SAS, here measured as a change in plant height at the seedling stage. We then dissected the genetic basis of this variation through genome-wide association mapping. Genotypes grown in shaded conditions were taller than those grown under unshaded conditions. Interaction between light quality and genotype did not affect plant height. We found six QTLs affecting plant height. Three significantly interacted with light quality among which the well-known Rht1 gene introgressed in elite germplasm during the Green Revolution. Interestingly at 3 loci, short genotypes systematically expressed reduced SAS, suggesting a coupling between plant height and plant height plasticity. Overall, our study sheds light on the evolutionary history of crops and illustrates the relevance of genetic approaches to tackle agricultural challenges.

**Keywords:** durum wheat, evolutionary prebreeding population, light quality, phenotypic plasticity, plant height, QTL

## Introduction

Competition for light is one of the main factors shaping plant-plant interactions and plant community structure. In natural ecosystems, such competition has led to the evolution of the shade avoidance syndrome (SAS; Schmitt & Wulff, 1993), whereby plants display morphological and physiological plasticity in response to a decrease in light quantity and changes in light quality induced by neighboring plants (Holmes & Smith, 1975; Smith, 1982). Indeed, as leaf chlorophyll absorbs more red-light (R, 635-700 nm) than far-red light (FR, 700-800 nm), the R:FR ratio decreases in presence of other plants. Plant perception of R:FR is mediated by phytochromes (Ballaré et al., 1990), which triggers a suite of phenotypic changes, including stem elongation, early flowering, reduced branching, reduced biomass, increased height, decreased leaf number, higher specific leaf area, lower chlorophyll a/b ratio, and decreased photoassimilation rates (Carriedo et al., 2016; Franklin, 2008; Holt, 1995; Sawers et al., 2005; Smith et al., 1992; Smith & Whitelam, 1997). Shade avoidance occurs mainly in the canopy of ecosystems where competition for light is the strongest. For instance, SAS has been well documented in many herbaceous species adapted to sunny conditions (e.g., *Arabidopsis thaliana*: Crepy & Casal, 2015; Bongers et al., 2018); *Impatiens capensis*: McGoey & Stinchcombe, 2009, *Datura ferox* and *Sinapis alba*: Ballaré et al., 1990). In forest habitats, SAS has been described among trees (Henry & Aarssen, 2001; Peer et al., 1999), while attenuated in the undergrowth layer (Dudley et Schmitt, 1995). SAS has been shown to be an adaptive plastic response of sun-exposed plants in natural ecosystems in many species (Dudley & Schmitt, 1995).

In agriculture where plants are grown at high density, competition for light can strongly reduce crop productivity (Donald, 1968). Competitive phenotypes are indeed those that are able to outcompete their neighbors by investing more in resource-harvesting organs at the expense of offspring production, leading to a negative correlation between individual competitiveness and seed production of the group, a so-called tragedy of the commons (Hardin, 1968; Anten & Vermeulen, 2016). Such a negative correlation has been well

documented for plant height when plants compete for light, by empirical work of agronomists (Jennings & de Jesus, 1968), theoretical work using evolutionary game theory (Anten & Vermeulen, 2016 for a review) and kin selection theory (Montazeaud et al., 2020) groups of tall plants have a low seed productivity due to strong competitive interactions among plants and high investment in resource harvesting at the expense of seed production. Reducing the negative effects of competition for light on yield at high planting densities has thus become a key challenge for breeders since the Green Revolution (Donald, 1968). In this line, the crop ideotype has been defined as a weak competitor with phenotypic characteristics such a short stems and few erect leaves, limiting community-wide resource depletion (Donald, 1968). In agreement with this idea, the introduction of Reduced Height alleles (Rht) to limit lodging at high nitrogen supply led to a drastic decrease of plant size and an increase in yield in wheat and rice (Hedden, 2003). Increase in plant height is one of the most well-known responses to shading conditions (Holmes & Smith, 1975). Therefore, it has been suggested that SAS mediated height plasticity might be a relevant candidate associated with the tragedy of the commons (Kebrom & Brutnell, 2007a).

In natural communities, it has been shown that plants expressing SAS can suffer from strong fitness costs, especially in low resource ecosystems where there is a high risk of carbon balance deficit, and water or nutrients exhaustion (Ganade & Westoby, 1999; Grime & Mackey, 2002). Therefore, SAS mediated tragedy of the common might only occur in high-input agrosystems, where the cost of plasticity is outweighed by the fitness benefit of escaping light competition. In this context, one could argue that SAS has been counter-selected to improve crop yield (Carriedo et al., 2016; Kebrom & Brutnell, 2007a; Smith et al., 1992; Wille et al., 2017). However, years after the beginning of the Green Revolution in the 1960s and the spread of high-input agro-systems, many cereal crops still display shade avoidance responses (Casal et al., 1996; Kebrom & Brutnell, 2007a; Maddonni et al., 2002; Morgan et al., 2002). Thus a more parsimonious hypothesis could be that some phenotypic responses of the syndrome that trigger yield loss might have been attenuated during the evolutionary history of crops, while others that increase yield might have been selected (Kebrom & Brutnell, 2007a).

For instance, the SAS mediated by branch elongation has been attenuated in maize, where the teosinte allele of the teosinte branched1 (*TB1*) gene introgressed in a modern maize background, induces greater phenotypic plasticity in response to light than the maize allele (Lukens & Doebley, 1999). In contrast, sunflower plants are able to modify stem angles to incline away from neighbors in high-density stands in response to changes in light quality, and this spatial re-organization increases yield (Pereira et al., 2017). Overall, it remains challenging to assess the agronomic consequences of shade-avoidance in crops, and therefore to evaluate the potential interest of breeding on this trait.

Exploring SAS variations and their underlying genetic determinism in cultivated species could be promising to shed light on ecological processes at play during plant domestication and breeding and to target relevant genotypes for agriculture. This is all the more important today as introducing diversity in plant breeding programs is becoming a key challenge for promoting sustainable agriculture (Barot et al., 2017; Litrico & Violle, 2015), and selecting for phenotypes adapted to heterogenous competitive habitats is critical in that context. Genetic variability is a prerequisite for selection to operate on SAS mediated traits. The molecular bases of SAS have been well characterized in model species (Courbier & Pierik, 2019; Fernández-Milmanda & Ballaré, 2021; Kebrom & Brutnell, 2007b; Sessa et al., 2018) (e.g, *Arabidopsis thaliana*, Kebrom & Brutnell, 2007), but its intraspecific genetic variability has not been well documented. In wheat, one study found contrasted tillering responses to low R:FR between genotypes (Casal, 1988). However, the experimental design was not adapted to discuss the results from an evolutionary perspective.

Using 180 inbred lines sampled from a highly diversified evolutionary pre-breeding population founded with wild, primitive, and cultivated wheats (David et al., 2014), we first assess genetic variability of plasticity of plant height, and test for association between SAS and allelic variation at a set of 46 439 markers. We then discuss our results in light of the evolutionary of crops during domestication and breeding.

## **Material and methods**

### Genetic material and genotyping

We used 180 inbred lines from the highly diversified Evolutionary Prebreeding durum wheat pOpulation (EPO) developed since 1997 at INRAE Montpellier, France (David et al., 2014). This genetic material was generated from twelve generations of open pollination and intercrossing between a large number of accessions from wild, primitive and elite subspecies. Allogamy was promoted by maintaining a male sterility recessive nuclear gene to obtain 10% of outcrossing at each generation (David et al., 2014). In 2009, lines were extracted from the 12th EPO generation and underwent two successive generations of selfing by single seed descent. This design led to a weak Linkage Disequilibrium (LD) structure, making this panel ideal for Genome-wide Association Studies (GWAS). The EPO panel was genotyped with the TaBW410K marker high-throughput genotyping array (Rimbert et al., 2018) from which marker and presence/absence variants (Off Target Variants) were extracted. Polymorphic markers were biallelic. Non-polymorphic markers and markers with a minor allele count under 10 were discarded. Missing values were imputed as the observed allele frequencies at each locus. After these steps, 46 439 markers were available for further analysis. These markers were partially mapped on Zavitan and Svevo reference genome (unpublished data).

### Growth conditions and phenotyping

Seeds were sown in 4 cm wide and 6 cm deep micropots, with two seeds per micropot and 60 micropots per plate. Micropot plates were kept in the dark at 8°C for 11 days to trigger germination. Out of the two plants per micropot, we only kept the one showing a coleoptile around 1.5 cm tall to start the experiment with homogeneous plant height. Plates were then transferred in phytotrons during 13 days at 20°C with 12:12 day:night cycles and sufficient watering. Phytotrons were kept closed during the course of the experiment to avoid any change in light quantity and quality. We used two phytotrons, one for each light quality. One treatment mimicked natural unshaded conditions with a high R-FR ratio of 7, while the other

mimicked shaded conditions with a low R:FR ratio of 0.3. In both light quality, light intensity in the Photosynthetically Active Radiation (PAR) range was kept constant at approx.  $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . This allowed us to test only the effect of light quality independently from the effect of light intensity on plant growth. Controlling for light intensity is of high importance for two reasons. First, changes in the R:FR ratio affect plant growth well before neighboring plants start to shade each other (Ballaré et al., 1990). Second, light-intensity related processes involve other molecular pathways than R:FR-related processes (Hersch et al., 2014). Light quality and intensity were controlled by adjusting the intensity of two sets of LED lights, namely white LEDs and Far Red LEDs. Based on preliminary tests, we put the plants 60 cm away from the LEDs. This distance was indeed found to be optimal to ensure homogeneous light quantity and quality over the whole array of micropots.

Each genotype was replicated 4 times in each treatment. Because each phytotron could hold 2 micropot plates (120 plants), we replicated the experiment 6 times with a subset of the 180 genotypes in each replicate. Replicates were split randomly over the 6 batches to avoid confounding effects between batch and genotype. To avoid phytotron-light quality confounding effects, phytotrons used for each light quality were reversed between batches.

We measured the initial height of each plant ( $H_i$ ) as the length of the coleoptile right before transferring plates into phytotrons. At the end of the experiment, plants had 2-3 leaves with no stem. We measured final plant height ( $H_f$ ) by measuring the longest leaf when plants were 24 days old.

### Statistical analysis

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

### **Phenotypic analyses**

We used a multiple linear model with final plant height ( $H_f$ ) as a response variable, and  $H_i$ , batch, genotype, light quality, and interactions between light quality and genotypes as fixed effects. We used the *lm()* and the *anova()* functions to perform these analyses. To characterize the proportion of the variability explained by each response variable, we computed  $\eta^2$  as the

ratio of the sum of squares of the tested effect to the total sum of squares. BLUE (best linear unbiased estimator) of genetic value, *i.e* accounting for both the effects of genotype and genotype by light quality interaction were extracted for each genotype in each light quality condition using final plant height as the response variable, and initial plant height, batch, light quality, genotype and the interaction between genotype and light quality as explanatory variables. Fixed effects were tested using incremental Wald F tests with a 5% significance level. We estimated broad sense heritability ( $H^2$ ) that determines the proportion of phenotypic variation explained by genetic variation as follows:

$$H^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_e^2)$$

with  $\sigma_g^2$  the genetic variance and  $\sigma_e^2$  the environmental variance. Since the genetic variance depends upon the magnitude of the measuring units of the traits, the coefficient of genetic variation was used as a measure of the genetic variability independent of trait units. It was computed as  $cv = \sigma_g / \mu$ , with  $\mu$  the mean of observations.

### **Genomic analyses**

We used a Genome-Wide Association Study (GWAS) to identify the genomic regions associated with plant height plasticity in response to light quality. We could not directly test the marker x light quality interaction effect with a classical genome wide sequential Type I test because of huge inflation in the QQ-plot, a well-known issue in GxE studies (Ueki et al., 2019; Voorman et al., 2011). Thus, we used a 3-step approach. First, we fitted a linear model for each marker where we jointly tested the marker and marker x light quality effects on final plant height. The joint effect of marker and marker x light quality was termed the “genetic effect”. Second, we conducted a clustering analysis to group all significant markers into Quantitative traits loci (QTLs). Third, to disentangle the marker main effects from the marker x light quality effects for each detected QTL, we performed a sequential type I test, and computed the size effect of the marker ( $\beta_{\text{marker}}$ ) and the size effect of the interaction between the marker and light quality ( $\beta_{\text{inter}}$ ).

For the fitting step, we used the following mixed model (Yu et al., 2006) :

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u} + \mathbf{Z}_2\mathbf{u}_e + \boldsymbol{\varepsilon} \text{ with}$$

$$\text{Var}(\mathbf{u}) = \mathbf{K}\sigma_u^2, \text{Var}(\boldsymbol{\varepsilon}) = \mathbf{I}\sigma_e^2, \text{Var}(\mathbf{u}_e) = \mathbf{Z}_1\mathbf{K}\mathbf{Z}_1^t + \mathbf{Z}_2\mathbf{Z}_2^t \sigma_{ue}^2$$

$\mathbf{y}$  is the vector of 360 final plant height ( $H_i$ ) BLUE genetic values,  $\mathbf{u}$  is the random polygenic effect,  $\mathbf{u}_e$  is the random polygenic genotype by light quality interaction effect,  $\mathbf{X}$  represents the incidence matrix for the vector of fixed effects  $\boldsymbol{\beta}$  (intercept, light quality, marker, marker x light quality),  $\mathbf{K}$  represents a matrix of genetic relatedness between individuals (see below),  $\mathbf{I}$  is the identity matrix,  $\mathbf{X}$  the incidence matrix for fixed effects,  $\mathbf{Z}_1$  and  $\mathbf{Z}_2$  the incidence matrices for random effects associated with  $\mathbf{u}$  and  $\mathbf{u}_e$ , respectively.  $\mathbf{Z}_E$  is an incidence matrix for environmental effects used only to compute  $\mathbf{Z}_2$ .  $\sigma_u^2$  and  $\sigma_e^2$  are the polygenic and error variances, respectively.  $^t\mathbf{Z}$  denotes the  $\mathbf{Z}$  transposed matrix.  $\mathbf{K}$  was computed following (VanRaden, 2008) equation :

$$\mathbf{K} = \mathbf{V}\mathbf{V}' / 2 \sum p_i (1-p_i)$$

With  $\mathbf{V}$ , the centered marker matrix and  $p_i$  the allele frequency at marker  $i$ .

Each marker was tested successively with the function *MMEst()* from the package *MM4LMM* based on the method presented in (Hunter & Lange, 2004). The *AnovaTest()* function of this same package was used to evaluate the significance of markers for the test of the genetic effect and the sequential type 1 test. To test for the association between change in plant height and allelic variation at each marker, we used a false discovery rate (FDR) to account for multiple testing (one test per marker) of 5% as recommended in (Benjamini, 2010; Benjamini et al., 2001).

For the clustering step, we followed the method inspired from (Cormier et al., 2014). We used the  $R^2$  estimator from (Hill & Robertson, 1968) to assess linkage disequilibrium between significant markers belonging to the same chromosome. LDs were then square-root-transformed to approximate a normally distributed random variable as in (Brescaglio & Sorrells, 2006). Then markers were clustered by LD blocks. Clustering was realized by average distance using a cutoff of  $1-R^2c$ , with  $R^2c$  defined as the 99<sup>th</sup> percentile of the



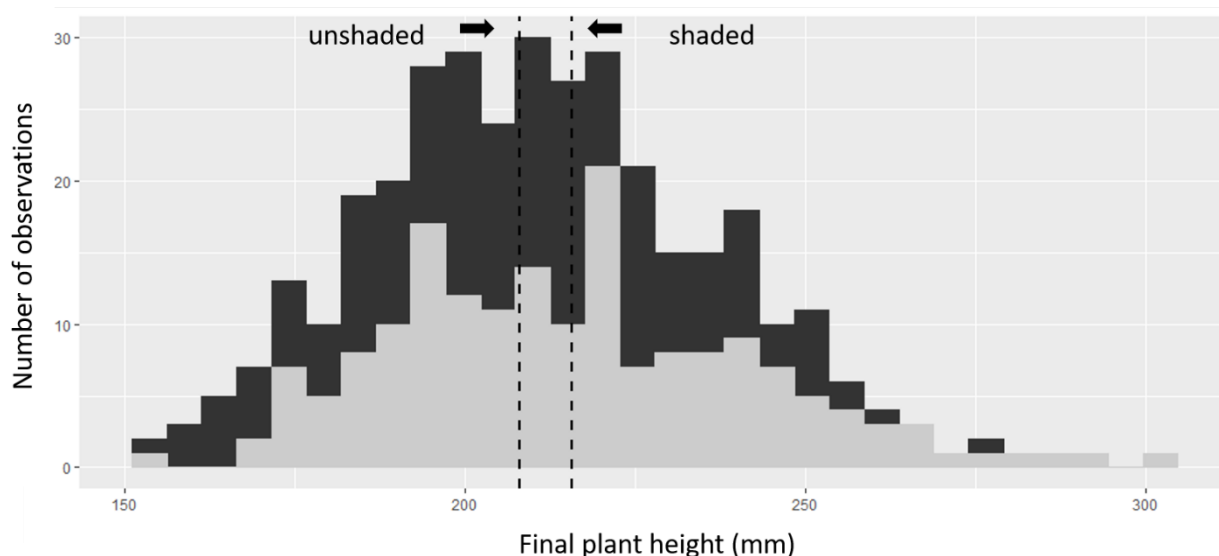
distribution of unlinked  $R^2$  computed between pairs of markers randomly sampled from different chromosomes. This threshold accounts for a risk of 1% to be in LD by chance. Boundaries of QTL were defined as the minimum and maximum map positions of significant markers belonging to the same LD block.

Finally, we analyzed gene functional annotation in the genomic regions where we found QTLs. Genes having a known effect on SAS located within the detected QTL were considered as candidate genes.

## Results

### Light effect at the genotype level

Plants grew significantly taller in the shaded conditions (+3.4%) than in the unshaded conditions (mean of 215 and 208 mm, and standard error of 27 and 24 mm, respectively) (Fig. 1). Broad sense heritabilities for final plant height were moderate in both light quality conditions (36% in the unshaded treatment *versus* 49% in the shaded treatment). Coefficient of genetic variation was about 12% of the means in the unshaded treatment and 13% in the shaded treatment. No significant interaction between light quality and genotype was detected (Table 1). After removing non-significant effects, the model included four main effects: initial plant height ( $\eta^2 = 12\%$ ), batch ( $\eta^2 = 6\%$ ), genotype ( $\eta^2 = 26\%$ ), and light quality ( $\eta^2 = 0.7\%$ ).



**Fig. 1. Histograms of plant height BLUE.** Dotted line represents means of plant height BLUE in unshaded conditions (low R:FR ratio) and shaded conditions (high R:FR ratio), respectively from left to right.

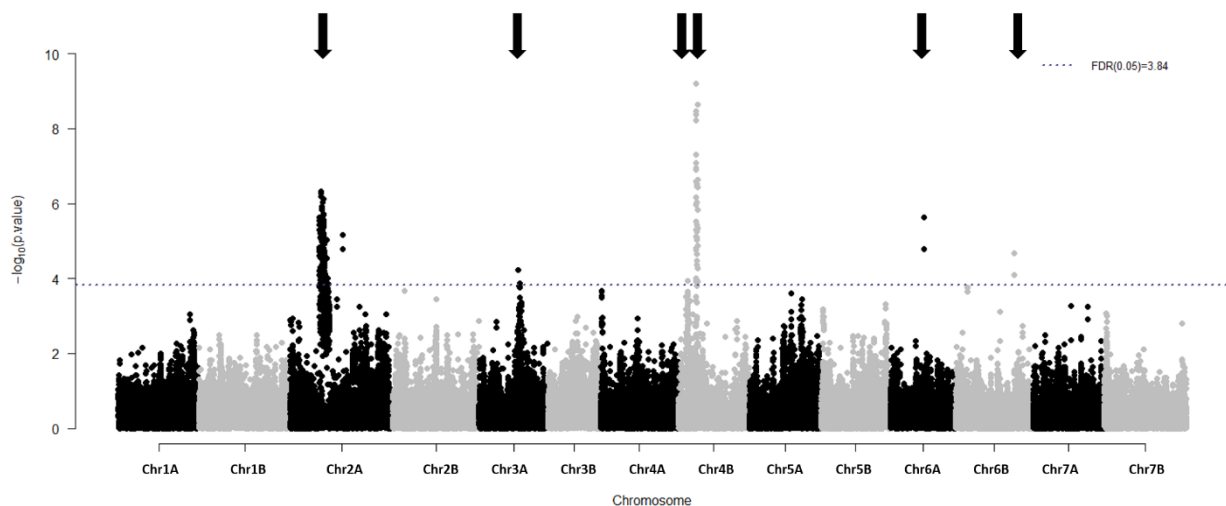
Source of variation	Df	F	p-value	$\eta^2$ (in %)
Initial height	1	236	<0.001	12
Batch	7	15.6	<0.001	6
Genotype	177	2.86	<0.001	26
Light quality	1	12.9	<0.001	0.7
Light quality x Genotype	177	1.00	0.46 (NS)	9
Residuals	1094			56
Best model	186			44

**Table 1. Variation of plant height in response to light quality.** Anova analysis of final plant height. Only the fixed part of the model is reported.  $\eta^2$  represents the proportion of variance explained by each effect. Df: degree of freedom. F: Wald F statistics. NS: non-significant.

### QTL detection

Six significant QTLs (2A, 3A, 4B1, 4B2, 6A, 6B) were detected for final plant height (Fig. 2, Table 2). Results of the tests for assessing the significance of the fixed part of the

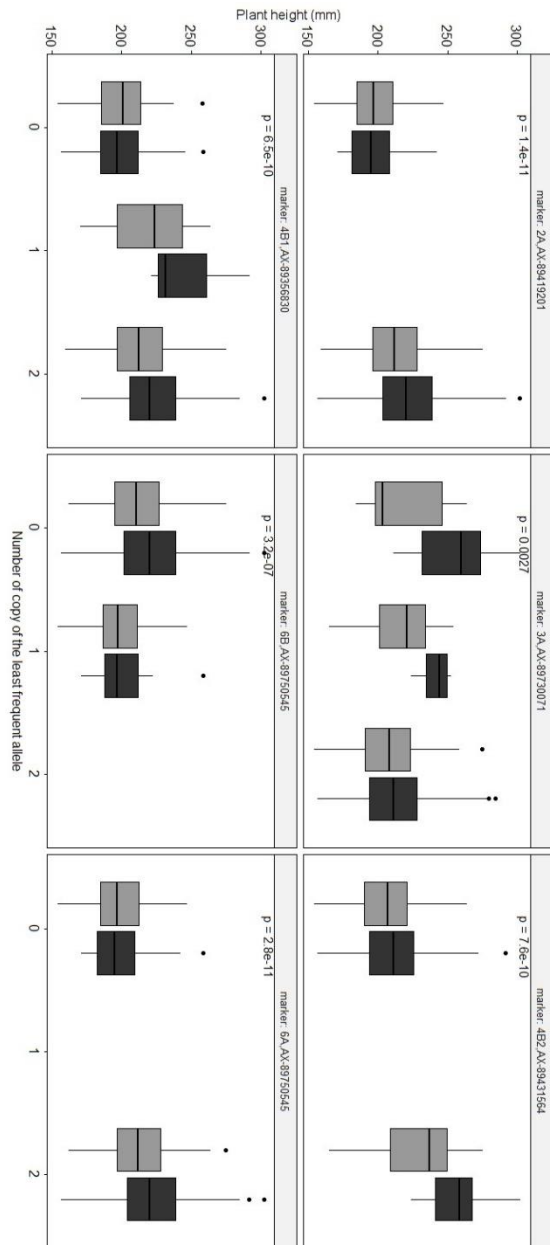
mixed model are reported in Table S1. QTLs with the strongest genetic effect were QTL 2A, QTL 3A, and QTL 4B2 ( $\beta = 25.4$  and  $\beta = 16.1$  and  $\beta = 38.2$ , respectively; Table 2). Those were also the QTLs with the strongest interactive part ( $\beta_{\text{inter}} = 5.2$ ,  $\beta_{\text{inter}} = 11.9$  and  $\beta_{\text{inter}} = 8.5$ , respectively; Table 2). QTL 3A was characterized by a large part of its genetic effect due to the interaction between the marker and light quality ( $\beta_{\text{marker}} = 7.4$ ,  $\beta_{\text{inter}} = 11.9$ ). Thus, a plant carrying one copy of the least frequent allele at QTL 3A was 7.4 mm taller than a plant carrying two copies of the reference allele when grown in unshaded conditions, whereas a plant carrying one copy of the least frequent allele was 19.3 taller ( $= (\beta_{\text{marker}} + \beta_{\text{inter}}) * 1 \text{ copy} = 19.3$ ) than a plant carrying the reference allele when grown in shaded conditions. Size effects of the interaction term were small for QTL 2A and QTL 4B2 compared with their main size effects (Table 2). Candidate genes with known effect on the SAS were detected in each genomic region harboring QTL 2A, QTL 3A and QTL 4B2 (Table 2, Fig S1). QTLs 4B1, 6A, and 6B showed no significant interaction with light quality with the sequential type I test ( $\text{LOD}_{\text{interaction effect}} < 1.3$ , Table 2). For each of the 6 QTLs, the allele responsible for reduced height also reduced the magnitude of the plant height response to light treatment (Fig. 3).



**Fig. 2. Manhattan plot for plant height.** QTLs are indicated with an arrow. QTLs with a significant interactive effect when testing with a sequential type 1 test are represented with a darker arrow.

QTL	Genetic effect		Main effect		Interaction effect	
	LOD score	Size effect	LOD score	Size effect	LOD score	Size effect
2A	6.3 (*)	25.4	5.2 (*)	20.2	1.6 (*)	5.2
3A	4.2 (*)	16.1	2.2	7.4	3.2 (*)	11.9
4B1	3.9 (*)	14.8	3	11.1	1.3	3.7
4B2	9.2 (*)	38.2	7.3 (*)	29.8	2.5 (*)	8.5
6A	4.7 (*)	16.2	4 (*)	15.5	1	2.7
6B	5.6 (*)	22.3	4.8 (*)	18.6	1.3	3.8

**Table 2. LOD scores and size effects of the six detected QTLs.** The genetic effect representing the joint effect of marker and marker x light quality was estimated from the GWAS, and tested using a false discovery rate (FDR) of 5% (see main text). For each marker, main effect and interaction effect were assessed with a sequential type I test using a threshold of 5%. LOD scores represent log transformed  $p$ -values. \* represents significant  $p$ -values.



**Fig. 3 Boxplot of the size effects for each detected QTL.** 0, 1 and 2 represent the number of copy of the least frequent allele (note that for QTLs 3A and 6A, few heterozygous genotypes were detected in our panel). P-value indicate the significance of the test from the GWAS accounting for the genetic effect (including marker and marker x light quality effects). Light grey refers to unshaded conditions, whereas dark grey refers to shaded conditions.

## Discussion

Study of genetic variability is of high importance to understand evolution of a trait within a species. The genetic variability of SAS has received little attention in crop species. Here we found no genetic variability at the genotype level. Yet at the allelic level, a lower level of integration, we detected three main QTLs associated with SAS, highlighting that genetic variability does exist in our panel.

Plants grew significantly taller in the shaded treatment than in the unshaded one. This result is consistent with the many studies reporting morphological responses of SAS in plants (Franklin & Whitelam, 2005). In our experiment, light quality explained 1% of the total phenotypic variance observed for plant height. Such a limited response to variation in light quality does not preclude a stronger SAS syndrome in the field for two main reasons. First, the shaded treatment we simulated in our experiment mimicked a change in light quality mediated by the presence of a neighbour. Therefore, we only studied the variability of SAS depending on the well-documented auxin dependent pathway, leaving aside the molecular mechanisms triggered by a change in light intensity and the amount of blue radiations (Carriedo et al., 2016; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Ma & Li, 2019). Second, as classically done in SAS studies (Casal, 1988), the experiment was conducted at an early stage of the plant life cycle to ensure optimal resources in controlled conditions (Casal, 1988). This might also explain the lack of interaction between light quality and genotypic identity (Pierik & de Wit, 2014).

At the allelic level, statistical power was higher as each allele was observed in several genotypes. We detected six QTLs whose allelic variation was associated with plant height variation in response to light quality. Three of them, QTLs 2A, 3A and 4B2, showed contrasting effects depending on light quality. Polymorphism has been identified for most of these six genomic regions (and in particular for QTL 3A and QTL 4B2) in other modern durum wheat populations (Canè et al., 2014). Interestingly, for all three QTLs showing a significant

interactive effect, the allele associated with reduced height was also the one associated with the highest phenotypic plasticity in response to light quality. QTL 4B2 is located in a region where there is a major Reduced Height (Rht) gene, a well-known dwarfing gene in wheat that has already been shown to have an impact on SAS (Djakovic-Petrovic et al., 2007). The Rht1 allele in wheat is a mutation in the coding sequence of a DELLA protein involved in the gibberellins (GA) signaling pathways (Peng et al., 1997). In barley and rice, mutated DELLA proteins produced by an Rht1 orthologous gene having similar dwarfing properties, cannot be degraded by GA (Thomas & Sun, 2004), and are associated with reduced plant growth. Part of the molecular pathway of SAS triggered by variations in the R:FR ratio is GA dependent and involves DELLA proteins. In *Arabidopsis thaliana*, phytochrome B changes conformation under shaded conditions. This stimulates the synthesis of GA that degrades DELLA proteins. This stimulation avoids the inhibition of phytochrome-interacting factors (PIF) proteins resulting in increased stem elongation. Genotypes bearing Rht1 alleles in wheat have DELLA proteins insensitive to GA induced degradation, making them insensitive to variations in light conditions (Huber et al., 2021; see figure 2 for detailed mechanisms). Therefore, genotypes bearing Rht1 allele cannot express shade induced growth molecular pathway. QTL 3A was the most sensitive to variation in light quality in our study. Functional annotations identified 202 genes, out of which the DET2 gene was shown to respond to light conditions (Vandenbussche et al., 2005). This gene, involved in the second step of the biosynthesis of brassinosteroids is necessary for the production of BZR1, a transcriptional factor integrated in the light signaling pathway (Oh et al., 2012). This transcriptional factor is repressed under unshaded conditions, thus limiting plant growth. Non-functional DET2 gene reduces the production of BZR1 leading to dwarf genotypes insensitive to light variation (see (Fridman & Savaldi-Goldstein, 2013 for a review), which express molecular pathways similar between shaded and unshaded conditions. Interestingly, the locus BZR1 was located in the QTL 2A. Such genetic coupling between the trait and its plasticity in response to light conditions has also been documented for the Tb1 gene involved in the tillering ability of maize, one of the main traits involved in SAS in this species (Lukens & Doebley, 1999). Transcription of this gene is

induced by shaded conditions and increases apical dominance, thus reducing tillering ability. In modern germplasm, mutation in the regulatory sequence of this gene induces constant overexpression of the gene, leading to strong apical dominance and thus a single culm phenotype in both shaded and unshaded conditions. Similarly, to light mediated plant height plasticity induced by DELLA proteins, single culm phenotypes in maize are insensitive to light (Pfennig, 2021). A coupling between the trait value and trait plasticity in response to light conditions also occurs in ecosystems and might be adaptive. For instance, the herbaceous species *Impatiens capensis*, does express SAS in herbaceous communities, where it is among the tallest species that might benefit from SAS to outcompete its neighbors. In contrast, this species does not show any SAS when growing in woodlands, where it is among the smallest species in the community (Schmitt et al., 2003). Interestingly SAS has also been documented in trees that represents the upper layer of forest ecosystems (Henry & Aarssen, 2001). This suggests that SAS mediated height plasticity only occurs in the tallest species of the community in natural ecosystems. In agrosystems, before the Green Revolution in France, many wheat farmers were still growing heterogeneous landrace populations harboring large genetic variability (Bonnin et al., 2014). As described in natural ecosystems, alleles inducing high plasticity in height in response to light conditions might be associated with tall alleles as plastic alleles might increase fitness and competitive ability of tall genotypes only. Such pattern can be observed whenever a trait and its plasticity are determined by a set of genes that have pleiotropic effects, or by different genes in linkage disequilibrium.

Since the Green Revolution, numerous dwarfing genes have been introgressed in the modern germplasm (Hedden, 2003). Initially introduced to reduce lodging in high-nitrogen conditions, dwarfing alleles induce both higher harvest index and lower plant competition between plants (Donald, 1968). These alleles have become more frequent in the modern germplasm. For instance, the vast majority of durum wheat elite varieties produce the mutated Della protein at the Rht locus located on the 4B chromosome (Clarke et al., 2012). Directional selection for shorter plants might have thus reduced the SAS mediated by plant height



plasticity in modern germplasm, making modern cultivars selected for growing at high density less sensitive to neighbors.(Van De Velde et al., 2017)

Faced with the need to develop more sustainable agriculture with reduced chemical inputs, we might expect plant breeding to consider SAS as a trait to integrate in breeding schemes. During the Green Revolution, drawbacks of short genotypes (reduced competitive ability towards weeds, inability to escape from soil-borne diseases, etc) were compensated by the use of chemicals and the generalization of inbred lines. This has cleared the way for the massive introgression of the *Rht1* dwarf allele. In a context of reduced pesticide use, weed control by other means than herbicides will become important to implement. Genotypes growing taller in the early stage of the cycle might thus be of interest to limit weed development (Weinig, 2000). However, at later stages, shade-avoidance is also known for preventing tiller formation, changing leaf position to more vertical orientation and reducing leaf to stem biomass ratio (Kebrom & Brutnell, 2007a). This promotes a more open-canopy allowing higher light penetration inside the canopy (Pantazopoulou et al., 2021 for *Arabidopsis thaliana*), and thus greater weed development in agrosystems. SAS might thus become a breeding target especially at early stage, where crops' main competitors are weeds. In this context, it could be relevant to decouple SAS and plant height to breed for dwarf plants (with high harvest index) with strong SAS at early stages. Our results show that genetic polymorphism does exist at QTLs that mainly affect SAS at early stages rather than plant height. This is the case of QTL 3A. More generally, with increasing regulation of pesticide use and increasing environmental variability arising from global change, our results highlight the need to re-assess the relevance of some Green Revolution genes to tackle agricultural challenges.

## **Data Availability**

The data that support the findings of this study will be openly available provided that the paper is accepted for publication.

## Literature cited

- Anten, N. P. R., & Vermeulen, P. J. (2016). Tragedies and Crops : Understanding Natural Selection To Improve Cropping Systems. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(6), 429-439. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.010>
- 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(4940), 329-332. <https://doi.org/10.1126/science.247.4940.329>
- Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.-C., Le Roux, X., Niboyet, A., & Porcher, E. (2017). Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(2), 13. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x>
- Benjamini, Y. (2010). Discovering the false discovery rate. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, 72(4), 405-416. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9868.2010.00746.x>
- Benjamini, Y., Drai, D., Elmer, G., Kafkafi, N., & Golani, I. (2001). Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behavioural Brain Research*, 125(1), 279-284. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00297-2](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00297-2)
- Blanco-Touriñán, N., Serrano-Mislata, A., & Alabadí, D. (2020). Regulation of DELLA Proteins by Post-translational Modifications. *Plant and Cell Physiology*, 61(11), 1891-1901. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa113>
- Bongers, F. J., Pierik, R., Anten, N. P. R., & Evers, J. B. (2018). Subtle variation in shade avoidance responses may have profound consequences for plant competitiveness. *Annals of Botany*, 121(5), 863-873. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx151>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.06.003>
- Breseghele, F., & Sorrells, M. E. (2006). Association Mapping of Kernel Size and Milling Quality in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *Genetics*, 172(2), 1165-1177. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.044586>
- Canè, M. A., Maccaferri, M., Nazemi, G., Salvi, S., Francia, R., Colalongo, C., & Tuberosa, R. (2014). Association mapping for root architectural traits in durum wheat seedlings as related to agronomic performance. *Molecular Breeding*, 34(4), 1629-1645. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0177-1>
- Carriedo, L. G., Maloof, J. N., & Brady, S. M. (2016). Molecular control of crop shade avoidance. *Current Opinion in Plant Biology*, 30, 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.03.005>
- Casal, J. J. (1988). Light quality effects on the appearance of tillers of different order in wheat (*Triticum aestivum*). *Annals of Applied Biology*, 112(1), 167-173. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1988.tb02052.x>
- Casal, J. J., Clough, R. C., & Vierstra, R. D. (1996). High-irradiance responses induced by far-red light in grass seedlings of the wild type or overexpressing phytochrome A. *Planta*, 200(1), 132-137. <https://doi.org/10.1007/BF00196660>
- Clarke, J. M., De Ambrogio, E., Hare, R. A., & Roumet, P. (2012). Genetics and breeding of durum wheat. In *Durum Wheat: Chemistry and Technology* (p. np). AACC International Press. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01269018>
- Cormier, F., Le Gouis, J., Dubreuil, P., Lafarge, S., & Praud, S. (2014). A genome-wide identification of chromosomal regions determining nitrogen use efficiency components in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 127(12), 2679-2693. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2407-7>
- Courbier, S., & Pierik, R. (2019). Canopy Light Quality Modulates Stress Responses in Plants. *iScience*, 22, 441-452. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.11.035>

- Crepy, M. A., & Casal, J. J. (2015). Photoreceptor-mediated kin recognition in plants. *New Phytologist*, 205(1), 329-338. <https://doi.org/10.1111/nph.13040>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., & Tavaud-Pirra, M. (2014). Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Molecular Breeding*, 34(4), 1531-1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Djakovic-Petrovic, T., Wit, M. de, Voesenek, L. A. C. J., & Pierik, R. (2007). DELLA protein function in growth responses to canopy signals. *The Plant Journal*, 51(1), 117-126. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03122.x>
- Donald, C. M. (1968). The breeding of crop ideotypes. *Euphytica*, 17(3), 385-403. <https://doi.org/10.1007/BF00056241>
- Dudley, S. A., & Schmitt, J. (1995). Genetic Differentiation in Morphological Responses to Simulated Foliage Shade between Populations of *Impatiens capensis* from Open and Woodland Sites. *Functional Ecology*, 9(4), 655-666. <https://doi.org/10.2307/2390158>
- Fernández-Milmanda, G. L., & Ballaré, C. L. (2021). Shade Avoidance : Expanding the Color and Hormone Palette. *Trends in Plant Science*, 26(5), 509-523. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.12.006>
- Fiorucci, A.-S., & Fankhauser, C. (2017). Plant Strategies for Enhancing Access to Sunlight. *Current Biology*, 27(17), R931-R940. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.085>
- Franklin, K. A. (2008). Shade avoidance. *New Phytologist*, 179(4), 930-944. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x>
- Franklin, K. A., & Whitelam, G. C. (2005). Phytochromes and Shade-avoidance Responses in Plants. *Annals of Botany*, 96(2), 169-175. <https://doi.org/10.1093/aob/mci165>
- Fridman, Y., & Savaldi-Goldstein, S. (2013). Brassinosteroids in growth control : How, when and where. *Plant Science*, 209, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.04.002>
- Ganade, G., & Westoby, M. (1999). Seed Mass and the Evolution of Early-Seedling Etiolation. *The American Naturalist*, 154(4), 469-480. <https://doi.org/10.1086/303245>
- Grime, J. P., & Mackey, J. M. L. (2002). The role of plasticity in resource capture by plants. *Evolutionary Ecology*, 16(3), 299-307. <https://doi.org/10.1023/A:1019640813676>
- Hedden, P. (2003). The genes of the Green Revolution. *Trends in Genetics*, 19(1), 5-9. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)00009-4)
- Henry, H. A. L., & Aarssen, L. W. (2001). Inter- and intraspecific relationships between shade tolerance and shade avoidance in temperate trees. *Oikos*, 93(3), 477-487. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.930313.x>
- Hersch, M., Lorrain, S., Wit, M. de, Trevisan, M., Ljung, K., Bergmann, S., & Fankhauser, C. (2014). Light intensity modulates the regulatory network of the shade avoidance response in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6515-6520. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320355111>
- Hill, W. G., & Robertson, A. (1968). Linkage disequilibrium in finite populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 38(6), 226-231. <https://doi.org/10.1007/BF01245622>
- Holmes, M. G., & Smith, H. (1975). The function of phytochrome in plants growing in the natural environment. *Nature*, 254(5500), 512-514. <https://doi.org/10.1038/254512a0>
- Holt, J. S. (1995). Plant Responses to Light : A Potential Tool for Weed Management. *Weed Science*, 43(3), 474-482. <https://doi.org/10.1017/S0043174500081509>
- Huber, M., Nieuwendijk, N. M., Pantazopoulou, C. K., & Pierik, R. (2021). Light signalling shapes plant–plant interactions in dense canopies. *Plant, Cell & Environment*, 44(4), 1014-1029. <https://doi.org/10.1111/pce.13912>
- Hunter, D. R., & Lange, K. (2004). A Tutorial on MM Algorithms. *The American Statistician*, 58(1), 30-37. <https://doi.org/10.1198/0003130042836>
- Jennings, P. R., & de Jesus, J. (1968). Studies on Competition in Rice I. Competition in Mixtures of Varieties. *Evolution*, 22(1), 119-124. <https://doi.org/10.2307/2406656>
- Kebrom, T. H., & Brutnell, T. P. (2007a). The molecular analysis of the shade avoidance syndrome in the grasses has begun. *Journal of Experimental Botany*, 58(12), 3079-3089. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm205>

- Kebrom, T. H., & Brutnell, T. P. (2007b). The molecular analysis of the shade avoidance syndrome in the grasses has begun. *Journal of Experimental Botany*, *58*(12), 3079-3089. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm205>
- Litrico, I., & Violle, C. (2015). Diversity in Plant Breeding : A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science*, *20*(10), 604-613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Lukens, L. N., & Doebley, J. (1999). Epistatic and environmental interactions for quantitative trait loci involved in maize evolution. *Genetics Research*, *74*(3), 291-302. <https://doi.org/10.1017/S0016672399004073>
- Ma, L., & Li, G. (2019). Auxin-Dependent Cell Elongation During the Shade Avoidance Response. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 914. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00914>
- Maddonni, G. A., Otegui, M. E., Andrieu, B., Chelle, M., & Casal, J. J. (2002). Maize Leaves Turn Away from Neighbors. *Plant Physiology*, *130*(3), 1181-1189. <https://doi.org/10.1104/pp.009738>
- McGoey, B. V., & Stinchcombe, J. R. (2009). Interspecific competition alters natural selection on shade avoidance phenotypes in *Impatiens capensis*. *New Phytologist*, *183*(3), 880-891. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02934.x>
- Montazeaud, G., Rousset, F., Fort, F., Violle, C., Fréville, H., & Gandon, S. (2020). Farming plant cooperation in crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *287*(1919), 20191290. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1290>
- Morgan, P. W., Finlayson, S. A., Childs, K. L., Mullet, J. E., & Rooney, W. L. (2002). Opportunities to Improve Adaptability and Yield in Grasses. *Crop Science*, *42*(6), 1791-1799. <https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1791>
- Oh, E., Zhu, J.-Y., & Wang, Z.-Y. (2012). Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nature Cell Biology*, *14*(8), 802-809. <https://doi.org/10.1038/ncb2545>
- Pantazopoulou, C. K., Bongers, F. J., & Pierik, R. (2021). Reducing shade avoidance can improve *Arabidopsis* canopy performance against competitors. *Plant, Cell & Environment*, *44*(4), 1130-1141. <https://doi.org/10.1111/pce.13905>
- Peer, W. A., Briggs, W. R., & Langenheim, J. H. (1999). Shade-avoidance responses in two common coastal redwood forest species, *Sequoia sempervirens* (Taxodiaceae) and *Satureja douglasii* (Lamiaceae), occurring in various light quality environments. *American Journal of Botany*, *86*(5), 640-645. <https://doi.org/10.2307/2656572>
- Peng, J., Carol, P., Richards, D. E., King, K. E., Cowling, R. J., Murphy, G. P., & Harberd, N. P. (1997). The *Arabidopsis* GAI gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes & Development*, *11*(23), 3194-3205. <https://doi.org/10.1101/gad.11.23.3194>
- Pereira, M. L., Sadras, V. O., Batista, W., Casal, J. J., & Hall, A. J. (2017). Light-mediated self-organization of sunflower stands increases oil yield in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(30), 7975-7980. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618990114>
- Pfennig, D. W. (Ed.). (2021). *Phenotypic Plasticity & Evolution: Causes, Consequences, Controversies*. Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1201/9780429343001>
- Pierik, R., & de Wit, M. (2014). Shade avoidance: Phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *Journal of Experimental Botany*, *65*(11), 2815-2824. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert389>
- Rimbert, H., Darrier, B., Navarro, J., Kitt, J., Choulet, F., Leveugle, M., Duarte, J., Rivière, N., Eversole, K., Consortium, on behalf of T. I. W. G. S., Gouis, J. L., Consortium, on behalf T. B., Davassi, A., Balfourier, F., Paslier, M.-C. L., Berard, A., Brunel, D., Feuillet, C., Poncet, C., ... Paux, E. (2018). High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. *PLOS ONE*, *13*(1), e0186329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186329>

- Sawers, R. J. H., Sheehan, M. J., & Brutnell, T. P. (2005). Cereal phytochromes : Targets of selection, targets for manipulation? *Trends in Plant Science*, 10(3), 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.01.004>
- Schmitt, J., Stinchcombe, J. R., Heschel, M. S., & Huber, H. (2003). The Adaptive Evolution of Plasticity : Phytochrome-Mediated Shade Avoidance Responses1. *Integrative and Comparative Biology*, 43(3), 459-469. <https://doi.org/10.1093/icb/43.3.459>
- Schmitt, J., & Wulff, R. D. (1993). Light spectral quality, phytochrome and plant competition. *Trends in Ecology & Evolution*, 8(2), 47-51. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90157-K](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90157-K)
- Sessa, G., Carabelli, M., Possenti, M., Morelli, G., & Ruberti, I. (2018). Multiple Pathways in the Control of the Shade Avoidance Response. *Plants*, 7(4), 102. <https://doi.org/10.3390/plants7040102>
- Smith, H. (1982). Light Quality, Photoperception, and Plant Strategy. *Annual Review of Plant Physiology*, 33(1), 481-518. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.33.060182.002405>
- Smith, H., Turnbull, M., & Kendrick, R. E. (1992). Light-Grown Plants of the Cucumber Long Hypocotyl Mutant Exhibit Both Long-Term and Rapid Elongation Growth Responses to Irradiation with Supplementary Far-Red Light. *Photochemistry and Photobiology*, 56(5), 607-610. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1992.tb02209.x>
- Smith, H., & Whitelam, G. C. (1997). The shade avoidance syndrome : Multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant, Cell & Environment*, 20(6), 840-844. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1997.d01-104.x>
- Thomas, S. G., & Sun, T. (2004). Update on Gibberellin Signaling. A Tale of the Tall and the Short. *Plant Physiology*, 135(2), 668-676. <https://doi.org/10.1104/pp.104.040279>
- Ueki, M., Fujii, M., Tamiya, G., & Consortium, for A. D. N. I. and the A. D. M. (2019). Quick assessment for systematic test statistic inflation/deflation due to null model misspecifications in genome-wide environment interaction studies. *PLOS ONE*, 14(7), e0219825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219825>
- Van De Velde, K., Ruelens, P., Geuten, K., Rohde, A., & Van Der Straeten, D. (2017). Exploiting DELLA Signaling in Cereals. *Trends in Plant Science*, 22(10), 880-893. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.07.010>
- Vandenbussche, F., Pierik, R., Millenaar, F. F., Voesenek, L. A., & Van Der Straeten, D. (2005). Reaching out of the shade. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(5), 462-468. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.07.007>
- VanRaden, P. M. (2008). Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4414-4423. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0980>
- Voorman, A., Lumley, T., McKnight, B., & Rice, K. (2011). Behavior of QQ-Plots and Genomic Control in Studies of Gene-Environment Interaction. *PLOS ONE*, 6(5), e19416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019416>
- Weinig, C. (2000). Differing Selection in Alternative Competitive Environments : Shade-Avoidance Responses and Germination Timing. *Evolution*, 54(1), 124-136. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb00013.x>
- Wille, W., Pipper, C. B., Rosenqvist, E., Andersen, S. B., & Weiner, J. (2017). Reducing shade avoidance responses in a cereal crop. *AoB PLANTS*, 9(5). <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx039>
- Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W. H., Vroh Bi, I., Yamasaki, M., Doebley, J. F., McMullen, M. D., Gaut, B. S., Nielsen, D. M., Holland, J. B., Kresovich, S., & Buckler, E. S. (2006). A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nature Genetics*, 38(2), 203-208. <https://doi.org/10.1038/ng1702>

## Supplementary materials

Marker	QTL	Position	Number of annotated genes in NCBI	Candidate genes
AX-89419201	2A	138010706	1268	CKII BES1/BZR1
AX-89730071	3A	603980840	202	DET2
AX-89431564	4B2	29280812	68	Rht1 / DELLA protein

---

**Table S1. Functional annotation of the 3 detected QTLs having a significant marker X light quality effect.** Position along the chromosome is expressed in number of base pairs. Candidate genes correspond to genes located within the detected QTL and whose impact on the SAS have been reported in the literature.

## **b. Approche directe**

Une autre façon de mesurer l'aptitude à la compétition est de caractériser les phénotypes et la valeur sélective de plantes mises en compétition en utilisant des mesures du rendement et des composantes du rendement (i.e. rendement, nombre de grains, masse des grains, nombre d'épis, nombre de grains par épis). L'avantage de cette approche est qu'elle ne nécessite aucun à priori sur la nature de la compétition, des ressources ou des organes en jeu dans cette compétition. Dans cette deuxième partie de chapitre, on se propose de caractériser l'aptitude à la compétition d'une collection très diverse de génotypes (« lignées EPO »). La caractérisation phénotypique de cette population sert ensuite à calibrer un modèle de sélection génomique pour prédire l'aptitude à la compétition d'une collection historique de variétés sorties entre 1970 (date de rapatriement des programmes de sélection blé dur en France suite à la guerre d'Algérie) et 2010. Ces prédictions ont ensuite permis de tester si l'aptitude à la compétition avait évolué au cours de cette période.



# Social interactions have shaped durum wheat evolution since the Green Revolution

Colombo M<sup>\*12</sup> et al. In preparation.

<sup>1</sup>AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

<sup>2</sup>CEFE, Univ. Montpellier, Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

\*Corresponding author: [michelop.colombo@gmail.com](mailto:michelop.colombo@gmail.com)

## Abstract

### Contexte

L'agro-écologie appelle à une augmentation de la biodiversité cultivée. L'usage de mélanges variétaux peut être une solution pour augmenter cette biodiversité. Les interactions sociales entre variétés sont un élément clef de la performance des mélanges en particulier les interactions de compétitions.

### Objectifs

Dans cette article, on cherche à savoir si la sélection variétale a eu un impact sur les interactions sociales entre plantes chez le blé dur.

### Methodes

Nous avons caractérisé l'aptitude à la compétition d'une collection très diverse de génotypes (« lignées EPO ») à deux densités à l'aide d'une expérimentation aux champs. La caractérisation phénotypique de cette population sert ensuite à calibrer un modèle de sélection génomique pour prédire l'aptitude à la compétition d'une collection historique de variétés sorties entre 1970 (date de rapatriement des programmes de sélection blé dur en France suite à la guerre d'Algérie) et 2010. Ces prédictions ont ensuite permis de tester si l'aptitude à la compétition avait évolué au cours de cette période.

### Resultats & conclusion

Nous avons observé une réduction de l'aptitude à la sélection chez les variétés modernes par rapport aux variétés anciennes. Cette observation est particulièrement visible à forte densité. Cette réduction n'a pas entraîné une augmentation de la performance des mélanges variétaux dans nos conditions expérimentales.

## Introduction

Social interactions among organisms are common in natural ecosystems. They arise from the interplay between the phenotypes of individuals and their interacting social partners. Such interactions are important in agriculture, where crop yield represents a collective performance resulting from the combined contribution of interacting individuals within a field. One of the most studied mechanisms arising from social interactions is competition. Competition can be defined as : “The tendency of neighboring plants to use the same quantum of light, the same mineral ion nutrient, the same water molecule, or the same volume of space” (Grime, 1973). Many studies have shown experimentally a negative correlation between yield in monogenotypic stands and competitive ability in many species including cereals, pulses and oilseed crops especially in high yielding conditions (Cossani and Sadras, 2021; Hamblin and Donald, 1974; López Pereira et al., 2017; Montazeaud et al., 2022; Sakai and Suzuki, 1955; Suneson and Wiebe, 1942). This negative correlation led scientists to conceptualize the communal ideotype in agriculture (Donald, 1968). Donald's communal ideotype reaches high yield at high planting density and reduced yield at low planting density. Indeed, plants exhibiting high yield at low planting density often allocate resources toward the development of resource-acquiring organs, thereby maximizing resource uptake in the neighborhood. However, the establishment and maintenance of such resource-acquiring organs require a substantial amount of carbons fixed by the plant. This investment increases yield under low planting densities, as this results in higher resource assimilation and higher fitness whereas under high planting density, the proliferation of such resource-acquiring organs produce strong overlap of resource-exploiting surfaces amongst neighboring plants, and thus extra investment in resource-acquiring organs does not result in extra resource assimilation at the plot level. This causes non-optimal resource partition between grain and resource uptaking organs for grain yield and thus reduced crop yield. This phenomenon is termed "growth redundancy" (Donald, 1968). Donald's communal ideotype was further conceptualized by Denison at the beginning of the XXI<sup>th</sup> century (Denison et al., 2003). Denison's idea is that plant breeding is unlikely to greatly improve traits already optimized by natural selection (e.g: traits related to photosynthesis). Yet, opportunities may exist for the selection of traits that increase crop yield at the expense of individual plant fitness.

Candidate traits for such an approach might include traits related to density response such as tillering habits or root hair density (Denison et al., 2003). These traits characterize the “weak competitor” ideotype” (Donald, 1968). Since the Green Revolution, genetic progress has been substantial in many species including wheat (Brisson et al., 2010). According to Donald (1963) and Denison's theory, one may expect the genetic progress realized in the

second half of the XXI<sup>th</sup> century to be partly related to the breeding of weak competitor ideotypes. Yet this hypothesis is still poorly documented.

One reason for this lack of documentation is the difficulty to measure social interaction. One type of social interaction that has been extensively studied is competition (Weigelt and Jolliffe, 2003). Several indices can be used to characterize the results of competition (Weigelt and Jolliffe, 2003) but many of them are based on a reference (in terms of density or cultural conditions) and are thus dependent on the reference used. For example, the relative intensity of competition is a measure of the relative difference in performance per plant between pure stands and mixed conditions (Weigelt and Jolliffe, 2003). In quantitative genetics one way to test for social interactions is to measure traits and compute direct genetic effects (DGE), which represent the effect of a genotype on its own phenotype, and indirect genetic effects (IGE), which represent the effect of a genotype on neighboring phenotypes. Social interactions are characterized by the presence of IGE. In agronomy, DGE effects are known as producer effects (Pr) and IGE effects are known as associate effects (As) (Haug et al., 2021). Previous empirical experiments have suggested that among social interactions competitive interactions may be a source of IGEs (Griffing 1989; Muir 1996, 2005; Wolf 2003; Cahill et al. 2005). DGE and IGE can be measured by growing binary mixtures of genotypes, where genotypes within a mixture are grown in alternate rows, as for instance in Montazeaud et al. (2020). In case of intense competition DGE and IGE are negatively correlated (Bijma, 2014). Highly competitive genotypes tend to better exploit resources than their neighbors. Thus they tend to have high DGE and low IGE. Thus, indicators to measure competitive ability could be built from DGE and IGE measurement. In recent years, IGEs have been used in many animal and plant breeding studies (Alemu et al., 2016; Anche et al., 2014; Baud et al., 2017; Camerlink et al., 2018, 2015, 2014, 2013; Firmat and Litrico, 2022; Muñoz et al., 2014; Silva et al., 2013) but has rarely been discussed in plant breeding theory (Foucteau et al., 2000; Haug et al., 2021). Thus the DGE-IGE conceptual framework could be used to characterize the impact of breeding on the selection of low-competitive plants.

In agriculture, intensity of social interactions can be influenced through cultural management practices, particularly by manipulating sowing density. Notably, in recent agricultural history, sowing density has been increased to enhance the use of fertilizers. However, how such change in sowing density has impacted crop phenotype, especially regarding the evolution of social interactions, remains an open question.

Selecting for reduced competitive ability can have several applications. First, currently, most breeding programs are based on the rapid fixation of pure lines via haplodiploidisation

that are then evaluated in fields for yield when enough seeds are available. However, prior to reaching this stage, more than 99% of the tested materials (genetic diversity) have already been discarded (Koebner and Summers, 2003). These discarded materials are primarily sorted based on performance measured in nursery where each genotype is cultivated on small plots with reduced distance between plots of genotype creating thus strong inter-genotypic competition. Thus discarded materials are strongly influenced by inter-genotypic competition outcomes and poor competitors are often discarded despite their high performance in field trials. This could be avoided by using genomic prediction models. Yet in some countries this genomic technology is not available. This limits genetic progress since inter-genotypic competitive ability is often negatively correlated with yield (Goldringer et al., 1994). The limited availability of seeds at the early breeding stages prevents high replication of genotype plots and thus exacerbates this problem. Second, in (Dawson and Goldringer, 2012), the authors advocate “that looking for genotypes with a high producer effect (high level of production under competition conditions) and with a high associate effect (beneficial effects on neighbors) could allow selection for higher performance in mixture”.

In this study, we aim to evaluate the potential of integrating IGE into breeding programs in durum wheat by addressing two primary questions:

1. Is there any evidence of social interactions between genotypes, and do social interactions vary depending on planting density? Is competition important for explaining plot yield, and does their contribution depend on planting density? A strong contribution of IGE to plot yield would indicate that plant-plant interactions played a significant role in determining performance in the trials, and that early stage IGE measurement may enhance selection efficiency for yield in breeding programs if there is genetic variability for IGE.
2. Has the pedigree selection method used in durum wheat breeding programs since the Green Revolution selected for less competitive genotypes (e.g, genotypes with high IGE and low DGE), and if so, at which density? Given that yield was the primary breeding target, a strong selection for non-competitive alleles may result from the substantial contribution of IGE variability to yield variability in past populations. This might argue in favor of using IGE in early trials of breeding programs.

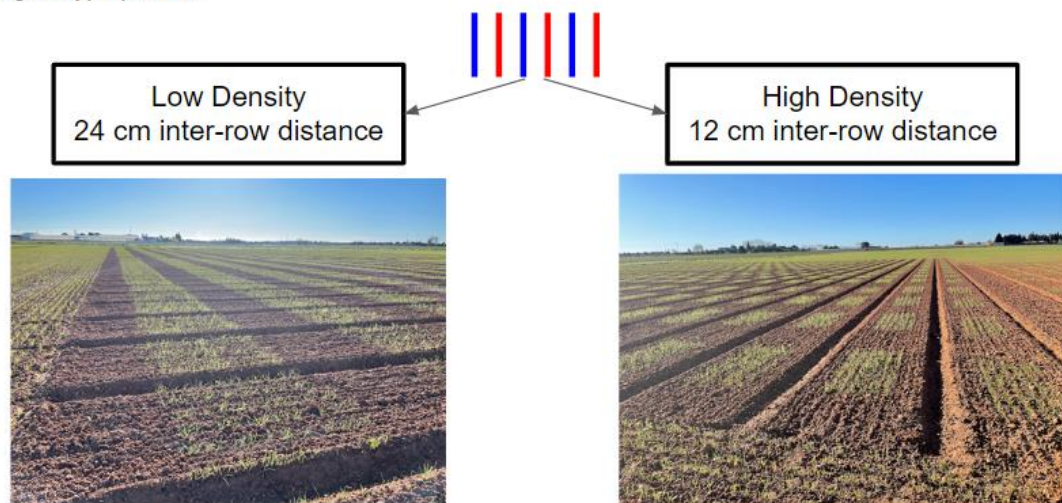
To address these questions, we combine experimental data from binary yield mixture trials, which enable the estimation of both IGE and DGE, with genetic data obtained from a historical collection of French and Italian durum wheat genotypes.

# Materials and Methods

## Experimental design

The experiment was realized in 2021-2022. One hundred eighty durum wheat inbred lines from the EPO panel ([David et al., 2014](#)) were used to form 270 bi-genotype mixtures (Figure 1). In the 270 bi-genotype mixture, each EPO genotype was observed in three distinct genotypic mixtures. This population is characterized by a high level of diversity and a low level of linkage disequilibrium (<40Mb). Mixtures were sown in equi-proportion alternate rows with one genotype per row as presented in [Montazeaud et al, 2022](#). Each plot consisted of 6 rows, each 1.50 meters long with about 70 seeds per row. Each bi-genotype mixture was sown in two density treatments. Density was manipulated through inter-rows distance. Inter-rows distance was 12 in the high density treatment (HD) and 24 cm in the low density treatment (LD). The experiment was composed of two blocks, one with high inter-row distance treatment (270 plots) and one with the low inter-row distance treatment (270 plots) resulting in an experiment of 540 plots. Combinations of genotypes were not replicated within density treatment. Within each plot, genotypes were alternatively considered as focal and neighbor genotypes for data analysis.

- 270 binary genotype couples
- Sampled among a **panel of durum wheat diversity** ([David et al, 2014](#))
- One genotype per row

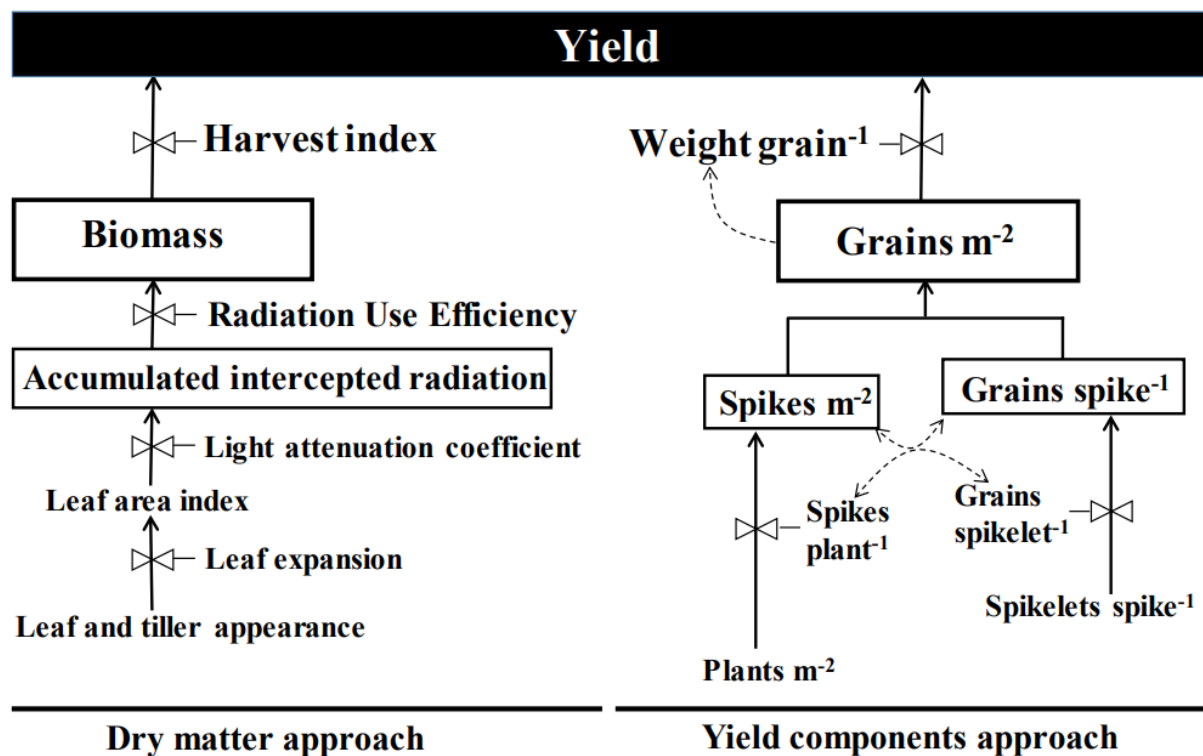


**Figure 1: Experimental design.** Red and blue lines represent rows within a 6-row plot with each color corresponding to a different EPO genotype.

## Data collection

Environmental conditions were characterized using a CHN model (Soenen et al., 2016). "CHN" is a crop model that simulates daily flows of carbon (C), water (H) and nitrogen (N) into a soil-plant-atmosphere continuum for wheat. Thus it can estimate biomass deficit occurring because of environmental stress during a specific period.

According to recent synthesis (Reynolds et al., 2022) : Wheat yield can either be viewed as a proportion of the crop's biomass produced (as shown in Figure 2, left) or as the result of a few specific yield components (as illustrated in Figure 2, right).



**Figure 2 (Reynolds et al., 2022) : Schematic representation of two analytical frameworks for dissecting wheat yield.** The dry matter approach considers yield as simply a fraction of the total growth produced by the crop (left) whereas the yield components approach considers yield simply a function of the multiplication of its numerical components (right). Time advances from bottom to top of the scheme, although it is naturally represented here only qualitatively. The dashed lines on the right represent expected negative interactions.

Thus genotypic performances were quantified using yield (GY,  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), Grain number (GN), spike number per line (Sp), number of grains per spike (GN/Sp), straw biomass (SB,  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), total dry biomass (TDB,  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) and harvest index (HI). All measures were realized at the genotypic level within a field. For each genotype within a mixture, total dry biomass was

collected at maturity on the two central rows of each plot. Thus the four central rows of each plot were collected. Samples were then dried during 48 h. Spike number per line (Sp) and thousand kernel weights (TKW) were measured at maturity. Sp was determined by counting the number of spikes in a one-meter-long row. This result is proportional to Spike number per square meter. TKW was measured at harvest by weighing 250 grains. Then to get TKW this result was multiplied by 4. Grain number per square meter (GN) was computed as the ratio between grain biomass and thousand kernel weights. Number of grains per spike (GN/Sp) was computed as the ratio between GN and Sp. This results in 540 measures per trait per density (270 unreplicated binary mixtures with two density treatments). Traits involved in plant-plant interactions were also measured at both densities. These traits involved plant height (in cm), phenology (in days from sowing) and specific leaf area (m<sup>2</sup> per g). Harvest index (HI) computed as the ratio between GY and TDB was also estimated to measure resource partitioning between vegetative and reproductive organs.

Plant height was measured at 1 cm ear stage and at maturity. For each genotype 3 measures per row were realized on the two central rows to avoid border effects. This results in 6 measures per genotype per plot and 12 measures per plot. Phenology of a row was determined as the median flowering date of a row by visual examination. Results were realized at both density and were averaged by genotype by plot to get a single value per genotype per plot.

### Genetic marker data for the field experiment

The EPO panel was genotyped with the TaBW410K marker array (Rimbert et al., 2018). Durum wheat is an allotetraploid species, which combines two independent diploid genomes A and B, 7 chromosome pairs each ( $2n = 4X = 28$ ). Since polymorphic markers were biallelic, each genotype could carry 0, 1, or 2 copies of the most frequent allele, hereafter referred to as the reference allele. Nonpolymorphic markers and markers with a minor allele frequency under 5% were discarded. After these steps, 25136 markers were available for further analysis.

Release date of an historical collection of 100 genotypes and associated marker data on the same TaBW410K marker array as those used to genotype the EPO panel (Rimbert et al., 2018) were extracted from (Colombo et al., 2022b). Only previously retained markers were kept for the analysis. This collection gathers French and Italian genotypes released after the Green Revolution of the 60's and the beginning of the French durum wheat breeding program in metropolitan France previously based in Morocco and Algeria during colonial times. The median release date of our collection was 2000.

## Statistical analysis

Only additive effects are transmitted to the next generation (Wright, 1937) and are thus interesting from an evolutionary perspective. We thus only computed additive genetic effects. Three additive genetic effects were computed for all yield components : direct genetic effect (Bijma, 2014), indirect genetic effect (Bijma, 2014) and the general mixing ability (Wright, 1985), which represent the average performance of a genotype in mixtures. Direct genetic effect (DGE) represents the effect of a genotype on its own phenotype whereas indirect genetic effect (IGE) represents the effect of a genotype on neighboring phenotype. Both are computed using individual performance within the mixture as response variable. General mixing ability (GMA) represents the average performance of a genotype in mixtures (Forst et al., 2019). GMA is computed using the global performance of a mixture as a response variable. Spatially corrected BLUP of these 3 genetics effects were computed with the SpatS package (Rodríguez-Álvarez et al., 2018). Briefly the model uses a two dimensional P-spline surface to model spatial heterogeneity in the field, thus correcting for spatial trends with smoothing splines. This results in two datasets for each yield components:

- One dataset to characterize additive genetic effect of the 180 EPO genotypes at the within mixture genotypic level consisted of 180 DGE at HD, 180 DGE at LD, 180 IGE at HD and 180 IGE at LD. This dataset will be referred to as the genotypic level dataset. Model to compute these additive effects can be written as followed (without the spatial correction which can be found in the documentation of the previously mentioned SpatS package):

$$Y_{ij} = \mu + DGE_i + IGE_j + \varepsilon_{ij}$$

Where  $Y_{ij}$  is the individual yield of the genotype  $i$  cultivated with genotype  $j$  as neighbor,  $\mu$  represents the mean of all observations,  $DGE_i$  represents the direct genotypic effect of genotype  $i$  (effect of genotype  $i$  on its own phenotype) and  $IGE_j$  represents the indirect genotypic effect of genotype  $j$  (effect of genotype  $j$  on neighbouring phenotype) and  $\varepsilon_{ij}$  represents the error term.

- One dataset to characterize additive genetic effect of the 180 EPO genotypes at the mixture level consisted of 180 GMA at HD and 180 GMA at LD. This dataset will be referred to as the mixture level dataset. Model to compute these additive effects can be written as followed (without the spatial correction which can be found in the documentation of the previously mentioned SpatS package):



$$Y_{ij} = \mu + \frac{1}{2} \times (GMA_i + GMA_j) + \varepsilon_{ij}$$

Where  $Y_{ij}$  represents total grain yield of mixture of genotype  $i$  and  $j$ ,  $\mu$  represents the mean yield of genotypic mixtures,  $GMA_i$ ,  $GMA_j$ , represent general mixing ability of genotype  $i$  and  $j$  respectively (genotypic effect of genotype  $i$  and  $j$  respectively).

### **Assessing the contribution of social interaction to yield and yield components.**

For all yield components measured for each genotype (GY, TKW, GN, GN/Sp, Sp, TDB) except for TKW, we observed a negative correlation between IGE and DGE at both densities. As IGE and DGE are correlated, they might represent similar biological characteristics. For instance, strong competitiveness is characterized from a statistical point of view by high DGE and low IGE. Thus, we performed a series of PCA with the genotypic level dataset (one per yield component). PCA performed on each dataset composed of four variables (DGE HD, DGE LD, IGE HD, IGE LD) resulted in four PCA axes. These series of PCA summarize information about genotypic yield components' response to density. PCA were performed using the FactoMineR package (Lê et al, 2008). To further interpret PCA axes in terms of plant functions, correlations between axis value and functional traits (plant height, phenology and SLA) measured at the two densities were assessed.

To assess the contribution of social interaction to yield and yield components, for each yield component we assess the correlation of IGE and DGE to GMA. In the absence of social interactions, we expect no correlation between IGE and GMA. In contrast, in the presence of strong social interactions, we expect strong correlation between IGE and GMA. As IGE and DGE are correlated and thus part of the observed correlation between DGE and GMA and IGE and GMA might relate to the same biological process we also measured the correlation between coordinates axes of PCA previously computed and GMA at both densities.

## Evidence of selection for social interaction traits since the Green Revolution of the 60's.

To test whether a trait has been selected over a period of time, we used the Ghât correlation test ([Beissinger et al., 2018](#)). This test is based on the following premise: *“If selection intensity is equal for all loci across the genome, the change of allele frequency  $\Delta_j$  should be approximately proportional to the allele effect  $\alpha_j$  such that, for a trait under selection, a nonzero correlation between allele-frequency change and the additive effect of alleles on that trait is expected”* (Wright 1937). Thus the correlation between the change in allele frequency between two periods ( $\Delta_j$ ) and the allelic effect on the trait ( $\alpha_j$ ) is a proxy of selection intensity. The Ghât correlation test is implemented in the Ghât package ([Mahmoud et al., 2023](#)).

Briefly to compute the change in allelic frequency at each marker ( $\Delta_j$ ) between recent and older pools of genotypes, allelic frequency at each marker within the pool of genotypes released before 2000 and within the pool of genotypes released after 2000 was computed. 2000 was chosen as 2000 is the median release date of our historical collection ([Colombo et al., 2022](#)). Then the difference in allelic frequency ( $\Delta_j$ ) at each marker was computed. For each yield component,  $\alpha_j$  was computed by genomic prediction calibrated on the EPO population grown in the field experiment using the rrblup model. The mixed.solve function of the rrblup R package was used ([Endelman, 2011](#)). To represent the historical cultivar position in the PCA plot, we predicted by genomic prediction PCA coordinates of the historical collection. Briefly  $G_i$ , Axis 1 =  $\sum_j \alpha_j$  where  $G_i$ , Axis 1 is the genetic value of PCA coordinates of the  $i$ th individual of the historical collection,  $\alpha_j$  is the marker score for the  $j$ th marker computed by genomic selection model calibrated on the EPO population.

## Results

### Evidence of competitive interactions

Density	Sp	Gn/sp	GN	TKW	GY	TDB
High	<u>-0.31 ***</u>	-0.14 ns	<u>-0.42 ***</u>	<u>+0.29 ***</u>	<u>-0.56 ***</u>	<u>-0.74 ***</u>
Low	<u>-0.24 **</u>	<u>-0.37 ***</u>	-0.06 ns	<u>+ 0.2 ***</u>	<u>-0.24 **</u>	<u>-0.31 ***</u>

**Table 1: Pearson correlation coefficient of DGE (effect of a genotype on its own phenotype) and IGE (effect of a genotype on neighboring phenotype) estimated on genotype performance for each yield component.** GY: grain yield; GN: grain number; TKW: thousand kernel weights; GN/Sp: grain number per spike; Sp: spike number; HI: harvest index; TDB: Total dry biomass \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ . Only significant results are displayed.

For all yield components except TKW, DGE & IGE were negatively correlated. Absolute values of correlation were higher at high density than at low density for all traits except for grain number per spike (Table 1). In addition, there was a hierarchy in the strength of correlation for yield components at high density ( $r_{TDB} < r_{GY} < r_{GN} < r_{Sp}$ ): more lately yield components had higher negative correlation between DGE and IGE (Table 1).

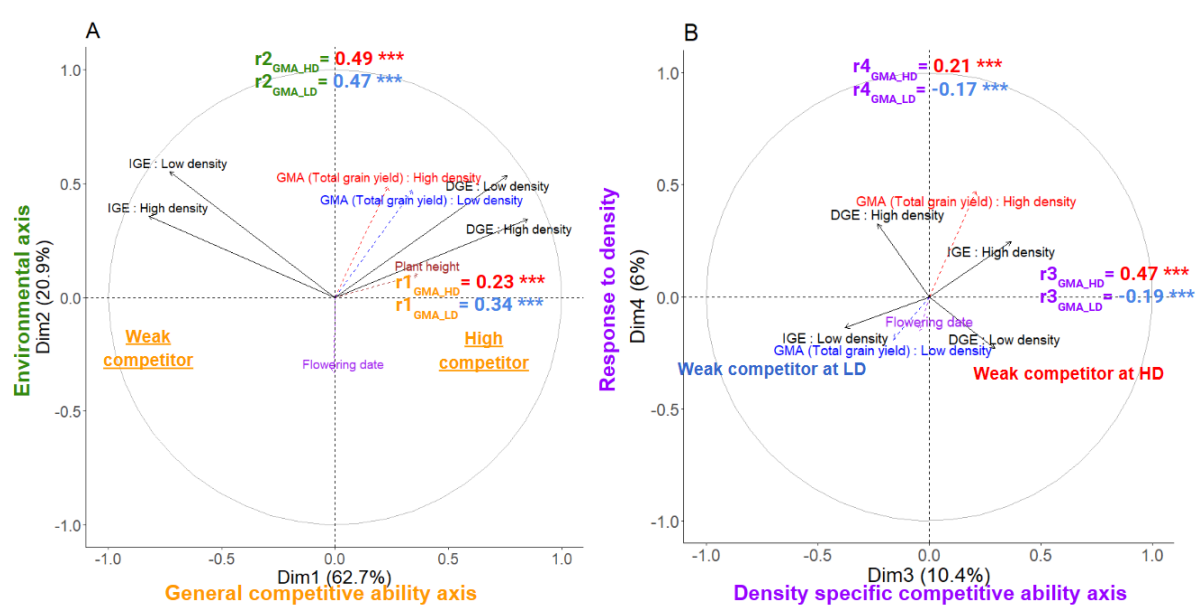
### Contribution of DGE and IGE to GMA

Yield component	DGE		IGE	
	Low density	High density	Low density	High density
Sp	<b><u>0.69</u> ***</b>	<b><u>0.52</u> ***</b>	0.1 ns	<b><u>0.32</u> ***</b>
GN/Sp	<b><u>0.38</u> ***</b>	<b><u>0.62</u> ***</b>	- 0.08 ns	<b><u>0.3</u>***</b>
GN	<b><u>0.64</u> ***</b>	<b><u>0.6</u> ***</b>	<b><u>0.3</u> ***</b>	<b><u>0.2</u> **</b>
TKW	<b><u>0.75</u> ***</b>	<b><u>0.77</u> ***</b>	<b><u>0.36</u> ***</b>	<b><u>0.45</u> ***</b>
GY	<b><u>0.45</u> ***</b>	<b><u>0.47</u> ***</b>	<b><u>0.17</u> *</b>	<b><u>0.19</u> *</b>

**Table 2: Correlation between genetic effects and yield performances.** Pearson correlation coefficient between GMA and DGE / IGE at the two densities. GY: grain yield; GN: grain number; TKW: thousand kernel weights; GN/Sp: grain number per spike; Sp: spike number. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

For all yield components, despite the negative correlation between IGE and DGE (Table 1), DGE and IGE were positively correlated to GMA (effect of a genotype on group performance) at both densities (Table 2 & Figure 3 for GY). At low density, early determined yield components (GN/Sp and Sp) contribution of IGE to yield components was non-significant (Table 2). Comparison of absolute value of Pearson correlation coefficient indicates that overall DGE contributed more to GMA than IGE (Table 2 & Figure 3 for GY).

## PCA and interpretation of PCA axes



**Figure 3: PCA results of grain yield.** IGE: indirect genetic effect. DGE: Direct genetic effect. GY: Grain yield. GMA (general mixing ability) variables and functional traits variables (Flowering date and plant height) were used as supplementary variables. A: Axes 1 & 2. B: Axes 3 & 4. Weak competitor at a given density is defined as having high IGE and low DGE at this density.  $r_1, r_2, r_3, r_4$  indicates Pearson correlation coefficient between axis (respectively 1,2,3,4) coordinates and general mixing ability (GMA) at high density (HD) and low density (LD). Stars indicates level of significance: \* :  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$ .

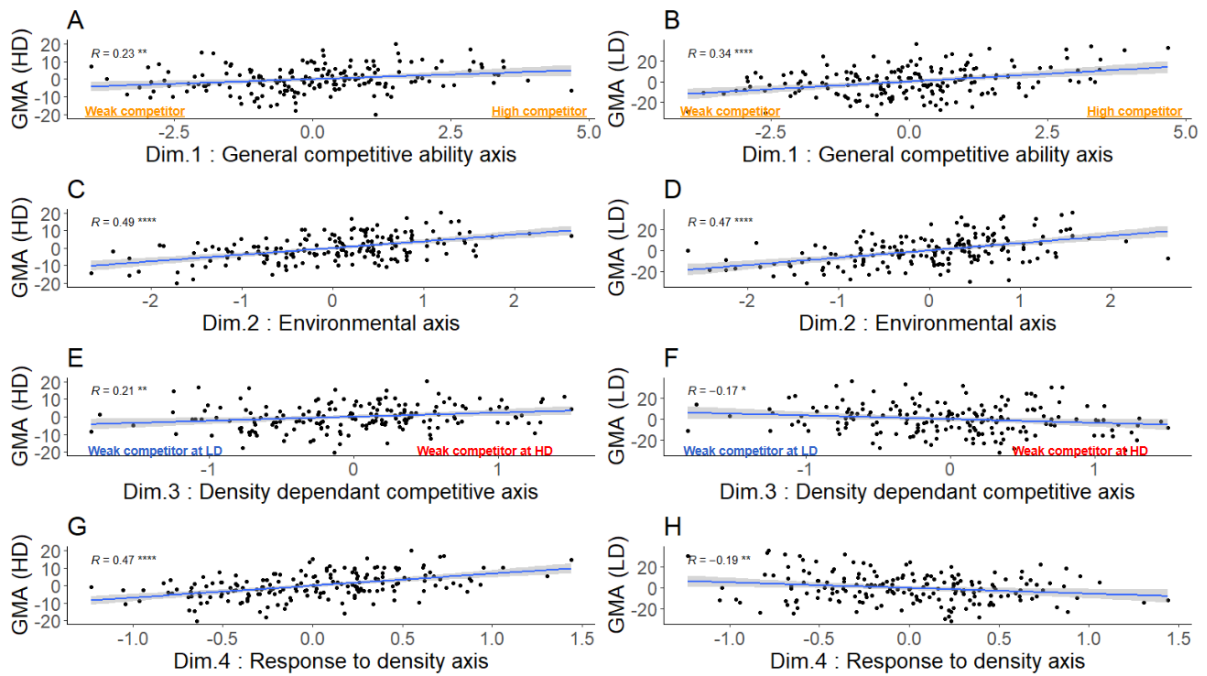
The first PCA axis for all yield components (GY, GN, GN/Sp, Sp) except TKW exhibited a positive correlation with direct genetic effect (DGE) and a negative correlation with indirect genetic effect (IGE) at both high and low densities (Figure 3 for GY & Supp data for other traits). For TKW, this axis was the second axis. This axis can thus be referred to as the General Competitive Ability axis (GCA axis) as it separates genotypes with high competitive ability (high DGE and low IGE) from those with low competitive ability (low DGE and high IGE) at both densities. For all yield components, among tested functional traits plant height displayed the strongest correlation with axis 1 (Figure 3 for GY & Supp table 1A & 1B), with correlation coefficients of 0.37 ( $p < 0.001$ ) and 0.32 ( $p < 0.001$ ) respectively at high and low density for GY. For all yield components, the General Competitive Ability axis contributes positively to GMA at both densities ( $r > 0$ ;  $p < 0.001$ ; Supp Table 2 & Figure 4 for GY): mixtures with strong competitive genotypes have higher yield than plots with low competitive genotypes.

The second PCA axis for all yield components (GY, GN, GN/Sp, Sp), except TKW for which it was the first PCA axis, was positively correlated with both DGE and IGE at both

densities (Figure 3 for GY & Supp data for other traits). For lately determined yield components (GY, GN & GN/Sp), axis 2 was negatively correlated with phenology ( $r_{GY} = -0.33$ ;  $r_{GN} = -0.23$ ;  $r_{GN/Sp} = -0.25$ ;  $p < 0.001$ ; Supp table 1A for HD and Supp table 1B for LD & Figure 3 for GY). This axis can be referred to as the Environmental axis as phenology represents an adaptation to climatic scenario. At both densities, for all yield components except TKW, the Environmental axis was the strongest contributor to GMA ( $r = 0.49$  &  $r = 0.47$  for GY;  $p < 0.001$ ).

The third axis separates genotypes with high DGE or IGE only at one specific density (Figure 3 for GY & Supp data for other traits). These results were overall consistent across grain number (GN), grain number per spike (GN/Sp), spike number (Sp), and total dry biomass (TDB). Results for Thousand kernel weight (TKW) were slightly different due to the positive correlation between DGE and IGE at both density levels (Table 3). For GY, GN, GN/Sp and SP, the third axis was positively correlated with competitive ability (high DGE and low IGE) at low density and negatively with competitive ability at high density. Therefore, the third axis can be referred to as the density specific competitive axis (further information will be given in the discussion regarding this name). Correlations of axis 3 and functional traits were not consistent across density nor yield components. Signs of the correlation between the Density specific competitive ability axis and GMA at both high density and low density were opposite (Supp Table 2 & Figure 4 for GY): Mixture with poor competitor genotypes at low density and low competitive ability at high density, were associated with high grain yield at high density and low grain yield at low density ( $p < 0.001$ ; Supp Table 2 & Figure 4 for GY).

The fourth axis was positively correlated with DGE, IGE and GMA at high density ( $r > 0$ ,  $p < 0.001$ ) and negatively correlated with DGE, IGE and GMA at low density ( $r < 0$ ,  $p < 0.001$ ). Correlations of axis 4 and functional traits were not consistent across density nor yield components but mainly involved Flowering date (Supp table 1A for HD and Supp table 1B for LD & Figure for GY). The Response to density axis was the first most important at low density ( $r = 0.34$ ,  $p < 0.001$ ) and the second most important axis explaining GMA at high density ( $r = 0.47$ ,  $p < 0.001$ ).



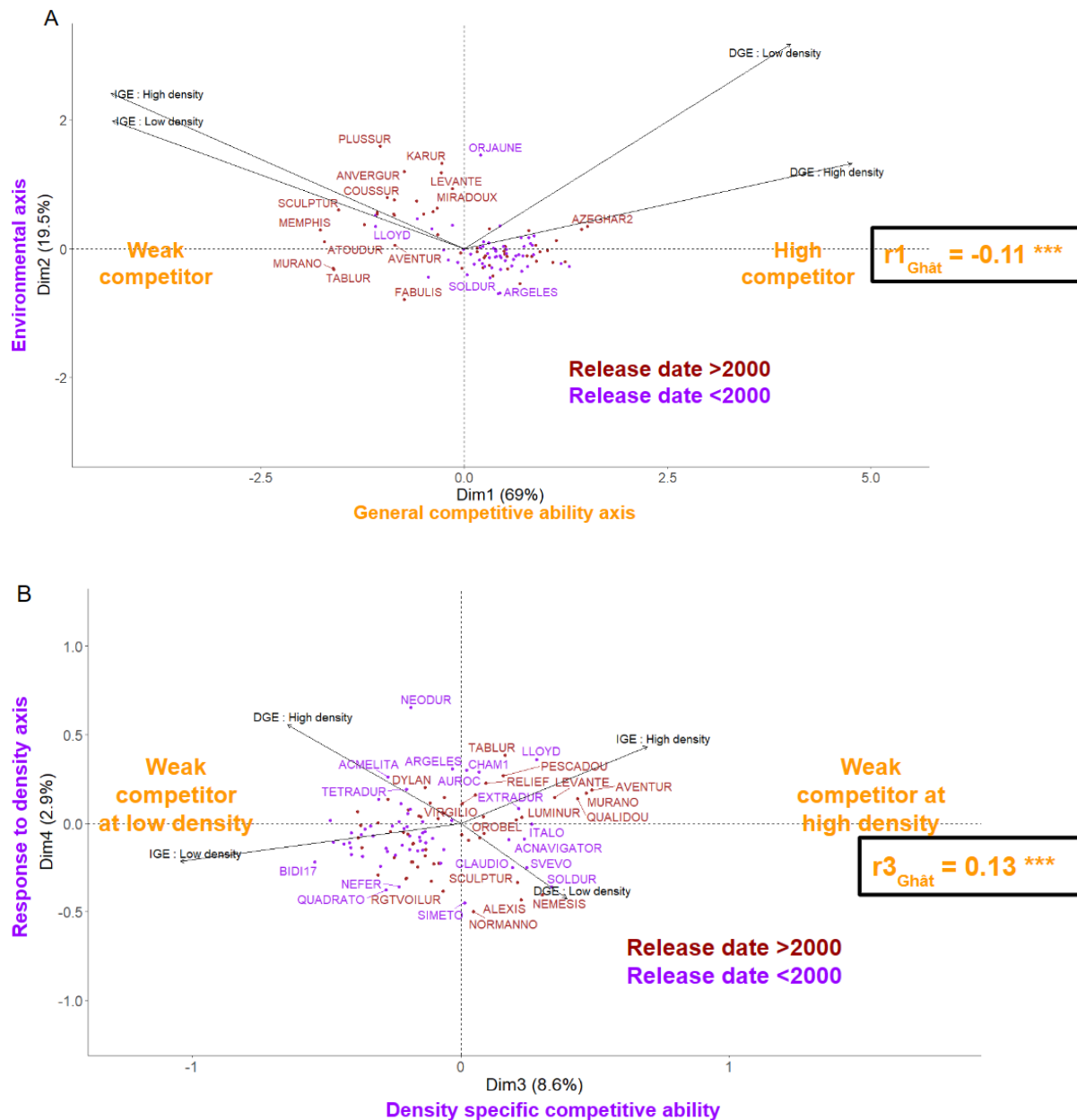
**Figure 4: Relation between GMA of gain yield at high density and A: General competitive ability axis (Axis 1); C: Environmental axis; E: Specific combining ability axes (Axis 3); G: Response to density axis; and relation between GMA of grain yield at low density and B: General competitive ability axis (Axis 1); D: Environmental axis; F: Specific combining ability axes (Axis 3); H: Response to density axis.** Pearson correlation coefficient and associated p-value is also reported.

Selection signature during modern breeding

	GY	TKW	GN	GN/Sp	Sp	TDB
General competitive ability axis	<u><b>-0.11</b></u> *** —	<u><b>-0.09</b></u> **	<u><b>-0.12</b></u> *** —	<u><b>-0.15</b></u> *** —	<u><b>-0.09</b></u> ** —	<u><b>-0.15</b></u> *** —
Environmental axis		<u><b>-0.17</b></u> *** —	<u><b>0.15</b></u> ***	<u><b>0.07</b></u> *	<u><b>0.16</b></u> *** —	
Density specific competitive ability axis	<u><b>0.12</b></u> ***	<u><b>-0.09</b></u> **	<u><b>0.11</b></u> ***			
Response to density axis	<u><b>-0.11</b></u> *** —				<u><b>-0.07</b></u> * —	<u><b>-0.09</b></u> **
GMA (HD)		<u><b>-0.15</b></u> *** —	<u><b>0.09</b></u> **			<u><b>0.16</b></u> *
GMA (LD)						

**Table 4: Pearson correlation coefficients between marker scores and change in allele frequencies before and after year 2000.** Associated p-value was computed using the Ghat permutation test using 1000 permutations (Mahmoud et al, 2023). \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001. **Only significant results are displayed.** GY: grain yield; GN: grain number; TKW: thousand kernel weights; GN/Sp: grain number per spike; Sp: spike number; GMA: general mixing ability.





**Figure 5: Predicted grain yield PCA coordinates of historical collection by genomic prediction model calibrated on the EPO population grown in the field.** Brown points represent coordinates of genotypes released after 2000 whereas purple points represent coordinates of genotypes released before 2000.  $rX_{\text{Ghât}}$  indicates the Pearson correlation coefficient between release date of genotypes and projected coordinates on the axis X. Stars indicate the level of significance. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

Negative selection signature was detected for the General competitive ability axis of all yield components (GY, GN, GN/Sp, Sp, TDB, TKW) (Figure 5A for GY). For grain yield (GY), selection signatures were also detected for axes 3 and 4, with correlation coefficients of 0.11 ( $p < 0.05$ , Figure 3) and -0.12 ( $p < 0.05$ , Figure 5). Similar patterns were observed for many

yield components although not always statistically significant. In addition, selection signature was also detected for axis 2 (Environmental axis) of grain number ( $r = 0.15$ ;  $p < 0.001$ ) and its determinant: spike number ( $r = 0.07$ ;  $p < 0.05$ ) and grain number per spike ( $r = 0.16$ ;  $p < 0.001$ ).

## Discussion

### Is there any evidence of social interactions between genotypes, and do social interactions vary depending on planting density?

The negative correlations observed between DGEs and IGEs of genotype yield components represent the intensity of competition and have already been reported in the literature in numerous experiments (Baud et al., 2017; Bijma, 2014; Wolf, 2003). Competition for light, nutrients, water, and space arises from ecological niche overlap of adjacent row genotype (Grime, 1973). These competitive interactions were more pronounced at high density compared to low density due to limited space and light availability at high density. The stronger correlation observed for more lately determined yield components suggests that competition exerted its influence throughout the entire plant life cycle. Variations of IGE over time have been reported for other organisms (Baud et al., 2017). In our experiment yield components are correlated and competition observed for lately determined yields components like GN arise from early determined yield components such as Sp and GN/Sp.

### Is competition important for explaining plot yield, and does their contribution depend on planting density?

PCA realized on DGE and IGE enabled us to identify four statistically independent axes representing four biologically distinct responses:

General competitive ability axis: representing the trade-off between own performance and neighbor performance at both density (first axis for spike number, grain number per spike, grain number, grain yield and total dry biomass & second axis for TKW). This axis represents the non-density dependent part of the previously mentioned competitive interactions: Genotypes with high values on this axis have strong competitive ability at both densities. Competitive interactions driven by General competitive ability were associated with plant height: tall genotypes have stronger General competitive ability. Plant height had already been documented as a trait involved in competitive interactions (Donald, 1968; Goldringer et al., 1994). As a result, Donald linked decreased plant height to its high yielding communal ideotype. Contrary to Donald's expectation, General competitive ability was correlated positively to general mixing ability (GMA) at both density: thus the communal ideotype was not high yielding. In its paper, Donald suggested that this might occur in 5 cases : when plant

spacing is too large due to low planting density or low inter-row spacing, when fertility or water supply is limited, when there is competition from weeds or alternative use of wheat such as use of wheat as crop fodder (Donald, 1968). In our experiment, we applied herbicide treatment, high fertilizer rate and irrigation to reach a yield goal of 7 tons per ha. Thus the most likely factor affecting the relation between General competitive ability and plot yield is the non-optimal density. In its paper Donald mentioned that under non optimal density, partial tillering might be needed to compensate for the hole in the canopy. Thus it might be possible that in our experiment optimal inter-row spacing (density) was below 12 cm producing thus, inadaptation of weak competitors at both densities.

Environmental axes for all yield components are positively correlated with DGE & IGE at both densities. Positive correlation between DGE & IGE can occur because of correlation between genetic effect (whereby allele increasing focal genotypic yield also increase neighbor genotypic yield) or because of miss-estimation of IGE and DGE due to shared environmental effects: Neighbors can be more similar than others because they are exposed to similar environmental conditions. In our experiment, we did not replicate our experimental design because we were primarily interested in information at the allelic level. Therefore, we chose to grow more genotype with no replication.

Density specific competitive ability axis for all yield components correlates positively with DGE at high density, IGE at low density, DGE at low density, and IGE at high density: Density specific competitive ability is thus defined by a negative correlation between competitive ability at high and low density. On this axis, poor competitors at high density were associated with high GMA (total grain yield) at high density and poor competitors at low density were associated with high GMA (total grain yield) at low density. This is partly consistent with Donald's view of communal ideotype (Donald, 1968) : weak competitor ideotype are high yielding under optimal growing conditions. Yet, this also shows that characteristics of weak competitor genotypes are density dependent. Phenotypic plasticity can be the reason for such density dependence. For example, at high density

In terms of phenotypes, this might reflect phenotypes only adapted to one density at the expense of the other. An example of such traits might be tillering or planophile leaves (Fischer et al., 2019) : Plants with high tillering habits and planophile leaves spread spatially more horizontally and thus early in the cycle overlap with neighboring vegetative organs (leaves and tillers) producing growth redundancy. For instance, competitive organs, which contribute to growth redundancy, also function as resource uptake organs. Consequently, the additional growth of these organs initially enhances resource uptake and, subsequently, plot

yield. However, when resource uptake reaches its maximum capacity at the group level, further growth of these organs leads to “growth redundancy” (Donald, 1968) and a subsequent decline in yield. At low plant density, characterized by larger row distances, it is likely that wheat communities never reach the growth redundancy stage, limiting strong overlap between organs uptaking resource (resources are under-used) whereas at high density some mixtures might have reached this stage (optimal resource used or growth redundancy) whereas others have not (resources are under-use).

### Evolutionary response towards the weak competitor and response to density

Selection towards more negative value along the general competitive axis (Axis 1) and on the density specific competitive axis (Axis 3) was observed across all yield components. This is evidence of selection towards the weak competitor ideotype specifically at high density, as expected under the application of Donald's breeding concept during the 20th century. Donald proposed that in heavily fertilized systems breeders should eliminate inefficient vegetative organs involved in competition and resource uptake, focusing solely on converting resources (nutrients and light) into reproductive biomass of the plant. This led to an increase of both harvest index and grain yield. In the last decades, numerous indirect evidence supporting selection for weak competitors have been observed through the measurement of functional traits known to be involved in competition for resources. For example, the introduction of semi-dwarf wheat varieties by Norman Borlaug (1968), a breeder from CIMMYT, played a significant role in the genetic gains of the green revolution. These varieties inherited dwarf genes from 'Norin 10' and 'Tom Thumb,' both characterized by shallow root systems. Shallow root systems and reduced height are commonly observed phenotypes associated with weak competitors (Donald, 1968; Lynch and Lynch, 2007). Other empirical studies have documented similar trends towards less competitive genotypes, both in aerial traits such as (Colombo et al., 2022) and root traits such as (Aziz et al., 2017; Colombo et al., 2022b; Nakhforoosh et al., 2021; Zhu et al., 2019). Many of these shifts were observed before the green revolution, and some researchers suggest that the selection for weak competitors may have originated during the domestication process (cited in Waines and Ehdaie, 2007 for root traits). However, despite the existence of these publications, competition itself has rarely been quantified. One study successfully quantified evolution of competition in an historical collection of Australian bread wheat and arrived at similar conclusions as ours using only phenotypic data (Cossani and Sadras, 2021). Thus, our study is the first to provide direct evidence of selection for reduced competitive ability genome wide during the last decades.

Despite selection towards weak competitors, no genetic gain was observed for general mixing ability (GMA) during our time period., a pattern we did not expect. Such results could

be explained by the lack of negative correlation between General competitive ability and GMA at both densities. Instead, in our experiment, selection for weak competitors grown at high density resulted in an increased GMA of grain number (GN) and decreased GMA of thousand kernel weight (TKW) at high density. This reflects the too high grain number potential for available resources during the grain filling period. In the Mediterranean environment characterized by severe summer drought, high grain numbers during the pre-flowering time did not translate into higher grain yield. In his work, Donald already mentioned that its communal ideotype might not be relevant for drought prone environments (Donald, 1968). More recently, some authors proposed several strategies to design ideotype adapted to such environments. For instance, Manschadi et al (2006) proposed to select genotypes with reduced grain number potential to save stored water in the soil for the end of the crop cycle and with particular phenotypes of root traits to access water in deep layers (Manschadi et al., 2006).

In our experiment we found a selection signature on the density specific axis towards reduced competitive ability at high density but strong competitive ability at low density. These findings suggest that the achieved genetic progress may be contingent upon agronomic practices, especially sowing density. Consequently, changes in agronomic practices to mitigate the effects of climate change for instance, may transform the genetic gains achieved in recent decades into genetic degeneration. This calls for the need to select specific varieties adapted to the targeted agronomic practices. Currently, optimal plant densities can vary significantly from year to year (Slafer et al., 2022). One way to optimize plant-plant interactions while adapting to this changing optimum might be to grow genotypes with longer periods of tillering and high tillering plasticity. This would increase potential for compensation late in the season where climatic hazards can still occur. To fully take advantage of these genotypes, reduced sowing density to mitigate growth redundancy under favorable years would be required. By adopting this approach, farmers can capitalize on favorable years while minimizing yield losses resulting from suboptimal densities during unfavorable seasons. This approach might require new types of breeding especially regarding auxin dependent nanism genes, which limit developmental plasticity (Colombo et al., 2022a), and have been widely introgressed in modern germplasm.

Booting and post-flowering resource limitations have greatly impacted the performance of genotypes with high grain numbers. Since plants do not receive any environmental cues predicting the occurrence of post-flowering drought, plants are unable to adjust grain number in response to post-flowering resource availability through pre-flowering grain number limitation. This limitation poses a constraint on adaptation through phenotypic plasticity. To address this limitation and develop plants adapted to terminal drought conditions, one might

focus on the development of plastic genotypes that exhibit adaptability in response to early environmental cues during the growing season that are correlated with the occurrence of terminal drought. By incorporating response to this cue into the breeding process, it may be possible to enhance plant ability to adjust its traits and optimize resource allocation in anticipation of future drought conditions. Yet this approach would require intense studies of meteorological data to predict late-drought with early signals in the season.

### Integrating DGE and IGE in breeding programs

Our approach using DGE, IGE, and GMA enables us to assess social interactions and its effect on yield. This enables a decomposition of yield performance into a general competitive ability performance, a climatic dependent performance, a density dependent competitive ability performance and density response. Competitive ability needs to be optimized in a specific crop system with particular attention to density, weed management practices, resource level and management (N and water) or crop mixture. Climatic dependent performance is dependent on only a few agronomic practices such as sowing date. Finally, density responding performance would need to be carefully adapted for each sowing density. Such decomposition between performance due to adaptation to environmental conditions or plant-plant interaction has important implications for plant breeding. Performance related to adaptation to environmental conditions can be improved using classical breeding programs developing pure lines whereas resource intensive recurrent breeding schemes are required for breeding for improved plant-plant interactions ([Sampoux et al., 2020](#); [Wright, 1985](#)). In our approach, with only yield measurements, we managed to interpret the yield determinant in terms of the two components of plant performance (adaptation to abiotic environment, and adaptation to biotic environments or plant-plant interactions). Practically, this approach also enables direct interpretation of yield genetic progress without the need to measure traits which are labor intensive. This approach can also be added to the panel of methods to be used at early stages of breeding programs when few seeds are available and performance measurements are biased because of inter-genotypic competition. It can complement genomic selection at early stage evaluation and be useful in low-tech breeding programs. With this method, breeders can gain a better knowledge of what creates genetic gains.

## Supplementary figures and tables

A	Sp	GN/Sp	GN	TKW	GY	TDB
Axis 1	<u><b>0.22 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.32 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>26 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.28 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.37 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.40 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )
Axis 2	<u><b>Ns</b></u>	<u><b>-0.25 ***</b></u> (FD)	<u><b>-0.23 ***</b></u> (FD)	<u><b>-0.31 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>-0.33 ***</b></u> (FD)	<u><b>ns</b></u>
Axis 3	<u><b>-0.18 *</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>Ns</b></u>	<u><b>-0.30 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>ns</b></u>	<u><b>-0.24 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>-0.29 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )
Axis 4	<u><b>-0.16 *</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>Ns</b></u>	<u><b>ns</b></u>	<u><b>0.15 *</b></u> (FD)	<u><b>-0.15 *</b></u> (FD)	<u><b>-0.16 *</b></u> (FD)

B	Sp	GN/Sp	GN	TKW	GY	TDB
Axis 1	<u><b>0.22 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.20 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.23 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.22 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.32 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>0.35 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )
Axis 2	<u><b>-0.2 **</b></u> (SLA)	<u><b>-0.28 ***</b></u> (FD)	<u><b>-0.24 ***</b></u> (FD)	<u><b>-0.27 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>-0.32 ***</b></u> (FD)	<u><b>0.25 ***</b></u> (PH <sub>H</sub> )
Axis 3	<u><b>Ns</b></u>	<u><b>ns</b></u>	<u><b>-0.16 *</b></u> (PH <sub>H</sub> )	<u><b>ns</b></u>	<u><b>ns</b></u>	<u><b>ns</b></u>
Axis 4	<u><b>0.18 ***</b></u> (SLA)	<u><b>0.21 **</b></u> (SLA)	<u><b>0.19 *</b></u> (SLA)	<u><b>0.16 *</b></u> (FD)	<u><b>0.16 *</b></u> (SLA)	<u><b>-0.17 *</b></u> (FD)

**Table 1 (Supp data): Highest Pearson correlation coefficient between PCA axis for each yield component and functional traits measured at A : High density; B : Low density.**

GY : grain yield; GN : grain number; TKW : thousand kernel weights; GN/Sp : grain number per spike; Sp : spike number; PH<sub>H</sub> : plant height at heading stage (H); SLA : specific leaf area; FD : Flowering date : p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001.

cor(GMA, Axe)		Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
Sp	HD	<u>0.18 *</u>	<u>0.55 ***</u>	<u>0.15 *</u>	<u>0.53 ***</u>
	LD	<u>0.42 ***</u>	<u>0.48 ***</u>	0	<u>-0.36 ***</u>
GN/Sp	HD	<u>0.22 **</u>	<u>0.67 ***</u>	0	<u>-0.2 **</u>
	LD	<u>0.31 ***</u>	<u>0.26 ***</u>	0.08	0.09
GN	HD	<u>0.35 ***</u>	<u>0.58 ***</u>	<u>0.27 ***</u>	<u>0.35 ***</u>
	LD	<u>0.35 ***</u>	<u>0.57 ***</u>	<u>-0.21 **</u>	<u>-0.19 *</u>
TKW	HD	<u>0.70 ***</u>	<u>-0.26 ***</u>	-0.12	<u>-0.30 ***</u>
	LD	<u>0.65 ***</u>	<u>-0.27 ***</u>	0.11	<u>0.29 ***</u>
GY	HD	<u>0.23 ***</u>	<u>0.49 ***</u>	<u>0.21 **</u>	<u>0.47 ***</u>
	LD	<u>0.34 ***</u>	<u>0.47 ***</u>	<u>-0.17 *</u>	<u>-0.19 *</u>

**Table 2 (Supp data): Contribution of PCA results on yield performance: Pearson correlation coefficient between GMA and PCA axes at the two densities.** GY: grain yield; GN: grain number; TKW: thousand kernel weights; GN/Sp: grain number per spike; Sp: spike number, LD: low density; HD: High density. \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001. Only significant results are displayed.





**Figure 1 (Supp data): Biomass deficit produced by Arvalis' CHN model (Soenen et al., 2016).** Red circle indicates the timing of water stress from booting to harvest.

## Bibliographie

- Aziz, M.M., Palta, J.A., Siddique, K.H.M., Sadras, V.O., 2017. Five decades of selection for yield reduced root length density and increased nitrogen uptake per unit root length in Australian wheat varieties. *Plant Soil* 413, 181–192. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3059-y>
- Baud, A., Mulligan, M.K., Casale, F.P., Ingels, J.F., Bohl, C.J., Callebert, J., Launay, J.-M., Krohn, J., Legarra, A., Williams, R.W., Stegle, O., 2017. Genetic Variation in the Social Environment Contributes to Health and Disease. *PLOS Genetics* 13, e1006498. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006498>
- Beissinger, T., Kruppa, J., Caverro, D., Ha, N.-T., Erbe, M., Simianer, H., 2018. A Simple Test Identifies Selection on Complex Traits. *Genetics* 209, 321–333. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300857>
- Bijma, P., 2014. The quantitative genetics of indirect genetic effects: a selective review of modelling issues. *Heredity* 112, 61–69. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.15>

- Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., Huard, F., 2010. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Research* 119, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012>
- Colombo, M., Montazeaud, G., Viader, V., Ecartot, M., Prosperi, J.-M., David, J., Fort, F., Violle, C., Fréville, H., 2022a. A genome-wide analysis suggests pleiotropic effects of Green Revolution genes on shade avoidance in wheat. *Evolutionary Applications* 15, 1594–1604. <https://doi.org/10.1111/eva.13349>
- Colombo, M., Roumet, P., Salon, C., Jeudy, C., Lamboeuf, M., Lafarge, S., Dumas, A.-V., Dubreuil, P., Ngo, W., Derepas, B., Beauchêne, K., Allard, V., Le Gouis, J., Rincent, R., 2022b. Genetic Analysis of Platform-Phenotyped Root System Architecture of Bread and Durum Wheat in Relation to Agronomic Traits. *Frontiers in Plant Science* 13.
- Cossani, C.M., Sadras, V.O., 2021. Symmetric response to competition in binary mixtures of cultivars associates with genetic gain in wheat yield. *Evolutionary Applications* 14, 2064–2078. <https://doi.org/10.1111/eva.13265>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Dawson, J.C., Goldringer, I., 2012. Breeding for Genetically Diverse Populations: Variety Mixtures and Evolutionary Populations, in: *Organic Crop Breeding*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 77–98. <https://doi.org/10.1002/9781119945932.ch5>
- 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. <https://doi.org/10.1086/374951>
- Donald, C.M., 1968. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17, 385–403. <https://doi.org/10.1007/BF00056241>
- Endelman, J.B., 2011. Ridge Regression and Other Kernels for Genomic Selection with R Package rrBLUP. *The Plant Genome* 4. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2011.08.0024>
- Fischer, R.A., Moreno Ramos, O.H., Ortiz Monasterio, I., Sayre, K.D., 2019. Yield response to plant density, row spacing and raised beds in low latitude spring wheat with ample soil resources: An update. *Field Crops Research* 232, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.12.011>
- Forst, E., Enjalbert, J., Allard, V., Ambroise, C., Krissaane, I., Mary-Huard, T., Robin, S., Goldringer, I., 2019. A generalized statistical framework to assess mixing ability from incomplete mixing designs using binary or higher order variety mixtures and application to wheat. *Field Crops Research* 242, 107571. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107571>
- Goldringer, I., Brabant, P., Kempton, R.A., 1994. Adjustment for Competition Between Genotypes in Single-Row-Plot Trials of Winter Wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 112, 294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1994.tb00687.x>

- Grime, J.P., 1973. Competition and Diversity in Herbaceous Vegetation (reply). *Nature* 244, 311–311. <https://doi.org/10.1038/244311a0>
- Hamblin, J., Donald, C.M., 1974. The relationships between plant form, competitive ability and grain yield in a barley cross. *Euphytica* 23, 535–542. <https://doi.org/10.1007/BF00022474>
- Koebner, R.M.D., Summers, R.W., 2003. 21st century wheat breeding: plot selection or plate detection? *Trends in Biotechnology* 21, 59–63. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)00036-7)
- López Pereira, M., Sadras, V.O., Batista, W., Casal, J.J., Hall, A.J., 2017. Light-mediated self-organization of sunflower stands increases oil yield in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114, 7975–7980. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618990114>
- Lynch, J.P., Lynch, J.P., 2007. Roots of the Second Green Revolution. *Aust. J. Bot.* 55, 493–512. <https://doi.org/10.1071/BT06118>
- Mahmoud, M., Tost, M., Ha, N.-T., Simianer, H., Beissinger, T., 2023. Ghat: an R package for identifying adaptive polygenic traits. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 13, jkac319. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkac319>
- Montazeaud, G., Flutre, T., Ballini, E., Morel, J.-B., David, J., Girodolle, J., Rocher, A., Ducasse, A., Violle, C., Fort, F., Fréville, H., 2022. From cultivar mixtures to allelic mixtures: opposite effects of allelic richness between genotypes and genotype richness in wheat. *New Phytologist* 233, 2573–2584. <https://doi.org/10.1111/nph.17915>
- Nakhforoosh, A., Nagel, K.A., Fiorani, F., Bodner, G., 2021. Deep soil exploration vs. topsoil exploitation: distinctive rooting strategies between wheat landraces and wild relatives. *Plant Soil* 459, 397–421. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04794-9>
- Reynolds, M.P., Slafer, G.A., Foulkes, J.M., Griffiths, S., Murchie, E.H., Carmo-Silva, E., Asseng, S., Chapman, S.C., Sawkins, M., Gwyn, J., Flavell, R.B., 2022. A wiring diagram to integrate physiological traits of wheat yield potential. *Nat Food* 3, 318–324. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00512-z>
- Rimbert, H., Darrier, B., Navarro, J., Kitt, J., Choulet, F., Leveugle, M., Duarte, J., Rivière, N., Eversole, K., Consortium, on behalf of T.I.W.G.S., Gouis, J.L., Consortium, on behalf T.B., Davassi, A., Balfourier, F., Paslier, M.-C.L., Berard, A., Brunel, D., Feuillet, C., Poncet, C., Sourdille, P., Paux, E., 2018. High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. *PLOS ONE* 13, e0186329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186329>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.spasta.2017.10.003>
- Sakai, K.-I., Suzuki, Y., 1955. Studies on competition in plants. *Journ. of Genetics* 53, 11–20. <https://doi.org/10.1007/BF02981504>
- Sampoux, J.-P., Giraud, H., Litrico, I., 2020. Which Recurrent Selection Scheme To Improve Mixtures of Crop Species? Theoretical Expectations. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 10, 89–107. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400809>

- Slafer, G.A., García, G.A., Serrago, R.A., Miralles, D.J., 2022. Physiological drivers of responses of grains per m<sup>2</sup> to environmental and genetic factors in wheat. *Field Crops Research* 285, 108593. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108593>
- Soenen, B., Le Bris, X., Laberdesque, M., Cohan, J.-P., Laurent, F., Bouthier, A., Gouache, D., Garcia, C., 2016. " CHN ", a crop model to jointly manage water and nitrogen on winter wheat. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3747.2400>
- Suneson, C.A., Wiebe, G.A., 1942. Survival of Barley and Wheat Varieties in Mixtures<sup>1</sup>. *Agronomy Journal* 34, 1052–1056. <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400110010x>
- Waines, J.G., Ehdaie, B., 2007. Domestication and Crop Physiology: Roots of Green-Revolution Wheat. *Annals of Botany* 100, 991–998. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm180>
- Weigelt, A., Jolliffe, P., 2003. Indices of Plant Competition. *Journal of Ecology* 91, 707–720.
- Wolf, J.B., 2003. Genetic architecture and evolutionary constraint when the environment contains genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 4655–4660. <https://doi.org/10.1073/pnas.0635741100>
- Wright, A.J., 1985. Selection for improved yield in inter-specific mixtures or intercrops. *Theoret. Appl. Genetics* 69, 399–407. <https://doi.org/10.1007/BF00570909>
- Zhu, Y.-H., Weiner, J., Yu, M.-X., Li, F.-M., 2019. Evolutionary agroecology: Trends in root architecture during wheat breeding. *Evolutionary Applications* 12, 733–743. <https://doi.org/10.1111/eva.12749>

### **c. Transition**

Dans son papier (Donald, 1968), Donald pose quelques limites à son idéotype et suggère qu'il n'est pas adapté en cas de répartition hétérogène des ressources, de l'augmentation du nombre de ressources limitantes (eau, lumière, azote) ou de l'augmentation de la variabilité climatique annuelle. Dans ces contextes, la lumière n'est en effet plus le seul facteur limitant, et extraire les autres ressources limitantes du milieu nécessite le développement d'autres organes de la plante. Ainsi dans un contexte de mélange variétal développé dans des conditions agronomiques conventionnels, le progrès génétique réalisé en culture pure est une composante importante de la performance des mélanges. Cependant dans un contexte de réduction de l'usage des intrants chimiques, ce progrès génétique pourrait desservir la performance du couvert comme suggéré par Donald et d'autres objectifs de sélection seraient à mettre en place.

## **2. Le niveau de ressource influence-t-il les résultats des interactions entre les plantes dans les parcelles de mélange de blé dur ?**

La transition agroécologique exige une révision des pratiques agronomiques afin de relever de nouveaux défis tels que la réduction des intrants. Dans cette optique, l'augmentation de la diversité des cultures au sein des champs en cultivant des mélanges de génotypes a été proposée comme une piste prometteuse (Barot et al., 2017; Borg et al., 2018). Toutefois, les effets de l'augmentation de la diversité génétique se révèlent très variables (positifs et négatifs) d'une expérimentation à une autre, ce qui souligne la nécessité d'une compréhension plus approfondie des facteurs environnementaux et génétiques qui influencent les performances des mélanges. Dans ce chapitre on se propose d'étudier l'avantage des mélanges variétaux par rapport aux couverts mono-génotypiques dans des conditions de faibles et hauts niveaux d'intrants.

# Context-dependency rather than resource availability drives the contribution of plant-plant interactions to the agronomic performance of genotype mixtures

Colombo M<sup>\*12</sup>, Fréville H<sup>1</sup>, Rocher A<sup>1</sup>, De Vita P<sup>3</sup>, Laido G<sup>3</sup>, Ecartot M<sup>1</sup>, Compan F<sup>1</sup>, Fort F<sup>2</sup>, Violle C<sup>4</sup>, Pecchioni N<sup>3</sup>, Roumet P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

<sup>2</sup>CEFE, Univ. Montpellier, Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

<sup>3</sup>CREA, Centro di Ricerca Cerealcoltura e Colture Industriali, 71122 Foggia, Italy

<sup>4</sup>CEFE, Univ. Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

\*Corresponding author: [michel.colombo@inrae.fr](mailto:michel.colombo@inrae.fr)

To be resubmitted to *Field Crops Research* after revision.

## Abstract

### Context

Agro-ecological transition calls for revisiting agronomic practices to meet new challenges such as reducing inputs. To do so, increasing within-field diversity of crops by cultivating genotype mixtures has been proposed as a promising leverage. Yet, mixing effects have been shown to be highly variable, calling for a more thorough understanding of the environmental and genetic drivers of mixture performance to improve breeding strategies.

### Objectives

This study aimed at testing whether 1) the benefit of mixing genotypes was stronger in low-resource availability, 2) the contribution of non-additive genetic effects to mixture performance increased with resource availability.

### Methods

We used a genetically highly diverse collection of durum wheat varieties to assess mixing effects on agronomic performance (yield and grain quality) in two-component genotypic mixtures trials grown under two levels of resource availability in water and nitrogen, in France and Italy. First, mixing effects was assessed by computing in each location and each resource level, the net biodiversity effect measuring the advantage of mixture stands over monogenotypic stands. Second, the contribution of plant-plant interactions to mixture performance was assessed by decomposing the variance in agronomic performance into a general performing ability (GPA) corresponding to the contribution of pure stand performance

to mixture performance, a true general mixing ability (TGMA) and a specific mixing ability (SMA) corresponding to respectively the additive and non-additive contributions of interactions between varieties.

### Results

Mixing effects (Net biodiversity effect) were more impacted by location (France and Italy) than by resource availability. Indeed, in France, variations in mixture performance were mostly explained by the general performing ability, and might result from climatic conditions during the growing season. In contrast, in Italy, the true general mixing ability (TGMA; resulting from non-specific inter-genotypic interactions) was the main contributor of variations in mixture performance.

### Conclusion

Overall, our experiment highlights that mixing effects and their underlying genetic contributions are dependent from local uncontrolled environmental factors.

### Implications for breeding

Such context-dependency of mixing effects has important implications for designing adequate breeding strategies for diversified agrosystems. When GPA mainly drives mixture performance through key adaptive traits, performant mixtures can be designed by selecting varieties that perform best in pure stands. Thus, limited effort on genotypic combination replication should be realized. Our results also highlight the need to develop multi-environment trials to evaluate the context dependency of both mixture performance and the relevance of accounting for inter-genotypic interactions into breeding programs.

## **Introduction**

Genetic progress of major crops has been achieved during the 20<sup>th</sup> century through the breeding of elite lines adapted to cropping conditions of modern arable cropping system characterized by sole cropping and high chemical use (Tilman and Lehman, 2001). This agricultural model has reached its limits because of its detrimental effects on ecosystems and human health, and lack of long-term economic sustainability (Vitousek et al., 1997). In addition, global change has led to increasing inter-annual climatic variability, making it difficult for breeders to sustain genetic progress (Brisson et al., 2010; Grassini et al., 2013). Developing agrosystems with agro-ecological practices inspired from the functioning of natural ecosystems has been proposed as a solution to achieve more sustainable agriculture (Altieri, 1989). In this context, re-introducing biodiversity in agrosystems has received increasing attention in recent decades (Barot et al., 2017; Reiss and Drinkwater, 2018).

Numerous studies on natural ecosystems have shown a positive relationship between biodiversity and productivity (Hector et al., 1999; Loreau et al., 2001; van Ruijven and



Berendse, 2005). In agrosystems, positive effects of diversity on crop yield have been widely documented in genotypic mixtures (Borg et al., 2018; Kiær et al., 2009; Reiss and Drinkwater, 2018). For instance, a meta-analysis including 32 publications on wheat has shown that the average gain in productivity of a genotypic mixture compared with the weighted mean of its component varieties in pure stand was equal to 2.9% (Borg et al., 2018). This suggests that genotype mixtures could be one leverage to maintain yield. Yet, mixing effects are highly variable, showing that the outcome of interactions between varieties can either positively or negatively affect yield (Borg et al., 2018; Reiss and Drinkwater, 2018). Understanding the drivers of such variability is necessary to avoid *naïve* approaches to the development of genotypic mixtures in the field.

The rationale of quantitative genetics can help in deciphering such drivers. Indeed, in this framework, variation of any variable can be expressed as an environmental effect and a genetic effect. Environment, such as the level of resources, has been shown to explain part of the variability of yield in genotypic mixtures (Borg et al., 2018; Reiss and Drinkwater, 2018). For instance, positive mixing effects were stronger in genotypic mixtures grown under abiotic stressors such as low levels of nutrient availability (Reiss and Drinkwater, 2018). Such environment dependency of mixing effects might be explained by the niche dimensionality theory developed in ecology. This theory states that increasing the number of limiting resources promotes the co-existence of genotypes that differ in their resource use, leading to niche partitioning (Harpole et al., 2017; Kneitel and Chase, 2004). In high-input agrosystems, humans provide all the nutrients plant need through fertilizers and watering, thus reducing the number of potential limiting factors. The development of low input practices is expected to give rise to more limiting factors. According to the niche dimensionality theory, growing mixtures in such agrosystems might help to utilize resources more efficiently (Brooker et al., 2021), leading to stronger mixing effects in low-resource environments. Yet more studies are needed to test this hypothesis.

Apart from environment, the genetic composition of mixtures has also been shown to explain the variability of mixing effects in genotypic mixtures (Alsabbagh et al., 2022; Forst et al., 2019). In quantitative genetics, mixture performance is classically partitioned into an additive genetic component corresponding to the average performance of a genotype in mixture (general mixing ability, GMA) and a non-additive genetic component due to the interaction between varieties occurring in a given mixture (specific mixing ability, SMA; Forst et al., 2019). GMA can be further partitioned into a general performing ability (GPA) corresponding to the genotypic performance in pure stand resulting from intra-genotypic interactions, and the true general mixing ability (TGMA) corresponding to the part of the GMA resulting from inter-genotypic interactions (Federer et al., 1982; Knott and Mundt, 1990). To

our knowledge, this approach has not yet been applied to compare the relative contribution of each genetic term to mixing effects for genotypic mixtures grown in different environments.

Assessing the relative contribution of genetic components to mixture performance has important implications for mixture designs and plant breeding (Forst et al., 2019). Indeed, whenever mixture performance is driven by a large contribution of the mean performance of varieties in pure stands (GPA), performant mixtures can be designed by selecting varieties that perform best in pure stands. In contrast, whenever mixture performance is mainly driven by interactions between varieties, this calls for designing dedicated breeding schemes.

This study aimed at testing whether 1) the benefit of mixing genotypes was stronger in low-resource availability, 2) the contribution of non-additive genetic effects to mixture performance increased with resource availability.

In this study, we used a genetically highly diverse collection of durum wheat varieties to compare mixing effects and the relative contribution of genetic components, for two-component genotypic mixtures grown in two environments differing in the level of water and nutrient inputs, both in France and Italy. To evaluate the context dependency, *i.e.* the effects of resource x location combinations, of the contribution of genetic components to mixture performance, we assessed correlations between values of each genetic component (GPA, TGMA and SMA) between levels of resources in each location, and between locations for each level of resources.

## **Material and methods**

### **Experimental design**

We grew thirty-six durum wheat genotypes under field conditions. These genotypes include 6 genotypes derived from a pre-breeding population (EPO) developed at INRAe Montpellier, France (David et al., 2014), and 30 genotypes from French and Italian collections adapted to west Europe environments (Taranto et al., 2020). These 36 genotypes were selected from a set of 250 durum wheat lines to represent the diversity of genotypic response to low resource environment in root and aerial traits as well as yield (Collet, 2022). The experiment was conducted in two locations, at Foggia, Italy (CREA, 41.45°N, 15.51 °E) and at Montpellier, France (GEVES, 43.66 °N, 3.88°E) during the 2019-2020 and the 2020-2021 growing seasons, respectively. For a given location, plants grew under two resource conditions: standard supply in N and water as used in conventional agriculture (R+), and low supply in N and water (R-). For each treatment, genotypes were sown in monogenotypic plots (n = 36) and in three two-component mixtures with three different genotypes selected at random (n = 54). For mixture plots, seeds of the two components were mixed in equal

proportion before sowing and were thus sown randomly within plots. Plots were replicated twice, leading to a total of 360 plots in each location. Monogenotypic and mixture plots were randomly arranged within blocks. Detailed information on plot size and agronomic management is provided in Supplementary material.

## Performance measurements

We measured two components of agronomic performance in monogenotypic plots and mixture plots: grain yield (GY, g/m<sup>2</sup>) and grain Protein yield (g/m<sup>2</sup>). Grain Protein yield was computed as the product between grain yield and grain protein content (GPC, in %). Grain protein content (in %) corresponds to the mass fraction of protein in the grain, and was estimated with a PerkinElmer Frontier spectrophotometer (Waltham, MA 02451 USA). We used grain Protein yield rather than grain protein content (GPC) to quantify grain N accumulation. Indeed, expected grain protein content in a mixture is not the mean of grain protein content of mono-genotypic stands as GPC is a concentration. This might lead to misleading SMA and net biodiversity effect due to non-additivity and non-linearity of concentration.

Two functional traits were measured. Day of earring (DOE) was measured as the median flowering date of a plot and Plant height (PH) was measured as the average plant height of a plot. Both were estimates by visual examination.

## Statistics

All statistical analyses were performed with R software v.4.1.2 (R Core Team 2021).

### Comparison of mixture and monogenotypic stand performances across levels of resources

Grain yield and grain Protein yield were adjusted for block effects. Then, to test for the effect of resource level on mixing effects in each location, we computed the net biodiversity effect (NBE; Loreau and Hector, 2001) for each mixture in each level of resource x location combination:

$$NBE_{ijk} = Y_{ijk} - \frac{1}{2}Y_{ik} - \frac{1}{2}Y_{jk}$$

where  $NBE_{ijk}$  is the net biodiversity effect observed in mixtures of genotypes  $i$  and  $j$  in block  $k$ ,  $Y_{ijk}$  represents the performance of mixture  $i$  and  $j$  in block  $k$ ,  $Y_{ik}$  and  $Y_{jk}$  represent the performance of genotypes  $i$  and  $j$  respectively in monogenotypic plots in block  $k$ . Under no

mixing effects, NBE equals 0. Negative or positive values of NBE indicate that mixture performances are respectively, lower or higher than the expected value based on the average performance of monogenotypic stands of mixture components. To test for differences in NBE, we did not perform ANOVA because of high heterogeneity variance between resource levels and between locations. Thus, we performed paired t-tests between R+ and R- plots in each location, and between France and Italy in each resource level.

## Genetic analysis of mixture performance

To assess the contribution of genetic effects to variation in mixture performance, we analyzed the performance of the 432 mixture plots. Monogenotypic plots were only used as explanatory variables. We decomposed mixture performance into a general mixing ability (GMA, global effect of genotype across the three mixtures) and specific combining ability (SMA, genotypic effect resulting from the specific interaction between varieties in a given mixture). GMA was further decomposed into a general performing ability (GPA) corresponding to the performance of genotypes in pure stands, and a true general mixing ability (TGMA) corresponding to the part of GMA resulting from inter-genotypic interactions (Federer et al., 1982). To do so, we modeled each variable of agronomic performance within each combination of resource and location as follows:

$$Y_{ijk} = \mu_k + \frac{1}{2} \times b_{GPA}(GPA_i + GPA_j) + \frac{1}{2} \times (TGMA_i + TGMA_j) + SMA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

with  $GMA_i = GPA_i + TGMA_i$  and  $GMA_j = GPA_j + TGMA_j$

Where  $Y_{ijk}$  represents the performance variable of mixture  $i$  and  $j$  in block  $k$ ,  $\mu_k$  represents the effect of the  $k^{\text{th}}$  block with  $k = 1$  or  $2$  within each location x level of resource combination,  $GPA_i$  and  $GPA_j$  correspond to the performance of mixture components  $i$  and  $j$  grown in pure stands (continuous measured variable), and  $\frac{1}{2} \times b_{GPA}$  corresponds to the regression coefficient of GPA on mixture performance.  $TGMA_i$  and  $TGMA_j$  represent the true general mixing ability of genotypes  $i$  and  $j$ , respectively (categorical variable given by experimental design).  $SMA_{ij}$  is the specific mixing ability of  $i$  and  $j$  representing the contribution of the interaction between genotype  $i$  and genotype  $j$  (categorical variable given by experimental design), and  $\varepsilon_{ijk}$  represents the random error term.  $GMA_i$  and  $GMA_j$  are the general mixing ability of  $i$  and  $j$  corresponding to the additive contribution of genotypes  $i$  and  $j$ , respectively (categorical variable given by experimental design). Models for ANOVA computation were fitted using the package *ImDiallele* (Onofri et al., 2021). As GPA effect is

included in GMA, models were fitted in two steps. First, we fitted a model to estimate GMA. Second, we estimated SMA as the effect of genotypic mixture on the residuals of the relation between performance and GMA. Third, GPA was estimated as the effect of pure stand performance on the estimation of GMA. Finally, TGMA was estimated as the residuals of the relation between GPA and GMA.

Finally, to evaluate the context dependency, *i.e.* the effects of resource x location combinations, of the contribution of genetic components to mixture performance, we assessed correlations between values of each genetic component (GPA, TGMA and SMA) between levels of resources in each location, and between locations for each level of resources. A strong correlation between values of a given genetic component evaluated in different environmental conditions indicates that environmental conditions have little influence on the genetic component. To assess the significance of correlations, we used Pearson correlation coefficients rather than standard ANOVA tests because of variance heterogeneity between levels of resource and location.

## Functional analysis of genotypic effects.

GPA and TGMA corresponds to additive genetic effect. Thus, to measure the importance of plant height and day of earring in GPA performance, we measured the Pearson correlation coefficient between GPA and plant height and day of earring.

SMA corresponds to non-additive genetic performance, thus it depends on genetic value of both interacting partners in a mixture. Thus to measure the importance of plant height and day of earring in SMA performance, we measured the spearman correlation coefficient between SMA and phenotypic distance between partners of the mixture measured in single genotypic plot. Phenotypic distance is a measured of functional diversity and was computed within each block as followed:

$$FD_{ij} = |T_{ii} - T_{jj}|$$

Where  $FD_{ij}$  represents the functional diversity of mixture of genotype i and j for the trait T and  $T_{ii}$  represents the value of Trait in single genotypic plot of genotype i.

## Envirotyping

To assess whether nitrogen availability, water availability, and temperatures could be limiting under each resource condition, we conducted an environmental analysis in each location based on data encompassing cultivation practices, soil characteristics, climate from local weather stations, and plant growth and reproductive development of the Anvergur cultivar

in monogenotypic plots. We focused on four phenological stages of Anvergur, delineating three developmental phases: 2 leaves to 1 cm ear, 1 cm ear to flowering, flowering to doughy grain. In each phase, we characterized three abiotic factors: nitrogen, water, and temperatures.

To assess nitrogen limitations, we estimated the total amount of available nitrogen by summing the mineral nitrogen present in the soil and the nitrogen from fertilizer inputs. We then computed the expected average grain yield based on the available nitrogen, using a ratio between the quantity of product harvested per unit of nitrogen: in accordance with the recommendations of the French agricultural technical institute (Arvalis), the nitrogen production coefficient was set at 3.5 to achieve a production of 100 kg of grain with a protein content of 14%. The plant's available water resource (PAWR) was determined by calculating the balance between soil water resources, comprising readily available soil water supplemented by rainfall and irrigation inputs, and plant requirements derived from evapotranspiration multiplied by  $k_c$ , a plant development index ranging from 0.5 to 1.2, depending on the plant's stage (Gate 1995). This calculation was updated on a daily basis, using the previous day's PAWR as input data. Finally, we assessed the occurrence of limiting temperatures throughout the plant life cycle. As temperature thresholds vary depending on the plant's development, we further subdivided the phase from 1 cm ear to flowering into two periods, corresponding to the pre- and post- 2 nodes stage. We then counted the number of days with temperatures below  $-5^{\circ}\text{C}$ ,  $0^{\circ}\text{C}$  and  $4^{\circ}\text{C}$  during the initial three phases, respectively, and days with temperatures exceeding  $30^{\circ}\text{C}$  during the post- 2 nodes phase.

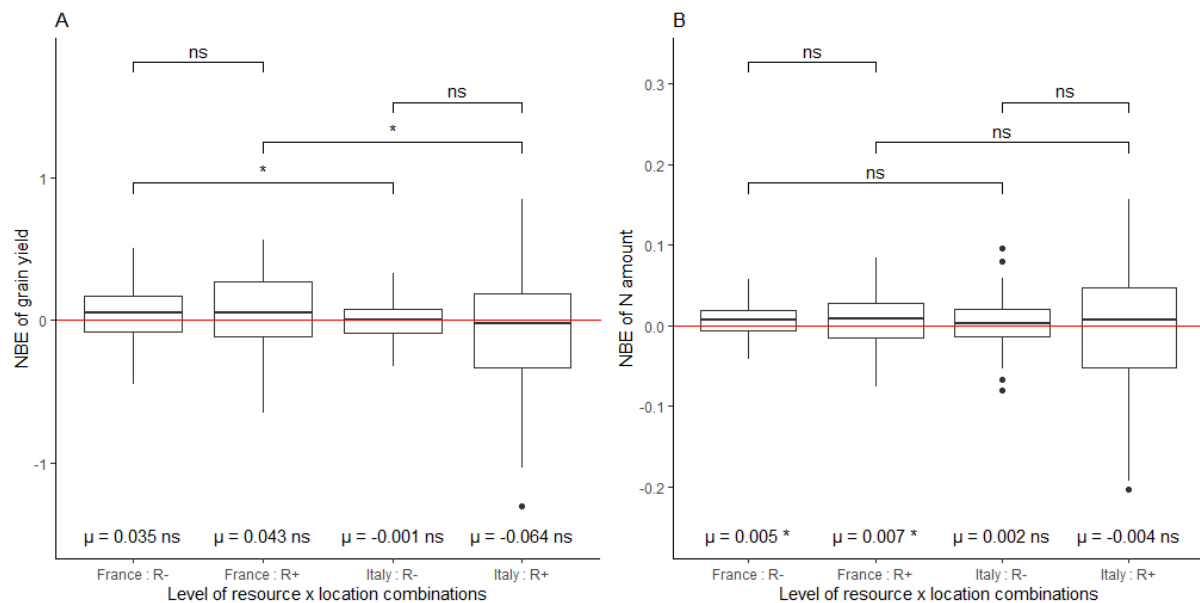
## Results

In Montpellier, under the R+ condition, we found no evidence of N and water limitations. Despite rainfall occurring just after fertilization (Figure S1), which ensures optimal conditions for nitrogen mobilization by the plant, the observed grain yield based on available N was lower than the expected grain yield (Table S1). Moreover, water availability consistently met the plant's requirements throughout the crop cycle (Figure S1). This suggests the occurrence of other limiting factors. Under the R- condition, nitrogen inputs were not limiting (Table S1). However, we observed moderate water stress towards the end of grain filling (Figure S1). Finally, in both R+ and R-, temperatures were limiting for plant development, with repeated occurrences of freezing temperatures, particularly during the establishment of the number of spikes and grains per spike (from two nodes to flowering) (Table S2, Figure S2). Indeed, nearly 60% of this period, based on the development of Anvergur, was affected by low temperatures, including negative temperatures for 8 days (Table S2). These low temperatures were particularly observed during the 15 days preceding the date of heading, with the earliest plots being the most affected — 14 out of 15 days for those whose heading was observed at 90 days, and 2 out of 15 days for the latest plots (Figure S2). Thus, the high occurrence of freezing temperatures before flowering drastically reduced grain yield potential. In summary, there were more limiting factors under the R- condition compared to R+, with temperature being a limitation under both R+ and R- conditions, and water availability being limiting only in R-.

In Foggia, under the R+ condition, we found no evidence of resource limitations. Environmental conditions were adequate to attain the crop yield potential, as evidenced by the observed grain yield based on available N being comparable to the expected grain yield (Table S1). This was observed despite brief periods of mild water stress occurring around the 1 cm ear to flowering period and during the grain-filling stage (Figure S1). Under the R- condition, nitrogen inputs met the plant's requirements. The observed grain yield based on available N was lower than the expected grain yield (Table S1), suggesting other limiting factors. Indeed, reduced irrigation and the absence of rain led to progressively severe water stress from heading to grain maturity (Figure S1). Limiting temperatures were rare, and if observed, as during the 2 nodes-flowering phase, they remained close to the threshold (from 1.5 to 2°C, Table S2). In summary, there was no evidence for limiting factors in R+, whereas water proved to be highly limiting throughout the plant's life-cycle, impacting the plant's nitrogen remobilization. Characterization of abiotic factors (water, N, and temperatures) is provided in the Supplementary Information (Figure S1, Table S1, Table S2, and Figure S2).

## Impacts of resource level and location on Net Biodiversity Effect

Net Biodiversity Effect of grain yield did not vary between resource levels in any location ( $p > 0.05$ , Figure 1A). NBE was higher in France than in Italy in each level of resource ( $p < 0.05$ , Figure 1A). Yet, it was never significantly different from 0 in any combination of resource level and location (Figure 1A). Net Biodiversity Effect of grain Protein yield did not vary between resource levels in any location ( $p > 0.05$ , Figure 1B) nor between locations in any level of resource ( $p > 0.05$ , Figure 1B). In addition, NBE of grain Protein yield were significantly higher than 0 in France at both levels of resources ( $p < 0.05$ , Figure 1B).



**Figure 1: Boxplots of Net biodiversity effect (NBE) for (A) grain yield, and (B): grain Protein yield, in both locations (France and Italy) and in both resource levels (R-: low resource level, R+: high resource level).** The significance of p-values associated with paired t-tests is reported (ns: non-significant, \*  $p < 0.05$ ). Mean values of NBE ( $\mu$ ) and the associated p-value of the t-test for comparing  $\mu$  to the zero value are provided. The red line indicates the expected value of NBE under no mixing effects (NBE = 0).

## Genetic analysis of mixture performance

In both locations and each level of resources, GMA (GPA + TGMA) contributed the most to variation in mixture agronomic performance measured as grain yield and grain Protein yield, with a stronger contribution in France than in Italy (Table 1). In France, GPA, the genetic component corresponding to genotypic performance in pure stands, was the most important contributor to variation of both grain yield of mixtures with 76.5 % of variance explained in R- ( $p < 0.001$ ) and 80.0% in R+ ( $p < 0.001$ ) (Table 1A), and variation in grain Protein yield with 51.8 % of variance explained in R- ( $p < 0.001$ ) and 70.1% in R+ ( $p < 0.001$ ) (Table 1B). In



contrast, in Italy, TGMA, the true general mixing ability, was the genetic component that contributed the most to variation of both grain yield of mixtures, with 52.6% ( $p < 0.05$ ) of variance explained in R- and 50.8% in R+ ( $p < 0.01$ ) and grain Protein yield of mixtures, with 45.7% ( $p > 0.05$ ) of variance explained in R- and 53.3% in R+ ( $p < 0.05$ ). The second most important contributor to variation in mixture performance in France was TGMA for both variables, whereas it was SMA in Italy. Yet, the non-additive genetic component SMA due to the interaction between varieties did not significantly contribute to variation in mixture grain yield and mixture grain Protein yield in any level of resources in any location for any performance variable (Tables 1A & 1B).

For grain yield, GPA values were positively correlated between R+ and R- in both locations ( $R = 0.44$ ,  $p < 0.01$  in Italy and  $R = 0.85$ ,  $p < 0.0001$  in France, Figure 2A) whereas TGMA values were uncorrelated in all combinations of resource and location (Figures 2A & 2B). SMA values between R+ and R- were positively correlated only in France ( $R = 0.43$ ,  $p < 0.01$ ; Figure 2A). A significant negative correlation between SMA values in France and in Italy was observed in R- ( $R = -0.33$ ,  $p < 0.05$ ; Figure 2B).

For grain Protein yield, GPA values between R+ and R- were only significantly correlated in France with a positive relationship ( $R = 0.71$ ,  $p < 0.0001$ ; Figure 3A). Contrary to grain yield, a significant positive correlation was observed between TGMA values in R+ and R- in Italy ( $R = 0.39$ ,  $p < 0.05$ ; Figure 3A). Overall, correlation patterns of SMA were similar to grain yield but correlations were stronger (Figures 3A & 3B).

Mixture DOE was strongly similar to expected DOE measured in single genotypic plot. In France departure from this similarity were explained by with strong DOE differences in single genotypic plot. These results were not observed for PH. Finally expected mean DOE of mixture plot were negatively correlated with phenotypic distance on DOE of mixture plot ( $r$  range from -0.18 to -0.45 depending on location x level of resource combination).

A

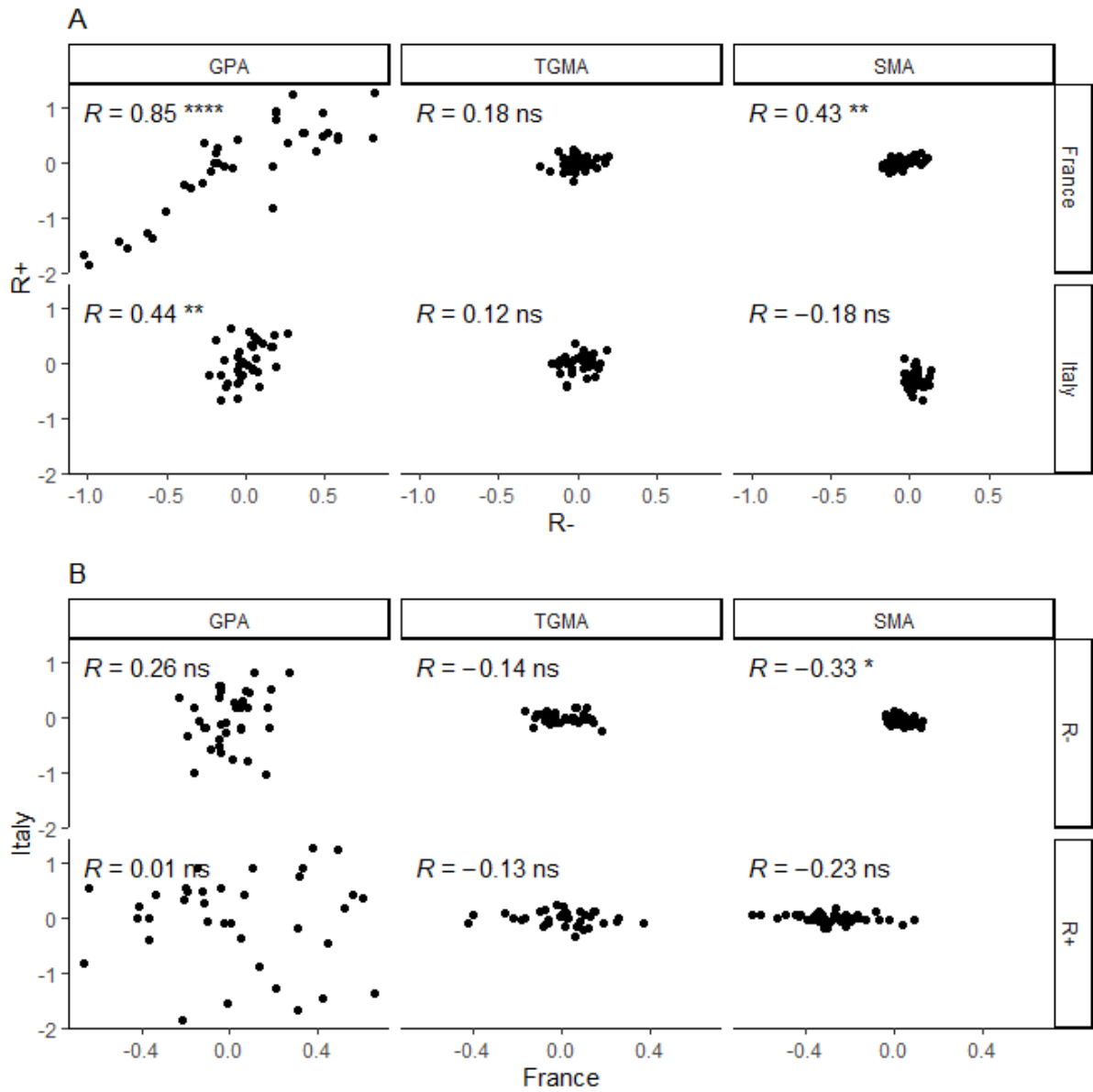
Grain Yield		France		Italy	
		R-	R+	R-	R+
GMA	GPA	<b>76.5 % ***</b>	<b>80.0 %***</b>	1.1 %	<b>3.2 %*</b>
	TGMA	<b>10.6 %*</b>	9.5 %	<b>52.6 %*</b>	<b>50.8 %**</b>
SMA	SMA	3.4 %	1.1 %	13.8 %	15.2 %
TOTAL		90.5%	90.6%	67.5%	69.2%

B

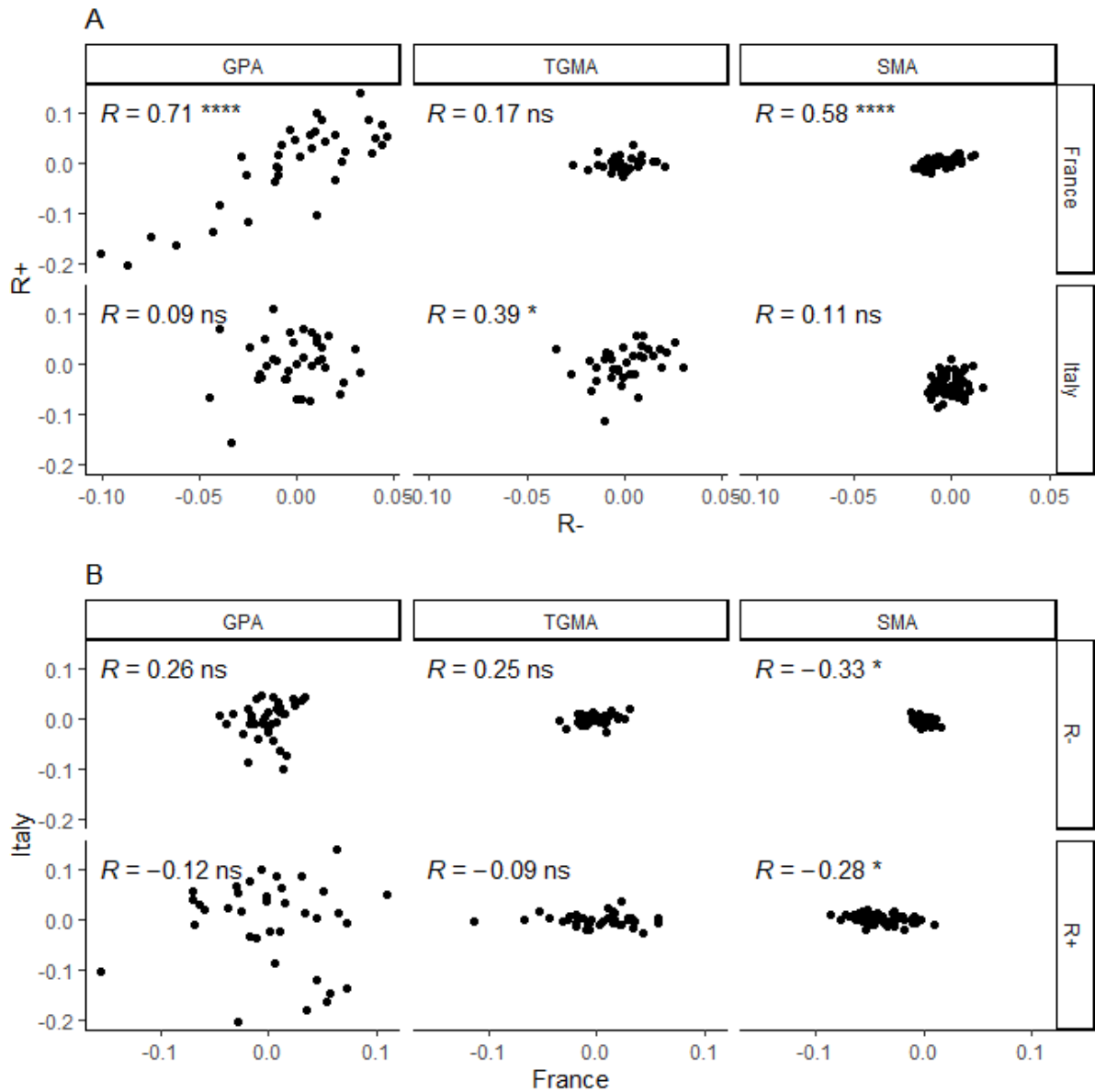
Grain Protein yield		France		Italy	
		R-	R+	R-	R+
MA	GPA	<b>51.8 % ***</b>	<b>70.1 %***</b>	<1 %	<1 %
	TGMA	<b>22.1 %*</b>	12.1 %	45.7 %	<b>53.3 %*</b>
SMA	SMA	6.1 %	1.8 %	7.3 %	7.3 %
TOTAL		80%	84%	53%	60.6%

**Table 1: Proportion of variance ( $\eta^2$ ) explained by GPA, TGMA, SMA and TOTAL genetic effect in each location x level of resource for grain yield (A) and grain Protein yield (B).**

Significant effects are reported in brackets (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

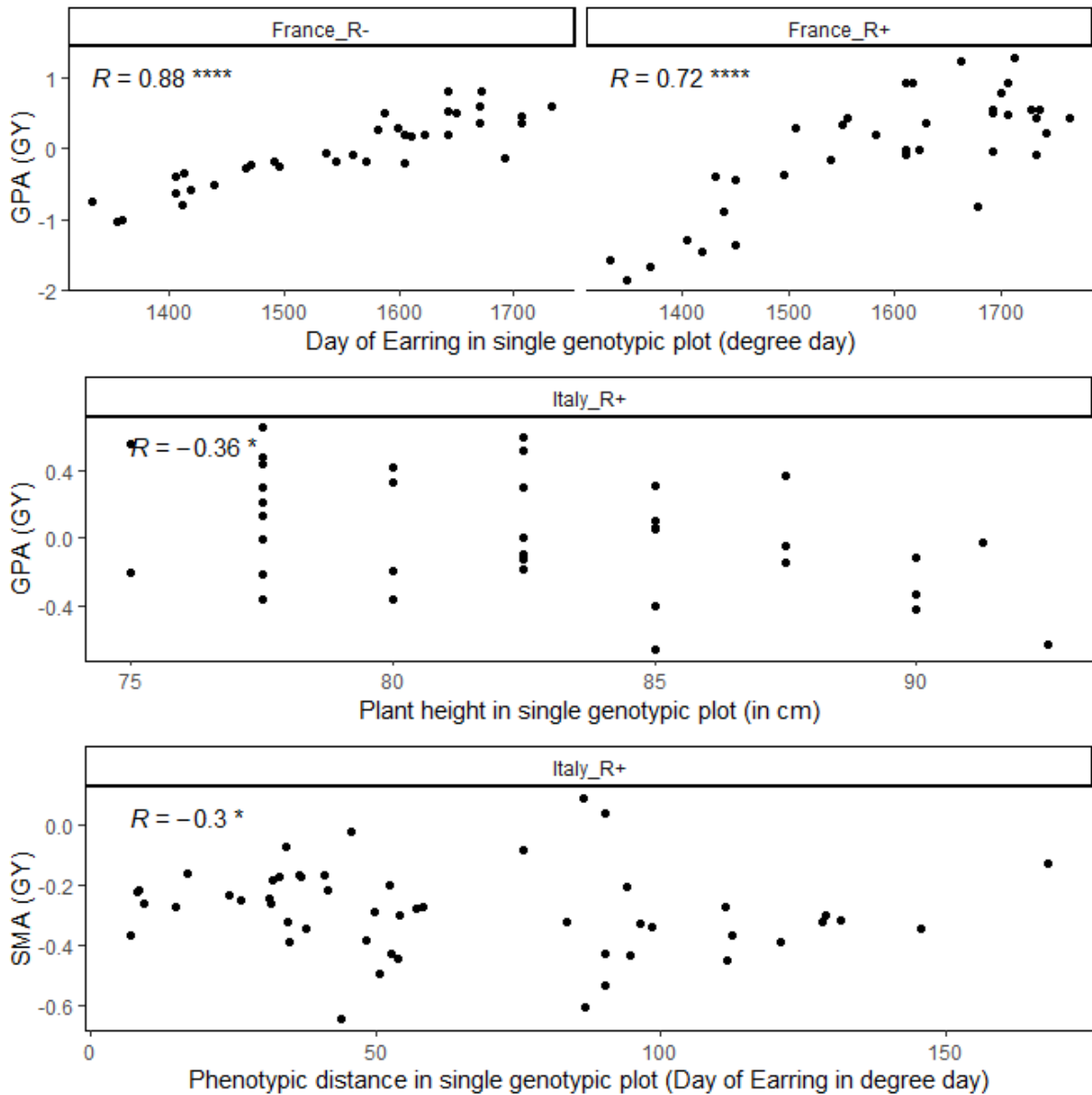


**Figure 2: Relationships between values of each genetic component (GPA, TGMA & SMA) of mixture yield between (A): levels of resources in each location and B: locations for each level of resources.** The significance of the Spearman coefficients is reported (ns: non-significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p$ -values  $< 0.001$ , \*\*\*\*:  $p$ -values  $< 0.0001$ ).

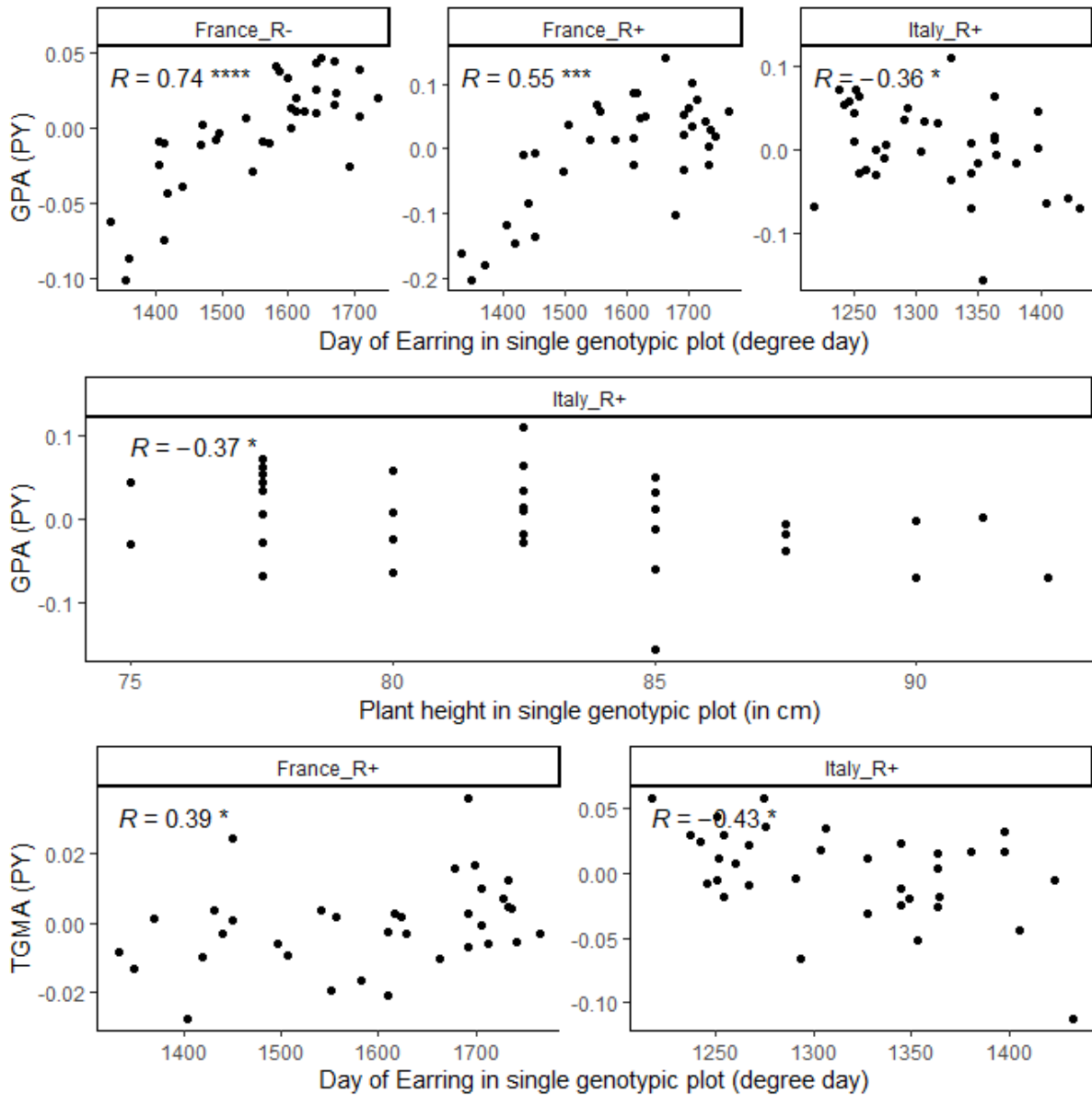


**Figure 3: Relationships between values of genetic component (GPA, TGMA & SMA) of grain Protein yield between (A): levels of resources in each location and (B): locations for each level of resources.** *The significance of the Spearman coefficient is reported (ns: non-significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p$ -values  $< 0.001$ , \*\*\*\*:  $p$ -values  $< 0.0001$ ).*

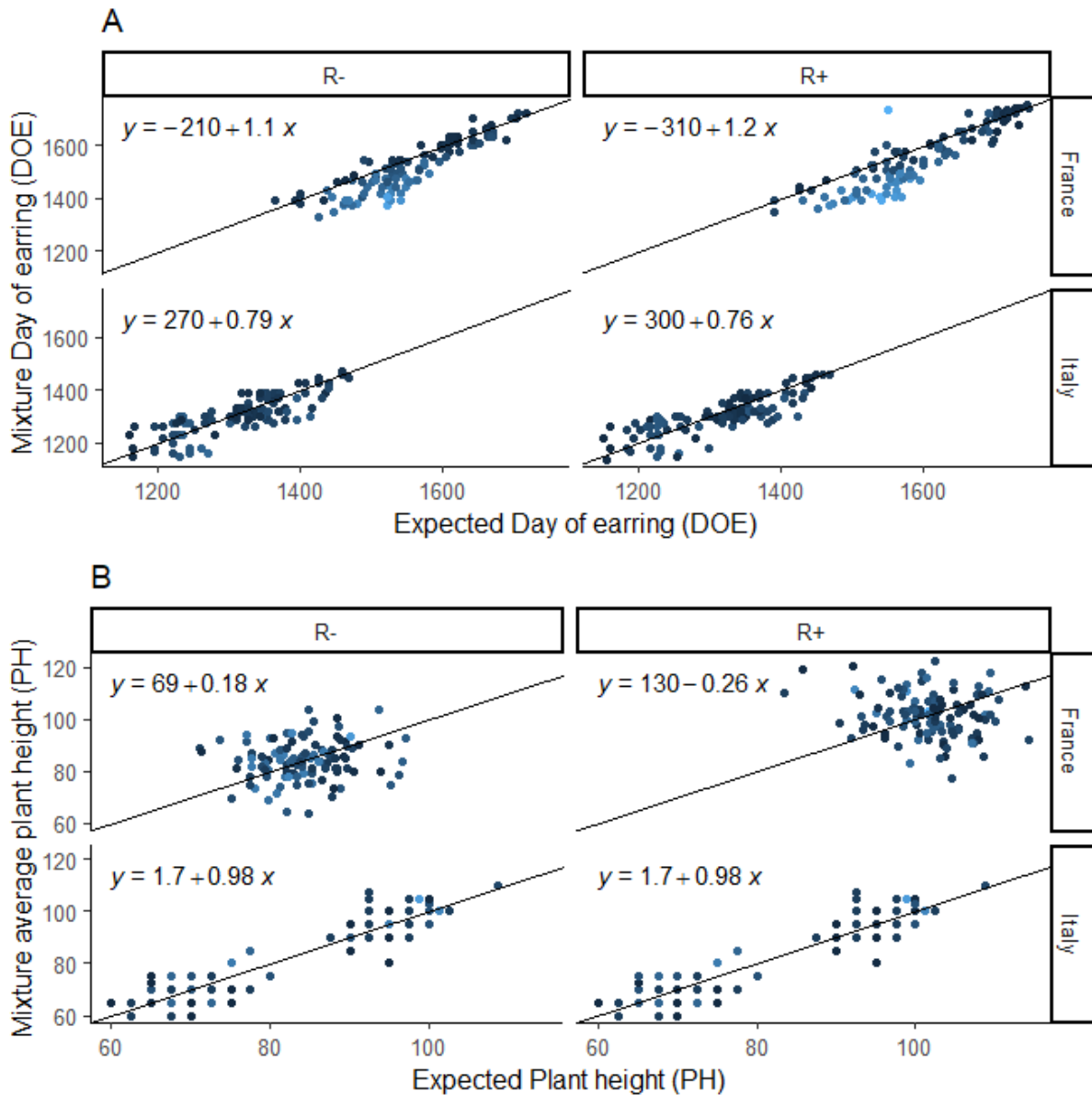
Grain yield and Protein yield measured in monogenotypic plots (GPA) were strongly correlated with Day of Earring in France at both level of resources (Figure 4 & 5). In Italy at R+, Grain yield was negatively correlated with Plant height. Finally, at R+, Day of Earring was positively correlated with Protein yield in France whereas it was negatively correlated with Protein yield in Italy (Figure 5). Finally, in Italy, phenotypic distance computed with Day of earring measured in France. Other non-significant relationships are reported in Supp data.



**Figure 4: Relationships between values of genetic component (GPA, TGMA & SMA) and functional indices for all levels of resources in each location.** The significance of the Spearman coefficient is reported (ns: non-significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p$ -values  $< 0.001$ , \*\*\*\*:  $p$ -values  $< 0.0001$ ). Only significant results are reported. GY: Grain yield.



**Figure 5: Relationships between values of genetic component (GPA, TGMA & SMA) and functional indices for all levels of resources in each location.** The significance of the Spearman coefficient is reported (ns: non-significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p$ -values  $< 0.001$ , \*\*\*\*:  $p$ -values  $< 0.0001$ ). Only significant results are reported. PY: Protein yield.



**Figure 6: Relationships between functional traits measured in mixture and expected functional traits measured in single genotypic plot (x-axis) and phenotypic distance of functional traits (color).** Light blue indicate high phenotypic distance whereas dark blue indicates low phenotypic distance. A: Day of earring (DOE). B: Plant height (PH).

## Discussion

Mixtures did not display higher yield on average compared to their respective components in any location and any level of resources. Indeed, average net biodiversity effects for grain yield were not different from 0. This result contrasts with the many meta-analysis showing that grain yield increases in genotypic mixtures (Reiss and Drinkwater, 2018). Yet, such meta-analysis also show that mixing effects can be small or undetected

depending on studies (Borg et al., 2018; Reiss and Drinkwater, 2018; Sarandon and Sarandon, 1995). Contrary to expectations from the niche dimensionality theory, NBE of grain yield were not stronger in low-resource environments in any location. Our results thus do not fit with the trend found in Reiss and Drinkwater (2018), showing stronger positive mixing effects in genotypic mixtures grown under low levels of nutrient availability. In our study, location was a much more important factor in explaining mixing effects as shown by the significantly higher net biodiversity effect of grain yield in France than in Italy in each resource level. This suggests that non-controlled local environmental variables impacted mixing effects. Climate variations between France and Italy could explain such pattern. Indeed, plants grown in France experienced early frost and a strong terminal drought. We might expect mixtures to have greater compensation mechanism in response to early frost than monogenotypic stands (especially in case mixture component have different frost tolerance), and even overcompensate which can lead to over-yielding (Bowden et al., 2001). Such effects of local environment on mixing effects have been documented in other studies (Barot et al., 2017; Bowden et al., 2001).

Mixing effects on grain Protein yield were similar between all combinations of resources and locations. Yet, mixtures displayed higher grain Protein yield compared to their respective components in France in both levels of resource. Such result might also be linked to compensation mechanisms in response to early frost as mentioned above, but further investigations are needed to investigate this pattern. Mixing effects of grain quality have been much poorly studied than those on grain production. In wheat, several studies showed a benefit of mixing on grain protein content (Dai et al., 2012; Sarandon and Sarandon, 1995) while others showed no mixing effects (Dai et al., 2012). Using a set of only two wheat genotypes, Sarandon and Saradon (1995) found that benefits of mixing on grain protein content were higher in low nitrogen conditions compared to optimal ones. Yet, more study are needed to understand the driver of such context dependency.

The decomposition of mixture performance into genetic components agrees with the overall absence of mixing effects in each location and each level of resources. Indeed, we found that general mixing ability (GMA), further decomposed into general performing ability (GPA) and true general mixing ability (TGMA), contributed to a very large proportion of variance in grain yield and grain Protein yield. Moreover, specific mixing ability (SMA), the non-additive genetic component due to interactions between varieties, contributed only slightly to grain yield and grain Protein yield variation. The relative contributions of GPA and TGMA to GMA varied strongly between France and Italy: GPA was the most important contributor to variation in mixture performance in France, while TGMA was the most important in Italy. Numerous studies have also found different contributions of the two components of GMA (Federer et al., 1982; Gizlice et al., 1989; Knott and Mundt, 1990; Lopez and Mundt, 2000).



In France, grain yield and grain Protein yield of mixtures were highly predicted by the performance of each varietal component grown in monogenotypic stands (GPA). Such large contribution of GPA might be explained by climatic conditions during the growing season. Plants experienced strong early frost and terminal drought, making early varieties less productive. Indeed, grain yield of varieties grown in pure stands (GPA) increased with heading date in France (respectively,  $R = 0.89$  and  $R = 0.80$  for R- and R+,  $p < 0.05$ ). In Italy, where no early abiotic stress was observed, this correlation was much weaker and negative due to terminal drought stress (respectively,  $R = -0.16$  and  $R = 0.23$  for R- and R+). As phenology is the main driver of mixture performance (respectively,  $R = 0.82$  and  $R = 0.84$  for R- and R+,  $p < 0.05$ ) through GPA, this explains the high correlation between GPA in R+ and R- in France. Therefore, our results suggest that mixture performance in France might have mostly been driven by climatic conditions rather than by interactions between genotypes. In Italy at R +, GPA was mostly associated with plant height probably due to the strong negative relationship between plant height and the harvest index occurring in resource rich environment (Donald, 1968).

In Italy, TGMA, the average genotypic performance resulting from inter-genotypic interactions was the main contributor to GMA, and was the genetic component that explained the largest part of variation of both mixture grain yield and grain Protein yield (despite being significant only in high level of resource condition). In addition, TGMA values of grain Protein yield were positively correlated between R- and R+. This suggests that underlying mechanisms of interactions between genotypes might have a common genetic basis between R- and R+ in Italy. Such pattern might result from the selection effect, a mechanism at play when genotypes grown in mixtures differ in their competitive ability (Loreau and Hector, 2001). Indeed, as competition is stronger at high resource level, selection effect increases and the most competitive genotype captures a more important share of resource at the expense of the other genotype (Harpole et al., 2017; Yan et al., 2020). This higher investment in green organs pre-anthesis in mixture compared to monogenotypic stands can also results in less efficient water use strategy and lower N remobilization from green organs (Fang et al., 2011). This phenomenon might have been important in Italy due to the occurrence of terminal drought which limits N remobilization. This phenomenon was linked with phenology as shown by the correlation between TGMA of Protein yield and day of earring. In our experiment, phenotypic distance on DOE and mean DOE were negatively correlated making phenotypic distance on DOE partly additive. This explained why part of the results of plant-plant interaction which should be a non-additive effects contributes to additive performance. Briefly, early flowering cultivar mixture plot have stronger phenotypic distance on DOE. In plot with strong phenotypic distance on DOE, selection effect increases the frequency of earlier –flowering cultivar. In France at R+, this results in decrease Protein yield due to the positive correlation between

DOE and Protein yield in single genotypic plot whereas in Italy at R+ this results in increase Protein yield due to the negative relationship between DOE and Protein yield in single genotypic plot. This creates a positive correlation between DOE and TGMA of protein yield in France at T+ and a negative correlation between TGMA of protein yield and DOE at R+.

The contribution of SMA, the non-additive genetic component due to the interaction between varieties, to mixture performance was low and non-significant in each location and each level of resources. Yet, it still contributed to up to 15.2% of the variance in mixture yield in Italy. SMA estimates were correlated between the two level of resources in France with stronger values in R+ than in R- for both grain yield and grain Protein yield. In a mixture experiment, we expect early-flowering genotypes to have stronger competitive ability (Bowden et al., 2001; Goldringer et al., 1994). This was observed in France with mixture having smaller DOE than expected from pure stand's DOE. This phenomenon was stronger in mixture composed of cultivar's with strong DOE's phenotypic distance. Thus, earliest flowering varieties of mixtures might have produced more tillers and vegetative biomass at the expense of their neighboring genotype diminishing cultivar mixture plot's DOE. This resulted in greater resource accumulation of the earliest flowering genotype and thus greater grain yield. This effect might have been stronger at R+ in France than at R- as competition is stronger in resource rich environments (Rossini et al., 2011; Trenbath, 1974). This was confirmed by the negative relationship between SMA of grain yield and phenotypic distance on DOE in Italy R+. This might also explain the stronger SMA values observed at R+ than at R- in France. This phenomenon is known as the selection effect (Loreau and Hector, 2001). SMA values were also negatively correlated between France and Italy at both level of resources for both Protein yield and grain yield. This might arise from the selection effect that favors the earliest flowering genotypes, which were the least productive in France and the most productive in Italy.

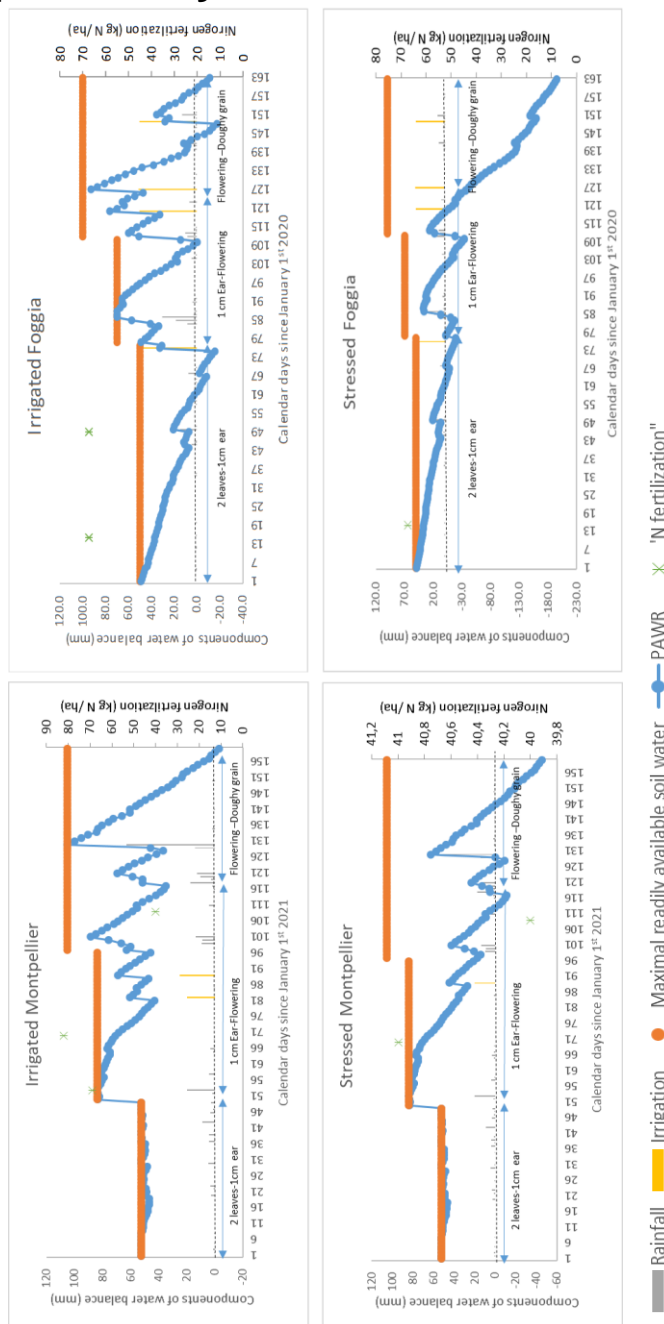
Our results provide insights into breeding strategies for performant mixtures. In France, given the high contribution of GPA to mixture performance in the environmental conditions of our experiment, breeding for cultivars dedicated to mixtures might not be of high interest. Indeed, performant mixtures can be designed by selecting varieties that perform best in pure stands. On the contrary in Italy, other effects involving plant-plant interactions were more important to explain performance variation (high contribution of TGMA). In such environment, accounting for genotype interactions in plant breeding might be relevant. Overall, our results suggest that breeders should first target phenotypes adapted to a pedo-climatic environment before accounting for genotype interactions. Once populations are locally adapted to pedo-climatic conditions, leading to small contribution of GPA compared to TGMA and SMA, breeding for positive genotype interactions that require higher investment (Bowden et al., 2001; Forst et al., 2019) might become of interest (Litrico and Violle, 2015). A huge part of past genetic progress realized on breeding populations of major crops has been realized on

key adaptive traits to environmental conditions (such as phenology) or to agronomic conditions (such as harvest index). Thus, in highly selected breeding populations in comparison to unselected crop wild relatives, we might expect reduced contribution of GPA variance and greater contribution of TGMA or SMA variance to total performance variance. Yet this hypothesis needs to be taken with caution, given that directional climate change might increase the contribution of GPA variance to mixture performance.

In our experiment, selection effect was advocated to explain both TGMA and GMA variations. In an incomplete di-allele as in our experiment, if a given genotype is more competitive than all other genotypes of the experiment, we expect it to highly contribute to yield no matter its neighbor, resulting in high TGMA and low SMA. Complete di-allele designs might thus be highly relevant to better decipher underlying mechanisms that drive the genetic contribution to variations in mixture performance. On the other side for prediction purposes only, SMA estimated in an incomplete design might not be needed to predict performance even if plant-plant interactions play an important role in mixture performance.

Overall, our experiment highlights that mixing effects and their underlying genetic contributions are dependent from local uncontrolled environmental factors. This is consistent with increasing evidence of the context-dependency of biodiversity effects observed by ecologists (Geert Hiddink et al., 2009). Environmental data collection coupled with new envirotyping statistical methods (Porker et al., 2020) might be powerful tools to further understand mechanisms underlying interactions between genotypes. For instance, temporal phenotyping of plant traits such as wheat architectural traits coupled with temporal measurements of resources such as light incidence at ground level could help us to understand the dynamics of competition between genotypes in mixtures, and thus identify plant traits involved in resource uptake and resource use efficiency to optimize mixing effects.

## Supplementary data



**Fig. S1. Water crop supply.** The amount of water available to the plants (blue line) was calculated daily on the basis of a balance between the water resources available the previous day, to which were added the amount of water from rain (grey bars) and/or irrigation (yellow bars), and subtracted the evaporative demand of the plants. This plant demand was a product of daily evapotranspiration (PET) and  $k_c$ , the plant development index, set at 0.7 from 2 leaves to 1cm ear, 1 from 1cm ear to anthesis, 1.2 from anthesis to flowering, 1.1 from flowering to milky grain and 0.8 from milky

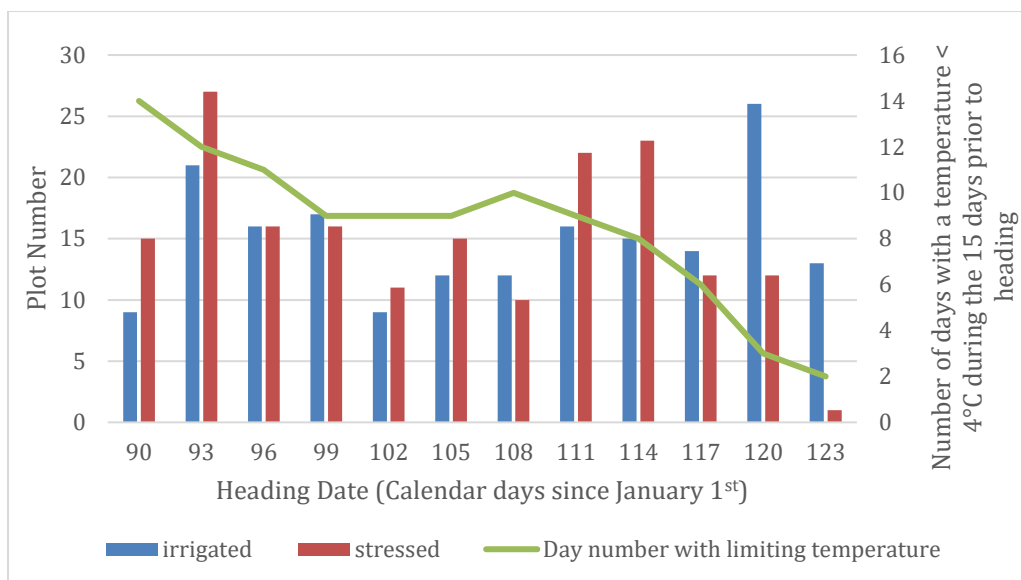
grain to doughy grain. As the roots grow, the amount of water available to the plants in the soil increases over the cycle (orange line in the figures). Here, the proportion of this reserve available to plants was evaluated at 50% up to the 1 cm ear stage, 80% up to anthesis and 100% up to the end of the crop cycle. The higher the negative PAWR values, the greater the water deficit. For information dates of N fertilisation as well as the amounts of N fertilizer were reported on the figures.

	Montpellier		Foggia	
	Irrigated	Stressed	Irrigated	Stressed
Total N fertilization (kg N/ha)	191	81	171	103.5
Mineral N soil residues (kg N/ha)	53	53	118	128
Average grain yield expected (qx/ha)	75	40	83	66
Observed average grain yield (qx/ha)	45	32	80	20.5
Observed protein yield (g/m <sup>2</sup> )				

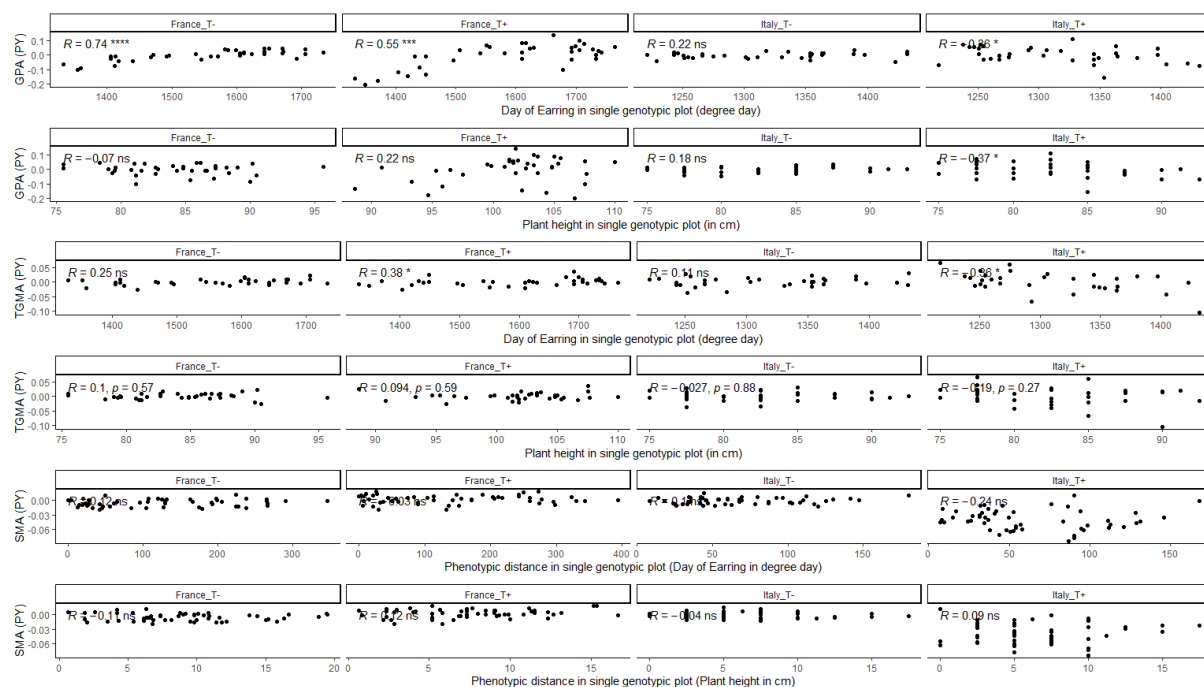
**Table S1. N inputs and agronomic performances.** Comparison between the expected grain yield, calculated from the product of available nitrogen inputs - N fertiliser + mineral nitrogen residues in the soil at the start of the crop cycle - multiplied by a plant nitrogen utilisation coefficient of 3.5, and the actual average grain yield per trial.

Phenological phase	Montpellier		Foggia		
	Temperature threshold (°C)	Duration of phenological phase (day nb)	Minimum temperature beyond the threshold (day nb)	Duration of phenological phase (day nb)	Minimum temperature beyond the threshold (day nb)
Emergence-1cm ear	-5	104	5	78	0
1cm ear-2 nodes	0	21	1	24	3
Two nodes-Flowering	4	49	<b>28</b>	25	3
Flowering-Doughy grain	30	41	0	34	0

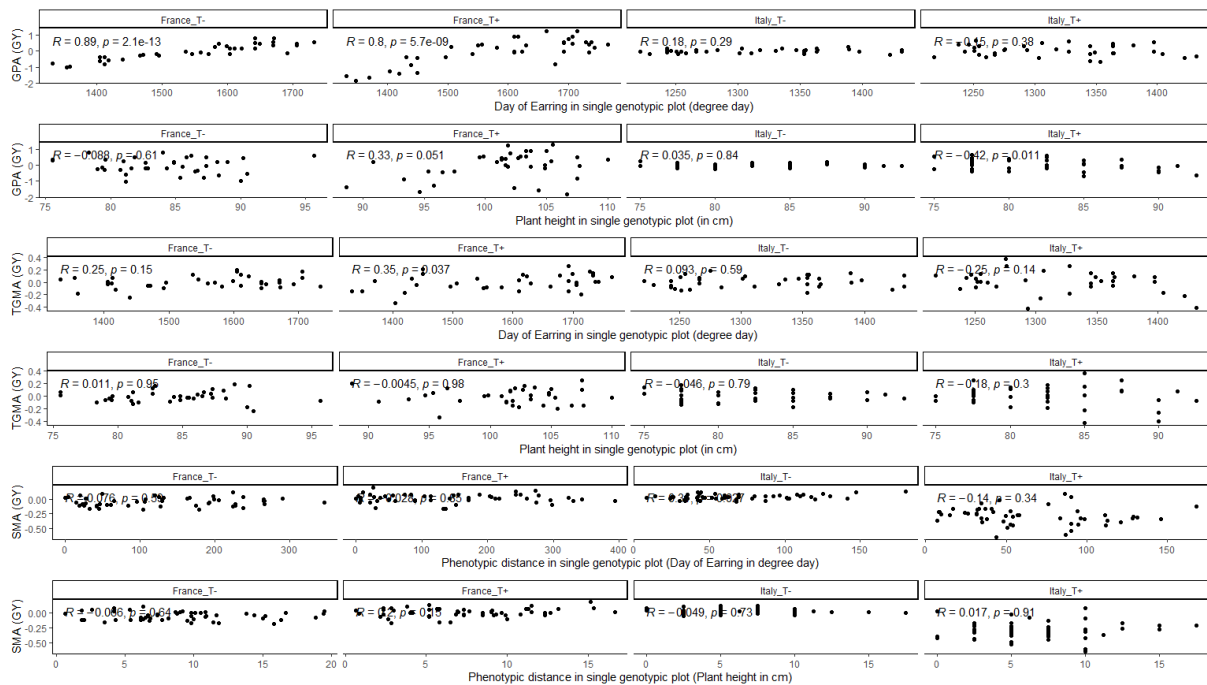
**Table S2. Limiting temperatures.** For each of the four phenological phases of the Anvergur variety, the temperature thresholds and the average duration (in days by combining the data from the irrigated and stressed trials) were reported for the two sites. The number of days with minimum temperatures below or above the threshold values was reported for the first three and last phases respectively. Values in bold highlight the importance of freezing temperatures in Montpellier before flowering.



**Fig. S2. Limiting temperatures.** Occurrence of freezing temperatures (< 4°C) expressed as a number of days for a period of 15 days before heading in relation to the earliness of individual plots in irrigated and stressed trials (blue and orange bars respectively) in Montpellier.



**Fig. S3. Relationships between values of genetic component (GPA, TGMA & SMA) and functional indices for all levels of resources in each location.** The significance of the Spearman coefficient is reported (ns: non-significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p$ -values < 0.001, \*\*\*\*:  $p$ -values < 0.0001). Only significant results are reported. PY: Protein yield.



**Fig. S4. Relationships between functional traits measured in mixture and expected functional traits measured in single genotypic plot (x-axis) and phenotypic distance of functional traits (color).** Light blue indicate high phenotypic distance whereas dark blue indicates low phenotypic distance. GY: Grain yield.

## Data Availability

Data for this study are available at: to be completed after manuscript is accepted for publication.

## Acknowledgements

This work received funding from the European Union's Horizon 2020 research and Innovation program under grant agreement No 727247 (SolACE). Michel COLOMBO is cofunded by INRAE-Département "Biologie et Amélioration des Plantes" and the ANR (SCOOP, grant no. ANR-19-CE32-0011).

## References

Alsabbagh, P., Gay, L., Colombo, M., Montazeaud, G., Ardisson, M., Rocher, A., Allard, V., David, J.L., 2022. Diversity matters in wheat mixtures: A genomic survey of the impact of genetic diversity on the performance of 12 way durum wheat mixtures grown in two contrasted and controlled environments. PLOS ONE 17, e0276223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276223>



- 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. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(89\)90070-4](https://doi.org/10.1016/0167-8809(89)90070-4)
- Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.-C., Le Roux, X., Niboyet, A., Porcher, E., 2017. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 37, 13. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x>
- Beissinger, T., Kruppa, J., Caverio, D., Ha, N.-T., Erbe, M., Simianer, H., 2018. A Simple Test Identifies Selection on Complex Traits. *Genetics* 209, 321–333. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300857>
- Beugnot, A., 2019. La performance hybride chez le maïs : de l'étude de la complémentarité entre groupes hétérotiques à la prédiction génomique (These en préparation). université Paris-Saclay.
- Bonneuil, C., Thomas, F., 2012. Semences, une histoire politique: amélioration des plantes, agriculture et alimentation en France depuis la Seconde Guerre mondiale. ECLM.
- Borg, J., Kiær, L.P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., Barot, 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.006>
- Bowden, R.L., Shroyer, J.P., Roozeboom, K.L., Claassen, M.M., 2001. Performance of Wheat Variety Blends in Kansas (2001). Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7327>
- Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., Huard, F., 2010. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Research* 119, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012>
- Brooker, R.W., George, T.S., Homulle, Z., Karley, A.J., Newton, A.C., Pakeman, R.J., Schöb, C., 2021. Facilitation and biodiversity–ecosystem function relationships in crop production systems and their role in sustainable farming. *Journal of Ecology* 109, 2054–2067. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13592>
- C. Essah, S.Y., Stoskopf, N.C., 2002. Mixture performance of phenotypically contrasting barley cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 82, 1–6. <https://doi.org/10.4141/P01-043>
- Collet, C., 2022. A novel phenotyping pipeline for root system architecture : evaluation with diversity panels of bread and durum wheat. UCL - Université Catholique de Louvain.
- Coumou, D., Rahmstorf, S., 2012. A decade of weather extremes. *Nature Clim Change* 2, 491–496. <https://doi.org/10.1038/nclimate1452>
- Dai, J., Wiersma, J.J., Holen Jr., D.L., 2012. Performance of Hard Red Spring Wheat Cultivar Mixtures. *Agronomy Journal* 104, 17–21. <https://doi.org/10.2134/agronj2011.0123>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Donald, C.M., 1968. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17, 385–403. <https://doi.org/10.1007/BF00056241>
- Fang, Y., Liu, L., Xu, B.-C., Li, F.-M., 2011. The relationship between competitive ability and yield stability in an old and a modern winter wheat cultivar. *Plant Soil* 347, 7–23. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0780-4>
- Federer, W.T., Connigale, J.C., Rutger, J.N., Wijesinha, A., 1982. Statistical Analyses of Yields from Uniblends and Biblends of Eight Dry Bean Cultivars. *Crop Science* 22, crops1982.0011183X002200010026x. <https://doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200010026x>
- Forst, E., Enjalbert, J., Allard, V., Ambroise, C., Krissaane, I., Mary-Huard, T., Robin, S., Goldringer, I., 2019. A generalized statistical framework to assess mixing ability from incomplete mixing designs using binary or higher order variety mixtures and application

- to wheat. *Field Crops Research* 242, 107571. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107571>
- Fréville, H., Montazeaud, G., Forst, E., David, J., Papa, R., Tenaillon, M.I., 2022. Shift in beneficial interactions during crop evolution. *Evolutionary Applications* 15, 905–918. <https://doi.org/10.1111/eva.13390>
- Gallais, A., 1976. Effects of competition on means, variances and covariances in quantitative genetics with an application to general combining ability selection. *Theoret. Appl. Genetics* 47, 189–195. <https://doi.org/10.1007/BF00278377>
- Geert Hiddink, J., Wynter Davies, T., Perkins, M., Machairopoulou, M., Neill, S.P., 2009. Context dependency of relationships between biodiversity and ecosystem functioning is different for multiple ecosystem functions. *Oikos* 118, 1892–1900. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17556.x>
- Gizlice, Z., Carter Jr., 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, cropsoci1989.0011183X002900040008x. <https://doi.org/10.2135/cropsoci1989.0011183X002900040008x>
- Goldringer, I., Brabant, P., Kempton, R.A., 1994. Adjustment for Competition Between Genotypes in Single-Row-Plot Trials of Winter Wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 112, 294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1994.tb00687.x>
- Grassini, P., Eskridge, K.M., Cassman, K.G., 2013. Distinguishing between yield advances and yield plateaus in historical crop production trends. *Nat Commun* 4, 2918. <https://doi.org/10.1038/ncomms3918>
- Grime, J.P., 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* 86, 902–910. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x>
- Harpole, W.S., Sullivan, L.L., Lind, E.M., Firn, J., Adler, P.B., Borer, E.T., Chase, J., Fay, P.A., Hautier, Y., Hillebrand, H., MacDougall, A.S., Seabloom, E.W., Bakker, J.D., Cadotte, M.W., Chaneton, E.J., Chu, C., Hagenah, N., Kirkman, K., La Pierre, K.J., Moore, J.L., Morgan, J.W., Prober, S.M., Risch, A.C., Schuetz, M., Stevens, C.J., 2017. Out of the shadows: multiple nutrient limitations drive relationships among biomass, light and plant diversity. *Functional Ecology* 31, 1839–1846. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12967>
- Hector, A., 1998. The Effect of Diversity on Productivity: Detecting the Role of Species Complementarity. *Oikos* 82, 597–599. <https://doi.org/10.2307/3546380>
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Körner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Siamantziouras, A.-S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S., Lawton, J.H., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. *Science* 286, 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.286.5442.1123>
- Hoefler, R., González-Barrios, P., Bhatta, M., Nunes, J.A.R., Berro, I., Nalin, R.S., Borges, A., Covarrubias, E., Diaz-Garcia, L., Quincke, M., Gutierrez, L., 2020. Do Spatial Designs Outperform Classic Experimental Designs? *JABES* 25, 523–552. <https://doi.org/10.1007/s13253-020-00406-2>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.006>
- Kneitel, J.M., Chase, J.M., 2004. Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecology Letters* 7, 69–80. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00551.x>
- Knott, E.A., Mundt, C.C., 1990. Mixing ability analysis of wheat cultivar mixtures under diseased and nondiseased conditions. *Theoret. Appl. Genetics* 80, 313–320. <https://doi.org/10.1007/BF00210065>

- Litrico, I., Violle, C., 2015. Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* 20, 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Lopez, C.G., Mundt, C.C., 2000. Using mixing ability analysis from two-way cultivar mixtures to predict the performance of cultivars in complex mixtures. *Field Crops Research* 68, 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00114-3)
- Loreau, M., Hector, A., 2019. Not even wrong: Comment by Loreau and Hector. *Ecology* 100, e02794. <https://doi.org/10.1002/ecy.2794>
- Loreau, M., Hector, A., 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76. <https://doi.org/10.1038/35083573>
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A., 2001. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science* 294, 804–808. <https://doi.org/10.1126/science.1064088>
- Montazeaud, G., Violle, C., Roumet, P., Rocher, A., Ecartot, M., Compan, F., Maillet, G., Fort, F., Fréville, H., 2020. Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: Towards ecological assembly rules for varietal mixtures. *Journal of Applied Ecology* 57, 2285–2295. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>
- Onofri, A., Terzaroli, N., Russi, L., 2021. Linear models for diallel crosses: a review with R functions. *Theor Appl Genet* 134, 585–601. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03716-8>
- Pandit, J.J., 2010. The analysis of variance in anaesthetic research: statistics, biography and history. *Anaesthesia* 65, 1212–1220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2010.06542.x>
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., Gurvich, D.E., Urcelay, C., Veneklaas, E.J., Reich, P.B., Poorter, L., Wright, I.J., Ray, P., Enrico, L., Pausas, J.G., Vos, A.C. de, Buchmann, N., Funes, G., Quétier, F., Hodgson, J.G., Thompson, K., Morgan, H.D., Steege, H. ter, Sack, L., Blonder, B., Poschlod, P., Vaieretti, M.V., Conti, G., Staver, A.C., Aquino, S., Cornelissen, J.H.C., 2016. Corrigendum to: New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 64, 715–716. [https://doi.org/10.1071/bt12225\\_co](https://doi.org/10.1071/bt12225_co)
- Pierik, R., de Wit, M., 2014. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *Journal of Experimental Botany* 65, 2815–2824. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert389>
- Porker, K., Coventry, S., Fettel, N., Cozzolino, D., Eglinton, J., 2020. Using a novel PLS approach for envirotyping of barley phenology and adaptation. *Field Crops Research* 246, 107697. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107697>
- Rearson, S.F., O'Sullivan, D., 2004. Measures of Spatial Segregation. *Sociological Methodology* 34, 121–162. <https://doi.org/10.1111/j.0081-1750.2004.00150.x>
- Reiss, E., Drinkwater, L., 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological applications* : a publication of the Ecological Society of America. <https://doi.org/10.1002/eap.1629>
- Ricotta, C., Moretti, M., 2011. CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. *Oecologia* 167, 181–188. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1965-5>
- Robinson, R.G., Anderson, R.H., Lueschen, W.E., Nelson, W.W., Warnes, D.D., n.d. Winter Rye Rate of Sowing, Row Spacing, Varietal Mixtures, and Crosses.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.spasta.2017.10.003>
- Rossini, M.A., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Inter-plant competition for resources in maize crops grown under contrasting nitrogen supply and density: Variability in plant and ear growth. *Field Crops Research* 121, 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.01.003>

- Roy, S.K., 1960. Interaction between rice varieties. *J Genet* 57, 137–152. <https://doi.org/10.1007/BF02985344>
- Sarandon, S.J., Sarandon, R., 1995. Mixture of Cultivars: Pilot Field Trial of an Ecological Alternative to Improve Production or Quality of Wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Applied Ecology* 32, 288–294. <https://doi.org/10.2307/2405096>
- Sprague, G.F., Tatum, L.A., 1942. General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn1. *Agronomy Journal* 34, 923–932. <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x>
- Taranto, F., D'Agostino, N., Rodriguez, M., Pavan, S., Minervini, A.P., Pecchioni, N., Papa, R., De Vita, P., 2020. Whole Genome Scan Reveals Molecular Signatures of Divergence and Selection Related to Important Traits in Durum Wheat Germplasm. *Frontiers in Genetics* 11.
- Tilman, D., Lehman, C., 2001. Human-caused environmental change: Impacts on plant diversity and evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 5433–5440. <https://doi.org/10.1073/pnas.091093198>
- Trenbath, B.R., 1974. Biomass Productivity of Mixtures, in: Brady, N.C. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 177–210. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60871-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60871-8)
- van Ruijven, J., Berendse, F., 2005. Diversity–productivity relationships: Initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 695–700. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407524102>
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science* 277, 494–499. <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.494>
- Wille, W., Pipper, C.B., Rosenqvist, E., Andersen, S.B., Weiner, J., 2017. Reducing shade avoidance responses in a cereal crop. *AoB PLANTS* 9. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx039>
- Yan, X., Diez, J., Huang, K., Li, S., Luo, X., Xu, X., Su, F., Jiang, L., Guo, H., Hu, S., 2020. Beyond resource limitation: an expanded test of the niche dimension hypothesis for multiple types of niche axes. *Oecologia* 193, 689–699. <https://doi.org/10.1007/s00442-020-04713-w>

### **3. L'agencement spatial des variétés dans une parcelle influence-t-il les résultats des interactions entre les plantes dans les parcelles de mélange de blé dur ?**

L'agencement spatial des variétés impacte-t-il la nature des interactions entre génotypes et le rendement dans les mélanges de blé dur ? Pour ce faire, nous étudierons les relations entre traits fonctionnels mesurés en parcelles mono-génotypiques et rendements de mélanges cultivés en deux agencements spatiaux différents.

# **Does spatial arrangement modulate the performance of varietal mixture and the relations between traits and performance?**

## **A case study with durum wheat.**

Colombo M<sup>\*12</sup> et al. In preparation.

<sup>1</sup>AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

<sup>2</sup>CEFE, Univ. Montpellier, Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

\*Corresponding author: [michelop.colombo@gmail.com](mailto:michelop.colombo@gmail.com)

### **Résumé**

L'agencement spatial des variétés au sein d'un mélange variétal a été peu documenté par la littérature scientifique malgré l'impact important de la distance physique entre variété sur les interactions entre plantes. Nous présentons ici une expérimentation qui vise à étudier l'impact de l'agencement spatial des variétés au sein d'un mélange variétal de blé dur sur sa performance (mélange intra-ligne de semis = plusieurs variétés sur une même ligne de semis et mélange inter-ligne de semis = 1 variété par ligne de semis).

Nous montrons qu'aucun agencement spatial ne permet d'avoir de meilleur rendements. Cependant, certains couples de variétés semblent mieux adaptés à certains agencements spatiaux. En effet différents types d'interactions biologiques semblent se produire selon l'agencement spatial. Dans les mélanges inter-ligne nous avons observé des phénomènes de complémentarité entre deux variétés alors qu'en mélange intra-ligne, l'effet de sélection résultant de la compétition entre variété semble au contraire plus important. Dans les deux cas la capacité de tallage semble la caractéristique des plantes impliqués dans ces interactions.

### **Introduction**

Plants can be seen as an environmental sensor that detect micro-environmental variations, notably those generated by the plant neighborhood (e.g., Violle et al. 2009). Intriguingly though, most studies in ecology and agronomy that tested the effect of biodiversity

on ecosystem functions (e.g. Montazeaud et al., 2020) did not control for plant spatial arrangement despite calling for plant-plant interactions as a key modulating factor of the biodiversity-ecosystem functioning relationship (BEF). In experimental ecology, many experimental studies are based on the initial sowing of a mixed pool of seeds while controlling for density, which mirrors a seed rain in natural communities. In agronomy, interspecific intercropping as well as intraspecific varietal mixtures have mostly worked on a “row” basis, meaning that the distance between plants is known and controlled with one row corresponding to one species or variety. This sowing pattern is relevant when farmers need to separate the two components of its mixture at harvest as plants from different cultivars or species can easily be separated. On the other hand, when separation of mixture components at harvest is not necessary as in intraspecific wheat mixture, farmers often sow their fields without particular spatial rules. However, the impact of these sowing patterns on local plant-plant interactions and grain yield have been poorly studied.

Spectacular gain in yield of major crops has been achieved during the 20th century through the breeding of elite lines adapted to cropping conditions of modern agriculture with high density and high chemical inputs (Tilman et al., 2001). It is now widely acknowledged that this agricultural model has reached its limits because of its detrimental effects on ecosystems and human health (Carpenter et al., 1998, Robertson et al., 2000, Vitousek et al., 1997). In addition, global change has increased year to year climatic variability in terms of climatic scenario. Drought and heatwave are more frequent making it difficult for breeders to sustain farmers with cultivars adapted to both favorable and unfavorable years (Brisson et al., 2010, Grassini et al., 2013). To tackle these challenges, increasing biodiversity in agro-ecosystem has been proposed (Borg et al., 2018).

In ecological research, many empirical studies on natural ecosystems have linked productivity to greater biodiversity (Hector et al., 1999; van Ruijven and Berendse, 2005; Roscher et al., 2011). At the intraspecific levels, a recent meta-analysis has emphasized the central role of intraspecific diversity on natural ecosystem functioning and dynamics. This meta-analysis found that intraspecific variability could have as much impact on community structure and ecosystem functioning as interspecific variability (Raffard et al, 2019). In light of these findings on natural ecosystems, increasing biodiversity through mixing cultivars could be a promising leverage to optimize cultivated ecosystems. Positive effects of cultivar mixture on several species have already been documented in several meta-analyses for wheat (Reiss & Drinkwater, 2018, Borg et al, 2018, Kiaer et al, 2009), barley (Kiaer et al, 2009), oats, pea and soybeans (Reiss & Drinkwater, 2018). As a result, cultivar mixtures are increasingly popular in the french cereal agricultural landscape especially for bread wheat (12 % of sowed surface in 2020 & 17 % in 2021, 17.5 % in 2022, Arvalis website). Yet, for other cereals like durum wheat, the percentage of sowed cultivar mixtures remains stable (about 4.5% in the

last years) likely because mixing effects might be highly variable in this species. Understanding the drivers of such variability could enable agronomists to build assembly rules, which might enable farmers to maximize positive mixing effects in their fields.

This question can be addressed through the scope of plant-plant interactions. In agro- and ecosystems, plant-plant interactions might vary extremely locally. Two of the main drivers of interactions between plants are the physical distance between competitors and the phenotype of interacting plants (Sakai, 1954, Chesson, 1994; Purves & Law, 2002). Studying these two drivers and the interactions between these two drivers might be of high interest to understand plant-plant interactions.

First, physical distance between competitors has long been studied through manipulation of spatial configuration. Two main spatial configurations of mixture have been extensively studied in crop mixtures: the within-row mixture and the alternate-row mixture (or intercrop). Contrasting results have been observed for both spatial configurations in multi-crop mixtures (e.g. Hayes et al, 2017). Comparison of these two planting patterns on cultivar mixtures have been reported in only a few studies in a handful of species including rice (Roy et al, 1960), winter rye (Robinson et al, 1970), and barley (Essah et Stoskopf, 2001). In bi-cultivar mixtures of “within-row mixture”, the distance between two different cultivars is weaker than in “alternate-row mixture”, making mixing more intense. Intra-cultivar interactions are replaced by inter-cultivar interactions. In case of positive interaction between cultivars occurring because of niche differentiation for instance, less intra-cultivar competition and more inter-cultivar niche differentiation enables one to take better advantage of niche differentiation. From an agronomic perspective, this implies that species should be sowed in the “within-row configuration”. One main disadvantage of this configuration is expected if one of the cultivars completely outcompetes and overgrows its partners, resulting in a monogenotypic plots. In this case, no benefits of the mixture can be expected. In case of intense competition between components of the mixtures, the alternate-row configuration, by producing greater spatial separation between the components of the mixture, might enable the less competitive cultivars to develop, thus balancing mixture proportions throughout the plants’ life cycle, making it possible to take advantage of positive interactions throughout the entire plants’ life cycle. Despite these theoretical expectations, the few studies comparing spatial configuration in cultivar mixtures did not report significant differences between the two planting patterns. One reason for such lack of variability might be the limited number of cultivars involved in these studies.

Second, plants interact mainly through their phenotypes. The phenotype is the realization of the genotype in a given environment. It is composed of traits that can be measured and might be interpreted in terms of plant functions. Functional traits can be defined as the morphological, physiological or phenological plant traits measured at a plant level which



influence plant performance (Violle et al, 2009). Plant functional traits have a strong influence on the ecological niche occupied by plants. Thus, overlap between ecological niches of different organisms can be evaluated through functional trait divergence (FD, Ricotta and Moretti, 2011) with reduced functional trait divergence indicating reduced niche differentiation. In cultivar mixtures, links between functional divergence and plant performance can inform us about the nature of the relationship that plants are facing. For instance, a positive relationship between a specific trait divergence and mixture performance might indicate a complementarity relationship resulting from spatial or temporal sharing of niche space in relation with the niche dimension defined by the specific studied trait (Brooker et al., 2015; Li et al., 2020). Conversely, a negative relationship between trait divergence and mixture performance might indicate a competitive relationship resulting from “the tendency of neighboring plants to utilize the same quantum of light, ion of a mineral nutrient, molecule of water, or volume of space” (Grime, 1972).

These competitive relationships might produce growth redundancy: individuals of the cultivar mixture might invest resources in organs involved in resource capture which does not result in increased production of the cultivar mixture. This phenomenon named by Donald (Donald, 1968) is at the origin of the definition of the “communal ideotype”: traits that plants should have to be well performing in crowded crop fields to maximize field productivity (Donald, 1968). More recently, following Donald, some authors have proposed that cultivar mixtures should have reduced divergence on these competitive traits producing growth redundancy and added that cultivar mixtures should highly diverge on traits producing complementarity (Litrico et Violle, 2015). Identifying which traits and which phenotypes tend to produce competitive interactions or complementarity in different spatial configuration could thus be a promising strategy to understand cultivar mixture variability and interplay between phenotype and spatial configuration. This might help to propose assembly rules to take advantage of positive plant-plant interactions specific to spatial configuration or advise a particular spatial configuration for a specific cultivar mixture.

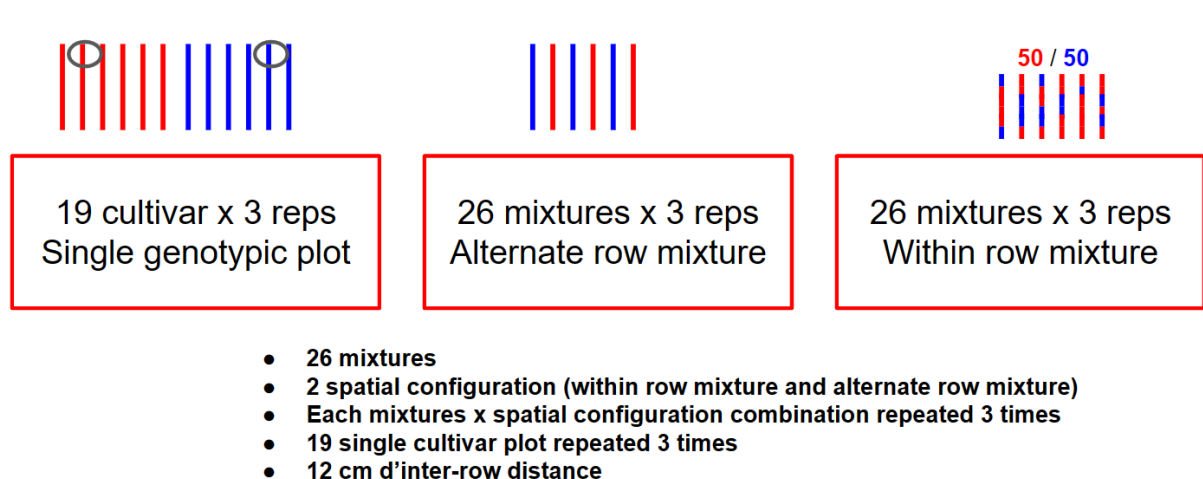
In order to test the effect of both spatial organization and genotypes functional traits in durum wheat mixture performances, we grew 19 cultivars in pure stands and in randomly chosen 26 bi-cultivar mixtures in two spatial configurations. First, we tested if spatial configuration affects mixture performances. Second, we tested if interplay between spatial configuration and functional identity or functional diversity affect mixture performance. As more inter-genotypic interactions are present in within-row mixtures we hypothesized that functional diversity might have a greater impact on within-row mixtures than on inter-row mixtures.

# Materials and Methods

## Experimental design

We performed a large-scale field experiment at the field station in Mauguio, France (INRAE – UE DIASCOPE - 43°37'02"N, 3°51'18"E). Nineteen durum wheat genotypes of the highly diverse EPO population (David et al, 2014) were sampled to form 26 bi-cultivar mixtures of durum wheat. The EPO population is composed of fixed homozygous lines resulting from a cross between elite wheat germplasm, landrace wheat germplasm, early forms of domesticated wheat germplasm and wild wheat germplasm. This population displays a large trait variability which makes it a highly valuable material to screen for plant-plant interactions. Bi-cultivar mixtures and their respective components grown in single genotypic plots were grown in field conditions. Mixtures were grown in two planting patterns: within-row mixture (WRM) and alternate-row mixture (ARM). Each spatial configuration (single genotypic plots, WRM, ARM) was repeated 3 times resulting in 213 plots (57 single genotypic plots, 78 WRM and 78 ARM). Repetitions were randomized in the trial.

Each of the 213 plots was composed of 6 rows with a 12 cm inter-row distance. Each row was 1.5 m long. Experimental conditions were set to approach farmers' agricultural practices in Southern France. Weeds were removed chemically at the end of winter. Fungicides were applied in April to prevent foliar diseases. Fertilizers (120 N units) and irrigation (95 mm) were managed in functions of rainfall to reach a yield goal of 7 tons per ha, which corresponds to high yielding conditions in the French Occitanie region.



**Figure 1: Synthesis of the experimental design.** Blue and red sticks represent different genotypes. Circles indicates the position of roots samples. Mixtures sown in within-row mixture were sown in equi-proportion (50/50).

## Data collection

To evaluate agronomic performances, grain yield (GY) and straw yield (SY) were measured on the four central rows of mixtures and on the two central rows of single genotypic plot. Outer rows were not harvested to avoid border effects.

## Trait measurements

Competition and complementary interactions in the mixtures were studied through relationships between grain yield and functional traits having hypothetical relationships with: i) resource uptake capacity, ii) timing of resource use or iii) resource use efficiency. These traits were measured in single genotypic plots. Both root traits and aerial traits were collected.

Root traits were measured at the end of tillering. One soil core (10 cm diameter and 15 cm depth) was collected per single genotypic plot. Early aboveground biomass (DW), tiller (TN) and leaf number (LN) above this soil core were measured. Above and below-ground biomass were separated, dried and weighed to compute the root shoot ratio. Then the root samples were carefully washed, the seminal (sem) and adventitious (adv) root systems were separated, weighted to measure seminal root dry weight and adventitious root dry weight and a subsample of each root type was scanned separately at 800 dpi (scanner EPSON 10000 XL). Afterward, morphological traits were measured with the WinRHIZO software (Version pro 2019; Regent Instrument). Mean root diameters (RDsem and RDadv), specific root length (ratio between root length and root biomass; respectively noted: SRLsem and SRLadv), root tissue density (ratio between root dry mass and soil volume; RTDsem and RTDadv), root length density (ratio between root length and soil volume; RLDsem and RLDadv) and root branching intensity (ratio between number of root tips and total root length; RBlsem and RBladv) were calculated.

Plant height (PH), specific leaf area (SLA, average dry weight per surface of leaves) and leaf dry matter content (LDMC, percentage of dry matter in leaves) were measured before root traits collection at tillering (TI) and at the flowering stage (FL). PH was measured on 6 randomly sampled individuals. Leaves for SLA and LDMC measurements were collected using standardized methodology (Pérez-Harguindeguy et al., 2016). Phenology was characterized by heading dates (HD), defined as the date at which 50% of plot spikes were visible. Finally, harvest index (HI) was computed as the ratio between GY and the sum of GY and SY.

## Spatial correction

Controlling spatial variation in agricultural field trials is the most important step to compare treatments efficiently and accurately (Hoefler et al., 2020). Spatial variability can be controlled at the experimental design level with the assignment of treatments to experimental units and at the modeling level with the use of spatial corrections and other modeling strategies. Here we used spatial correction using spline to model field heterogeneity. SPATS modelling was applied to account for spatial heterogeneity for all variables (Rodríguez-Álvarez et al., 2018). From this analysis we extracted one value of spatially corrected grain yield value per mixture per genotypic combination. We also extracted one value of functional traits per genotype per trait.

## Computation of functional indices

Two functional indices were computed: the functional identity (FI) and the functional diversity (FD). These indices can be estimated with, respectively, the abundance weighted means of all the measured traits of the community and the Rao quadratic entropy (Ricotta and Moretti, 2011). In a balanced binary mixture of cultivars, assuming that the selection effect is weak, that there is no phenotypic plasticity and that the intraspecific variability of the trait does not exist, FI can be simplified as the mean of mixture components traits measured in single genotypic plots and FD can be simplified as the absolute difference between mixture components traits measured in single genotypic plots. Thus, to characterize FD and FI of each mixture plot, for all traits, we used the following formula for a given trait:

$$FD_{Tij} = |T_{ii} - T_{jj}|$$
$$FI_{Tij} = \frac{T_{ii} + T_{jj}}{2}$$

Where  $T_{ii}$  represents the mean value of trait T in the single cultivar plots of genotype i and  $FD_{Tij}$  and  $FI_{Tij}$  represent the functional diversity and the functional identity, respectively, of mixture of genotype i and j for the trait T.

Functional diversity and functional identity were also characterized in alternate-row mixture plots using the following formula:

$$FD_{Tij} = |T_{ij} - T_{ji}|$$
$$FI_{Tij} = \frac{T_{ij} + T_{ji}}{2}$$

Where  $T_{ij}$  represents the mean value of trait  $T$  of individuals  $i$  in the genotype mixture  $ij$ .  $FD_{Tij}$  and  $FI_{Tij}$  represent the functional diversity and the functional identity, respectively, of mixture of genotypes  $i$  and  $j$  for the trait  $T$ .

## Statistical analysis

### Genetic analysis of mixture performance

Mixture performance was decomposed into a general mixing ability (GMA, average effect of genotype across the three mixtures where the genotype is cultivated) and specific combining ability (SMA, genotypic effect resulting from the specific interaction between varieties in a given mixture computed as a deviation from SMA). GMA represents additive mixture effects whereas SMA represents non-additive mixture effects. GMA was further decomposed into a general performing ability (GPA) corresponding to average grain yield of genotypes in pure stands, and a true general mixing ability (TGMA) corresponding to GMA performance resulting from inter-genotypic interactions (Federer et al., 1982). Decomposition was realized for each spatial configuration leading to one value of GMA/TGMA per genotype per spatial configuration and one value of SMA per genotypic mixture per spatial configuration.

Thus, grain yield was modelled as followed:

$$Y_{ijk} = \mu_k + \frac{1}{2} \times (GMA_i + GMA_j + GMA_{ik} + GMA_{jk}) + SMA_{ij} + SMA_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

$$GMA_{ik} = (b + b_k) \times (GPA_i) + TGMA_i + TGMA_{ik}$$

Where  $Y_{ijk}$  represents corrected grain yield of mixture of genotype  $i$  and  $j$  in the  $k^{\text{th}}$  spatial configuration,  $\mu_k$  represents the effect of the  $k^{\text{th}}$  spatial configuration,  $GMA_i$ ,  $GMA_j$ ,  $GMA_{ik}$ ,  $GMA_{jk}$  represents the global and spatial configuration specific general mixing ability of genotype  $i$  and  $j$  respectively in the  $k^{\text{th}}$  spatial configuration,  $GPA_i$  and  $GPA_j$  correspond to the performance of mixture components  $i$  and  $j$  grown in pure stands (continuous variable measured), and  $b$  and  $b_k$  correspond to the global and spatial configuration-specific regression coefficient of GPA on mixture performance.  $TGMA_i$ ,  $TGMA_j$ ,  $TGMA_{ik}$ ,  $TGMA_{jk}$  represent global and spatial configuration-specific true general mixing ability of genotypes  $i$  and  $j$ , respectively.  $SMA_{ij}$  and  $SMA_{ijk}$  are the global and spatial configuration-specific mixing ability (SMA). It represents the contribution of the interaction between genotype  $i$  and genotype  $j$  (categorical variable).  $\varepsilon_{ijk}$  represents the vector of random errors (residuals). Models for ANOVA computation were fitted using the package *ImDiallele* (Onofri et al., 2021). Models were fitted in two steps. First, we fitted a model to estimate total additive genetic effect (GMA).

GMA was estimated as a fixed effect. Second, we estimated SMA as the effect of genotypic mixture on the residuals of the relationship between performance and additive genetic effect. SMA was estimated as a fixed effect. Third, GPA was estimated as the effect of pure stand performance on total additive genetic effect. Finally, TGMA was estimated as the residuals of the relationship between GPA and total additive genetic effect.

### Impact of spatial configuration on the relationship between mixture grain yield and functional indices

Functional trait indices (FI and FD) affecting GY in both configurations were identified using sequential ANOVA type 1 tests for each functional trait index. The tested model can be written as follows:

$$GY_{ijkl} = \mu + \alpha_k + (\beta + \beta_k) \times F_{ij} + \varepsilon_{ijkl}$$

Where  $GY_{ijkl}$  is the grain yield of mixture of genotypes  $i$  and  $j$  in the  $k$ th spatial configuration (within-row mixture or alternate-row mixture).  $F_{ij}$  is the tested functional index,  $\mu$  is the mean grain yield,  $\alpha_k$  is the effect of spatial configuration,  $\beta$  and  $\beta_k$  are the slope and the spatial configuration-specific slope of the relationship between grain yield and the tested functional indices,  $\varepsilon_{ijkl}$  is the vector of the model residuals.

Proportion of variance explained by each term was computed to analyze the relative importance of each term.

### Impact of spatial configuration on the relationship between genetic effects and functional traits.

To further assess the contribution of functional trait to mixture performance, the contribution of functional trait to each genetic effect (GPA, TGMA and SMA) was analyzed. GPA and TGMA correspond to the additive genetic effects. Thus, functional traits related to GPA or TGMA should also relate to GMA.

To test the effect of functional traits on GPA, the Pearson correlation coefficient between GPA and functional traits measured in single genotypic plots was computed.

Functional traits affecting TGMA and GMA in both configurations were identified using sequential ANOVA type 1 tests for each functional trait. The tested model can be written as follows:

$$GMA_{ik}(\text{or } TGMA_{ik}) = \mu + \alpha_k + (\beta + \beta_k) \times T_i + \varepsilon_{ik}$$

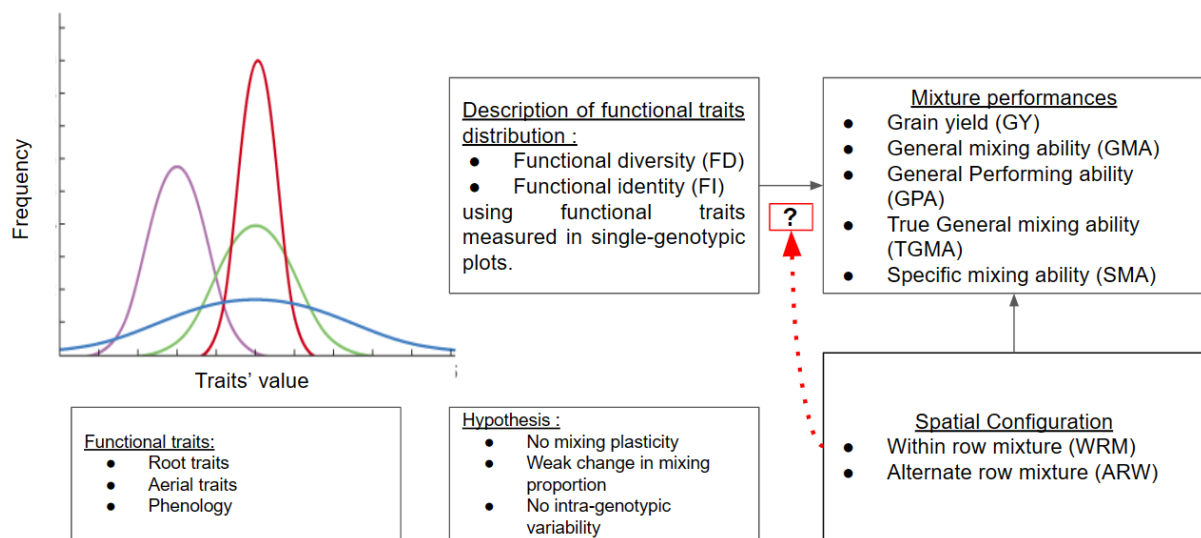
Where  $GMA_{ik}$  or  $TGMA_{ik}$  are the vector of the 38 general mixing abilities or true general mixing abilities of genotype  $i$  in the two spatial configurations (within-row mixture or alternate-row mixture).  $T_i$  is the tested functional trait measured in single genotypic plots,  $\mu$  is the mean

grain yield,  $\alpha_k$  is the effect of spatial configuration,  $\beta$  and  $\beta_k$  are the slope and the spatial configuration-specific slope of the relationship between grain yield and the tested functional trait,  $\varepsilon_{ik}$  is the normally distributed vector of the model residuals.

SMA corresponds to non-additive genetic performance, thus it can only be affected by non-additive metrics depending on both genotypes of the mixture such as functional diversity. Thus, functional diversity of functional traits affecting SMA in both configurations were identified using sequential ANOVA type 1 tests. The tested model can be written as follows:

$$SMA_{ijk} = \mu + \alpha_k + (\beta + \beta_k) \times F_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Where  $SMA_{ijk}$  is the vector of 52 specific mixing abilities of the mixture of genotypes  $i$  and  $j$  in the two spatial configurations (within-row mixture or alternate-row mixture).  $F_{ij}$  is the tested functional diversity measured in single-genotypic plots,  $\mu$  is the mean grain yield,  $\alpha_k$  is the effect of spatial configuration,  $\beta$  and  $\beta_k$  are the slope and the spatial configuration-specific slope of the relationship between grain yield and the tested functional indices,  $\varepsilon_{ijk}$  is the vector of the model residuals.



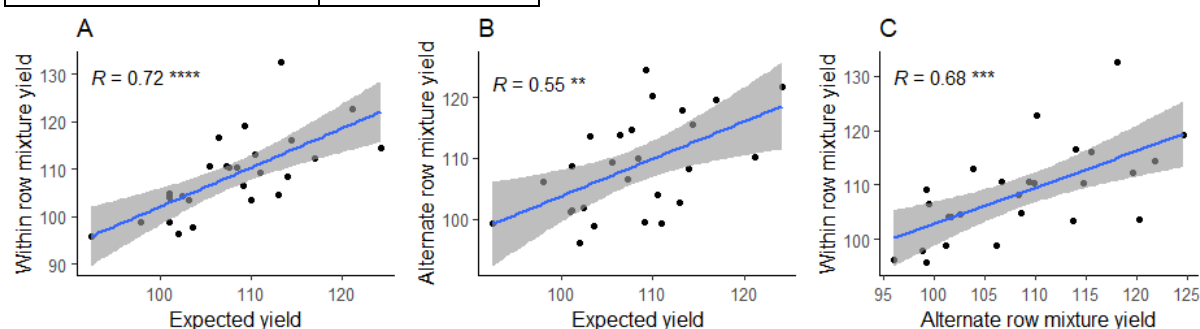
**Figure 1: Summary of the analytical framework of the mixture performances analysis.**

# Results

## Impact of spatial configuration on mixture performances

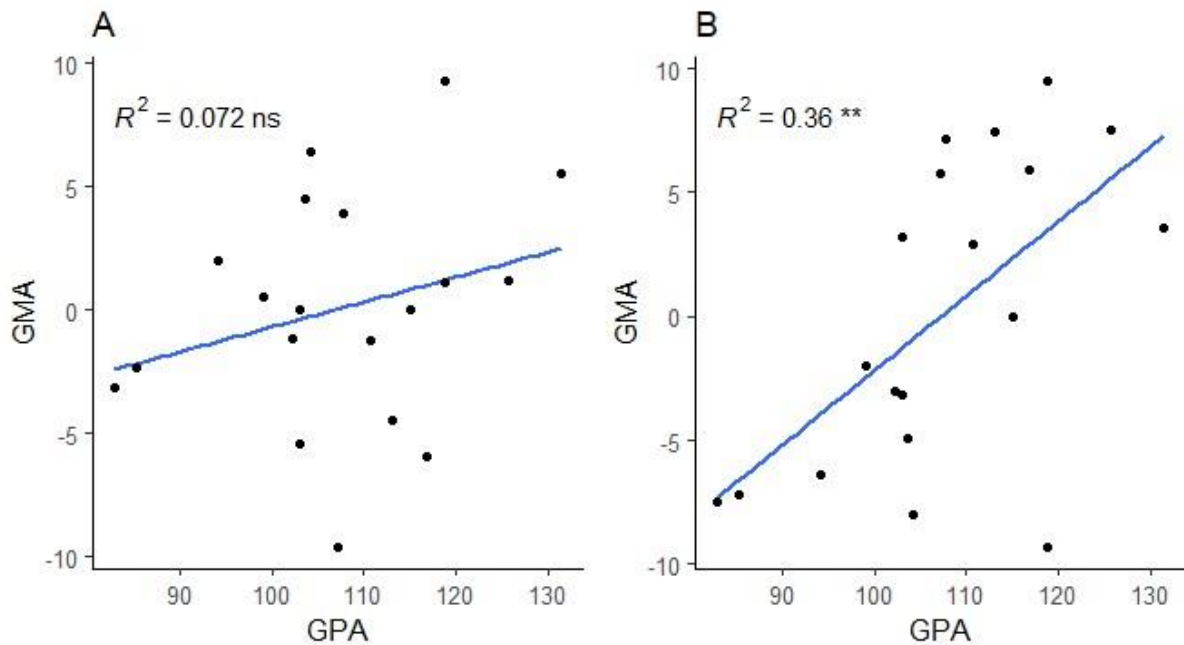
Source of grain yield variation	$\eta^2$
Spatial configuration (SC)	<1% (ns)
GPA	38% ***
GPA x SC	5% (ns)
TGMA	39% (ns)
TGMA x SC	<1% (ns)
SMA	8% (ns)
SMA x SC	10% (ns)

**Table 1: Anova analysis of the effect of spatial configuration, genotype combination and their interaction on mixture performance.** Stars indicate levels of significance. \*: 0.05, \*\*: 0.01, \*\*\*: 0.001 and ns indicates non-significant p-values. Percentages indicate  $\eta^2$  value (proportion of variance explained by the effect). All 26 mixtures were used for each performance trait. Only significant results are displayed.



**Figure 2: Relationship between grain yield of mixture in different spatial configurations. Each point represents the mean of 3 replicates in each configuration.** Regression lines (in blue) and standard error of regression lines are represented (in grey). Spearman correlation coefficients and associated levels of significance are reported. ns: non-significant; \* :  $p < 0.05$ ; \*\* :  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ .





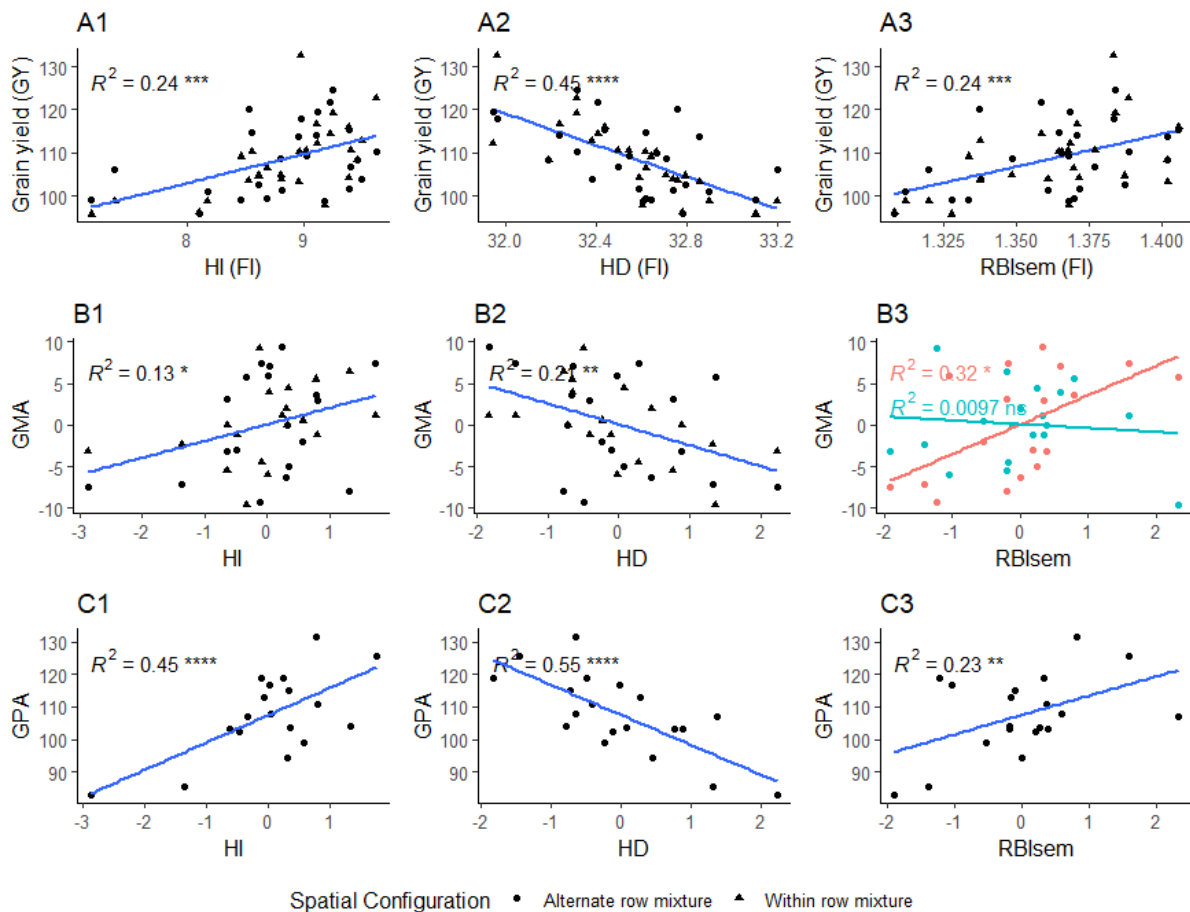
**Figure 3: Relationship between GMA and GPA** (GY measured in single genotypic plot) in A: Within row mixture condition; B: Alternate row mixture condition.  $R^2$  of the linear regression is represented. Levels of significance are reported. ns: non-significant; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0.0001$ .

Combined effects of spatial configuration, genotypic combination of mixtures and their interactions accounted for 56% of grain yield variation in our trial. Genotypic combination of mixture was mainly additive ( $\eta^2 = 77\%$  for GMA, Table 1) and affected by effect due to monogenotypic plot performance ( $\eta^2 = 38\%$  for GPA, Table 1) and effect due to mixture condition ( $\eta^2 = 39\%$  for TGMA, Table 1). Correlation between GMA and GPA was stronger in alternate row mixture than in within row mixture conditions (Figure 3), this translated into small non-significant interactions between GPA and spatial configuration in the decomposition of grain yield ( $\eta^2 = 5\%$ , Table 1). Interactions between genotypes had only small impact on mixture performance ( $\eta^2 = 8\%$  for main effect and  $\eta^2 = 10\%$  for interaction effects with spatial configuration, Table 1), Table 1). Interaction effects between genetic composition and spatial configuration only accounted for 15%. Thus, a strong correlation was observed between grain yield of mixture in both configuration and expected grain yield in the absence of interaction (based on mean single genotypic performance of mixture components, Figure 2).

### Impact of functional traits on additive parts of mixture performances

Heading date had a negative additive effect on mixture performance through GPA (mixture performance due to single genotypic plot performance): a negative correlation was observed between HD and GPA (Figure 4 A2), HD and GMA (Figure 4 B2), and HD (FI) and

mixture grain yield (Figure 4 C2). Similarly, HI and RBIsem had each a positive additive effect on mixture performance through GPA (Figure 4).



**Figure 4: Additive effect of functional traits on grain yield linked to single genotypic plot performance.** Association between grain yield and functional identity (FI) of functional traits (A1, A2, A3). Association between GMA and functional traits measured in single genotypic plot (B1, B2, B3). Association between Single genotypic plot grain yield and functional traits measured in single genotypic plot (C1, C2, C3).  $R^2$  of the linear regression is represented. Levels of significance are reported. ns: non-significant; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ . Only functional traits significantly associated with both GPA, GMA and GY are reported. In plot B3, color represents different spatial configurations because interaction between functional traits and spatial configuration significantly affected GMA. Red corresponds to Alternate-row mixture whereas blue corresponds to within-row mixture conditions. HI: Harvest index; HD: Heading Date (in degree day); RBIsem: Root branching intensity.

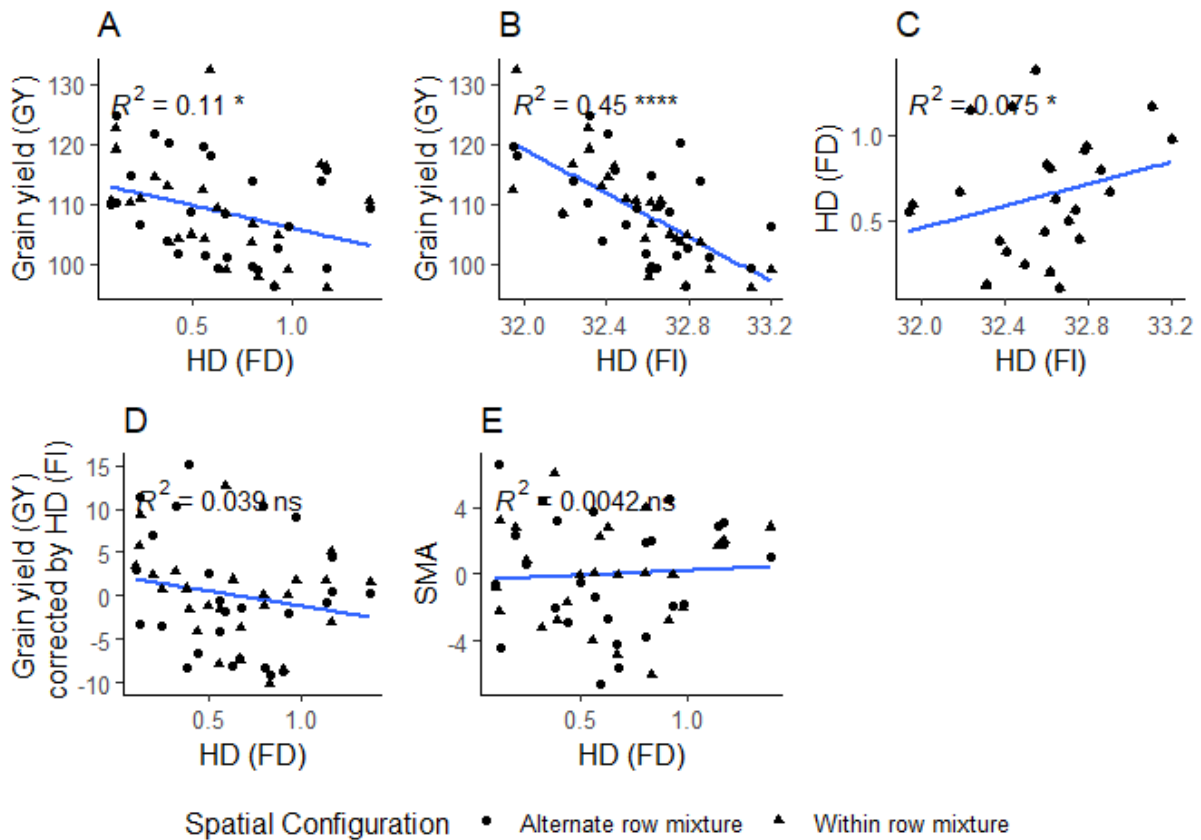
Traits with additive effects on mixture performance due to inter-genotypic interactions (TGMA) were identified but analysis of the relationship between functional identity and grain yield failed to detect them (Supp Figure 1). Most of the identified relationships between TGMA

and functional traits were dependent on the spatial configuration ( $p < 0.05$ ). The strongest relationship was observed for LDMC (FL): LDMC (FL) had a negative impact on TGMA and GMA in within-row mixtures but had no effect in alternate-row mixture.

Finally, other relationships between GPA and functional traits were found but again analysis of the relationship between functional identity and grain yield failed to detect them (Supp Figure 5).

#### Impact of functional traits on additive parts of mixture grain yield

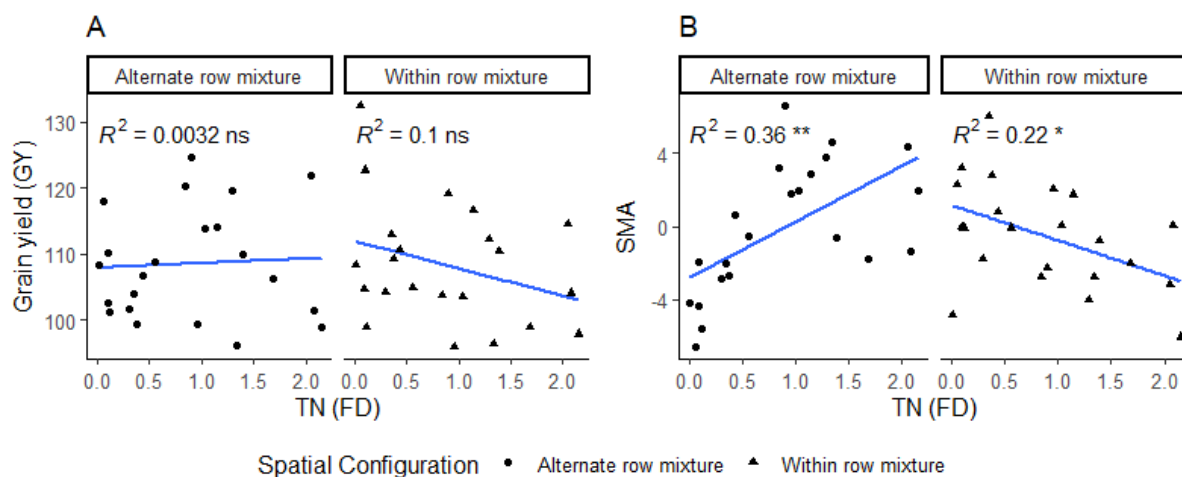
Functional diversity (FD) of HD was negatively associated with grain yield (Figure 5A). Yet no relationship was found between SMA and functional diversity of HD (Figure 5E). We found instead a negative correlation between GY and functional identity of HD (Figure 5B) and a positive correlation between functional diversity and functional identity of HD (Figure 5C). This correlation caused associations between FD and the additive part of mixture grain yield (GY). Indeed, correcting GY by HD (FI) removed the effect of functional diversity of HD (Figure 5D) on GY. This explains the lack of correlation between SMA and functional diversity of HD (Figure 5E).



**Figure 5: Relationships between A: Grain yield and functional diversity (FD) of Heading date in degree day (HD); B: Grain yield and functional identity (FI) of HD, C: FD (HD) and FD (HI). Grain yield corrected by HD (FI) and HD (FD), and SMA and HD (FD).  $R^2$  of the linear regression is represented. Levels of significance are reported. ns: non-significant; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\* :  $p < 0.001$ ; \*\*\*\* :  $p < 0.0001$ .**

Similar correlations were found between SRLsem (FD), Crossing sem (FD), HI (FD) and grain yield but all these correlations were due to the additive part of grain yield and a lack of correlation was observed between functional diversity of these traits and SMA (Supp data).

Finally, functional diversity of tiller number was positively associated with SMA in the alternate-row mixture condition but negatively in the within-row mixture condition (Figure 6B). Relationship was positive and non-linear. Yet no relationship was observed between TN (FD) and grain yield (Figure 6A). This indicates that other traits negatively correlated to TN (FD) impacts additive performances of GY, therefore masking the effect of TN (FD) on non-additive part of GY.



**Figure 6: Relationship between Tiller number (TN) functional diversity (FD) and grain yield (Figure 4A) or SMA (Figure 4B).**  $R^2$  of the linear regression is represented. Levels of significance are reported. ns: non-significant; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $p < 0.0001$ . TN (FD) was the only functional index significantly associated with SMA.

## Discussion

In this study, we investigated which functional indices (diversity and identity) of both above- and below-ground traits impact durum wheat mixture performances. We also evaluated whether spatial configurations (alternate-row mixture and within-row mixture) influenced grain yield and the nature of functional traits. We found that both functional diversity of above- and below-ground functional traits contribute to grain yield and that spatial configuration only slightly affected mixture performances. We also identified several functional traits impacting mixture grain yield differently in the two spatial configurations.

### Spatial configuration impacts grain yield of mixtures

Our results suggest that spatial configuration only slightly affects mixture performances. Indeed, interactions between genetic effects and spatial configuration variance accounted for 15% of mixture variance. A slight effect of spatial configuration on performance was also detected in previous experiments on spatial configuration of intra-specific mixture (C. Essah and Stoskopf, 2002; Robinson et al., 1970; Roy, 1960). Here, despite the small amount of variance explained by interactions between genetic effect and spatial configuration, we identified functional traits with contrasted effects on grain yield depending on genotypic spatial configuration.

In the alternate-row mixture condition, we found that tiller number positively impacted grain yield. Indeed, mixing two highly tillering genotypes might produce strong inter-row competition while mixing two lowly tillering genotypes might produce low light capture. Thus,

mixing both highly tillering and lowly tillering genotypes might optimize inter-row light capture while limiting competition by minimizing tiller overlap. This positive effect was only observed at low tiller number diversity whereas no demonstrable correlation was established when tiller number diversity was high. At high tiller number diversity, all available space might be filled and thus no further gains from tiller number functional diversity might be achieved.

Conversely, in the within-row mixture condition, tiller number functional diversity was associated with reduced grain yield. This negative effect might be interpreted in terms of competitive interactions. In the within row mixture condition, genotypes are not clustered within rows, thus the distance between the different genotypes is smaller, creating strong competition. The most tillering cultivars might monopolize both inter-row space and within-row space, thereby preempting any potential growth opportunities for other genotypic entities. As tillering is negatively correlated with harvest index, this limits grain yield.

This supports our first expectation, that modifying the spatial configuration would impact mixture performance through modification of the relative intensity of inter-genotypic interaction and intra-genotypic interaction and thus the realized niche of mixture components.

### Interest of the proposed methodology

The study of ecosystem functioning through functional traits identity and functional diversity traits is a well-established method in ecology (Loreau and Hector, 2019). Here we showed that directly correlating functional diversity or functional identity to community can lead to misleading interpretation due to correlation between additive performance and functional diversity indices. Functional identity is often interpreted in terms of additivity in light of mass ratio theory (Grime, 1998) whereas functional diversity is often interpreted in terms of non-additivity in light of niche overlapping between community members (Hector, 1998). Here we showed that statistical additivity can be due to inter-genotypic interactions and thus some additivity in community performance can be due to niche overlap. Spurious correlations between additivity, non-additivity and functional identity or functional diversity occur because experimentally tested community often represent a subset of all possible combination of community. This creates correlation between functional identity and functional diversity as in our experiment. These spurious correlations are variable from one experiment to another due to change in genotype and species association from one experiment to another. Thus this might explain part of the lack of reproducible results when looking for a relationship between FD and grain yield. In addition, in studies realized directly in natural ecosystems, the observed community represents a very small proportion of all possible communities: the “natural” experimental design is highly incomplete, thus FD is often correlated with FI. Directly interpreting FI as a result of the mass ratio theory might lead to an underestimation of the role of FD and an overestimation of the role of FI in natural ecosystem functioning.

The decomposition of mixture performance used in this experiment was proposed long ago (Gallais, 1976) and was defined by analogy of the hybrid decomposition in general combining ability and specific combining ability (Gallais, 1976; Sprague and Tatum, 1942). It enables to separate mixture performance into additive (General mixing ability, GMA) and non-additive parts (Specific mixing ability, SMA) and then to identify the part of additive performance related to single genotypic plot performance (General performing ability, GPA) and to inter-genotypic interactions (True general mixing ability, TGMA). Functional traits related to performance measured in single genotypic plots (GPA) can be interpreted in terms of intra-genotypic interactions or in terms of adaptation to abiotic conditions whereas functional traits related to true general mixing ability and specific mixing ability (SMA) might be interpreted in terms of interactions between genotypes.

This phenomenon was already observed in hybrid studies in quantitative genetics. In hybrid studies, hybrids' performances are decomposed into general combining ability (GCA) due to additive contribution of parents to offspring's performance (GCA is analogous to General mixing ability) and specific combining ability (SCA) due to interactions between parental contribution to offspring performance (SCA is analogous to specific mixing ability). Yet in most experiments in hybrids, including SCA in statistical models does not improve explanatory power of the models. This is due to the non-independence of variables (markers) describing interactions between parents (SCA) and additive contribution of parents (GCA). This non-independence is partly due to incomplete experimental designs and thus leads biological interactions between components of the community to contribute to additive performance (Beugnot, 2019).

These results are likely to be transferable to mixture studies. One consequence of these is that the higher the number of components in mixture, the higher the incompleteness of the experimental design. Higher degrees of incompleteness of experimental design leads to higher confounding effects between functional identity and functional divergence and a higher contribution of additive performance to the mixture performance. Thus, to study inter-component interactions in mixture studies, measuring performance in single components is required and focus should be on the true general mixing ability which is an additive performance.

In breeding experiments, decomposing mixture performance into additive and non-additive parts is interesting from an evolutionary point of view, because only additive performance is transmitted to the next generation (Beissinger et al., 2018). Thus, to predict the value of a genotype for breeding, only general mixing ability is required. Decomposing additive performance of mixture into additive performance due to single genotypic plot performance (or isolated performance) and additive performance due to mixing conditions is useful for breeders as it enables to evaluate the need to specifically breed for inter-genotypic

interactions. Specific mixing ability is also of high interest for breeders as it represents the potential for mixture assembly. Once the breeding process is over, several cultivars might be selected with similar general mixing ability. At that stage, specific mixing ability might be useful to identify the best mixture composition.

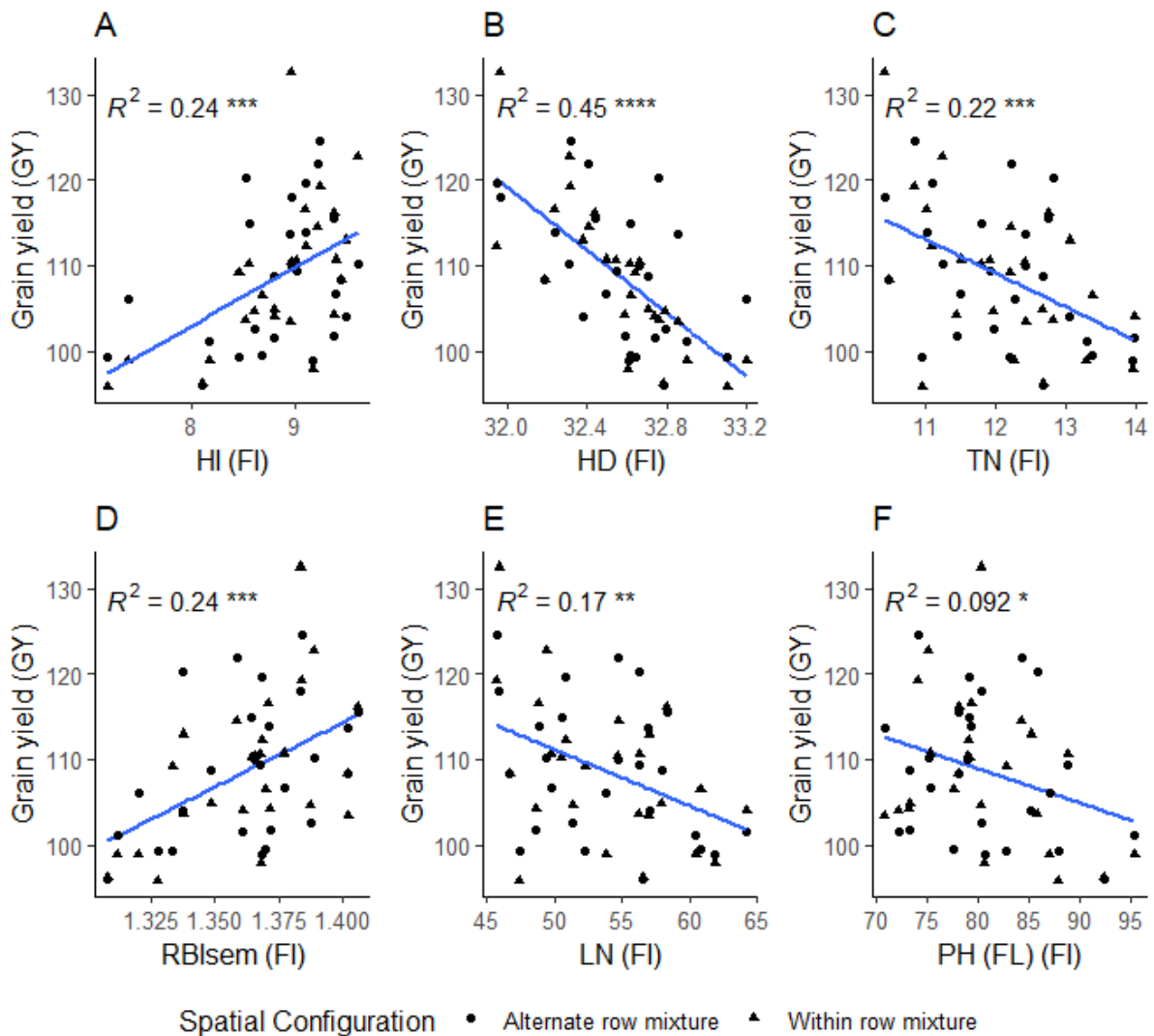
### Limits

In our metric computation method, we computed FD and FI assuming that all traits were effect traits (impacting plant-plant interactions) and not response traits (traits value impacted by plant-plant interactions). Indeed, we hypothesized that traits distribution was not impacted by mixing (no phenotypic plasticity and no change in proportion between sowing and harvest). This might limit the predictive power of such metrics. In addition, even without this assumption, currently used FD metrics assume that species interactions are random, with the frequency of interactions determined solely by their relative abundances. However, spatial aggregation of conspecifics renders species interactions non-random and significantly reduces the diversity of species interactions. This could explain the lack of biological relationship observed between our metric of functional diversity and grain yield.

Consequently, most of the currently employed FD metrics are inadequate in fully capturing the diversity and nature of species interactions. Thus, there is a need to develop alternative FD metrics that account for the realistic representation of realized plant-plant interactions. For example, instead of relying solely on the frequency of interactions determined by relative abundances, we could utilize metrics such as spatial segregation or entropy measurements (Reardon and O'Sullivan, 2004) to assess the spatial distribution patterns of plants. Image analysis of community with species recognition with deep learning algorithms could help us to measure such metrics without intense use of labor forces.

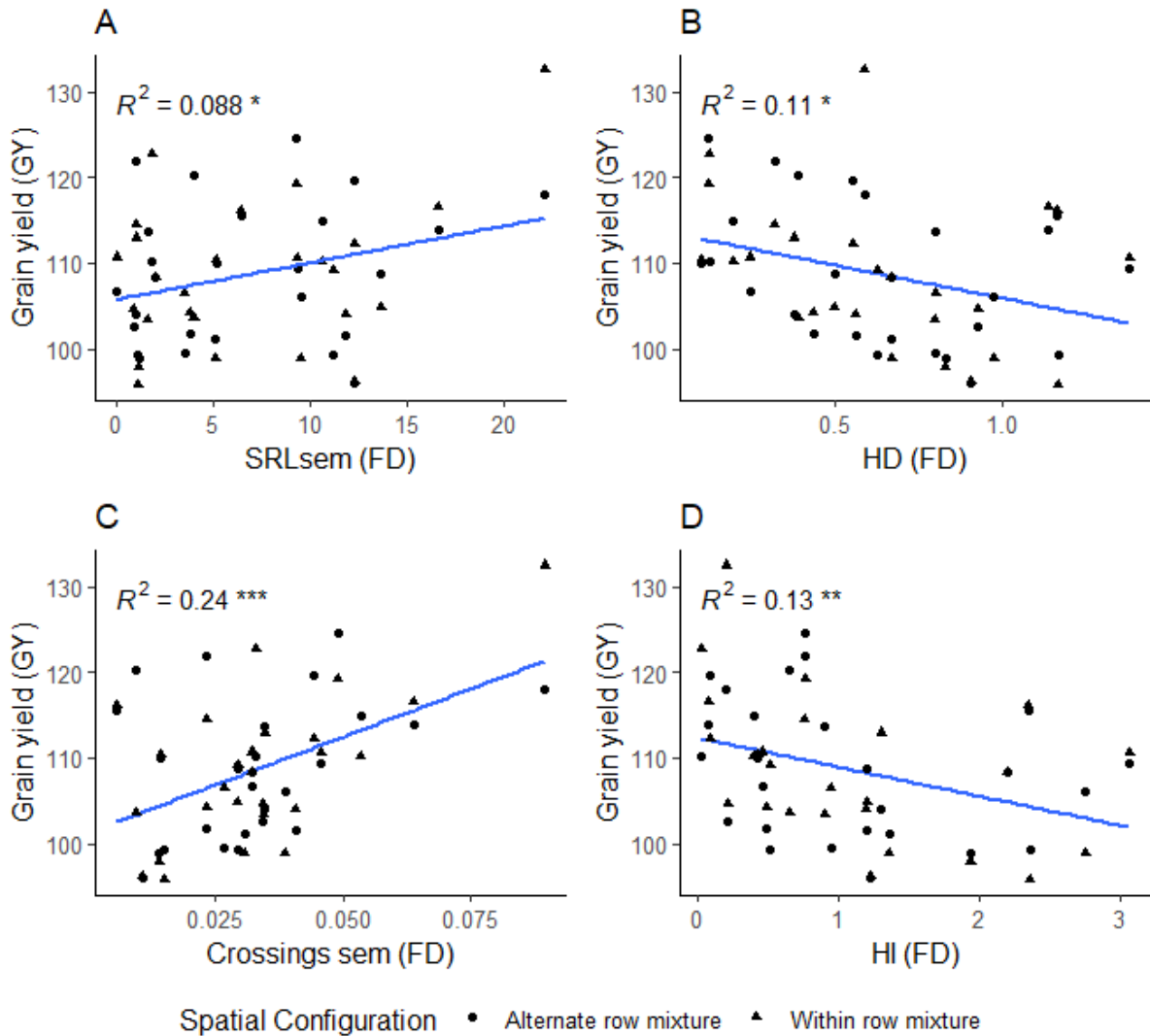


## Supplementary Materials



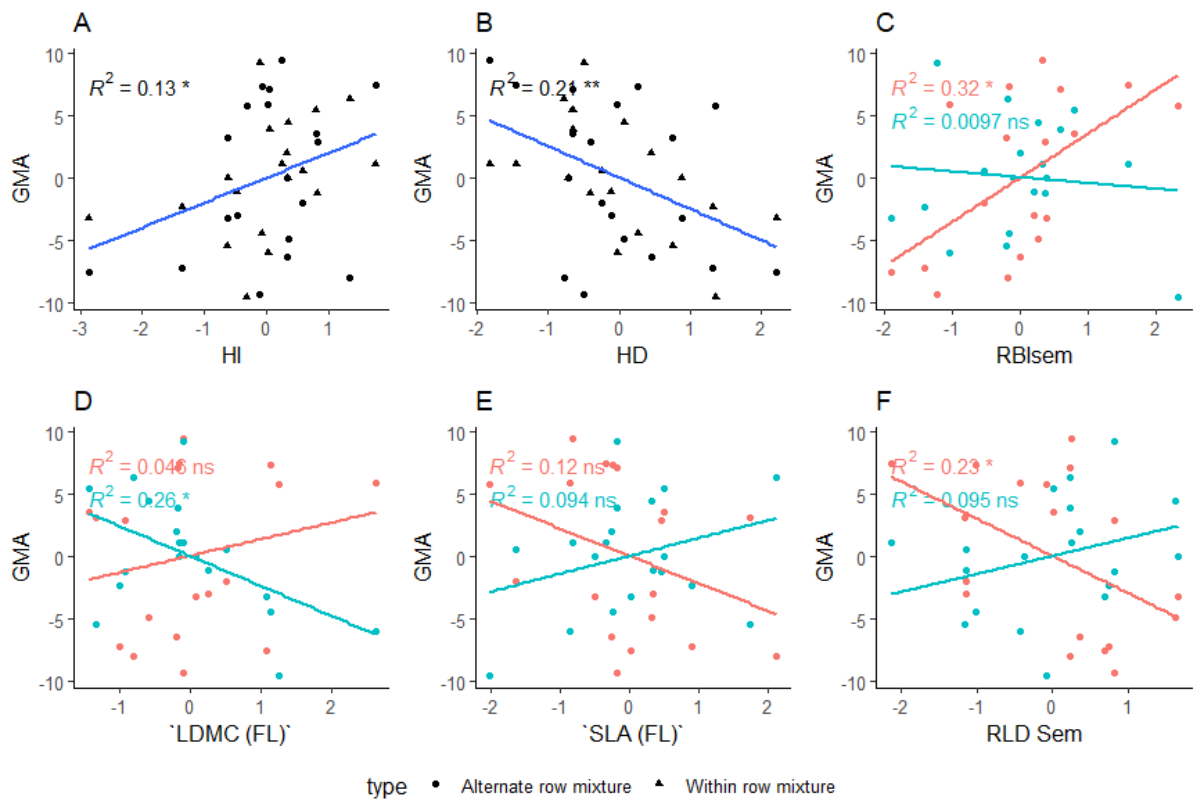
**Figure 1: Relationship between functional identity of functional traits and grain yield.**

FI: Functional identity; HI: Harvest index; HD: Heading date; TN: Tiller number; RBIssem: Root branching intensity of seminal root system; LN: Leaf number; PH (FL): Plant height at maturity. Only significant relationships at the 5% threshold are reported. All interactions between functional indices and spatial configuration were non-significant.

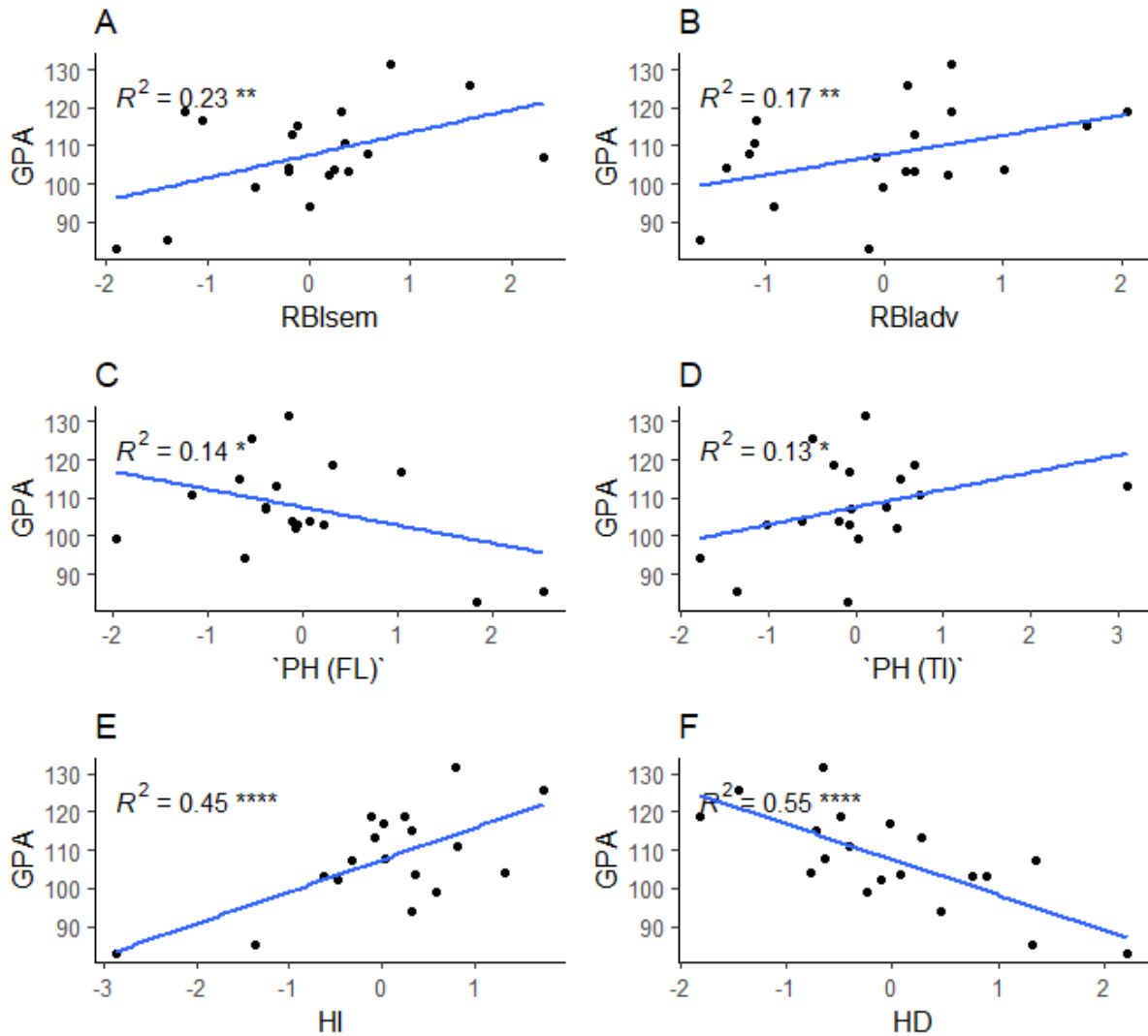


**Figure 2: Relationship between functional diversity of functional traits and grain yield.**

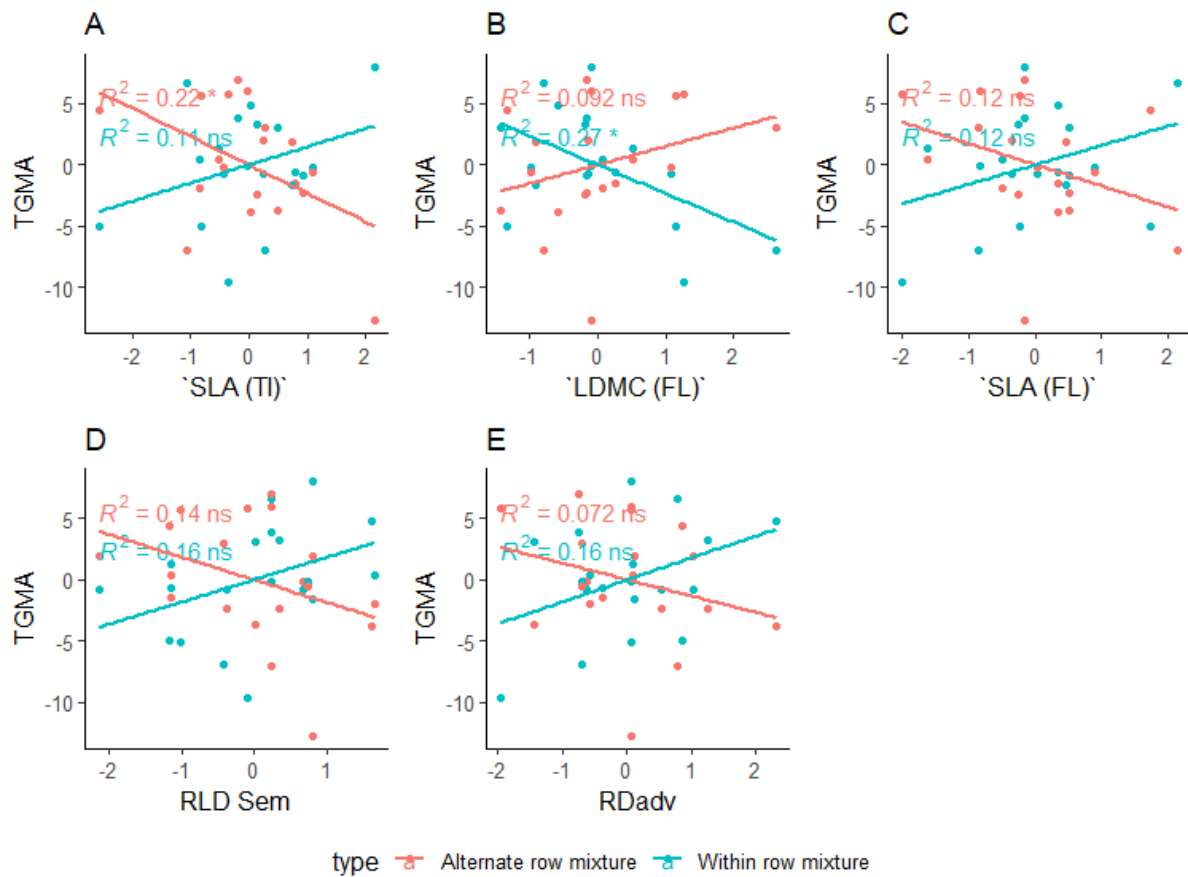
FD: Functional diversity; HD: Heading date; SRLsem: specific seminal root length, Crossings sem: Number of branching per root length units, HI: Harvest index. Only significant relationships at the 5% threshold are reported. All interactions between functional indices and spatial configuration were non-significant.



**Figure 3: Relationships between Grain yield general mixing ability (GMA) and functional trait.** Colors indicate spatial configuration when interactions between spatial configuration and functional traits were significant. Only significant relationships are shown. A: HI (Harvest Index) B: HD (Heading date). C: RBlsem: Root branching intensity of seminal root system. D: LDMC (FL): Leaf dry matter content at flowering. E: SLA: Specific root length (FL) at flowering. F: RLD sem: Seminal root length density.  $R^2$  of the relationships and levels of significance of the linear relationship between functional trait and GMA are reported for all traits in each spatial configuration. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .



**Figure 4: Relationships between Grain Yield General performing ability (Average grain yield measured in single genotypic plots) and functional traits measured in single genotypic plots.** A: RBlsem : root branching intensity of seminal root system. B: RBladv: root ranching intensity of adventive root system. C: PH (FL) : Plant height at flowering. D: PH (TI): Plant height at tillering. E: HI: Harvest Index HI. F: HD: Heading date.  $R^2$  of the relationships and levels of significance of the linear relation between functional traits and GPA are reported for all traits. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ .



**Figure 5: Relationships between Grain yield True general mixing ability (TGMA) and functional traits with a significant interaction between functional traits and spatial configuration.** No other relationships between functional traits and TGMA were detected. A: SLA (TI) : Specific leaf area at tillering B: LDMC (FL): Leaf dry matter content at flowering, C: SLA(FL): Specific leaf area at flowering, D: RLDsem: Seminal root length density, E: RDadv: Adventice root diameter.  $R^2$  of the relationships in the two spatial configurations were reported. Levels of significance of the linear relationships between functional trait and TGMA in the two spatial configurations are reported. \*  $p < 0.05$ , ns: non-significant.

## References

- Alsabbagh, P., Gay, L., Colombo, M., Montazeaud, G., Ardisson, M., Rocher, A., Allard, V., David, J.L., 2022. Diversity matters in wheat mixtures: A genomic survey of the impact of genetic diversity on the performance of 12 way durum wheat mixtures grown in two contrasted and controlled environments. *PLOS ONE* 17, e0276223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276223>
- 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. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(89\)90070-4](https://doi.org/10.1016/0167-8809(89)90070-4)
- Barot, S., Allard, V., Cantarel, A., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., Goldringer, I., Lata, J.-C., Le Roux, X., Niboyet, A., Porcher, E., 2017. Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 37, 13. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x>
- Beissinger, T., Kruppa, J., Caverro, D., Ha, N.-T., Erbe, M., Simianer, H., 2018. A Simple Test Identifies Selection on Complex Traits. *Genetics* 209, 321–333. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300857>
- Beugnot, A., 2019. La performance hybride chez le maïs : de l'étude de la complémentarité entre groupes hétérotiques à la prédiction génomique (These en préparation). université Paris-Saclay.
- Bonneuil, C., Thomas, F., 2012. Semences, une histoire politique: amélioration des plantes, agriculture et alimentation en France depuis la Seconde Guerre mondiale. ECLM.
- Borg, J., Kiær, L.P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., Barot, 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.006>
- Bowden, R.L., Shroyer, J.P., Roozeboom, K.L., Claassen, M.M., 2001. Performance of Wheat Variety Blends in Kansas (2001). *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7327>
- Brisson, N., Gate, P., Gouache, D., Charmet, G., Oury, F.-X., Huard, F., 2010. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Research* 119, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.07.012>
- Brooker, R.W., George, T.S., Homulle, Z., Karley, A.J., Newton, A.C., Pakeman, R.J., Schöb, C., 2021. Facilitation and biodiversity–ecosystem function relationships in crop production systems and their role in sustainable farming. *Journal of Ecology* 109, 2054–2067. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13592>
- C. Essah, S.Y., Stoskopf, N.C., 2002. Mixture performance of phenotypically contrasting barley cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 82, 1–6. <https://doi.org/10.4141/P01-043>
- Collet, C., 2022. A novel phenotyping pipeline for root system architecture : evaluation with diversity panels of bread and durum wheat. UCL - Université Catholique de Louvain.
- Coumou, D., Rahmstorf, S., 2012. A decade of weather extremes. *Nature Clim Change* 2, 491–496. <https://doi.org/10.1038/nclimate1452>
- Dai, J., Wiersma, J.J., Holen Jr., D.L., 2012. Performance of Hard Red Spring Wheat Cultivar Mixtures. *Agronomy Journal* 104, 17–21. <https://doi.org/10.2134/agronj2011.0123>
- David, J., Holtz, Y., Ranwez, V., Santoni, S., Sarah, G., Ardisson, M., Poux, G., Choulet, F., Genthon, C., Roumet, P., Tavaud-Pirra, M., 2014. Genotyping by sequencing transcriptomes in an evolutionary pre-breeding durum wheat population. *Mol Breeding* 34, 1531–1548. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0179-z>
- Donald, C.M., 1968. The breeding of crop ideotypes. *Euphytica* 17, 385–403. <https://doi.org/10.1007/BF00056241>
- Fang, Y., Liu, L., Xu, B.-C., Li, F.-M., 2011. The relationship between competitive ability and yield stability in an old and a modern winter wheat cultivar. *Plant Soil* 347, 7–23. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0780-4>

- Federer, W.T., Connigale, J.C., Rutger, J.N., Wijesinha, A., 1982. Statistical Analyses of Yields from Uniblends and Biblends of Eight Dry Bean Cultivars. *Crop Science* 22, crops1982.0011183X002200010026x. <https://doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200010026x>
- Forst, E., Enjalbert, J., Allard, V., Ambroise, C., Krissaane, I., Mary-Huard, T., Robin, S., Goldringer, I., 2019. A generalized statistical framework to assess mixing ability from incomplete mixing designs using binary or higher order variety mixtures and application to wheat. *Field Crops Research* 242, 107571. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107571>
- Fréville, H., Montazeaud, G., Forst, E., David, J., Papa, R., Tenailon, M.I., 2022. Shift in beneficial interactions during crop evolution. *Evolutionary Applications* 15, 905–918. <https://doi.org/10.1111/eva.13390>
- Gallais, A., 1976. Effects of competition on means, variances and covariances in quantitative genetics with an application to general combining ability selection. *Theoret. Appl. Genetics* 47, 189–195. <https://doi.org/10.1007/BF00278377>
- Geert Hiddink, J., Wynter Davies, T., Perkins, M., Machairopoulou, M., Neill, S.P., 2009. Context dependency of relationships between biodiversity and ecosystem functioning is different for multiple ecosystem functions. *Oikos* 118, 1892–1900. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17556.x>
- Gizlice, Z., Carter Jr., 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, crops1989.0011183X002900040008x. <https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900040008x>
- Goldringer, I., Brabant, P., Kempton, R.A., 1994. Adjustment for Competition Between Genotypes in Single-Row-Plot Trials of Winter Wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 112, 294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1994.tb00687.x>
- Grassini, P., Eskridge, K.M., Cassman, K.G., 2013. Distinguishing between yield advances and yield plateaus in historical crop production trends. *Nat Commun* 4, 2918. <https://doi.org/10.1038/ncomms3918>
- Grime, J.P., 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* 86, 902–910. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x>
- Harpole, W.S., Sullivan, L.L., Lind, E.M., Firn, J., Adler, P.B., Borer, E.T., Chase, J., Fay, P.A., Hautier, Y., Hillebrand, H., MacDougall, A.S., Seabloom, E.W., Bakker, J.D., Cadotte, M.W., Chanton, E.J., Chu, C., Hagenah, N., Kirkman, K., La Pierre, K.J., Moore, J.L., Morgan, J.W., Prober, S.M., Risch, A.C., Schuetz, M., Stevens, C.J., 2017. Out of the shadows: multiple nutrient limitations drive relationships among biomass, light and plant diversity. *Functional Ecology* 31, 1839–1846. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12967>
- Hector, A., 1998. The Effect of Diversity on Productivity: Detecting the Role of Species Complementarity. *Oikos* 82, 597–599. <https://doi.org/10.2307/3546380>
- Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högberg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Körner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Siamantziouras, A.-S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S., Lawton, J.H., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. *Science* 286, 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.286.5442.1123>
- Hoefler, R., González-Barrios, P., Bhatta, M., Nunes, J.A.R., Berro, I., Nalin, R.S., Borges, A., Covarrubias, E., Diaz-Garcia, L., Quincke, M., Gutierrez, L., 2020. Do Spatial Designs Outperform Classic Experimental Designs? *JABES* 25, 523–552. <https://doi.org/10.1007/s13253-020-00406-2>

- 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. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.006>
- Kneitel, J.M., Chase, J.M., 2004. Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecology Letters* 7, 69–80. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00551.x>
- Knott, E.A., Mundt, C.C., 1990. Mixing ability analysis of wheat cultivar mixtures under diseased and nondiseased conditions. *Theoret. Appl. Genetics* 80, 313–320. <https://doi.org/10.1007/BF00210065>
- Litrice, I., Violle, C., 2015. Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* 20, 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Lopez, C.G., Mundt, C.C., 2000. Using mixing ability analysis from two-way cultivar mixtures to predict the performance of cultivars in complex mixtures. *Field Crops Research* 68, 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00114-3)
- Loreau, M., Hector, A., 2019. Not even wrong: Comment by Loreau and Hector. *Ecology* 100, e02794. <https://doi.org/10.1002/ecy.2794>
- Loreau, M., Hector, A., 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76. <https://doi.org/10.1038/35083573>
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A., 2001. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science* 294, 804–808. <https://doi.org/10.1126/science.1064088>
- Montazeaud, G., Violle, C., Roumet, P., Rocher, A., Ecarnot, M., Compan, F., Maillet, G., Fort, F., Fréville, H., 2020. Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: Towards ecological assembly rules for varietal mixtures. *Journal of Applied Ecology* 57, 2285–2295. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>
- Onofri, A., Terzaroli, N., Russi, L., 2021. Linear models for diallel crosses: a review with R functions. *Theor Appl Genet* 134, 585–601. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03716-8>
- Pandit, J.J., 2010. The analysis of variance in anaesthetic research: statistics, biography and history. *Anaesthesia* 65, 1212–1220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2010.06542.x>
- Pérez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M.S., Cornwell, W.K., Craine, J.M., Gurvich, D.E., Urcelay, C., Veneklaas, E.J., Reich, P.B., Poorter, L., Wright, I.J., Ray, P., Enrico, L., Pausas, J.G., Vos, A.C. de, Buchmann, N., Funes, G., Quétier, F., Hodgson, J.G., Thompson, K., Morgan, H.D., Steege, H. ter, Sack, L., Blonder, B., Poschlod, P., Vaieretti, M.V., Conti, G., Staver, A.C., Aquino, S., Cornelissen, J.H.C., 2016. Corrigendum to: New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 64, 715–716. [https://doi.org/10.1071/bt12225\\_co](https://doi.org/10.1071/bt12225_co)
- Pierik, R., de Wit, M., 2014. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *Journal of Experimental Botany* 65, 2815–2824. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert389>
- Porker, K., Coventry, S., Fettell, N., Cozzolino, D., Eglinton, J., 2020. Using a novel PLS approach for envirotyping of barley phenology and adaptation. *Field Crops Research* 246, 107697. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.107697>
- Raffard, A., Santoul, F., Cucherousset, J., Blanchet, S., 2019. The community and ecosystem consequences of intraspecific diversity: a meta-analysis. *Biological Reviews* 94, 648–661. <https://doi.org/10.1111/brv.12472>
- Rearson, S.F., O'Sullivan, D., 2004. Measures of Spatial Segregation. *Sociological Methodology* 34, 121–162. <https://doi.org/10.1111/j.0081-1750.2004.00150.x>



- Reiss, E., Drinkwater, L., 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological applications* : a publication of the Ecological Society of America. <https://doi.org/10.1002/eap.1629>
- Ricotta, C., Moretti, M., 2011. CWM and Rao's quadratic diversity: a unified framework for functional ecology. *Oecologia* 167, 181–188. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1965-5>
- Robinson, R.G., Anderson, R.H., Lueschen, W.E., Nelson, W.W., Warnes, D.D., n.d. Winter Rye Rate of Sowing, Row Spacing, Varietal Mixtures, and Crosses.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.spasta.2017.10.003>
- Rossini, M.A., Maddonni, G.A., Otegui, M.E., 2011. Inter-plant competition for resources in maize crops grown under contrasting nitrogen supply and density: Variability in plant and ear growth. *Field Crops Research* 121, 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.01.003>
- Roy, S.K., 1960. Interaction between rice varieties. *J Genet* 57, 137–152. <https://doi.org/10.1007/BF02985344>
- Sarandon, S.J., Sarandon, R., 1995. Mixture of Cultivars: Pilot Field Trial of an Ecological Alternative to Improve Production or Quality of Wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Applied Ecology* 32, 288–294. <https://doi.org/10.2307/2405096>
- Sprague, G.F., Tatum, L.A., 1942. General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn1. *Agronomy Journal* 34, 923–932. <https://doi.org/10.2134/agronj1942.00021962003400100008x>
- Taranto, F., D'Agostino, N., Rodriguez, M., Pavan, S., Minervini, A.P., Pecchioni, N., Papa, R., De Vita, P., 2020. Whole Genome Scan Reveals Molecular Signatures of Divergence and Selection Related to Important Traits in Durum Wheat Germplasm. *Frontiers in Genetics* 11.
- Tilman, D., Lehman, C., 2001. Human-caused environmental change: Impacts on plant diversity and evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 5433–5440. <https://doi.org/10.1073/pnas.091093198>
- Trenbath, B.R., 1974. Biomass Productivity of Mixtures, in: Brady, N.C. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 177–210. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60871-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60871-8)
- van Ruijven, J., Berendse, F., 2005. Diversity–productivity relationships: Initial effects, long-term patterns, and underlying mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102, 695–700. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407524102>
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science* 277, 494–499. <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.494>
- Wille, W., Pipper, C.B., Rosenqvist, E., Andersen, S.B., Weiner, J., 2017. Reducing shade avoidance responses in a cereal crop. *AoB PLANTS* 9. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plx039>
- Yan, X., Diez, J., Huang, K., Li, S., Luo, X., Xu, X., Su, F., Jiang, L., Guo, H., Hu, S., 2020. Beyond resource limitation: an expanded test of the niche dimension hypothesis for multiple types of niche axes. *Oecologia* 193, 689–699. <https://doi.org/10.1007/s00442-020-04713-w>



## **4. Les traits de diversité fongique présentent-ils un intérêt à être incorporés dans un schéma de sélection pour développer des mélanges ?**

L'étude des traits racinaires chez de nombreuses espèces de plantes a récemment abouti à émettre l'hypothèse selon laquelle la plupart des variations de structures racinaires observées représentent un gradient entre une stratégie de "collaboration" avec des micro-organismes (fongiques par exemple) et une stratégie de "do it yourself" (Bergmann et al., 2020). L'influence du microbiote sur les performances du blé a été reportée mais la littérature à ce sujet est encore limitée malgré l'engouement des scientifiques pour le sujet de recherche (Chen et al., 2022). De même de nombreuses publications rapportent des changements de microbiote associés à la domestication et la sélection (Chen et al., 2022; Gholizadeh et al., 2022; Tkacz et al., 2020, Fréville et al., 2023) alors que d'autres ne rapportent aucun effet (Paz-Vidal et al., 2023) mais les mécanismes liés à ces changements de microbiotes sont encore inexplorés. En particulier, on sait peu de choses sur la nature des modifications physico-morphologiques chez le blé qui ont modifié l'habitat du microbiote permettant ainsi de changer la diversité et la nature des espèces recrutées dans le microbiote.

L'influence du microbiote sur les interactions plantes-plantes a été reportée dans de nombreux cas comme par exemple pour son rôle dans la gestion de l'azote (Fernandez et al., 2022; Singh et al., 2012). Au niveau des interactions entre plantes, la composition du microbiote d'une communauté est affecté par la compétition entre plantes (Cavaliere et al., 2020) et en retour le microbiote peut affecter le résultat des interactions entre plantes et la relation entre diversité et productivité (Forero et al., 2021). Chez certaines espèces, les effets du microbiote sur des phénomènes de facilitation ont été observés (Rodríguez-Echeverría et al., 2013). Dans les écosystèmes cultivés, il a été montré chez le blé tendre que le microbiote du sol pouvait influencer l'aptitude à la compétition d'une espèce (Hol et al., 2013) et donc ses performances (Ulcuango et al., 2021). Cependant, l'importance du microbiome pour le design d'idéotype a rarement été étudié.

Une des origines de cette limitation est la complexité des outils statistiques et de l'acquisition des données nécessaires à décrire la diversité fongique (Beilsmith et al., 2019). Récemment, le développement des outils de séquençage haut débit a permis de quantifier à

faible prix la présence de plusieurs milliers de micro-organismes fongiques du sol. Pour incorporer cette information dans les programmes de sélection, deux pré-requis sont nécessaires :

- Le développement d'indicateurs de la diversité fongique qui soient héréditaires chez les variétés (présence d'un déterminisme génétique de la plante-hôte).
- La quantification de l'impact de cet indicateur sur les performances des cultures.

Dans ce chapitre, nous avons étudié le premier des pré-requis nécessaires à l'intégration des traits de diversité microbiens dans les programmes de sélection, en posant la question suivante : Existe-il un déterminisme génétique de la présence d'organismes fongiques chez le blé ?

# Plant genotype influences root associated fungal mycobiota composition in durum wheat (*Triticum durum* ssp.)

**Authors:** Trinquier Margot\*(1,2), Colombo Michel\* (3), Rosset Coline (2), Fréville Hélène (3), David Jacques (3), Lefebvre Benoit (+)(2), Roux Christophe (+)(1).

- \* the authors contributed equally to this manuscript
- + the authors contributed equally to this manuscript

(1) LRSV, UMR 5546 CNRS / Université Toulouse 3 Paul Sabatier / INP-ENSA Toulouse, France

(2) LIPME, UMR 441 INRAE / 2594 CNRS – Auzeville-Tolosane, France

(3) AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro – Montpellier, France

**Objectif :** Journal New Phytologist section Interaction

## Summary

- Plant genetics and environmental factors play a key role in shaping the root microbiota. This study investigates whether specific wheat genotypes shape their endophytic fungi and explores the potential genetic determinants underlying these relationships.
- Using a field trial and 181 EPO lines derived from wild durum wheat genotypes, we use metabarcoding to characterise fungal diversity and quantitative genetic methods, including heritability analysis and GWAS, to uncover original genetic determinants influencing mycobiota composition.
- The research found correlations between fungal clades, revealing a negative relationship between *Mortierellomycotina* and *Glomeromycotina*, the AM fungi.

It shows a higher heritability of fungal clades with a unique trophic mode, such as the biotrophic AMF. It also highlights the potential of specific fungal clades, such as *Olpidiomycota* or *Chytridiomycota*, as new root endophyte fungi. Finally, this study reveals 11 QTLs for mycobiota composition at the clade level.

- By elucidating the genetic control of fungal diversity and identifying key fungal associations, this work advances our understanding of plant-microbiota interactions. This work highlights the potential roles of specific fungi and paves the way for the use of mycobiota in breeding programmes.

Key words: Evolutionary Prebreeding pOpulation, field survey, fungal phylum/subphylum, mycobiota composition, plant genetics, root endophytes, wheat

## Introduction

Plants build complex interaction networks with microorganisms that facilitate nutrition and resistance to biotic and abiotic stresses (Trivedi et al., 2020). Confronted with soil microbiome, root systems organize their microbial environment, from rhizosphere, rhizoplane and root endosphere (Vanderkoornhuise et al, 2015). The respective incidence of plant genetics and environmental soil determinants to shape root microbial communities is still under debate. Numerous abiotic factors have been shown to create local ecological niches that impact soil microbiota structure and composition. In the case of agricultural fields, such abiotic factors include soil physico-chemical properties, availability of water, availability of biogenic elements, agricultural practices, historical use of the soil and climatic conditions (Azarbad et al., 2020; Teksty, 2018; Hartman et al., 2018; Lupwayi et al., 1998). In addition to these abiotic factors that drive soil microbiota, it has been observed that the genotype of the plants grown in fields also influences soil and root microbiota (Zhang et al 2023).

Plant genetics partly explains variability in phyllosphere microbiota structure and composition (Horton et al, 2014; Beilsmith et al, 2018; Wallace et al, 2018; Roman-Reyna et al, 2020). As root organs are harder to collect, and the soil is a reservoir of a huge microbial diversity, correlations between plant genetic determinants and root microbiota are much less documented. Some studies however identified some correlations in different plant species grown in controlled and field conditions, including crops (Schlaeppli et al, 2014; Deng et al, 2021; Edwards et al, 2015). Studies in field

conditions usually require large experimental designs with replicates and adequate spatial modeling to control intra-field spatial variability that might lead to spurious genetic associations. Such models have been recently developed in agronomy to efficiently account for spatial heterogeneity (Rodríguez Alvarez et al, 2018), and have been successfully applied in a field-based study of sorghum microbiota (Deng et al, 2021). In wheat, one of the major worldwide crops, most studies have dealt with plant genetic determinants of root and rhizospheric bacterial microbiota (Kavamura et al, 2021; Simonin et al., 2020; Rossmann et al., 2020; Naylor et al, 2017; Doon et al., 2015). The root fungal microbiota has comparatively received much less attention. Interestingly, the genetic identity of bread wheat was recently shown to impact the root fungal microbiota (Latz et al. 2021). This underlines the great interest to identify genomic regions that support the organisation of the wheat fungal microbiome.

The plant fungal microbiota, also called mycobiota, plays an important role for plant fitness (Bonfante et al., 2019). The Fungal kingdom is estimated at 3.8 million species (Hawksworth et Lücking, 2017), which belong to different phyla among which the most studied are the *Ascomycota*, the *Basidiomycota* and the *Mucoromycota*, including 3 sub-phyla; the *Mucoromycotina*, the *Mortierellomycotina* and the *Glomeromycotina* (Li et al., 2021; Spatafora et al., 2016). Root associated fungi exhibit a continuum from saprotrophism to mutualism/parasitism (Li et al., 2021). *Ascomycota* and *Basidiomycota*, the most diversified phyla, present a large diversity of trophic mode (James et al., 2006). Other clades less phylogenetically diversified can present a specific lifestyle. *Glomeromycotina* for example, commonly called Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi, are all obligate mutualistic fungi. Their sister clade *Mortierellomycotina* is most commonly composed of saprotrophic fungi, but the presence of some taxa in root mycobiome is frequently cited with a proposed plant growth promoting effect (Zhang et al, 2020). This makes these two clades highly relevant candidates to positively impact plant functioning through a long history of co-evolution and thus improve agro-system functioning.

Correlating the root fungal communities as a function of the host genetic diversity is not a common approach. The plant mycobiota is investigated by metabarcoding (Ruppert et al. 2019). Metabarcoding relies on amplification and sequencing of a portion of genomic regions that serve to identify fungus species (Tedersoo et al., 2022). The barcode should be ubiquitous and composed of

conserved and highly diverse regions between species, for efficient amplification and resolute affiliation respectively. Ideally, the barcode should be in single copy in all target genomes, which is usually not the case, meaning that exact quantification is still out of reach (Estensmos et al., 2021; Maeda et al., 2018). Thus, data on presence / absence of the identified taxons are usually the most trustworthy data to analyze.

Information about the fungal community of each sample has to be addressed with summarized metrics. Diversity indexes, such as the Shannon index are broadly used to characterize composition of the communities. In addition, multivariate analysis such as correspondence analysis or principal component analysis are used to describe the samples in a much more simplified numerical space. The coordinates of individual samples for the first principal axes or their diversity index can be considered as quantitative traits on which genetics can be investigated, either by classical heritability or by more recent and widespread use of genetic markers spread on the whole genome of an organism. Deciphering the genetic architecture of traits has been tremendously accelerated by the use of Genome Wide Association Studies (GWAS). In durum wheat, GWAS are now widely conducted to test for genetic determinants of traits including GWAS from PCA axes that has been shown to be a powerful multivariate GWAS method (Zhang et al, 2018).

In this study, we investigated the fungal communities associated with roots of 181 field-grown durum wheat inbred lines. Durum wheat was first domesticated 10,000 years ago in the Fertile Crescent and then bred and selected for agronomic characteristics. As a result of recurrent bottlenecks and selective events, genetic diversity has been strongly reduced throughout breeding history (Maccaferri et al, 2019). Such loss might have altered the ability of wheat to interact with beneficial microorganisms (Sawers et al., 2007, Freville et al, 2022). In this context, studying the genetic determinants underlying root mycobiota composition in a set of lines that contains a wide diversity of alleles including wild-type alleles could help designing selection schemes for improving beneficial microbial interactions. We correlated fungal metabarcoding approaches to durum wheat GWAS to address two main questions: (1) Does the ability of durum wheat to associate with fungi have a genetic determinism? (2) Does wheat-genetic control of mycobiota relate to a general fungal community or rather to specific phyla ?



# Material and Methods

## Genetic material

We grew in a field of south of France 181 inbred lines from the highly diversified Evolutionary Prebreeding durum wheat pOpulation (EPO) developed since 1997 at INRAE Montpellier, France (David et al., [2014](#)). This set of lines has a weak linkage disequilibrium (LD) structure, making this panel ideal for Genome-Wide Association Studies (GWAS). The Evolutionary Prebreeding durum wheat pOpulation (EPO) was founded by intercrossing a durum wheat composite cross segregating for a spontaneous male sterility with some from wild, primitive, and traditional subspecies of *Triticum turgidum*. After twelve generations of open pollination the 181 EPO lines were extracted and fixed by subsequent selfing (David et al 2014). These lines were genotyped with the TaBW410K marker high-throughput genotyping array (Rimbert et al., [2018](#)) from which marker and presence/absence variants (Off Target Variants) were extracted. Non-polymorphic markers and markers with a minor allele count under 10 were discarded. Missing values were imputed as the observed allele frequencies at each locus. After these steps, 46,439 markers were available for further analysis.

## Experimental design

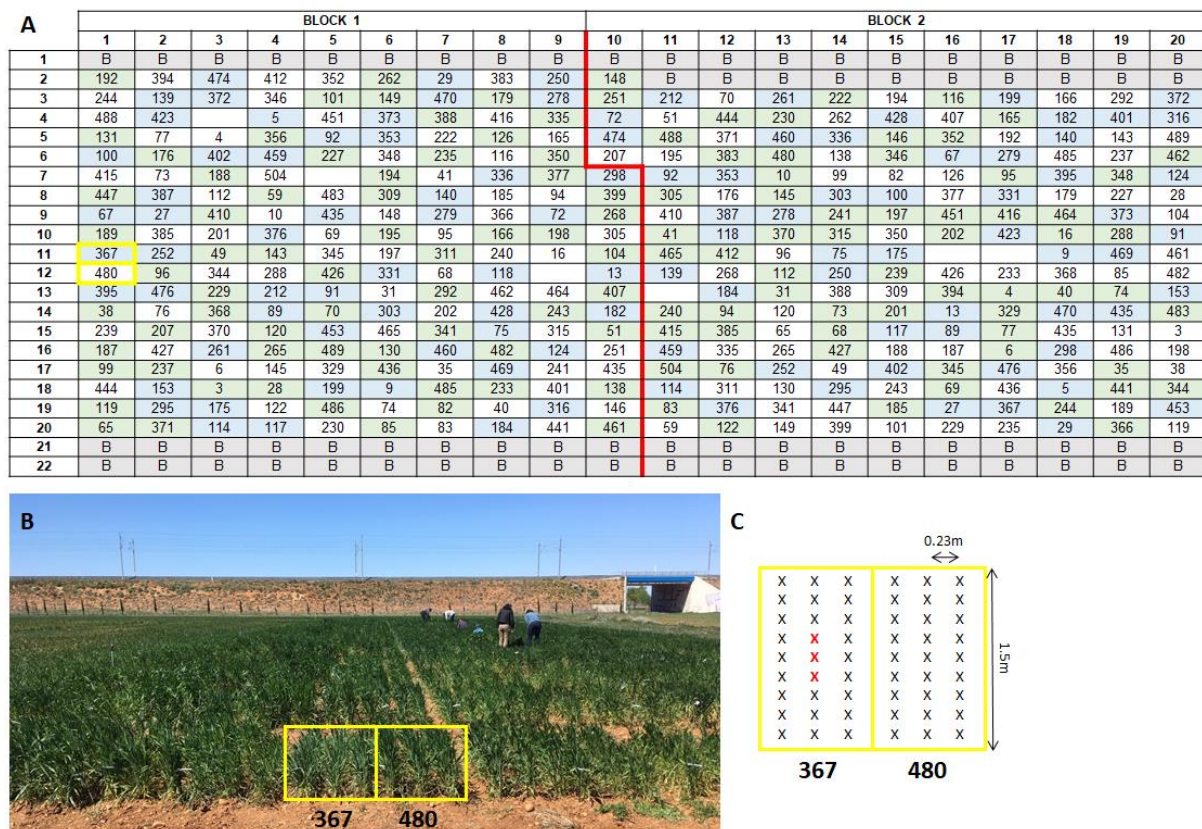
The 181 EPO inbred lines were grown in a 0.10 ha field at Mauguio (43.6208218; 3.9851894, experimental unit DIASCOPE, INRAE) in the south of France during 2020-2021. Each plot consisted in 6 rows of 1.5m long containing 2 EPO lines. Each line being grown in three consecutive rows spaced by 0.23m. (Fig.1A). Each inbred line was replicated twice in plots randomly distributed in two blocks (Fig. 1B). Plants were sown on October 19, 2020. Sowing density was 70 seeds per 1.5m row. Plots were managed with shallow tillage, mechanical and hand weeding. Organic fertilization (Orga VIO 10.5.0, Violleau) and irrigation were supplied to avoid resource limitations.

Root samples were collected in April 2021 before the heading stage of wheat plants. Each sample consisted of a pool of root systems up to approximately 15cm depth and belonging to a minimum of three plants. Sampling was conducted in the center of the central row out of the three for each genotype in each plot in order to limit border effects (Fig.1B). For 128 lines out of 181, root samples were collected randomly between the two blocks, whereas for 53 lines roots samples were collected in both replicates. This sampling design corresponded to a p-rep design, where 30% of the test entries were replicates allowed us to calculate heritability values while taking account spatial effects.

# Mycobiota composition

## DNA extraction

Samples were carefully hand washed with tap water to remove all aggregating soil, using 180µm sieves to collect fine root fragments. Cleaned roots were frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C before DNA extraction with a ZymoBIOMICS 96 DNA Kit in plate (Zymo Research). Two grinding steps were performed: a first manual grinding of the entire sample with liquid nitrogen in mortar and pestle, and a second on a fraction of root powder in tubes containing beads provided with the kit, in a mixer mill Retsch MM 400. DNA extraction was performed following the supplier protocol. DNA samples were then stored at -20°C.



**Figure 1: A) Trial design in two blocks, limit is shown with a red line, arranged in 22 lines and 20 columns.** Position of EPO inbred lines (identification number) is shown for all plots. Lines in green were sampled in only one plot, whereas those in blue were sampled twice, one in each block. Identification of two EPO inbred lines in yellow. B) Picture of the field trial taken at the time of the sampling. The plot containing line 367 and line 480 from block 1 is delimited by a yellow rectangle. C) Plot sampling design for plot shown in (B): a sample consists of a pool of root systems collected from at least three plants, shown in red, extracted in the center of the central row for each genotype in the plot.

## Amplicon library and sequencing

The ITS2 rRNA amplicon library was generated using a nested PCR. Two primer pairs were used: 1) pair rcAMDGR (5'-ATGATTAATAGGGATAGTTGGG-3') (Sato et al., 2005) & ITS4 (5'-TCCTSCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990) that does not amplify wheat ITS2 rRNA, and then, 2) pair ITS 86F (5'-GTGAATCATCGAATCTTTGAA-3') (Turenne et al., 1999) & ITS4 that produces a amplicon size compatible with Illumina MiSeq. For both PCR, the GoTaq® G2 DNA polymerase (Promega) was used in a mix with the following final concentration: for PCR 1, 1X GoTaq® Reaction Buffer, 0.08mM dNTPs, 0.32µM of both primers, 0.04U/µl of polymerase and appropriate amount of 100% DMSO was added to give a final concentration of 2% DMSO, and for PCR 2, 1X GoTaq® Reaction Buffer, 0.2mM dNTPs, 0.4µM of both primers, 0.02U/µl of polymerase and 2.5 mM of MgCl<sub>2</sub>. Nuclease-Free Water for Molecular Biology (Sigma-Aldrich) was used for each PCR mix. PCR was performed on a Thermocycler PrimeG (Techne) with initial denaturation at 95°C for 5 min and final elongation at 72°C for 10 min ; for PCR 1, 40 cycles were used at 95°C for 5 sec - 62°C for 30 sec - 72°C for 1 min; and for PCR 2, 35 cycles at 95°C for 30 sec - 55°C for 30 sec - 72°C for 1 min. Amplification of ~300 bp was visualized thanks to electrophoresis on 2% agarose gel.

Libraries were generated using the Illumina two-step PCR protocol and normalized using SequelPrep plates (Thermofischer). Paired-end sequencing with a 2x250 bp read length was performed at the Bio-Environment platform (University of Perpignan Via Domitia Perpignan, France) on a MiSeq system (Illumina) using v2 chemistry according to the manufacturer's protocol.

## Read processing

Raw reads were processed with the pipeline FROGS version 3.2.3 (Bernard et al., 2021) using the Galaxy interface ([https://vm-galaxy-prod.toulouse.inrae.fr/galaxy\\_main/](https://vm-galaxy-prod.toulouse.inrae.fr/galaxy_main/)). Reads were merged, pre-quality filtered, dereplicated and trimmed at 400 bp with Vsearch version 2.17.0, flash version 1.2.11 and cutadapt version 2.10. Then clustering was done using the SWARM algorithm (Mahé et al., 2014) with an aggregation distance of 1 allowing to build very fine clusters with minimal differences. Chimeras and singletons were removed. Filtering was done on a minimum proportion to keep an zero-radius Operational Taxonomic Unit (zOTU) with at least 0.005% of all sequences, i.e. represented by at least 261 sequences (Escudié et al., 2018). Then an ITSx filter version 1.1.2 was used to detect if sequences were similar to the ITS2 region. Taxonomy affiliation was performed by BLAST using the UNITE Fungi 8.3 database (Kõljalg et al., 2019; Nilsson et al., 2018). Rarefaction curves were done

for each sample in order to detect sequencing quality. From these data, we extract presence / absence data of each zOTU within each sample.

## Data analysis

All statistical analyses were conducted in R 4.1.

### Alpha diversity indexes

We computed several alpha diversity indexes as: Observed, Shannon and Inverse Simpson, using the R package *phyloseq* (McMurdie et Holmes, 2013). These indexes were calculated for each fungal group and used to characterize the mycobiota community composition. By fungal group we mean either a fungal phylum or a fungal subphylum. Observed index corresponds to the zOTU richness, i.e. the number of observed zOTUs in a given sample (Spellerberg et Fedor, 2003). Shannon index represents the evenness of the zOTU abundance distribution (Shannon & Weaver, 1949). Inverse Simpson index is the probability that two fungi picked randomly in the community belong to different zOTUs.

### Mycobiota correspondence analysis

To describe mycobiota community composition and assess patterns of co-occurrence or avoidance of particular species of fungi within and across fungal groups, we performed 6 independent correspondence analysis (MCA) using the MCA function of the FactomineR package (Pages, 2015) following previous microbiota studies (Zancarini et al, 2021).

To find co-occurrence and co-exclusion between groups of fungus species belonging to different phyla and subphyla, correlations between the different axes of the different MCA were performed using the *cor* function of R base. Bonferroni correction for multiple testing was applied.

To find co-occurrence and co-exclusion patterns of species of a fungal group, correlations between "Observed" diversity index of different fungal groups were performed using the *cor* function of R base. Bonferroni correction for multiple testing was applied.

### Spatial modeling and heritability computation

To account for variation in mycobiota composition due to variation in local environmental conditions, we fitted a spatial model with the PSANOVA function in the SpATS package for each composition variable (Rodriguez-Alvarez et al, 2018). We used a linear logistic model with logit link function for presence-absence data, whereas we used a linear model with a gaussian linked function for other composition variables.

Heritability of each composition variable and the Best Linear Unbiased Predictors (Y in the next paragraph) were computed using the function `get_Heritability` and extracted from the coefficients given the SpATS package (Rodriguez-Alvarez et al, 2018).

## Genome wide association study

To test for the association between variation in each composition variable and allelic variation at each SNP marker, we used the following mixed model (Yu et al., 2006):

$$Y = X\beta + Zu + \varepsilon$$

with Y the analyzed phenotype,  $\text{Var}(u) = K\sigma^2_u$  and  $\text{Var}(\varepsilon) = I\sigma^2_\varepsilon$ , is the random polygenic effect, represents the vector of fixed effects (intercept, dosage of the tested SNP), K represents a matrix of genetic relatedness between individuals (see below), I is the identity matrix, X and Z are incidence matrices for fixed and random effects, respectively.  $\sigma^2_u$  and  $\sigma^2_\varepsilon$  are the polygenic and error variances. K was computed following (VanRaden, 2008) equation :

$$K = \frac{V \times V'}{2\sum p_i(1 - p_i)}$$

With V, the centered marker matrix and  $p_i$  the allele frequency at marker i.

Each SNP was tested successively with the function `GWAS` from the R package `StatgenGWAS` based on the method presented in (Kang et al., 2010), using the EMMA algorithm as Fisher exact tests were computationally too demanding. Indeed, this algorithm allows estimating the variance of the residual and polygenic effects only once by fitting a model with no SNP. QQ-Plots were systematically inspected to control for false positives.

### Identification of significant SNPs

To identify significant SNPs linked to variation in mycobiota composition, we used a threshold of 4.34 corresponding to a Bonferroni type threshold computed with the Galwey method (Galwey, 2009). This threshold is well adapted to detect QTLs with large effects.

### Computation of QTL boundaries

To group all significant markers into QTLs and thus define QTL boundaries for each composition variable, we used a method inspired from (Cormier et al., 2014). For each chromosome, we computed linkage disequilibrium (LD) between significant markers, using R<sup>2</sup> estimator from (Hill and Robertson, 1968). LDs were square roots transformed to approximate

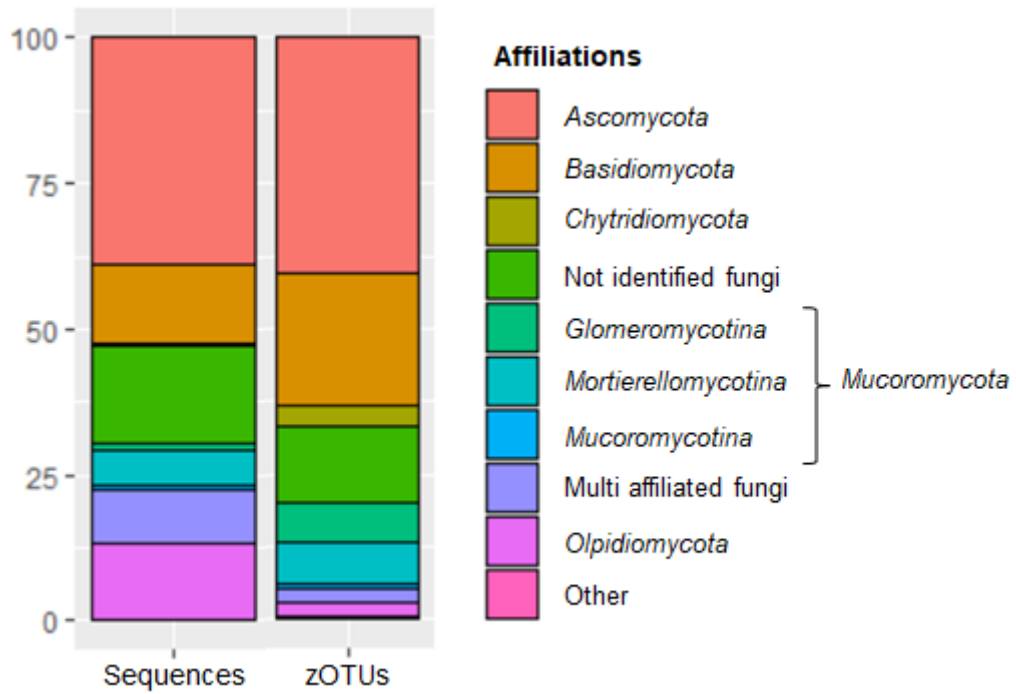
a normally distributed random variable as in (Brescaglio and Sorrells, 2006). Then, markers were clustered by LD blocks. Clustering was performed with the UPGMA method using a cutoff of 1-“critical  $R^2$ ”. Critical  $R^2$  ( $R^2_c$ ) was defined as the 99.9<sup>th</sup> percentile of the distribution of unlinked  $R^2$  computed between 10 000 pairs of markers randomly sampled from different chromosomes. This threshold accounts for a risk of 0.1% to be in LD by chance.

QTL boundaries were defined as the minimum and maximum map positions of significant markers belonging to the same LD block. QTLs of different composition variables were considered to overlap when they had at least one common significant marker and were located at a physical distance below one tenth of the total physical length of the chromosome as presented in (Cormier et al., 2014).

## Results

### EPO global root mycobiota composition

Among the 6 million reads obtained, 76.3% were kept after bioinformatic processing for affiliation on the UNITE database (Supp. Table 1). A total of 533 zOTUs were identified among which 529 were affiliated as fungi, confirming the specificity of primers for the fungal ITS2 rDNA target (Supp. Table 1). From this set, 446 zOTUs were affiliated to one fungal group (i.e. at the phylum or subphylum rank ) and kept for further analysis. The 83 remaining zOTUs were affiliated only at the kingdom level (70 zOTUs ; 16.6% of the reads) or multi-affiliated (13 zOTUs ; 9.1% of the read). The 446 zOTUs were distributed in 7 fungal groups mainly represented by the *Ascomycota* (215 zOTUs; 38.8% of the reads) and the *Basidiomycota* (121 zOTUs ; 13.8% of the reads) (Figure 2). The remaining zOTUs belong to the subphylum *Glomeromycotina*, i.e. AM fungi (38 zOTUs ; 1.2% of the reads), the subphylum *Mortierellomycotina* (37 zOTUs ; 6.1% of the reads), the phylum *Chytridiomycota* (19 zOTUs ; 0.4% of the reads), the phylum *Olpidiomycota* (12 zOTUs ; 13.1% of the reads) and the subphylum *Mucoromycotina* (4 zOTUs ; 0.7% of the reads) (Figure 2). The *Mucoromycotina* subphylum was excluded from further analysis because of its low representation. All detailed affiliations are provided in supplementary data.



**Figure 2 : Proportion of sequences and zOTUs obtained per affiliation at the phylum or sub-phylum rank**

## Variations of the root mycobiota composition depending on EPO lines

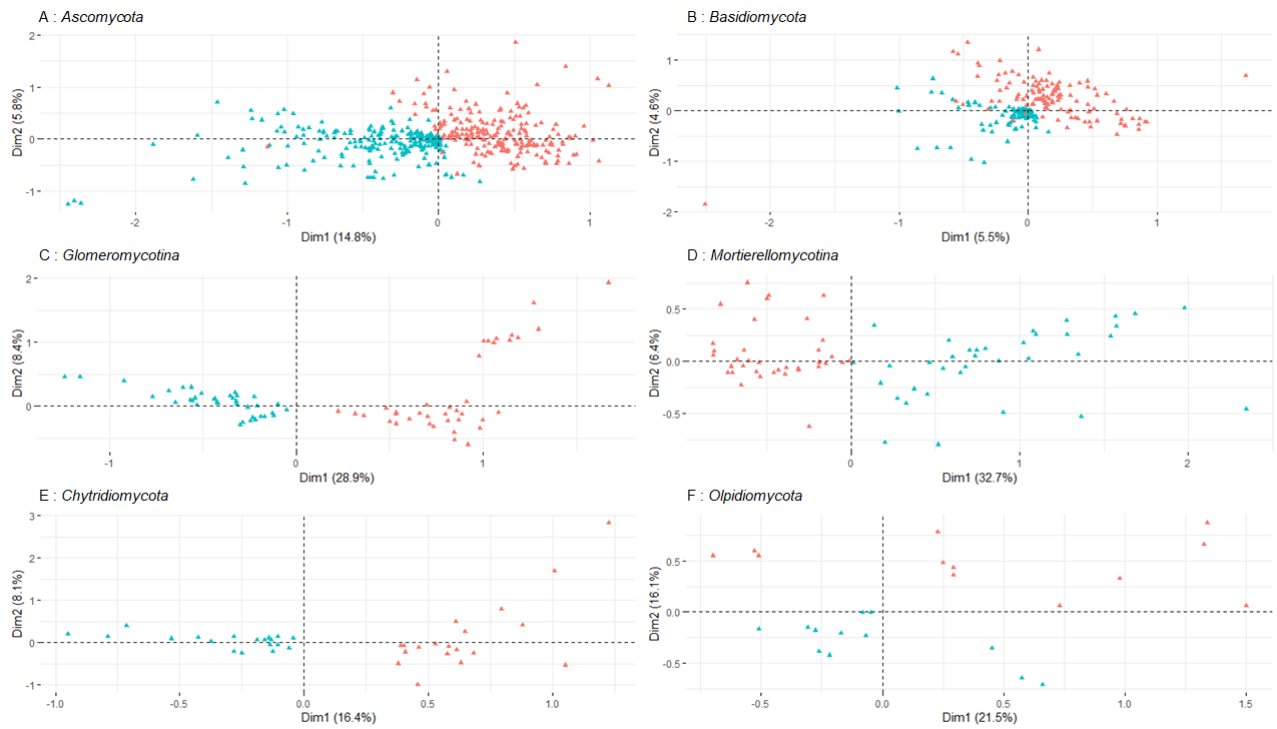
To describe mycobiota community composition and assess patterns of co-occurrence or avoidance of fungi within a given clade (phylum/subphylum), we performed 6 independent correspondence analyses (MCA), one for each identified fungal clade. MCA enables us to summarize the information from multiple correlated variables. We analyzed the grouping of categories (presence / absence of each zOTU) along the four first axes of the MCA. If all present zOTUs are clustered and opposed to clustered absent zOTUs, then it means that the main determinant of fungal species diversity is the presence of the whole group rather than a particular set of species of the fungal clade.

Interestingly, for each of the six clades (Figure 3A) and for the global analysis (Figure 3B), both present and absent zOTUs were grouped in the two-dimensional space along their respective axis 1 and axis 2. Thus, for each fungal clade the two first axes of MCA discriminate wheat root samples into samples with the presence of zOTUs of the clade and wheat samples without zOTUs of the clade. Such a pattern was not observed for axes 3 and 4 in any fungal clades (Supp Figure 1). To confirm this observation, we tested and observed strong correlation between the zOTU coordinates on the axes and their “observed” diversity metric. For all clades (Figure 4, respectively  $r_{AMF \text{ axe } 1} = 1$ ;  $r_{ASCO \text{ axe } 1} = 1$ ;  $r_{Basidio \text{ axe } 1} = 0.8$ ;  $r_{Mortierello \text{ axe } 1} = -1$ ;  $r_{Chytridio \text{ axe } 1} = 1$ ;  $r_{Olpidio \text{ axe } 2} = 0.9$  f). This confirmed that for all fungal clades the main feature accounted for by the first two axes of the MCAs (realized with presence/absence species data) was either a common presence of many of their respective zOTUs or their common absence.

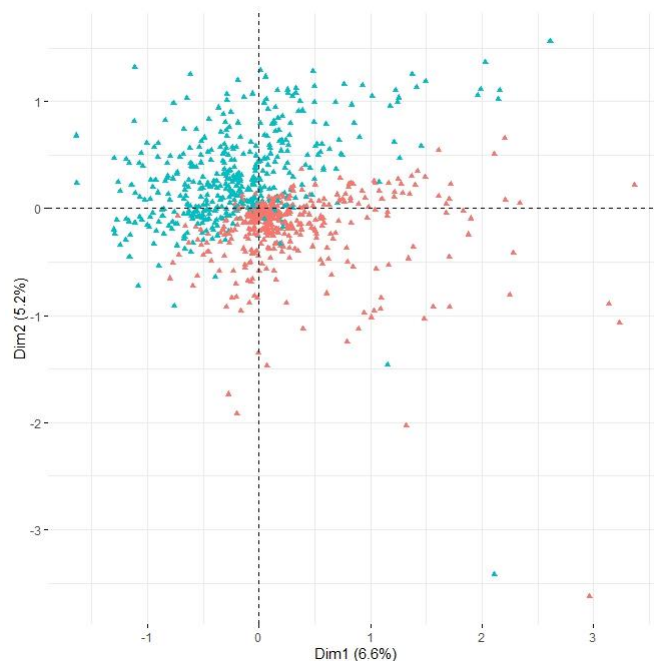
Observed indexes were positively correlated among fungal clades (Figure 4), showing that wheat genotypes with high presence of one fungal clade also had a high presence of another fungal clade. The strongest correlation was found between *Chytridiomycota* and the *Basidiomycota* ( $r = 0.51$ ,  $p < 0.05$ ). Yet there was one exception, Observed diversity indexes of the *Mortierellomycotina* and the AM fungi were negatively correlated ( $r = -0.23$ ,  $p < 0.05$ ) suggesting their zOTUs were mutually exclusive.

We also tested for patterns of co-occurrence or avoidance among fungi of the different clades by calculating the correlations between zOTU coordinates of the first 4 MCA axes for each of the six clades (Supp Figure 2). Several significant correlations were observed: axis 1 of the *Chytridiomycota* with axis 2 of the *Basidiomycota* ( $r = 0.70$ ); axis 1 of the *Mortierellomycotina* with axis 1 of the *Olpidiomycota* ( $r = 0.60$ ); axis 2 of the *Ascomycota* with first axes of the *Olpidiomycota* ( $r = 0.70$ ); axis 1 of the *Mortierellomycotina* with axis 4 of the *Ascomycota* ( $r = 0.70$ ). Many other strong correlations were reported (Supp data). This indicates many covariations between zOTU of different fungal clades.

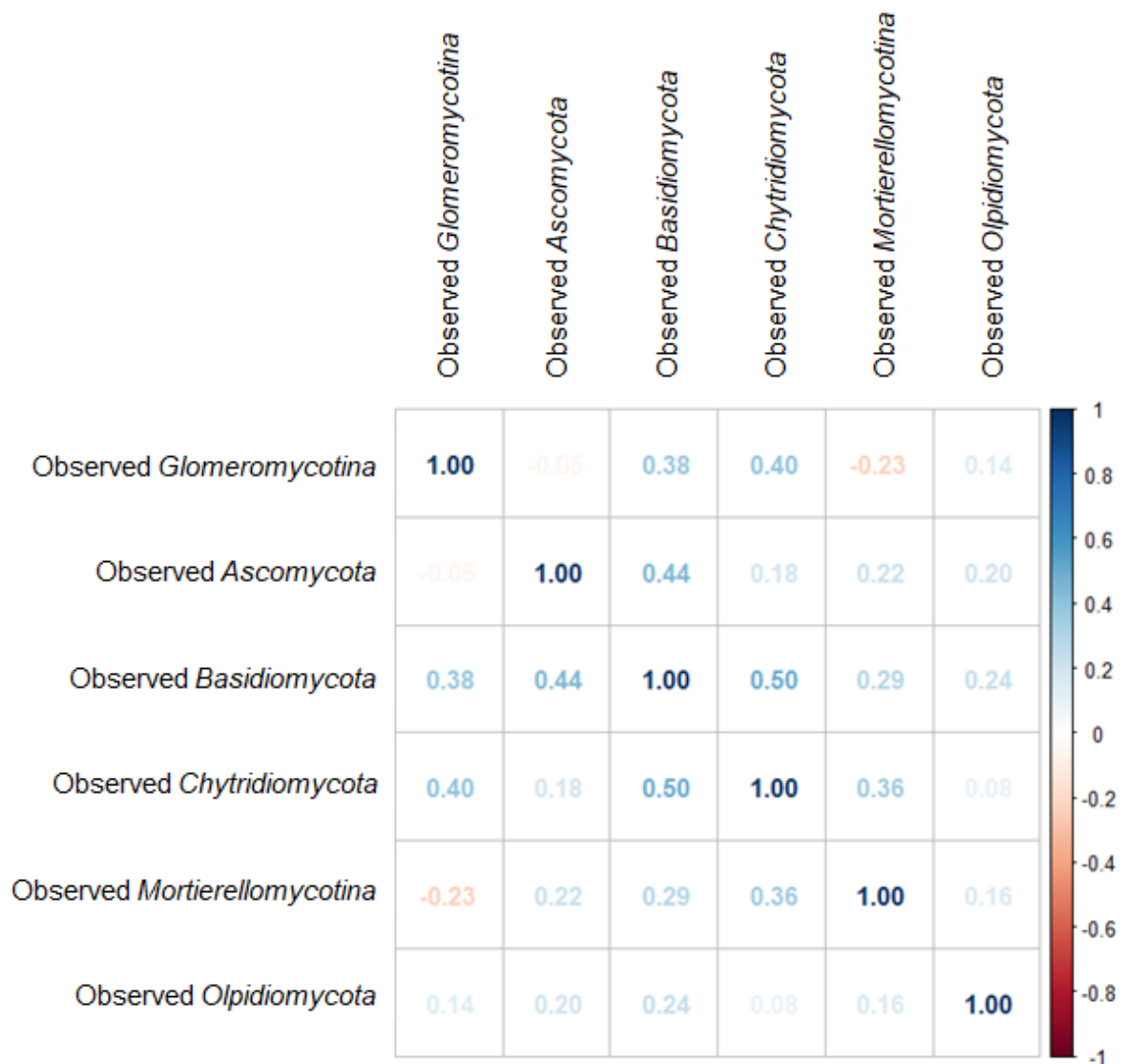




**Figure 3A: Results from Multiple correspondence analysis of each fungal group illustrated with dimensions 1 and 2.** Each red point indicates the projected position of the presence of a specific zOTU, while each blue point indicates the projected position of the absence of a specific zOTU.



**Figure 3B: Results from Multiple correspondence analysis of global dataset illustrated with dimensions 1 and 2.** Each red point indicates the projected position of the presence of a specific zOTU, while each blue point indicates the projected position of the absence of a specific zOTU.



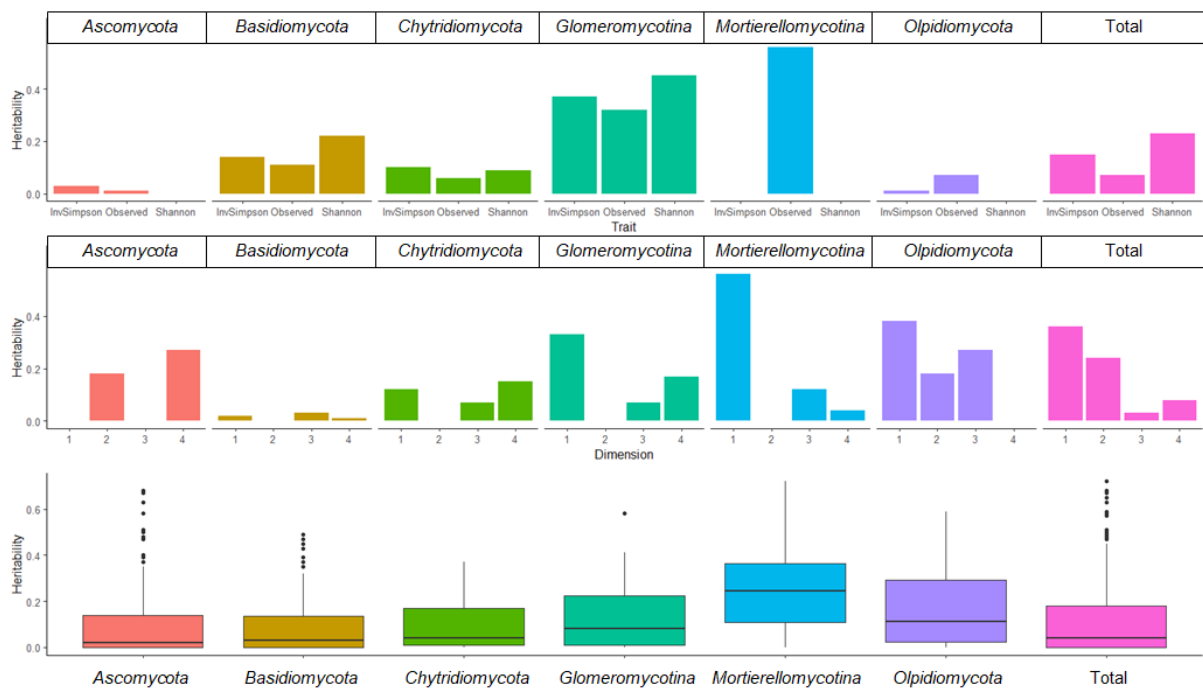
**Figure 4: Correlation matrix of Observed, i.e. zOTU richness index values. Only significant correlations were reported.** Bonferroni correction was applied to account for the 36 simultaneous testing.

## Genetic EPO determinants of root mycobiota composition

The genetic determinants of the variables describing mycobiota composition were investigated by computing the presence-absence feature of fungal phyla and taxa, coordinates of the MCA, and diversity metrics. To account for variation in mycobiota composition due to variation in local environmental conditions, we corrected the data using a spatial model.

As a prerequisite, we measured heritabilities of the variables. Heritabilities of presence / absence features of individual zOTUs were weak in all fungal clades, ranging from 0.01 to 0.21 (Figure 5A). Among the studied zOTUs, 113 (= 25%) had presence-absence features

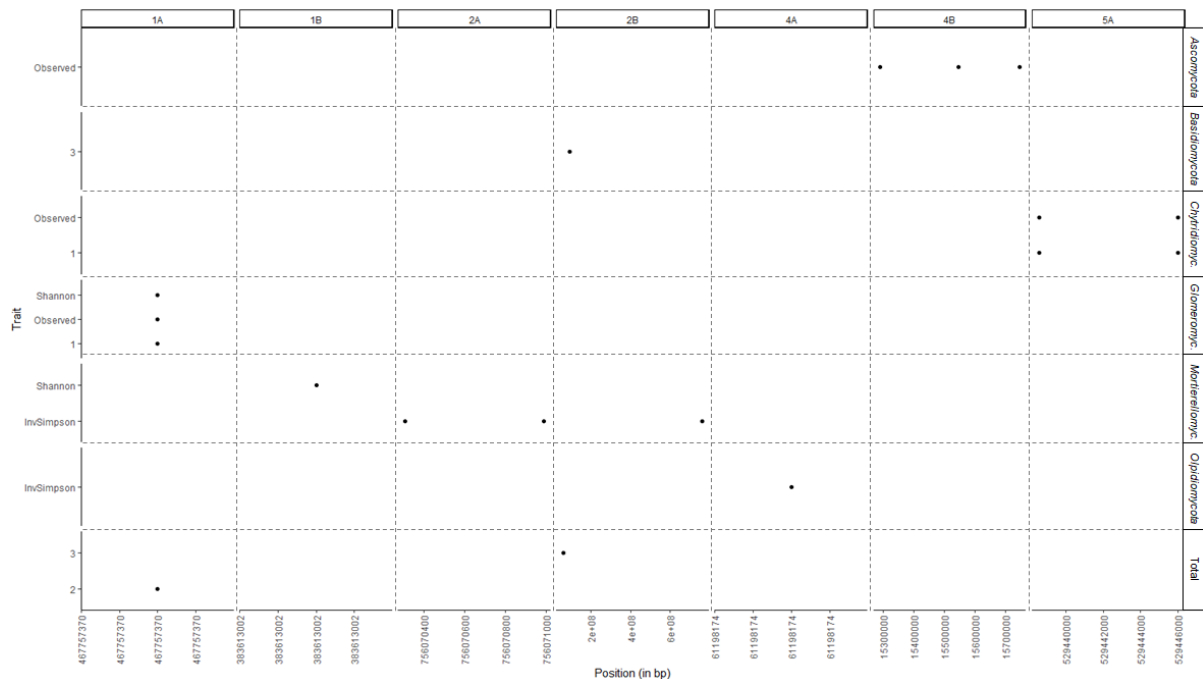
partly explained by the plant genotype (non-zero values of heritability). Heritabilities of aggregative variables describing mycobiota composition, coordinates from MCA and diversity metrics, were overall much higher, (Figure 5B and Figure 5C). For instance, heritability of Observed index was 0.56 for the *Mortierellomycotina* and 0.32 for the *Glomeromycotina* (Figure 5B), heritability for the Shannon index for the *Glomeromycotina* was 0.45. Overall, indexes describing the AM fungal communities had higher heritabilities than other fungal clades. The mean of heritabilities of the four first MCA axes for the AM fungi, the *Mortierellomycotina* and the *Olpidiomyco*ta were high compared to other phyla ( $h^2_{AMF} = 0.33$ ,  $h^2_{Mortierello} = 0.56$ ;  $h^2_{Olpidio} = 0.38$ ). Finally, heritability of the first and second axis of the global MCA were moderate ( $h^2_{TOT1} = 0.36$ ,  $h^2_{TOT2} = 0.24$ ). Aggregative variables describe general patterns of zOTU community variation across samples whereas presence / absence features of individual zOTU represent specific patterns of the zOTU community variation. All together, these data reveal that fungi are present in the wheat endosphere differently according to wheat genotypes and their phylogenetic group.



**Figure 5: Heritabilities of fungal composition for each group.** A) Boxplot of heritabilities absence/presence of individual zOTUs for each group. B) Heritabilities calculated with Alpha diversity metrics (Observed, Shannon and Inverse Simpson indexes). C) Heritabilities calculated with coordinates obtained on the fourth first MCA axes.

We then performed GWAS to identify QTLs associated with root mycobiota composition. We found 11 significant QTLs with the Galwey threshold (Figure 6). Some QTLs were common to several variables. For instance, the QTLs for the Shannon index of

*Glomeromycotina* located on the chromosome 1A was also detected for the second axis of the global analysis. For the *Mortierellomycotina*, all significant markers of InvSimpson are in high linkage disequilibrium and correspond to a single QTL. The most significant QTL was for the first axis of the *Chytridiomycota* phylum ( $-\log_{10}(pval) = 5.4$ ). QTLs were detected in all fungal clades but the metrics used to detect QTL vary from one clade to another.



**Figure 6: QTL map of found associations between marker and traits in all groups.**

Number on the left Y axis corresponds to the number of the ACP axis realized with the dataset restricted to the phylum indicated on the right Y axis. “Shannon”, “Observed” and “InvSimpson” on the left Y axis correspond to diversity metric computed with the dataset restricted to the phylum indicated on the right Y axis

## Discussion

Besides the environmental determinants that are known to play a major role in structuring root microbiomes, there is a growing interest for investigating in which extend plant genetics also influences its different microbiomes: phyllosphere, rhizosphere, endosphere (Bergelson et al., 2021). Although a large majority of published works focused on bacteria, we here focused on endophytic wheat root fungi. It must be mentioned that fungi from the rhizoplane were probably not eliminated from the washing procedure of samples, and strict rhizospheric fungi - not endophyte- can be part of our zOTUs, although in minority. Overall the robustness of our analysis is comforted by the presence of most of the fungal species already identified as wheat endophytic fungi (Błaszczuk et al, 2021). As previously observed (Zheng

et al., 2021), the identified root mycobiota from wheat showed a wide range of lifestyles, from saprotrophic to mutualist and pathogen. We then investigated both the influence of cultivars on root associated fungus using classic quantitative genetics methodology (heritability and GWAS study) and patterns of covariation between species of different fungal clades (i.e. at the phylum or subphylum rank).

## **Root mycobiota is affected by cultivar identity.**

We reported non-null heritability of root associated fungus, and of numerous descriptors of root fungus identity and diversity (axes of MCA, diversity indexes). Reported heritabilities were variables depending on the fungal group considered. Variables characterizing the composition of the root mycobiota in terms of the *Glomeromycotina* and the *Olpidiomycota* groups were among those with the highest heritability. *Glomeromycotina* are obligate mutualistic fungi. *Olpidiomycota*, usually described in the literature as root pathogens of Brassicaceae (Lay et al., 2016) were abundantly found in our analysis. We found a previous reference citing this clade in the wheat endosphere (Zheng et al., 2021). The exact lifestyle of this clade should be revisited. Co-evolution between root associated microbiota and wheat might thus have strongly shaped the species identity of root microbiota and the genetic diversity of wheat. Fungal groups containing species with a wide variety of trophic modes, such as *Ascomycota* or *Basidiomycota*, were less heritable. This could suggest that species identity of root associated microbiota might be impacted by cultivar genotypes when trophic type of the species require species to interact with its host. We failed to find a better heritability when grouping *Ascomycota* or *Basidiomycota* fungal species according to their supposed lifestyle (Nguyen et al, 2016), probably due to the fragmentary knowledge on the lifestyle of plant-interacting fungi.

Numerous QTLs were also found for many descriptors of root fungus diversity and identity, yet size effects were weak and for many variable descriptors, we did not find any strong QTL. This suggests that these traits have a polygenic determinism (Zancarini et al, 2021). The results are in lines with other studies on other species (Deng et al, 2021). Indeed, root associated microbiota of sorghum and maize has been found to be heritable and numerous QTLs have been found but only for a limited number diversity descriptor (Deng et al, 2021). Overall reported proportions of variance explained by QTLs are weak and heritability is not high suggesting that root associated microbiota could hardly be manipulated through genetics and other agronomic leverage with larger impact might rather be used to manipulate root microbiota (Hartman et al, 2018, Kavamura et al, 2021).

## **Complex relation exists between species and groups of root associated microbiota.**

Only one negative correlation was found between the presence of zOTUs from the *Mortierellomycotina* and from the *Glomeromycotina* (axes 1 of MCA and observed value). These fungi belong to phylogenetically sister clades (Spatafora et al, 2016). Glomeromycotina, the AM fungi, are ubiquitous mutualistic fungi associated with most of the plant roots (Smith and Reads, 2010). *Mortierella* species were described as phosphate solubilizing microorganisms associated with AM fungi (Zhang et al., 2011). Both are known to promote plant growth especially by enhancing plant nutrition (Freville et al, 2022 ; Zhang et al., 2011). Inoculation of such fungi individually has shown a positive impact on wheat growth and yield in both field and pot experiment (Singh et Reddy, 2011 ; Berruti et al, 2016). Nevertheless, dual inoculation of both fungi has been less documented especially in agricultural soil. Velez & Osario (2016) has tested co-inoculation of *Mortierella sp.* and AM fungi species in controlled experiments with avocado plantlets as hosts. Interestingly, they found an additive effect of dual inoculation on shoot avocado height and P content and this by decreasing root colonization of both fungi. Sharing biological function may indicate that AM fungi and *Mortierellomycotina* species might inhabit the same ecological niche. The exclusion observed in our analysis could thus be the result of strong competition by a process of species exclusion for the same niche. A contrario, it can also be proposed that a higher efficiency of rewards from the host plant lowers the need for these fungi to invest in the endophyte stage in favor of soil development. Further studies will enable us to decide between the competitive or cooperative hypothesis.

Beside this effect, only positive correlations have been found between zOTU richness from the other fungal groups. This could suggest synergistic interactions between specific sets of species of different fungal groups. These interactions could result from facilitation between fungal species. Interestingly no negative correlation was found between symbiotic fungal groups and pathogenic ones. Alternatively, these results can illustrate an overall fitness of some plant genotypes to host fungi in their tissues, whatever the outcome of the interaction, suggesting mechanisms involved in a quantitative resistance to fungal invasion. Describing precisely these interactions would require sophisticated statistical analyses and integration of multiple data types (reviewed in Zancarini et al, 2021).

## **Practical consideration for studying root associated microbiota.**

We here used MCA and fungal diversity indexes to describe important features of the fungal community due to multiple co-variation between fungal groups. Variables from MCA and diversity indexes were more heritable than individual fungal zOTU. Theoretical advantage of reduction dimension techniques such as MCA and PCA for GWAS analysis has been studied (Zhang et al, 2018) making this method particularly suited for microbiota studies (Zancarini et al, 2021). This enables better accounting for false positive presence of some zOTU in some samples. This is critical especially given that local spatial heterogeneity due to micro-environment strongly affects presence and absence of zOTU thus masking genetic effects. For these reasons replicated designs are of high importance in microbiota study. The partially replicated design (p-rep design) is particularly adapted to these problems as it enables to find a trade-off between estimation of environmental variation and experimental efforts (Smith et al, 2006 & Cullis et al, 2006).

In conclusion, our investigations confirmed that wheat genotypes have an impact on the fungal endomycobiota. The apparent ability of certain genotypes to lower fungal colonisation should be explored, paving the way for the identification of new quantitative plant resistance mechanisms. On the mycobiota side, our observations pointed out the need to evaluate the role of basal fungi - *Olpidiomycoata* and *Chytridiomycoata* - as root endophytes, and underlined that AM fungi and *Mortierellomycotina* are promising fungal associations as plant-growth promoting fungi.

## **Acknowledgements**

We are grateful to Jean-François Allienne, Margot Doberva and Michèle Laudie from the Bio-Environment platform (UPVD, Région Occitanie, CPER 2007-2013 Technoviv, CPER 2015-2020 Technoviv2) for technical support in library preparation and sequencing. JD, HF and MC were supported by the Agence Nationale de la Recherche (ANR) project “Selecting for cooperative crops to develop sustainable agriculture” (SCOOP, grant no.ANR-19-CE32-0011). MC is also co-funded by INRAE-Département “Biologie et Amélioration des Plantes”.

## **Availability of data and materials**

All data will be available under request.

## Authors' contributions

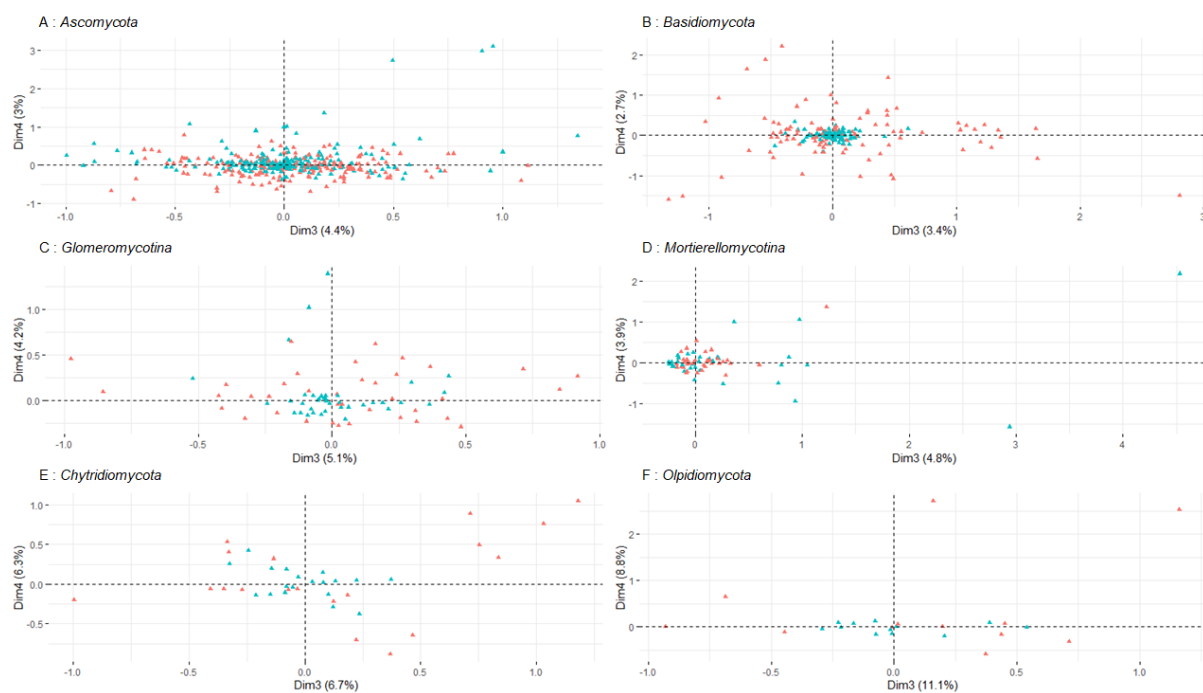
TM & RC produce the data. TM & CM perform statistical analysis under DJ supervision. DJ did the experimental design. TM & CM wrote the manuscript under the supervision of RC, LB, DJ & FH

## Supplementary figures and tables

	Sequences number	OTU number
Total		
Input sequences	6 086 748	-
Pre-process	5 348 156 (87,9%)	-
Clustering	5 348 156	208 352
Remove chimera	5 211 004 (97,4%)	165 969 (79,7%)
OTU Filter	4 898 536 (94%)	552 (0,3%)
ITS Filter	4 652 599 (95%)	533 (96,6%)
Affiliated OTU (at kingdom level)	4 645 690 (99,9%)	529 (99,2%)
Affiliated OTU (at species level)	2 679 606 (57,7%)	242 (45,7%)

**Table 1: Number of sequences and zOTUs conserved during bioinformatics processing.**

In blue: the remaining proportion of sequences or zOTUs compared to the previous step.







## References

Anouk Zancarini, Johan A Westerhuis, Age K Smilde, Harro J Bouwmeester, Integration of omics data to unravel root microbiome recruitment, *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 70, 2021, Pages 255-261, ISSN 0958-1669, <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.06.016>.

Zhang, W.; Gao, X.; Shi, X.; Zhu, B.; Wang, Z.; Gao, H.; Xu, L.; Zhang, L.; Li, J.; Chen, Y. PCA-Based Multiple-Trait GWAS Analysis: A Powerful Model for Exploring Pleiotropy. *Animals* **2018**, *8*, 239. <https://doi.org/10.3390/ani8120239>

Bernard, M., Rué, O., Mariadassou, M., & Pascal, G. (2021). FROGS: a powerful tool to analyse the diversity of fungi with special management of internal transcribed spacers. *Briefings in Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab318>

Deng, S., Caddell, D.F., Xu, G. *et al.* Genome wide association study reveals plant loci controlling heritability of the rhizosphere microbiome. *ISME J* **15**, 3181–3194 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00993-z>

Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N. K., Bhatnagar, S., ... & Sundaresan, V. (2015). Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(8), E911-E920.

Hartman, K., van der Heijden, M.G.A., Wittwer, R.A. *et al.* Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome* *6*, 14 (2018). <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>

James, T., Kauff, F., Schoch, C. *et al.* Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* **443**, 818–822 (2006). <https://doi.org/10.1038/nature05110>

Köljalg U, Abarenkov K, Nilsson R, Larsson K, Taylor A (2019) The UNITE Database for Molecular Identification and for Communicating Fungal Species. *Biodiversity Information Science and Standards* *3*: e37402. <https://doi.org/10.3897/biss.3.37402>

Naylor, D., DeGraaf, S., Purdom, E. *et al.* Drought and host selection influence bacterial community dynamics in the grass root microbiome. *ISME J* *11*, 2691–2704 (2017). <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.118>

Mahé F, Rognes T, Quince C, de Vargas C, Dunthorn M. PeerJ. 2014 Sep 25;2:e593. doi : 10.7717/peerj.593. eCollection 2014.PMID:25276506

Rolf Henrik Nilsson, Karl-Henrik Larsson, Andy F S Taylor, Johan Bengtsson-Palme, Thomas S Jeppesen, Dmitry Schigel, Peter Kennedy, Kathryn Picard, Frank Oliver Glöckner, Leho Tedersoo, Irja Saar, Urmas Kõljalg, Kessy Abarenkov, The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications, *Nucleic Acids Research*, Volume 47, Issue D1, 08 January 2019, Pages D259–D264, <https://doi.org/10.1093/nar/gky1022>

Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949) The mathematical theory of communication. The University of Illinois Press, Urbana, 117pp.

Trivedi, P., Leach, J.E., Tringe, S.G. *et al.* Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat Rev Microbiol* **18**, 607–621 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal Rna genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR - protocols and applications - a laboratory manual. New York, NY, USA: Academic Press, 315–322.

Yuanning Li, Jacob L. Steenwyk, Ying Chang, Yan Wang, Timothy Y. James, Jason E. Stajich, Joseph W. Spatafora, Marizeth Groenewald, Casey W. Dunn, Chris Todd Hittinger, Xing-Xing Shen, Antonis Rokas, A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi, *Current Biology*, Volume 31, Issue 8, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.01.074>.

# ***Discussion Générale***

# 1. Rappel des résultats principaux

Les mélanges variétaux de blé sont de plus en plus utilisés par les agriculteurs. Accompagner ces changements de pratiques nécessite de comprendre le fonctionnement des interactions entre variétés au sein de ces mélanges. Pour comprendre ce fonctionnement, nous avons étudié les déterminants des performances des mélanges en utilisant des approches de génétique, d'évolution et d'écologie fonctionnelle.

Dans le premier chapitre, nous avons étudié le comportement des variétés au sein d'un mélange. Pour cela, nous avons analysé l'évolution de l'aptitude à la compétition des variétés inscrites au catalogue français depuis la révolution verte des années 1960. Cette aptitude à la compétition peut se définir comme la capacité d'un génotype à exploiter davantage de ressources que les plantes voisines. Dans un premier temps, nous avons directement mesuré l'aptitude à la compétition (approche directe) dans un mélange de variétés. Nous avons mis en évidence une réduction de l'aptitude à la compétition au cours de la période 1970 - 2010. Ce résultat a été montré à faible et haute densité. Cependant, cette réduction était plus marquée à haute densité qu'à faible densité. Nous avons ensuite décomposé l'aptitude à la compétition en aptitude générale à la compétition et aptitude spécifique (densité) à la compétition. L'aptitude générale à la compétition caractérise la capacité d'un génotype à exploiter davantage les ressources du milieu que les plantes voisines, quelle que soit la densité de culture, alors que l'aptitude spécifique à la compétition caractérise le compromis entre exploiter davantage les ressources du milieu que ses voisins à haute densité et à faible densité. Cette décomposition a montré que la réduction de l'aptitude à la compétition générale est associée à une réduction des performances globales des mélanges, alors que la réduction de l'aptitude à la compétition spécifique est associée à de meilleures performances de mélange à haute densité et de moins bonnes performances à faible densité. Ces résultats montrent que la réduction de l'aptitude spécifique à la compétition a permis d'augmenter les performances des mélanges variétaux à haute densité : la sélection sur lignées pures réalisée au XXe siècle a contribué au progrès génétique observé sur les mélanges. Ces résultats ont été confirmés par une approche indirecte dans la deuxième partie du chapitre 1. Dans la deuxième partie du chapitre 1, nous avons étudié deux traits associés à l'aptitude à la compétition dans la littérature : la hauteur et la plasticité de la hauteur. Nous avons montré que des gènes associés à une plus grande hauteur et une plus grande plasticité de la hauteur avaient été contre-sélectionnés au cours de la révolution verte. Dans de nombreuses conditions environnementales, la hauteur et la plasticité de la hauteur sont associées à une réduction de l'indice de récolte (ratio entre la biomasse grain et la biomasse végétative aérienne totale). La réduction de la hauteur provoque une augmentation de l'indice

de récolte, contribuant ainsi à produire de meilleurs rendements. Ces résultats confirment les résultats de l'expérience de densité.

Après avoir étudié la contribution de la sélection sur lignée pure à l'amélioration des mélanges, nous avons cherché à déterminer les mécanismes des interactions entre génotypes pouvant affecter la réponse des mélanges variétaux de blé dur, afin de déterminer des caractéristiques optimales des itinéraires techniques pour valoriser les interactions entre génotypes. Pour cela, nous avons utilisé une approche fonctionnelle. Cette approche se base sur la mesure de traits fonctionnels qui sont associés à des fonctions des plantes. Cette approche a été utilisée dans les chapitres 2, 3 et 4.

Dans le chapitre 2, nous avons étudié le potentiel des mélanges à promouvoir la réduction de l'usage des intrants prônée par la transition agro-écologique, c'est-à-dire maintenir des rendements tout en diminuant la quantité d'intrants apportés. Pour cela, nous avons donc étudié la réponse à la fertilisation et à l'irrigation d'un ensemble de mélanges de blé dur issus d'une collection de diversité et de lignées inscrites au cours des dernières années. Nous avons ainsi pu montrer que l'importance des interactions plantes-plantes était plus affectée par la localisation de l'essai (Foggia en Italie vs Mauguio en France) que par le niveau d'intrants. L'effet de sélection a été le principal effet de la biodiversité observé dans nos essais : les mélanges composés de génotypes ayant des dates d'épiaison très différentes étaient plus précoces qu'attendu et avaient des rendements à la récolte différente de l'attendu basé sur la culture de parcelle mono-génotypique. Cet effet de sélection a eu un effet positif sur le rendement en France et négatif en Italie et a été principalement observé à haut niveau de fertilité : les mélanges n'ont pas été en capacité de mieux valoriser les ressources à faible niveau de fertilité. Un autre facteur pouvant affecter les mélanges est l'organisation spatiale des variétés au sein d'une parcelle. En effet, l'intensité des interactions entre génotypes varie en fonction de la distance. Dans le chapitre 3, nous avons abordé la question de l'arrangement spatial des variétés dans les mélanges variétaux. Nous avons observé qu'à densité de semis élevée, l'arrangement spatial avait peu d'impact sur les traits fonctionnels impliqués dans les interactions entre plantes et sur la performance des mélanges.

Dans les chapitres 2 et 3, les traits fonctionnels mesurés ne représentent qu'une petite partie des fonctions des plantes. Dans le chapitre 4, nous avons exploré le potentiel de l'utilisation de traits de diversité fongique comme proxy de fonctions des plantes. Pour ce faire, l'objectif était de caractériser la diversité fongique : son déterminisme génétique et son importance pour la détermination des performances des mélanges. Pour étudier le déterminisme génétique du microbiote fongique racinaire de blé, nous avons réalisé une étude d'association pangénomique. Nous avons trouvé des QTLs associés à la diversité spécifique

de certains phylums (deuxième niveau dans la classification des êtres vivants) fongiques. Ces résultats suggèrent que la composition du microbiote pourrait être manipulée à travers la composition allélique des variétés cultivées. Ces résultats renforcent la pertinence d'associer l'étude du microbiote dans les interactions entre plantes.

## 2.Limites de l'objet d'étude de cette thèse

Une des premières limites de ce travail est l'absence de prise en compte de la stabilité interannuelle des rendements. L'étude des interactions GXE est intimement liée à l'étude de la stabilité interannuelle du rendement (Teresa et al., 2021). L'exercice de co-design réalisé dans wheatamix ([www6.inrae.fr/wheatamix/](http://www6.inrae.fr/wheatamix/)), nous apprend que l'adoption des mélanges n'est guère une question de productivité mais plutôt une question de stabilité. Ainsi : *“L'objectif de sécurisation du rendement évoqué par une majorité d'agriculteurs, révèle plus une volonté d'éviter les accidents (rendements très bas) que d'atteindre de hauts niveaux de production. Juger les mélanges en fonction seulement de leur niveau de production n'apparaît alors pas pertinent. De plus, ces agriculteurs évoquent aussi souvent une volonté de simplification du travail derrière l'adoption de ces mélanges : le semis est simplifié (moins de variétés à isoler et de manutention au moment du semis) et les traitements également (traitements moins nombreux, moins urgents et sur de plus grandes surfaces). Dans ce cas, le fait de semer un mélange est considéré comme avantageux pour l'agriculteur”* (Borg et al., 2015). Intégrer cette dimension dans les prochaines études en cultivant les mêmes mélanges plusieurs années à la suite dans un réseau d'essai permettraient d'étudier cette caractéristique des mélanges. De nombreuses preuves expérimentales montrant l'avantage des mélanges dans les questions de stabilité du rendement ont déjà été apportées et l'effet de sélection ou de compensation a souvent été avancé comme mécanisme responsable de cette stabilité (Fang et al., 2011; Li et al., 2023).



### **3. Itinéraire technique dans les expérimentations agronomiques sur les mélanges.**

L'itinéraire technique est clé dans la détermination du rendement (Kovačević and Lazić, 2012). L'itinéraire technique participe à la modification de la chimie et de la structure du sol (par exemple, via la fertilisation, l'irrigation, le travail du sol, la densité de semis, l'agencement spatial), ainsi qu'à la structure du couvert végétal (par exemple, via la densité de culture). Dans les réseaux d'essais, il représente l'effet environnemental prévisible, par opposition aux effets environnementaux non prévisibles (température, précipitation, humidité, etc). Il peut contribuer ainsi à la variabilité génétique exprimée par une population (via le GXE) et impacte donc fortement le résultat des expérimentations, nécessitant donc une attention particulière dans ces réseaux (Teressa et al., 2021).

Dans cette thèse, nous avons étudié la réponse des mélanges à l'agencement spatial des variétés dans une parcelle (chapitre 3), à la densité de semis via l'écartement inter-rang (chapitre 1) et à des doses d'azote minéral croissantes (chapitre 2). Dans les chapitres 2 et 3, nos expériences ont été réalisées dans des conditions de rendements potentiels : rendement obtenu avec les dernières variétés cultivées et les pratiques agronomiques les plus récentes en l'absence de limitation d'eau, de nutriments, et de stress biotique. Ce rendement potentiel est très différent du rendement réalisé par les agriculteurs qui n'ont pas accès aux mêmes technologies comme l'irrigation. La recherche de ce rendement potentiel dans les stations expérimentales peut conduire à des itinéraires techniques irréalistes, avec un coût environnemental important, et à la mise en évidence d'effets biologiques non transposables en conditions agricoles de production. Par exemple, dans nos expériences réalisées à Mauguio en Occitanie, les apports azotés des itinéraires techniques standards sont calculés pour atteindre un rendement objectif de 70 quintaux par hectare, alors que les rendements réalisés dans ces essais sont autour de 45 quintaux par hectare. Ainsi, une majeure partie de l'apport azoté est perdue pour la culture et probablement lessivée, représentant ainsi un coût environnemental important.

Dans nos essais de l'expérience 2 cherchant à caractériser la réponse des mélanges à une diminution d'azote, les doses d'azote apportées étaient comprises entre 140 et 260 unités d'azote, ce qui correspond à des doses d'azotes très supérieurs aux besoins des plantes vis-à-vis des objectifs de rendements ciblés dans les régions où les expérimentations ont eu lieu. Les rendements objectifs dans la région de Montpellier et de Foggia sont autour

de 40 quintaux par hectare (Source France : Agreste; Italie : Confagricoltura), ce qui correspond aux 140 unités d'azote apportées dans notre essai bas-intrants. Notre essai bas-intrants est donc une condition haut-intrant pour des parcelles agricoles dédiées à la production. La transition écologique vise à valoriser des processus écosystémiques du sol. Au niveau du sol, cela se traduit par la valorisation des processus de minéralisation de la matière organique du complexe organo-humique du sol. Nous n'avons pas exploré cette voie dans nos protocoles expérimentaux car nous avons principalement travaillé avec de l'azote minéral, mais il serait intéressant à l'avenir de se placer dans des protocoles expérimentaux correspondant à des sources d'azote alternatives à l'engrais chimique, dont la fabrication est très énergivore. De nombreuses études sont encore nécessaires pour comprendre le déterminisme génétique et les itinéraires techniques permettant la valorisation de sources d'azote alternatives, en particulier en lien avec le recrutement de mycorhizes. Par exemple, dans le chapitre 4, l'itinéraire technique bas-intrants en agriculture biologique était idéal pour la détection d'associations entre micro-organismes et systèmes racinaires, en particulier les glomérromycètes réalisant la symbiose mycorhizienne. Curieusement, lors d'études préliminaires du microbiote racinaire de l'expérience du chapitre 3, aucune présence de glomérromycètes n'a été détectée. Le trop haut niveau de fertilité, les traitements herbicides réalisés 2 mois avant le prélèvement, ou la nature du sol pourraient être en cause. Cela pourrait mettre en évidence que les changements de pratiques agricoles doivent précéder la sélection dans la valorisation des sources d'azote alternatives, puisque les pratiques agricoles actuelles peuvent exclure la présence de micro-organismes symbiotiques du blé.

## **4.Importance de la connaissance de la variabilité génétique des collections pour interpréter les résultats des expériences sur les mélanges.**

Dans la plupart de nos expérimentations, nous avons travaillé avec la population EPO. Cette population se différencie des populations en sélection par sa grande diversité génétique et phénotypique. Cette diversité génétique présente à la fois des avantages et des inconvénients. Dans les approches génomiques (chapitre 1 et chapitre 4), cette diversité présente l'avantage de cibler un grand nombre de locus et d'englober une grande partie de la diversité cultivée des blés durs de ces dernières décennies. Cette population est donc optimale pour calibrer des modèles de prédiction génomique dans l'optique de prédire des valeurs génétiques pour des collections de génotypes dont la diversité est incluse dans celle de la population, comme les collections de génotypes inscrites aux catalogues depuis la révolution verte.

Cependant, les avantages de cette diversité sont plus discutables pour l'étude des interactions plante-plante des chapitres 2 et 3. En effet, dans ces deux chapitres, la grande variabilité de la précocité dans notre population est responsable de la majorité des variations de rendement entre mélanges. Les effets d'interactions entre variétés que nous cherchons à mettre en évidence ne sont donc pas les principaux effets structurant les variations de rendement entre mélanges. Pour surmonter ce problème, nous aurions pu davantage restreindre la gamme de précocité étudiée et faire des choix de variétés plus en accord avec ce qui est potentiellement cultivable dans la région. Cette limite a déjà été évoquée dans de nombreuses études d'analyse de panels à large diversité (Canè et al., 2014).

En écologie, la théorie des filtres modélise l'assemblage d'espèces en communauté. Elle propose que ces assemblages évoluent en fonction de facteurs environnementaux qui agissent comme des « filtres » sélectionnant des espèces ayant des caractéristiques biologiques adaptées (Booth and Swanton, 2002). Les populations soumises aux pressions de sélection induites par l'environnement subissent une réduction de diversité due à ces filtres, contrairement à la population EPO. EPO a en effet été sélectionné très faiblement à Montpellier : lors du développement de la population des individus aux performances très faibles ont été intentionnellement gardé pour maintenir une forte diversité génétique. EPO a donc une distribution de traits partiellement adaptés aux filtres abiotiques de Montpellier. En

revanche, EPO n'est pas adapté au climat de Foggia en Italie, où les filtres abiotiques sont différents. Par exemple, le décalage de longitude impacte l'expression de la phénologie et donc la distribution de ce trait au sein des expérimentations. La composante de la précocité la plus impactée par le changement de longitude est celle liée aux gènes de photopériodes Ppd polymorphes dans EPO. La phénologie est un caractère impliqué à la fois dans l'adaptation au climat local et la compétition (Goldringer et al., 1994). Les filtres abiotiques, en impactant la distribution de ce trait, peuvent donc impacter la pertinence des études sur les mélanges. Dans notre exemple, les distances phénotypiques de phénologie entre composantes de mélanges en Italie varient de 0 à 150 degrés-jours au maximum, alors qu'elles varient de 0 à 400 degrés-jours en France pour la même collection de mélanges variétaux. L'intensité potentielle de la compétition étant liée à la diversité phénotypique et la distance fonctionnelle entre les composantes du mélange, l'intensité potentielle de la compétition est plus importante en France qu'en Italie pour cette collection. Nous sommes donc dans un cas où les filtres abiotiques peuvent impacter les filtres biotiques. Ainsi, l'étude de populations sous-sélection adaptées aux conditions biotiques locales pourrait permettre de mieux étudier les déterminants du rendement non liés à l'adaptation à l'environnement abiotique, tels que les interactions entre plantes, à condition que ces filtres n'aient pas réduit la diversité génétique liée aux déterminismes génétiques des caractères impactant les interactions entre plantes.

## **5. Impact de la domestication et de la sélection sur les mécanismes déterminant les performances des mélanges variétaux**

La domestication, caractérisée par une réduction de la diversité liée à l'adaptation des plantes à des milieux à fertilité élevée gérée par l'homme, peut être vue comme un filtre. Elle a donc largement pu affecter les interactions entre plantes via une réduction de la diversité de certains traits. Ainsi, la domestication a pu affecter la performance des mélanges variétaux. De plus, des études récentes ont montré que la domestication affectait particulièrement la diversité génétique au niveau des gènes impliqués dans la réponse à la fertilisation (Pieri et al., 2023). Le filtre de la domestication, en réduisant la diversité de traits liés à la fertilisation, a donc pu impacter la performance des mélanges variétaux de manière différentielle selon le niveau de fertilisation. Dans la prochaine partie, nous discuterons de l'impact du filtre de la domestication sur les mécanismes déterminant les performances des mélanges variétaux.

Les performances des mélanges variétaux peuvent se décomposer en 2 composantes biologiques :

- Une composante liée à la performance des variétés en parcelle mono-génotypique qui correspond à l'aptitude générale à la performance (GPA) d'un point de vue statistique.
- Une composante liée aux interactions entre variétés qui correspond la vraie aptitude générale aux mélanges (TGMA, partie additive) et l'aptitude spécifique aux mélanges (SMA, partie non additive) d'un point de vue statistique (cf Introduction). Ces interactions peuvent s'interpréter via 4 mécanismes :
  - l'effet de sélection
  - l'effet de complémentarité
  - les interactions avec les niveaux trophiques supérieurs
  - les effets de facilitations : ces effets ne seront pas abordés car ils sont souvent confondus avec d'autres effets et nous ne les avons pas expérimentés dans cette thèse.

Dans cette partie de discussion on se propose de discuter de l'impact de l'amélioration des plantes sur chacune de ces composantes de la performance des mélanges (GPA, TGMA, SMA). Dans un premier temps nous évoquerons l'évolution de la performance des variétés cultivées en parcelles mono-génotypiques. Ensuite, nous discuterons de l'importance des mécanismes d'interactions entre les plantes dans des mélanges de variétés modernes et anciennes.

## **a. Évolution de la performance des variétés en parcelle mono-génotypique au cours de l'amélioration des plantes.**

Dans le chapitre 1, nous avons cultivé les mélanges de blé dans un itinéraire à haut niveau d'intrants (irrigations, fertilisations, herbicides, protection fongique) dans l'objectif d'atteindre un rendement de 70 qx/ha, ce qui correspond à des niveaux de production très intensifs. Ce choix était pertinent car il permettait d'évaluer le matériel génétique EPO dans des conditions similaires aux environnements de sélection du XXème siècle. Cela a ainsi permis d'exprimer le rendement potentiel des génotypes, c'est-à-dire le caractère pour lequel ces génotypes avaient été sélectionnés. Nous avons ainsi pu mettre en évidence des effets positifs de l'amélioration des plantes réalisée au XXème siècle sur la partie additive des performances des mélanges (GMA). Ces résultats sont probablement en lien avec la composante de la performance des mélanges liée aux performances en parcelle mono-génotypique.

Récemment, Voss-Fels et al., (2019), ont montré que l'amélioration des plantes réalisée sur le blé tendre ces dernières années a permis de développer de meilleures variétés à haut niveau d'intrants (application de fongicide et 220 unités d'azote) et à bas niveau d'intrants (application de fongicide 110 unités d'azote). Cela suggère que l'on peut capitaliser sur le progrès génétique réalisé ces dernières années même dans des conditions d'azote réduites. Cette sélection pour un meilleur rendement serait liée à l'absorption plus élevée de l'azote dans les variétés modernes (Cantarel et al., 2021) et à l'usage de gènes du nanisme (Voss-Fels et al., 2019). Si l'on extrapole ces résultats au blé dur (méthode de sélection similaire), on peut s'attendre à ce que la GPA des mélanges ait bénéficié du progrès génétique réalisé ces dernières années pour différents niveaux de fertilisation azotée. Une partie du progrès génétique observé sur la GMA des mélanges dans notre chapitre 1 provient probablement de cette GPA.

## **b. Importance des effets de sélection pour les performances dans des mélanges de variétés anciennes et des mélanges de variétés modernes.**

Les effets de sélection résultent du développement inégal des variétés dans la culture, dû à la compétition, un phénomène qui augmente lorsque le nombre de ressources limitantes diminue (Harpole et al., 2017; Harpole and Tilman, 2007; Yan et al., 2020). Cette compétition via les effets de sélection peut provoquer une augmentation ou une diminution du rendement des mélanges en fonction des performances des variétés les plus compétitives et les moins compétitives, ainsi que du contexte abiotique.

L'amélioration des plantes a tendance à réduire la diversité cultivée. Par conséquent, deux variétés modernes auront des aptitudes à la compétition très proches car elles auront des organes impliqués dans la compétition très semblables (par exemple, la taille de la plante). Or, l'effet de sélection qui peut être à l'œuvre dans des mélanges est causé par des différences d'aptitudes à la compétition et de réponse aux facteurs abiotiques entre les variétés. On peut donc s'attendre à ce que l'effet de sélection soit moins important dans des mélanges de variétés modernes que dans des mélanges de variétés anciennes ou de génotypes non domestiqués, où la probabilité d'avoir des aptitudes à la compétition différente entre les partenaires est plus élevée en raison de la plus grande diversité génétique. C'est ce qui a été observé dans une expérience visant à comparer l'effet de la mise en mélange de génotypes issus de différents stades de domestication (Chacón-Labela et al., 2019). Dans cette expérience, l'effet de la mise en mélange était plus important dans les mélanges de génotypes non domestiqués en raison d'une augmentation des effets de sélection.

Une autre expérience portant sur des variétés inscrites de blé dur a observé des effets similaires, même dans des variétés cultivées en Australie depuis la Révolution verte (Cossani and Sadras, 2021). Dans cette expérience, des mélanges variétaux binaires en lignes alternées ont été cultivés (un génotype par ligne de semis avec des parcelles composées de 6 lignes espacées de 20 cm chacune). Ces mélanges variétaux présentaient un gradient de différence de date d'inscription. Ainsi, certains mélanges étaient composés de variétés de la même époque, tandis que d'autres étaient composés de variétés inscrites à un grand intervalle de temps. Les auteurs ont montré que plus la différence de date d'inscription était élevée entre les deux variétés composant le mélange, plus la différence de performance des variétés entre des conditions de culture en parcelle mono-génotypique et dans le mélange était grande, ce qui indique que l'aptitude à la compétition a été contre-sélectionnée dans les variétés modernes.

Ces résultats indiquent un effet de sélection moins prononcé dans des mélanges composés de variétés inscrites à la même époque. Cet effet est plus marqué à densité et niveau de fertilisation élevés (Cossani et Sadras, 2021). Ainsi, dans les mélanges de variétés modernes les effets de sélection sont moins importants que dans les mélanges de variétés moins améliorées. Cet effet est moins prononcé à des niveaux élevés d'azote, mais il est toujours présent dans les collections génétiques modernes, comme observé dans le chapitre 2. Le signe de l'effet de sélection (positif ou négatif) dépend de la productivité dans l'environnement de culture de la variété la plus compétitive qui devient dominante. Si la variété la plus productive est aussi la plus compétitive, l'effet sera positif, sinon, l'effet sera négatif. Cet effet de sélection est donc très contexte dépendant car il dépend de la corrélation entre l'aptitude à la compétition et la performance en absence d'interactions entre génotypes qui dépend notamment du contexte pédoclimatique.

### **c. Importance des interactions entre plantes et micro-organismes pour les performances des plantes dans des mélanges de variétés anciennes et des mélanges de variétés modernes.**

L'effet de la domestication et de l'amélioration des plantes sur l'impact des interactions mélanges -niveaux trophiques supérieurs (telles que les micro-organismes) sur les mélanges a été peu documenté. Une étude chez le maïs a montré que les mélanges de maïs pouvant réaliser de la mycorhization pouvaient davantage bénéficier des interactions entre génotypes que des mélanges de variétés ne pouvant pas faire de mycorhization (Fréville et al, 2022). Malgré ce manque dans la littérature nous pouvons faire des hypothèses sur l'effet de l'amélioration des plantes sur cet effet.

Chez le blé, l'augmentation de la sévérité des maladies avec la fertilisation azotée est un phénomène bien établi (Leitch and Jenkins, 1995). La quantité d'azote disponible pourrait ainsi modifier l'architecture du feuillage d'un mélange de variétés, ce qui pourrait à son tour modifier les microclimats au sein du couvert. Ces microclimats sont clés dans la diffusion des maladies (Pangga et al., 2013). De plus, chez la plupart des plantes, il existe un compromis entre croissance et défense. Ce compromis a été documenté chez *Arabidopsis thaliana*, en particulier chez les plantes exprimant le syndrome d'évitement de l'ombre (Sng et al., 2023), dont la variabilité génétique est présente chez le blé dur dans des collections génétiquement proches des variétés modernes (comme décrit dans le chapitre 1). L'expression de ce syndrome est liée à la disponibilité en ressources dans le sol. Dans les couverts ayant une grande hétérogénéité de hauteur, il pourrait augmenter la sensibilité des mélanges aux



maladies. L'ensemble de ces hypothèses peut participer aux phénomènes de sensibilité induits par le voisinage, mis en évidence durant une collaboration avec un autre doctorant (Pélissier et al., 2023). Dans le chapitre 1, nous avons montré que le syndrome d'évitement de l'ombre avait été contre-sélectionné, ainsi la sélection moderne devrait avoir diminué le potentiel négatif des effets mélange. Cette diminution des effets négatifs dans les mélanges devrait être plus facilement détectable à un fort niveau de fertilisation azotée, où le syndrome d'évitement de l'ombre et donc les effets négatifs des mélanges sont susceptibles d'être plus élevés.

#### **d. Importance des effets de complémentarité pour la performance dans des mélanges de variétés modernes et des mélanges de variétés modernes.**

L'évolution de l'effet de complémentarité et de l'effet de facilitation au cours de l'amélioration des plantes a été peu documentés. Dans un premier temps, on peut employer le même argument que pour l'effet de sélection : la domestication et la sélection ont drastiquement réduit la variabilité génétique, on peut donc s'attendre à un moindre potentiel de ces effets dans des mélanges de variétés modernes que dans des mélanges de variétés anciennes (Fréville et al., 2022).

Pour qu'il y ait complémentarité d'utilisation de ressource dans l'espace entre variétés, il faut qu'il y ait différentes ressources. L'azote dans le sol est présent sous forme d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et de nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) mais l'ammonium est nocif pour le blé lorsqu'il est absorbé directement (Cormier et al., 2016).  $\text{NH}_4^+$  est une forme d'azote qui devient relativement plus importante dans le cadre de régimes de fertilisation minérale réduite. La capture du  $\text{NO}_3^-$  et du  $\text{NH}_4^+$  par les plantes est dépendantes de systèmes de transport à haute et faible affinité appartenant à différentes familles de gènes (Tegeder et Masclaux-Daubresse, 2018), dans lesquels le  $\text{NO}_3^-$  et le  $\text{NH}_4^+$  sont les principales formes d'azote absorbées par les cultures telles que le blé (Hessini et al., 2019). On peut alors imaginer le développement d'effet de complémentarité d'absorption d'azote basé sur l'absorption de formes différentes d'azote par différentes variétés. Certaines variétés pouvant privilégier l'absorption de  $\text{NO}_3^-$ , d'autres l'absorption de  $\text{NH}_4^+$  et d'autres encore l'absorption d'autres molécules organiques ou d'ammonium via des symbioses avec des mycorhizes (Cormier et al., 2016). De la variabilité génétique associée à la prise de diverses formes d'azote a déjà été documentée chez d'autres espèces comme le riz (Guo et al., 2019), mais aussi chez le blé suggérant que développer de la complémentarité sur l'utilisation de cette ressource pourrait être une stratégie pour augmenter l'efficacité d'utilisation de l'azote des mélanges (Cantarel et al., 2021). Le blé est

également capable d'absorber directement de l'urée présent en grande quantité dans la fumure (Cormier et al., 2016). Des raisonnements de complémentarité pourraient également s'appliquer avec cette forme d'azote.

Cette stratégie de complémentarité peut être particulièrement intéressante à faible niveau de fertilisation azotée où les sources d'azote pour la plante peuvent être plus diverses.

## **e. Bilan**

Parmi les 4 effets évoqués précédemment, tous ne présentent pas le même intérêt pour l'amélioration des plantes et la réduction des intrants comme l'azote minéral. L'effet de complémentarité ou la mobilisation des interactions plantes micro-organismes sont les seuls qui peuvent permettre d'augmenter la performance des mélanges à faible niveau azoté. Cependant, l'effet de complémentarité nécessite de réaliser une sélection divergente, plus exigeante en ressource expérimentale qu'une sélection directionnelle classique au sein des populations pour avoir de la divergence sur certains traits fonctionnels liés à l'azote par exemple.

## **6. Mise en évidence de l'importance du contexte environnemental dans la conception des mélanges.**

### **a. Contextualisation des résultats de la thèse**

Dans cette thèse nous avons montré que les performances des mélanges étaient impactées par de nombreuses conditions agronomiques et environnementales. Ainsi, nous avons montré que :

- Dans le chapitre 1 : dans les conditions du champ, le progrès génétique de l'aptitude aux mélanges et de la réduction de l'aptitude à la compétition est différent à faible et haute densité de culture. En conditions contrôlées, la taille des plantes est impactée par la qualité de la lumière incidente.
- Dans le chapitre 2 : la localisation des essais impacte fortement l'expression de la variabilité génétique associée à l'aptitude générale aux mélanges et l'aptitude spécifique aux mélanges.
- Dans le chapitre 3 : De même, les résultats de mon stage de M2 sur l'étude de caractère racinaire mesuré en plateforme de phénotypage (Colombo et al., 2022) suggèrent que les QTLs de racines ont un effet variable sur le rendement selon la localisation des essais. Ces QTLs participent à la variabilité des performances des variétés en peuplement mono-génotypiques en fonction du contexte environnemental et donc en partie à la variation des performances des mélanges en fonction du contexte environnemental.

Ces résultats montrent que dans les mélanges :

- La relation entre la composition génotypique du mélange et le phénotype du mélange est dépendante du contexte agro-pédo-climatique (environnement).
- La relation phénotype du mélange - ressources extraites par le couvert est dépendante du contexte agro-pédo-climatique (environnement).
- La relation ressources extraites -performances peut également être dépendante de l'environnement si l'indice de récolte (qui mesure l'allocation de la ressource à la reproduction) est dépendant de l'environnement.
- En conséquence : la relation composition génotypique, performance du mélange est contexte dépendante.

Ces résultats sont cohérents avec des études en écologie qui ont également constaté que la relation entre la distribution des traits et les performances des écosystèmes est contexte-dépendante (Chacón-Labela et al., 2023). Tous ces phénomènes participent à la forte importance des interactions géotypes- environnements mesurés dans de nombreux essais pour l'aptitude générale (GMA) et spécifique aux mélanges (SMA) reportés dans les méta-analyses (Borg et al., 2018; Kiær et al., 2009; Reiss and Drinkwater, 2018). D'autres sources tendent également à montrer que la nature des interactions entre plantes et donc les règles d'assemblage des variétés qui en découlent sont dépendantes du contexte. Une liste non exhaustive est présentée dans le paragraphe suivant.

Par exemple certaines chambres d'agriculture recommandent l'usage de variété de maturité similaire dans les mélanges variétaux pour avoir une qualité de récolte uniforme (Communication personnel Dario Fossati, sélectionneur Agroscope) alors que d'autres recommandent d'avoir des variétés à précocité décalée pour pallier aux accidents climatiques au cours du cycle ou aux attaques de fusariose (<https://agri-convivial.forumactif.com/>).

Le choix du niveau de diversité de hauteur dans les mélanges variétaux de blé est aussi variable d'une région à l'autre. Certains recommandent des variétés de même hauteur pour limiter la compétition alors que d'autres recommandent l'usage de variétés de hauteurs différentes pour mieux résister à la verse ou produire un effet parapluie pour la gestion des pathogènes. Cependant cette pratique peut poser des problèmes de récoltes en cas de terrains caillouteux due à la difficulté d'ajuster la barre de coupe (Hazard et al., 2016).

Finalement, l'homogénéité de la teneur en protéine peut être vue comme un désavantage : la diversité de teneur de protéine dans les variétés peut permettre de tamponner les variations inter-annuelles de qualité et obtenir des résultats plus réguliers. Elle peut également être vue comme un avantage avec une meilleure acceptation du produit de la récolte par les industriels.

## **b. Pistes pour la recherche**

La génétique quantitative décompose classiquement la variation phénotypique d'un trait (rendement par exemple) en variation due à la génétique (G), à l'environnement (E) et à l'interaction génétique x environnement (GXE). L'effet G peut représenter dans le cadre des mélanges à la fois des effets génétiques additifs (GMA) et non additifs (SMA). En sélection végétal, les effets environnementaux sont classifiés en effets prévisibles (types de sols, pratiques culturales, densité de semis) qui peuvent être modifiés par l'itinéraire technique et effets imprévisibles (précipitations, température extrême...). Par exemple dans le chapitre 2 et 3 la quantité d'azote apportée, la densité et l'agencement spatial sont des effets prévisibles.

L'étude des effets GXE nécessite la mise en place de réseaux d'essais multi-environnement et la collecte de variables technico - pédo-climatiques permettant de caractériser les différents environnements. A partir de ces variables climatiques on peut construire des variables climatiques en lien avec les besoins de la plante. Pour cela, on peut utiliser des modèles de culture comme le modèle Sirius qui permet de simuler des rendements théoriques à partir de données environnementales en se basant sur les besoins des plantes (Ly et al., 2017; Rincent et al., 2019; Robert et al., 2020). Ces modèles permettent d'établir des indices de stress par période de croissance (tallage, montaison, épiaison...) qui reflètent des degrés de déficits en ressources (lumière, eau, nutriments...). On peut alors étudier si la force d'une relation entre un trait fonctionnel et le rendement par exemple dépend de certains indicateurs de stress. Les projets Breadwheat (blé tendre) et GPDUR (blé dur) portés par INRAE ont réalisé de tels réseaux d'essais (Colombo et al., 2022; Touzy et al., 2019). J'ai eu l'opportunité de les analyser durant mon stage de Master 2. La mise en place de réseau similaire sur les mélanges variétaux permettrait de bien avancer sur les mécanismes sous-jacents aux interactions GMA X E et SMA x E. Pour l'analyse de ces réseaux d'essais plusieurs points d'attention sont nécessaires :

- La prise en compte de la colinéarité des variables climatiques et des indices de stress. Des méthodes de réductions de dimensions peuvent être utiles pour cela.
- Le développement de modèles d'analyse de variance adaptés : l'extension des modèles GXE aux analyses GMA X E et SMA x E. De nombreux modèles sont disponibles mais peu de comparaisons ont été réalisées sur l'adaptation de ces modèles à des analyses de mélanges.
- Le choix d'un matériel génétique adapté. Dans les projets Breadwheat et GPDUR des collections génétiques historiques à larges variations génétiques ont été étudiées, ce qui a provoqué un fort effet des traits fonctionnels d'adaptation à l'environnement (i.e : la précocité). L'étendue géographique des réseaux d'essais doit donc être choisie avec soin pour éviter l'apparition de ce genre d'effet déjà extensivement étudié et connu et vraisemblablement lié à de la GPA X E (via la GMA x E). La mise en place d'essais à latitude constante ou la mise en place de collection quasi-isogénique sauf pour les gènes liés à précocité pourraient permettre de passer outre cette limitation.
- La prise en compte de la non-linéarité dans les relations entre rendement et climat. De nombreuses relations entre rendements et climats sont non linéaires. Par exemple, chez le blé tendre et le blé dur, des QTLs de racines semblent avoir un effet variable sur le rendement au sein d'un réseau d'essais répartis sur toute la France (Colombo et al., 2022). Par ailleurs, une étude récente (Konduri et al., 2020) a utilisé deux indicateurs pour comparer le lien entre variable climatique et rendement. La première est un coefficient de corrélation de Pearson qui permet de mesurer la dépendance

linéaire entre deux variables. Le second est un coefficient de corrélation qui permet de mesurer la dépendance globale (linéaire et non linéaire) entre le rendement et chacun des indices météorologiques moyens et extrêmes. Ce coefficient de corrélation est appelé Information Mutuelle (Konduri et al., 2020). Le coefficient de corrélation de Pearson est un cas particulier de l'information mutuelle en faisant l'hypothèse d'une dépendance linéaire. Les résultats ont montré que pour la majorité des variables climatiques l'information mutuelle était plus de deux fois supérieure aux coefficients de corrélation de Pearson montrant l'importance de la non-linéarité. Des tests de permutations peuvent être réalisés pour tester cette non-linéarité. Pour prendre en compte cette non-linéarité dans des modèles prédictifs des modèles non-linéaires tels que la random forest ou le support vector machine pourrait se révéler particulièrement utile (Brieuc et al., 2018; Konduri et al., 2020).

- La mise en place de phénotypage haut débit et dynamique à l'échelle du couvert. La mesure des traits fonctionnels dans des mélanges au sein de réseaux multi-essais nécessite des protocoles standardisés de mesures efficaces. La détermination du rendement est un processus dynamique qui à chaque stade de croissance dépend de l'adéquation entre les caractéristiques du couvert végétale et des conditions climatiques. On parle d'ailleurs d'adaptation à un scénario climatique. Les interactions entre plantes responsables de la non-additivité (SMA) des mélanges variétaux sont également des processus dynamiques qui nécessitent donc une prise d'information dynamique sur le couvert. La mise en place de phénotypage de couvert aux champs peut permettre d'accéder à des traits fonctionnels ou des propriétés émergentes du couvert qui pourraient être ajoutés aux modèles de cultures pour renforcer l'interprétation et découvrir des mécanismes d'interactions entre plantes. Par exemple, le développement d'outil à bas coût capable de mesurer l'évapotranspiration d'un couvert ou le coefficient d'interception lumineuse, deux propriétés émergentes du couvert importante pour le rendement pourrait permettre de mesurer l'impact de la diversité de l'architecture aérienne de nombreuses variétés sur le rendement. Le développement de phénotypage automatique de hauteurs de plantes aux champs pourrait permettre de mieux caractériser la distribution des hauteurs de plantes et ainsi permettre d'estimer les moments d'ordre 1, 2, 3 et 4 de cette distribution pour mieux exploiter les attendus théoriques du trait driver théorique dans les expériences agronomiques.
- L'importance de coupler des connaissances physiologiques à l'usage des traits fonctionnels. Par exemple, on a longtemps considéré les relations linéaires variables entre phénologie et rendement comme un lien de causalité due à la durée du cycle de la plante. Récemment des physiologistes ont proposé l'explication suivante : les

cultures s'adaptent aux variations environnementales en ajustant le nombre de grains. Ce nombre de grains est défini dans une période de développement critique spécifique à chaque espèce, et il dépend de trois caractéristiques pendant cette période critique : la durée, le taux de croissance et la répartition vers la reproduction. Ainsi les conditions durant la période critique (qui sont en lien avec la phénologie) plutôt que la durée du cycle détermine le rendement. Les implications pratiques des deux interprétations sont différentes (Slafer et al., 2022). Dans un mélange variétal, du point de vue des interactions biotiques la diversité des dates de phénologie est problématique car lorsqu'elle est trop importante, elle peut donner lieu à de la compétition. En revanche, d'un point de vue de la gestion de la variabilité des scénarios climatiques, cultiver des variétés avec des périodes critiques différentes pourrait permettre d'étendre la période critique du mélange. Étendre la période critique du mélange pourrait permettre aux mélanges variétaux d'établir des mécanismes de compensation jusque tardivement dans la saison et éviter les pertes de rendement due à des stress tardifs suivie de période favorables comme ce fut le cas dans notre expérience du chapitre 2 en France.

Finalement l'importance de ces effets GXE dans les mélanges semble incompatible avec la mise en évidence de grandes règles d'association variétale à de large échelle spatiale. Une manière de diffuser efficacement les mélanges variétaux et de mettre en place des processus de co-design des mélanges variétaux entre agriculteurs, conseillers ou scientifiques pour prendre en compte au mieux les effets des micro-environnements (cailloux, ressources, précipitations...) impactant la relation diversité productivité.

## **7.Sélectionner des interactions plantes-plantes contextes dépendantes**

Des expériences menées dans les années 60's ont établi la pertinence de mener des schémas de sélection spécifiques pour des mélanges de haricots (Allard, 1961). En effet des haricots sélectionnés en conditions de croisements composites étaient plus adaptés à la culture en mélange que des génotypes sélectionnés en culture pure. En outre, selon certains auteurs, la domestication a eu un effet négatif sur la capacité des plantes cultivées à coexister avec d'autres espèces (Litrico and Violle, 2015) et à bénéficier d'effet de complémentarité (Chacón-Labela et al., 2019), compliquant les stratégies de diversification à l'échelle parcellaire.

D'un point de vue statistique, deux types de valeurs génétiques existent pour décrire la performance d'une variété en mélange : son aptitude générale au mélange (GMA) et son aptitude spécifique aux mélanges (SMA). La première représente le comportement général de la variété en mélange et contient une composante liée à la performance en parcelles mono-génotypiques (GPA) et une composante liée à la performance en mélange dans la population (TGMA). Dans un programme de sélection à chaque cycle, l'importance relative de la variance de ces composantes évoluent.

### **a. Sélectionner et assembler des génotypes pour les mélanges variétaux.**

Dans le chapitre 1, nous avons montré que la sélection moderne post-révolution verte a permis de développer des génotypes faibles compétiteurs permettant ainsi de favoriser l'allocation de ressources à la reproduction. La compétition est un élément important de tous les couverts végétaux et doit donc être limitée. Le progrès génétique réalisé sur la réduction de l'aptitude à la compétition a donc probablement permis de contribuer en partie à l'amélioration du rendement en mettant en mélange des génotypes ayant une forte GMA. Ce progrès génétique est probablement dû à la similarité entre l'aptitude à la compétition intra-génotypique et l'aptitude à la compétition inter-génotypique (Sadras, 2021).

La sélection de génotype pour l'usage en mélange peut se construire par analogie à la sélection d'hybride, on peut imaginer la création de schéma de sélection récurrent pour améliorer l'aptitude spécifique aux mélanges. Il s'agit de créer de la sélection divergente en divisant le programme de sélection en deux pools génétiques différents avec des objectifs de sélections divergents. On peut alors définir un idéotype à atteindre pour chacun des différents

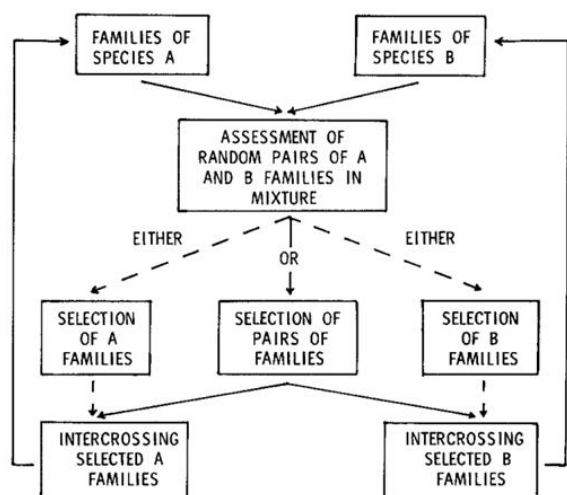


pools génétiques sous réserve d'arriver à montrer la pertinence de cette idéotype et la complémentarité qui peut exister entre ces deux idéotypes (Litrice et al., 2015). Ces idéotypes peuvent être basés sur la complémentarité de traits à atteindre en fonction d'objectifs de gestion de certaines problématiques agronomiques et sont donc contextes dépendants. Par exemple, dans le chapitre 3 nous avons montré que le tallage pouvait être un trait d'interaction impliqué dans la complémentarité ou dans la compétition dépendant de la disposition spatiale des génotypes dans le champ. L'intérêt d'un schéma de sélection spécifiquement adapté aux mélanges est pertinent lorsque l'on veut valoriser des interactions entre génotypes où la diversité impacte positivement la productivité. Dans le cas où la diversité impacte négativement la productivité comme dans le cas des interactions compétitives, les schémas de sélection développés au XXème siècle se sont révélés très efficaces pour réduire les interactions de compétition entre plantes (Cossani and Sadras, 2021; Fischer, 2020). Nous avons également pu montrer ce résultat dans notre chapitre 1.

Pour valoriser des interactions positives entre plantes, il faut réaliser de la sélection disruptive ou deux pools génétiques vont converger vers deux valeurs optimales distinctes de phénotypes pour ces traits d'interactions. Ces deux pools génétiques peuvent être définis en se basant sur la notion de groupe hétérotique<sup>3</sup>. Pour constituer ces "groupes hétérotiques" à partir d'une population, on peut réaliser un clustering des génotypes d'une population basée sur les SMA estimées des mélanges. Cette méthode permet d'identifier des groupes de génotypes ayant des comportements similaires en mélanges à partir d'une population initiale. Ces groupes hétérotiques pourraient également être identifiés à partir de groupes fonctionnels comme réalisés dans les expériences en écologie fonctionnelle (Hooper and Dukes, 2004; Litrice and Violle, 2015; Montazeaud et al., 2020). Cependant, cette approche nécessite de mesurer les bons traits alors que l'approche en utilisant la SMA ne nécessite aucune connaissance a priori. Il est également important de noter que la mise en groupe hétérotique est dépendante des processus d'interactions entre plantes présentes dans l'essai servant à réaliser ce clustering. Ces groupes hétérotiques vont initier le processus de sélection et le processus de sélection va être différent selon les groupes réalisés. En effet la création de ces groupes va contraindre des relations allométriques et du déséquilibre de liaison au sein de chaque groupe ce qui va grandement affecter le résultat de la sélection. Une fois les groupes hétérotiques définis, on peut réaliser un schéma de sélection récurrent similaire au schéma de sélection proposé par Wright (Figure 1) dans le cas des mélanges inter-espèces (Wright, 1985). Ce schéma de sélection a été amélioré récemment pour tenir compte des proportions visées de chaque composante dans un mélange (Sampoux et al., 2020).

---

<sup>3</sup> un groupe de génotype apparenté ou non apparenté originaire de la même ou de différentes populations qui montre des aptitudes similaires aux croisements lorsqu'ils sont croisés avec un autre pool génétique (Melchinger and Gumber, 1998).



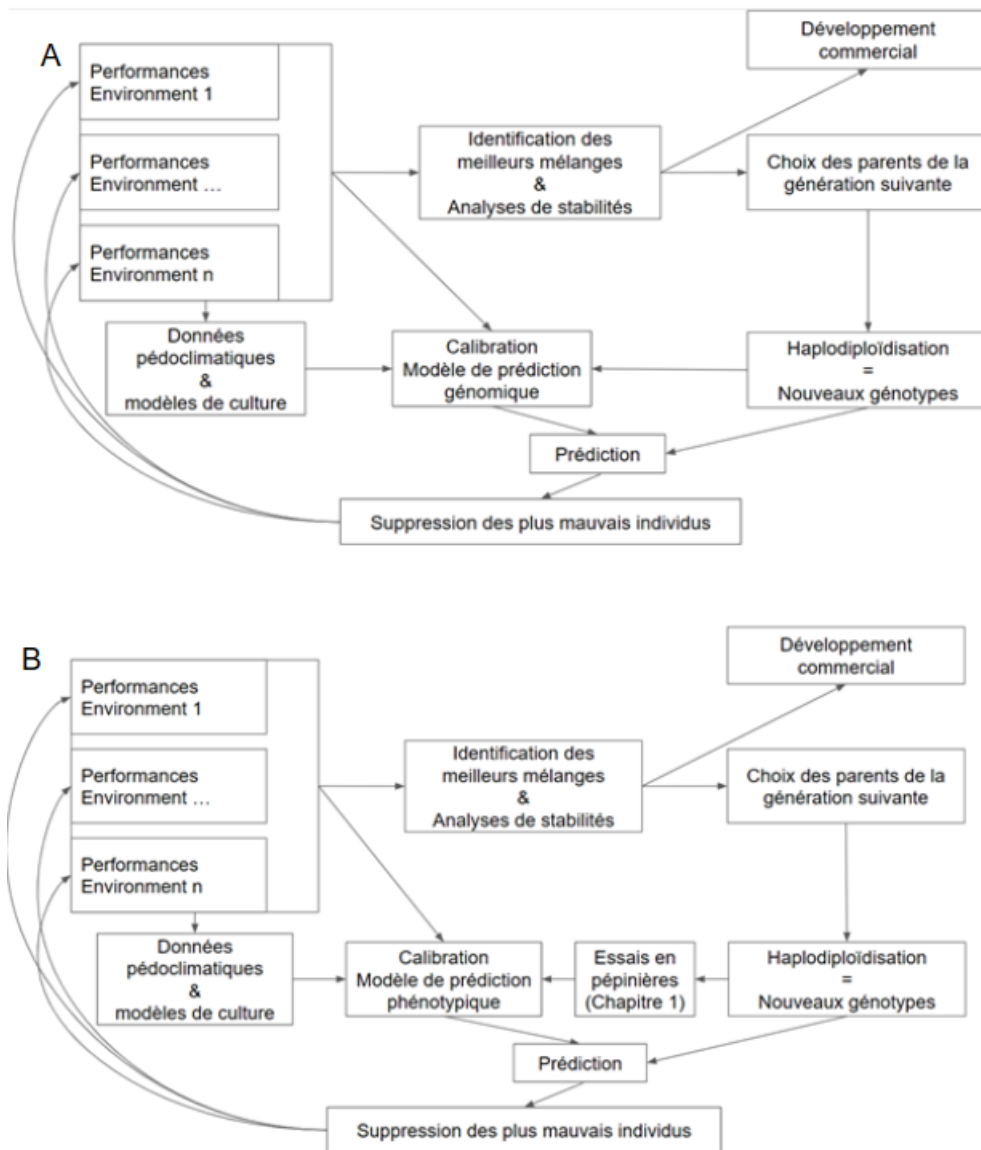
**Figure 1: Représentation en diagramme d'un schéma de sélection récurrent** (Wright, 1985)

Dans nos études (chapitres 2 et 3), le pourcentage de variance expliquée par la GPA / TGMA / SMA était par ordre d'importance : la variance additive associée à la performance des génotypes en parcelles mono-génotypiques (GPA), la variance additive associée à la performance des génotypes en mélanges (TGMA), la variance d'interaction entre génotype (SMA). Cet ordre correspond également à des tailles décroissantes de dispositif expérimental pour estimer ces variances : pour augmenter les valeurs génétiques associées à la GPA dans une population de mélange, il suffit d'évaluer des génotypes en les cultivant en parcelles

mono-génotypiques. Pour augmenter les valeurs de TGMA, il faut évaluer des parcelles en mélange mais le dispositif peut être incomplet. Pour augmenter les valeurs de SMA, il faut évaluer des mélanges de génotypes dans des dispositifs complets pour observer directement les interactions spécifiques des couples. Un schéma de sélection récurrent (Figure 1) adapté aux mélanges variétaux peut ainsi être divisé en plusieurs phases : une phase d'amélioration des lignées en parcelles mono-génotypiques (amélioration de la GPA), une phase d'amélioration des génotypes en parcelles de testeurs avec l'autre pool génétique (TGMA). Finalement, la dernière phase consiste en l'assemblage des lignées pour identifier les meilleures combinaisons de mélanges parmi celles qui ont la plus grande GMA via l'estimation de la SMA: cette phase ne correspond pas à de la sélection en soi et est plutôt une phase réalisée par les agriculteurs dans la pratique.

Pour l'estimation de la GPA et de la TGMA, nous pouvons utiliser la méthode développée dans le chapitre 1. A des stades précoces de sélection (peu de graines disponibles), un des principaux problèmes est la gestion de la compétition dans les parcelles ou les génotypes sont cultivés par lignes en raison du faible nombre de graines. La méthode développée dans le chapitre 1 se base sur le modèle producteur-compétiteur (Foucteau et al., 2000; Wright, 1985) pour sélectionner des plantes adaptées à la culture en peuplement dense. Ce modèle estime les effets producteurs (DGE) et compétiteurs (IGE) pour chaque génotype, permettant une sélection basée à la fois sur une forte production en conditions de compétition et des effets positifs sur les voisins. Malgré certaines corrélations négatives entre les effets

producteurs et compétiteurs, certains géotypes ont montré dans le chapitre 1 un potentiel pour la sélection basée sur ces effets (Géotypes ayant une valeur élevée sur l'axe Environmental). De même dans le chapitre 1, la méthode statistique proposée permet de dépasser la corrélation négative entre effet producteur et associé (du rendement) pour décomposer le progrès génétique en plusieurs composantes reliées à des problématiques agronomiques spécifiques (adaptations aux climats, adaptations à la performance en peuplement, adaptations à la densité de semis...). On peut ainsi déterminer les géotypes les mieux adaptés aux climats, à des conditions de semis particulières ou à fournir du grain (rendement) en situation de compétition. Si le programme de sélection a suffisamment de moyens, on peut à la place de cela imaginer directement des méthodes de sélection génomique calibrées sur des essais des années précédentes pour estimer la GMA (GPA & TGMA). Des méthodes de machine learning récemment développées (package LearnMet, (Westhues et al., 2022)) permettent d'intégrer à la fois des données climatiques et différents paramètres génétiques dans ces modèles tout en dépassant le modèle linéaire. Cela permet de fournir des prédictions précises de performances de mélanges non observées en conditions de cultures réelles. Dans l'approche génomique ou dans l'approche fonctionnelle (Figure 2), la sélection précoce se base sur des prédictions réalisées à partir de modèles calibrés avec les données des années précédentes (traits mesurés en pépinière et réseau d'essais pour la méthode 1 et géotypage de la population en pépinière et du réseau d'essais pour la seconde méthode). L'usage de traits fonctionnels par rapport à l'usage de la sélection génomique se base sur le rapport coût/bénéfice de l'usage de ces deux proxys pour estimer la vraie valeur génétique. Il dépend donc du rapport de coût entre l'usage des deux méthodes et de leurs précisions. Nous élaborerons sur ce sujet dans la partie suivante.



**Figure 2 : Schéma de sélection comparant la sélection de mélanges basés sur la sélection génomique (A) et sur des traits fonctionnels (B).**

Pour assembler des mélanges lors de la phase de l'estimation de la SMA, un dispositif factoriel est nécessaire. Le plan factoriel est un plan d'expériences destiné à résoudre les problèmes à plusieurs variables (différents pools génétiques) et à « *mettre en évidence non seulement leurs effets respectifs mais aussi leurs éventuelles interactions* ». Ainsi, un plan est dit factoriel quand on utilise toutes les combinaisons possibles des génotypes des différents pools génétiques. Au cours d'un schéma de sélection récurrent lors de cette phase, l'importance du terme d'interactions (SMA) va diminuer au bénéfice du TGMA due à l'augmentation de la complémentarité entre les deux groupes. En effet, au sein d'un pool

génétique la sélection récurrente va réduire la variance associée à la GPA et à des caractères d'interactions entre pools génétiques. Ainsi au sein de chaque groupe les valeurs des traits associés à la complémentarité vont converger vers une valeur optimale ce qui va optimiser la complémentarité entre groupes, et la variance au sein de chaque pool génétique autour de cette valeur optimale va diminuer et ainsi diminuer la variance d'interaction (SMA) au sein du mélange.

D'un point de vue du dispositif expérimental, l'usage des p-reps pour estimer chacune des variances a été identifié comme le dispositif expérimental le plus efficace pour estimer correctement les variances génétiques en limitant l'impact de l'hétérogénéité spatial pour produire du gain génétique (Hoefler et al., 2020).

## **b. Sélection indirecte ou sélection directe : Quel proxy des performances devons-nous mesurer ?**

L'estimation des différents paramètres évoqués dans la partie précédente directement à partir des données de rendements correspond à de la sélection directe. Cependant, dans de nombreux cas la collecte de ces données est coûteuse et réalisée la sélection sur des proxys de ces paramètres peut s'avérer plus efficace. Un schéma de sélection peut être divisé en deux parties. Une première partie, où la quantité de graine disponible des génotypes à évaluer ne permet pas de réaliser des essais sur de grandes surfaces (stades précoces, les essais sont réalisés en pépinières généralement), à ce stade-là la sélection est forcément indirecte. Dans la seconde partie, les génotypes ont été suffisamment multipliés pour permettre leurs évaluations sur de grandes surfaces dans un réseau d'essai. Ainsi à chaque étape d'un schéma de sélection, il faut donc se poser la question des indicateurs (proxy de paramètres ou paramètres) à employer pour réaliser la sélection. On peut alors faire de la sélection directe ou indirecte via l'usage des traits fonctionnels. Aujourd'hui on peut utiliser 4 types d'indicateurs pour réaliser de la sélection :

- Le rendement directement issu des essais (Hill and Mackay, 2004)
- Les traits fonctionnels (Hill and Mackay, 2004)
- Le rendement prédit par sélection phénotypique<sup>4</sup>(Rincent et al., 2018)
- Le rendement prédit par sélection génomique (Jannink et al., 2010)

---

<sup>4</sup> Basée sur des prédictions indirectes, la sélection phénotypique (Rincent et al, 2019) a pour principe de capturer de l'information génétique par une approche à haut débit comme pour la génomique avec le génotypage. Cette approche permet d'estimer les similarités entre les individus et de prédire le profil génétique de nouvelles variétés. La technique s'appuie sur la mesure de la réflectance (proportion de lumière réfléchi par surface de matériau) à différentes longueurs d'onde sur le tissu étudié (composition en métabolites, protéines...).

L'utilisation de l'une ou l'autre des sources d'informations est un choix économique. Pour une entreprise de sélection, l'objectif est de maximiser le gain génétique par euros investis. Pour cela, on peut utiliser l'équation du sélectionneur (Hill and Mackay, 2004):

$$R = cor(Proxy, TBV) \times i \times \sigma_G$$

Où R est la réponse à sélection, Proxy est le proxy utilisé pour faire la sélection (Rendement, traits fonctionnels...), TBV est la vraie valeur génétique, i est l'intensité de sélection et  $\sigma_G$  est la variance génétique. Une méthode peut être utilisée à la place d'une autre, si à euro constant elle permet de récolter des données sur plus d'individus (et donc d'augmenter l'intensité de sélection, i) ou si elle donne une meilleure approximation de la vraie valeur génétique (en augmentant  $cor(Proxy, TBV)$ ) (Vincourt and Gallais, 1983). Lors d'usage de traits fonctionnels en termes de proxy, plusieurs phénomènes peuvent limiter  $cor(Proxy, TBV)$ .

Plaçons-nous dans un cas théorique où trois niveaux d'organisation sont considérés : le génome, un niveau intermédiaire que nous appellerons trait qui est le résultat de l'expression du génome et le niveau à prédire : le rendement. Les traits sont le résultat de l'expression du génome dans un environnement donné. Les traits (T) dépendent donc du génome (G) et d'une fonction qui dépend de l'environnement. Le rendement (RDT) est l'expression de l'adaptation du trait à l'environnement et dépend donc du trait (T), et de la fonction reliant le trait au rendement (fonction qui dépend de l'environnement). En formalisme mathématique :

$$RDT = f_e(Trait) \& Trait = g_e(Genome)$$

S'il n'existe aucune relation entre les valeurs de traits d'un environnement à l'autre ( $\frac{\delta g}{\delta e} \neq 0$ ) : les traits n'auront aucun pouvoir prédictif inter-environnemental.

S'il existe une relation entre les valeurs de traits d'un environnement à l'autre ( $\frac{\delta g}{\delta e} = 0$ ) : alors, il y a aura de la prédiction inter-environnement possible. Deux cas se posent alors :

- S'il n'existe aucune relation entre les valeurs de rendements d'un environnement à l'autre ( $\frac{\delta f}{\delta e} \neq 0$ ) : les traits n'auront aucun pouvoir prédictif inter-environnemental.
- S'il existe une relation entre les valeurs de traits d'un environnement à l'autre ( $\frac{\delta f}{\delta e} = 0$ ) : alors, il y a aura un fort pouvoir prédictif inter-environnement. Dans le cas de la prédiction intra-environnement, l'environnement est homogène.

Dans cet exemple on a fait l'hypothèse que les fonctions  $f$  et  $g$  sont monotones et croissantes. Dans le cas où ces fonctions sont décroissantes on peut avoir des corrélations négatives entre prédiction et rendement. Ce raisonnement s'applique pour tous les proxys intermédiaires et tous les types de phénotypes. Ainsi dans le cas de l'usage des plateformes racinaires durant mon stage de fin d'étude pour prédire du rendement aux champs (Colombo et al., 2022) ou lors de l'usage de traits fonctionnels mesurés en parcelles mono-génotypiques pour prédire le rendement des mélanges, on a considéré  $\frac{\delta g}{\delta e} = 0$  où  $e$  correspond à des variations d'environnements abiotiques dans le cadre de mon stage de fin d'étude (Colombo et al., 2022) et  $e$  correspond à des variations d'environnement biotique, dans le cas des chapitres 2 et 3.

## 8. Perspectives

Prédire la performance de génotypes ou de combinaisons de génotypes dans des environnements testés et non-testés reste le principal problème des programmes de sélection génétique. Dans ce contexte les indicateurs évoqués ci-dessus peuvent servir deux objectifs : diminuer le nombre de parcelles testées et diminuer le nombre de parcelles récoltées qui est une tâche fastidieuse et coûteuse ou diminuer la taille des parcelles semées (Adak et al., 2023). Pour réaliser ces deux objectifs, différentes données sont disponibles.

Les premières données disponibles sont des données de génomique. Les données génomiques peuvent permettre de diminuer le nombre de génotypes testés dans un environnement ou de réduire le nombre d'essais. Le premier objectif peut être réalisé si le modèle est calibré sur un essai : on tente alors de prédire la performance dans cet essai de génotypes non testés. Si le modèle est calibré sur un réseau d'essai, des données climatiques ou des modélisations de modèles de cultures sont nécessaires pour déduire des ressemblances entre environnements afin de prédire les performances des génotypes dans ces environnements non-testés. Pour améliorer ces modèles, l'annotation fonctionnelle du génome pourrait permettre de sélectionner des SNPs avec des liens causaux avec les traits en question et ainsi réduire l'impact des SNPs non causaux dans la prédiction (Li et al., 2022). Une autre piste est l'amélioration des modèles de cultures. Dans ce contexte-là, l'usage des traits fonctionnels pourrait être utile.

Un second type de données disponibles sont les données de phénomiques et les données de traits fonctionnels mesurés dans diverses conditions. Les données phénomiques ou de traits peuvent permettre de ne pas récolter des parcelles d'essais. En effet, due aux forts impacts de la plasticité phénotypique sur les valeurs de traits, il est nécessaire de mesurer les traits dans les conditions dans les parcelles dont les traits vont servir à prédire le rendement. L'intérêt de ce type d'approche est alors de limiter la récolte des essais : le semis des parcelles est nécessaire pour récolter les données qui vont servir de prédicteur dans les bonnes conditions mais leurs récoltes (très coûteuse) ne sont pas nécessaires puisqu'on peut prédire le rendement à partir des données précoces. Cependant, dans certains cas, on peut récolter des traits sur des essais de références pour prédire des caractéristiques des plantes dans d'autres essais. Dans ce cas, le semis des génotypes (ou mélanges) ne devient même plus nécessaire. C'est le cas dans le chapitre 3 où l'on utilise des données de traits de génotypes cultivés en parcelles mono-génotypiques pour prédire la performance de mélanges ou dans le cas de données de plateformes de phénotypages hauts débits ou un certain pouvoir prédicteur des performances aux champs peut être obtenu (Colombo et al., 2022). L'usage des modèles de calibrations de prédictions des performances aux champs à partir



des plateformes ou des traits mesurés en parcelles mono-génotypiques dans le cas des mélanges peut alors servir à diminuer le nombre de parcelles testées. L'usage des traits pourrait également servir à réduire le nombre de longueur d'onde des spectres phénomiques pour isoler les longueurs d'ondes utiles à la prédiction des autres et ainsi augmenter la précision des modèles comme les annotations fonctionnelles servent à réduire le nombre de SNP.

L'estimation précise des effets génétiques additifs, épistatiques intra-génomes, épistatiques inter-génomes et dominances inter-génomes est également importante pour comprendre les interactions entre plantes. Les effets additifs et épistatiques intra-génome sont importants car ils peuvent être reliées à la théorie des rapports de masse de Grime (Grime, 1998) alors que les effets épistatiques et de dominances inter-génome sont à reliés aux phénomènes de complémentarité (Hector, 1998). Dans la suite, le développement de méthodes de décomposition des performances des mélanges aux niveaux génomiques en poussant l'analogie entre le modèle GCA/SCA développés dans les travaux de génétique quantitative de la thèse d'Aurélien Beugnot et le modèle GMA/SMA pourrait être une piste prometteuse pour améliorer les modèles présentés ci-dessus (Beugnot, 2019).

## 9. Commentaires

### a. Limites des approches de QTLs et avantage des approches de type sélections génomiques.

Selon certains auteurs, les milliers de QTL rapportés dans la littérature ont peu contribué à accroître notre connaissance des gènes codant des caractères quantitatifs tels que le rendement, car les informations tirées de la cartographie des QTL sont principalement statistiques (sous forme d'associations marqueur-caractère) plutôt que biologiques. Ainsi, "Trouver un QTL est facile, mais trouver le même QTL deux fois est beaucoup plus difficile." (RC Shoemaker, communication personnelle, vers 1995 cité dans Bernardo (2016)). Plusieurs phénomènes expliquent cette remarque :

- Une faible puissance statistique pour la détection des QTL : la puissance statistique maximale de détection d'un QTL à un locus donné est observée à  $p = 0.5$ , où  $p$  est la fréquence de l'allèle testé.
- Une interaction QTL x environnement et une interaction QTL x fond génétique,
- Le polymorphisme variable d'une population à l'autre : la variation des fréquences alléliques d'une population à l'autre provoque une variation de puissance statistique à chaque locus d'une population à l'autre et donc peut provoquer une variation de significativité sans faire varier la taille d'effet.
- La faible importance accordée aux tailles d'effets : L'approche QTL cherche à identifier des marqueurs ayant un effet statistique significatif. La taille de l'effet n'entre pas en compte dans la définition d'un QTL. La définition d'un QTL sur le seul critère de la significativité a conduit de nombreux chercheurs à développer des méthodes statistiques pour détecter des effets significatifs expliquant une très faible proportion du phénotype observé (Bonhomme et al., 2019), ce qui peut présenter peu d'intérêt d'un point de vue biologique. Ces approches, développées également dans le cadre de l'étude des interactions entre plantes (Libourel et al., 2019) où les caractères mesurés sont très complexes, identifient des QTLs qui expliquent généralement une très faible proportion de la variance dans ces études.

En outre, la génétique d'association permet de détecter des QTLs associés à des allèles communs dans les populations car la puissance de détection est maximale pour ces variants. Ces variants génétiques sont peu intéressants pour les sélectionneurs car ils sont déjà en fréquence importante dans le pool génétique sous sélection. Leur changement de fréquence d'une génération à l'autre est donc faible ; ils participent donc peu au changement de valeur sélective moyenne de la population. En revanche, ces approches ont un faible

pouvoir de détection de QTLs associées à des variants rares qui eux sont d'intérêt pour les sélectionneurs car leurs fréquences alléliques peut évoluer rapidement (Bernardo, 2016).

De plus, les QTLs sont souvent associés à des fonctions via l'identification des protéines et des fonctions des protéines associées aux gènes identifiés dans les zones des QTLs. Ainsi on privilégie souvent la recherche de QTLs aux méthodes de prédictions pour le gain en interprétabilité permis par la recherche de QTLs. Cependant, avec le développement de l'annotation du génome et le séquençage complet haut débit, réaliser de la sélection génomique en utilisant uniquement des sous-ensembles du génome impliqués dans certaines voies métaboliques pourrait permettre de réaliser des études fonctionnelles avec la sélection génomique. En outre, des développements récents dans de nombreuses méthodes de machine learning permettent d'évaluer l'importance des différentes variables utilisées dans ces modèles auparavant considérés comme des boîtes noires (Casalicchio et al., 2019).

Dans le cadre de cette thèse, cette problématique est illustrée dans le chapitre 1. Dans le chapitre 1, l'approche directe utilisée pour détecter des signes de sélection se base sur des modèles de prédictions génomiques (Beissinger et al., 2018) : nous avons utilisé l'information de tous les loci pour reconstituer les phénotypes d'un ensemble de variétés inscrites tout au long de la période post-révolution verte. Cette méthode permet de documenter l'évolution du phénotype en se concentrant sur les effets de tous les gènes y compris ceux à effets mineurs, alors que la méthode de génétique d'association utilisée dans l'approche indirecte du chapitre 1 ne se concentre que sur les QTLs ayant des effets dépassant un certain seuil. L'emphase mise sur les p-valeurs et la dichotomisation entre effets significatifs (effets réels) et effets non significatifs (non étudiés dans la plupart des cas) ne permet pas de tirer des conclusions sur les gènes à faibles effets qui peuvent représenter la majeure partie de la variabilité génétique d'un phénotype.

## **b. Analogie entre traits fonctionnels et gènes**

En génétique, il existe plusieurs hypothèses théoriques quant à la distribution de la taille d'effet des gènes. Il existe des architectures de traits mono-géniques (un seul QTL à effet majeur et des QTLs à effet mineurs), oligo-géniques (quelques QTLs à effets majeurs et des QTLs à effets mineurs) et multi-géniques (Uniquement des QTLs à effets mineurs). Par analogie, on pourrait imaginer étudier l'architecture fonctionnelle d'un service écosystémique. Le service écosystémique repose-t-il sur quelques traits à effet majeurs ou sur des centaines de traits à effets mineurs ? Les traits fonctionnels sont des proxy de différentes dimensions de la niche écologique occupée par un organisme (McGill et al., 2006). Si l'architecture fonctionnelle d'un écosystème repose sur quelques traits, on peut alors étudier les niches écologiques représentées par ces traits et en déduire l'importance de quelques facteurs

limitants majeurs dans l'écosystème. Si l'architecture fonctionnelle d'un service écosystémique est multi-trait, on doit donc se retrouver dans un écosystème avec de multiples facteurs limitants dont aucun n'est prépondérant par rapport aux autres. Isoler seulement quelques facteurs limitants à l'aide des traits les plus significatifs ne va pas permettre d'expliquer une grande proportion du fonctionnement de l'écosystème tout comme avec les QTLs. En outre pour pousser l'analogie plus loin, les traits varient souvent en fonction de contraintes biophysiques ainsi que de compromis écologiques et évolutifs tout comme les gènes ne sont pas indépendants en raison du déséquilibre de liaison sur un même chromosome ou d'histoire évolutive commune.

Dans les modèles actuels d'écologie fonctionnelle, les interactions entre traits sont rarement prises en compte. Elles sont l'analogie des interactions entre gènes appelées épistasie. Des modèles de photosynthèse ont montré que certains traits au niveau du couvert végétal, tels que l'azote du couvert, ne prédisent pas de manière précise l'ampleur des processus au niveau de l'écosystème. Par exemple, certains auteurs ont montré que des taux de photosynthèse similaires au niveau du couvert peuvent résulter de différentes combinaisons de valeurs de l'azote du couvert et de l'indice de surface foliaire (LAI) de telle sorte que la même valeur de l'azote du couvert peut correspondre à des magnitudes différentes d'un processus donné au sein de l'écosystème (Hikosaka et al., 2016). En termes statistiques, cet exemple montre que l'interaction entre le LAI et l'azote du couvert a un effet sur le taux de photosynthèse. Ces interactions nécessitent l'estimation de paramètres supplémentaires et ne sont donc pas facilement testables car elles requièrent une grande puissance statistique pour obtenir des valeurs significatives.

## 10. Publications réalisées pendant la thèse

### Chapitre 1 :

**Colombo, M.,** Montazeaud, G., Viader, V., Ecarnot, M., Prospero, J.-M., David, J., Fort, F., Violle, C., & Fréville, H. (2022). **A genome-wide analysis suggests pleiotropic effects of Green Revolution genes on shade avoidance in wheat.** *Evolutionary Applications*, 15, 1594– 1604. <https://doi.org/10.1111/eva.13349>

**Colombo M et al. Evolution of competitive interactions in durum wheat since the green revolution. In prep**

### Chapitre 2 :

**Colombo M**, Fréville H, Rocher A, De Vita P, Laido G, Ecartot M, Compan F, Matthieu Bogard, Fort F, Violle C, Pecchioni N, Roumet P. **Context-dependency, rather than resource availability, regulates the contribution of plant-plant interactions to cultivar mixtures.** To be resubmitted to Field Crops Research after revisions.

### Chapitre 3:

**Colombo M et al. Diversity of root functional traits is responsible for net biodiversity effect, irrespective of spatial configuration in intraspecific crop mixtures. In prep.**

### Chapitre 4 :

Trinquier Margot\* & **Colombo Michel\***, Rosset Coline, Fréville Hélène, David Jacques, Roux Christophe, Lefebvre Benoit. **Plant genotype influences root associated fungal mycobiota composition in durum wheat (*Triticum durum* ssp.). In prep**

\* These authors contributed equally to the work.

### Contribution à l'analyse de données:

Alsabbagh P, Gay L, **Colombo M**, Montazeaud G, Ardisson M, Rocher A, et al. (2022) **Diversity matters in wheat mixtures: A genomic survey of the impact of genetic diversity on the performance of 12 way durum wheat mixtures grown in two contrasted and controlled environments.** PLoS ONE 17(12): e0276223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276223>

Pélissier R, Ballini E, Temple C, Ducasse A, **Colombo M**, Frouin J, et al. (2023) **The genetic identity of neighboring plants in intraspecific mixtures modulates disease susceptibility of both wheat and rice.** PLoS Biol 21(9): e3002287. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002287>

### Stage de M2 :

**Colombo, M.**, Roumet, P., Salon, C., Jeudy, C., Lamboeuf, M., Lafarge, S., Dumas, A. V., Dubreuil, P., Ngo, W., Derepas, B., Beauchêne, K., Allard, V., le Gouis, J., & Rincet, R. (2022). **Genetic analysis of platform-phenotyped root system architecture of bread and durum wheat in relation to agronomic traits.** Frontiers in Plant Science, 13, 853601. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.853601>

## References citées dans la discussion

- Adak, A., Murray, S.C., Anderson, S.L., 2023. Temporal phenomic predictions from unoccupied aerial systems can outperform genomic predictions. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 13, jkac294. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkac294>
- Allard, R.W., 1961. Relationship Between Genetic Diversity and Consistency of Performance in Different Environments1. *Crop Science* 1, cropsci1961.0011183X000100020012x. <https://doi.org/10.2135/cropsci1961.0011183X000100020012x>
- Beissinger, T., Kruppa, J., Cavero, D., Ha, N.-T., Erbe, M., Simianer, H., 2018. A Simple Test Identifies Selection on Complex Traits. *Genetics* 209, 321–333. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300857>
- Bernardo, R., 2016. Bandwagons I, too, have known. *Theor Appl Genet* 129, 2323–2332. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2772-5>
- Beugnot, A., 2019. La performance hybride chez le maïs : de l'étude de la complémentarité entre groupes hétérotiques à la prédiction génomique (These en préparation). université Paris-Saclay.
- Bonhomme, M., Fariello, M.I., Navier, H., Hajri, A., Badis, Y., Miteul, H., Samac, D.A., Dumas, B., Baranger, A., Jacquet, C., Pilet-Nayel, M.-L., 2019. A local score approach improves GWAS resolution and detects minor QTL: application to *Medicago truncatula* quantitative disease resistance to multiple *Aphanomyces euteiches* isolates. *Heredity* 123, 517–531. <https://doi.org/10.1038/s41437-019-0235-x>
- Booth, B.D., Swanton, C.J., 2002. Assembly theory applied to weed communities. *Weed Science* 50, 2–13. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0002:AIATAT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0002:AIATAT]2.0.CO;2)
- Borg, J., Enjalbert, J., Gauffreteau, A., 2015. Concevoir des associations variétales de blé par l'idéotypage participatif. Adaptation des prairies semées au changement climatique.
- Brieuc, M.S.O., Waters, C.D., Drinan, D.P., Naish, K.A., 2018. A practical introduction to Random Forest for genetic association studies in ecology and evolution. *Molecular Ecology Resources* 18, 755–766. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12773>
- Canè, M.A., Maccaferri, M., Nazemi, G., Salvi, S., Francia, R., Colalongo, C., Tuberosa, R., 2014. Association mapping for root architectural traits in durum wheat seedlings as related to agronomic performance. *Mol Breeding* 34, 1629–1645. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0177-1>
- Cantarel, A.A.M., Allard, V., Andrieu, B., Barot, S., Enjalbert, J., Gervais, J., Goldringer, I., Pommier, T., Saint-Jean, S., Le Roux, X., 2021. Plant functional trait variability and

- trait syndromes among wheat varieties: the footprint of artificial selection. *Journal of Experimental Botany* 72, 1166–1180. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa491>
- Casalicchio, G., Molnar, C., Bischl, B., 2019. Visualizing the Feature Importance for Black Box Models, in: Berlingerio, M., Bonchi, F., Gärtner, T., Hurley, N., Ifrim, G. (Eds.), *Machine Learning and Knowledge Discovery in Databases, Lecture Notes in Computer Science*. Springer International Publishing, Cham, pp. 655–670. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-10925-7\\_40](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10925-7_40)
- Chacón-Labela, J., García Palacios, P., Matesanz, S., Schöb, C., Milla, R., 2019. Plant domestication disrupts biodiversity effects across major crop types. *Ecol Lett* 22, 1472–1482. <https://doi.org/10.1111/ele.13336>
- Colombo, M., Roumet, P., Salon, C., Jeudy, C., Lamboeuf, M., Lafarge, S., Dumas, A.-V., Dubreuil, P., Ngo, W., Derepas, B., Beauchêne, K., Allard, V., Le Gouis, J., Rincant, R., 2022. Genetic Analysis of Platform-Phenotyped Root System Architecture of Bread and Durum Wheat in Relation to Agronomic Traits. *Frontiers in Plant Science* 13.
- Cormier, F., Foulkes, J., Hirel, B., Gouache, D., Moëgne-Loccoz, Y., Le Gouis, J., 2016. Breeding for increased nitrogen-use efficiency: a review for wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Breeding* 135, 255–278. <https://doi.org/10.1111/pbr.12371>
- Cossani, C.M., Sadras, V.O., 2021. Symmetric response to competition in binary mixtures of cultivars associates with genetic gain in wheat yield. *Evolutionary Applications* 14, 2064–2078. <https://doi.org/10.1111/eva.13265>
- Fang, Y., Liu, L., Xu, B.-C., Li, F.-M., 2011. The relationship between competitive ability and yield stability in an old and a modern winter wheat cultivar. *Plant Soil* 347, 7–23. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0780-4>
- Fischer, R.A., 2020. Breeding wheat for increased potential yield: Contrasting ideas from Donald and Fasoulas, and the case for early generation selection under nil competition. *Field Crops Research* 252, 107782. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107782>
- Foucteau, V., Brabant, P., Monod, H., David, O., Goldringer, I., 2000. Correction models for intergenotypic competition in winter wheat. *Agronomie* 20, 943–953. <https://doi.org/10.1051/agro:2000170>
- Goldringer, I., Brabant, P., Kempton, R.A., 1994. Adjustment for Competition Between Genotypes in Single-Row-Plot Trials of Winter Wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Breeding* 112, 294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1994.tb00687.x>
- Guo, Q., Yan, L., Korpelainen, H., Niinemets, Ü., Li, C., 2019. Plant-plant interactions and N fertilization shape soil bacterial and fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* 128, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.10.018>

- Harpole, W.S., Sullivan, L.L., Lind, E.M., Firn, J., Adler, P.B., Borer, E.T., Chase, J., Fay, P.A., Hautier, Y., Hillebrand, H., MacDougall, A.S., Seabloom, E.W., Bakker, J.D., Cadotte, M.W., Chanton, E.J., Chu, C., Hagenah, N., Kirkman, K., La Pierre, K.J., Moore, J.L., Morgan, J.W., Prober, S.M., Risch, A.C., Schuetz, M., Stevens, C.J., 2017. Out of the shadows: multiple nutrient limitations drive relationships among biomass, light and plant diversity. *Functional Ecology* 31, 1839–1846. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12967>
- Harpole, W.S., Tilman, D., 2007. Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. *Nature* 446, 791–793. <https://doi.org/10.1038/nature05684>
- Hazard, L., Gauffretau, A., Borg, J., Charron, M.-H., DEO, M., Enjalbert, J., Goutiers, V., Gressier, E., 2016. L'innovation à l'épreuve d'un climat et d'un monde changeant rapidement : intérêt de la co-conception dans le domaine des semences.
- Hikosaka, K., Niinemets, Ü., Anten, N.P.R. (Eds.), 2016. *Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications, Advances in Photosynthesis and Respiration*. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7291-4>
- Hill, W.G., Mackay, T.F.C., 2004. D. S. Falconer and Introduction to Quantitative Genetics. *Genetics* 167, 1529–1536. <https://doi.org/10.1093/genetics/167.4.1529>
- Hoefler, R., González-Barrios, P., Bhatta, M., Nunes, J.A.R., Berro, I., Nalin, R.S., Borges, A., Covarrubias, E., Diaz-Garcia, L., Quincke, M., Gutierrez, L., 2020. Do Spatial Designs Outperform Classic Experimental Designs? *JABES* 25, 523–552. <https://doi.org/10.1007/s13253-020-00406-2>
- Hooper, D.U., Dukes, J.S., 2004. Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment. *Ecology Letters* 7, 95–105. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00555.x>
- Jannink, J.-L., Lorenz, A.J., Iwata, H., 2010. Genomic selection in plant breeding: from theory to practice. *Briefings in Functional Genomics* 9, 166–177. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elq001>
- Konduri, V.S., Vandal, T.J., Ganguly, S., Ganguly, A.R., 2020. Data Science for Weather Impacts on Crop Yield. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4.
- Kovačević, D., Lazić, B., 2012. Modern trends in the development of agriculture and demands on plant breeding and soil management. *Genetika* 44, 201–216.
- Leitch, M.H., Jenkins, P.D., 1995. Influence of nitrogen on the development of *Septoria* epidemics in winter wheat. *The Journal of Agricultural Science* 124, 361–368. <https://doi.org/10.1017/S0021859600073329>
- Li, L., Giller, P., Peng, P., Guo, Y., Zhang, S., Hu, Z., Wang, X., Zhao, G., 2023. The genetic diversity-productivity effect in wheat cultivar mixtures at multiple levels. *European Journal of Agronomy* 142, 126676. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126676>



- Li, Y., Ruperao, P., Batley, J., Edwards, D., Martin, W., Hobson, K., Sutton, T., 2022. Genomic prediction of preliminary yield trials in chickpea: Effect of functional annotation of SNPs and environment. *The Plant Genome* 15, e20166. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20166>
- Libourel, C., Baron, E., Lenglet, J., Amsellem, L., Roby, D., Roux, F., 2019. The genomic architecture of competitive response of *Arabidopsis thaliana* is highly flexible between monospecific and plurispecific neighborhoods. <https://doi.org/10.1101/536953>
- Litrico, I., Violle, C., 2015. Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* 20, 604–613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Ly, D., Chenu, K., Gauffreteau, A., Rincant, R., Huet, S., Gouache, D., Martre, P., Bordes, J., Charmet, G., 2017. Nitrogen nutrition index predicted by a crop model improves the genomic prediction of grain number for a bread wheat core collection. *Field Crops Research* 214, 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.024>
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>
- Melchinger, A.E., Gumber, R.K., 1998. Overview of Heterosis and Heterotic Groups in Agronomic Crops, in: *Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 29–44. <https://doi.org/10.2135/cssaspecpub25.c3>
- Montazeaud, G., Violle, C., Roumet, P., Rocher, A., Ecartot, M., Compan, F., Maillet, G., Fort, F., Fréville, H., 2020. Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: Towards ecological assembly rules for varietal mixtures. *Journal of Applied Ecology* 57, 2285–2295. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>
- Pangga, I.B., Hanan, J., Chakraborty, S., 2013. Climate change impacts on plant canopy architecture: implications for pest and pathogen management. *Eur J Plant Pathol* 135, 595–610. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0118-y>
- Pélissier, R., Ballini, E., Temple, C., Ducasse, A., Colombo, M., Frouin, J., Qin, X., Huang, H., Jacques, D., Florian, F., Hélène, F., Cyrille, V., Morel, J.-B., 2023. The genetic identity of neighboring plants in intraspecific mixtures modulates disease susceptibility of both wheat and rice. *PLOS Biology* 21, e3002287. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002287>
- Pieri, A., Beleggia, R., Gioia, T., Tong, H., Vittori, V. di, Frascarelli, G., Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Fiorani, F., Pecchioni, N., Marzario, S., Quattro, C.D., Limongi, A.R., Vita, P.D., Rossato, M., Schurr, U., David, J.L., Nikoloski, Z., Papa, R., 2023. Nitrogen availability during domestication shaped the divergence of tetraploid wheat. <https://doi.org/10.1101/2023.08.31.555682>

- Rincent, R., Charpentier, J.-P., Faivre-Rampant, P., Paux, E., Le Gouis, J., Bastien, C., Segura, V., 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. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200760>
- Rincent, R., Malosetti, M., Ababaei, B., Touzy, G., Mini, A., Bogard, M., Martre, P., Le Gouis, J., van Eeuwijk, F., 2019. Using crop growth model stress covariates and AMMI decomposition to better predict genotype-by-environment interactions. *Theor Appl Genet* 132, 3399–3411. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03432-y>
- Robert, P., Le Gouis, J., The BreedWheat Consortium, Rincent, R., 2020. Combining Crop Growth Modeling With Trait-Assisted Prediction Improved the Prediction of Genotype by Environment Interactions. *Frontiers in Plant Science* 11, 827. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00827>
- Sadras, V.O., 2021. Evolutionary and ecological perspectives on the wheat phenotype. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 288, 20211259. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1259>
- Sampoux, J.-P., Giraud, H., Litrico, I., 2020. Which Recurrent Selection Scheme To Improve Mixtures of Crop Species? Theoretical Expectations. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 10, 89–107. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400809>
- Slafer, G.A., García, G.A., Serrago, R.A., Miralles, D.J., 2022. Physiological drivers of responses of grains per m<sup>2</sup> to environmental and genetic factors in wheat. *Field Crops Research* 285, 108593. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108593>
- Sng, B.J.R., Vu, K.V., Choi, I.K.Y., Chin, H.J., Jang, I.-C., 2023. LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1 mediates a trade-off between growth and defence under shade in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany* 74, 3560–3578. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad088>
- Teressa, T., Semahegn, Z., Bejiga, T., 2021. Multi Environments and Genetic-Environmental Interaction (GxE) in Plant Breeding and its Challenges: A Review Article. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences* 7, 11–18. <https://doi.org/10.20431/2454-6224.0704002>
- Touzy, G., Rincent, R., Bogard, M., Lafarge, S., Dubreuil, P., Mini, A., Deswarte, J.-C., Beauchêne, K., Le Gouis, J., Praud, S., 2019. Using environmental clustering to identify specific drought tolerance QTLs in bread wheat (*T. aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 132, 2859–2880. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03393-2>
- Vincourt, P., Gallais, A., 1983. Sur la recherche de critères de sélection : la régression géno-phénotypique. *Agronomie* 3, 827–830.
- Voss-Fels, K.P., Stahl, A., Wittkop, B., Lichthardt, C., Nagler, S., Rose, T., Chen, T.-W., Zetzsche, H., Seddig, S., Majid Baig, M., Ballvora, A., Frisch, M., Ross, E., Hayes,

- B.J., Hayden, M.J., Ordon, F., Leon, J., Kage, H., Friedt, W., Stützel, H., Snowdon, R.J., 2019. Breeding improves wheat productivity under contrasting agrochemical input levels. *Nat. Plants* 5, 706–714. <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0445-5>
- Westhues, C.C., Simianer, H., Beissinger, T.M., 2022. learnMET: an R package to apply machine learning methods for genomic prediction using multi-environment trial data. *G3 (Bethesda)* 12, jkac226. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkac226>
- Wright, A.J., 1985. Selection for improved yield in inter-specific mixtures or intercrops. *Theoret. Appl. Genetics* 69, 399–407. <https://doi.org/10.1007/BF00570909>
- Yan, X., Diez, J., Huang, K., Li, S., Luo, X., Xu, X., Su, F., Jiang, L., Guo, H., Hu, S., 2020. Beyond resource limitation: an expanded test of the niche dimension hypothesis for multiple types of niche axes. *Oecologia* 193, 689–699. <https://doi.org/10.1007/s00442-020-04713-w>