



UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE
L'ENVIRONNEMENT



EQUIPE D'ACCUEIL SCIENCES DU VEGETAL

THESE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT

SPECIALITE : Agronomie et Ecologie Fonctionnelle

Evaluation de la pertinence des mélanges variétaux de riz pluvial (*oryza sativa*) pour l'optimisation du rendement et la résistance aux contraintes du milieu

Présentée par

RAHAJAHARILAZA Koloina

Soutenue publiquement le 16 mai 2024

Président : Pr titulaire Vonjison RAKOTOARIMANANA, Université d'Antananarivo
Directeur : Pr Emérite RAMAVOVOLOLONA, Université d'Antananarivo
Co-Directeur : Dr HDR Cyrille VIOLLE, CEFE-CNRS Montpellier
Rapporteur interne: Dr HDR Tendro RADANIELINA, Université d'Antananarivo
Rapporteur externe : Pr titulaire Tantely RAZAFIMBELO, LRI-Université d'Antananarivo
Examineurs : Dr HDR Mbolarinosy RASOAFALIMANANA, FOFIFA Madagascar
Dr HDR Cécile BERTHOULY-SALAZAR, UMR DIADE-IRD Montpellier





UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE ET DE
L'ENVIRONNEMENT



EQUIPE D'ACCUEIL SCIENCES DU VEGETAL

THESE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT

SPECIALITE : Agronomie et Ecologie Fonctionnelle

Evaluation de la pertinence des mélanges variétaux de riz pluvial (*oryza sativa*) pour l'optimisation du rendement et la résistance aux contraintes du milieu

Présentée par

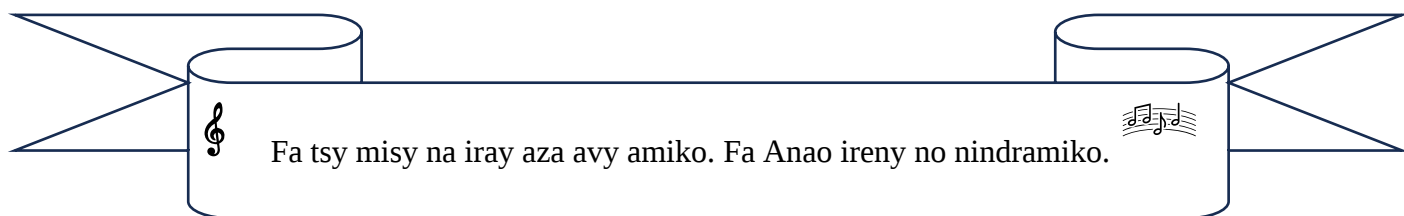
RAHAJAHARILAZA Koloina

Soutenue publiquement le 16 mai 2024

Devant les membres de jury composé de :

Président :	Pr titulaire Vonjison RAKOTOARIMANANA, Université d'Antananarivo	
Directeur :	Pr Emérite RAMAVOVOLOLONA,	Université d'Antananarivo
Co-Directeur :	Dr HDR Cyrille VIOLLE,	CEFE-CNRS Montpellier
Rapporteur interne:	Dr HDR Tendro RADANIELINA,	Université d'Antananarivo
Rapporteur externe :	Pr titulaire Tantely RAZAFIMBELO,	LRI-Université d'Antananarivo
Examineurs :	Dr HDR Mbolarinosy RASOAFALIMANANA, FOFIFA Madagascar	
	Dr HDR Cécile BERTHOULY-SALAZAR, UMR DIADE-IRD Montpellier	





Ratsimbazafy Henri, 1985

REMERCIEMENTS

Me voilà enfin au bout de ce long voyage, un voyage que je n'aurais jamais pu accomplir toute seule. En ce moment, je suis emportée par une vague d'émotion en me remémorant toutes les personnes qui ont croisé ma route tout au long de ce périple et qui ont une empreinte indélébile dans mon parcours. Je compare cette aventure à un voyage en bateau, où chacune des personnes suivantes avait un rôle essentiel.

En premier lieu, je tiens à remercier les membres du jury pour votre implication et votre volonté. Au Professeur titulaire Vonjison Rakotoarimanana de m'avoir fait l'honneur de le présider, aux professeurs Tantely Maminiana Razafimbelo et Tendro Radanielina, les deux rapporteurs de cette thèse pour les améliorations de finesses que vous nous avez proposées qui sont essentielles à l'enrichissement de mon manuscrit, aux professeurs Mbolarinosy Rasoafalimanana et Cécile Berthouly-Salazar d'avoir accepté d'examiner notre travail. Ensuite, à ma directrice de thèse, Professeure Ramavovololona Perle ; je ne saurai comment vous remercier pour votre soutien immense durant mon parcours. Vous avez été plus qu'une directrice de thèse par votre engagement en ce qui me concerne. J'ai énormément apprécié vos préoccupations sincères à mon égard, c'était vraiment réconfortant et je vous remercie du fond du cœur. Ensuite, je souhaite exprimer ma reconnaissance envers celui qui a planifié et orchestré ce voyage et m'a fait l'honneur de co-diriger cette thèse. Merci infiniment, Cyrille. J'ai eu la chance inouïe de travailler à tes côtés et d'apprendre de toi. A vous, mes encadrants, mes commandants de bord de gauche et de droite Bertrand Muller et Kirsten von Brocke. Je vous remercie du fond du cœur d'avoir été toujours à mes côtés dans les bons et mauvais moments.

D'un côté technique, mon bateau aurait coulé si quelqu'un n'était pas là pour m'épauler ; un grand merci à Florian Fort. Je te dois beaucoup pour l'accomplissement de cette thèse, sur toutes les fois où tu n'as pas hésité à m'épauler, que ce soit en présentiel ou à distance. Mes compétences ont vraiment grimpé d'un cran grâce à notre collaboration. Merci, merci et encore merci. Je tiens aussi à remercier Lucie Mahaut pour les aides scientifiques qu'elle m'a fournies. Je remercie aussi Philippe Letourmy pour sa gentillesse et sa patience pour nos modèles de stats. Encore sur cette partie technique, je souhaite également remercier tous les membres de mon comité de thèse : Jean Benoît Morel, Harinjaka Raveloson, Aro Vonjy Ramarosandrata, Louis Marie Raboin, et Delphine Luquet. Vos avis et vos évaluations ont permis à mon bateau de prendre la bonne direction et de naviguer jusqu'à bon port. Je tiens à adresser un remerciement spécial à Harinjaka qui n'était pas seulement un membre du comité, mais aussi un collègue de terrain pendant toutes les prospections Pyriculariose menées lors des campagnes. Ce n'était pas facile, et surtout, cela n'aurait pas été possible sans toi. Un grand merci également

à Natolotra de nous avoir toujours accompagné. Je souhaite exprimer ma gratitude à Rémi Pélissier et à Xiang Li pour leur aide précieuse, notamment lors de mes manipulations au PHIM.

Aux laboratoires et équipes qui m'ont accueillie. Tout d'abord, un grand merci à l'équipe GIV et à l'équipe PhenoMen du CIRAD pour votre chaleureux accueil et votre engagement. Une vague de remerciements à l'équipe Ecopar du CEFÉ. De ces équipes, je remercie en particulier les doctorants et les non permanents qui ont partagé des moments spéciaux dans et en dehors des bureaux : Stefania, Taïna, Léo, Marie Charlotte, Lucie, Lisa, Tatianah, Aurélien, Fransesca, Laura, Ezékiel, Juan Pablo, Un clin d'œil à Ammar Shihan. Je tiens à remercier du fond du cœur l'équipe SPAD Antsirabe, qui a supporté mes folies pendant toutes ces années. C'était un réel plaisir de faire partie de votre équipe, et j'aimerais continuer à y contribuer. Merci aux chercheurs, merci aux techniciens et aux personnes suivantes : Rivolala, Daniel, Lova, José, Lody, Christian, Aina, Eva et tous les gens du village d'Ankazomiriotra et Ivory qui m'ont aidée. Une partie de ce travail aurait été impossible sans vous. Je tiens aussi à remercier la famille Ramarolahy qui m'ont accueillie chaleureusement chez eux à Antsirabe. Je remercie également le personnel et les enseignants de l'École Doctorale SVE. Je tiens à exprimer ma gratitude spéciale envers la Professeure Aurore Doll Rakoto pour sa compréhension et son soutien constant, où que je sois. Malgré ses responsabilités, elle est restée très proche de ses étudiants. Un sincère remerciement pour la petite communauté malgache à Montpellier qui était notre deuxième famille de loin. Merci à Mamy, Ignace, Tsila, Annick et Mbola. Un remerciement aussi pour la communauté des Sœurs de Saint François d'Assise qui m'a toujours chaleureusement accueillie lors de mes séjours à Montpellier et à tous nos amis qui ont partagé des rires et moments forts dans leurs locaux.

Le voyage sans amis serait comme un océan trop vaste, triste et fade. Tels des marins plus expérimentés, mes aînés ont soutenu leur petite sœur et je tiens à leur exprimer ma gratitude spéciale : Lalaina Ranaivoson, Mamy Razafimahatratra, Laingo Rasolofo, Onja Ratsiatosika, Onja Razanakoto, Manoa Raminoarison, Patricia Ranoarisoa. Et surtout, à ceux qui ont navigué à mes côtés, chacun à bord de son propre bateau, mais sans jamais s'abandonner : Patricia, Miora, Roberta, Ravo. Mes précieuses copines Sariaka, Amboara et 'Radoko' Fanilo, vous avez apporté tant de joies et de soutiens dans cette aventure.

J'aimerais aussi remercier quelqu'un qui m'a beaucoup inspiré et a suscité en moi l'envie de la recherche. Jean Trap, tu as été un bon modèle exemplaire de chercheur. Depuis mon stage de licence, j'ai toujours aspiré à devenir comme toi ! C'est grâce à toi que j'ai découvert ma passion pour la recherche, et tu m'as formée et guidée avec brio jusqu'à ma position actuelle. Je te suis vraiment reconnaissante.

Dans la cabine principale, ma petite famille était le moteur inébranlable qui a propulsé mon voyage. Merci infiniment à mes parents et à ma sœur pour leur soutien constant et leur dévouement. Ils ont été la force motrice qui m'a permis d'avancer et de réaliser mes ambitions académiques. Cette thèse est la nôtre. Je tiens également à exprimer ma sincère gratitude à ma belle-famille Ravelosaona, pour leur encouragement et aide précieuse vers la fin de mon parcours, apportant une touche familiale originale rendant ce moment si spécial. Enfin, mais pas le moindre, un grand merci pour mon précieux compagnon de voyage, Tojo. Merci d'avoir été celui sur qui je pouvais compter en toutes circonstances, pour ta confiance et tes soutiens qui ont été une lumière spéciale pour me guider. Aux merveilleuses choses qui se dessinent pour notre avenir commun !

Ce voyage en bateau a été une aventure incroyable, ponctuée de rencontres, de découvertes et de défis. Je suis profondément reconnaissante envers toutes les personnes qui ont joué un rôle dans cette expérience et qui m'ont permis de naviguer vers la réussite. Je suis fière d'arriver à bon port, mais je sais que ce n'est que le début d'une nouvelle aventure.

Koloina Rahajaharilaza

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I :	4
1. Modèle de production agricole depuis la Révolution Verte et émergence de l'agroécologie.....	5
2. Importance agronomique des mélanges variétaux de riz pluvial	6
3. Processus écologiques impliqués dans les mélanges variétaux.....	9
4. Mise en œuvre des mélanges variétaux	15
5. Méthodologies d'investigation pour évaluer les performances des MV	17
6. Questions encore non résolues dans la littérature et les verrous à lever	18
7. Schéma conceptuel de la thèse et les expérimentations réalisées	21
CHAPITRE II :	24
Introduction	25
Matériels et méthodes.....	26
Résultats.....	28
Discussions	28
Conclusion et perspectives	30
The challenge of intraspecific mixtures for applied ecology: different genotypic assemblages for different functions in upland rice.....	31
CHAPITRE III :	53
Introduction	54
Matériels et méthodes.....	55
Résultats.....	56
Discussions	57
Conclusion et perspectives	59
Upland rice varietal mixtures in Madagascar: evaluating the effects of varietal interaction on crop performance.....	68
CHAPITRE IV :	80
Introduction	81
Matériels et méthodes.....	82
Résultats.....	84
Discussions	85
Conclusion et perspectives	87
Evaluation of upland rice variety mixtures in Madagascar highlands.....	88
DISCUSSION GENERALE	115
4.1. Compréhension des interactions plantes-plantes (IPP) et les mécanismes de défense	116

4.2.	Les facteurs et aspects techniques identifiés qui ont contribué aux efficacités des mélanges	121
4.3.	Stratégies à adopter pour une stabilité et durabilité des mélanges variétaux.....	123
4.4.	Règles d'assemblage qui mettent en avant les interactions entre plantes ?.....	124
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		127
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		129
LISTE DES ANNEXES		144
ABSTRACT		155
RESUME.....		156

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AGAP	: Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes
ANOVA	: Analyse Of Variance
CDR	: Composantes De Rendements
CEFE	: Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive
CIRAD	: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
DP SPAD	: Dispositif de Partenariat Système de Production d'Altitude et Durabilité
ECOPAR	: Ecologie comparative des organismes, des communautés et des écosystèmes
FAO	: Food and Agriculture Organization
FOFIFA	: Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampandrosoana ny eny Ambanivohitra
GIV	: Génétique et Innovation Variétale
INSTAT	: Institut National de la Statistique
NPK	: Azote, Phosphore, Potassium
PAM	: Programme Alimentaire Mondial
PhenoME	: Phénotypage et Modélisations des plantes dans leur Environnement agro-climatique
PHIM	: Plant Health Institute of Montpellier
SNDR	: Stratégie Nationale de Développement Rizicole

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I :

Figure 1 : Cadre analytique représentant les interactions plante-plante	11
Figure 2 : Les mécanismes écologiques impliqués dans la résistance aux maladies	14
Figure 3 : Schéma conceptuel de la thèse et objectif général	22

CHAPITRE II :

Figure 1: Ecological mechanisms involved in the regulation of disease in a mixture.	33
Figure2: Alpha lattice experimental design with 5 blocks.	35
Figure 3: Differences in the production and disease resistance of rice varietal mixtures and monocultures evaluated in a replicated field trial.....	40
Figure 4 : Land Equivalent Ratio per plot for grain yield and biomass yield and Net Effect ration of Disease of varietal mixtures on disease incidence and severity	40
Figure 5: Functional classification of ten varieties on the studied performances..	44
Figure 6: Variations in traits among functional groups for grain production and disease resistance in varietal mixtures	45

CHAPITRE III :

Figure 1: Split-plot experimental design with six main plots containing six binary mixtures, conducted in two experimental sites with five replications.	72
Figure 2: Relative Yield Total of grain and biomass yield and Net Effect Ratio of Disease of varietal mixtures in two sites.	76
Figure 3: Average RYT for grain and biomass yield and NERDI values for disease incidence and severity on leaves with NERDI incidence on panicles.....	10
Figure 4: RYT values for grain and biomass yield for L1/3 repartition.	11
Figure S1: Correlation between grain yield and environmental biotic constraints	76
Figure S2: RYT for grain and biomass yield and NERDI values for disease.....	719
Figure S3: RYT values for grain and biomass yield for L1/3 repartition in the two sites.	78

CHAPITRE IV :

Figure 1: Cumulated monthly rainfall distribution during the three cropping seasons ...	91
Figure 2: Experimental design during three years of experimentation.	95
Figure 3: Correlation between yield observed in mixtures and yield expected from the average of the varietal component of the mixture in pure stands.....	100
Figure 4: Yield ranking of the different combinations involving a given variety.	101
Figure 5: Varietal grain yield plasticity in response to neighbouring varieties.	102
Figure 6: Traits plasticity of focal varieties in response to neighbouring varieties across different compositions.	103
Figure S1: Variety characteristics and performance in pure stands.	106
Figure S2: Pedigree information on the four varieties used in the study	106
Table S1: Sample sizes according to association types	107
Figure S3: (A) Model residual variance per year., (B) Model scatterplot between observed values and predicted values.	108
DISCUSSION GENERALE	115
Figure 4 : Résumé des lacunes et des questions non résolues traitées dans la thèse.....	116

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE II :

Table 1: Comparison of yield component in mono-genotypic stands and genotype mixtures of upland rice. 41

Table 2 : Relationship between diversity traits of varieties and their performance 41

Table S1 : Characteristics of varieties issues of a first experiment trial in field 46

Table S2 : ANOVA performed with the first model showing variations induced by variables not mentioned in the results 47

CHAPITRE III :

Table 1 Treatments studied along a variety association..... 71

Table 2: Analysis of the effect of cropping system and the site experimental condition 74

Table 3: Analysis of the effects of cropping and experimental conditions stresses..... 75

TABLE 4 Performance in production and characteristics of the varieties at different proportions (75% and 25%) in the L1/3 repartition compared to pure stands 12

Table S1: Comparison of soil physical and chemical properties between Site ANK and Site IVO in different horizons..... 16

Table S2: Phenological and phenotypic characteristics of the four upland rice varieties. Data extracted from experiment in the site ANK in 2020-2021 (Rahajaharilaza *et al.* in prep) 17

CHAPITRE IV :

Table 1: Characteristics of selected upland rice varieties included in the study 92

Table 2: Studied treatments represented by the four association types..... 93

Table 3: Analysis of the effect of association type on grain yield 98

Table 4: Grain yield according to association type 98

Table 5: Grain yield according to varietal composition 99

Table S1: Sample sizes according to association types..... 107

Table S2: Analysis of the effect of the difference of proportion of three varieties 109

Table S3: Comparison of the AIC in the two models (Model 1 vs Model 1bis) 109

GLOSSAIRE

Agrosystème	: Synonyme d'écosystème cultivé ou un système agricole comprenant les éléments biotiques (cultures, animaux) et abiotiques (sol, climat) interagissant dans un contexte de production agricole.
Allélopathie	: Libération par certaines plantes de substances chimiques affectant la croissance ou le développement des plantes voisines
Contraintes	: Facteurs limitatifs ou obstacles qui restreignent ou influent sur une situation, un processus ou une activité. En contexte écologique, les contraintes peuvent être des éléments physiques, climatiques, ou liés aux ressources, qui limitent le développement d'un écosystème ou d'une espèce.
Écosystème	: Un système dynamique formé par l'interaction entre organismes vivants et leur environnement, englobant des facteurs biotiques et abiotiques dans une zone géographique spécifique.
Fonction écologique	: Le rôle d'un organisme, d'une espèce ou d'un élément au sein d'un écosystème, contribuant au maintien de l'équilibre écologique et à la stabilité de l'environnement.
Groupe fonctionnel	: Ensemble d'organismes (ici de plantes ou de variétés) partageant des caractéristiques similaires et jouant des rôles écologiques (production ou résistance à la maladie) communs dans un agrosystème.
Interaction des plantes	: Les relations réciproques entre différentes plantes au sein d'un écosystème, comprenant des aspects tels que la compétition pour les ressources, la symbiose, la prédation végétale, et d'autres formes de coopération ou de conflit qui influent sur la croissance, la survie et la reproduction des plantes impliquées.
Motif d'assemblage	: Assemblage de deux variétés appartenant à différents groupes fonctionnels.
Poquet	: Petit trou d'environ 2 cm de profondeur dans lequel on sème 5 à 8 grains de riz lors du semis. On y ajoute un petit tas de fumier mélangé avec de la terre pour les recouvrir. Cette structure est ensuite traitée comme une plante individuelle.
Riz pluvial	: Système de riziculture à Madagascar, avec deux méthodes principales, en pente ou en tanety prédominant dans les Hautes Terres, et sur brûlis ou tavy. La thèse se concentre sur la riziculture pluviale des <i>Tanety</i> .
Tanety	: Terme malgache désignant les sommets et les versant des collines aux pentes fortes, typiques des Hautes-Terres Malgaches et résultant de l'altération de l'ancien plateau. Ces zones sont utilisées pour la culture de cultures pluviales telles que le riz, le maïs, le manioc, les haricots, etc.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les mélanges variétaux, définis comme l'association de deux ou plusieurs variétés ou génotypes différents sur une même parcelle, suscitent un intérêt croissant dans le domaine de l'agriculture (Snyder, 2020). Les méthodes varient, allant du mélange direct des semences à la séparation des variétés ou génotypes dans le but d'obtenir une diversité intra-parcellaire (Smithson & Lenné, 1996). Cette technique a été adoptée depuis des lustres par certains agriculteurs dans le monde, puisqu'elle offre la possibilité de diversifier les cultures. Des observations des terrasses du Yuanyang, dans la province du Yunnan en Chine, ont montré que cette zone rizicole de plus de 10 000 hectares est restée relativement à l'abri d'épidémies, notamment la pyriculariose, en dépit de la présence de pathogènes adaptés (Zhu, 2000). Des études ont démontré que la résistance observée était en partie due à la coculture de génotypes ayant des systèmes immunitaires contrastés entre riz *japonica* et riz *indica* (Liao *et al.*, 2016). De plus, la diversité variétale a été associée à des avantages multifonctionnels, tels que l'amélioration de la disponibilité des nutriments dans le sol et la réduction des pathogènes végétaux grâce à la diversification des mécanismes de résistance (Reddy *et al.*, 2011). Toutefois, après la Révolution Verte, une impulsion en faveur d'une augmentation de la production agricole a émergé à l'échelle mondiale. Cette impulsion a conduit à l'adoption de pratiques agricoles intensives telles que les monocultures sur de vastes superficies, fortement fertilisées et traitées avec des produits chimiques, afin de répondre aux besoins alimentaires croissants de la population mondiale (Albergoni & Pelaez, 2007; Elser *et al.*, 2014). Les meilleures variétés ont ainsi été sélectionnées et cultivées en monoculture (Elser *et al.*, 2014), mettant en évidence une évolution marquante des pratiques agricoles au cours de cette période.

Cette pratique, malgré son efficacité, a relevé beaucoup de problèmes sanitaires et surtout environnementaux voire l'incapacité de la reproduire au fil du temps. C'est pourquoi les agriculteurs attisés par les chercheurs ont commencé à chercher d'autres alternatives de production ou plus précisément à trouver des pratiques agricoles durables pour les générations futures et respectueuses de l'environnement (McLaughlin & Mineau, 1995; L. Larramendy & Soloneski, 2021). L'Agroécologie, l'association de l'agronomie et de l'écologie s'avère être la méthode la plus efficace et la plus prisée. Nombreuses sont les pratiques agroécologiques mais celle qui a récemment attiré l'attention de tous est le mélange de variétés (Altieri, 1999).

Dans le contexte de Madagascar, où la riziculture occupe une place prépondérante dans l'économie et la subsistance de la population, les défis liés à la faible fertilité des sols, aux aléas climatiques et aux contraintes biotiques telles que la pyriculariose (*Pyricularia oryzae*) sont autant de problématiques à surmonter (Radanielina *et al.*, 2013a). De plus, les pressions socio-

économiques découlant des changements environnementaux ont un impact sur la production de riz dans le pays (Penot *et al.*, 2009). C'est ainsi que la recherche de solutions aux défis rencontrés se joint au contexte international. L'agroécologie émerge comme une approche potentielle pour atténuer ces problèmes (Altieri, 1999). Différentes pratiques agroécologiques sont ainsi promues dans le cadre du développement de la riziculture pluviale, parmi lesquelles figurent notamment le compostage, la rotation des cultures, l'association de cultures avec différentes espèces, le lombricompostage et les cultures sous couvert végétal (Ranaivoson, 2019). En parallèle, l'introduction de la diversité intraspécifique apparaît comme une solution pertinente, offrant la possibilité d'utiliser les mêmes espèces cultivées à des fins alimentaires ou de transformation. C'est dans cette optique que nous avons opté pour la mise en place de mélanges variétaux de riz pluvial à Madagascar. Cette démarche d'introduction de la diversité au sein des champs de riz représente à la fois une innovation et une opportunité d'appliquer les principes écologiques pour en vérifier la faisabilité.

Au fil des décennies, des études approfondies sur les mélanges variétaux ont été menées à Madagascar comme ailleurs dans le monde. À partir des années 1980, certaines recherches ont été lancées pour introduire une diversité dans les champs, avec un intérêt croissant pour l'association d'espèces différentes (Wolfe, 2001, Finckh *et al.*, 2000, Mundt, 2002). Des études sur l'introduction de mélanges variétaux ont également été entreprises à Madagascar, mettant en évidence l'intérêt potentiel d'associer différentes variétés pour améliorer la résistance à la pyriculariose et favoriser la complémentarité en termes d'utilisation des ressources et de production (Raboin, 2012, 2013). Cependant, malgré ces avancées, il est important de noter qu'il subsiste un manque d'études approfondies pour comprendre les nombreux mécanismes en jeu dans les mélanges variétaux afin d'améliorer et d'optimiser les performances des cultures. Des paramètres tels que les interactions génétiques, les conditions du milieu (telles que les niveaux de nutriments dans le sol) et la pression des maladies nécessitent d'être étudiés plus en profondeur, de même que la manière d'évaluer les performances des cultures dans des conditions réelles. Il est donc nécessaire d'explorer davantage ces aspects pour justifier les potentiels des mélanges variétaux, surtout dans le contexte de Madagascar où les agriculteurs ne disposent pas toujours de tous les moyens pour tester des approches non justifiées.

Dans le cadre de cette thèse, notre principal objectif est d'évaluer la pertinence des mélanges variétaux de riz pluvial afin d'optimiser le rendement et de résister aux contraintes du milieu, en prenant comme cas d'étude Madagascar. Nous souhaitons débiter cette évaluation de performance pour déterminer s'il est avantageux d'adopter cette stratégie dans un contexte du Sud, en particulier dans les pays en voie de développement comme Madagascar. Les évaluations concernent le rendement ou la production qui est la principale préoccupation des

agriculteurs, et ensuite les contraintes biotiques telles que les maladies ou les contraintes abiotiques telles que les effets des changements climatiques. Afin de répondre à cette question principale, notre recherche vise à évaluer et à expliquer les performances des mélanges variétaux de riz pluvial dans des conditions réelles à Madagascar. Dans ce cadre, trois sous-objectifs ont été formulés.

- Le premier sous-objectif est d'améliorer les performances agronomiques globales en testant le lien entre la diversité phénotypique et le rendement du mélange.
- Notre deuxième sous-objectif est d'estimer la capacité des mélanges variétaux à résister aux pathogènes, en particulier la pyriculariose, et à diverses contraintes biotiques.
- Enfin, notre troisième sous-objectif consiste à tester différentes applications de mélanges variétaux avec des agencements variés sur plusieurs années, afin d'évaluer leur performance sur le terrain.

A partir de ces sous-objectifs, nous avons établi les trois hypothèses suivantes : l'hypothèse H1 formulée est la suivante : l'adoption des mélanges variétaux améliore la performance agronomique des cultures. L'hypothèse H2 avance que les génotypes ayant des similarités phénotypiques sont compétitifs, tandis que ceux qui sont différents sont complémentaires en termes de production et de lutte contre les bioagresseurs. Notre hypothèse H3 présume que la présence d'une variété performante atténue les effets de différents stress environnementaux sur les cultures et favorise les résultats attendus.

Le but final de la thèse est d'essayer d'identifier des règles d'assemblage qui permettraient à la fois d'optimiser la production des mélanges variétaux et la résistance aux pathogènes. La thèse est divisée en quatre parties ou chapitres. Le premier chapitre offre une synthèse bibliographique sur l'état des connaissances sur les mélanges variétaux. Le second chapitre porte sur un modèle fonctionnel sur les performances des mélanges. Différentes modalités de mélanges sous différentes conditions agroécologiques sont présentées dans le troisième chapitre. Le quatrième et dernier chapitre fait l'objet d'une évaluation à long terme des mélanges variétaux.

CHAPITRE I :

Etat des connaissances sur les mélanges variétaux

1. Modèle de production agricole depuis la Révolution Verte et émergence de l'agroécologie

1.1 Un système de production intensif

La Révolution Verte, qui a débuté au milieu du XXe siècle, a entraîné des changements majeurs dans les modes de production agricole à travers le monde. Cette stratégie s'est caractérisée par l'utilisation généralisée d'intrants chimiques, tels que les engrais et les pesticides, ainsi que par la sélection de variétés à haut potentiel (Albergoni and Pelaez, 2007; Elser *et al.*, 2014). Cette intensification, notamment dans la riziculture, a eu des effets néfastes sur l'environnement tels que la dégradation de la qualité de l'eau, la perte de fertilité des sols et la diminution de la biodiversité (L. Larramendy and Soloneski, 2021; McLaughlin and Mineau, 1995). En Asie, l'usage intensif de produits chimiques a particulièrement impacté la biodiversité locale (Kanaan, 2021). En Afrique subsaharienne, y compris à Madagascar, la riziculture intensifiée a donné des résultats mitigés en raison des défis climatiques et économiques (Gerardeaux *et al.*, 2012; van Oort and Zwart, 2018). Les petits producteurs, souvent incapables de financer les intrants nécessaires, ont été marginalisés, exacerbant l'insécurité alimentaire (Bin Rahman and Zhang, 2023; Koirala *et al.*, 2014; McGuire and Sperling, 2016). Face à ces défis, une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement est prônée. L'agroécologie, favorisant des pratiques agricoles écologiques et la diversification des cultures, est une alternative de plus en plus populaire pour promouvoir une production de riz respectueuse de l'environnement (Altieri, 1989; Dumont *et al.*, 2021; El Bilali, 2019).

1.2 Les mélanges variétaux, un levier agroécologique prometteur

L'agroécologie, soutenue par la FAO, offre une alternative à l'agriculture intensive de la Révolution Verte, en se basant sur des connaissances locales et des principes écologiques (Altieri, 1999). L'agroécologie est une approche scientifique qui vise à étudier, diagnostiquer et proposer des alternatives de gestion des agroécosystèmes à faible niveau d'intrants. (Altieri, 1989; Isbell, 2015). Cette approche vise à résoudre les problèmes de durabilité de l'agriculture en favorisant l'intégration harmonieuse entre l'homme, l'agroécosystème et l'environnement (Dhanda *et al.*, 2022; Timsina and Connor, 2001). Les pratiques agroécologiques incluent l'utilisation de biofertilisants, pesticides naturels, rotation des cultures, cultures intercalaires, agroforesterie, et semis direct. La pratique la plus courante et appréciée est la diversification des cultures (Hawes *et al.*, 2021; Wezel *et al.*, 2014).

Les mélanges variétaux peuvent être classés parmi les cultures intercalaires. Ils consistent à planter deux ou plusieurs variétés différentes de la même culture dans le même champ (Snyder *et al.*, 2020; Wuest *et al.*, 2021). Cette méthode traditionnelle, réévaluée récemment, est cruciale

pour améliorer la durabilité des systèmes agricoles modernes en augmentant la diversité génétique et la résilience des cultures (Barot *et al.*, 2017; Smithson and Lenné, 1996).

2. Importance agronomique des mélanges variétaux de riz pluvial

2.1 Contraintes et défis de la riziculture pluviale à Madagascar

L'économie de Madagascar repose principalement sur le secteur agricole, notamment dans les zones rurales. Selon l'Institut national de la statistique dans son rapport publié en 2022, 83.2% de la population malgache est engagée dans des activités agricoles dont 68.6% de ménages pratiquant la riziculture (INSTAT, 2022). Traditionnellement, la riziculture se concentrait sur les bas-fonds et les collines avec des pratiques d'abattis-brûlis, mais ces méthodes ne suffisent plus à répondre aux besoins alimentaires croissants. L'introduction de variétés de riz adaptées aux altitudes a permis de cultiver les collines (*Tanety*), passant de la riziculture semi-irriguée à la riziculture pluviale (Raboin *et al.*, 2013). La riziculture occupe 1 935 009 hectares, dont 281 000 hectares dédiés à la riziculture pluviale (17% de la surface totale cultivée en riz) et 79% à la riziculture irriguée (Ahmadi, 2004; SNDR, 2020). Le rendement moyen en riziculture pluviale est de 2,4 tonnes par hectare (PAM, 2019). Cette pratique est surtout concentrée dans la région de Vakinankaratra, bénéficiant de conditions pédoclimatiques favorables (Radanielina, 2007; 'Penot *et al.*, 2009).

2.1.1. Contraintes abiotiques de la riziculture pluviale

La riziculture pluviale a connu un essor considérable dans la région du Moyen Ouest de Madagascar en raison de la rareté des terres irriguées. Des variétés élités comme Chomrrhong Dhan et Nerica, résistantes aux conditions climatiques variables et aux sols pauvres en nutriments, sont largement adoptées (Brocke *et al.*, 2016). Ces variétés, avec des cycles de croissance courts (110-130 jours pour Chomrrhong Dhan, 90-120 jours pour Nerica), permettent des rendements acceptables malgré les contraintes (Penot *et al.*, 2009).

Cependant, la riziculture pluviale dépend fortement des précipitations qui sont de plus en plus irrégulières. Par exemple, en 2021 et 2022, les pluies ont commencé tardivement, retardant les semis et affectant les cycles de culture. La baisse des températures à la fin du cycle nuit à la floraison et à la maturation du riz, impactant le rendement (Données météorologiques DP SPAD, 2021-2022). Les sols des Tanety où sont cultivés le riz pluvial sont des sols ferrallitiques pauvres (Raminoarison *et al.*, 2020). La réussite des cultures nécessite l'apport à la fois d'engrais organiques et chimiques, sous forme de mélanges de matières fertilisantes (Raminoarison, 2021). Les aléas climatiques, comme les périodes de sécheresse suivies de pluies abondantes, augmentent la vulnérabilité de la riziculture pluviale. Des événements comme la grêle en mai-juin 2023 ont détruit des récoltes dans les régions Vakinankaratra et Analamanga. Ces défis

climatiques nécessitent une gestion adaptative pour améliorer la résilience et la durabilité de la riziculture pluviale à Madagascar.

2.1.2. Contraintes biotiques de la riziculture pluviale

La riziculture pluviale à Madagascar fait face à plusieurs contraintes biotiques ou "bioagresseurs", notamment :

La maladie pyriculariose (causée par le pathogène : *Pyricularia oryzae*). Cette maladie fongique est la plus répandue et dangereuse pour le riz, favorisée par des périodes d'humidité et des températures élevées. Les pertes peuvent atteindre 100% sans protection efficace (Savary *et al.*, 2000; Sester *et al.*, 2008). Les solutions incluent l'utilisation de variétés résistantes et la lutte chimique, bien que coûteuse et risquée pour l'environnement (Pennisi, 2019; Raboin *et al.*, 2016).

La *Striga asiatica*, une plante parasite appelée localement "Arema". Elle prolifère sur les sols ferrallitiques et dans les zones à faible pluviométrie (Atera *et al.*, 2012; Rodenburg *et al.*, 2020). Elle peut réduire les rendements de 10 à 90%, poussant parfois les agriculteurs à abandonner leurs terres (Ejeta and Gressel, 2007; Husson *et al.*, 2008).

Les vers blancs (*Heteronychus sp*), des insectes attaquant les jeunes plants de riz, notamment après les premières pluies. Les larves des Melolonthide endommagent les racines, affectant la croissance des plantes depuis le semis jusqu'à la floraison (Randriamanantsoa *et al.*, 2010).

Les maladies bactériennes (BLB ou Bacterial Leaf Blight et BLS ou Bacterial Leaf Streak), causées par *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* et *Xanthomonas oryzae pv. Oryzicola*. Elles se propagent par le vent, l'eau et les insectes, entraînant des pertes de rendement significatives (Jiang *et al.*, 2020; Tall *et al.*, 2022). Observées à Madagascar depuis 2019, elles représentent une menace économique majeure.

Ces contraintes, exacerbées par les dérèglements climatiques, nécessitent des stratégies de gestion intégrée pour améliorer la résilience de la riziculture pluviale à Madagascar.

2.2. Les avantages agronomiques de l'utilisation des mélanges variétaux dans la production de riz pluvial

L'utilisation de mélanges variétaux de riz dans la production agricole présente plusieurs avantages agronomiques. Ces mélanges peuvent contribuer à résoudre les contraintes spécifiques aux cultures de riz pluvial comme ceux de Madagascar (Smithson and Lenné, 1996; Snyder *et al.*, 2020). Ces avantages seront donc catégorisés selon la classification des deux contraintes majeures relevées à Madagascar dans le cas de la culture du riz.

2.2.1. Les avantages liés aux contraintes abiotiques

Les mélanges variétaux offrent plusieurs avantages face aux contraintes abiotiques citées précédemment. En combinant différentes variétés dans un champ, on peut mieux gérer les conditions variables et réduire l'impact des événements climatiques extrêmes tels que les sécheresses et les inondations (Creissen *et al.*, 2016). Des variétés avec des architectures racinaires différentes améliorent la capacité d'absorption des nutriments (Courtois *et al.*, 2013; Postma and Lynch, 2012). De ce fait, les mélanges variétaux vont améliorer l'utilisation des ressources et aussi accroître la résistance des cultures face aux pressions environnementales (Panda *et al.*, 2021). Ensuite, les variétés mélangées peuvent avoir différentes réponses de croissances et de tolérance à diverses contraintes. Ces différences peuvent être appréciées comme une diversité fonctionnelle augmentant la chance de succès malgré les conditions climatiques très variables (Barot *et al.*, 2017). Cette diversité fonctionnelle permet de bénéficier des services écosystémiques rendus par les mélanges variétaux (Díaz and Cabido, 2001; Malézieux, 2012). Les séries de ‘‘*services écologiques*’’ que les mélanges peuvent offrir sont : la suppression des mauvaises herbes, le soutien des insectes naturels pollinisateurs, l'amélioration de la qualité des sols et la réduction du lessivage de l'azote dans les eaux souterraines et les cours d'eau et la lutte contre les insectes nuisibles (Altieri, 1999; Malézieux *et al.*, 2009; Wuest *et al.*, 2021). En bénéficiant de ces services écologiques, les mélanges variétaux vont accroître la résilience des cultures face au changement climatique (Lin, 2011; McAlvay *et al.*, 2022).

2.2.2. Les avantages liés aux contraintes biotiques

Les mélanges variétaux permettent de relever les défis liés aux contraintes biotiques du milieu. L'adoption des mélanges variétaux est une meilleure stratégie pour contrôler les maladies et les ravageurs de culture (Mundt, 2002; Sarker *et al.*, 2020) . Ils réduisent la propagation des maladies et des ravageurs en cultivant plusieurs variétés de plantes dans la même parcelle (Finckh *et al.*, 2000; Wolfe, 2000). Les mélanges peuvent lutter contre les ravageurs lorsqu'ils comprennent des variétés spécifiques présentant une résistance aux principaux agents pathogènes des plantes ou aux insectes ravageurs (Smithson and Lenné, 1996). Lorsque la pression de la maladie ou des ravageurs est élevée, ces mélanges spécifiques peuvent avoir un rendement supérieur à celui des monocultures (Raboin *et al.*, 2012) . Le mélange de variété de riz à différents niveaux de résistance à la pyriculariose peut aussi permettre de réduire la vulnérabilité des cultures et d'augmenter le rendement (Li *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2000) . Les mêmes résultats peuvent être trouvés dans d'autres cultures tels que le blé (Finckh *et al.*, 2000). Implicitement la diminution des pressions des maladies et des ravageurs diminue les pertes de

rendement. Combinés avec les avantages liés aux contraintes abiotiques, les mélanges permettent d'optimiser la performance globale des cultures. Ils permettent d'améliorer la stabilité de la production pour une productivité durable due à une résistance ou à une résilience (Creissen *et al.*, 2013; Smithson and Lenné, 1996). La résistance permet de maintenir une production stable sous des conditions variables (Hooper *et al.*, 2005; Tilman *et al.*, 1997) tandis que la résilience est la capacité du système à revenir à son état initial après une perturbation (Becker *et al.*, 2023). Ces bénéfices sont soutenus par des processus écologiques essentiels qui expliquent les faits.

3. Processus écologiques impliqués dans les mélanges variétaux

Les deux avantages agronomiques des mélanges variétaux les plus connus sont l'amélioration de la production et la résistance aux maladies. Ces avantages essentiels sont soutenus par des processus écologiques liés aux interactions entre les variétés associées ou les interactions plante-plante (IPP).

3.1. Les interactions entre des variétés mélangées selon leurs traits phénotypiques

Chaque variété est caractérisée par leurs traits phénotypiques qui peuvent être des traits des organes aériens ou racinaires. Ces traits induisent la capacité de la variété à recourir aux ressources lumineuses aériennes ou aux ressources nutritives souterraines (Fort *et al.*, 2014). Ces traits impactent aussi leur capacité photosynthétique en allant jusqu'à leur capacité reproductive (Richards, 2000). Les traits génotypiques quant à eux peuvent aussi induire des différences sur les traits phénotypiques, mais surtout définissent la capacité d'une variété à se défendre contre les contraintes du milieu (Biscarini *et al.*, 2016; Hoeber *et al.*, 2018). Selon Mahaut *et al.* (2023), la représentation de différentes variétés sur un espace multidimensionnel permet d'apprécier les "traits distinctifs" de chaque variété où on peut voir des plantes ou variétés excentriques (Figure1.a). Les différences existantes entre deux variétés différentes peuvent être appelées "trait distance" ou distance entre traits (Figure1.a). Ces distances peuvent être relatives (trait x de la variété A- trait x de la variété B) où on pose une hypothèse qu'il y a une compétition selon les hiérarchies des traits. Ces distances peuvent aussi être absolues ($|\text{trait x de la variété A} - \text{trait x de la variété B}|$) où on pose l'hypothèse qu'il y aura une compétition selon des traits divergents (Figure1.b).

Selon les traits phénotypiques des plantes associées ou les distances entre ces traits, les IPP peuvent être symétriques ou asymétriques (Figure1.b). Dans le cas d'une interaction asymétrique, les performances des variétés A et B en interaction peuvent différer. Une variété peut être plus performante en association avec une autre variété qu'en étant seule. Dans notre

exemple, on peut considérer que la variété A est plus performante lorsqu'elle est associée avec la variété B par rapport à son peuplement pur. Cependant, la variété B peut être moins performante en présence de la variété A qu'en étant seule. Autrement dit, les performances ne vont pas dans le même sens pour les deux variétés, créant un scénario gagnant>perdant pour l'une et perdant>gagnant pour l'autre (Figure1.b). Dans le cas d'une interaction symétrique, lorsque les variétés présentent des valeurs de traits différentes, leurs performances collectives augmentent lorsqu'elles poussent ensemble, comparé à ce qui serait attendu si elles étaient cultivées individuellement en peuplements purs. En d'autres termes, la performance des mélanges va dans le sens d'une amélioration globale ou d'une décroissance globale lorsque les plantes coexistent avec des traits divergents (Figure1.b).

Les effets attendus sur les performances des variétés concurrentes dépendent de la nature des interactions existantes entre elles (asymétrique ou symétrique) (Figure1.c). Dans une IPP asymétrique, la variété la plus forte gagne plus de biomasse que la variété avec une plus faible en production de biomasse lorsqu'elles sont associées (scénario gagnant>perdant) ou vice versa, la variété la plus forte va perdre en biomasse en mélange avec une variété plus faible en production de biomasse (scénario perdant>gagnant) (Figure1.c). Dans une IPP symétrique, les performances des variétés peuvent être gagnant-gagnant ou perdant-perdant en fonction de l'intensité des interactions compétitives. Les effets attendus sur la performance du mélange dépendent enfin des précédentes performances des variétés concurrentes (Figure1.d). Dans le cas d'une IPP asymétrique, le caractère distinctif des traits ou le "trait distinctif" reflète la hiérarchie des traits au niveau du groupe. Dans un scénario gagnant>perdant, la présence d'une variété ayant un trait distinctif élevé favorise la performance du mélange, tandis que dans le scénario perdant>gagnant, cela réduit la performance du mélange. Dans le cas d'une IPP symétrique, la performance du mélange augmente avec la dissimilarité des traits entre les variétés associées (Figure1.d).

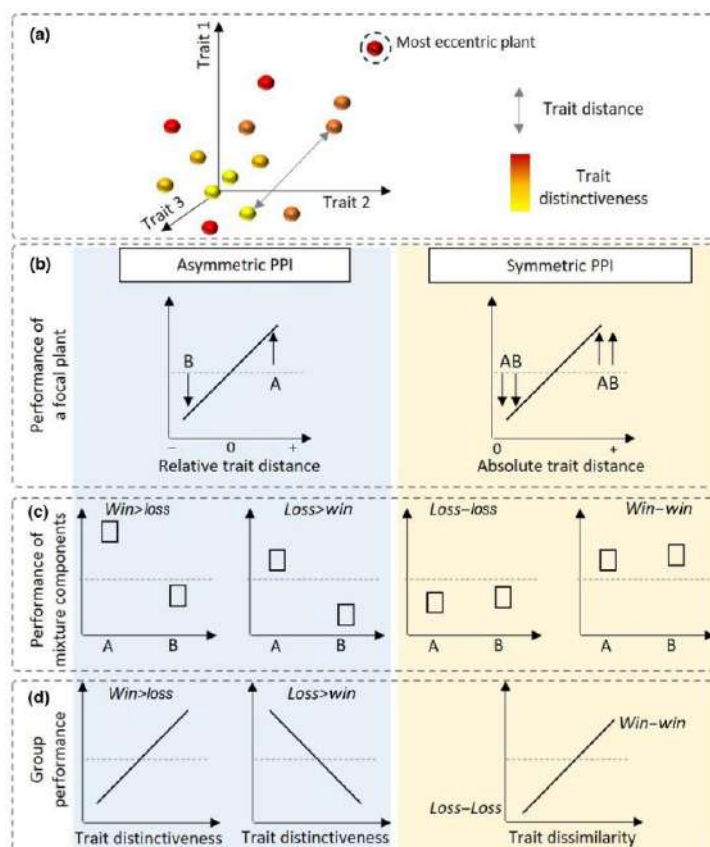


Figure 1 : Cadre analytique représentant les interactions plante-plante (IPP) à partir des “traits distinctifs” et des distances entre les traits ou “traits distance” entre des variétés associées (Mahaut, 2023)

3.2.Mécanismes écologiques sous-jacents aux interactions plante-plante (IPP)

Les interactions entre les plantes peuvent être des interactions symétriques ou asymétriques. Dans un scénario gagnant-gagnant lors d’une interaction symétrique, les avantages sont issus de la dissimilarité des traits ou plus précisément des différences de niche qui donnent lieu à une complémentarité fonctionnelle (Wuest *et al.*, 2021). La complémentarité se produit lorsque les variétés utilisent des ressources différentes et complémentaires, permettant ainsi une utilisation plus efficace des ressources et une augmentation de la production globale (Cardinale *et al.*, 2007). Cependant, les dimensions décisives de la complémentarité des niches dans les expériences de biodiversité écologique et des mélanges de variétés de cultures ne sont pas bien comprises, malgré des décennies de recherche (Montazeaud *et al.*, 2020a; van der Plas, 2019), toutefois trois effets semblent importants. Premièrement, les espèces peuvent utiliser différentes ressources abiotiques et augmenter ainsi le pool de ressources global disponible pour la communauté. Par exemple, les plantes peuvent acquérir l’azote du sol à différentes profondeurs et à différents moments (Zhang *et al.*, 2017) sous différentes formes ou à différentes concentrations (Griffiths and York, 2020) . Une plus grande acquisition d’azote au niveau de la communauté favorisera alors un rendement plus élevé du mélange. Deuxièmement, et en

relation avec le point précédent, les variétés complémentaires subiront moins de concurrence de la part des voisines dont les besoins en ressources diffèrent, ce qui leur permettra de réorienter l'allocation des ressources de la concurrence vers le rendement. Troisièmement, la complémentarité dans les interactions biotiques peut réduire la pression exercée par les ennemis tels que les pathogènes (ou les ravageurs) si ceux-ci sont spécialisés et si leur propagation dépend fortement de la densité de l'hôte (Maron *et al.*, 2011; Mikaberidze *et al.*, 2015). Inversement, des associations complémentaires avec des mutualistes peuvent améliorer le fonctionnement des cultures grâce à une niche communautaire plus large (Wright *et al.*, 2017), pour des raisons similaires à celles évoquées au premier point.

Dans le cas des interactions asymétriques ou symétriques bénéfiques pour une variété ou pour l'ensemble des mélanges, des interactions positives telles que la facilitation et la compensation peuvent avoir lieu à part la complémentarité (Olofsson, 2004). La compensation se produit lorsque des variétés plus productives compensent l'incapacité des variétés moins productives, ce qui conduit à une augmentation du rendement total (scénario gagnant>perdant ou gagnant-gagnant) (Creissen *et al.*, 2013). La facilitation se produit lorsqu'une variété crée un environnement favorable pour une autre variété, ce qui améliore la croissance et la productivité de l'ensemble du mélange en raison des interactions bénéfiques entre les variétés (scénario gagnant>perdant ou gagnant-gagnant) (Fréville *et al.*, 2022; Hector *et al.*, 2010). Ces interactions peuvent assurer une stabilité de la productivité voire une augmentation si les conditions sont favorables (Cardinale *et al.*, 2007, 2002).

Dans le cas des IPP asymétriques avec un scénario perdant>gagnant ou une IPP symétrique perdant-perdant, les interactions entre les variétés sont plutôt des interactions négatives impactant négativement la productivité du mélange en question (Bertness and Callaway, 1994; Mahaut *et al.*, 2023). Les interactions négatives peuvent se manifester sous la forme de compétition et d'allélopathie. La compétition se produit lorsque des variétés performantes entrent en concurrence et désavantagent d'autres variétés pour l'accès à une ressource spécifique (scénario perdant>gagnant). Dans le cas où les différences de traits entre les variétés sont très importantes, la variété à trait plus développé défavorise les autres, impactant en même temps sa capacité (scénario perdant-perdant). L'allélopathie, quant à elle, est un mécanisme chimique qui confère un avantage aux plantes à se développer dans la compétition pour des ressources limitées (scénario perdant>gagnant). Ces deux mécanismes peuvent produire des effets contraires à ceux attendus des mélanges variétaux, ce qui peut conduire à des monocultures des variétés dominantes plus productives que lorsqu'elles sont mélangées avec d'autres ou des mélanges moins productifs que les cultures en pures de ces composantes.

3.3.Mécanismes écologiques impliqués dans la résistance aux maladies

L'utilisation de mélanges variétaux en agriculture a été démontrée comme améliorant la résistance aux maladies et réduisant la pression des ravageurs, en plus de stabiliser ou augmenter le rendement. Ces avantages sont souvent attribués à la diversité des mécanismes de défense présents dans les mélanges variétaux. L'un des mécanismes importants est l'effet de barrière, où des espèces végétales agissent comme une barrière physique empêchant les ravageurs ou les maladies d'atteindre d'autres plantes sensibles dans le mélange (Figure2.B). Ce mécanisme a été observé dans divers mélanges de cultures, tels que le riz, le blé et le maïs (Finckh *et al.*, 2000; Gaba *et al.*, 2015), et il est couramment observé sur le terrain.

La diversité génétique des plantes dans les mélanges de cultures induit des effets de dilution et de compensation, contribuant ainsi à réduire la pression des maladies et des ravageurs. L'effet de dilution (Figure2.A). se produit lorsque l'augmentation de la diversité génétique des plantes dans un mélange réduit la population d'agents pathogènes, diminuant ainsi la sévérité globale de la maladie (Cowger and Mundt, 2002; Raboin *et al.*, 2012). L'effet de compensation (Figure2.E) se produit lorsqu'une plante moins sensible dans un mélange compense la perte de rendement d'une plante sensible due aux dommages causés par des ravageurs ou des maladies (Raveloson *et al.*, 2017). La résistance perturbatrice ou sélection disruptive (Figure2.D) est un autre mécanisme utilisé pour réduire la pression des ravageurs dans les mélanges variétaux. Elle implique l'utilisation d'un mélange contenant à la fois des génotypes résistants et sensibles, ce qui perturbe le cycle de vie des ravageurs et réduit leur pression sur la culture. Par exemple, une étude sur les mélanges de blé a montré que la présence de variétés de blé à la fois résistantes et sensibles peut réduire la gravité de la fusariose, une maladie causée par un champignon du groupe *Fusarium* spp. (Zhu *et al.*, 2000) . La résistance induite, également appelée effet de prémunition (Figure2.C), fait référence à l'activation des mécanismes de défense des plantes lorsqu'elles sont exposées à des facteurs de stress biotiques ou abiotiques. Ce mécanisme implique la libération de signaux chimiques qui déclenchent la synthèse de composés de défense. Les défenses induites ont été observées dans plusieurs mélanges de cultures, notamment les mélanges de tomate-poivron, où l'exposition du poivron à l'herbivorie a induit la production de composés défensifs qui ont protégé les plants de tomate présents dans le mélange (Sester *et al.*, 2008).

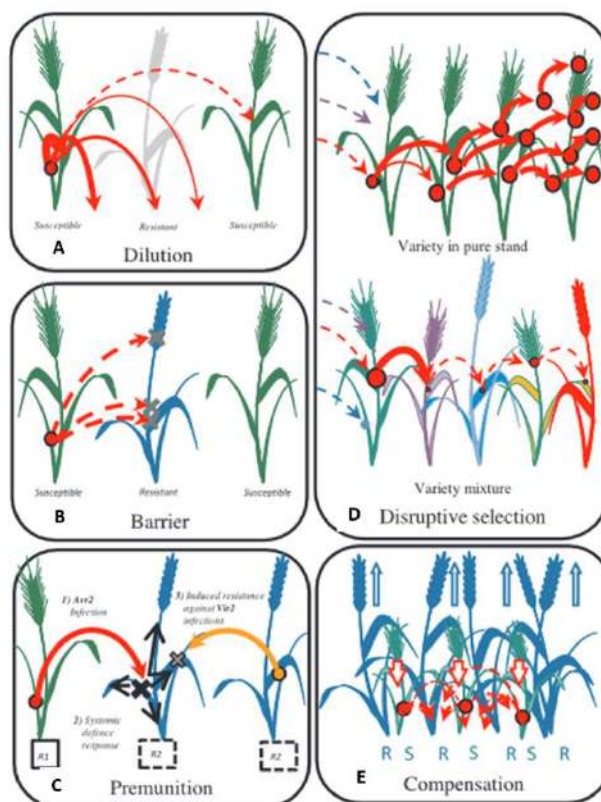


Figure 2 : Les mécanismes écologiques impliqués dans la résistance aux maladies dans les mélanges variétaux (Borg *et al.*, 2018)

Les mécanismes écologiques impliqués dans la résistance aux maladies dans les mélanges peuvent également affecter la croissance et le rendement. Les interactions positives, telles que la facilitation, peuvent améliorer la productivité des cultures et leur résistance aux stress biotiques et abiotiques. En revanche, les interactions négatives, comme la concurrence ou l'allélopathie, peuvent entraîner une diminution de la productivité des cultures (Pélissier *et al.*, 2021a, 2021b) . L'allélopathie dans le mécanisme de défense se réfère à la libération de composés chimiques par une plante qui va inhiber la croissance ou le développement d'autres plantes. Ce mécanisme peut constituer une défense efficace contre les mauvaises herbes en réduisant la concurrence pour les ressources. Par exemple, une étude sur les mélanges de blé et d'orge a montré que l'allélopathie de l'orge pouvait supprimer la croissance des mauvaises herbes dans le mélange, conduisant ainsi à des rendements plus élevés (Chuwa, 2016) .

Il est important de noter que l'efficacité des mélanges variétaux peut varier en fonction des conditions locales et des cultures spécifiques. Une étude menée par Bellouin *et al.* (2021) souligne que les mélanges variétaux peuvent présenter des avantages en termes de rendement pour certaines cultures, mais pas pour d'autres. Il est donc essentiel de prendre en compte les facteurs locaux et les caractéristiques propres à chaque culture avant de décider d'utiliser cette méthode. Ces mécanismes écologiques qui influencent la stabilité des rendements, la résistance

aux maladies et la résilience des cultures doivent être pris en compte dans les stratégies de gestion et d'utilisation des mélanges de variétés de riz pluvial.

4. Mise en œuvre des mélanges variétaux

4.1. Les facteurs qui conditionnent les interactions entre les variétés

La performance des mélanges variétaux peut être influencée par plusieurs facteurs, dont certains revêtent une importance plus significative que d'autres. Des facteurs sont techniques, c'est-à-dire des facteurs qui peuvent être gérés tandis que d'autres sont des facteurs environnementaux auxquels on doit faire face.

4.1.1. Les facteurs techniques

Les facteurs techniques concernent tout d'abord les pratiques de gestion, telles que la fertilisation, l'irrigation et la lutte contre les mauvaises herbes. Ces pratiques peuvent avoir un impact significatif sur les performances des mélanges variétaux notamment des impacts négatifs ou positifs (Eggermont *et al.*, 2015; Lazzaro *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2016). Des pratiques de gestion appropriées peuvent favoriser la croissance des plantes, améliorant ainsi son rendement ; tandis que des pratiques inappropriées peuvent les compromettre (Lazzaro *et al.*, 2018) . La fertilisation azotée, par exemple, est cruciale pour garantir des rendements optimaux, mais une surutilisation peut perturber la concurrence entre les variétés (Inthapanya *et al.*, 2000; Rakotoson *et al.*, 2021). De même, une irrigation adéquate et une gestion des mauvaises herbes sont nécessaires pour maximiser la croissance et la productivité des cultures (Wang *et al.*, 2016). Cependant, ces pratiques doivent être adaptées en fonction du mélange spécifique de variétés, des conditions environnementales et des objectifs de l'étude. Les mélanges variétaux se révèlent particulièrement bénéfiques dans des conditions de stress telles que la faible fertilisation, l'irrigation limitée ou la pression des ravageurs (Hoeber *et al.*, 2018; Østergård *et al.*, 2009).

4.1.2. Les facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux sont liés aux conditions agroécologiques du milieu ainsi qu'aux contraintes biotiques du milieu. Ils ont un rôle significatif dans la performance des mélanges variétaux (Le Roux *et al.*, 2013). La sélection de variétés adaptées aux conditions spécifiques, telles que le type de sol, la température et l'humidité, peut améliorer les performances globales (Radanielina *et al.*, 2013a). La composition variétale et la densité des mélanges peuvent également affecter les performances. Une diversité génétique accrue favorise une résistance renforcée aux maladies et une lutte plus efficace contre les ravageurs (Cardinale *et al.*, 2007; Hector *et al.*, 2010; Raboin *et al.*, 2012). Les variétés présentant des caractéristiques

fonctionnelles différentes sont souvent complémentaires et peuvent s'enrichir mutuellement, améliorant ainsi l'utilisation efficace des ressources (Mahaut *et al.*, 2020; Montazeaud *et al.*, 2018; Prieto *et al.*, 2015). Cependant, une diversité génétique accrue peut également entraîner des différences de performance entre les variétés, créant une compétition après un trade-off croissance-défense (Fréville *et al.*, 2022). La densité de semis et la proportion des espèces au sein des mélanges sont également des facteurs importants à considérer (Huang *et al.*, 2013; Marquard *et al.*, 2009). Les recherches indiquent que les mélanges comportant plus d'espèces et une proportion égale d'espèces tendent à présenter de meilleurs résultats que ceux avec moins d'espèces ou une proportion inégale (Marquard *et al.*, 2009). Cependant, il est crucial de déterminer la densité de semis optimale pour chaque variété afin d'améliorer les performances du mélange. En outre, il est essentiel de considérer les interactions potentielles entre les variétés et les conditions environnementales lors de la sélection et de la gestion des mélanges variétaux (Le Roux *et al.*, 2013). La gestion adaptée aux besoins spécifiques du mélange variétal et des conditions environnementales est nécessaire pour maximiser les rendements et relever les défis associés à la culture de mélanges variétaux de riz pluvial (Naeem *et al.*, 2012).

4.2.Défis et gestion des mélanges variétaux :

4.2.1. Défis techniques

La gestion des mélanges de variétés de riz pluvial nécessite une sélection minutieuse des variétés, en tenant compte de la complémentarité des caractéristiques et des profils de résistance (Hoeber *et al.*, 2018; Lazzaro *et al.*, 2018; Wuest *et al.*, 2021). Des pratiques telles que la densité de semis, la fertilisation, la gestion de l'eau et des mauvaises herbes sont cruciales pour assurer des rendements optimaux (Tóth *et al.*, 2019). Cependant, leur adoption à grande échelle est entravée par plusieurs défis, notamment le besoin de diversité génétique et d'accès à une gamme variée de semences (Kopp *et al.*, 2023; Wuest *et al.*, 2021). Les agriculteurs ont souvent recours à des variétés commerciales uniformes, ce qui peut compromettre la résilience aux stress environnementaux. Pour surmonter ces obstacles, il est essentiel d'identifier et de sélectionner des variétés adaptées, bien que celles-ci ne soient pas toujours facilement accessibles aux agriculteurs, en particulier dans les régions éloignées ou défavorisées en ressources (Ranaivoson *et al.*, 2019).

4.2.2. Défis conceptuels

La gestion des mélanges variétaux de riz pose des défis conceptuels et pratiques. La diversité des caractéristiques des variétés, telles que les taux de croissance et les besoins en nutriments, complique la gestion, notamment en termes de calendrier de semis et de récolte. De plus, les techniques récolte et post-récolte peuvent être plus complexes en raison de la maturité différenciée et des besoins de traitement variés. Sur le plan commercial, la demande du marché et l'acceptation des mélanges variétaux sont incertaines, ce qui peut décourager les agriculteurs. Le manque de soutien politique et institutionnel ajoute également des obstacles à leur adoption généralisée. Globalement, la gestion des mélanges requiert une approche holistique, adaptée aux conditions locales.

5. Méthodologies d'investigation pour évaluer les performances des mélanges variétaux

Pour évaluer les performances des mélanges variétaux, plusieurs méthodologies sont disponibles, chacune tenant compte de divers facteurs. Une approche consiste à évaluer conjointement les composants des mélanges pour une évaluation complète de leur productivité par rapport aux monocultures. Une autre méthode évalue l'efficacité des mélanges dans la lutte contre les ravageurs et les maladies. À une échelle plus large, des évaluations des avantages économiques et nutritionnels peuvent être entreprises. Il est essentiel de tenir compte de l'hétérogénéité du domaine d'étude, ce qui nécessite une classification des méthodologies d'évaluation à différentes échelles.

5.1.Évaluation des performances des mélanges variétaux à différentes échelles d'analyse

L'évaluation des performances des mélanges variétaux à différentes échelles d'analyse est essentielle pour comprendre leur efficacité dans des contextes variés. À grande échelle, ces évaluations prennent en compte les variations géographiques et environnementales, en examinant comment les mélanges se comportent sur plusieurs sites ou régions agricoles. Elle englobe les domaines nationaux, territoriaux, régionaux ou paysagers, permettant de comprendre l'adaptabilité et la stabilité des mélanges dans différents systèmes agricoles et zones agroécologiques. Elles incluent également une évaluation des avantages économiques et nutritionnels sur des périodes saisonnières ou pluriannuelles. À une échelle plus petite, les évaluations se concentrent sur les parcelles ou les exploitations agricoles, mesurant les performances des mélanges variétaux sur une surface définie tout en prenant en compte les impacts socio-économiques de leur application. Enfin, à l'échelle individuelle, l'évaluation se focalise sur le comportement de chaque plante individuelle, visant à comprendre les interactions

génétiques pour optimiser les combinaisons variétales. Ces évaluations sont menées à l'échelle des essais sous conditions contrôlées pour comprendre la base génétique de la performance des mélanges.

5.2.Approches pour l'évaluation des performances des mélanges variétaux

Les approches pour évaluer les performances des mélanges variétaux se déclinent à différentes échelles. À grande échelle, elles impliquent la collecte de données sur plusieurs sites ou régions agricoles, en tenant compte des différentes conditions environnementales, les données climatiques, les caractéristiques du sol et des pratiques de gestion. Ces évaluations utilisent des techniques de modélisation statistique pour analyser les performances des mélanges variétaux et identifient les tendances, contribuant ainsi à l'élaboration de stratégies d'aménagement du territoire et de conservation.

Les évaluations à petite échelle, menées au niveau des parcelles, comprennent des essais expérimentaux sur le terrain, comparant les mélanges à des monocultures ou à des références spécifiques. Les approches à petite échelle incluent des méthodes de sélection basées sur les traits 'trait-based approach' ou des approches plus participatives, impliquant les observations des agriculteurs aussi appelé 'co-evolutionary breeding' ou enfin des approches sans traits aussi appelé 'trait-blind'. Ces différentes approches fournissent des informations pratiques sur les performances et l'adéquation des mélanges variétaux dans des conditions agricoles réalistes.

Enfin, les évaluations au niveau de la plante utilisent des analyses génétiques, des flux génétiques ou des analyses des interactions plantes-plantes pour mieux comprendre les performances des mélanges variétaux et optimiser les combinaisons variétales en fonction des caractéristiques et des résultats souhaités.

6. Questions encore non résolues dans la littérature et les verrous à lever

6.1.L'identification de règle d'assemblage

La plupart des études sur les mélanges variétaux ne fournissent pas de règles d'assemblage claires pour concevoir des mélanges de variétés, ce qui rend difficile l'identification de mélanges optimaux. Il manque de directives sur la sélection et la combinaison des variétés pour obtenir des avantages spécifiques, ainsi que sur les caractères importants à prendre en compte lors de la conception des mélanges. La question de concevoir des règles d'assemblages pertinentes et efficaces reste sans réponse, notamment en ce qui concerne les combinaisons et les proportions appropriées des variétés, l'identification des caractères importants, et le

développement d'outils prédictifs efficaces pour évaluer la performance des mélanges de variétés.

6.1.1. Règle d'assemblage pour des mélanges efficaces et/ou performants ?

Le mélange idéal serait un mélange qui sera productif, résistant aux différentes contraintes et efficace dans l'utilisation de ressource à long terme pour la stabilité de sa production. Tout ceci nécessite la compréhension des mécanismes écologiques sous-jacents qui régissent les interactions entre les espèces ainsi que la dynamique des communautés (Barot *et al.*, 2017). L'utilisation de la théorie écologique et évolutive combinée à des données empiriques est donc nécessaire. Ceci indique la complexité de la tâche afin d'avoir une prédiction de performance. La première étape sera la compréhension de la manière dont les différentes variétés interagissent entre elles et comment elles contribuent au fonctionnement de l'écosystème (Furey and Tilman, 2023). Ensuite, d'identifier les espèces susceptibles de coexister ou cohabiter ensemble pour former les mélanges. Cette identification peut s'accompagner d'une stratégie de sélection de variété par les sélectionneurs habituels. Cette approche va permettre d'identifier des assemblages qui vont améliorer la productivité des cultures et/ou leur résistance à une contrainte ou maladie donnée. Elle rassemble ainsi les principes de l'approche « trait-blind » et « co-evolutionary breeding ». Une méthode de classification à posteriori est aussi possible d'avoir les mêmes rendus comme l'utilisation du modèle fonctionnel de Jaillard qui sera développé dans la première partie de la thèse. La dernière étape est la compréhension des comportements des variétés selon l'évolution des conditions environnementales, telles que le changement climatique et aussi les changements dans l'utilisation des terres (IPPC, 2017). Cette dernière étape permettra de vérifier la stabilité des résultats au fil du temps.

6.1.2. Règle d'assemblage basée sur une diversité génétique et fonctionnelle pour une complémentarité ?

Le principe de complémentarité est toujours mis en avant dans les conceptions des mélanges variétaux. Souvent la théorie implique qu'il faut sélectionner des variétés avec des traits complémentaires pour bénéficier des effets de la complémentarité de niche (Montazeaud *et al.*, 2020b). La littérature propose d'instaurer une diversité génétique afin de bénéficier cet effet de complémentarité. Mais bien que de nombreuses études se sont concentrées sur la diversité génétique afin de lutter contre les maladies ou améliorer la productivité, moins d'attention a été accordée à la diversité pour d'autres caractéristiques ou traits des plantes. Ces caractéristiques sont souvent utilisées pour expliquer les performances observées (approche à posteriori). Or que chaque plante a ses caractères distinctifs selon ses traits fonctionnels qui peuvent influencer les interactions plante-plante (IPP) (Mahaut *et al.*, 2023). A leur tour, ces IPP impactent

fortement les performances des mélanges selon le type de compétition qui régissent au sein des plantes en association. Si des compétitions symétriques sont attendus au bénéfice des mélanges, des concurrences asymétriques sont courants dans certains cas (Mahaut *et al.*, 2023). La prise en compte de la variabilité intraspécifique est un point clé à considérer dans la conception des règles d'assemblages vu les effets différés et avoir plus de prédiction sur les performances attendues (approche à priori). Il n'y a pas encore de réponse consensuelle à cette question. A part les traits, la nature des IPP peuvent être multiformes ce qui nécessite la prise en compte du contexte environnemental et de comprendre les relations avec les traits.

6.2.Exploration des interactions complexes dans les mélanges variétaux

La conception de règles d'assemblage pour les mélanges variétaux est entravée par un manque de compréhension des mécanismes écologiques sous-jacents et des interactions complexes associées. Bien que certaines études aient commencé à explorer certains mécanismes liés aux effets des mélanges variétaux, il reste encore beaucoup à découvrir. Les lacunes actuelles concernent notamment les liens entre les caractères des variétés et d'autres services écosystémiques au-delà de la production de grains ou de la résistance aux maladies. Les mélanges variétaux peuvent influencer la qualité des grains, l'utilisation de l'eau et des nutriments, le contrôle des mauvaises herbes et des ravageurs, ainsi que les interactions avec les communautés du sol. Peu d'études ont examiné comment la diversité des mélanges variétaux affecte la dynamique des populations d'insectes et de leurs prédateurs. Une meilleure compréhension des mécanismes physiologiques et écologiques, comme la facilitation, la complémentarité, la compensation et la concurrence, est nécessaire. Ces interactions influencent les interactions plante-insecte, la compétition entre plantes et la disponibilité des ressources, impactant ainsi la performance des mélanges variétaux. Enfin, il est crucial de comprendre comment les caractéristiques des variétés interagissent pour fournir des services écosystémiques. Rechercher les liens de causalité entre les combinaisons de caractères et les mécanismes écologiques bénéfiques est essentiel pour améliorer la conception et l'application des mélanges variétaux.

6.3.Un aperçu sur les aspects techniques à explorer

De nombreuses questions techniques restent à explorer concernant les mélanges variétaux. Il est essentiel de comprendre les synergies entre la sélection de variétés monoculturelles et le développement de mélanges, afin d'exploiter pleinement la diversité génétique fonctionnelle. Un défi majeur est la gestion du nombre considérable de combinaisons de variétés à tester. Il est nécessaire de développer des stratégies simples pour réduire le nombre de combinaisons à évaluer. Une autre difficulté technique est la séparation des variétés après la récolte pour des

mesures et analyses individuelles, nécessitant des méthodes plus efficaces. Les caractéristiques individuelles des variétés au sein des mélanges sont souvent négligées, bien qu'elles soient cruciales pour identifier les combinaisons de caractères fournissant des services spécifiques. Enfin, les expériences en conditions réelles sont rares mais indispensables pour comprendre et prédire les performances des mélanges dans des contextes variés.

6.4.Au-delà des limitations actuelles vers une gestion éclairée

La recherche antérieure a souvent utilisé des variétés dominantes, limitant la variabilité génétique dans les mélanges. Pour maximiser les avantages, il est nécessaire d'explorer une plus grande diversité de caractères et de variétés, ce qui améliorerait la résilience des cultures face aux changements environnementaux. La plupart des recherches se concentrent sur les céréales, laissant un manque de connaissances sur les mélanges variétaux dans d'autres systèmes de culture, comme les cultures légumières annuelles. Explorer ces contextes pourrait améliorer la durabilité et la performance des agroécosystèmes. Les conditions optimales pour bénéficier des services fournis par les mélanges variétaux restent floues. Il est crucial de déterminer les circonstances spécifiques dans lesquelles les mélanges sont les plus bénéfiques pour permettre aux agriculteurs de maximiser les avantages en fonction des conditions locales. Enfin, il est essentiel de comparer la diversité végétale interspécifique et intraspécifique pour mieux comprendre leur impact relatif sur les processus écologiques en agriculture et ainsi élargir les options de gestion pour les producteurs.

7. Schéma conceptuel de la thèse et les expérimentations réalisées

7.1.Schéma conceptuel de la thèse

Le titre de la thèse, "Évaluation de la pertinence des mélanges variétaux de riz pluvial (*oryza sativa*) pour l'optimisation du rendement et la résistance aux contraintes du milieu", met en évidence la nécessité d'explorer les mélanges variétaux dans le contexte spécifique de la culture du riz pluvial à Madagascar. La question de recherche centrale, porte sur l'évaluation de l'efficacité des mélanges variétaux dans des conditions réelles sur le terrain. La justification de cette question de recherche découle de plusieurs constats importants. Tout d'abord, il est relevé que les pratiques agricoles visant à instaurer une diversité dans les champs ont été largement étudiées dans divers contextes, tels que la rotation des cultures, l'agroforesterie, la culture de couverture, et l'association de culture. Cependant, il est noté qu'il y a eu peu de justifications concernant les mélanges variétaux, malgré leur potentiel pour améliorer le rendement et la résistance aux contraintes du milieu. De plus, il est souligné que les études antérieures se sont principalement concentrées sur la production et la résistance à la maladie, avec des résultats

souvent issus de travaux en écologie. Ces résultats ont montré une augmentation modeste du rendement et une réduction variable de la maladie, mais sans forcément répondre aux préoccupations principales des agriculteurs. En effet, l'accent est mis sur les besoins concrets des agriculteurs, qui sont davantage intéressés par la manière de choisir les variétés à mélanger, d'optimiser les résultats sur le terrain, et de mettre en place des pratiques adaptées et des conditions adéquates.

Nous avons identifié trois sous-thèmes principaux pour évaluer les mélanges variétaux de riz pluvial. Le premier sous-thème porte sur une évaluation un modèle fonctionnel en tenant compte des diversités phénotypiques, le deuxième sous-thème vise à évaluer différents agencements spatiaux sous deux conditions agroécologiques ou deux modes de fertilisation différents, et enfin, le troisième sous-thème sur une évaluation à long terme des mélanges variétaux avec des variétés rustiques, c'est-à-dire en condition hors maladie. Ces sous-thèmes sont conçus pour répondre à la question de recherche principale et pour combler les lacunes existantes dans la littérature scientifique. Chaque sous-thème répond à des questions de recherche spécifiques (QR dans la Figure 3). Les sous-objectifs testés dans chaque question de recherche sont notés dans la Figure 3 et dont l'objectif final de la thèse est de concevoir un règle d'assemblage afin de répondre aux besoins concrets des agriculteurs.

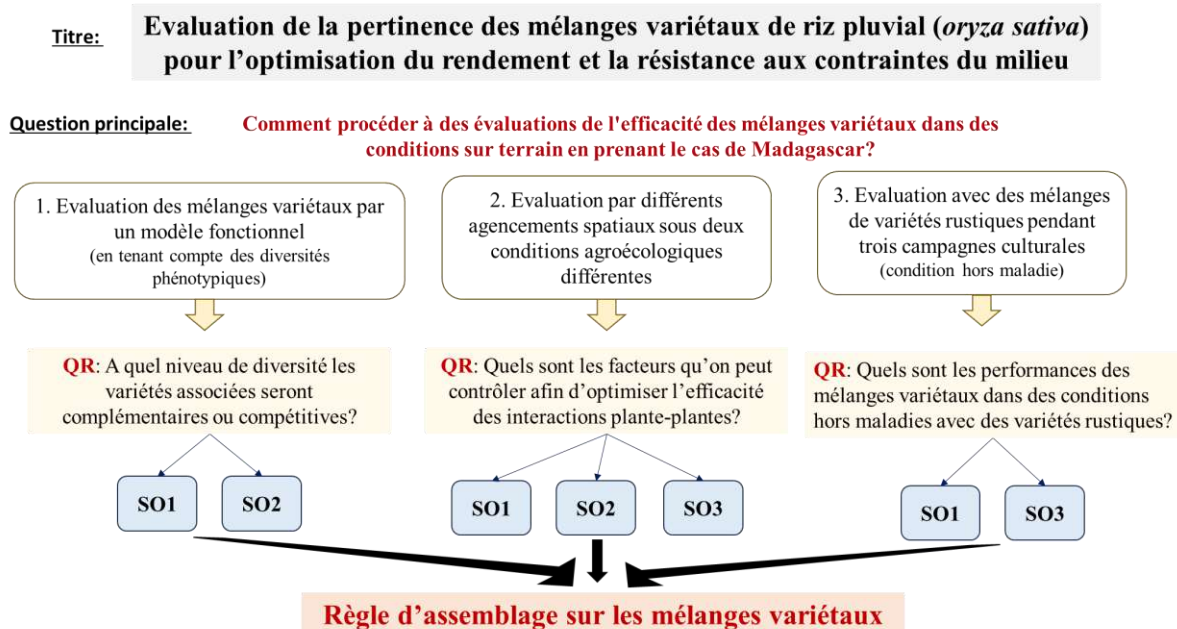


Figure 3 : Schéma conceptuel de la thèse et objectif général

7.2.Description des différents études et expérimentations réalisées

A part ce premier chapitre qui illustre l'état de connaissance sur les mélanges variétaux, trois expérimentations différentes constituent les chapitres suivantes. Le second chapitre porte sur un modèle fonctionnel sur les performances des mélanges. Différents modalités de mélanges sous différentes conditions agroécologiques sont présentés dans le troisième chapitre. Le quatrième et dernier chapitre fait l'objet d'une évaluation à long terme des mélanges variétaux.

Etude 1 : Evaluation des mélanges variétaux par un modèle fonctionnel

Il s'agit d'une première expérimentation à Ankazomiriotra avec 10 variétés de riz pluvial. Ce chapitre illustre l'introduction d'une diversité au champ avec les 10 variétés de riz pluvial. De ces dix variétés, 45 assemblages sont réalisés. Le deuxième chapitre permet donc d'évaluer les performances de ces mélanges en production et à la résistance à la maladie. A part l'évaluation globale, le package R FunctClust a été utilisé afin d'identifier les assemblages performants en production et en résistance à la maladie. Les deux premiers sous objectifs ont été testés. La question de recherche centrale porte sur le niveau de complémentarité ou de compétitivité des variétés associées, ainsi que sur l'impact des complémentarités des niches sur les performances des mélanges.

Etude 2 : Evaluation par différents agencements spatiaux sous deux conditions agroécologiques différentes

Cette étude concerne la deuxième expérimentation de la thèse (chapitre 3). Les quatre variétés les plus contrastées du deuxième chapitre ont été identifiées afin de tester les effets de leur mélange sur différents agencements et densités et surtout avec deux conditions agronomiques différentes (niveau de fertilisation). Toutes les contraintes environnementales sont prises en compte dans ce chapitre : maladies (pyriculariose, BLB), mauvaises herbes, sol. Ce chapitre tend à définir l'organisation spatiale la plus adéquate ainsi que les variétés idéales à associer face à toutes ces contraintes. Tous les sous objectifs ont été testés. L'évaluation vise à répondre à la question de recherche sur les facteurs contrôlables pour optimiser les interactions plante-plante, ainsi que sur l'évaluation des différents modes de fertilisation.

Etude 3 : Evaluation avec des mélanges de variétés locales pendant trois campagnes culturales

Cette étude dans le chapitre 4 décrit différentes expérimentations sur les mélanges variétaux de riz pluvial pendant trois campagnes culturales de 2013 à 2016. Quatre variétés élités des paysans ont fait l'objet de l'étude et la production en grain pendant ces trois campagnes a été évaluée. Le troisième sous objectif a été testé. La question de recherche se focalise sur les performances des mélanges variétaux dans des conditions hors maladies avec des variétés rustiques

CHAPITRE II :

Evaluation des mélanges variétaux par un modèle fonctionnel

Ce deuxième chapitre présente une étude qui vise à déterminer si les mélanges variétaux d'une même espèce peuvent améliorer les rendements et la résistance des cultures aux maladies en utilisant une modélisation statistique FunctClust. La synthèse des différentes parties de ce chapitre est présenté ci-après.

Introduction

La monoculture est souvent utilisée dans les systèmes agricoles modernes pour avoir des rendements élevés (Balasubramanian *et al.*, 2007). Néanmoins, cette pratique peut favoriser l'émergence de populations pathogènes résistantes, conduisant à des pertes de récoltes (Papy&Goldringer, 2011). De plus, les agriculteurs pratiquant une agriculture de subsistance n'ont souvent pas accès à des intrants externes comme les engrais et les pesticides (Gerardeaux *et al.*, 2012). La mise en œuvre de solutions inspirées de la nature basées sur les connaissances écologiques peut être une solution efficace pour améliorer la multifonctionnalité des cultures. La diversification des cultures est souvent proposée comme solution pour améliorer leur résilience face à un monde en constante évolution (Altieri, 1989; Altieri *et al.*, 2012). Cette stratégie est d'autant plus importante dans certaines régions du monde où les changements climatiques ont un impact direct sur la performance des systèmes de culture, ainsi qu'indirects par l'augmentation de la pression des ravageurs et des maladies (Dumont *et al.*, 2021). En effet, la diversité dans les écosystèmes agricoles peut maximiser les services écosystémiques, notamment en limitant les pertes de récoltes dues aux maladies et aux ravageurs (Dhanda *et al.*, 2022; Timsina and Connor, 2001). Il existe deux méthodes pour augmenter la diversité spécifique dans les champs: la première consiste à associer différentes espèces, augmentant ainsi la diversité interspécifique, et la deuxième consiste à mélanger différents génotypes d'une même espèce, augmentant ainsi la diversité intraspécifique (Litrico and Violle, 2015). La diversité intraspécifique ou mélange de variété a été utilisée dans cette étude étant donné qu'elle présente l'avantage d'avoir moins de variabilité phénologique, la durée du cycle cultural étant à peu près la même, toutes les récoltes peuvent se faire en une fois. La résistance aux maladies peut être modifiée en réponse aux interactions plante-plante de même génotype. L'utilisation de mélanges de variétés peut contribuer ainsi à maximiser plusieurs objectifs agronomiques simultanément, même si les avantages de la diversité intraspécifique sur la multifonctionnalité des cultures restent à démontrer (Kiær *et al.*, 2012; Vidal *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2000).

Dans cette étude, nous avons cultivé dix variétés de riz pluvial en culture pure en effectuant toutes les combinaisons binaires (mélanges) au champ, dans des conditions de culture traditionnelles. Le but de cette étude est de déterminer si la diversification des cultures peut

aider à optimiser la multifonctionnalité des cultures et de savoir comment cette diversification peut être mise en place. Pour ce faire, les performances agronomiques des mélanges variétaux de riz pluvial ont été évaluées dans un premier temps, la production en rendements en grain et rendement en biomasse, en second lieu, la résistance à la maladie pyriculariose (*Pyricularia oryzae*). Des associations composées de variétés présentant deux niveaux de résistance (sensible et semi-sensible) ont été utilisées. Notons que les avantages des mélanges interspécifiques et intraspécifiques sont confirmés par de nombreuses études, alors que les règles d'assemblage pour la conception d'un mélange génotypique multifonctionnel ne sont toujours pas identifiées. L'objectif final de cette étude est donc de chercher à déterminer si différentes règles d'assemblages génétiques peuvent être fournies à partir des différentes fonctions testées qui sont la productivité et la résistance aux maladies). Les hypothèses suivantes ont été formulées : (i) Les mélanges variétaux améliorent la performance agronomique des cultures, objet du premier sous-objectif « Améliorer les performances agronomiques globales (potentiel de rendement) ». (ii) La présence d'une variété performante permet d'atténuer les effets de différents stress environnementaux sur les cultures et de promouvoir les effets attendus des mélanges variétaux. Ceci fait partie du deuxième sous-objectif

Matériels et méthodes

L'expérience a été menée dans le Moyen Ouest de Madagascar dans la région du Vakinankaratra (19°40'00.82"S 46°32'11.49"E) à une altitude de 900-1100 m. Les dix variétés de riz pluvial appartenant au panel *japonica tropical* ont été sélectionnées selon des critères basés sur la diversité phénotypique des racines et leur résistance à la maladie pyriculariose du moins sensible à plus sensible. Les variétés ont été associées donnant un total de 55 traitements (45 mélanges binaires et 10 monocultures). Un design alpha lattice a été adopté divisant les 55 traitements dans 5 blocs ou répétitions. Ensuite chaque bloc a été subdivisé en 11 sous-blocs de cinq parcelles chacun. Les 5 parcelles ont été disposées de manière aléatoire dans chaque sous bloc donnant un nombre total de 275 parcelles dans toute l'expérimentation. Chaque parcelle de 2,24 m² comporte chacun 56 poquets de riz. La distance entre les lignes et les rangs entre chaque poquet est de 20 cm. Le fumier bovin est le seul engrais utilisé avec une dose d'apport d'environ 6 t. ha⁻¹. Durant l'expérimentation, les caractéristiques phénologiques et aériennes, les mesures liées au rendement et les mesures de résistance aux maladies ont été collectées pour chaque variété de riz cultivée en pures et en mélanges. Les durées de chaque phase de développement sont classées comme des caractéristiques phénologiques. Des traits phénotypiques (tels que la hauteur maximale, le nombre de talles et de feuilles) sont aussi pris

en compte ainsi que les composantes du rendement : l'indice de stérilité des épillets, l'indice de récolte, le poids de 1000 grains.

Pour évaluer la résistance à la pyriculariose, deux paramètres ont été pris en compte : l'incidence et la sévérité de la maladie. L'incidence de la maladie a été calculée en pourcentage de poquets infectés par variété dans chaque parcelle. La sévérité de la maladie est exprimée par la surface foliaire ayant des lésions par rapport à la surface foliaire d'une plante saine en culture pure. L'indice de surface foliaire (LAI) a été mesuré à l'aide d'un SunScan (sonde de type SS1 v1.02R.) pendant la floraison. Des indices ont été calculés sous forme de ratio : Land Equivalent Ratio (LER) et Net Effect Ratio of Disease (NERDI) pour évaluer les performances des mélanges en production et en résistance à la maladie (Mead and Willey, 1980). Ces ratios ont été utilisés pour déterminer si les mélanges variétaux génèrent des gains par rapport aux cultures pures et pour évaluer si les mélanges sont plus résistants à la maladie que les cultures pures. Les variations entre les mélanges et les cultures pures ont été testées à l'aide de la méthode d'ANOVA. Les variables analysées sont le rendement en grains et en biomasse, l'incidence de la maladie et la sévérité de la maladie. Les caractéristiques des variétés en pures ont été utilisées afin de calculer les distances entre les traits des variétés. Les distances génétiques ont été obtenues à partir de la détermination des SNP (Single Nucleotide Polymorphism) et une matrice de distance génétique entre les dix variétés a été calculée avec le logiciel TASSEL version 5.2.57. Un test de Pearson a été effectué pour déterminer la relation entre les différents types de distance et les performances agronomiques étudiées.

Ensuite, nous avons utilisé un modèle combinatoire FunctClust afin d'avoir une classification fonctionnelle des variétés dans des groupes fonctionnels (Jaillard *et al.*, 2018a, 2018b). L'algorithme utilisé dans ce modèle est basé sur une procédure qui divise les individus en groupes fonctionnels en fonction de leurs effets sur la performance observée de l'assemblage et maximise l'ajustement aux données observées. Le modèle est implémenté en deux étapes : la calibration et la validation pour la performance mesurée. Le modèle fournit un arbre hiérarchique qui divise les individus/composants en groupes impliquant au mieux les variations observées dans une performance donnée. L'efficacité du modèle est mesurée à l'aide de la précision prédictive (E) et du coefficient de détermination (R^2). Le nombre optimal de groupes est déterminé à l'aide d'un AIC, et le coefficient E permet d'estimer la probabilité d'obtenir les mêmes résultats si nous répétons l'expérience exactement de la même manière. Une fois que le nombre optimal de clusters a été déterminé par le modèle, toutes les combinaisons observées sont classées comme un motif d'assemblage, qui est l'association de deux variétés du même groupe fonctionnel ou de groupes fonctionnels différents. Le package "functClust" est utilisé

pour l'analyse combinatoire. Deux modèles ont été créés, l'un basé sur le rendement en grains pour la production et l'autre basé sur l'incidence de la maladie pour la résistance à *Pyriculariose*.

Résultats

Les résultats montrent que les mélanges variétaux ont produit en moyenne 14 % de grains en plus que les cultures pures, et 4% de plus de biomasse végétative. Pour la sensibilité des cultures aux maladies, incidence a été réduite de 21 % dans les parcelles en mélange et la sévérité a été réduite de 48%. Les différentes composantes du rendement étudiées telle que l'indice de récolte et de stérilité des épillets ainsi que le poids de 1000 grains ont été significativement différents dans les mélanges et les cultures pures dans toutes les expériences.

Les variétés ont été regroupées de manière optimale en cinq groupes fonctionnels pour leur capacité à produire des grains. La variété EARLY MUTANT IAC 165 a formé un groupe unique « A » se distinguant clairement des autres. Les motifs d'assemblage "ac" et "ab" indiquant des mélanges avec la variété du groupe A sont les plus performants en production en grains. La classification fonctionnelle sur l'incidence à la maladie a permis de séparer les variétés en trois groupes fonctionnels où PRIMAVERA se distingue des autres. Les motifs d'assemblages qui sont les plus résistants à la *Pyriculariose* sont ceux où on peut trouver cette variété PRIMAVERA dans les mélanges. Les cultures pures ou les mélanges de deux variétés dans le groupe B= {IRAT 109 et DOURADO PRECOCE} sont les plus sensibles.

Les distances génétiques entre les variétés sont significativement corrélées avec le rendement en grains, mais pas avec la résistance aux maladies. Les mélanges de variétés ont un fort effet positif sur le rendement en grains, les différentes composantes du rendement étant significativement différentes dans les mélanges et dans les cultures pures. Les variétés peuvent être regroupées de manière optimale en groupes fonctionnels sur la base de leur capacité à produire des grains. Les distances génétiques sont significativement corrélées avec le rendement en grains. Cependant, les caractéristiques écologiques des variétés n'influencent pas la résistance aux maladies des mélanges variétaux.

Discussions

Cette étude a permis d'évaluer le potentiel de l'utilisation des mélanges intraspécifiques sur différentes fonctions dans des conditions de terrain. Elle a permis de tester l'application de théories écologiques en utilisant la diversification des cultures notamment les mélanges variétaux. Plusieurs défis sont associés à l'application des mélanges à savoir les prédictions contrastées, la validation dépendante du contexte et l'absence de règles d'assemblage génériques. Nous avons élaboré des modèles fonctionnels afin d'avoir des pistes de règles dans

des systèmes de culture de riz pluvial au champ soumis à des conditions environnementales spécifiques où on peut sentir les effets des changements climatiques. Les résultats ont révélé des avantages prometteurs des mélanges de variétés de riz, avec une augmentation significative de 14 % de la production de grains et une réduction substantielle de 34,5 % de la pression de la maladie *Pyricularia oryzae*. Nous avons aussi obtenu deux modèles différents sur cette production en grains et la résistance à la maladie où les groupes fonctionnels sont formés par des variétés différentes selon la fonction étudiée. L'avantage du mélange est attribué à la complémentarité dans l'utilisation des ressources (Li *et al.*, 2023; Reiss and Drinkwater, 2018) et à une dimension temporelle potentielle du compromis croissance-défense (De Tombeur *et al.*, 2023).

Afin de justifier cette théorie de compromis croissance-défense, nos résultats ont montré une absence d'effet significatif entre les distances génétiques et les distances phénotypiques. Des variations de traits ont été observé au sein et entre les groupes fonctionnels. Dans le modèle de production en grain, une divergence par rapport aux schémas anticipés a été observée. Les associations les plus productives sont les mélanges d'une variété à cycle long avec des variétés à cycle court. Tandis que pour les caractéristiques des talles ou des feuilles, des assemblages de variétés à traits identiques ont été efficaces. Dans le modèle de résistance à la maladie, les assemblages efficaces dépendent de la présence d'une variété résistante (Primavera) dans les mélanges. Les assemblages les plus sensibles sont les mélanges où l'on trouve deux variétés à cycle long et ayant des feuilles plus longues que les autres. L'allocation de la production en feuille peut ainsi induire à une augmentation de sensibilité à la maladie. Ce compromis rend difficile l'obtention d'une multifonctionnalité avec un seul mélange. La multifonctionnalité apparaît lorsqu'un système est composé d'une biodiversité multiple augmentant la fonction de l'écosystème (Finney and Kaye, 2017). Alors que des études moléculaire ont identifiés des expressions génétiques liées à la croissance et à la défense (De Tombeur *et al.*, 2023) ; notre analyse phénotypique met en lumière les implications pratiques de ces dynamiques génétiques dans un contexte agricole global. Les interactions complexes entre les traits révélées par notre étude complètent les résultats de Felix *et al.*, (2023) offrant ensemble une compréhension plus complète du compromis croissance-défense chez les génotypes de riz.

Les mélanges variétaux sont une pratique agronomique innovante qui devrait améliorer les performances agronomiques globales et garantir la stabilité dans le temps (Creissen *et al.*, 2016; Lehman and Tilman, 2000). L'utilisation de modèles combinatoires s'est avérée efficace pour évaluer les multifonctionnalités des mélanges variétaux. Nos résultats ont montré de bons modèles avec des coefficients de détermination et des coefficients de précision élevés. Les résultats obtenus dans ce travail peuvent servir aux agriculteurs qui veulent pratiquer les

mélanges variétaux. Il est intéressant de mélanger des variétés ayant des capacités de production différentes pour obtenir des mélanges de cultures très performants, et il semble important d'utiliser des variétés ayant des degrés de résistance différents pour obtenir une culture très résistante.

Conclusion et perspectives

Cette étude s'intéresse à l'effet positif de la diversification des systèmes de culture sur la résilience des récoltes face aux changements climatiques et aux pressions des ravageurs. La création de mélanges variétaux peut contribuer à maximiser simultanément plusieurs objectifs agronomiques. Dans ce contexte, cette étude a permis d'évaluer l'amélioration du rendement et la résistance aux pathogènes en utilisant différentes variétés de riz pluvial. Elle a également permis d'identifier des assemblages génétiques qui maximisent ces performances. Les résultats montrent que les mélanges de variétés ont un effet positif sur le rendement des grains avec un gain de 14%, mais aucun effet sur la biomasse végétative. La sensibilité des cultures aux maladies a été réduite de 34,5 % dans les parcelles en mélange. La classification réalisée à posteriori a permis d'identifier quatre et trois groupes différents dont les combinaisons ont des effets différents sur le rendement des grains et la résistance aux maladies, respectivement. Ces groupes varient en fonction des performances évaluées.

Les résultats de cette étude offrent des perspectives prometteuses pour la gestion des systèmes de culture soumis à des changements climatiques rapides et intenses. Les distances génétiques ont été positivement corrélées à la production. Une plus grande prise en compte des multiples aspects des caractéristiques des plantes est nécessaire pour disposer de toutes les informations à l'appui de la théorie écologique. Pour obtenir un mélange hautement multifonctionnel, il est recommandé de mélanger des variétés ayant des capacités de production et des degrés de résistance différents. Des expérimentations sur plusieurs années sont nécessaires pour voir la stabilité des rendements en fonction du temps. Aussi, la sélection des variétés utilisées par les agriculteurs dans différentes régions est recommandée pour avoir leurs adhésions.

Ce chapitre a été soumis sous forme d'article scientifique dans Journal of Applied Ecol

The challenge of intraspecific mixtures for applied ecology: different genotypic assemblages for different functions in upland rice

Koloina Rahajaharilaza^{1,2,3}, Bertrand Muller^{2,4}, Kirsten vom Brocke^{2,4}, Lucie Mahaut³, Jean Benoît Morel⁵, Rémi Pelissier⁶, Elsa Ballini⁶, Delphine Luquet⁴, Ramavovololona¹, Florian Fort⁸, Cyrille Violle³

- (1) University of Antananarivo, Faculté des Sciences, Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de l'Environnement (ED SVE)
- (2) AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France
- (3) CEFÉ, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France
- (4) CIRAD, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France.
- (5) PHIM Plant Health Institute, Université de Montpellier, INRAE, CIRAD, Institut Agro, IRD, Montpellier, France
- (6) PHIM Plant Health Institute, Université de Montpellier, Institut Agro, CIRAD, INRAE, IRD, Montpellier, France
- (7) Dispositif en Partenariat Système de Production d'Altitudes Durable, Antsirabe, Madagascar
- (8) CEFÉ, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Institut Agro, Montpellier, France

ABSTRACT

1. Ecological theory suggests that increasing genetic diversity can promote multiple agronomic performances simultaneously. Greater agrobiodiversity should particularly benefit traditional low-input farming systems, where climate change drastically affects yields both directly and indirectly through increased pest and pathogen pressures. However, the potential of varietal mixture, that is the cultivation of different genotypes within a field, to enhance multiple agronomic outcomes remains to be demonstrated. Furthermore, not all varietal mixtures can provide such benefits and the identification of the composition of the most promising mixtures is a critical challenge.

2. We performed an on-farm experiment to assess the potential of genotype mixture of tropical upland rice to improve crop yield and resistance to pathogens simultaneously. We grew ten varieties as pure stands as well as all pairwise combinations (mixtures) under traditional low input growing conditions in Madagascar. For each variety component, we quantified grain yield at maturity and screened the impacts of blast disease (*Pyricularia oryzae*) on all individuals during the growing season. In addition, we compared the ability of an *a priori* approach based on the genetic and phenotypic distances between mixed varieties and an *a posteriori* approach based on a combinatory model to identify the assemblages that maximize the studied functions.

3. We found an average gain of grain yield of 14% and an average gain of 4% of biomass yield related to the cultivation of variety mixtures as compared to pure stands. Moreover, the impact of *Pyricularia oryzae* incidence and severity was reduced by 21% and 48% in genotypic mixtures, confirming their potential in promoting either agronomic yield or pathogen resistance. However, results from the combinatory model indicated that different combinations of genotypes promoted grain production and disease resistance, indicating that a given mixture cannot simultaneously enhance both agronomic outcomes. Furthermore, we reported no significant effects of genetic and phenotypic differences on the performance of genotype mixtures, challenging the long-term search for assembly rules of crop mixture.

4. *Synthesis and applications.* The benefits of mixing varieties for rice grain production and disease resistance open promising avenues for the management of cropping systems submitted to rapid and intense climate changes, although the use of varietal mixture may be of limited interest for improving the multifunctionality of cropping systems. Farmers must weigh the trade-offs between enhanced disease resistance and potential reductions in yield when deciding to use varietal mixtures. Their decision should be well-informed and aligned with the specific needs and goals of their farming system.

Keywords: varietal mixtures, multifunctionality, crop diversification, disease resistance, ecological rule, grain yield, rainfed rice, vegetative biomass.

INTRODUCTION

Modern cultivated fields are considered as simple agroecosystems populated by only one species and, often, only one genotype. They are designed to reach the highest level of production in a large range of environmental constraints, including disease pressures (Papy&Goldringer, 2011). Last decades, this objective has been achieved through the combined use of high-performance varieties and external inputs such as fertilizer and pesticides. However, growing these highly productive varieties in monoculture has increased pathogen pressure, notably because the massive use of pesticides has facilitated the emergence of pathogen resistance, which has in turn resulted in important yield losses (Schaffrath *et al.*, 1995). In addition, the use of external inputs remains inaccessible to most subsistent farming systems, notably in the developing world where limited liquidity strongly constrains agricultural practices (Tittonell and Giller, 2013). Finally, crop productivity is no longer the sole objective and agroecosystems are expected to provide a growing number of functions and services to address the challenges posed by rapid climate changes and increasingly prevalent societal and environmental issues (Gamfeldt, 2008). Although the issue is considerable, the design of farming systems to achieve multiple objectives remains non-operational due to a lack of a strong theoretical corpus. The implementation of Nature-Based Solutions, rooted on ecological knowledge of the functioning of natural ecosystems (Altieri *et al.*, 2012), could be an effective way to improve the multifunctionality of crops (Eggermont *et al.*, 2015). These solutions are based on the abundant ecological literature focused the relationship between biodiversity and ecosystem functioning (Finn *et al.*, 2013; Isbell, 2015), which states that the reintroduction of diversity in agroecosystems can maximize multiple ecosystem functions (Hooper *et al.*, 2005). It has indeed been shown that increasing diversity can stabilize crop production through reducing the impact of climate change (Barot *et al.*, 2017; Kiær *et al.*, 2012), and can limit yield losses caused by diseases pests (Skamnioti and Gurr, 2009; Zhu *et al.*, 2000). Nonetheless, despite the rich literature on multifunctionality in natural ecosystems (Hector *et al.*, 2007; Jucker and Coomes, 2012), whether and how crop diversification can help optimize crop multifunctionality has not yet been thoroughly tested.

Increasing within-field crop diversity can be achieved through different approaches, including the association of different species through time (crop sequence) or space (intercropping), and the simultaneous cropping of different genotypes from the same species in varietal mixtures (Gaba *et al.*, 2015) (Gaba *et al.*, 2015). From an agronomic point of view, the management of genotype mixtures can be less complex than the one of species mixtures, given the lower variability of harvesting dates in genotype mixtures that leaves the possibility to harvest all the varieties at once (Verret *et al.*, 2020). However, the benefit of genotype mixtures for the provision of multiple agronomic outcomes may be limited as compared to species mixture since intraspecific functional diversity is generally lower than interspecific diversity. Nonetheless, recent experiments focused on varietal mixtures of wheat and rice have demonstrated the agronomic interest of these mixtures for individual agronomic performance such as yield production and disease resistance (Borg *et al.*, 2018; Montazeaud *et al.*, 2020b; Vidal *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2000) . Positive effects of genotype mixtures on agronomic performance involve

different ecological mechanisms. Overyielding in genotype mixtures can result from both niche complementarity and hierarchical competition (Mahaut *et al.*, 2023). Niche complementarity in varietal mixtures refers to the different uses of resources by varieties, resulting in better utilization of the local pool of resources and thus higher yields (Kopp *et al.*, 2023; Montazeaud *et al.*, 2018; Wuest *et al.*, 2021). Hierarchical competition arises when mixed genotypes display different competitive abilities. It can lead to higher yields in varietal mixtures as compared to pure-stands if the stronger competitor wins more yield than the lower competitor loses in the mixture (Mahaut *et al.*, 2023). Higher resistance to pathogens in varietal mixtures can notably emerge from barrier effect and dilution effect (Tooker and Frank, 2012; Wolfe, 2000). Figure 1 illustrates key mechanisms regulating diseases in varietal mixtures, highlighting five principal strategies (Borg *et al.*, 2018). The use of resistant varieties as a barrier (Figure 1.b) to the spread of pathogens is the best-known process (Finckh and Mundt, 1992; Zhu *et al.*, 2000). Mixing varieties with different levels of resistance can also reduce the incidence of diseases by introducing a diversity of managing strategies as dilution effect (Figure 1.a) or the way of leading to diverse pathogen populations (Figure 1.c) (Creissen *et al.*, 2013; Wuest *et al.*, 2021). Moreover, disruptive selection (Figure 1.d) in mixtures reduces the speed of pathogen adaptation, aligning with the concept that mixing varieties with different resistances decrease disease incidence and the compensation effect (Figure 1.e) induce a balance, where less susceptible varieties compensate for poor growth in more susceptible ones. However, plant susceptibility to disease can change in response to plant-plant interactions (Pélissier *et al.*, 2021a).

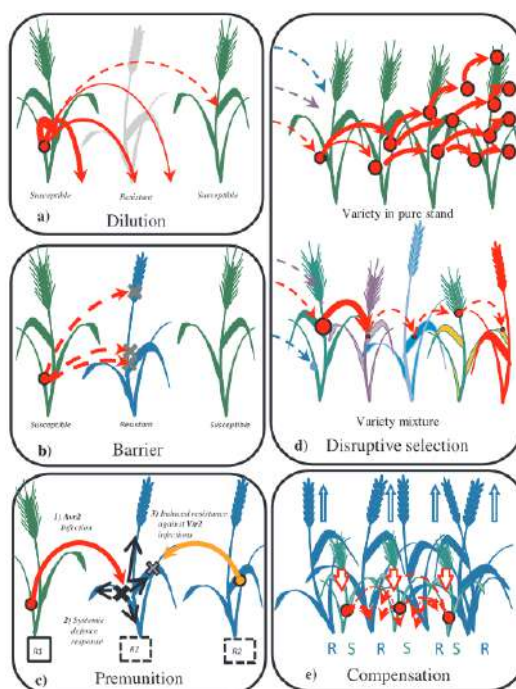


Figure 1: Ecological mechanisms involved in the regulation of disease in a mixture. a) dilution effect, b) barrier effect, c) premunition effect, d) disruptive selection and e) compensation effect (Borg *et al.*, 2018)

Furthermore, the benefit of increasing crop genetic diversity can be more important in stressful conditions (so-called stress gradient hypothesis (Craven *et al.*, 2016; Maestre *et al.*, 2009)). This further complicates the choice of genotypes to mix, as they have to possess traits that give them both adaptation to local environmental constraints and the ability to manage competitive interactions generated by different neighboring plants. Consequently, the assembly rules for designing multifunctional genotypic mixture are still unidentified (Malézieux, 2012; Montazeaud *et al.*, 2020b).

Using phenotypic and genetic distance to identify the most promising genotypes to assemble is a long-term research objective in agroecology (Litrico and Violle, 2015). In that perspective, a key issue is to identify the phenotype dimension, or functional traits (*sensu* (Violle *et al.*, 2007)), that are involved in the different mechanisms cited above. While plant height and growth rate have been widely associated to the competitive abilities of species, the Furthermore, traits associated to plant growth and productivity can trade-off with traits that enhance plant resistance to pathogens as recently shown in rice (De Tombreur *et al.*, 2023). These findings challenge the identification of the most promising genotype mixtures based on a priori knowledge. Alternatively, Jaillard *et al.* in (2018b) developed a promising a posteriori clustering method that groups varieties or species based on their ability to perform with others. Assembly rules are essential in ecological research as they provide structured guidelines for selecting and arranging species within ecological communities (Götzenberger *et al.*, 2012; Jaillard *et al.*, 2021). These rules are crucial for achieving specific ecological functions, preserving biodiversity, and enhancing the resilience and stability of ecosystems, making them a fundamental component of ecological studies (Belyea and Lancaster, 1999; Götzenberger *et al.*, 2012; Temperton *et al.*, 2005). An ambitious experimental design can thus help identify the beneficial combinations using this clustering method, even if it has never yet been tested for such a purpose.

Here, we investigated the effect of varietal mixtures versus pure stands in upland rice of the Madagascar highlands. Upland rice has been popularized in the central highlands of the country to compensate the low production of lowland rice (Breumier *et al.*, 2018). The Madagascar rice diversity is particularly rich: the national collection lists more than 4,000 local varieties and 2,000 enhanced varieties resulting from varietal creation (Radanielina *et al.*, 2013b). The valorization of this diversity is important in order to promote the national production. We focused on the impact of mixing varieties on crop production and disease resistance. We tested the predictive ability of phenotypic and genetic distances compared to an a posteriori clustering method and discussed the consequences for the design of innovative cropping systems in regions of the world submitted to rapid and severe climate changes.

MATERIAL AND METHODS

Study site and experimental design.

The experiment was conducted in the Central Highlands of Madagascar in the Vakinankaratra region (19°40'00.82"S 46°32'11.49"E) at 900-1100m altitude (Figure 2). The region is characterized by a tropical high-altitude climate (a warm rainy season from mid-October to April and a cooler dry season from May to September). The average total rainfall is 20mm, with the highest amounts falling in December and January (approx. 300mm). The average temperature during the growing season is 25°C (minimum: 12°C and maximum: 35°C). Rainfed crops are grown in Ferralsols on Tanety (slopes of hills targeted for rainfed cropping practices), characterized by a pH of ca. 5.1 and a cation exchange capacity

lower of 16cmol.kg^{-1} . These properties reduce nutrient availabilities in the soil, as well as its ability to retain basic cations on its adsorbent complex, resulting in deficiencies in several elements such as phosphorus, calcium, magnesium and nitrogen (Raminoarison *et al.*, 2020). We selected ten upland rice genotypes from a tropical japonica rice panel, namely: PRIMAVERA, EARLY MUTANT IAC 165, IAC 25, IR53236-275-1, DOURADO PRECOCE, CIRAD 392 (FOFIFA 152), CIRAD 394 (FOFIFA 154), CIRAD 488 (FOFIFA 161) IRAT 380 and IRAT 109, based on their contrasted ecophysiological characteristics (Courtois *et al.*, 2013; Rakotoson *et al.*, 2021) to maximize a priori diversity of root traits and resistance to blast (Table S1).

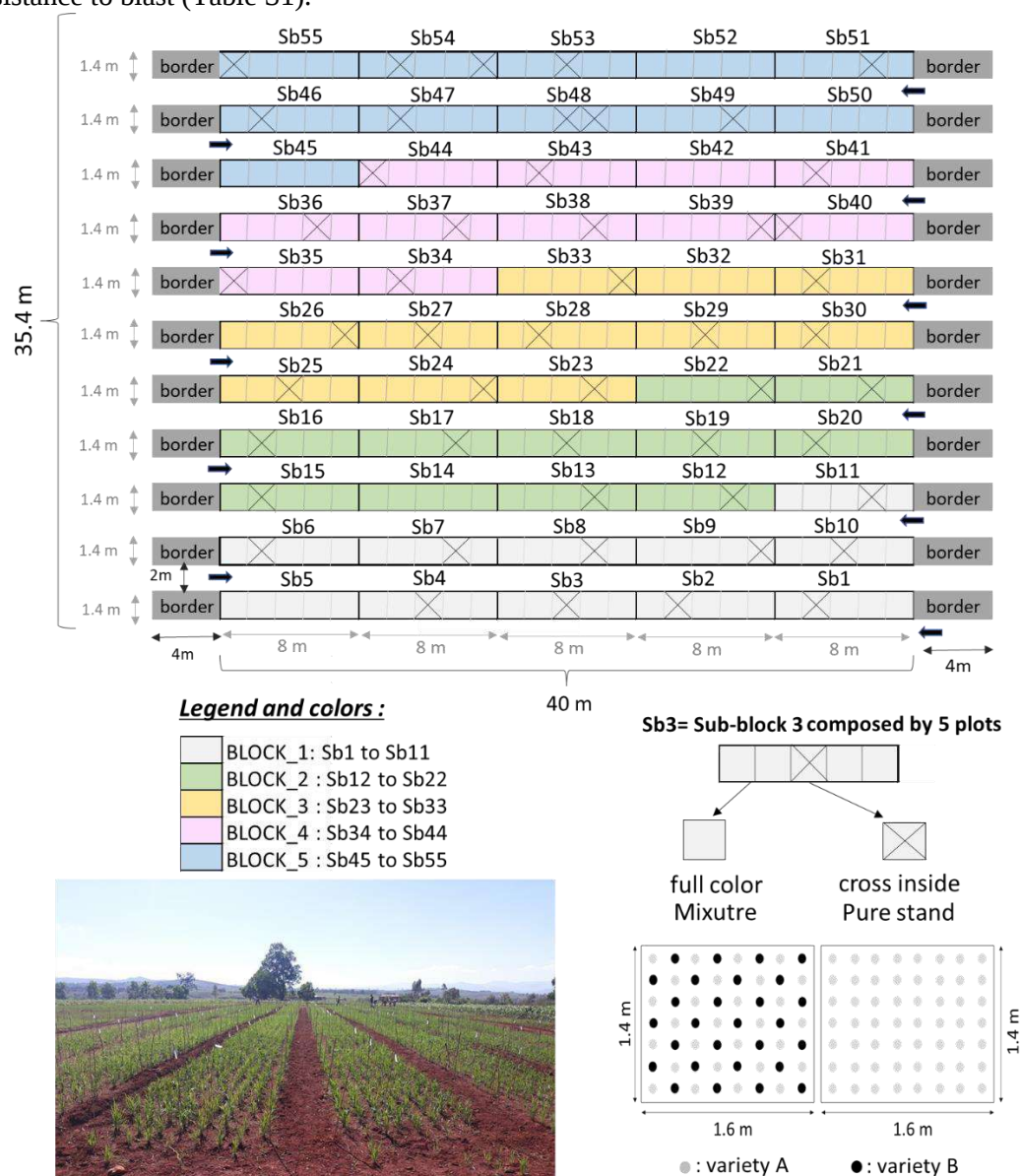


Figure2: Alpha lattice experimental design with 5 blocks (referred as BLOCK) and 55 sub-blocks (referred as Sb) conducted in the Vakinankaratra region. Each color referred to a block and each block contained 11 random sub-blocks (8m *1.4m) composed by 5 randomized plots (1.6m *1.4 m). Squares with full color plots represented plots with mixture of variety A (grey dots) and variety B (black dots). Squares crossed inside corresponded to pure stand of 10 varieties. There was one pure stand per variety per block (10 pure stands per blocks).

These varieties were grown in pure stand and in bi-variety mixture (all combinations). This design generates a total of 55 combinations (45 binary mixtures and 10 pure stands). We chose a block design (alpha lattice) by dividing the field in five blocks and each block was further divided into 11 sub-blocks (Patterson and Williams, 1976; Yau, 1997). Each combination was assigned randomly into the sub-blocks to ensure equal representation of each treatment within and across blocks. One sub-block was composed by five random plots (1.6m * 1.4 m) (5 combinations). This experimental design performed a reliable evaluation of treatment effects to account for field heterogeneity (Patterson and Williams, 1976; Yau, 1997). Each plot was hand-sewn (eight) in hills (i.e. planting holes). The spacing between rows and planting holes was 20cm, which leads to a total number of 56 hills per plot. We applied a cattle manure of about 6t DM. ha⁻¹, which corresponds to farming practices in the region. The manure was characterized by 30.5% organic matter (17% carbon), 0.6% nitrogen, 0.1% phosphorus, 0.9% basic cation (calcium, magnesium, potassium) and a pH = 7.49. We applied any pesticides nor herbicides. We performed manual weeding during the establishment phase (first month).

Plant trait and yield measurements.

We collected traits related to plant phenology and competitive capacity on all varieties in all experimental conditions (pure stands and mixtures). More specifically, we characterized the starting date of the vegetative phase (germination, emergence, tillering), reproductive phase (panicle initiation, heading, flowering) and maturation phase (grain filling and maturation) in julian days. We also assessed the number of tillers and leaves as well as leaves length, and maximum plant height of five hills per plot and variety at top of vegetative biomass production. Roots traits of the ten selected varieties were extracted from the database published by Courtois *et al.* in (2013). At harvest time, we assessed the yield components on the same individuals (hills) used for non-destructive trait measurements. Specifically, we quantified: total number of panicles per plant, number of spikelets per panicle and number of filled and empty grains per panicle. Data were further used to calculate an index of spikelet sterility, the harvest index (ratio between grain weight and biomass weight), and the weight of 1000 grains. Lastly, all the hills were harvested, separated per variety and weighed to assess grain and vegetative biomass.

Disease resistance measurements

Two parameters were considered to evaluate blast resistance: the incidence of the disease and the severity of the disease. This was done by screening all 56 hills of every plot at flowering stage. Disease incidence was defined as the number of hill who had more than five lesions caused by *Pyricularia oryzae* (Qi *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2016). We averaged observations of hills from same variety to obtain a single value per variety and per plot. We expressed disease incidence as the percentage of hills infected per variety and per plot. To assess the disease severity, we calculated the leaf lesion area. In the field, we measured the area of each lesion on a leaf one by one. Then, we sum these measurements to obtain a surface area in cm² for a single hill. Afterward, we divided this area by the leaf area index (LAI) of a healthy hill of the same variety in pure stand. LAI was evaluated using a SunScan (Probe type SS1 v1.02R) at flowering time.

Land Equivalent Ratios (LER) and Net effect ration of disease (NERDI)

We estimated the benefit of mixing varieties for crop yield using the Land Equivalent Ratio (LER), which quantified the relative land area required under monoculture to produce the same yield as under crop mixture according to the formula:

$$LER = \frac{Y_{A,mix}}{Y_{A,pure}} + \frac{Y_{B,mix}}{Y_{B,pure}} \quad (1)$$

where $Y_{A,mix}$ and $Y_{B,mix}$ are the yields of two varieties (A and B) sown in mixture and $Y_{A,pure}$ and $Y_{B,pure}$ the yields of the same varieties (A and B) grown in pure stand. A LER value of 1.0 (0.5/1 + 0.5/1), indicates no difference in yield between the varietal mixture and the average of their single variety, whereas values greater than 1.0 indicate a yield advantage for varietal mixtures.

Mirroring the LER, to compare the ability of varieties to resist to *Pyricularia oryzae*, we computed the NERDI (Net effect ration of disease) to measure the disease (DI) intensity ((Cardinale *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2023; Rahajaharilaza *et al.*, 2023). We computed two ratios: for the disease incidence and disease severity. These ratios measure the difference between the actual disease infection and the expected mixture infection based on pure crop infection and the variety proportions in the mixture. Unlike measuring reduction, our index calculates the sensitivity ratio of disease in mixtures versus pure stands within separate plots. Combining these relative indices involves aggregating the relative index of each variety in mixtures and comparing it to the average when that variety is in a pure stand within the mixed plots. The following formula was used to calculate the net effect ratio of disease:

$$NERDI_{(AB)} = \frac{p_A \cdot DI_{A,mix} + p_B \cdot DI_{B,mix}}{p_A \cdot DI_{A,pure} + p_B \cdot DI_{B,pure}} \quad (2)$$

$NERDI_{(AB)}$ is the net effect ratio of disease of the mixture of varieties A and B. The ration is between the observed disease (DI) incidence or severity in the mixtures and the expected disease incidence or disease severity based in the infection's levels in pure stands. p_A and p_B are the proportion of the variety A and B in the mixture ($p=0.5$). DI_{mix} is the disease incidence or disease severity of the variety A or B in mixed plots and DI_{pure} the average disease infections in pure stands per block for the variety. A NERDI value above 1 indicates heightened disease in mixtures, while a NERDI value less than 1 indicates a higher resistance performance in the mixture than in the pure stand.

Genetic distance imputation

We calculated genetic distances using SNP data obtained through the Tassel GBS v5.2.37 pipeline (Glaubitz *et al.*, 2014) without initial filtering. The genetic data was stored in an online tool called Gigwa-Genotype Investigator for Genome-wide Analyses (Larmande, 2015) We applied a preliminary filter to select SNPs with a Minor Allele Frequency (MAF) greater than 1% and less than 20% missing data. We further filtered the data by considering heterozygosity ($H_o \leq 30\%$), MAF ($\geq 1\%$), and an imputation rate of ($\leq 20\%$). This process resulted in a final dataset of 87,089 SNPs. To calculate genetic distances between and within the ten varieties, we used TASSEL (Trait Analysis by aSSociation, Evolution and Linkage) version 5.2.57.

Statistical analyses

All statistical analyses were performed with R version 4.3.2 (2023-10-31 ucrt). The differences between mixtures and pure stands were tested first by an ANOVA corresponding to the alpha lattice design used, according to the model:

$$Y_{\alpha\beta\gamma\delta} = \mu + C_{\alpha} + B_{\beta} + SB_{\beta\gamma} + ID_{\delta} + e_{\alpha\beta\gamma\delta} \quad (4)$$

where $Y_{\alpha\beta\gamma\delta}$ is the variable observed, μ is the overall average of the variable in the plot (the average of two varieties in mixture), C_{α} is the effect of cropping condition (pure vs. mixture), $SB_{\beta\gamma}$ is the sub-block effect in the block and B_{β} is the effect of block, ID_{δ} is the fixed effect of variety identity in the plot, e is the residual effect or model error. The variables analyzed by this model are grain and biomass yield, incidence of disease and severity of attack. The differences in the means of the LER and DRR are calculated by a student test using 1 and 2 as reference values, respectively.

We assessed the ability of *a priori* phenotypic and genetic distances to predict mixture yield and blast resistance. First, we combined on-site measurements (phenology and above-ground traits) in pure stands and root traits from the literature (Courtois *et al.*, 2013). To compute trait distances (Euclidean distances) between varieties, we used the *dist* function from the *spaa* R package. We performed a *Pearson* test to evaluate the correlation between the different types of distances, plot-level yield and blast resistance.

Functional classification of varietal mixtures

We used the algorithm proposed by Jaillard *et al.* (2018) to generate a functional classification of the mixtures according to their performance (here yield and blast resistance). This is a *a posteriori* method allowing the identification of a typology of varieties based on their effects in mixture. Briefly, the model is based on a procedure that groups individuals into *functional groups* according to their effects on an observed assembly performance and for which adjustment to the observed data is maximized. This model is implemented in two steps: a calibration step followed by a validation step for a given performance. An iterative approach is used in both cases. To begin with, the model provides a hierarchical tree that divides varieties into groups that best account for observed variations in a given performance. The model efficiency measured the predictive accuracy (E) and the coefficient of determination (R^2) at each pruning of the hierarchical tree. The model is then evaluated using AIC (Akaike Information Criterion) comparisons to determine the optimal number of groups based on the lowest AIC without overfitting. The accuracy coefficient estimates the possibility of having the same results if we redo exactly the same experiment. The ratio between these two coefficients E/R^2 assesses the quality or the robustness of the model: the closer to one, the more robust the model (Jaillard *et al.*, 2021). Once the model has determined the number of optimal clusters, all observed combinations are classified as an *assembly motif*, which is the association of two varieties from the same functional group or different ones. For example, if varieties are classified in three functional groups (A, B and C), there will be six possible assembly motifs: “a”, “ab”, “ac”, “b”, “bc” and “c”. The assembly motif “a”, “b” or “c” designates either single in a group or the association of two varieties from the same group. The assembly motif “ab” designates the association of one variety from group A and one variety from group B. The motif “ac” designated the association of two varieties from group A and from group C and so one. The combinatorial analysis is performed with the “functClust” package (Jaillard *et al.*, 2018a,

2018b). In the study, two models were created. The first model on yield production based on grain yield and the second model on disease incidence (the two output variables characterized by LER and DRR significantly different from 1 and 2, respectively).

After conducting functional classification of varieties into functional groups based on both grain production and disease resistance, the traits of varieties (grown in pure stands) within each functional group were compared to determine potential dissimilarities. The following model was used:

$$Y_{\beta\gamma\theta\delta} = \mu + FG_{\theta} + ID_{\theta\delta} + B_{\beta} + SB_{\beta\gamma} + e_{\beta\gamma\theta\delta}$$

Where, $Y_{\beta\gamma\theta\delta}$ was the studied traits, μ , the overall trait means, FG_{θ} pertains to the functional group, clustered by either yield or disease and $ID_{\theta\delta}$ the identity of varieties within the functional groups. $SB_{\beta\gamma}$ was the sub-block in the block and B_{β} and finally, $e_{\beta\gamma\theta\delta}$ was the error of the model.

RESULTS

Varietal mixtures produced more grains and are less impacted by blast attacks than pure stands.

The analysis of variance showed that the mixture condition had a strong positive effect on grain yield, with mixtures producing 389Kg.ha⁻¹ (p<0.001) more than pure stands on average (Figure 3. A). To decipher this overall effect on grain yield, we also studied how the mixture condition influenced the different components of grain yield (Table 1). Among the five yield components studied, harvest index and spikelet sterility as well as 1000-grain weight significantly differed between mixtures and pure stands. There was no significant difference in vegetative aboveground biomass, disease incidence and disease severity between mixtures and pure stands. Results of the full models are given in Table S2. There were no differences between pure stands and mixtures on biomass yield; mean=4 468 Kg. ha⁻¹ and 4 404 Kg. ha⁻¹ respectively (p>0.05) (Figure 3.B). The disease incidence in mixtures was 12% lower than in pure stands; mean in pure=57% vs means in mixtures=45% (p<0.001) (Figure 3.C). The disease severity was halved in varietal mixtures. Mean in pure=2.7 cm² vs mean in mixtures=1.4 cm², p<0.001 (Figure 3.D).

The LER for grain yield was 1.14 (p<0.01), indicating that the yield obtained in mixtures is significantly higher than the expected yield based on the two mixture-component pure crops (Figure 4.A). The LER values for aboveground biomass production was slightly above 1 (mean=1.04, p=0.04) (Figure 4. B). In comparison to pure stands, mixtures showed an average 21% decrease in disease incidence (Figure 4.C) and 48% decrease in disease severity (Figure 4.D). NERDI values were lower than the reference value of one.

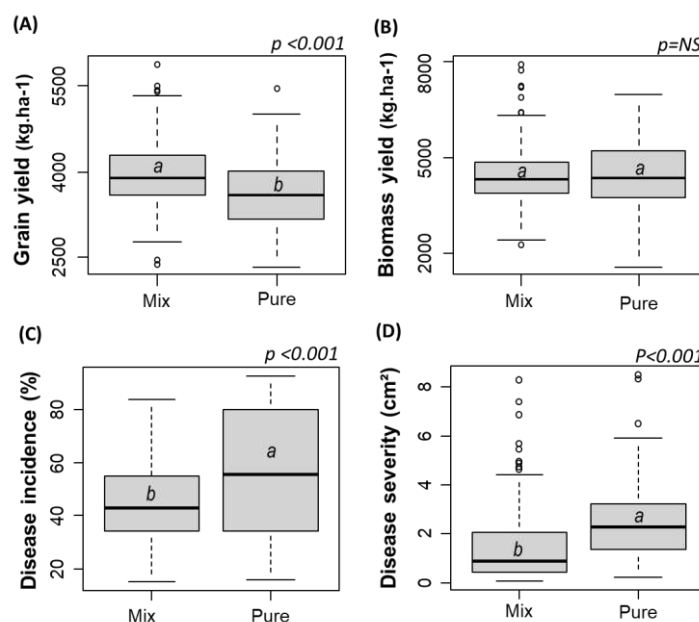


Figure 3: Differences in the production (A and B) and disease resistance (C and D) of rice varietal mixtures and monocultures evaluated in a replicated field trial with 10 varieties and 45 pairwise mixtures. The differences were assessed by ANOVA (SD= 535.4 (A), SD= 897.9 (B), SD= 10.08 (C), SD=0.5(D)) p-value = 0.05 “.”, p-value <0.05*, p-value <0.01**, p-value <0.001***

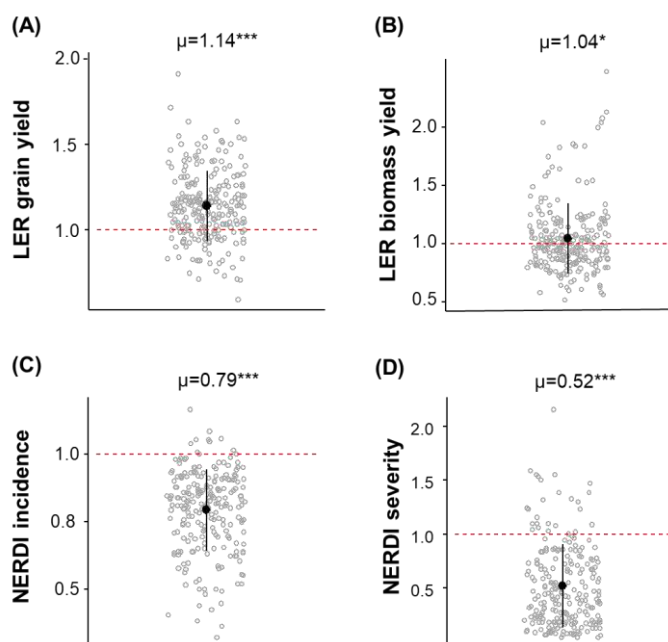


Figure 4 : Land Equivalent Ratio (LER) per plot for (A) grain yield and (B) biomass yield and Net Effect ratio of Disease (NERDI) of varietal mixtures on disease incidence (C) and (D) severity Each index was compared to the reference value of 1 represented by the dotted red line. This line delimits the performance of the mixtures. Differences of mean value to the reference value are tested by Student test (df= 224). p-values are indicated by stars next to averages mean values (μ), p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01 = **; p-value < 0.001 = ***.

Table 1: Comparison of yield component in mono-genotypic stands and genotype mixtures of upland rice. Mean differences were assessed by ANOVA t. p-value > 0.05, p-value <0.05*, p-value <0.01**, p-value <0.001***

<i>Yield components</i>	<i>Monogenetic stands</i>	<i>Genotype mixture</i>	<i>F</i>	<i>SD</i>	<i>p-value</i>	<i>Pr(>F)</i>
Harvest Index (%)	0.45 b	0.48 a	13.50	0.04	0.0003	***
Panicles per hill (Nbr)	11.44 a	11.34 a	0.10	2.19	0.747	
Grains per panicle (Nbr)	7.68 a	7.7 a	0.07	0.67	0.796	
Spikelet Sterility index (%)	0.22 a	0.18 b	8.39	0.08	0.004	**
1000-grain weight (g)	5.19 b	5.41 a	2.37	0.16	0.010	*

Letters a, b indicates significant differences according to Fischer test. “a” indicated the group with highest value and b the lowest. p-value>0.05 NS, p<0.05*, p<0.01**, p<0.001***

Lack of predictive ability of trait and genetic distances

We found any significant correlation between phenotypic distances (based on phenological traits, aboveground traits or root traits) or genetic distances and yield production or disease incidence (the two output variables with LER and DRR significantly higher than 1 and lower than 2, respectively) (Table 2).

Table 2 : Relationship between diversity traits of varieties and their performance (grain yield and disease resistance) performed with a Pearson correlation test, n=55 (distances calculated between the 10 varieties)

	Grain yield		Disease resistance	
	<i>correlation coefficient</i>	<i>p-value</i>	<i>correlation coefficient</i>	<i>p-value</i>
Phenologic distance	-0.24	0.12	0.02	0.9
Aerial traits distance	-0.11	0.48	-0.23	0.13
Root traits distance	-0.15	0.34	-0.07	0.65
Genetic distance	0.16	0.29	-0.21	0.16

The *a posteriori* clustering approach identified different varietal combinations for each agronomic performance.

We applied the clustering approach to the two output variables with significant LER and DRR variations (see above), namely grain yield and disease incidence.

The clustering model for grain yield had a coefficient of determination $R^2=0.67$ and a coefficient of accuracy $E=0.50$ ($E/R^2=0.74$). Varieties were optimally clustered into five functional. Among these groups, the singleton group $A=\{EARLY\ MUTANT\}$ clearly distinguished itself from the others: $B=\{IR53236.275.1, DOURADO\ PRECOCE\}$, $C=\{PRIMAVERA, F152, F154\}$ and $D=\{F161, IAC\ 25, IRAT380, IRAT\ 109\}$ (Figure 5A). Figure 5B illustrates the various assembly motifs and their respective means in terms of grain yield performance. According to an analysis of variance, assemblages followed

by different capital letters in the top right are significantly different ($p < 0.001$). Figure 4B illustrates a higher performance of assembly motifs including the variety *EARLY MUTANT*, with assembly motifs "ac" and "ab" performing best for grain yield. "c" and "b" were the two worst-performing motifs.

The clustering analysis applied to disease incidence gave a R^2 of 0.48 and an E of 0.41 ($E/R^2 = 0.85$). Varieties were separated into three functional groups, namely the singleton $A = \{PRIMAVERA\}$, $B = \{IRAT\ 109, DOURADO\ PRECOCE\}$ and $C = \{EARLY\ MUTANT, IAC25, IRAT\ 380, F152, F154, IR532636.275.1, F161\}$ (Figure 5C). As described in Figure 5D, the assembly motif "b" (i.e. the pure stand of a variety from group B, or a mixture composed of two varieties from group B) expressed the highest disease incidence. Conversely, the singleton variety *PRIMAVERA* represented by the assembly motif "a" had the lowest disease incidence.

Differences in traits among varieties across functional groups

In terms of trait variations within the functional groups for grain production, the phenology for varieties in groups A and D were identical, whereas those in groups B and C were also identical but shorter (Figure 6). Varieties in groups A and B exhibited taller heights compared to those in group C (Figure 6). Group C varieties had the highest number of stems per hill, while group B varieties had the lowest number of stems (Figure 6). However, the varieties exhibited similar traits in terms of the number of leaves, leaf length, and above-ground biomass at the flowering stage.

Regarding trait variations in the three functional groups for disease resistance, the two varieties in group B had longer cycles compared to varieties belonging to the other two groups (Figure 6). However, there was no significant differences among functional groups in plant height, number of tillers, number of leaves, and above-ground biomass at the flowering stage (Figure 6). On the other hand, the two varieties in group B had longer leaves than varieties in the other groups (Figure 6), potentially providing more surface area for pathogen colonization.

DISCUSSION

Crop diversification is often considered as a nature-based solution to mitigate the effects of climate changes on the outcomes of cropping systems (Alletto *et al.*, 2022; Lin, 2011), which is a particularly pressing demand in countries like Madagascar. In that context, 'rules' from ecological theories are widely advanced to apply this conceptual idea in the field (Vernooy, 2022). The existence of rules suggests preestablished axioms that provide unambiguous solutions for a particular problem. The problem is far from being solved though for at least three reasons: (i) ecological assembly rules came from several theories that generate contrasted, sometimes contradictory, predictions (Grime, 2003), (ii) their empirical validation is highly context-dependent (Götzenberger *et al.*, 2012), (iii) the existence of generic assembly rules for a multi-outcome objective remains a mystery (Chen *et al.*, 2002; De Boeck and Vandaele, 2011)). The latter is problematic for today's agriculture since it requires to maximize multiple outcomes simultaneously, at the field level in particular (Götzenberger *et al.*, 2012; Hayashi, 2006). Here, we tested the application of assembly rules to upland rice cropping systems submitted to harsh environmental conditions and unprecedented climate change. While there does exist a giant collection of local rice varieties, farmers still have no clues to guide the choice of varieties to cultivate in their cropping systems. Advantages of mixing varieties have started to be demonstrated for crop production and resistance to disease in many systems (Raboin *et al.*, 2012; Snyder *et al.*, 2020).

However, we do not know yet if the same varietal assemblages simultaneously maximize both functions, which is a pressing avenue in most cropping systems worldwide and in Madagascar in particular.

We found an averaged 14%-gain for grain production when mixing varieties, which is well above the gain generally reported in both natural and cultivated systems (Li *et al.*, 2023; Reiss and Drinkwater, 2018). One widespread explanation for this mixture advantage is the higher level of resource-use complementarity between two different genotypes when grown together and the associated relaxation of intra-genotypic competition (Mahaut *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Based on ecological theory (Adler *et al.*, 2013; Grime, 1977), it has been also suggested that such gain should be higher under harsher, resource-limited conditions (Brooker *et al.*, 2014). However, this hypothesis has been hardly validated so far since most experimental tests were performed in Western countries (Brooker *et al.*, 2014). We also observe an average reduction of 34.5% in the pressure of the *Pyricularia oryzae* disease, which is also significantly higher than the reduction reported in the literature (Gladieux *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2000). The explanation for this reduction is often attributed to the barrier effect or dilution effect (Ekroth *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2007) due resistant genotypes such as Primavera and a reduction in the epidemiological effect in susceptible varieties (Pélissier *et al.*, 2023) such as Dourado Precoce and IR53236.275.1. However, we did not find a correlation between the disease intensity and grain or biomass production. This underscores the importance of delving into the dynamics of mixed cropping systems, including the examination of potential trade-offs and competitive hierarchies among our diverse genotypes.

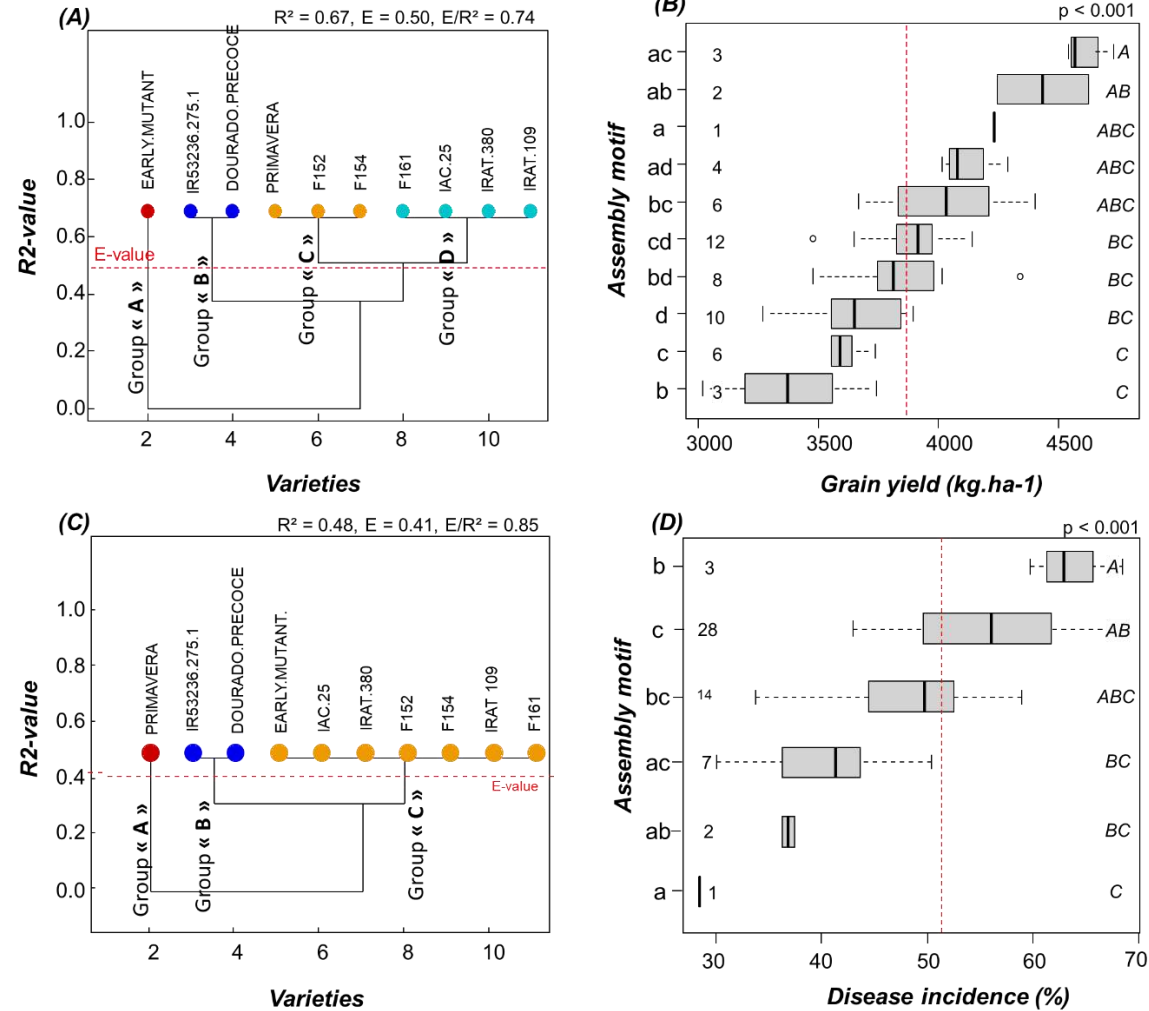


Figure 5: Functional classification of ten varieties on the studied performances. On the top, classification based on average grain yield of a mixture component. On the bottom, classification based on disease incidence to evaluate disease's resistance of a mixture component. (A) & (C) Hierarchical trees of the typology of varieties according to a four-group classification for grain yield ($R^2 = 0.67$, accuracy coefficient $E = 0.49$) and disease incidence ($R^2 = 0.48$, accuracy coefficient $E = 0.41$). Varieties with the same color belong to the same functional group. (B) Boxplots representing the average of grain yield of each assembly motif. (D) Boxplot representing the average of disease incidence of each assembly motif. (B) & (D) Lowercase letters on the left correspond to assembly motif. The numbers on the left indicate the frequency of use of the observed assembly motif in the experimentation. The capital letters on the right are the groups obtained after an ANOVA performed between the averages of the assembly patterns.

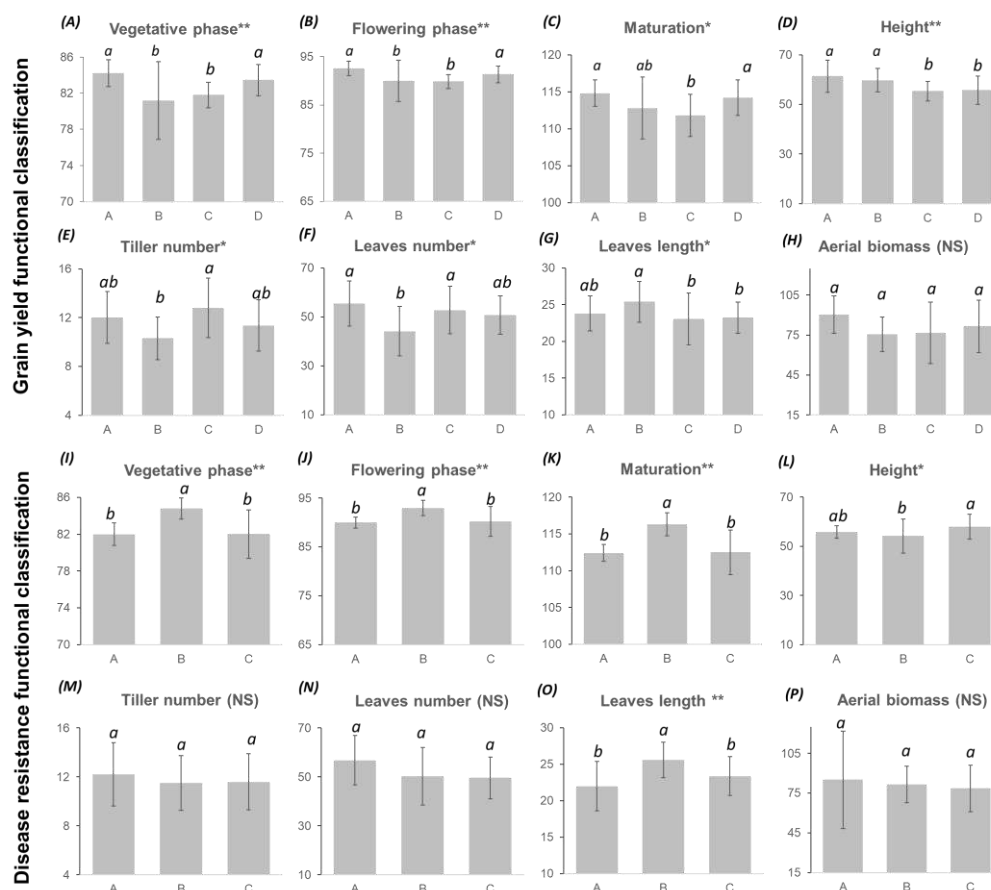


Figure 6: Variations in traits among functional groups for grain production and disease resistance in varietal mixtures: development phases: (A&I) :vegetative phases, (B&J): flowering phases, (C&K): maturation, (D&L) plant height, (E&M) tiller number, (F&N) leaves number, (G&O) leaves length, and (H&P) aerial biomass at flowering time. The functional groups (FG) were indicated in upper case on the x-axis. The differences between traits among functional groups were assessed by ANOVA, p-values were indicated by stars. p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01= **. The letters ‘a’, ‘ab’ and ‘b’ indicated significant differences between FG at the 5% level of confidence. ‘a’ indicated the higher value and ‘b’ the lower value.

In the present study, we embarked on an exploration of the intricate dynamics governing the interplay between growth and disease resistance traits in a diverse array of rice genotypes. Our findings unveil a compelling departure from conventional wisdom, challenging the long-established hypothesis of a linear growth–defense trade-off. Notably, the absence of significant effects of genetic and phenotypic differences on mixture performance adds a layer of complexity to the narrative, prompting a reevaluation of our understanding of genotype interactions in crop mixtures. Our observations resonate with the work of Felix *et al.* (2023), who previously investigated the growth–defense trade-off at the molecular level. Aligning with their molecular insights, our study delves into the phenotypic manifestations of this trade-off, unraveling trait variations within and across functional groups. Within the realm of grain production, our results showcase a divergence from anticipated patterns, as phenologically identical genotypes in certain groups challenge traditional expectations. The distinct growth strategies observed, with taller plants in specific groups and a higher tiller number in another, underscore the intricate trade-offs these genotypes navigate to optimize resource acquisition. In the context of disease resistance, the prolonged cycles observed in a subset of genotypes suggest a temporal dimension to the growth–defense trade-off,

potentially influencing the competitive dynamics within the mixtures. Our study's integration with Felix *et al.*' (2023), s molecular insights adds depth to our understanding of how genetic variations contribute to the observed phenotypic traits. While the molecular study pointed towards specific gene expressions associated with growth and defense, our phenotypic exploration sheds light on the functional consequences of these genetic dynamics in a holistic agricultural context. The complex trait interactions revealed by our study complement Felix *et al.*'s findings, collectively offering a more comprehensive understanding of the growth–defense trade-off in rice genotypes.

Moving beyond the individual genotypic scale, our study reframes the discourse surrounding crop mixtures, emphasizing the intricate web of interactions that defy conventional hierarchical expectations. The lack of a clear competitive hierarchy among genotypes underlines the multifaceted nature of these interactions, challenging us to consider a more nuanced approach to crop breeding and management. As agriculture seeks sustainable and resilient solutions, our study contributes to the ongoing dialogue on optimizing crop productivity and disease resistance in dynamically changing environments. The advantages observed in rice grain production and disease resistance through genotypes mixture present encouraging prospects for effectively managing cropping systems confronting rapid and intense climate changes like Madagascar. However, it is essential to recognize that the utility of varietal mixtures may have constraints in enhancing the multifunctionality of cropping systems. Farmers are confronted with the critical task of balancing trade-offs, particularly between heightened disease resistance and the potential for reductions in yield when considering the adoption of varietal mixtures. In making this decision, farmers must ensure that their choices are well-informed, taking into account the specific needs and goals of their farming system to optimize the overall sustainability and resilience of their agricultural practices in the face of evolving climatic conditions.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Table S1 : Characteristics of varieties issues of a first experiment trial in field in the West of Vakinankaratra region in 2019-2020 and from Courtois database (2013). For root classification, Shallow-rooted means: Varieties with shallow root systems, characterized by extensive surface branching or fasciculation, and deep-rooted means: Varieties with deep, vertically penetrating roots that do not extensively branch, adapted for greater soil depth and nutrient access.

Variety name	Origin	Cycle(julian days)	Root classification	Plant height (cm)	<i>Pyricularia oryzae</i> resistance
PRIMAVERA	Brazil	136.62	Shallow-rooted	107.3	resistant
EARLY MUTANT	Brazil	132.62	Shallow-rooted	116.2	resistant
IRAT 380	Madagascar	128.50	Shallow-rooted	100.7	resistant
IAC 25	Brazil	134.75	Deep-rooted	114.4	susceptible
IR53236-275-1	Philippines	130.75	Deep-rooted	109.1	resistant
F 161	Madagascar	1370	Deep-rooted	108.8	tolerant
F 152	Madagascar	130.00	Deep-rooted	105.8	susceptible
IRAT 109	Ivory Coast	146.500	Shallow-rooted	96.4	resistant
F 154	Madagascar	128.5	Deep-rooted	107.8	susceptible
DOURADO					
PRECOCE	Brazil	127.50	Deep-rooted	111.4	susceptible

Table S2 : ANOVA performed with the first model showing variations induced by variables not mentioned in the results such as: cropping conditions, block and sub block nested in block indicating the location of the plot in the trial, identity of the variety in mixture and the residuals effect.

Grain yield	Df	Sum_Sq	Mean_Sq	F_value	Pr(>F)	
Cropping conditions	1	6193680	6193680	30.1866	1.45E-07	***
Block	4	2624971	656243	3.1984	0.01462	*
Sub-block nested in block	50	25405004	508100	2.4764	8.91E-06	***
Mixture identity	53	28510616	537936	2.6218	1.62E-06	***
Residuals	166	34059883	205180			
Biomass yield	Df	Sum_Sq	Mean_Sq	F_value	Pr(>F)	
Cropping conditions	1	168179	168179	0.3797	0.5386	
Block	4	42342250	10585563	23.8971	1.27E-15	***
Sub-block nested in block	50	69316232	1386325	3.1297	2.39E-08	***
Mixture identity	53	53835795	1015770	2.2931	3.40E-05	***
Residuals	166	73532140	442965			
Disease incidence	Df	Sum_Sq	Mean_Sq	F_value	Pr(>F)	
Cropping conditions	1	6086	6085.6	73.2131	7.46E-15	***
Block	4	13094	3273.6	39.3828	< 2.2e-16	***
Sub-block nested in block	50	10674	213.5	2.5682	3.90E-06	***
Mixture identity	53	44686	843.1	10.1433	< 2.2e-16	***
Residuals	166	13798	83.1			
Disease severity	Df	Sum_Sq	Mean_Sq	F_value	Pr(>F)	
Cropping conditions	1	64.993	64.993	79.3356	8.91E-16	***
Block	4	88.787	22.197	27.0952	< 2.2e-16	***
Sub-block nested in block	53	221.912	4.187	5.111	3.65E-16	***
Mixture identity	50	137.872	2.757	3.3659	2.84E-09	***
Residuals	166	135.99	0.819			

REFERENCES

- Adler, P. B., Fajardo, A., Kleinhesselink, A. R., & Kraft, N. J. B. (2013). Trait-based tests of coexistence mechanisms. *Ecology Letters*, 16(10), 1294–1306. <https://doi.org/10.1111/ele.12157>
- Alletto, L., Vandewalle, A., & Debaeke, P. (2022). Crop diversification improves cropping system sustainability: An 8-year on-farm experiment in South-Western France. *Agricultural Systems*, 200, 103433. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2022.103433>
- Altieri, M. A., Funes-Monzote, F. R., & Petersen, P. (2012). Agroecologically efficient agricultural systems for smallholder farmers: Contributions to food sovereignty. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0065-6>
- 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>
- Belyea, L. R., & Lancaster, J. (1999). Assembly Rules within a Contingent Ecology. *Oikos*, 86(3), 402–416. <https://doi.org/10.2307/3546646>
- 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>
- Breumier, P., Ramarosandratana, A., Ramanantsoanirina, A., Brocke, K. vom, Marquié, C., Dabat, M.-H., & Raboin, L.-M. (2018). Évaluation participative des impacts de la recherche sur le riz pluvial d'altitude à Madagascar de 1980 à 2015. *Cahiers Agricultures*, 27(1), 15004. <https://doi.org/10.1051/cagri/2017065>
- Brooker, R. W., Bennett, A. E., Cong, W.-F., Daniell, T. J., George, T. S., Hallett, P. D., Hawes, C., Iannetta, P. P. M., Jones, H. G., Karley, A. J., Li, L., McKenzie, B. M., Pakeman, R. J., Paterson, E., Schöb, C., Shen, J., Squire, G., Watson, C. A., Zhang, C., ... White, P. J. (2014). Improving intercropping: A synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytologist*, 206(1), 107–117. <https://doi.org/10.1111/nph.13132>
- C60Goldringer.pdf. (n.d.).
- Cardinale, B. J., Wright, J. P., Cadotte, M. W., Carroll, I. T., Hector, A., Srivastava, D. S., Loreau, M., & Weis, J. J. (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(46), 18123–18128. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709069104>
- Chen, R.-S., Lu, K.-Y., & Yu, S.-C. (2002). A hybrid genetic algorithm approach on multi-objective of assembly planning problem. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 15(5), 447–457. [https://doi.org/10.1016/S0952-1976\(02\)00073-8](https://doi.org/10.1016/S0952-1976(02)00073-8)
- Courtois, B., Audebert, A., Dardou, A., Roques, S., Ghneim-Herrera, T., Droc, G., Frouin, J., Rouan, L., Gozé, E., Kilian, A., Ahmadi, N., & Dingkuhn, M. (2013). Genome-Wide Association Mapping of Root Traits in a Japonica Rice Panel. *PLoS ONE*, 8(11), e78037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078037>
- Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruelheide, H., Ebeling, A., Roscher, C., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B., Beierkuhnlein, C., de Luca, E., Griffin, J. N., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Loreau, M., ... Eisenhauer, N. (2016). Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1694), 20150277. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0277>
- Creissen, H. E., Jorgensen, T. H., & Brown, J. K. M. (2013). Stabilization of yield in plant genotype mixtures through compensation rather than complementation. *Annals of Botany*, 112(7), 1439–1447. <https://doi.org/10.1093/aob/mct209>
- De Boeck, L., & Vandaele, N. (2011). Analytical analysis of a generic assembly system. *International Journal of Production Economics*, 131(1), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2010.04.036>
- De Tombeur, F., Péliissier, R., Shihan, A., Rahajaharilaza, K., Fort, F., Mahaut, L., Lemoine, T., Thorne, S. J., Hartley, S. E., Luquet, D., Fabre, D., Lambers, H., Morel, J.-B., Ballini, E., & Violle, C. (2023). Growth–defence trade-off in rice: Fast-growing and acquisitive genotypes have lower expression of genes involved in immunity. *Journal of Experimental Botany*, 74(10), 3094–3103. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad071>

- Eggermont, H., Balian, E., Azevedo, J. M. N., Beumer, V., Brodin, T., Claudet, J., Fady, B., Grube, M., Keune, H., Lamarque, P., Reuter, K., Smith, M., van Ham, C., Weisser, W. W., & Le Roux, X. (2015). Nature-based Solutions: New Influence for Environmental Management and Research in Europe. *GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society*, 24(4), 243–248. <https://doi.org/10.14512/gaia.24.4.9>
- Ekroth, A. K. E., Rafaluk-Mohr, C., & King, K. C. (2019). Diversity and disease: Evidence for the monoculture effect beyond agricultural systems [Preprint]. *Ecology*. <https://doi.org/10.1101/668228>
- Finckh, M. R., & Mundt, C. C. (1992). Plant competition and disease in genetically diverse wheat populations. *Oecologia*, 91(1), 82–92. <https://doi.org/10.1007/BF00317245>
- Finn, J. A., Kirwan, L., Connolly, J., Sebastià, M. T., Helgadottir, A., Baadshaug, O. H., Bélanger, G., Black, A., Brophy, C., Collins, R. P., Čop, J., Dalmanndóttir, S., Delgado, I., Elgersma, A., Fothergill, M., Frankow-Lindberg, B. E., Ghesquiere, A., Golinska, B., Golinski, P., ... Lüscher, A. (2013). Ecosystem function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: A 3-year continental-scale field experiment. *Journal of Applied Ecology*, 50(2), 365–375. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12041>
- Gaba, S., Lescourret, F., Boudsocq, S., Enjalbert, J., Hinsinger, P., Journet, E.-P., Navas, M.-L., Wery, J., Louarn, G., Malézieux, E., Pelzer, E., Prudent, M., & Ozier-Lafontaine, H. (2015). Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: From concepts to design. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 607–623. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0272-z>
- Gamfeldt, L., Hillebrand, H., & Jonsson, P. R. (2008). MULTIPLE FUNCTIONS INCREASE THE IMPORTANCE OF BIODIVERSITY FOR OVERALL ECOSYSTEM FUNCTIONING. *Ecology*, 89(5), 1223–1231. <https://doi.org/10.1890/06-2091.1>
- Gladieux, P., Ravel, S., Rieux, A., Cros-Arteil, S., Adreit, H., Milazzo, J., Thierry, M., Fournier, E., Terauchi, R., & Tharreau, D. (2018). Coexistence of Multiple Endemic and Pandemic Lineages of the Rice Blast Pathogen. *mBio*, 9(2), 10.1128/mbio.01806-17. <https://doi.org/10.1128/mbio.01806-17>
- Glaubitz, J. C., Casstevens, T. M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R. J., Sun, Q., & Buckler, E. S. (2014). TASSEL-GBS: A High-Capacity Genotyping by Sequencing Analysis Pipeline. *PLoS ONE*, 9(2), e90346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>
- Götzenberger, L., Bello, F., Bråthen, K., Davison, J., Dubuis, A., Guisan, A., Leps, J., Lindborg, R., Moora, M., Pärtel, M., Pellissier, L., Pottier, J., Vittoz, P., Zobel, K., & Zobel, M. (2012). Ecological assembly rules in plant communities—Approaches, patterns and prospects. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 87, 111–127. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00187.x>
- Grime, J. P. (1977). Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. *The American Naturalist*, 111(982), 1169–1194. <https://doi.org/10.1086/283244>
- Grime, J. P. (2003). Ecological Assembly Rules: Perspective, Advances, and Retreats. *Journal of Vegetation Science*, 14(1), 139. [https://doi.org/10.1658/1100-9233\(2003\)014\[0139:BR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1658/1100-9233(2003)014[0139:BR]2.0.CO;2)
- Hayashi, K. (2006). DEALING WITH MULTIPLE OBJECTIVES IN AGRICULTURE. *Handbook Of Operations Research in Natural Resources*, 99(ISOR), 17–31. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71815-6_2
- Hector, A., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Spehn, E. M., Wacker, L., Weilenmann, M., Bazeley-White, E., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M. C., Dimitrakopoulos, P. G., Finn, J. A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Leadley, P. W., Loreau, M., Mulder, C. P. H., NEEHÖVER, C., Palmberg, C., ... Troumbis, A. Y. (2007). Biodiversity and ecosystem functioning: Reconciling the results of experimental and observational studies. *Functional Ecology*, 21(5), 998–1002. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01308.x>
- Hooper, Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J., & Wardle, D. A. (2005). EFFECTS OF BIODIVERSITY ON ECOSYSTEM FUNCTIONING: A CONSENSUS OF CURRENT KNOWLEDGE. *Ecological Monographs*, 75(1), 3–35. <https://doi.org/10.1890/04-0922>
- Isbell, F. (2015). Agroecology: Agroecosystem diversification. *Nature Plants*, 1(4), 15041. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.41>
- Jaillard, B., Deleporte, P., Isbell, F., Loreau, M., & Violle, C. (2021). Consistent functional clusters explain the effects of biodiversity on ecosystem productivity in a long-term experiment. *Ecology*, 102(9), e03441. <https://doi.org/10.1002/ecy.3441>

- Jaillard, B., Deleporte, P., Loreau, M., & Violle, C. (2018). A combinatorial analysis using observational data identifies species that govern ecosystem functioning. *PLOS ONE*, 13(8), e0201135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201135>
- Jaillard, B., Richon, C., Deleporte, P., Loreau, M., & Violle, C. (2018). An a posteriori species clustering for quantifying the effects of species interactions on ecosystem functioning. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(3), 704–715. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12920>
- Jucker, T., & Coomes, D. A. (2012). Comment on “Plant Species Richness and Ecosystem Multifunctionality in Global Drylands.” *Science*, 337(6091), 155–155. <https://doi.org/10.1126/science.1220473>
- Kiær, L. P., Skovgaard, I. M., & Østergård, H. (2012). Effects of inter-varietal diversity, biotic stresses and environmental productivity on grain yield of spring barley variety mixtures. *Euphytica*, 185(1), 123–138. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0640-1>
- Kopp, E. B., Niklaus, P. A., & Wuest, S. E. (2023). Ecological principles to guide the development of crop variety mixtures. *Journal of Plant Ecology*, rtad017. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtad017>
- Larmande, P. (2015, January 12). Genotype Investigator for Genome Wide Analysis (GIGwA). Plant and Animal Genome XXIII Conference. <https://pag.confex.com/pag/xxiii/webprogram/Paper16929.html>
- Li, C., Stomph, T.-J., Makowski, D., Li, H., Zhang, C., Zhang, F., & Van Der Werf, W. (2023). The productive performance of intercropping. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(2), e2201886120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201886120>
- Li, L., Li, S.-M., Sun, J.-H., Zhou, L.-L., Bao, X.-G., Zhang, H.-G., & Zhang, F.-S. (2007). Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11192–11196. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704591104>
- Lin, B. B. (2011). Resilience in Agriculture through Crop Diversification: Adaptive Management for Environmental Change. *BioScience*, 61(3), 183–193. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.3.4>
- 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>
- Maestre, F. T., Callaway, R. M., Valladares, F., & Lortie, C. J. (2009). Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology*, 97(2), 199–205. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x>
- Mahaut, L., Violle, C., Shihan, A., Péliissier, R., Morel, J., De Tombeur, F., Rahajaharilaza, K., Fabre, D., Luquet, D., Hartley, S., Thorne, S. J., Ballini, E., & Fort, F. (2023). Beyond trait distances: Functional distinctiveness captures the outcome of plant competition. *Functional Ecology*, 1365-2435.14397. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14397>
- Malézieux, E. (2012). Designing cropping systems from nature. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 15–29. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0027-z>
- Montazeaud, G., Violle, C., Fréville, H., Luquet, D., Ahmadi, N., Courtois, B., Bouhaba, I., & Fort, F. (2018). Crop mixtures: Does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs. *Plant and Soil*, 424(1–2), 187–202. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2>
- 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(11), 2285–2295. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>
- Patterson, H. D., & Williams, E. R. (1976). A new class of resolvable incomplete block designs. *Incomplete Block Designs*, 10.
- Péliissier, R., Buendia, L., Brousse, A., Temple, C., Ballini, E., Fort, F., Violle, C., & Morel, J.-B. (2021). Plant neighbour-modulated susceptibility to pathogens in intraspecific mixtures. *Journal of Experimental Botany*, 72(18), 6570–6580. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab277>
- Péliissier, R., Ducasse, A., Ballini, E., Frouin, J., Violle, C., & Morel, J. (2023). A major genetic locus in neighbours’ controls changes of gene expression and susceptibility in intraspecific rice mixtures. *New Phytologist*, 238(2), 835–844. <https://doi.org/10.1111/nph.18778>

- Qi, H., Yang, J., Yin, C., Zhao, J., Ren, X., Jia, S., & Zhang, G. (2019). Analysis of *Pyricularia oryzae* and *P. grisea* from Different Hosts Based on Multilocus Phylogeny and Pathogenicity Associated with Host Preference in China. *Phytopathology*®, 109(8), 1433–1440. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-18-0383-R>
- Raboin, Ramanantsoanirina, A., Dusserre, J., Razasolofonahary, F., Tharreau, D., Lannou, C., & Sester, M. (2012). Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem: Cultivar mixtures and blast in upland rice. *Plant Pathology*, 61(6), 1103–1111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02602.x>
- Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Raboin, L.-M., Frouin, J., Perrier, X., Brabant, P., & Ahmadi, N. (2013). The original features of rice (*Oryza sativa* L.) genetic diversity and the importance of within-variety diversity in the highlands of Madagascar build a strong case for in situ conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(1), 311–323. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9837-3>
- Rahajaharilaza, K., Muller, B., Violle, C., Brocke, K. vom, Ramavovololona, Morel, J. B., Balini, E., & Fort, F. (2023). Upland rice varietal mixtures in Madagascar: Evaluating the effects of varietal interaction on crop performance. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1266704>
- Rakotoson, T., Dusserre, J., Letourmy, P., Frouin, J., Ratsimala, I. R., Rakotoarisoa, N. V., Brocke, K. V., Ramanantsoanirina, A., Ahmadi, N., & Raboin, L.-M. (2021). Genome Wide Association Study of Nitrogen Use Efficiency and Related Agronomic Traits in Upland Rice. *Rice Science*, 28(3), 13.
- Raminoarison, M., Razafimbelo, T., Rakotoson, T., Becquer, T., Blanchart, E., & Trap, J. (2020). Multiple-nutrient limitation of upland rainfed rice in ferralsols: A greenhouse nutrient-omission trial. *Journal of Plant Nutrition*, 43(2), 270–284. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1676906>
- Reiss, E. R., & Drinkwater, L. E. (2018). Cultivar mixtures: A meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications*, 28(1), 62–77. <https://doi.org/10.1002/eap.1629>
- Schaffrath, U., Scheinplug, H., & Reisener, H. J. (1995). An elicitor from *Pyricularia oryzae* induces resistance responses in rice: Isolation, characterization and physiological properties. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 46(4), 293–307. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1995.1023>
- Skamnioti, P., & Gurr, S. J. (2009). Against the grain: Safeguarding rice from rice blast disease. *Trends in Biotechnology*, 27(3), 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.12.002>
- Snyder, L. D., Gómez, M. I., & Power, A. G. (2020). Crop Varietal Mixtures as a Strategy to Support Insect Pest Control, Yield, Economic, and Nutritional Services. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 60. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00060>
- Temperton, V. M., Hobbs, R. J., Nuttle, T., & Halle, S. (2005). Assembly Rules and Restoration Ecology: Bridging the Gap Between Theory and Practice. *Restoration Ecology*, 13(3), 580–581. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2005.00074.x>
- Tittonell, P., & Giller, K. E. (2013). When yield gaps are poverty traps: The paradigm of ecological intensification in African smallholder agriculture. *Field Crops Research*, 143, 76–90. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.007>
- Tooker, J. F., & Frank, S. D. (2012). Genotypically diverse cultivar mixtures for insect pest management and increased crop yields. *Journal of Applied Ecology*, 49(5), 974–985. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02173.x>
- Vernooy, R. (2022). Does crop diversification lead to climate-related resilience? Improving the theory through insights on practice. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 46(6), 877–901. <https://doi.org/10.1080/21683565.2022.2076184>
- Verret, V., Pelzer, E., Bedoussac, L., & Jeuffroy, M.-H. (2020). Tracking on-farm innovative practices to support crop mixture design: The case of annual mixtures including a legume crop. *European Journal of Agronomy*, 115, 126018. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126018>
- Vidal, T., Saint-Jean, S., Lusley, P., Leconte, M., Ben Krime, S., Boixel, A., Wheatamix Consortium, & Vallavieille-Pope, C. (2020). Cultivar mixture effects on disease and yield remain despite diversity in wheat height and earliness. *Plant Pathology*, 69(6), 1148–1160. <https://doi.org/10.1111/ppa.13200>
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., & Fortunel, C. (2007). Let the Concept of Trait Be Functional! 12.

- Wang, Isbell, F., Deng, W., Hong, P., Dee, L. E., Thompson, P., & Loreau, M. (2021). How complementarity and selection affect the relationship between ecosystem functioning and stability. *Ecology*, 102(6). <https://doi.org/10.1002/ecy.3347>
- Wolfe, M. S. (2000). Crop strength through diversity. *Nature*, 406(6797), 681–682. <https://doi.org/10.1038/35021152>
- Wuest, S. E., Peter, R., & Niklaus, P. A. (2021). Ecological and evolutionary approaches to improving crop variety mixtures. *Nature Ecology & Evolution*, 5(8), 1068–1077. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01497-x>
- Yau, S. K. (1997). Efficiency of alpha-lattice designs in international variety yield trials of barley and wheat. *The Journal of Agricultural Science*, 128(1), 5–9. <https://doi.org/10.1017/S0021859696003966>
- Zhang, Luo, J., Rossman, A. Y., Aoki, T., Chuma, I., Crous, P. W., Dean, R., De Vries, R. P., Donofrio, N., Hyde, K. D., Lebrun, M.-H., Talbot, N. J., Tharreau, D., Tosa, Y., Valent, B., Wang, Z., & Xu, J.-R. (2016). Generic names in Magnaporthales. *IMA-Fungus*, 7(1), 155–159. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2016.07.01.09>
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J., Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T. W., Teng, P. S., Wang, Z., & Mundt, C. C. (2000). Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 406(6797), 718–722. <https://doi.org/10.1038/35021046>

CHAPITRE III :

Evaluation par différents agencements spatiaux sous deux conditions agroécologiques différentes

Ce troisième chapitre aborde des études sur deux sites différents dans le Moyen Ouest de Vakinankaratra et vise à déterminer si les performances des mélanges variétaux de riz pluvial peuvent dépendre des conditions agroécologiques et climatiques des sites mais aussi des différents modes d'agencement des mélanges. La synthèse des différentes parties de ce chapitre est présenté ci-après.

Introduction

Le riz est un aliment de base pour plus de la moitié de la population mondiale, ce qui le rend crucial pour assurer la sécurité alimentaire. (Breumier *et al.*, 2018 ; Gérardeaux *et al.*, 2021 ; OECD-FAO, 2023). Les pratiques conventionnelles de culture du riz ont des effets négatifs sur l'environnement, tels que la perte de biodiversité et la dégradation des sols (Malézieux, 2012). En particulier, Madagascar est confronté à des défis dans la culture du riz en raison des différentes maladies comme la pyriculariose (*Pyricularia oryzae*) et le BLB (*Bacterial Leaf Blight*), ainsi que des mauvaises herbes telle que le *Striga asiatica* et enfin d'autres ravageurs comme les pucerons et le vers blancs (Husson *et al.*, 2008; Randriamanantsoa *et al.*, 2010). Tous ceux-ci s'ajoutent aux conditions météorologiques imprévisibles en plus des impacts du changement climatique (Balasubramanian *et al.*, 2007). La diversité peut avoir un impact positif sur le fonctionnement des écosystèmes en palliant tous ses challenges. Divers mécanismes expliquent la relation entre la biodiversité et le fonctionnement des communautés justifiant les effets bénéfiques (Boero, 2015; Naeem *et al.*, 2012). L'introduction de la diversité dans les champs peut augmenter la productivité et réduire les maladies (Loreau and Hector, 2001; Wang *et al.*, 2021). C'est pourquoi nous avons choisi d'explorer les avantages potentiels des mélanges variétaux dans la production de riz pluvial. Nous voulons obtenir des avantages tels que l'augmentation de la productivité, la stabilité et la durabilité face aux différentes contraintes. Les performances de cultures peuvent être influencées par différents paramètres tels que la disposition ou l'agencement spatiale et la densité des plantes (Gaudio *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2020). La disposition spatiale optimale pour les mélanges variétaux n'est pas encore clairement définie par la littérature jusqu'à présent. En outre, le contexte écologique et les conditions climatiques peuvent aussi avoir un impact sur la croissance et la production des plantes ainsi influencer les performances des mélanges variétaux. Des recherches supplémentaires dans ce domaine sont donc nécessaires pour comprendre les relations entre l'agencement, les conditions environnementales et les performances des cultures. Le but de cette étude est d'évaluer l'effet de différents agencements spatiaux sur la performance des mélanges variétaux de riz pluvial dans deux sites différents. Nous avons trois objectifs : (i) comparer les performances des cultures de riz en culture pures et en mélanges disposés en lignes et en damier, (ii) évaluer

l'impact de l'équitabilité ou la densité des mélanges sur les performances des cultures et (iii) étudier les mécanismes écologiques qui peuvent expliquer les effets observés. Les trois hypothèses testées sont : H1 : Les cultures de riz en mélanges, disposées en lignes ou en damier, présenteront des performances agronomiques différentes par rapport aux cultures en pures. H2 : Une équitabilité de densité de mélanges entraînera une meilleure utilisation des ressources disponibles et H3 : Les mécanismes écologiques, tels que la compétition interspécifique et la complémentarité des ressources, joueront un rôle déterminant dans les effets observés des mélanges variétaux

Matériels et méthodes

L'étude a été menée dans deux localités différentes : Ankazomiriotra (site ANK) et Ivory (site IVO), qui présentent des conditions agroécologiques contrastées. Les sites sont contrastés en termes de propriétés du sol, de climat, d'altitude et d'historique de parcelle. La différence la plus marquée entre ces sites est la fertilisation. Le site ANK a été fertilisé comme dans la pratique des agriculteurs avec du fumier bovin et un peu d'urée. Le site IVO a reçu une fertilisation optimum avec du fumier bovin, du NPK et de l'urée.

Les variétés choisies, EARLY MUTANT IAC 25 (V1), F152 (V2), F154 (V3), et DOURADO PRECOCE (V4), ont été sélectionnées sur la base des résultats du premier essai (Chapitre 1). Elles sont différentes sur leur caractéristiques phénotypiques, leur performance agronomique ainsi qu'à leur niveau de résistance à la *Pyriculariose*. Les longueurs de cycle de ces quatre variétés sont les mêmes. Le dispositif expérimental est composé de cultures pures des quatre variétés et des parcelles en mélanges associant ces variétés deux à deux. Deux types d'agencement des cultures ont été adoptés : les mélanges en ligne et les mélanges en damier, ainsi que trois densités de plantes différentes. Pour les mélanges en ligne, la proportion des variétés dans les mélanges est variée pour obtenir des densités ou répartitions différentes. Les différentes densités de mélange établis sont : la densité équilibrée avec 50 % de chaque variété (50 %-50 %), une deuxième densité déséquilibrée (67 %-33 %) et enfin la répartition la plus déséquilibrée (75 %-25 %). Les mélanges 50-50 ont été réalisés en lignes alternées 1 par 1 (appelés L1/1) ou en damier (appelées CBD). De même, les mélanges 67-33 ont été réalisés en lignes alternées 1 sur 2 (appelées L1/2) et les mélanges 75-25 ont été réalisés en lignes alternées 1 sur 3 (appelées L1/3). Le dispositif expérimental répartit les parcelles en cinq blocs complets selon le type « split plot ». Chaque parcelle a une longueur de 2,4 m et une largeur de 2 m, ce qui donne une surface totale de 4,8 m² avec 120 poquets distants de 20 cm les uns des autres.

Les mesures effectuées sur les plantes pendant l'expérimentation ont consisté à évaluer la performance des mélanges variétaux en présence de stress biotiques, notamment l'infection par le *Striga*, l'incidence et la sévérité de la maladie pyriculariose et l'infection de la maladie BLB. Le rendement en grain et le rendement en biomasses ont été calculés à partir des poids de grains et de biomasses végétatives récoltées sur chaque parcelle. Ensuite, la productivité relative des mélanges a été calculée à partir du RYT ainsi que la résistance relative des mélanges par le RRT (Hooper and Dukes, 2003; Weigelt *et al.*, 2021). Ces deux indices permettent d'estimer les potentiels gains en rendement et la résistance induite dans les mélanges par rapport aux cultures pures. Ils permettent donc d'avoir des valeurs sur les performances des mélanges variétaux. Les analyses statistiques ont été effectuées sur R version 4.2.2. Les différences de moyennes ont été testées avec la méthode d'ANOVA sur toutes les mesures citées précédemment. Ensuite les indices RYT et RRT ont été évalués avec des valeurs de référence en utilisant le test de Student. Les différences de moyennes entre chaque agencement spatial sont ensuite testées avec un test post hoc de Fischer.

Résultats

Les résultats ont montré que les mélanges ont un rendement en grain et en biomasse significativement plus élevé que les cultures pures. L'effet positif du mélange sur le rendement en grains et en biomasse était significatif sur les deux indices testés. Les rendements relatifs totaux (RYT) pour les deux sites étaient supérieurs à la valeur de référence, indiquant un gain moyen de 45% sur le rendement en grains et de 33% sur le rendement en biomasse. L'étude a également démontré que l'infection de la maladie pyriculariose sur les feuilles et les panicules ont été plus faible dans les mélanges que dans le cas des cultures pures. Nous avons constaté une réduction moyenne de 10% de l'incidence de la maladie et de 39% de la sévérité de la maladie. Cependant, aucune différence significative entre les mélanges et les cultures pures n'a été trouvée pour l'infection de la maladie BLB et le mauvais herbe *Striga*. C'est seulement dans le site IVO que l'infection par le pathogène *Pyricularia oryzae* est arrivée jusqu'aux panicules et que les symptômes de la maladie BLB n'ont été notés que dans ce site. La mauvaise herbe parasite *Striga* quant à elle n'a fait de grosses invasions que dans le site ANK.

Des variations significatives des rendements ont été observées entre les deux sites expérimentaux. Le site IVO, qui a été fortement fertilisé, a eu des rendements significativement plus élevés que le site ANK, avec une différence de 631g.m² en rendement en grains et de 363g.m² en rendement en biomasse. En revanche, le RYT évaluant la performance du mélange a indiqué un gain plus élevé sur le site ANK, 54% de gain en rendement en grains et 44% de gain en rendement en biomasse. Des différences significatives dans l'infection et la résistance

à la maladie pyriculariose ont été observées entre les deux sites expérimentaux. La résistance à la maladie a été très efficace sur le site IVO, l'incidence de la maladie a été réduite de 15 % et sa sévérité de 38 %. Alors que sur le site ANK, l'incidence de *Pyricularia oryzae* n'a pas été réduite par les mélanges.

En ce qui concerne les effets des arrangements spatiaux, la modalité la plus déséquilibrée (L1/3) a montré un RYT plus élevé pour le rendement en grains sur les deux sites, mettant en évidence l'importance d'une composition variétale adéquate dans les mélanges. Les dispositions en damier (CBD) et en ligne (L1/1) donnent les mêmes résultats. Les meilleurs gains en rendement ont été obtenus dans les associations de 75% de la variété EARLY MUTANT IAC 165 et 25% des variétés F152 ou F154.

Discussions

Dans cette étude les performances des mélanges ont été évaluées par rapport aux cultures pures en termes de rendement en grains et en biomasse ainsi qu'en terme de résistance aux maladies en tenant en compte les effets des arrangements spatiaux. Les résultats indiquent les avantages du mélange variétal avec un effet positif du mélange sur le rendement en grains et en biomasse. Les résultats sont cohérents avec des études antérieures sur le riz ou d'autres cultures (Borget *et al.*, 2018; Montazeaud *et al.*, 2020b). L'étude a également démontré une plus faible infection par la *Pyricularia oryzae* dans les mélanges par rapport aux cultures pures. Ces résultats soulignent que les mélanges variétaux peuvent contribuer à réduire l'impact de cette maladie fongique sur le développement des cultures, comme l'ont montré Gallet *et al.* en (2014) et Raboin *et al.* en (2012).

Le site IVO qui a reçu une fertilisation optimum est plus productif parce que les plantes reçoivent plus de nutriments, ce qui conduit à une meilleure croissance (Barot *et al.*, 2017; Grzyb *et al.*, 2020). Des gains plus importants en rendement sont relevés dans le site ANK grâce aux mélanges. Ceci peut être expliqué par les facteurs environnementaux et la disponibilité des nutriments dans les sites qui ont eu un impact sur la production dans les mélanges variétaux (Lambers *et al.*, 2008). D'après nos résultats, les effets des mélanges sont plus prononcés sur un site moins fertilisé que sur un site plus fertilisé avec du NPK et de l'urée. Lorsque la disponibilité des nutriments est limitée, les plantes sont plus dépendantes les unes des autres, de sorte que les avantages du mélange sont plus évidents. La complémentarité des ressources est l'un des mécanismes qui peuvent être à l'origine des effets positifs des mélanges dans ce cas (Cook-Patton *et al.*, 2011). En fonction d'elles-mêmes, différentes espèces ou variétés de plantes peuvent utiliser efficacement des ressources telles que la lumière, l'eau et les nutriments, ce qui se traduit par une meilleure utilisation globale des ressources et une augmentation de la

productivité des cultures (Bakker *et al.*, 2016; Craven *et al.*, 2016; Loreau, 1998). En revanche, dans un site plus fertilisé, les plantes peuvent être moins dépendantes les unes des autres, de sorte que les avantages du mélange ne sont pas aussi prononcés. L'effet de la fertilisation sur les performances des plantes est bien établi, et l'on sait que différents niveaux de fertilisation peuvent entraîner des différences significatives dans la croissance et le rendement des plantes (Grime, 1977).

Des différences significatives dans l'infection et la résistance aux maladies, l'invasion des mauvaises herbes ont été observées entre les sites expérimentaux. Des recherches antérieures expliquent nos résultats, à l'exemple d'Ekroth *et al.* en (2019) qui ont observé que la population génétiquement homogène est plus sensible à l'infection des parasites. La réduction de l'infection par la maladie est plus efficace dans le site IVO. La littérature ne mentionne pas qu'une fertilisation plus importante peut renforcer l'impact des mélanges variétaux sur la résistance aux maladies. Mais cet effet peut s'expliquer par la plus forte croissance des plantes sur le site IVO, due à une plus grande disponibilité des nutriments (Grzyb *et al.*, 2020). On peut considérer que la bonne fertilité du sol du site IVO entraîne une teneur en eau plus élevées que le site ANK, ce qui peut faciliter la croissance et le développement des plants de riz et leur capacité à résister aux maladies (Li *et al.*, 2007; Zhu and Morel, 2019). Les différences observées dans l'incidence et la sévérité de la maladie pyriculariose (*Pyricularia oryzae*) entre les deux sites pourraient également être attribuées à des mécanismes écologiques spécifiques tels que l'effet de dilution ou l'effet de barrière (Ekroth *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2000). Nos résultats s'alignent sur des recherches antérieures qui ont démontré le potentiel des mélanges à réduire la pression des ravageurs et des maladies grâce à la réduction ou suppression des pathogènes sous des conditions écologiques spécifiques (faible fertilisation) (Pélissier *et al.*, 2021a). Les résultats démontrent les avantages de la culture en mélange dans un contexte différent. Ils soulignent également la nécessité de prendre en compte les spécificités du site lors de la mise en œuvre de stratégies de mélanges interspécifiques.

En ce qui concerne les résultats relatifs à la disposition spatiale, les dispositions en damier et en ligne (L1/1) ont eu la même performance, ce qui facilite le choix lors d'une adoption de mélange à 50/50. La modalité la plus déséquilibrée (L1/3) a montré un RYT plus élevé pour le rendement en grains sur les deux sites. Cela veut dire que les performances des mélanges sont plus prononcées avec une composition à 75% pour une variété (en trois ligne) et d'une autre à 25% (en une ligne). Il s'agit de la variété EARLY MUTANT IAC 165 qui a une hauteur élevée avec beaucoup de feuilles. Les meilleures valeurs de RYT en rendement en grain et en biomasse sont obtenues lorsqu'elle représente 75% de la parcelle associées aux variétés F152 et F154 à

25%. En outre, la sélection de variété performante telle que EARLY MUTANT IAC 165 à une densité élevée associée à des variétés plus petites avec beaucoup de racines (F152 et F154), a contribué à l'amélioration des performances de rendement. Notre étude conclut que le choix d'une composition variétale appropriée et d'arrangements spatiaux déséquilibrés peut améliorer les rendements en grains et en biomasse dans les mélanges de riz pluvial. D'autres recherches sont nécessaires pour savoir comment les différentes dispositions spatiales et les rapports de densité ont un impact sur les interactions compétitives et l'allocation des ressources entre les plantes. L'étude a été menée sur une seule saison de croissance, ce qui limite la généralisation des résultats. Les résultats de cette étude montrent un grand avantage du mélange variétal, mais ils sont également limités par les conditions et les lieux spécifiques dans lesquels l'étude a été menée.

Conclusion et perspectives

Notre étude met en évidence les avantages du mélange variétal dans la riziculture pluviale du Moyen-Ouest de Madagascar. Les caractéristiques spécifiques de la culture du riz à Madagascar peuvent interagir avec de nombreux mécanismes écologiques. La compréhension des mécanismes écologiques est cruciale pour optimiser les systèmes de culture en mélange et améliorer la durabilité de la production de riz. Notre étude fournit des informations précieuses sur les mécanismes écologiques qui sous-tendent les effets positifs des mélanges variétaux dans la production de riz. En améliorant notre compréhension de ces mécanismes, nous pouvons mieux concevoir et mettre en œuvre des pratiques agricoles durables qui maximisent le rendement et minimisent les impacts négatifs sur l'environnement. Nos résultats suggèrent également que le mélange variétal peut être une stratégie viable pour améliorer la production de riz sur les hautes terres de Madagascar, en particulier si l'on considère les avantages de la suppression des maladies et de l'amélioration du rendement. Ces résultats sont cohérents avec les recherches précédentes et soulignent le potentiel des mélanges en tant que pratique agricole durable (Creissen *et al.*, 2016). Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes écologiques sous-jacents et pour optimiser les stratégies de culture intercalaire en fonction des conditions spécifiques à chaque site. Enfin les agriculteurs malgaches dépendent fortement de l'agriculture pour leur subsistance et sont très vulnérables à toute perturbation de leurs pratiques agricoles. Par conséquent, la mise en œuvre réussie de mélanges variétaux sur les Hautes terres de Madagascar nécessite un examen attentif des défis et limites pour assurer à la fois leur efficacité et leur durabilité.

Author's personal copy



OPEN ACCESS

EDITED BY

Hans-Peter Kaul,

University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Austria

REVIEWED BY

Wopke Van Der Werf,

Wageningen University and Research, Netherlands

Babu Ram Pandey,

Grains Innovation Park, Australia

*CORRESPONDENCE

Koloina Rahajaharilaza ✉
harilazakoloina@gmail.com

RECEIVED 26 July 2023

ACCEPTED 25 October 2023

PUBLISHED 20 November 2023

CITATION

Rahajaharilaza K, Muller B, Violle C, Brocke Kv, Ramavovololona, Morel JB, Balini E and Fort F (2023) Upland rice varietal mixtures in Madagascar: evaluating the effects of varietal interaction on crop performance.

Front. Plant Sci. 14:1266704.
doi: 10.3389/fpls.2023.1266704

COPYRIGHT

© 2023 Rahajaharilaza, Muller, Violle, Brocke, Ramavovololona, Morel, Balini and Fort. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](#). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Upland rice varietal mixtures in Madagascar: evaluating the effects of varietal interaction on crop performance

Koloina Rahajaharilaza^{1,2,3*}, Bertrand Muller^{2,3,4}, Cyrille Violle⁵, Kirsten vom Brocke^{2,4}, Ramavovololona¹, Jean Benoît Morel⁶, Elsa Balini⁶ and Florian Fort⁷

¹University of Antananarivo, Faculty of Sciences, Antananarivo, Madagascar, ²CIRAD, UMR AGAP Institut, Montpellier, France, ³Dispositif en Partenariat Système de Production d'Altitudes Durables, CIRAD, Antsirabe, Madagascar, ⁴UMR AGAP Institut, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France, ⁵CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France, ⁶PHIM Plant Health Institute, Université de Montpellier, INRAE, CIRAD, Institut Agro, IRD, Montpellier, France,

⁷CEFE, Univ. Montpellier, L'Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

Introduction: Rice plays a critical role in human livelihoods and food security. However, its cultivation requires inputs that are not accessible to all farming communities and can have negative effects on ecosystems. simultaneously, ecological research demonstrates that biodiversity management within fields contributes to ecosystem functioning.

Methods: This study aims to evaluate the mixture effect of four functionally distinct rice varieties in terms of characteristics and agronomic performance and their spatial arrangement on the upland rice performance in the highlands of Madagascar. The study was conducted during the 2021-2022 rainfall season at two close sites in Madagascar. Both sites differ from each other's in soil properties and soil fertility management. The experimental design at each site included three modalities: i) plot composition, i.e., pure stand or binary mixture; ii) the balance between the varieties within a mixture; iii) and for the balanced mixture (50% of each variety), the spatial arrangement, i.e., row or checkerboard patterns. Data were collected on yields (grain and biomass), and resistance to *Striga asiatica* infestation, *Pyricularia oryzae* and bacterial leaf blight (BLB) caused by *Xanthomonas oryzae-pv* from each plot.

Results and discussion: Varietal mixtures produced significantly higher grain and biomass yields, and significantly lower incidence of *Pyricularia oryzae* compared to pure stands. No significant differences were observed for BLB and *striga* infestation. These effects were influenced by site fertility, the less fertilized site showed stronger mixture effects with greater gains in grain yield (60%) and biomass yield (42%). The most unbalanced repartition (75% and 25% of each variety) showed the greatest mixture effect for grain yield at both sites, with a strong impact of the varietal identity within the plot. The mixture was most effective when EARLY_MUTANT_IAC_165 constituted 75% of the density associated with other varieties at 25% density. The assessment of the net effect ratio of disease, an index evaluating the mixture effect in disease reduction,

indicated improved disease resistance in mixtures, regardless of site conditions. Our study in limited environments suggests that varietal mixtures can enhance rice productivity, especially in low-input situations. Further research is needed to understand the ecological mechanisms behind the positive mixture effect.

KEYWORDS

crop management, upland rice, biodiversity, varietal mixtures, ecosystem functioning and productivity, disease resistance.

1. Introduction

Rice is a staple food for over half of the world's population, thus making it an essential crop in ensuring food security (Breumier *et al.*, 2018; Gérardaux *et al.*, 2021; OECD-FAO, 2023). In Madagascar, like in many African countries, rice is grown mainly in upland and lowland areas (Radanielina *et al.*, 2013). However, its cultivation is challenged by high incidence of pests and diseases, soil degradation, and unpredictable weather conditions (Balasubramanian *et al.*, 2007; Gérardaux *et al.*, 2012; Raboin *et al.*, 2014). Conventional agricultural practices used for growing monoculture or the cultivation of pure stands of some resilient varieties like CHOMRRHONG DHAN and NERICA have come under scrutiny due to their negative environmental impacts, including the loss of biodiversity, water pollution, and soil degradation (Malézieux, 2012). These constraints collectively contribute to increase vulnerability of crops to biotic and abiotic stresses (Raboin *et al.*, 2013) and pose a significant challenge in sustaining upland rice production without detrimental environmental impacts.

Genotypic diversity has a positive effect on the functioning of ecosystems and enhance diverse ecological services (Naeem *et al.*, 2012; Boero, 2015; Turnbull *et al.*, 2016; Panda *et al.*, 2021). Moreover, research in functional and community ecology has been carried out to understand the mechanisms underlying biodiversity effect on ecosystems (Cardinale *et al.*, 2012; Jucker and Coomes, 2012). Ecologists have developed and tested various hypotheses on the mechanisms to understand the link between community functioning and diversity (Cardinale *et al.*, 2011; Miele *et al.*, 2018). Two major mechanisms have been identified: the complementarity effect and the selection effect (Loreau and Hector, 2001; Wang *et al.*, 2021). These mechanisms are linked to the fact that different species or genotypes fulfil different functions that contributes to the functioning of ecosystems (Yachi and Loreau, 1999; Hooper *et al.*, 2005). The complementary effect is defined as the positive effect of increasing diversity due to the efficient partitioning of the available resources or positive interaction among species. The selection effect is due to the dominance of one or several species or genotypes well-adapted to the environmental conditions faced by the community (Loreau and Hector, 2001; Wang *et al.*, 2021). Cardinale *et al.* (2007) demonstrate that, although mixtures generally produce more biomass than monocultures, only a few outperform the best-performing monoculture. This emphasizes the significant role of species complementarity. These findings have resonated with agronomic.

sciences, which are increasingly exploring the role of biodiversity in agroecosystem functionality (Altieri, 1999; Feledyn-Szewczyk *et al.*, 2016; Barot *et al.*, 2017). A wide range of studies has shown that introducing diversity into a field can lead to increased productivity, whether through inter-specific diversity (Cardinale *et al.*, 2002; Gaudio *et al.*, 2021) or intra-specific diversity (Snyder *et al.*, 2020; Wuest *et al.*, 2021). Li *et al.* (2023) further demonstrated that while intercropping may yield a diverse range of crop products, it may slightly lag in grain or calorie yield compared to the best monoculture. However, its protein yield, especially with maize/ legume combinations, often matches or surpasses monocultures. Such crop mixtures also mitigate the negative effects of disease propagation within the field (Fréville *et al.*, 2022). However, the mechanisms behind these effects remain, all too often, unexplored in agroecosystems, as does their interaction with the crop management system.

One way to increase the within field biodiversity is the use of varietal mixtures. The potential benefits of mixtures, including increased productivity (Creissen *et al.*, 2016), stability, and sustainability (Smithson and Lenné, 1996; Reiss and Drinkwater, 2018) are well-established and this practice is increasingly widespread in upland rice production (Smithson and Lenné, 1996; Revilla-Molina, 2009). Yet, varietal mixtures have been shown to reduce the risk of pest and disease outbreaks (Singh *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2000) as well as yield losses due to extreme weather events (Creissen *et al.*, 2016). Additionally, mixtures can increase crop resilience, improve nitrogen cycling, and reduce soil erosion (Cardinale *et al.*, 2002; McAlvay *et al.*, 2022). Consequently, the use of varietal mixtures can reduce the need for chemical inputs, resulting in economic and environmental benefits (Borg *et al.*, 2018; Snyder *et al.*, 2021).

However, the effectiveness of varietal mixtures may depend on their growth conditions including both, spatial organization of the mixture and fertility of the field. Studies have shown that a crop's mixture organisation can have a significant impact on crop performance and can influence, in different ways, vegetative and reproductive biomass production in favour of grain yield (Gaudio *et al.*, 2021; C. Li *et al.*, 2020), as well as disease control (Newton and Skelsey, 2023). As the mixture effect is determined by plant-plant interactions, we hypothesized that the proportion and spatial organization of the mixture could have a strong effect on the agronomic traits. Based on an extensive literature review, Reiss and Drinkwater (2018) demonstrated that different soil

fertility components can influence mixture effects and determine the relevance of the mixture in comparison to pure stand. They concluded that the benefits of mixtures were more prevalent in low- fertile soils than in relatively more fertile soils. While prior research has provided valuable insights, there remains an ongoing need for a comprehensive understanding of the complex relationships between mixture performance, their spatial arrangement, and the environmental conditions they encounter. These critical gaps in the existing literature serve as the foundation for our research questions in this.

The main objective of the study was to assess the effect of varietal mixture of upland rice, their proportion and spatial arrangements on agronomical performance of yield and disease resistance. We then aimed at these three sub-objectives: i) assess the relevance in terms of yield and disease resistance of growing upland rice varieties in mixtures compared to monoculture, and whether the mixture effect is influenced by the environment; ii) test whether the spatial arrangement of the binary mixtures, i.e., both the proportion of each variety as well as their organisations, has an impact on the mixture effect; and iii) estimate if some genotypes are more efficient than others to build effective mixtures. To reach these objectives, we conducted field experiments in the highlands of Madagascar with four functionally contrasted upland rice varieties grown in mixture and pure stand. Two experimental sites were established with two different levels of fertilization. To assess the influence of environmental limitations on the performance of the varietal mixtures, we considered constraints such as the weed *Striga asiatica*, as well as the diseases *Pyricularia oryzae*, and *Bacterial Leaf Blight* (BLB).

2. Materials and methods

2.1. Study site and trial management.

In order to compare the performance of upland rice under two contrasting growing conditions, the same experiment was conducted simultaneously at two relatively close sites both featuring “Ferralsol” soil type with differing properties (Table S1) and distinguished soil fertility management. These sites are located in the western part of the Vakinankaratra region, within the central highlands of Madagascar. The first site, Ankazomiriotra (in the following referred to as “Site ANK”), is located at an altitude of 1128m, (19°40′00.92″S, 46°32′11.49″E). The second site, Ivory (referred to as “Site IVO”), is situated at an altitude of 950m (19° 33′21.7″S 46°25′58.4″E). These two sites are approximately 16km apart from each other.

During the growing season, which extended from October 2021 to May 2022, both sites experienced very similar meteorological conditions. The average monthly rainfall was 182mm at Site ANK and 183mm at Site IVO. The average temperature throughout the experiment was 25.4°C, with a minimum temperature of 18°C and a maximum temperature of 37°C at both locations.

The soils at both sites are classified as Ferralsol (FAO, 2014), known for their low nitrogen, carbon, and available phosphorus.

The soil at the ANK site had a higher percentage of clay in the upper horizons (0-10cm, 10-20cm, and 20-30cm) compared to the IVO site. In contrast, the IVO site had higher percentages of fine silts and coarse silts in these horizons (Table S1). According to the World Reference Base for Soil Resources (2014), the ANK site has a “Clay loam” soil, while the IVO site has “Silty Clay Loam” soil. The percentage of fine sand was similar at both sites ($\pm 9\%$), while the percentage of coarse sand was higher at Site ANK (34%) than at Site IVO (20%). The chemical properties of the soils were also analysed and showed that the pH was slightly higher at Site IVO (mean = 5.0) than at Site ANK (mean = 4.8) in all three horizons. The organic carbon content was greater in the topsoil (0-10cm) at Site ANK (21.5g.kg⁻¹) compared to Site IVO (17.6g.kg⁻¹), as was the case for the total nitrogen content (1.7g.kg⁻¹ and 1.4g.kg⁻¹, respectively). The assimilable phosphorus content was lower at Site ANK (mean = 5.0mg.kg⁻¹) compared to Site IVO (mean = 6.9mg.kg⁻¹) in all three horizons. Soil at the ANK site is rich in organic matter (20.9 g.kg⁻¹) compared to soil at the IVO site (16.9 g.kg⁻¹). Detailed information about soil characteristics and properties is available in Table S1. The differences in soil chemical properties may be influenced by the recent history of each field. The IVO site was previously cultivated with maize for three seasons, using chemical fertilizer, while the ANK site was previously cultivated with *Mucuna puriens*, a leguminous cover crop, after being left fallow for two years. Given this history, we implemented a more intensive cropping management approach at the IVO site, involving higher fertilizer application.

We conducted this experiment on two sites with different levels of fertilisation. At ANK site, an initial application of 5t DM.ha⁻¹ of cattle manure resulted in an input of 31.2 kg.ha⁻¹ of nitrogen (N) and 5.6 kg.ha⁻¹ of phosphorus (P₂O₅). Subsequently, an application of 50kg.ha⁻¹ urea further enriched nitrogen levels by 23kg.ha⁻¹. In the case of IVO site, an initial application of 5t DM.ha⁻¹ of cattle manure introduced 52.35 kg.ha⁻¹ of N and 11.25 kg.ha⁻¹ of P₂O₅. Dual applications of NPK (11:22:16) “Vano be” played a pivotal role in fertilisation. The first application at sowing time (50kg.ha⁻¹), contributed 5.5kg.ha⁻¹ of N, 11kg.ha⁻¹ of P₂O₅, and 8 kg.ha⁻¹ of potassium (K₂O). The subsequent booting stage application (100kg.ha⁻¹) added 11kg.ha⁻¹ of N, 22 kg.ha⁻¹ of P₂O₅, and 16kg.ha⁻¹ of K₂O. A 23kg.ha⁻¹ of N by urea was also applied at this stage with the second application of NPK “Vano be”. As a result, the site ANK was fertilized with 54.2kg.ha⁻¹ of N, 5.6kg.ha⁻¹ of P₂O₅, and no amount of K₂O. The site IVO received 91.85kg.ha⁻¹ of N, 44.25kg.ha⁻¹ of P₂O₅ and 24kg.ha⁻¹ of K₂O.

2.2. Plant material

Our aim was to work with varieties that shared similar growing cycle length but exhibited a diversity of morphological traits and resistance to *Pyricularia oryzae* (Zhang et al., 2016; Qi et al., 2019) in order to evaluate the effects of their mixtures under contrasting field conditions. Four upland rice varieties were selected for the experiment: EARLY MUTANT IAC 165 (A), FOFIFA 152 (B), FOFIFA 154 (C), and DOURADO PRECOCE (D). These varieties displayed significant differences in terms of phenotypic traits (Table S2), agronomic.

performance, and disease resistance, as indicated in a previous study (Table S2) (Rahajaharilaza, manuscript in preparation). Specifically, EARLY MUTANT IAC 165 and DOURADO PRECOCE are taller.

than FOFIFA 152 and FOFIFA 154. Additionally, according to the previous study, variety A proved to be the most productive, while D exhibited the highest sensitivity to *Pyricularia oryzae* (Zhang et al., 2016; Qi et al., 2019).

2.3. Experimental design

The four selected genotypes were cultivated both in pure stands and mixed in pairs, resulting six binary mixtures. Each mixture was tested with four different arrangements of the hills of the two varieties: two balanced repartitions, with 50 percent of each variety, considering: i) alternating rows (referred to as L1/1) and ii) checkerboard pattern (CBD); iii) an unbalanced repartition, with two-thirds of the plants from one variety and one-third from the other one (67-33), obtained by alternating one in two rows (L1/2); and iv) a very unbalanced treatment, with three-quarters of one variety and one quarter of the other one (75-25), obtained by alternating one in three rows (L1/3). The mixtures were named using the codes of the varieties that composed them, considering first the most abundant one. For instance, the mixture composed of 67 percent of variety A and 33 percent of the variety B was named A2B1, with the first letter representing the most abundant variety in the mixture (see Table 1). In both sites, the experimental design was.

Table 1 Treatments studied along a variety association taking the main plot EARLY_MUTANT_IAC_165 (A) and FOFIFA 152 (B) as an example in a split plot design experimental.

Main factor (Main plot)	Sub-plot factor	Variety associated	Descriptions
AB	Pure A	Pure A	Pure stand of variety EARLY_MUTANT_IAC_165 (A)
AB	Pure B	Pure B	Pure stand of variety FOFIFA 152 (B)
AB	CBD	CBD	Checkerboard pattern of A (50%) and B (50%)
AB	L1/1	A1B1	Equal proportion of A (50%) and B (50%) in alternating rows one by one
AB	L1/2	B2A1	One row of variety A (37%) and two rows of variety B (63%)
AB	L1/2	A2B1	Two rows of variety A (63%) and one row of variety B (37%)
AB	L1/3	B3A1	One row of variety A (25%) and three rows of variety B (75%)
AB	L1/3	A3B1	Three rows of variety A (75%) and one row of variety B (25%)

structured as a split plot with five complete blocks (repetitions). Each main plot represented a specific binary mixture as the main factor, with the spatial arrangement as the subplot factor (Figure 1). Randomization was implemented at two levels: first, by randomizing the order of the six combinations within each block, and second, by randomizing the eight modalities within each combination. This design was chosen to ensure a robust and reliable comparison of the treatments, with a primary focus on the variety effect. Each elementary plot (subplot) had a length of 2.4m and a width of 2m, resulting in a total area of 4.8m² which included 120 hills spaced at a distance of 20cm from each other (Figure 1).

Both pure stands and mixtures were managed in the same way. At sowing, six to eight seeds (of a single variety) were placed in small holes about 3cm deep covered with a small amount of soil, this is what we call "hill". The cattle manure, and the mineral fertiliser in IVO, were added to these holes, before covering the planting holes with small amounts of soil. These planted hills were considered as individual plants during our study. The crop depended entirely on rainwater as no irrigation was provided. Weeding was carried out manually three times in all plots to facilitate optimal growth, specifically two weeks after sowing, at the start and at the end of tillering.

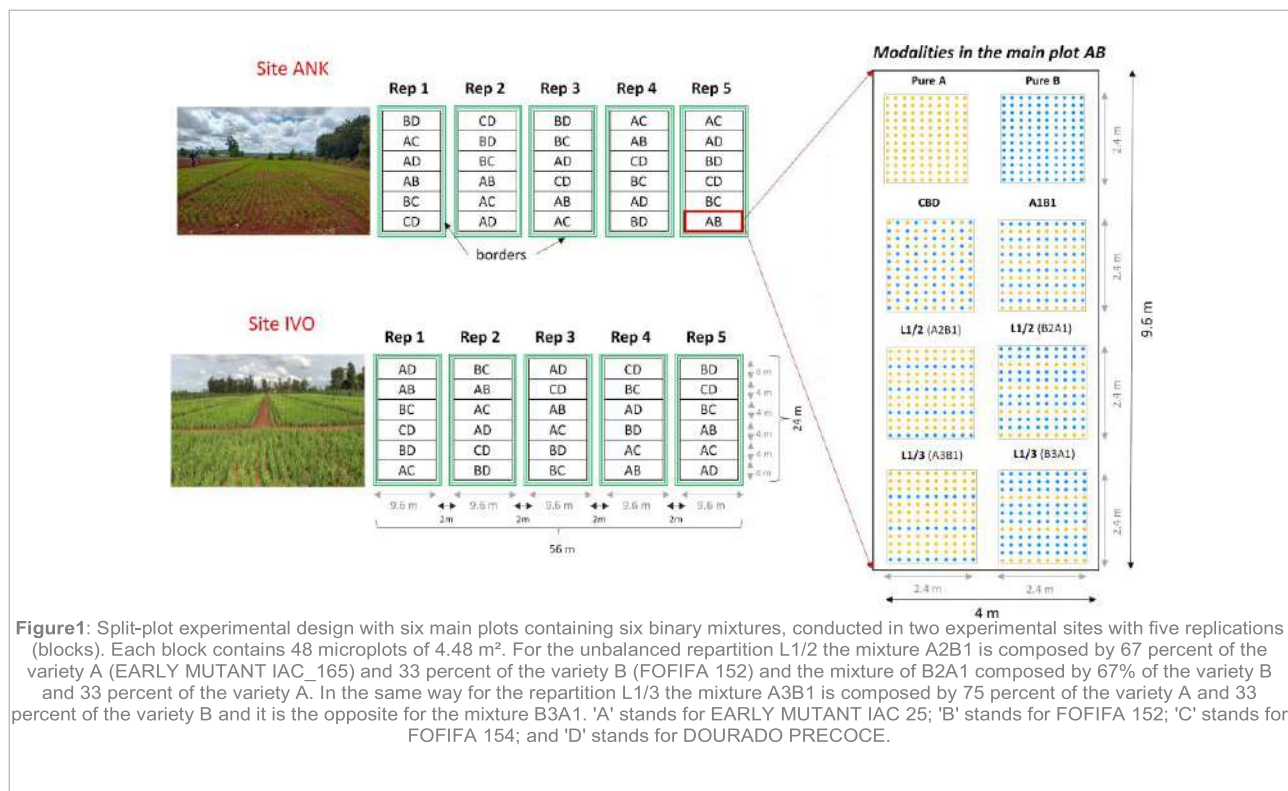
2.4. Plant measurements

Throughout the experiment, striga infestation, *Pyricularia oryzae* (Zhang et al., 2016; Qi et al., 2019) and Bacterial leaf Blight (BLB) caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) incidence (Tall et al., 2022) were recorded. The number of striga plants and their biomass were noted before each weeding operation, which occurred three times during the experiment. *Pyricularia oryzae* on leaves was assessed during flowering stage, while *Pyricularia oryzae* infection on panicles was noted during the maturity stage. Six hills per variety were selected on the diagonal of each plot to quantify *Pyricularia oryzae*. Two fundamental evaluation were made for *Pyricularia oryzae* infection: disease incidence and disease severity. Incidence referred to the proportion of infected tillers or panicles out of the total tillers/panicles on a hill and was typically expressed as a percentage. Severity characterized the extent of infestation and referred to the degree of infestation within individual infected tillers. We calculated the number of lesions on each leaf per infected tiller to represent disease severity. Considering both disease incidence and severity simultaneously provides a comprehensive understanding of the infection's impact, allowing for a more nuanced assessment of the disease's effects on the experiment. At the IVO site, measurements for BLB were also taken by counting the number of diseased hills per plot without identifying the variety involved.

To assess the phenotypic characteristics of each variety in both

pure and mixture stands, five hills per variety in the middle of the plot were selected. The duration of the vegetative phases of these hills and the time to flowering was monitored. After the plants had bloomed, plant height was measured, and the number of leaves and stems in these five hills was recorded.

Harvesting was conducted plot by plot, by first removing all border hills in order to prevent contaminations and errors. Then,



we gathered all the hills of the first variety of the mixture and concluded with the hills of the second variety. Notably, our analysis of yield separated the grain and vegetative aboveground biomass components, or straw. For of grain yield, we carefully separated the grains from the panicles. In the case of vegetative aboveground biomass yield, the procedure involved isolating the straw without grain and panicle. Sample grain and vegetative biomass dry weights were established by drying subsamples for 48 hours at 60°C.

2.5. Relative productivity of mixture

As presented in equation 1 we calculated the relative yield total (RYT) for each plot. This measure is obtained by adding up the relative yield of each variety in the mixture (Hooper and Dukes, 2003; Weigelt et al., 2021):

$$RYT(ij) = \frac{Y_{mix(i)}}{Y_{pure(i)}} + \frac{Y_{mix(j)}}{Y_{pure(j)}} \quad (\text{Eq 1})$$

Where $Y_{mix(i)}$ is the yield (grain or biomass) of variety (i) in the mixture and $Y_{pure(i)}$ is the yield (grain or biomass) of variety (i) in pure stand in the same main plot. A RYT value greater than 1 indicates a global positive effect on yield in the mixture what could be expected based on the performances of its components in pure stands. RYT was calculated per main plot within a block to account for the block effect. The pure stand yields

are, therefore, the average of the yields per block. The calculation of Relative Yield Total (RYT) shares a common underlying principle with the Land Equivalent Ratio (LER). Both assess the advantages of

intercropping by comparing combined yields or resource utilization in varietal mixtures with those achievable in separate pure stands (De Wit, 1960; Mead and Willey, 1980).

2.6. Disease resistance of mixture

To assess resistance to *Pyricularia oryzae*, the net effect ratio of disease (NERDI) was calculated for the disease intensity (DI) (Cardinale et al., 2007; Li et al., 2023). This intensity was separated into disease incidence and severity. The NERDI measures the difference between the actual disease infection and the expected mixture infection based on pure crop infection and the variety proportions in the mixture. Unlike measuring reduction, our index calculates the sensitivity ratio of disease in mixtures versus pure stands within separate plots. Combining these relative indices involves aggregating the relative index of each variety in mixtures.

and comparing it to the average when that variety is in a pure stand within the mixed plots. A NERDI value above 1 indicates.

compared to heightened disease in mixtures, while a value below 1 signifies the efficacy of mixtures in disease reduction.

The following formula was used to calculate the net effect ratio of disease:

$$NERDI(ij) = \frac{DI_{observed}}{DI_{expected}} + \frac{p_i DI_{mix(i)} + p_j DI_{mix(j)}}{p_i DI_{i: pure} + p_j DI_{j: pure}} \quad (\text{Eq 2})$$

Where NERDI (ij) is the net effect ratio of disease of the mixture of varieties i and j. $DI_{observed}$ is the observed disease incidence or disease severity in the mixtures and $DI_{expected}$ the expected disease

incidence or disease severity based in the infection's levels in pure stands. p_i and p_j are the proportion of the variety i and j in the mixture, respectively. $DI_{mix(i)}$ is the disease incidence or the disease severity of the variety i in mixed plots and $D_{pure(i)}$ the average disease infections in pure stands per block for variety i and likewise for the variety j . A NERDI value less than 1 indicates a higher resistance performance in the mixture than in the pure stand. Due to the low disease pressure during the experiment, only one variety (DOURADO PRECOCE) developed symptoms on leaves. As a result, the NERDI indicator was calculated for half of the mixtures, i.e. those that included this susceptible variety. Then, *Pyricularia oryzae* developed symptoms on panicles in two varieties: DOURADO PRECOCE and EARLY MUTANT IAC 165, but only.

at the IVO site. The NERDI on panicle was calculated in plots including these two varieties.

2.7. Statistical analysis

All the statistical analyses were done using R version 4.2.2 (2022-10-31 ucrt). We assessed the effects of the different modalities (pure stand and mixtures) and their interactions with the site on grain and biomass yields, diseases resistance and striga infestation using a mixed linear model (function lmer package lme4) (Banta et al., 2010; Bates et al., 2015). Association types, including cultural condition, different arrangement, and the main plot, were considered as factors with fixed effects. The block and plot positions within each site were included as random factors. Adjusted means were calculated using the lsmean function from the emmeans package (Searle, 2012), which takes into account the variability introduced by the random factors. Mean comparisons were performed using the cld function from the multcomp package (Dunnett, 1955; Hothorn et al., 2008). This function assigns letters to the different levels of the modalities being compared (i.e., 'Culture condition (pure stand vs mixture)', 'Site', and 'Arrangement') based on their statistical differences.

The differences between RYT and NERDI and the value 1 (the reference value without any mixture effect) were assessed using the one-sample Student's t-test. We assessed a linear model considering association type (i.e., 'Culture condition (pure stand vs mixture)', 'spatial arrangement', 'main plot') and site as fixed effects and the block and plot positions within each site were added as random factors. Adjusted means of each index were again calculated by lsmean. Then we compared the means between sites and the means for modalities of mixture repartition. Taking into account the comparison between modalities in each site and in general, the most efficient spatial arrangements was selected. Then we detailed the component mixtures of varieties in the identified spatial arrangement to highlight the one(s) inducing best performances. In this more efficient spatial arrangement (L1/3), the characteristics of each variety were compared across various proportions, both in pure stands and mixtures. Comparisons were performed using a Fisher's multiple comparison test following an ANOVA, treating each trait as the dependent variable and the proportions as the independent variable for each variety.

3. Results

3.1. Effect of varietal mixtures on yield and resistance to biotic constraints

The results show that the variety EARLY MUTANT IAC 165 was the most productive in terms of grain yield ($p < 0.001$) and it also performed well in biomass yield even the p-value was not significant between the monocultures of the four variety (Table 2). Mixtures, on the other hand, had a significant positive impact on both grain and biomass yields ($p < 0.001$) (Table 2). On average, varietal mixtures improved grain yield by 265 g.m^{-2} and biomass yield by 236 g.m^{-2} . These positive effects of mixtures were observed in both sites, although there were significant differences in yields between the two sites. Specifically, site IVO, with high fertilizer inputs, had significantly higher yields of 631 g.m^{-2} for grain and 363 g.m^{-2} for biomass, compared to the ANK site. The interactions between crop conditions and sites also had significant effects ($p < 0.05$) (Table 2). *Pyricularia oryzae* and BLB have significantly negative association with grain yield ($p < 0.001$) (Figure S1).

Regarding disease impact, mixtures showed significantly lower *Pyricularia oryzae* infection levels on leaves and panicles compared to pure stands (Table 3). Incidence on leaves was reduced by 5% (41% in mixtures versus 46% in pure stands), and the average number of lesions per leaf was reduced by three in all mixtures (5 lesions per hill in mixtures versus 8 lesions in pure stands). *Pyricularia oryzae* incidence on panicles decreased by half in mixtures, resulting in a 9 lesions reduction in the average number of lesions on panicles. However, no significant differences were observed for BLB and striga infestation rates (Table 3).

The results of the site-specific analysis reveal significant differences between the two experimental sites. The IVO site showed significantly lower values of *Pyricularia oryzae* incidence and severity on leaves compared to the ANK site. Specifically, the differences between the two sites were 3% in *Pyricularia oryzae* incidence ($p = 0.02$) and a reduction of 7 lesions number in *Pyricularia oryzae* severity ($p < 0.001$). Interestingly, the pathogen *Pyricularia oryzae* only affected panicles at the IVO site, with an incidence rate of 6% and an average of 9 lesions in severity. Additionally, Bacterial Leaf Blight (BLB) infection was observed only at the IVO site, while striga infestation occurred solely in the experiment at the ANK site. In summary, the highly fertilized IVO site demonstrated higher yields and lower *Pyricularia oryzae* infection levels compared to the ANK site.

3.2. Relative productivity and disease resistance of mixture

The RYT analysis demonstrated an overall 45% increase in grain yield and a 33% increase in biomass yield in mixtures compared to monocultures (Figure 2). The effect of mixtures was consistent across both sites for grain yield, with a gain of 54% in the ANK site and 36% in the IVO site, respectively (Figure 2A). However, there was a large difference of 22% in biomass yield.

Table 2: Analysis of the effect of cropping system and the site experimental condition on upland rice production using ANOVA: means and standard errors for grain yield and biomass averaged over varietal mixtures pure stands and each site.

	Grain yield (g.m ²)				Biomass yield (g.m ²)			
<i>Crop condition</i>								
Pure stand	747	±	34	<i>b</i>	948	±	50	<i>b</i>
Mixtures	1012	±	32	<i>a</i>	1184	±	44	<i>a</i>
<i>p-value</i>	<0.001		***		<0.001		***	
<i>Sites</i>								
Site ANK	596	±	44	<i>b</i>	892	±	62	<i>b</i>
Site IVO	1227	±	44	<i>a</i>	1254	±	62	<i>a</i>
<i>p-value</i>	<0.001		***		0.002		**	
<i>Crop condition * Site</i>								
<i>p-value</i>	<0.05		**		0.1		NS	
<i>Monocultures</i>								
EARLY MUTANT IAC 165 (A)	897	±	40	<i>a</i>	1052	±	66	<i>a</i>
FOFIFA 152 (B)	713	±	30	<i>bc</i>	823	±	34	<i>a</i>
FOFIFA 154 (C)	642	±	35	<i>c</i>	1004	±	33	<i>a</i>
DOURADO PRECOCE (D)	735	±	28	<i>b</i>	911	±	44	<i>a</i>
<i>p-value</i>	<0.001		***		0.1		NS	

*, **, *** p-value indicating significant differences at the 5%, 1%, and 0.1% levels of confidence, respectively. The letters 'a' and 'b' indicate significant differences at the 5% level of confidence, with 'a' denoting the higher mean value and 'b' the lower mean value. Levels with the same letter are not significantly different, while levels with different letters are considered significantly different from each other. NS, non-significant.

The values in bold represent the p-values, while the letters denote the multiple comparison groups resulting from the Fisher's test.

between the two sites. The biomass yield gain through mixtures in the ANK site was the double of the biomass gain in IVO site (Figure 2B).

Results also demonstrated an overall reduction in *Piricularia oryzae* infection on leaves and panicles in mixtures. In comparison to pure-stands, mixtures showed an average 10% decrease in disease incidence on leaves (Figure 2C) and a 39% decrease in disease severity on leaves (Figure 2D). The resistance to *Piricularia oryzae* on leaves was very effective at the IVO site, with disease incidence reduced by 15% and severity by 38% (Figures 2C, D). However, this was not the case at the ANK site, where the incidence of *Piricularia oryzae* on leaves was not reduced by the mixture (Figure 2C). Nevertheless, for this site, we observed a reduction of 41% in disease severity (Figure 2D). The *Piricularia oryzae* infection was reduced by 49% in both NERDI incidence and severity on the panicle at the IVO site since there was no panicle infection in the ANK site (mean NERDI = 0.51 p-value<0.001 for both incidence and severity).

Regarding the spatial arrangement, there were no significant

differences between lines and checkerboard patterns within the L1/ 1 arrangement for all the considered, variables including yields and disease resistance (Figure 3). The most unbalanced variety repartition (L1/3) induced the highest RYT for grain yield (mean =1.60) in both sites (Figure S2), while L1/1 and L1/2 did not differ significantly (Figure 3A). Similarly, the most unbalanced repartition (L1/3) was the most efficient for biomass yield (mean RYT= 1.40), with no significant differences observed for the other three repartitions (Figure 3B). All other repartitions had similar performances in

reducing disease incidence on leaves, but the L1/3 repartition had the lowest NERDI value, which was significantly different for one (p<0.05) (Figure 3C). For the disease severity reduction on leaves, the L1/2 and L1/3 repartition were the most efficient with an average reduction of 50% and 40% respectively (Figure 3D). At the panicle level, the effect of different spatial arrangement on both NERDI incidence and severity was consistently positive with a reduction of the disease impact, but there were no significant differences among the modalities (Figures 3E, F). Site-specific results for the effects of different arrangements are available in the Supplementary Information in Figure S2.

Given that the L1/3 repartition was the most efficient for increasing grain and biomass yield, it was chosen to identify the best performing varietal mixtures based on RYT. The highest RYT values for grain and biomass yield were observed when the variety EARLY MUTANT IAC 165 represented 75% of the plot (Figures 4A, B). According to Table 2, EARLY MUTANT IAC 165 was the most productive variety in grain and biomass yields. Its positive impact in mixtures may be attributed to the fact that the hills of this variety produced more tillers and leaves in mixtures than in pure stands, possibly due to an alleviation of the intra- varietal competition. This effect was particularly pronounced when EARLY MUTANT IAC 165 was associated with the varieties FOFIFA 152 and FOFIFA 154. Notably, these two varieties are resistant to *Piricularia oryzae*, and were not affected by this pathogen in our study. On the other hand, the association composed by 25% EARLY MUTANT IAC 165 and 75% of

Table 3: Analysis of the effects of cropping and experimental conditions on biotic stresses using ANOVA: means and standard errors of disease incidence and severity for *Pyricularia oryzae*, BLB, and Striga infestation averaged over varietal mixtures and pure stands and each site.

	Pyricularia on leaf incidence (%)				Pyricularia on leaf severity (nb)				Pyricularia on panicle incidence (%)				Pyricularia on panicle severity (nb)				BLB (%)				Striga infection (nb)							
Crop condition																												
Pure stand	46	±	2	<i>a</i>	8	±	1	<i>a</i>	12	±	0.11	<i>a</i>	21	±	3	<i>a</i>	20	±	2	<i>a</i>	70	±	15	<i>a</i>				
Mixtures	41	±	1	<i>b</i>	5	±	1	<i>b</i>	6	±	0.06	<i>b</i>	12	±	1	<i>b</i>	20	±	2	<i>a</i>	66	±	15	<i>a</i>				
<i>p-value</i>	0.02		*		<0.001		***		<0.001		***			0.01		**			0.9		NS			0.3		NS		
Site																												
Site ANK	45	±	2	<i>a</i>	10	±	1	<i>a</i>		0				0				0				70	±	6				
Site IVO	42	±	2	<i>b</i>	3	±	1	<i>b</i>	7.5	±	0.1		14	±	2		20	±	2			0						
<i>p-value</i>	0.02		*		<0.001		***																					
Crop condition * Site																												
<i>p-value</i>	0.11		NS		<0.001		***		NA				NA				NA				NA							
Monocultures																												
EARLY_MUTANT_IAC_165		0				0			8.3	±	0.1	<i>b</i>	12	±	4	<i>b</i>	9	±	2	<i>c</i>	82	±	15	<i>a</i>				
FOFIFA 152		0				0				0				0			23	±	11	<i>b</i>	73	±	12.5	<i>a</i>				
FOFIFA 154		0				0				0				0			31	±	15	<i>a</i>	77	±	14.5	<i>a</i>				
DOURADO_PRECOCE	46	±	2		8	±	1		16	±	0.1	<i>a</i>	30	±	4	<i>a</i>	17	±	14	<i>bc</i>	49	±	13.3	<i>b</i>				
<i>p-value</i>									0.02	*							<0.001		***		<0.01		**					

* **, *** *p*-value indicating significant differences at the 5%, 1%, and 0.1% levels of confidence, respectively. The letters 'a' and 'b' indicate significant differences at the 5% level of confidence, with 'a' denoting the higher mean value and 'b' the lower mean value. Levels with the same letter are not significantly different, while levels with different letters are considered significantly different from each other. NS, non-significant. NA, non-existent value.

The values in bold represent the *p*-values, while the letters denote the multiple comparison groups resulting from the Fisher's test.

DOURADO PRECOCE had the lowest RYT for biomass (Figure 4B). In this case the association of two sensitive varieties to *Pyricularia oryzae* attack (Table 3) with 75% of plants coming from the most sensitive variety seemed to counterbalance the positive effect of EARLY MUTANT IAC 165 on mixture performances (Figure 4). Similar trends were observed at the site-specific level (Figure S3).

4. Discussion

This study demonstrated that binary varietal upland rice mixtures had significantly higher grain and biomass yield compared to the varieties in pure stand, indicating the benefits of varietal mixtures. The Relative Yield Total (RYT) indicated an average of 45% gain in grain yield and 33% gain on biomass yield when applying varietal combination. These benefits of intercropping can be interpreted as improved land use efficiency (Mead and Willey, 1980; Werf, 2021). This finding is consistent with and confirms previous studies on varietal mixtures of rice or other crops (Borg et al., 2018; Montazeaud et al., 2020). The study also demonstrated lower *Pyricularia oryzae* infection on both leaves and panicles in mixtures, highlighting that varietal mixtures can effectively reduce impact of this fungal disease on crop development as previously demonstrated by Gallet et al. (2014) and Raboin et al. (2012). This reduction is an epidemiological phenomenon when mixtures were composed of varieties with varying levels of resistance. It was particularly evident in the susceptible variety (Raboin et al., 2012;

Zhu et al., 2000). The same fact was observed in our study since the *Pyricularia oryzae* only infected the plot where the most susceptible variety (DOURADO PRECOCE) was present. Disease incidence and severity were higher in pure stands of this variety compared to mixtures. However, no significant differences between mixtures and pure stands were found for Bacterial Leaf Blight (BLB) and striga infestation.

Significant variations in yields were observed between the experimental sites according to the Table 2. The IVO site, which was highly fertilized, had significantly higher yields compared to the ANK site. These site differences induce variations in mixture effects, particularly for biomass production, with a stronger positive effect of the mixture in the low fertility, ANK site (Figure 2). The same trend was observed for grain yield, though the differences were not statistically significant. According to these findings, the varietal mixtures were more pronounced in less fertilized field conditions. These results are in line with the literature that demonstrate that environmental factors and nutrients availability can affect the mechanisms involved in the establishment of the positive effect of varietal mixture (Barot et al., 2017; Grzyb et al., 2020). Moreover, they are consistent with the stress gradient hypothesis, which suggests predictable variation in net plant-plant interactions based on environmental context, with more positive effects of these interactions in the case of low level of resources availability (Brooker et al., 2014). These findings highlight the importance of tailoring intercropping strategies to local environmental conditions for optimal crop performance.

It was demonstrated that soil organic matter content, which is a major driver of soil fertility, could impact mixture performance, i.e.

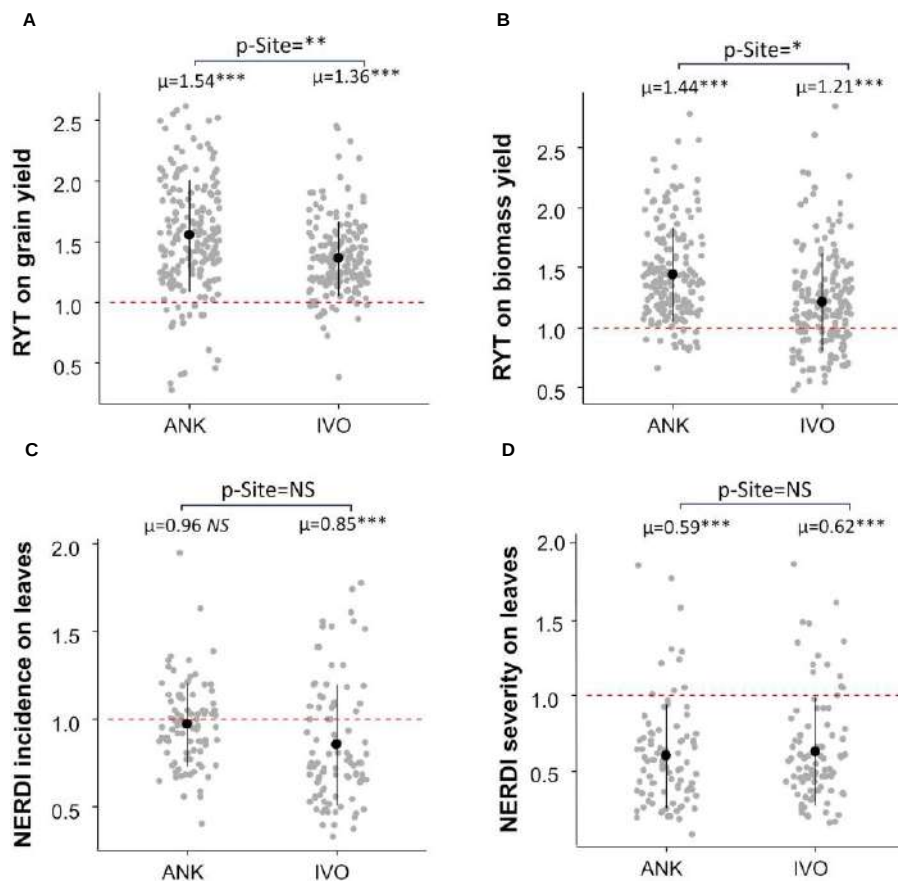


Figure 2: Relative Yield Total (RYT) of grain (A) and biomass yield (B) and Net Effect Ratio of Disease (NERDI) of varietal mixtures in two sites. (C) showed NERDI incidence on leaves and (D) showed NERDI severity on leaves. Each site average was compared with a reference value of 1 by a t-test; p-values are indicated in the top of each plot as “p-Site”. RYT and NERDI averages per site are shown i.e., $\mu=1.54$ above scatterplots. The site effect was assessed by linear model analysis and p-values are indicated by stars next to averages, p-value $< 0.05 = *$; p-value $< 0.01 = **$; p-value $< 0.001 = ***$. NS, non-significant.

the more organic matter available, the lower the mixture effect and thus the relevance of using varietal mixtures (Reiss and Drinkwater, 2018). This stands in contrast to our findings, and we can hypothesise that this is due to the fact that the fertility of the low soil organic matter content site (Ivory) was improved through fertilisation. This confirms that positive effects of varietal mixtures were stronger under low fertility conditions, as stated by (Reiss and Drinkwater, 2018) and tends to demonstrate that in our case fertilizer input was more important to determine the mixture effect than soil organic matter content. Varietal mixtures can be beneficial in low-fertility soils due to the distinct resource acquisition patterns of different plant varieties (Lambers et al., 2008) and their potential to capture solar radiation differently (Richards, 2000). These varietal differences may lead to compatibility among varieties, facilitating efficient resource utilization (Li et al., 2018). Moreover, our findings supported previous results of Kiær et al. (2012) showing that within field intraspecific diversity allow crops to better respond to environmental factors and especially nutrient availability (Baraibar et al., 2020). However, this assumption needs to be qualified with the discovery by Dahlin et al. (2020), which suggests that the resource niches achieved depend on the

genotypes' identity in the mixture, and this functional mechanism might be influenced by the trait plasticity of individual genotypes leading to different phenotypes. The reasons for improved performance of mixtures are largely to be explored.

Grime (1977) pointed out that in a less fertile site, negative interactions among plants are limited due to an alleviation of the competition from large size individuals when resource availability is restricted. Another reason could be that in low fertility conditions, differences in resources acquisition strategies among genotypes should be more important for the plant community functioning. This is due to a scarcity of resources, thus generating a strong positive effect of plant complementarity on the performance of the mixture (Cook-Patton et al., 2011). These combined hypotheses may explain the positive impacts of inter and intraspecific diversity on use of community-level resource-such as light, water, and nutrients; resulting in improved overall resource utilization and increased crop productivity (Bakker et al., 2016; Loreau, 1998; Craven et al., 2016; Montazeaud et al., 2018). In contrast, we can hypothesise that the benefits of mixing in a more fertilized site were not as pronounced due to a dominance (Grime, 1977) effect of the most productive varieties that perform well in both pure stand and monoculture, limiting the relevance of the mixture. This may also

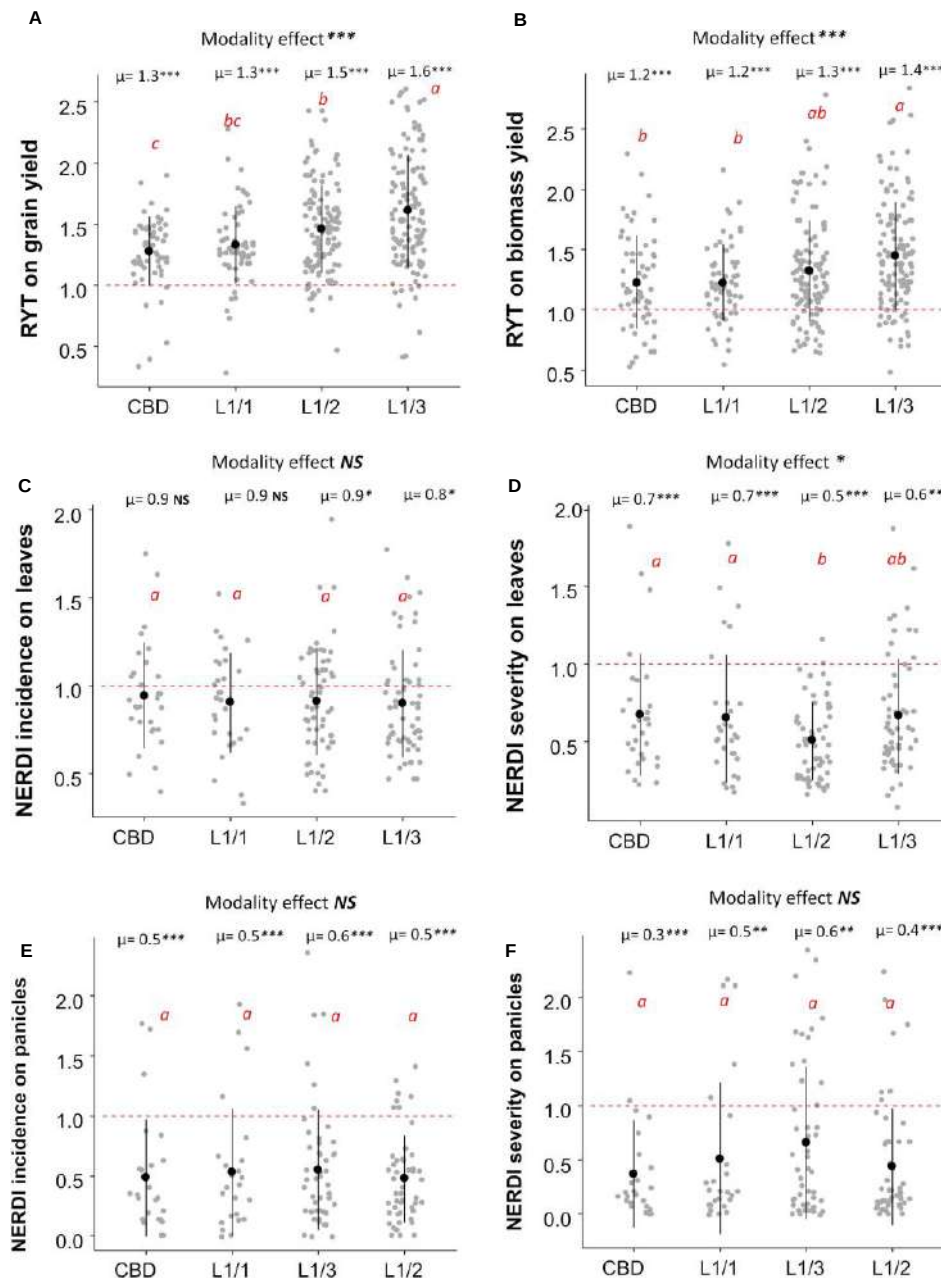


Figure 3: Average RYT for grain (A) and biomass yield (B) and NERDI values for disease incidence (C) and severity (D) on leaves with NERDI incidence on panicles (E) and NERDI severity on panicles (F) of different spatial arrangements of rice mixtures. The modality effect was assessed by ANOVA, and the p-value as indicated by stars in the top of each panel as “Modality effect ***”. The letters ‘a’, ‘ab’, ‘b’, ‘bc’ and ‘c’ indicate significant differences between arrangements at the 5% level of confidence. ‘a’ indicates the higher value and ‘c’ the lower value. Each modality average (i.e., $\mu=1.3$) was compared with a reference value of 1 by a t-test; p-values are indicated in the top of each plot, near the averages (i.e., $\mu=1.3$ ***): p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01 = **; p-value < 0.001 = ***; NS, non-significant.

be due to the fact that the effect of differential root exploitation is no longer emphasised in the complementarity effect when resources are not constrained (Elser et al., 2014).

In our study, varietal mixtures demonstrated efficiency to reduce *Pyricularia oryzae* incidence and severity. These findings are in line with previous research that has demonstrated the potential of mixtures to reduce pest and disease pressure through diversity-mediated pest suppression via specific ecological processes (Pélissier et al., 2021). These results can be related to several

ecological mechanisms: the lower *Pyricularia oryzae* infection could be attributed to reduced host-plant density and increased diversity, making mixtures less favourable to the spread of pathogens (Ekroth et al., 2019). This mechanism is described in ecological studies as the dilution effect or the barrier effect, whereby the introduction of non-susceptible species or genotypes can limit the spread of the disease due to a physical barrier effect, (Li et al., 2007; Zhu and Morel, 2019). However, we did not detect any positive effect of the varietal mixtures on striga infestation, which.

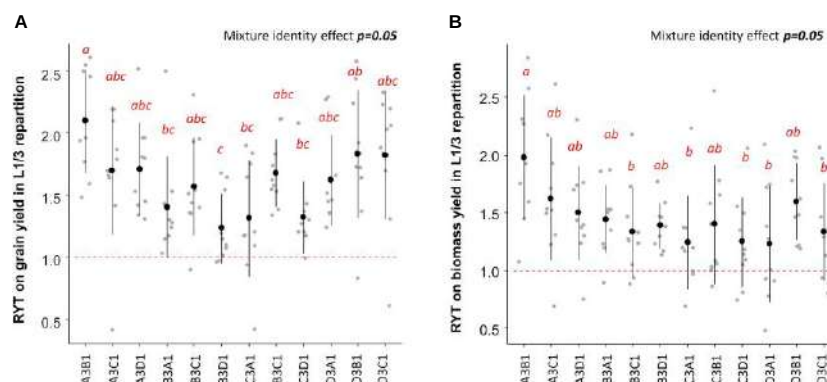


Figure 4: RYT values for grain (A) and biomass (B) yield for L1/3 repartition. Mixture effects are assessed using ANOVA indicated in the right top of each panel. Letters 'a' to 'c' indicate significant differences at the 5% level of confidence with 'a' indicating a higher value and 'c' the lower value. The first letter in the mixture name, i.e. A for the association A3B1, indicate the variety that represent 75% of hills within the mixtures and the second letter indicate the variety that represent 25% of the mixture. A stand for EARLY MUTANT IAC 25; B stands for FOFIFA 152; C stands for FOFIFA 154; and D stands for DOURADO PRECOCE.

is contradictory to previous research demonstrating that genetically homogenous populations are more susceptible to parasites and pathogens (Ekroth et al., 2019). Studies conducted on millet varietal mixtures in Senegal have similar results to our findings, showing a neutral effect of mixtures on striga and weed infestation (Cissé et al., 2023). Overall, more research is needed to fully understand the relationship between pure stand and the spread of BLB and striga infestation (Table 3). Furthermore, it is important to consider local factors such as environmental conditions and rice variety choice that can influence the specific results.

Regarding the spatial arrangement, the most unbalanced repartition showed a higher RYT for grain yield in both sites, highlighting that the balance between the varieties is not a prerequisite to obtaining a positive effect of mixtures (Newton and Skelsey, 2023). These results confirm findings of Zhang et al. (2011), who found a variation of biomass yield in different arrangements of wheat-soybean intercropping, thus emphasizing the benefits of an unbalanced arrangement for grain yield. Those findings reveal that the performance of varietal mixtures in agroecosystems is a complex interplay between different ecological mechanisms. Contrary to a strong complementarity effect that could alleviate resource competition, research like Cardinale et al. (2007) highlights that the success of these mixtures often hinges on a selection effect. This effect is characterized by the dominance of a particular component within the mixture, driving its overall performance. This suggests that the presence of a highly successful individual variety can play a pivotal role in determining the overall success of the mixture (Loreau and Hector, 2001; Tilman et al., 2006). These insights underlined the intricate dynamics that dictate the outcomes of varietal mixtures in agriculture, where the dominance of certain components can outweigh the potential benefits of resource complementarity (Lehman and Tilman, 2000). This hypothesis appears to be confirmed by our result because of the dominant genotype in the mixture with the highest RYT, i.e. the EARLY MUTANT IAC 165. This variety produced more leaves biomass and had taller plants.

than the other varieties, two characteristics which are indicative of highly competitive ability (Grime, 1977). Further substantiating these findings, Table 4 presented complete yield data for varieties in both pure stand and in L1/3 repartitions as 75% or 25% proportions. Observed characteristics of the varieties under these repartitions are also available in this table. Additionally, we may associate this highly competitive and productive variety with smaller varieties displaying high root biomass (FOFIFA 152 and FOFIFA 154). This contributes to the improved yield performance of the mixture, leading us to suspect that spatial complementarity for light interception, as well as unbalanced competition for above- and below-ground resources, could explain the performance of the mixture. Our study highlights the fact that selecting specific varietal compositions and unbalanced spatial arrangements can improve grain and biomass yields in upland rice mixtures.

The results of this study indicated important benefits of varietal mixtures, albeit these results had limitations, as they were specific to the experimental conditions and locations. Extrapolating the results to different environmental conditions or rice varieties should be treated with caution, as local factors such as soil type, climatic conditions, and genotype selection can influence outcomes. While the study demonstrated the effectiveness of mixtures in reducing *Pyricularia oryzae* infection, no significant differences were found for BLB and striga infestation. This suggests that the impact of mixtures on different diseases may vary. Further research is needed to fully understand the relationship between pure stands and the spread of these specific infections. The study, furthermore, provided insights into the positive effects of varietal mixtures on crop performance, however, the underlying mechanisms driving these outcomes remain largely unexplored. Future studies should aim to investigate the specific ecological processes and interactions contributing to the observed benefits. Our results highlight the potential benefits of an unbalanced spatial arrangement regarding grain yield. However, the specific reasons behind these findings, such as the selection effect, driven by the dominance of a particular genotype, require further investigation. Additionally, the

TABLE 4 Performance in production and characteristics of the varieties at different proportions (75% and 25%) in the L1/3 repartition compared to pure stands.

Variety name	Proportion	Grain yield (g.m ²)				Biomass yield (g.m ²)				Vegetative time (day)				Flowering time (day)				Plant heighth (cm)				Tiller number (nb)				Leaves number (nb)				Aerial biomass (g)			
EARLY MUTANT IAC_165 (A)	25%	254	±	10	<i>c</i>	911	±	29	<i>a</i>	85	±	3	<i>a</i>	103	±	9	<i>a</i>	113	±	6	<i>a</i>	13	±	5	<i>ab</i>	62	±	19	<i>ab</i>	278	±	13	<i>b</i>
	75%	¹ 089	±	45	<i>a</i>	407	±	21	<i>b</i>	87	±	7	<i>a</i>	106	±	8	<i>a</i>	107	±	18	<i>a</i>	13	±	5	<i>a</i>	66	±	20	<i>a</i>	403	±	24	<i>a</i>
	100%	897	±	40	<i>b</i>	¹ 035	±	66	<i>a</i>	85	±	3	<i>a</i>	105	±	7	<i>a</i>	106	±	21	<i>a</i>	11	±	4	<i>b</i>	51	±	16	<i>b</i>	370	±	18	<i>ab</i>
FOFIFA 152 (B)	25%	338	±	14	<i>b</i>	¹ 027	±	31	<i>a</i>	84	±	4	<i>ab</i>	102	±	10	<i>a</i>	101	±	21	<i>a</i>	14	±	5	<i>a</i>	63	±	22	<i>a</i>	326	±	19	<i>a</i>
	75%	733	±	29	<i>a</i>	320	±	11	<i>c</i>	85	±	4	<i>a</i>	101	±	10	<i>a</i>	98	±	21	<i>a</i>	14	±	5	<i>a</i>	60	±	20	<i>a</i>	315	±	17	<i>a</i>
	100%	713	±	28	<i>a</i>	862	±	33	<i>b</i>	84	±	4	<i>b</i>	100	±	11	<i>a</i>	99	±	20	<i>a</i>	15	±	5	<i>a</i>	66	±	19	<i>a</i>	303	±	16	<i>a</i>
FOFIFA 154 (C)	25%	332	±	16	<i>b</i>	960	±	28	<i>a</i>	86	±	3	<i>a</i>	104	±	9	<i>a</i>	98	±	19	<i>a</i>	13	±	5	<i>a</i>	63	±	25	<i>a</i>	326	±	17	<i>a</i>
	75%	701	±	30	<i>a</i>	286	±	7	<i>b</i>	85	±	4	<i>a</i>	107	±	13	<i>a</i>	101	±	22	<i>a</i>	14	±	4	<i>a</i>	59	±	19	<i>a</i>	282	±	16	<i>a</i>
	100%	642	±	30	<i>a</i>	995	±	44	<i>a</i>	85	±	3	<i>a</i>	105	±	11	<i>a</i>	106	±	60	<i>a</i>	13	±	5	<i>a</i>	61	±	25	<i>a</i>	307	±	17	<i>a</i>
DOURADO PRECOCE (D)	25%	257	±	11	<i>c</i>	898	±	19	<i>a</i>	85	±	3	<i>ab</i>	105	±	10	<i>a</i>	109	±	21	<i>ab</i>	12	±	4	<i>a</i>	57	±	18	<i>a</i>	342	±	18	<i>a</i>
	75%	946	±	45	<i>a</i>	305	±	8	<i>b</i>	86	±	4	<i>a</i>	104	±	9	<i>a</i>	100	±	20	<i>b</i>	12	±	4	<i>a</i>	56	±	18	<i>a</i>	255	±	15	<i>a</i>
	100%	735	±	35	<i>b</i>	898	±	34	<i>a</i>	84	±	3	<i>b</i>	104	±	14	<i>a</i>	111	±	19	<i>a</i>	11	±	3	<i>a</i>	54	±	15	<i>a</i>	440	±	17	<i>a</i>

Mixture values represent the mean performance of the specific variety when it is combined with the three other varieties.

The values in bold represent the p-values, while the letters denote the multiple comparison groups resulting from the Fisher's test.

relationship between spatial arrangement, complementarity effects, and resource competition must be explored further. Lastly, the experiment duration of a single growing season limited our insights into the sustainability and stability of the observed benefits. Long-term experimentation is needed to confirm the above results.

Our study highlighted the benefits of varietal mixtures in upland rice in the mid-west of Madagascar. The highland rice production systems of Madagascar often face challenges such as limited access to inputs such as fertilizers and pesticides. Intercropping can help to address some of these challenges by reducing the reliance on external inputs and enhancing ecosystem functioning. However, understanding ecological mechanisms that drive interaction among varieties is crucial for optimizing mixture composition and improving rice production sustainability. However, further research is needed to explore these mechanisms in more detail and to assess their long-term implications for rice production in the context of highland agroecosystems in Madagascar.

Data availability statement

The data and the script for data analysis are available at the following link:
https://figshare.com/articles/dataset/Assessing_the_impact_of_rice_varietal_mixtures_on_crop_performance_in_Madagascar/24488386.

Author contributions

KR: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. BM: Conceptualization, Funding acquisition, Investigation, Project administration, Resources, Validation, Writing – review & editing. CV: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Resources, Writing – review & editing. KB: Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. RP: Supervision, Validation, Writing – review & editing. JM: Investigation, Methodology, Validation, Writing – review & editing. EB: Methodology, Software, Writing – review & editing. FF: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Methodology, Supervision, Validation, Writing – original draft, Writing – review & editing.

References

- Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture Ecosyst. Environ.* 74 (19–31), 13. doi: 10.1016/B978-0-444-50019-9.50005-4
- Bakker, L. M., Mommer, L., and Ruijven, J. v. (2016). Can root trait diversity explain complementarity effects in a grassland biodiversity experiment? *J. Plant Ecol.* 11 (1), 73–84. doi: 10.1093/jpe/rtw111
- Balasubramanian, V., Sie, M., Hijmans, R. J., and Otsuka, K. (2007). “Increasing Rice Production in Sub-Saharan Africa: Challenges and Opportunities,” in *Advances in Agronomy*, vol. 94. (Elsevier), 55–133. doi: 10.1016/S0065-2113(06)94002-4
- Banta, J. A., Stevens, M. H. H., and Pigliucci, M. (2010). A comprehensive test of the ‘Limiting resources’ Framework applied to plant tolerance to apical meristem damage. *Oikos* 119 (2), 359–695. doi: 10.1111/j.1600-0706.2009.17726.x
- Baraibar, B., Murrell, E. G., Bradley, B. A., Barbercheck, M. E., Mortensen, D. A., Kaye, J. P., et al. (2020). Cover crop mixture expression is influenced by nitrogen availability and growing degree days. *PLOS ONE* 15 (7), e0235868. doi: 10.1007/s13593-017-0418-x
- Barot, Sébastien, Allard, V., Cantarel, Amélie, Enjalbert, Jérôme, Gauffreteau, A., Goldringer, I., et al. (2017). Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 37 (2), 135. doi: 10.1007/s13593-017-0418-x
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Software* 67 (October), 1–48. doi: 10.18637/jss.v067.i01
- Boero, F. (2015). From darwin’s origin of species toward a theory of natural history. *F1000Prime Rep.* 7 (May), 1–13. doi: 10.12703/P7-49

Funding

The author(s) declare financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. This work was supported by the ANR MUSE (ANR-16-IDEX-0006 AMUSER). The Université de Montpellier (UM) funded the research in the context of the project AMUSER in partnership with the French Foundation for Biodiversity (FRB), Electricité de France (EDF), and the French Office of Biodiversity (OFB). Award: AMUSER. Grant Number: 101021641.

Acknowledgments

We are grateful to Rivolala Raholiarimanana and Daniel E. Randriamandroso for their valuable technical support when collecting data. We also thank Dr. Harinjaka Raveloson for his assistance in conducting disease evaluation.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher’s note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Supplementary material

The Supplementary Material for this article can be found online at:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1266704/full#supplementary-material>

- Borg, J., Kiær, L. P., Lecarpentier, C., Goldringer, I., Gauffreteau, A., Saint-Jean, S., et al. (2018). Unfolding the potential of wheat cultivar mixtures: A meta-analysis perspective and identification of knowledge gaps. *Field Crops Res.* 221 (May), 298–313. doi: 10.1016/j.fcr.2017.09.006
- Breumier, P., Ramarosandratana, A., Ramanantsoanirina, A., Brocke, K. v., Marquié, C., Dabat, Marie-Hélène, et al. (2018). Évaluation participative des impacts de la recherche sur le riz pluvial d'altitude à Madagascar de 1980 à 2015. *Cahiers Agricultures* 27 (1), 150045. doi: 10.1051/cagri/2017065
- Brooker, R. W., Bennett, A. E., Cong, W.-F., Daniell, T. J., George, T. S., Hallett, P. D., et al. (2014). Improving intercropping: A synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytol.* 206 (1), 107–117. doi: 10.1111/nph.13132
- Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., et al. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* 486 (7401), 59–67. doi: 10.1038/nature11148
- Cardinale, B. J., Matulich, K. L., Hooper, D. U., Byrnes, J. E., Duffy, E., Gamfeldt, L., et al. (2011). The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* 98 (3), 572–925. doi: 10.3732/ajb.1000364
- Cardinale, B. J., Palmer, M. A., and Collins, S. L. (2002). Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature* 415, 4. doi: 10.1038/415426a
- Cardinale, B. J., Wright, J. P., Cadotte, M. W., Carroll, I. T., Hector, A., Srivastava, D. S., et al. (2007). Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104 (46), 18123–18285. doi: 10.1073/pnas.0709069104
- Cissé, A., Clermont-Dauphin, C., Sall, Saïdou N., Gie, S., Groupement, M. P., Ndiaye, A., et al. (2023). Sahelian smallholders' Varietal mixtures reconcile yield and agrobiodiversity conservation. *Basic Appl. Ecol.* 67 (March), 48–60. doi: 10.1016/j.baec.2022.12.006
- Cook-Patton, S. C., McArt, S. H., Parachnowitsch, A. L., Thaler, J. S., and Agrawal, A. A. (2011). A direct comparison of the consequences of plant genotypic and species diversity on communities and ecosystem function. *Ecology* 92 (4), 915–235. doi: 10.1890/10-0999.1
- Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruehlheide, H., Ebeling, A., et al. (2016). Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 371 (1694), 20150277. doi: 10.1098/rstb.2015.0277
- Creissen, H. E., Jorgensen, T. H., and Brown, J. K. M. (2016). Increased yield stability of field-grown winter barley (*Hordeum vulgare* L.) varietal mixtures through ecological processes. *Crop Prot.* 85 (July), 1–8. doi: 10.1016/j.cropro.2016.03.001
- Dahlin, I., Kiær, L. P., Bergkvist, Göran, Weih, M., and Ninkovic, V. (2020). Plasticity of barley in response to plant neighbors in cultivar mixtures. *Plant Soil* 447 (1–2), 537–551. doi: 10.1007/s11104-019-04406-1
- De Wit, C. T. (1960). On competition. *Verslagen Landbouwkundige Onderzoekingen* 66, 1–82.
- Dunnett, C. W. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Am. Stat. Assoc.* 50, 1096–1121. doi: 10.1080/01621459.1955.10501294?journalCode=uasa20
- Ekroth, A. K. E., Rafaluk-Mohr, C., and King, K. C. (2019). Diversity and disease: evidence for the monoculture effect beyond agricultural systems. *Preprint. Ecol.* 1–30. doi: 10.1101/668228
- Elser, J. J., Elser, T. J., Carpenter, S. R., and Brock, W. A. (2014). Regime shift in fertilizer commodities indicates more turbulence ahead for food security. *PLoS One* 9 (5), e939985. doi: 10.1371/journal.pone.0093998
- FAO (2014). *World Reference Base for Soil Resources 2014: International Soil Classification System for Naming Soils and Creating Legends for Soil Maps* (Rome: FAO).
- Feledyn-Szewczyk, B., Kus, J., Stalenga, J., Berbec, A. K., and Radzikowski, P. (2016). "The Role of Biological Diversity in Agroecosystems and Organic Farming," in *Organic Farming- A Promising Way of Food Production*. Ed. P. Konvalina (InTech). doi: 10.5772/61353
- Fréville, Hélène, Montazeaud, G., Forst, E., David, J., Papa, R., and Tenaillon, M. I. (2022). Shift in beneficial interactions during crop evolution. *Evolutionary Appl.* 15 (6), 905–185. doi: 10.1111/eva.13390
- Gallet, R., Bonnot, François, Milazzo, Joëlle, Tertois, C., Adreit, H., Ravigné, V., et al. (2014). The variety mixture strategy assessed in a G × G experiment with rice and the blast fungus *magnaporthe oryzae*. *Front. Genet.* 4. doi: 10.3389/fgene.2013.00312
- Gaudio, Noémie, Violle, C., Gendreau, X., Fort, F., Mahmoud, Rémi, Pelzer, E., et al. (2021). Interspecific interactions regulate plant reproductive allometry in cereal-legume intercropping systems. *J. Appl. Ecol.* 58 (11), 2579–2589. doi: 10.1111/1365-2664.13979
- Gérardeaux, E., Falconnier, G., Goz, E., DeFrance, D., Kouakou, P.-M., Loison, R., et al. (2021). Adapting rainfed rice to climate change: A case study in Senegal. *Agron. Sustain. Dev.* 41 (4), 575. doi: 10.1007/s13593-021-00710-2
- Gérardeaux, E., Giner, M., Ramanantsoanirina, A., and Dusserre, J. (2012). Positive effects of climate change on rice in Madagascar. *Agron. Sustain. Dev.* 32 (3), 619–275. doi: 10.1007/s13593-011-0049-6
- Grime, J. P. (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *Am. Nat.* 111 (982), 1169–1194. doi: 10.1086/283244
- Grzyb, A., Wolna-Marukwa, A., and Niewiadomska, A. (2020). Environmental factors affecting the mineralization of crop residues. *Agronomy* 10 (12), 19515. doi: 10.3390/agronomy10121951
- Hooper, F. S., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., et al. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75 (1), 3–35. doi: 10.1890/04-0922
- Hooper, D. U., and Dukes, J. S. (2003). Overyielding among Plant Functional Groups in a Long-Term Experiment: Overyielding among Plant Functional Groups. *Ecol. Lett.* 7 (2), 95–1055. doi: 10.1046/j.1461-0248.2003.00555.x
- Hothorn, T., Bretz, F., and Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models - hothorn. *Biometrical J.* 50 (3), 2–18. doi: 10.1002/bimj.200810425
- Jucker, T., and Coomes, D. A. (2012). Comment on Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science* 337 (6091), 155–155. doi: 10.1126/science.1220473
- Kiær, L. P., Skovgaard, I., and Østergård, H. (2012). Effects of inter-varietal diversity, biotic stresses and environmental productivity on grain yield of spring barley variety mixtures. *Euphytica* 185 (1), 123–385. doi: 10.1007/s10681-012-0640-1
- Labbers, H., Raven, J., Shaver, G., and Smith, S. (2008). Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol.* 23 (2), 95–103. doi: 10.1016/j.tree.2007.10.008
- Lehman, C. L., and Tilman, D. (2000). Biodiversity, stability, and productivity in competitive communities. *Am. Nat.* 156 (5), 195. doi: 10.1086/303402
- Li, C., Hoffland, E., Kuyper, T. W., Yu, Y., Zhang, C., Li, H., et al. (2020). Syndromes of production in intercropping impact yield gains. *Nat. Plants* 6 (6), 653–605. doi: 10.1038/s41477-020-0680-9
- Li, L., Li, S.-M., Sun, J.-H., Zhou, L.-L., Bao, X.-G., Zhang, H.-G., et al. (2007). Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104 (27), 11192–11965. doi: 10.1073/pnas.0704591104
- Li, C., Stomph, T.-J., Makowski, D., Li, H., Zhang, C., Zhang, F., et al. (2023). The productive performance of intercropping. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 120 (2), e22018861205. doi: 10.1073/pnas.2201886120
- Li, X.-F., Wang, C.-B., Zhang, W.-P., Wang, L.-H., Tian, X.-L., Yang, S.-C., et al. (2018). The role of complementarity and selection effects in P acquisition of intercropping systems. *Plant Soil* 422 (1–2), 479–493. doi: 10.1007/s11104-017-3487-3
- Loreau, M. (1998). Biodiversity and ecosystem functioning: A mechanistic model. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95 (10), 5632–5636. doi: 10.1073/pnas.95.10.5632
- Loreau, and Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412 (6842), 72–76. doi: 10.1038/35083573
- Malézieux, E. (2012). Designing cropping systems from nature. *Agron. Sustain. Dev.* 32 (1), 15–29. doi: 10.1007/s13593-011-0027-z
- McAlvay, A. C., DiPaola, A., D'Andrea, A. C., Ruelle, M. L., Mosulishvili, M., Halstead, P., et al. (2022). Cereal species mixtures: an ancient practice with potential for climate resilience. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 42 (5), 1005. doi: 10.1007/s13593-022-00832-1
- Mead, R., and Willey, R. W. (1980). The concept of a 'Land equivalent ratio' and advantages in yields from intercropping. *Exp. Agric.* 16 (3), 217–228. doi: 10.1017/S0014479700010978
- Miele, V., Guill, C., Ramos-Jiliberto, R., and Kéfi, S. (2018). The diversity of interaction types drives the functioning of ecological communities. *Ecology*. 1–18. doi: 10.1101/411249
- Montazeaud, G., Violle, C., Fréville, Hélène, Luquet, D., Ahmadi, N., Courtois, B., et al. (2018). Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs. *Plant Soil* 424 (1–2), 187–202. doi: 10.1007/s11104-017-3496-2
- Montazeaud, G., Violle, C., Roumet, P., Rocher, A., Ecamot, M., Compan, Frédéric, et al. (2020). Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: towards ecological assembly rules for varietal mixtures." Edited by marny isaac. *J. Appl. Ecol.* 57 (11), 2285–2955. doi: 10.1111/1365-2664.13735
- Naeem, S., Duffy, J. E., and Zavaleta, E. (2012). The functions of biological diversity in an age of extinction. *Science* 336 (6087), 1401–1406. doi: 10.1126/science.1215855
- Newton, A. C., and Skelsey, P. (2023). Understanding the effect of component proportions on disease control in two-component cultivar cereal mixtures using a pathogen dispersal scaling hypothesis. *Sci. Rep.* 13 (1), 40915. doi: 10.1038/s41598-023-31032-w
- OECD-FAO (2023). *OECD-FAO agricultural outlook* (OECD Publishing). doi: 10.1787/agr-outl-data-en
- Panda, D., Mishra, S. S., and Behera, P. K. (2021). Drought tolerance in rice: focus on recent mechanisms and approaches. *Rice Sci.* 28 (2), 119–325. doi: 10.1016/j.rsci.2021.01.002

- Péllissier, R. émi, Buendia, L., Brousse, A., Temple, C., Ballini, E., Fort, F., *et al.* (2021). Plant neighbour-modulated susceptibility to pathogens in intraspecific mixtures. *J. Exp. Bot.* 72 (18), 6570–6805. doi: 10.1093/jxb/erab277
- Qi, H., Yang, J., Yin, C., Zhao, J., Ren, X., Jia, S., *et al.* (2019). Analysis of *pyricularia oryzae* and *P. Grisea* from different hosts based on multilocus phylogeny and pathogenicity associated with host preference in China. *Phytopathology*® 109 (8), 1433–1405. doi: 10.1094/PHYTO-10-18-0383-R
- Raboin, A. R., Dzido, J.-L., Frouin, J., Radanielina, T., Tharreau, D., Dusserre, J., *et al.* (2013). Upland rice varieties for the highlands of Madagascar: Review of a 25-year-long breeding program. *Cahiers Agricultures* 22 (5), 450–585. doi: 10.1684/agr.2013.0624
- Raboin, T. R., Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Ahmadi, N., and Dusserre, J. (2013). Upland rice varieties for smallholder farming in the cold conditions in Madagascar's tropical highlands. *Field Crops Res.* 169 (December), 11–20. doi: 10.1016/j.fcr.2014.09.006
- Raboin, A., Ramanantsoanirina, J., Dusserre, F., Razasolofonahary, D., Tharreau, C., Lannou, *et al.* (2012). Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem: cultivar mixtures and blast in upland rice. *Plant Pathol.* 61 (6), 1103–1115. doi: 10.1111/j.1365-3059.2012.02602.x
- Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Raboin, L.-M., and Ahmadi, N. (2013). Determinants of rice varietal diversity in the region of Vakinankaratra (Madagascar). *Cahiers Agricultures* 22 (5), 442–495. doi: 10.1684/agr.2013.0648
- Reiss, E. R., and Drinkwater, L. E. (2018). Cultivar mixtures: A meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecol. Appl.* 28 (1), 62–775. doi: 10.1002/eap.1629
- Revilla-Molina, I. M. (2009). Genetic diversity for sustainable rice blast management in China: adoption and impact 144.
- Richards, R. A. (2000). Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops. *J. Exp. Bot.* 51 (suppl_1), 447–458. doi: 10.1093/jexbot/51.suppl_1.447
- Searle (2012). Population marginal means in the linear model: an alternative to least squares means. *Am. Statistician* 34, 216–221. doi: 10.1080/00031305.1980.10483031
- Singh, R. P., Singh, P. K., Rutkoski, J., Hodson, D. P., He, X., Jørgensen, L. N., *et al.* (2016). Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 54 (1), 303–225. doi: 10.1146/annurev-phyto-080615-095835
- Smithson, J. B., and Lenné, J. M. (1996). Varietal mixtures: A viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Ann. Appl. Biol.* 128 (1), 127–158. doi: 10.1111/j.1744-7348.1996.tb07096.x
- Snyder, L. D., Gómez, M. I., Mudrak, E. L., and Power, A. G. (2021). Landscape-dependent effects of varietal mixtures on insect pest control and implications for farmer profits. *Ecol. Appl.* 31 (2), 1–11. doi: 10.1002/eap.2246
- Snyder, L. D., Gómez, M. I., and Power, A. G. (2020). Crop varietal mixtures as a strategy to support insect pest control, yield, economic, and nutritional services. *Front. Sustain. Food Syst.* 4 (May). doi: 10.3389/fsufs.2020.00060
- Tall, H., Lachaux, Marlène, Diallo, A., Wonni, I., T é k é t é , C., Verdier, Valérie, *et al.* (2022). Confirmation report of bacterial leaf streak disease of rice caused by *xanthomonas oryzae* pv. *Oryzicola* in Senegal. *Plant Dis.* 106 (8), 22535. doi: 10.1094/PDIS-11-21-2481-PDN
- Tilman, D., Reich, P. B., and Knops, J. M. H. (2006). Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature* 441 (7093), 629–632. doi: 10.1038/nature04742
- Turnbull, L. A., Isbell, F., Purves, D. W., Loreau, M., and Hector, A. (2016). Understanding the value of plant diversity for ecosystem functioning through niche theory. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 283 (1844), 20160536. doi: 10.1098/rspb.2016.0536
- Wang, S., Isbell, F., Deng, W., Hong, P., Dee, L. E., Thompson, P., *et al.* (2021). How complementarity and selection affect the relationship between ecosystem functioning and stability. *Ecology* 102 (6), 1–12. doi: 10.1002/ecy.3347
- Weigelt, A., Mommer, L., Karl, A., Iversen, C. M., Bergmann, J., Bruehlheide, H., *et al.* (2021). An integrated framework of plant form and function: the belowground perspective. *New Phytol.* 232 (1), 42–59. doi: 10.1111/nph.17590
- Werf, W. v. d. (2021). Comparing performance of crop species mixtures and pure stands. *Front. Agric. Sci. Eng.* 0 (0), 9. doi: 10.15302/J-FASE-2021413
- Wuest, S. E., Peter, R., and Niklaus, P. A. (2021). Ecological and evolutionary approaches to improving crop variety mixtures. *Nat. Ecol. Evol.* 5 (8), 1068–1775. doi: 10.1038/s41559-021-01497-x
- Yachi, S., and Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96 (4), 1463–1685. doi: 10.1073/pnas.96.4.1463
- Zhang, J. L., Rossman, A. Y., Aoki, T., Chuma, I., Crous, P. W., Dean, R., *et al.* (2016). Generic names in magnaporthales. *IMA Fungus* 7 (1), 155–159. doi: 10.5598/ima fungus.2016.07.01.09
- Zhang, G., Yang, Z., and Dong, S. (2011). Interspecific competitiveness affects the total biomass yield in an alfalfa and corn intercropping system. *Field Crops Res.* 124 (1), 66–735. doi: 10.1016/j.fcr.2011.06.006
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., *et al.* (2000). Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406 (6797), 718–722. doi: 10.1038/35021046
- Zhu, S., and Morel, Jean-Benoît (2019). Molecular mechanisms underlying microbial disease control in intercropping. *Mol. Plant-Microbe Interactions*® 32 (1), 20–245. doi: 10.1094/MPMI-03-18-0058-CR

Supplementary material

Table S1: Comparison of soil physical and chemical properties between Site ANK and Site IVO in different horizons

		<i>Physical properties</i>					<i>Chemical properties</i>			
		<i>Clay</i> <i>(0 - 2μ) %</i>	<i>Fine silts</i> <i>(2 - 20μ) %</i>	<i>Coarse silt</i> <i>(20 - 50μ) %</i>	<i>Fine sand</i> <i>(50 - 200μ) %</i>	<i>Coarse sand</i> <i>(0.2 - 2mm) %</i>	<i>pH</i>	<i>CO</i> <i>(g.kg-1)</i>	<i>N tot</i> <i>(g.kg-1)</i>	<i>P ass</i> <i>(mg.kg-1)</i>
Site ANK	<i>Horizon 0 to 10 cm</i>	38.76	11.54	6.08	9.3	34.32	5.02	21.47	1.72	7.09
	<i>Horizon 10 to 20 cm</i>	45.6	12.23	6.46	9.52	26.2	4.83	20.34	1.58	4.83
	<i>Horizon 20 to 30 cm</i>	55.05	9.09	5.03	7.46	23.36	4.65	14.59	1.29	3.18
Site IVO	<i>Horizon 0 to 10 cm</i>	36.15	24.75	9.08	9.41	20.61	5.17	17.6	1.44	9.26
	<i>Horizon 10 to 20 cm</i>	39.19	24.37	8.87	8.78	18.8	5.08	16.11	1.3	6.93
	<i>Horizon 20 to 30 cm</i>	46.1	21.97	7.57	7.33	17.04	4.89	15.67	1.16	4.69

Table S2: Phenological and phenotypic characteristics of the four upland rice varieties. Data extracted from experiment in the site ANK in 2020-2021 (Rahajaharilaza *et al.* in prep)

		Agronomic performances									Resistance to environmental stresses				
		Grain Yield	Biomass yield	Harvest Index	Panicle per plant	Spikelet per panicle	Full grain per panicle	Empty grain per panicle	1000 grains weight	Sterility	Resistance to abiotic stress	White worm attack	Weed's biomass	Pyricularia incidence	Pyricularia severity
		(kg. ha-1)	(kg. ha-1)	-	(nb)	(nb)	(nb)	(nb)	(g)	(%)	(score)	(%)	(g)	(%)	(cm²)
A	EARLY_MUTANT_IAC_165	4 476	5 052	0.45	13	82	68.9	2.7	31.4	15	8.4	10.4	14.4	49.8	3.72
B	F152	3 553	4 119	0.43	13	64	51.8	2.7	28.7	18	11.2	7.1	6.7	39.6	2.92
C	F154	3 602	3 993	0.41	12	76	54.0	2.9	32.3	28	11.6	14.3	16.8	48	3.26
D	DOURADO_PRECOCE	3 553	4 294	0.42	10	81	60.7	3.4	31.0	21	7.4	6.8	28.6	87.6	26

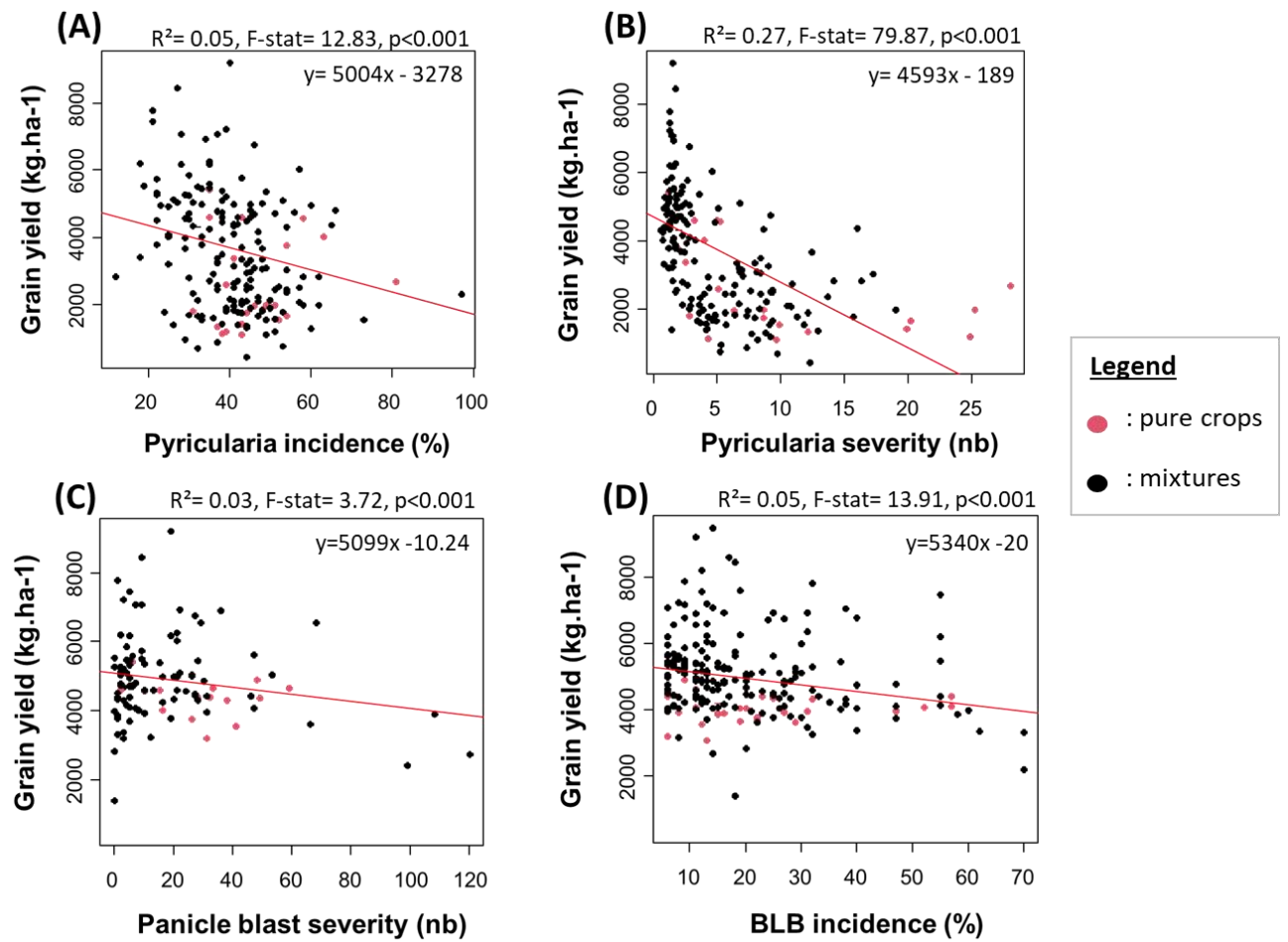


Figure S1: Correlation between grain yield and environmental biotic constraints: (A) blast incidence, (B) blast severity, (C) panicle blast and (D) BLB disease incidence. Dots in red are pure crops and dots in black are plots planted with varietal mixtures.

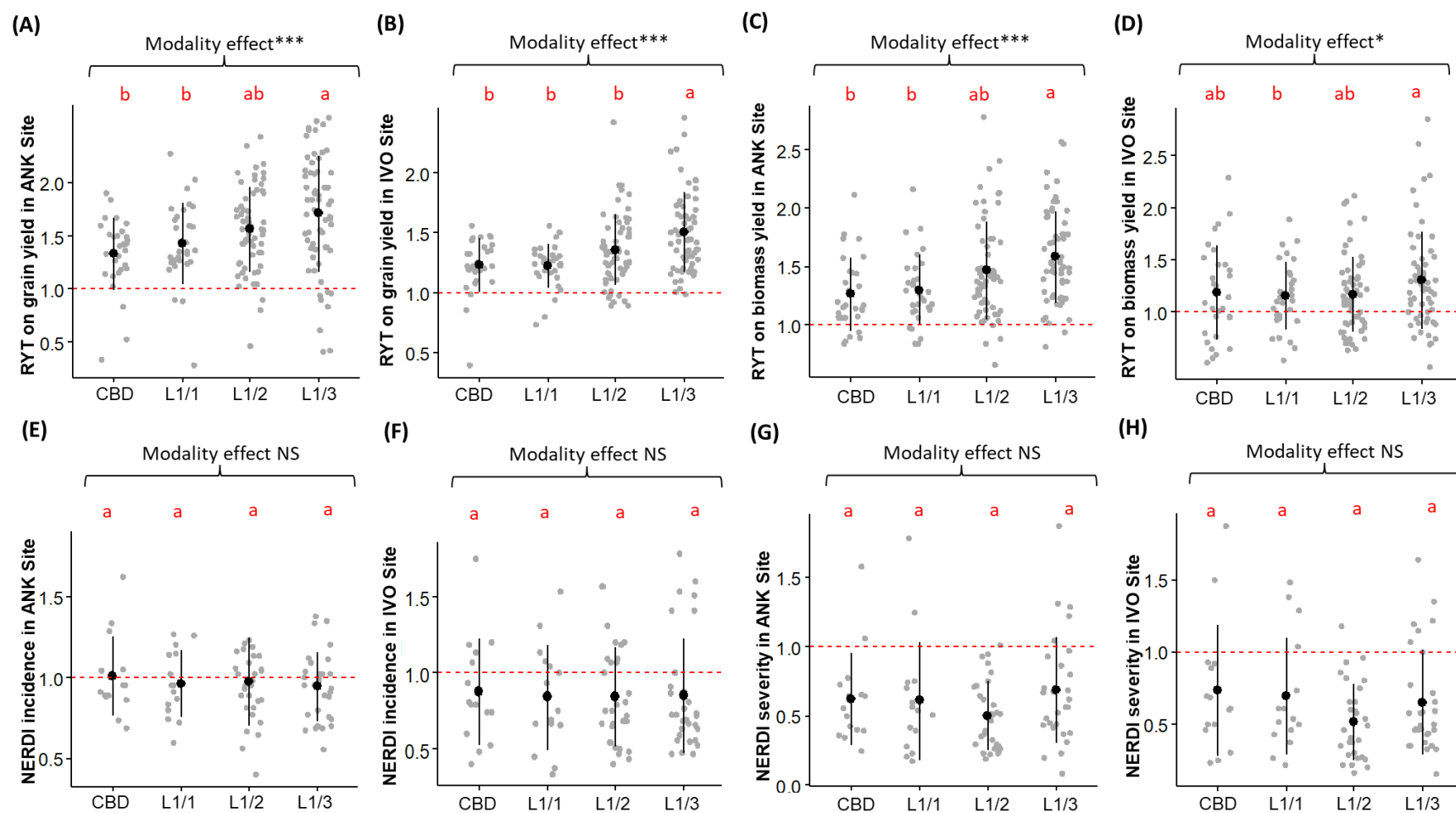


Figure S2: RYT for grain and biomass yield and NERDI values for disease incidence and severity of different spatial arrangements in the two sites. The letters 'a' and 'b' indicate significant differences between arrangements within each site at the 5% level of confidence (linear model analysis).

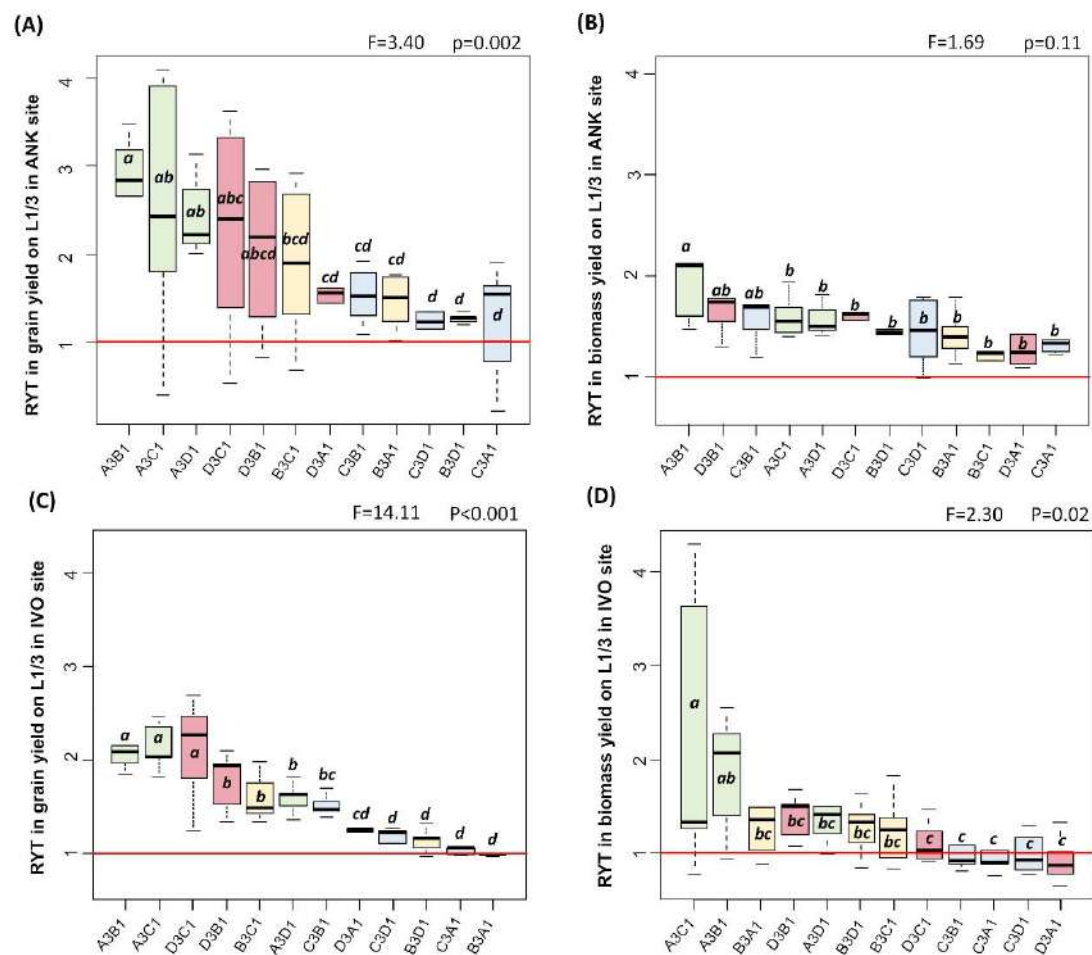


Figure S3: RYT values for grain and biomass yield for L1/3 repartition in the two sites. RYT in ANK site (panels A and B), in IVO site (panels C and D). Mixture effects are assessed using ANOVA and letters 'a' and 'b' indicate significant differences at the 5% level of confidence. The colours indicate the high-dominant varieties in the mixtures (75% for RYT and 63% for RRT). Green for A, yellow for B, blue for C and red for D.

CHAPITRE IV :

Evaluation avec des mélanges de variétés locales pendant trois campagnes culturales

Ce quatrième chapitre étudie l'intérêt d'adopter des mélanges variétaux avec des variétés vulgarisées sur les Hautes Terres de Madagascar pendant plusieurs années. Les différentes parties abordées par cette étude sont détaillées ci-dessous.

Introduction

Madagascar dépend fortement du riz en tant qu'aliment de base. la majorité des terres arables sont dédiées à la culture du riz irriguée (Radanielina *et al.*, 2013). La consommation annuelle de riz blanc par personne dépasse les 100 kilogrammes, fournissant environ 72,8 % de l'apport calorique de la population. Cette forte dépendance souligne l'importance primordiale du riz dans l'alimentation quotidienne des Malgaches (FAO, 2021 ; Garruchet *et al.*, 2023). La culture pluviale du riz, en particulier dans la région de Vakinankaratra, joue un rôle essentiel en complément de la riziculture irriguée, représentant 8,4 % de la superficie totale de production de riz (Garruchet *et al.*, 2023). Cette pratique prend de l'ampleur dans une région où le développement de nouveaux champs de riz irrigué n'est plus possible, en raison de contraintes géographiques et de densité de population. Cependant, la rapide expansion de la culture du riz pluvial par les agriculteurs défavorisés dans cette région rencontre des défis majeurs tels que la faible fertilité du sol, la vulnérabilité aux maladies et aux ravageurs, et une menace significative de *Pyricularia oryzae*, un agent pathogène du riz (Raboin *et al.*, 2012, 2016). Ces défis soulignent la nécessité d'explorer des approches durables pour maintenir la productivité agricole dans ce contexte. La dépendance à une variété dominante, Chhomrong Dhan (CD), suscite des préoccupations quant à la durabilité des systèmes de culture du riz pluvial, en particulier face aux changements environnementaux possibles. Cette dépendance accentue les risques associés à la monoculture, mettant en évidence la nécessité de diversifier les variétés de riz cultivées pour assurer la résilience du système agricole (Frison *et al.*, 2011 ; Strange & Scott, 2005). L'uniformité génétique augmente la vulnérabilité des cultures aux pathogènes et aux contraintes. Afin de contrer cette vulnérabilité, l'augmentation de l'agrobiodiversité à travers des pratiques telles que l'association de cultures et les mélanges variétaux offrent une diversité fonctionnelle, améliorant les services écosystémiques tels que la suppression des mauvaises herbes, la lutte contre les ravageurs et l'amélioration du sol (Reddy *et al.*, 2011). Les mélanges variétaux, en particulier, peuvent jouer un rôle majeur crucial en réduisant la vulnérabilité des cultures, minimisant les pertes de production et optimisant les performances globales des cultures (Creissen, 2013 ; Kong *et al.*, 2023). Bien que des recherches approfondies aient été

menées au niveau des plantes, des études à long terme sous des conditions réelles sur le terrain sont limitées. La plupart des études sur les mélanges variétaux de riz se concentrent sur le contrôle de la maladie pyriculariose (*Pyricularia oryzae*), montrant des résultats positifs en termes d'augmentation globale du rendement et de réduction des maladies lors de la plantation de variétés sensibles et résistantes ensemble (Gallet *et al.*, 2014 ; Leung *et al.*, 2003).

Dans ce dernier chapitre, une approche a posteriori est adoptée en complémentarité avec celle a priori présentée dans le deuxième et troisième chapitres. Il s'agit d'étude focalisée spécifiquement sur l'évaluation des mélanges en utilisant quatre variétés de riz pluvial adaptées aux conditions écologique des Hautes Terres de Madagascar : Chhomrong Dhan, Fofifa 172, Fofifa 173 et Fofifa 180. L'objectif a été de tester l'efficacité et la stabilité productive des mélanges variétaux dans des conditions hors maladies avec des variétés résistantes et aussi adaptées aux conditions environnementales des Hautes Terres. Cette recherche menée sur une période de trois ans sous des conditions réelles sur le terrain vise à répondre au besoin d'une production de rendement durable et stable. Nous avons cherché à déterminer si (i) les mélanges peuvent améliorer le rendement en grains et (ii) si le nombre de variétés et leur composition peuvent améliorer les mélanges. Nous avons également cherché à caractériser la plasticité des variétés en fonction de la composition des mélanges. Les trois hypothèses suivantes ont été testées dans ce dernier chapitre. H1 : Une plus grande diversité génétique avec une composition élevée de variétés dans les mélanges favorisent des rendements agronomiques plus élevés, H2: Des mélanges comprenant une composition spécifique de variétés de riz présentent des rendements en grains plus élevés et H3: Les variétés de riz présentent une plasticité phénotypique dépendant des compositions variétales et influençant les performances agronomiques

Matériels et méthodes

L'étude a été conduite dans la région Vakinankaratra sur trois saisons culturales (2013-2014, 2014-2015 et 2016-2017). Les essais ont eu lieu à la station expérimentale de FOFIFA à Andranomanelatra, située dans les hauts plateaux à une altitude de 1635 mètres. La température moyenne mensuelle de la région varie de 19,2°C à 19,6°C pendant les saisons de culture, avec des précipitations cumulatives variables (1 228 mm en 2014, 1 476 mm en 2015 et 1 279 mm en 2017). Le sol du site expérimental est de type "Ferralsol", caractérisé par 66 % d'argile, 17 % de limon fin, 3 % de limon grossier, 6 % de sable fin et 8 % de sable grossier. Quatre variétés

de riz pluvial ont été sélectionnées pour l'étude : Chhomrong Dhan (CD), FOFIFA 172 (F172), FOFIFA 173 (F173) et FOFIFA 180 (F180). Ces variétés, développées par FOFIFA et le CIRAD, sont adaptées aux conditions climatiques en haute altitude et résistantes à la *Pyricularia oryzae*. Chhomrong Dhan, une variété népalaise sortie en 2006, a servi de géniteur pour F173 et F180. Les variétés ont des caractéristiques distinctes les unes des autres telles que la réaction à la pyriculariose, la parenté femelle et mâle, l'altitude moyenne, la durée du cycle à maturité et des traits spécifiques.

Le plan expérimental vise à évaluer différentes combinaisons de variétés, impliquant deux facteurs de traitement : le "type d'association" : cultures pures (P), associations de deux (B), de trois (T) ou de quatre variétés (F) et la "composition variétale" (variétés spécifiques associées). La conception diffère selon les années (2014, 2015 et 2017), adoptant des plans en blocs complets ou incomplets avec des répétitions. Au niveau de la parcelle, les mélanges de variétés sont disposés en rangées alternées, chaque parcelle mesure 16 m². Chaque rangée contient 20 poquets avec un espacement de 20 cm entre les rangs et les lignes. La fertilisation comprend du fumier bovin, de la dolomie, de l'engrais NPK et de l'urée, selon les recommandations du FOFIFA. Les mesures des plantes ont porté sur la hauteur des plantes, le temps de floraison et les composantes du rendement tels que le rendement en grains, le poids de 1000 grains, le nombre de panicules par m² et le nombre de jours jusqu'à la floraison. Les analyses statistiques ont impliqué trois étapes : l'identification des paramètres influençant les variations de rendement, l'évaluation de la performance de chaque variété dans les mélanges et l'étude de la plasticité des traits des variétés en fonction des compositions variétales. Pour la première étape, un modèle de régression linéaire à effets mixtes a été utilisé pour analyser les effets du type d'association et de la composition variétale sur le rendement en grains. Des moyennes ajustées ont été calculées, et le Ratio d'Équivalence des Surfaces (LER) a été calculé pour quantifier la superficie nécessaire aux cultures pures pour atteindre les mêmes rendements que les mélanges. Les valeurs de LER ont aidé à identifier les compositions variétales ayant une performance forte. La deuxième étape consiste à évaluer la performance individuelle de chaque variété dans les mélanges. Les variétés focales et voisines ont été définies, et des tests de Dunnett ont été réalisés pour comparer les rendements en culture pure avec les rendements dans différents mélanges. Dans la troisième étape, la plasticité des traits variétaux selon les compositions variétales a été observée. Des modèles linéaires ont été appliqués aux traits tels que le poids de 1000 grains, le nombre de panicules, le nombre de jours jusqu'à la floraison et la hauteur des

plantes. Des tests de Dunnett ont ensuite été réalisés pour comparer les valeurs des traits en culture pure avec celles qui ont été associées à des variétés voisines spécifiques. Le logiciel R a été utilisé pour toutes les analyses statistiques et a fourni un cadre méthodologique complet pour évaluer la performance des variétés de riz pluvial dans différentes compositions dans des conditions réelles de terrain.

Résultats

Variations du rendement des mélanges : Aucune variation significative du rendement global n'a été observée entre les différents types d'association de 2, 3 ou 4 variétés en mélange. Alors qu'un effet très significatif sur le rendement en grain a été observé au niveau de certaines variétés composantes du mélange. Les mélanges comportant des variétés qui sont performantes en pure (CD et F180) sont moins productives lorsqu'elles sont en mélange avec d'autres variétés. Les mélanges comportant la variété F173 produisent les mêmes rendements en grains que ses cultures pures et finalement les mélanges comportant la variété F172 sont tous plus productives que ses cultures pures.

Corrélation entre les rendements observés et attendus :

Une corrélation positive forte a été observée entre les rendements observés dans les mélanges et les rendements attendus basés sur les rendements moyens des composants variétaux individuels en cultures pures. L'analyse du LER n'a pas montré d'augmentation globale du rendement en grains des mélanges par rapport aux cultures pures. Les mélanges binaires (B) avaient une efficacité d'utilisation des terres inférieures aux cultures pures, tandis que les mélanges à trois variétés (T) et à quatre variétés (Q) ont montré des améliorations marginales de l'efficacité d'utilisation des terres.

Performance individuelle des variétés au sein des mélanges :

Les résultats de rendement en grain varient selon le mode de culture, en pures ou en mélanges, dépendant de la variété en question ; F172 en culture pure produit un rendement inférieur que F172 mélangée avec d'autres variétés. Cinq combinaisons surpassent significativement son rendement en monoculture. Pour F173, sa culture pure produit un meilleur rendement que celui observé dans deux des mélanges testés, mais est inférieure à celui obtenu dans cinq autres mélanges. En revanche, CD, a été plus productive en culture pure par rapport à ses rendements au sein des mélanges. De même, la variété F180 a été plus productive en culture pure par rapport

aux rendements de tous les mélanges dans lesquels elle est incluse. Trois mélanges spécifiques produisent un rendement significativement inférieur à sa culture pure.

Plasticité des traits variétaux en fonction des compositions du mélange :

La plasticité variétale a été analysée pour quatre traits : le poids de 1000 grains, le nombre de panicules par m², la durée de floraison et la hauteur des plantes. Aucune variation significative n'a été détectée pour ces quatre traits parmi les compositions de mélange impliquant soit les variétés F172 ou F173. Pour CD, la variation parmi les compositions de mélange a été significative pour la durée de floraison et la hauteur des plantes, sa durée de floraison réduite dans tous les mélanges par rapport à CD en culture pure. La hauteur des plantes de CD a été réduite dans la plupart des mélanges par rapport à CD en culture pure, à l'exception du mélange avec F180. Pour F180, la variation parmi les compositions de mélange a été significative pour le nombre de panicules par m² et la hauteur des plantes. F180 a augmenté son nombre de panicules par m² dans la plupart des mélanges, sauf dans le mélange avec quatre variétés et sa hauteur est significativement réduite lorsqu'elle est mélangée avec F 172 ; alors que sa hauteur a tendance à augmenter dans tous les mélanges impliquant CD.

Discussions

L'étude révèle des perspectives nuancées sur la performance des mélanges variétaux. Elle met en avant l'absence de gains globaux de rendement mais des effets variétaux marqués. Le rendement moyen en cultures pures et en mélange ont été respectivement de 4242 kg/ha et 4238 kg/ha sur l'ensemble des expérimentations. Aucun surcroît excessif de rendement n'a été observé, Le LER global était de 1,001, en accord avec une méta-analyse de Reiss et Drinkwater, (2018) suggérant une modeste augmentation de 2,2 % du rendement dans les mélanges variétaux par rapport aux composants purs. Malgré la promotion de certaines améliorations de rendement, les mélanges variétaux se sont révélés moins efficaces pour l'amélioration de la production agricole par rapport à des stratégies telles que l'agroforesterie, l'association de cultures ou les rotations de cultures. Combiner les mélanges variétaux avec ces approches pourrait optimiser davantage les effets de diversification. Aucun effet significatif du type d'association, que ce soit en mélangeant deux, trois ou quatre variétés, n'a été détecté, contrairement à la littérature suggérant qu'une diversité accrue avec plus de composants améliore la capacité de production. La corrélation positive entre les rendements observés dans les mélanges et les rendements attendus basés sur les rendements moyens des composants

indique que la productivité des mélanges suit étroitement la productivité de leurs composants individuels en cultures pures. Cependant, certaines compositions variétales ont présenté systématiquement des rendements observés plus élevés que prévu, suggérant des effets synergiques potentiels. Les mélanges de trois variétés ont produit le plus de grains, et la seule combinaison avec un LER positif significatif. Cela suggère que les mélanges pourraient atteindre des rendements égaux ou supérieurs à ceux des variétés en culture pure, surtout dans des conditions plus contraignantes et avec des intrants plus faibles. L'absence de pression de la maladie de la pyriculariose dans notre expérimentation a pu limiter l'effet de surcroissance, car toutes les variétés utilisées sont résistantes ou tolérantes à cette maladie. L'effet de surcroissance tend à augmenter dans les mélanges sous pression de maladies.

Bien que les rendements globaux soient restés constants, les variétés individuelles ont montré des comportements distincts dans les mélanges. La variété F173 a eu des performances similaires en cultures pures et en mélanges, F172 a été bénéfique en mélanges, et les variétés productives CD et F180 ont été plus productives en cultures pures. Cette variation de performance est attribuée aux capacités compétitives des variétés, les plus productives surpassant les autres en cultures même en mélange (Wang *et al.*, 2021). À part cela, les relations génétiques ont joué un rôle dans la performance variétale. La variété CD, géniteur de F180 et F173, a montré un rendement individuel accru lorsqu'elle était associée à ses progénitures, suggérant une complémentarité génétique et une synergie (Becker *et al.*, 2023; Richards, 2000). En revanche, F172, également parent de F180, a produit mieux en pure, possiblement en raison d'une incompatibilité génétique ou d'un effet de dilution lors du croisement (Fréville *et al.*, 2022; Mahaut *et al.*, 2023).

La compétition entre les variétés dans les mélanges a révélé une opposition entre la performance en rendement d'une variété en culture pure et sa performance relative dans les mélanges. Les variétés moins productives ont mieux produit dans les mélanges, tandis que les plus productives ont moins produit. Cela indique la nécessité de minimiser les interactions compétitives lors de la conception des mélanges. La plasticité de certains traits des variétés, tels que la hauteur des plantes et le moment de la floraison, a été observée en raison des interactions compétitives au sein des mélanges. Par exemple, la variété la plus compétitive a ajusté sa croissance vers le bas lorsqu'elle était mélangée avec des variétés plus courtes, montrant que la plasticité des traits est un facteur important dans la performance des mélanges. Cela suggère que mesurer les traits

uniquement en culture pure peut être insuffisant pour prédire la performance des mélanges. La plasticité semble être un ajustement aux interactions compétitives, mais elle pourrait également contribuer à accroître la complémentarité pour l'exploitation des ressources dans certains cas.

Conclusion et perspectives

Dans notre étude, l'utilisation des quatre meilleures variétés enregistrées de riz pluvial, sélectionnées pour les conditions d'altitude élevée et la résistance à la maladie de la pyriculariose, n'a pas révélé de overyielding transgressive. Aucun mélange n'a surpassé la meilleure variété en culture pure. Cependant, certaines combinaisons de mélanges ont statistiquement égalé les performances des meilleures variétés en culture pure. Pour améliorer l'efficacité des mélanges, une évaluation systématique des capacités de mélange d'un plus grand nombre de lignées adaptées dans les dernières phases du programme d'amélioration du riz de montagne à Madagascar pourrait être envisagée. Évaluer la performance des mélanges dans des conditions réelles d'agriculteurs, avec des intrants faibles et une faible fertilité du sol, pourrait mieux mettre en valeur leurs effets attendus. Investir dans la recherche sur les mélanges de variétés est à prioriser pour développer une agriculture plus résiliente et productive, en particulier dans les Hautes terres de Madagascar, où les petits agriculteurs font face à une grande vulnérabilité aux risques agricoles et au changement climatique. S'inspirant de la littérature, des suggestions sont avancées pour améliorer la conception des mélanges. Wuest (2021) propose une stratégie écologique et évolutive, préconisant la conception de mélanges avec des variétés d'élite avant l'enregistrement, remettant en question les approches conventionnelles d'élevage. Barot (2017) recommande une approche multifacette, mettant l'accent sur la nécessité d'évaluer davantage des combinaisons. L'approche aveugle aux traits axés sur les capacités de mélange, exige des conceptions expérimentales approfondies, tandis que l'approche basée sur les traits conçoit efficacement des mélanges pour des services spécifiques. Barot souligne l'importance de l'évaluation dans le monde réel et la nécessité de nouvelles approches d'élevage pour créer des variétés avec des capacités de mélange plus élevées. Ces considérations visent à contribuer au développement d'une agriculture plus résiliente et efficace face aux conditions environnementales en évolution, particulièrement pertinentes pour les petits agriculteurs dans les Hautes terres vulnérables de Madagascar.

Evaluation of upland rice variety mixtures in Madagascar highlands

Koloina Rahajaharilaza^{1,2,3*}, Kirsten vom Brocke^{2,4}, Philippe Letourny⁵, Bertrand Muller^{2,3,4}, Ramavovololona¹, Perraud Rebecca^{2,4}, Tuong-Vi Cao^{2,4}, Louis Marie Raboin⁵

¹University of Antananarivo, Faculty of Sciences, ED SVE, Antananarivo, Madagascar

²CIRAD, UMR AGAP Institut, F-34398 Montpellier, France

³Dispositif en Partenariat Système de Production d'Altitudes Durable, Antsirabe, Madagascar

⁴UMR AGAP Institut, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

⁵CIRAD, UPR AIDA, TA B-115/02, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier, Cedex 5, France

Abstract:

Introduction: Madagascar heavily depends on rice, especially through irrigated farming, providing 72.8% of the population's caloric intake. Rainfed upland rice farming is crucial in the densely populated Vakinankaratra region, facing challenges like poor soil fertility and vulnerability to diseases like *Pyricularia oryzae*. To tackle these issues, varietal mixtures are proposed, emphasizing increased agrobiodiversity and essential ecosystem services. Studies on rice varietal mixtures emphasize disease control, showed increased yield and reduced susceptibility in susceptible components. In Madagascar, farmers' concerns to achieve steady yield production and food security. To stand this concern we evaluate upland rice mixtures adapted to local conditions and tolerant to *Pyricularia oryzae*.

Materials and method: The plant material for the experiment included four upland rice varieties—Chhomrong Dhan (CD), FOFIFA 172 (F172), FOFIFA 173 (F173), and FOFIFA 180 (F180). Those varieties are all well-suited to Madagascar's high-altitude climatic conditions and resistant to *Pyricularia oryzae*. The experimental design aimed to assess various variety combinations, considering two treatment factors: 'association type' (ranging from pure stands to associations of all four varieties) and 'varietal composition' (15 modalities representing different combinations). Plant measurements covered aspects such as plant height, flowering time, yield components, and grain yield. The analysis included the identification of the best-performing varietal compositions using a mixed-effects linear regression model and Land Equivalent Ratio (LER) calculations. Individual variety performance within mixtures was assessed as varietal trait plasticity across different compositions for trait comparisons.

Result: The analysis of mixture yield variations revealed that grain yield did not significantly differ among various association types, but the varietal composition within the mixtures had a highly significant effect. Pure stands of CD and F180 varieties were the most productive, while F172 pure stands and certain binary associations were the least productive. The correlation between observed and expected yields in mixtures showed a strong positive correlation, with deviations observed in specific mixtures across different years. The Land Equivalent Ratio (LER) analysis did not demonstrate an overall increase in grain yield for mixtures over pure stands, with variations among different association types. Regarding individual variety performance within mixtures, differences in adjusted plot yields depended on the specific variety studied. F172, F173, and F180 varieties exhibited significant differences in yield among various varietal compositions. Varieties CD and F180 showed significant changes in traits like panicle number, flowering duration, and plant height based on the mixtures.

Discussion: Despite literature suggesting enhanced production with increased diversity, our study found no significant effects based on association type or the number of varieties in mixtures. Notably, mixtures with three varieties showed the highest grain yield potential. However, the absence of blast disease pressure in our experiment may have limited overyielding effects. Competitive interactions between varieties in mixtures demonstrated unequal abilities, emphasizing the need to minimize such interactions for improved performance. The conclusion underscores the importance of systematic evaluation and

draws inspiration from literature, advocating for innovative breeding approaches to create varieties with higher mixing abilities, contributing to resilient agriculture in vulnerable regions like the Madagascar highlands.

INTRODUCTION

Madagascar is a country heavily reliant on rice as its staple food. The majority of arable land is allocated to irrigated rice farming (Radanielina *et al.*, 2013a). Annual consumption of white rice per person is estimated at more than 100 kilograms per capita per year. Rice thus provides an average of 72.8% of the population's calorie intake of the population (FAO, 2021; Garruchet *et al.*, 2023). Rainfed upland rice farming plays a pivotal role as a complement to irrigated rice, accounting for 8.4% of the total area dedicated to rice production (Garruchet *et al.*, 2023). This is particularly true in the densely populated Vakinankaratra region of the Madagascar central highlands, where the development of new lowland paddy fields is no more possible. In this region, characterized by a cold tropical highland climate, the cultivation of upland rice has expanded very rapidly, mostly among resource-poor farmers, thanks to the release of cold tolerant upland rice cultivars since the mid-1990s (Raboin *et al.*, 2014; L.-M. Raboin *et al.*, 2013). However, rainfed upland rice cultivation (UR) in Madagascar faces several constraints such as poor soil fertility, and vulnerability to diseases and pests, including significant threats of *Pyricularia oryzae* (Raboin *et al.*, 2012, 2016). Furthermore, the successful expansion of UR cropping mainly relies on the adoption and cultivation of one dominant variety Chhomrong Dhan (CD), raising concerns about the sustainability of upland rice cropping systems in this region if conditions (climate, disease pressure, etc.) change. It is widely acknowledged, that genetic uniformity increases the vulnerability of crops to pathogens or abiotic stresses (Frison *et al.*, 2011; Strange and Scott, 2005).

Increasing agrobiodiversity through intercropping provides functional diversity, enabling essential ecosystem services. These services include weed suppression, support for natural enemies of pests and pollinators, pest control, soil quality improvement and reduced nitrogen leaching, (Reddy *et al.*, 2011). Increasing intraspecific diversity with cultivar mixtures is also a way to increase diversity in agricultural systems. Cultivating multiple plant varieties in the same plot can significantly decrease disease and pest pressure, especially when specific varieties resistant to major pathogens or pests are included (Boero, 2015; Naeem *et al.*, 2012; Panda *et al.*, 2021). Reduced vulnerability leads to less production losses and higher yields. Furthermore, varietal mixtures optimize overall crop performance by improving production stability (Creissen, 2013; Kong *et al.*, 2023). Stability in this context refers to the system's ability to maintain consistent production in variable conditions especially under stress (Cardinale *et al.*, 2002). Mixtures of varieties were often found more productive than monocultures of the same varieties, however, this overyielding is often limited to a modest range of 1–3 % (Wuest *et al.*, 2021; Reiss and Drinkwater, 2018).

To harness the potential of varietal mixtures, two approaches can be considered. The first, commonly known as the “a priori approach” or the “trait-based approach”, involves selecting varieties with distinct phenotypic characteristics (Montazeaud *et al.*, 2020b). Highly diverse varieties are intentionally combined to benefit from complementarity effects between traits, for example associating varieties with varying root traits to enhance water and nutrient uptake (Wang *et al.*, 2017) and/or varieties with different disease resistance levels to mitigate disease infections within mixtures (Kiær *et al.*, 2009; Sapoukhina *et al.*, 2013). The second approach is referred to as “a posteriori approach”. It involves combining varieties in order to detect positive interaction and composition effects on ecosystem functioning beyond spatial, chemical, or temporal complementarity between varieties. For example, it could help identify indirect mechanisms achieving more abundant plant growth promoting microbes in mixtures or complementary suppression of weeds (Jaillard *et al.*, 2018b; Kopp *et al.*, 2023). The selected varieties may have similar productive capacities or disease resistance levels. The expectation is that mixtures may exhibit diverse performance outcomes, whether positive, negative or neutral. Evaluating the performance of varietal mixtures is essential to assess their effectiveness. This evaluation can encompass various aspects, including assessing productivity compared to monocultures, pest and disease control, economic and nutritional benefits, and accounting for the heterogeneity of the study area. While there is ample research at the plant level, long-term studies under real field conditions are very few (Snyder *et al.*, 2020; Wuest *et al.*, 2021).

Most studies on rice varietal mixtures were designed to control the *Pyricularia oryzae* disease (Gallet *et al.*, 2014; Leung *et al.*, 2003). They have demonstrated significant outcomes, including an overall increase in yield and a reduction of disease incidence and severity in the susceptible components of mixtures when susceptible and resistant varieties were planted together (Raboin *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2005, 2000). An even more targeted approach to rice blast control is the development of rice multilines or mixtures of several near-isogenic lines (NILs), each carrying different R genes (Ishizaki *et al.*, 2005; Skamnioti and Gurr, 2009; Takeuchi *et al.*, 2006). Rice mixtures have also been investigated as a strategy to manage weed infestation (Binang *et al.*, 2011; Jareen *et al.*, 2019). However, few studies were carried out into the effect of rice variety mixtures on yield outside biotic constraints. A study conducted by Revilla-Molina *et al.* (2009) revealed a yield advantage of mixtures that was mainly explained by the prevention of lodging of the tall rice variety of the mixture facilitated by the lodging resistance of the other component. Resource complementary played only a marginal role in the yield advantage. An alternative approach to resource complementarity for the design of productive rice mixtures is proposed by Montazeaud *et al.* (2018) and is based on the screening of interactions between genotypes having different competitive abilities. Although, benefits of varietal mixtures in upland rice were revealed in mid altitude locations in Madagascar by Rahajaharilaza *et al.*, (2023) using four functionally contrasted upland rice varieties, there is a need to also assess performance of mixtures using elite varieties for a given environment.

Considering Madagascar farmers' primary concern to achieve a steady and stable yield production in order to achieve household food security, the present study focused on the evaluation of mixtures using elite upland rice varieties best adapted to the high-altitude conditions of the Madagascar highlands. The objective is to identify varietal mixtures giving better yield and/or better yield stability than the elites varieties cultivated in pure stand. For this purpose, four released upland rice varieties (Chhomrong Dhan, Fofifa 172, Fofifa 173, and Fofifa 180), adapted to the local growing conditions and tolerant to blast disease were chosen for the experiment. We sought to determine whether (i) mixtures can enhance grain yield and (ii) whether the number of varieties and their composition can enhance mixtures. We further aim to characterize varieties plasticity according to mixture composition. We have conducted experiments under field conditions over a three-year period, assessing all mixture combinations of these four varieties in reference to their pure stands.

MATERIAL AND METHODS

2.1. Study site and trial management

The experiments were conducted during three rice growing seasons, 2013–2014, 2014–2015 and 2016–2017 (hereafter referred to as 2014, 2015 and 2017), each extending from October to April of the following year. The trials were conducted at the FOFIFA experimental station in Andranomanelatra which is located in the Vakinankaratra region, in the highlands of Madagascar (19°47'50.5''S, 47°06'28.1''E, 1635 m asl.). The monthly mean temperature at the site ranged from 19.2°C to 19.6°C during the three cropping seasons. Cumulative rainfall was 1 228 mm during the 2014 cropping season, 1 476 mm in 2015 and 1 279 mm in 2017 (Figure 1). The site has a “Ferralsol” soil type with 66% clay, 17% fine silt, 3% coarse silt, 6% fine sand and 8% coarse sand. The soil is acidic (water pH= 4.6) with clayey texture. The total carbon content is 46.9 g kg⁻¹, the total nitrogen content is 1.7 g.kg⁻¹ and the assimilable phosphorus content is lower (5.0 mg.kg⁻¹) (Razafimbelo *et al.*, 2006).

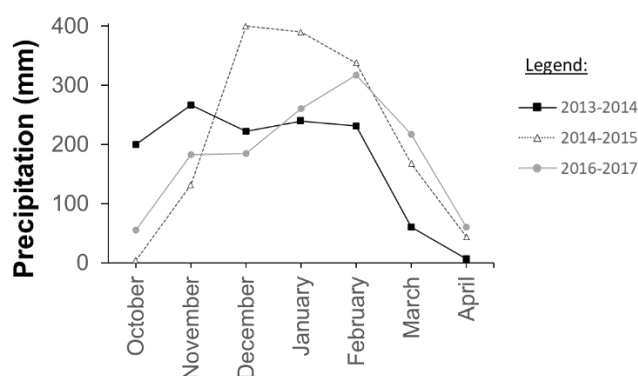


Figure 1: Cumulated monthly rainfall distribution during the three cropping seasons (2014 to 2017) at Andranomanelatra experimental station in Madagascar.

2.2. Plant material

Four upland rice varieties were selected for the experiment: Chhomrong Dhan (CD), FOFIFA 172 (F172), FOFIFA 173 (F173), and FOFIFA 180 (F180). These varieties are all well-suited to the high-altitude climatic conditions of the highlands of Madagascar and are all resistant to *Pyricularia oryzae*. These four varieties were released by the Madagascar National Center of applied research and Rural Development (FOFIFA) and CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) and are available to farmers. Chhomrong Dhan is a Nepalese variety released in 2006 (Raboin *et al.*, 2014). This variety has been appreciated for its good yield performance under the central highland conditions of the Vakinankaratra region and has been widely adopted by farmers. Although phenotypically distinct (Figure S1), the studied varieties are closely related as confirmed by the small genetic distances between them revealed by the neighbor-joining tree presented in figure S2. As a rare cold tolerance source adapted to upland cultivation, Chhomrong Dhan has been frequently used as a parent in FOFIFA-CIRAD breeding program (Raboin *et al.*, 2014). CD is thus a progenitor of both, F173 and F180. Moreover, F172 is a progenitor of F180 (Table 1, Figure S2). The characteristics and specific features of these varieties are given in Table 1.

Table 1: Characteristics of selected upland rice varieties included in the study, adapted from Raboin *et al.*, 2014. The blast reaction concerns the reactivity of the variety to the pathogen *Pyricularia oryzae*.

Name	Female parent	Male parent	Range of altitude adaptation (m)	Blast reaction	Cycle duration at maturity (Julian day)	Other traits
Fofifa 172	IRAT 265	Jumli Marshi	1200-1650	Resistant	153	Short cycle, good cold resistance
Fofifa 173	Chhomrong Dhan	Unknown	1200-1650	Tolerant	173	Strong production at 1500m altitude
Chhomrong Dhan	Nepalese landrace		1000-1800	Tolerant	165	Adaptation to high altitudes, disease resistance, good productivity
Fofifa 180	Fofifa 172	Chhomrong Dhan	1200-1800	Tolerant	160	Short cycle, good resistance to high altitude

2.3. Experimental designs

The experiment was designed to evaluate all different variety combinations that can be obtained from the four rice varieties. Two treatment factors were tested in the experiments, the 'association type', i.e. the number of varieties associated in a treatment and the 'varietal composition', which indicates the specific varieties associated. The 'association type' encompassed four categories: P for pure stands, B for associations of two varieties, T for associations of three varieties, and F for association of all four varieties together. The 'varietal composition,' includes a total of 15 modalities: four variety-pure stands (P1, P2, P3, P4), six two-varieties associations (B1 to B6), four associations of three varieties (T1 to T4), and the one varietal composition F of all four varieties (Table 2).

Table 2: Studied treatments represented by the four association types (P, B, T and F) and the 15 different varietal compositions with their respective codes.

Association types	Varietal compositions	Codes
Pure stand (P)	F172	P1
	F173	P2
	CD	P3
	F180	P4
Two varieties in mixture (B)	F172 / F173	B1
	F172 / CD	B2
	F172 / F180	B3
	F173 / CD	B4
	F173 / F180	B5
	CD / F180	B6
Three varieties in mixture (T)	F172 / F173 / CD	T1
	F172 / F173 / F180	T2
	F172 / CD / F180	T3
	F173 / CD / F180	T4
Four varieties in mixture (F)	F172 / F173 / CD / F180	F

The experimental design has evolved from year to year. In 2014, a complete block design with five replications was adopted, including 'association types' P, B, and F. Each replication contained 11 plots, corresponding to the 11 varietal compositions of 'association type' P, B, and F. The placement of each varietal composition was randomized within each replication (Figure 2). In 2015, a complete block design with five replications was also used, but this time all 'association types' and 'varietal compositions' were considered. Each replication contained 15 randomized plots, corresponding to the 15 varietal compositions of 'association type' P, B, T and F. Finally, in 2017, all varietal compositions were evaluated, with balanced 'association

type' frequencies using an incomplete block design with two repetitions each containing six blocks and eight plots per block, corresponding to two pure stands (P), two two-varieties associations (B), two three-variety associations (T), and two four-variety associations (F). Each repetition thus contained 12 instances of each 'association types' (P, B, T, Q) and balanced numbers of each varietal composition within a given association type (3 occurrences of each four P combination, 2 occurrences of each six B combination, 3 occurrences of each three T combination and 12 occurrences of the F combination), which were randomized among block (Figure 2). The size of each sample (sum of plot number) for each 'association type' and 'varietal composition' per year is detailed in the supplementary information section (Table S1).

The variety mixtures at the plot level were made up of alternate rows of the different varieties, with the alternation randomized for experimental control. In 2014, each elementary plot measured 16m² with a length of 4m and a width of 4m (Figure 2) representing 20 rows of 20 hills. Spacing was 20cm between rows and hills. A hill consisted of a cluster of plants, arising from the sowing of five to eight seeds in a small hole of 3cm depth, covered with soil during sowing. Consequently, each plot contained a total of 400 hills with a border row of F172 on all four sides to avoid edge-effect over-evaluation of the elementary plot. In 2015 and 2017, each plot measured 34.56m² (5.4 m*6.4 m) representing 32 rows of 27 hills. For the three-varieties combinations (T), only 30 rows were considered corresponding to 10 randomisations of three varieties in alternate rows. Yields were calculated accordingly.

Before sowing, the soil was ploughed and harrowed. A supply of 5t. ha⁻¹ of cattle manure was applied during sowing, supplemented by 500kg.ha⁻¹ of dolomite and 150kg.ha⁻¹ of NPK. At the end of the vegetative stage and to enhance the reproductive stages, an application of 80 kg. ha⁻¹ of urea was made. These fertilization doses are recommended by the Malagasy national agronomy research centre. Before sowing, the seeds were treated with an insecticide (35% imidacloprid + 10% thiram, at 2.5 g kg⁻¹ of seeds) to protect the plants from white grubs (the larval stage of scarab beetles) and adult black beetles that feed on rice roots.

2.4. Plant measurements

To assess the agronomic performance of each variety in both pure and mixed stands, different sampling methods were used. Plant height was assessed before maturity on five random hills per variety in the centre of each plot. Flowering time was assessed considering all hills in the plot. Plots were harvested one by one, by first removing all border hills to avoid border effects. Grain yield components for each variety in the mixtures were measured by harvesting ten hills per variety, sampled on a transverse line across each elementary plot. The remaining hills were harvested for each variety separately to obtain plot yield per variety. Dry grain weight was obtained by separating the grains from the panicles and drying a sample for 48 hours at 60°C. Yield components (1000 grain weight, number of grains per panicle and panicle number per m²) were calculated manually based on the 10 harvested hills per variety.

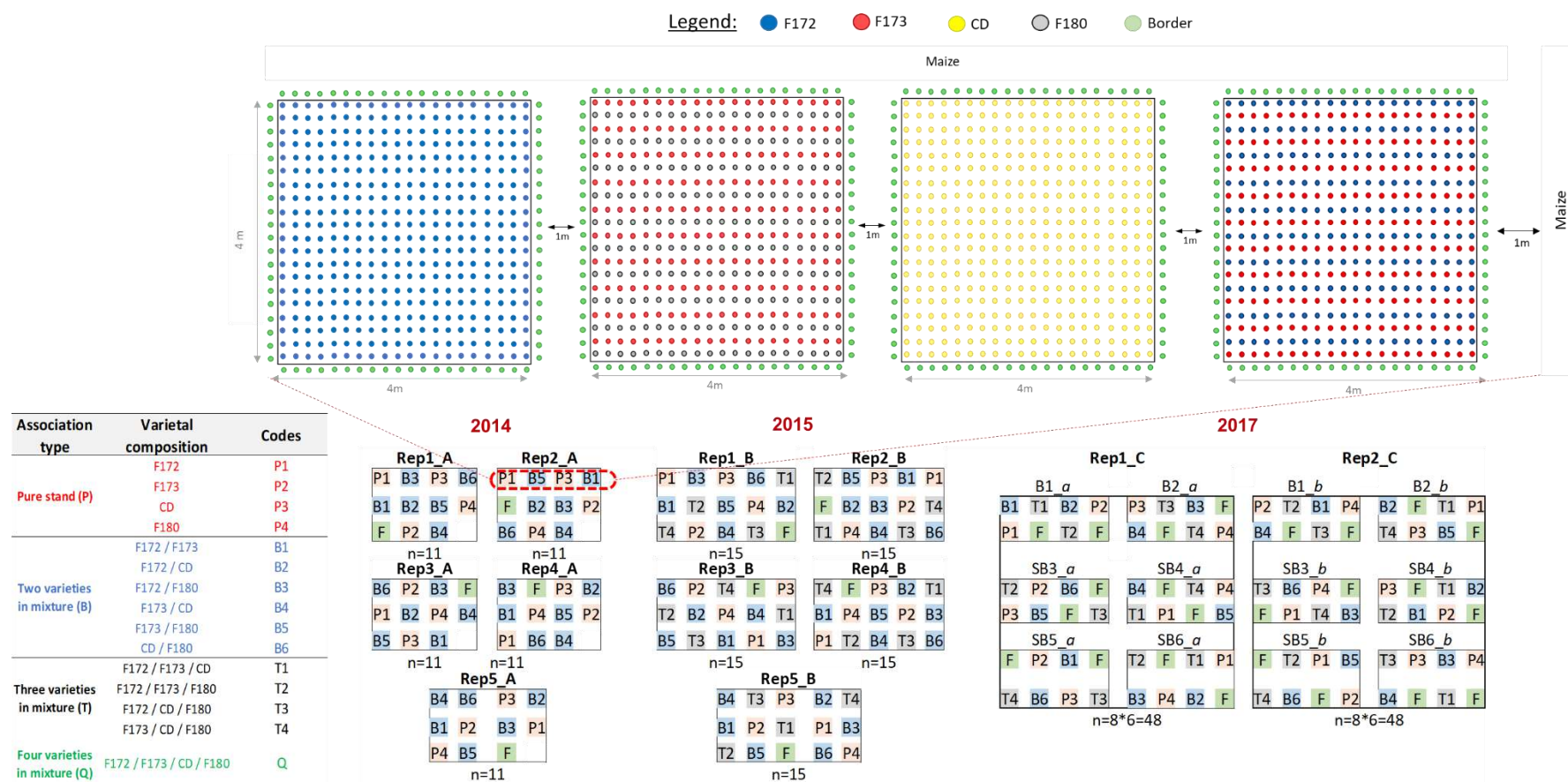


Figure 2: Experimental design during three years of experimentation. In the top part of the figure, examples of different plots of each association type of the replicate “Rep_2_A” in the year 2014 are given and in the bottom part, the different block designs adopted each year. In the left a table showing all the varietal composition with their respective codes

2.5. Statistical analysis

All the statistical analyses were done using R version 4.2.2 (2022-10-31 ucrt), following three stages: i) Determining the parameters influencing yield variations and identifying high-performing varietal compositions ii) Assessing the performance of each variety in mixtures, iii) Investigating the plasticity of variety traits according to varietal compositions.

2.5.1. Identification of the best performing varietal compositions

For the first stage, we assessed the effect of association type and varietal composition on grain yield. We used a mixed-effects linear regression model (function lmer package lme4) (Banta *et al.*, 2010; Bates *et al.*, 2015) to account for both fixed and random effects in our dataset. The model was specified as follows:

$$Y_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta} = \mu + AT_{\alpha} + VC_{\alpha\beta} + R_{\delta} + B_{\delta\epsilon} + y_{\theta} + z_{\theta\alpha\beta} + e_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta} \quad (\text{Equation 1})$$

In this model, $Y_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta}$ represents the plot yields obtained during the three years as the variable of interest and μ the overall plot yield averages. Association type (AT_{α}), varietal composition within the association type ($VC_{\alpha\beta}$), repetition (R_{δ}) and blocks nested within repetitions ($B_{\delta\epsilon}$) were considered as fixed effect factors. The year (y_{θ}) corresponding to the three crop seasons, as well as the year-composition interaction effect ($z_{\theta\alpha\beta}$), were considered as random factors, as well as the model error $e_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta}$. Adjusted means were calculated using the lsmean function from the emmeans package (Searle, 2012), which takes into account the variability introduced by the random factors. Mean comparisons were performed using the cld function from the multcomp package (Hothorn *et al.*, 2008). This function assigns letters to the different levels of the modalities being compared (i.e., 'Association Type' and 'Varietal Composition') based on their statistical differences.

A simplified version of equation 1 (Equation 1 bis in the Appendix) using the AIC criterion was tested. The ML (Maximum Likelihood) method was used to test whether considering only the additive varietal effects was sufficient to account for the differences between "varietal compositions." In this simplified version, we tested whether the proportions of presence of each variety affected the yield. The results of these models will enable us to identify the factors that have the greatest influence on yield variations.

Afterwards, the Land Equivalent Ratio (LER) (Mead and Willey, 1980) was computed, which represents the sum of relative yields of varieties in mixture in comparison to their respective yields in pure stands. The following formula was used.

$$LER = \sum RY_{n[2;4]} = \frac{Y_{observed}}{Y_{expected}} = \frac{Y_{1(mix)}}{Y_{1(pure)}} + \dots + \frac{Y_{n(mix)}}{Y_{n(pure)}} \quad (\text{Equation 2})$$

Where, RY was the relative yield of the variety n , which is the ratio between $Y_{observed}$ OR $Y_{n(mix)}$ the observed yield of the variety n in the mixtures and $Y_{expected}$ OR $Y_{n(pure)}$, the expected yield in

pure stand in the same block. The range of the variety relative yield sums ($\sum RY_{n [2;4]}$) varies from two (in the case of two-variety mixtures) to four (in the case of four-variety mixtures). The LER was used to quantify the land area needed for pure stands to achieve the same yields as those obtained on a unit area of mixture. A LER value greater than 1 indicates a global positive effect on yield in the mixture compared to what could be expected based on the performances of its components in pure stands. In addition to the calculation of LER, a linear regression was performed between the observed yields (Y_{observed}) in each Varietal Composition and the expected yields (Y_{expected}), or the sum of the average grain yields of the individual component varieties in pure stands.

2.5.2. Assessing treatments (pure stand and mixtures) involving a given variety

For assessing the individual variety performance in mixtures, we took one by one all the varietal compositions including one of the four varieties. The goal is to assess how the grain production performance of each focal variety compared with the set of mixture combinations in which it is involved. For this purpose, we first, compared all plot yields featuring a given variety, i.e. for the variety F172, we compared the treatments P1, B1, B2, T1, B3, T2, Q and T3, with the aim to find out whether pure stand (here P1) grain yield differed from other treatment yields. We performed Dunnett's tests (glht function, multcomp package) (Dunnett, 1955; Hothorn *et al.*, 2008), using the yields of the pure-stand treatments for each variety as a reference.

2.5.3. Exploring varietal trait plasticity across different compositions

In this last step of statistical analysis, we investigated the plasticity of variety traits according to the varietal compositions. We defined varieties either as 'focal varieties' or 'neighbouring varieties' of focal varieties in each treatment. Then we averaged trait values per variety were obtained for varietal grain yield, 1000-grain weight (g), number of panicles per m², days to flowering (days), and plant height (cm). For each trait, we compared the performance of each focal variety in pure stand to its performance when associated with the neighbouring varieties corresponding to the different varietal compositions. For example, if we take variety F172 as the focal variety, variety F173 was its neighbour in varietal composition B2, varieties F173 and CD were neighbours in composition T1, and all three varieties, F173, CD, and F180, were neighbours in composition Q. A linear model (lm function) was then applied, with each trait considered as studied variable in relation to neighbouring varieties. Subsequently, a Dunnett test (using glht function) was performed on this linear model. Trait values in pure stand were taken as reference.

RESULTS

3.1. Mixture yield variations

Grain yield did not vary significantly among different association types (Table 3). Grain yield in pure stands was comparable to that of mixtures of two, three, or four varieties (Table 4). However, the effect of varietal composition of the mixtures was highly significant (Table 3). Mean grain yield varied significantly according to varietal composition, with the pure stands of CD and F180 varieties being the most productive varietal compositions, followed by the T4 and T3 compositions, both involving F180 and CD. The least productive composition was the pure stand of F172 (P1) and the B1 and B2 compositions, both involving F172 (Table 5). The model residual variances by year, as well as the scatterplot between the observed and predicted values of the model, are presented in Figure S3. Inter-annual variations and variations induced by the year-composition interaction in our model were not significant. Knowing that yield does not vary as a function of standard association, but rather as a function of varietal composition, the simplified Equation 1 bis model (Appendix) proves to be a logical extension of the analyses. The model reinforces the results of equation 1 with a lower AIC (Table S3). Differences in the proportions of each variety in the mixtures were the source of variation in varietal compositions (Table S2). However, it is not possible to identify exactly the best and worst-performing combinations with this equation 1 bis, which is why it was necessary to calculate the LER.

Table 3: Analysis of the effect of association type and varietal composition on grain yield using a mixed-effects linear regression model

Studied factors	F	Df	Df.res	Pr(>F)	
Association type	1.93	3	20.4	0.16	
Varietal Composition	7.27	11	24.4	2.42E-05	***
Block	2.19	11	237.6	0.02	*
Sub_block : Block	1.82	10	175.7	0.06	

*, **, *** p-value indicating significant differences at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability level, respectively.

Table 4: Grain yield according to association type: adjusted means and standard errors (SE)

Association type	Lsmean	SE	Group
Q	4381	661	a
P	4242	652	a
T	4194	663	a
B	4140	651	a

Factor modalities means followed by different letters are significantly different at the 0.05 probability level

Table 5: Grain yield according to varietal composition: adjusted means and standard errors (SE) Component varieties are denoted by 0 (absent) or 1 (present).

Varietal Composition	F172	F173	CD	F180	lsmean	SE	Group
P4	0	0	0	1	4798	663	a
P3	0	0	1	0	4594	663	ab
T4	0	1	1	1	4566	671	abc
T3	1	0	1	1	4559	671	abc
B6	0	0	1	1	4517	663	abc
Q	1	1	1	1	4381	661	abcd
B5	0	1	0	1	4361	663	bcd
T2	1	1	0	1	4262	671	bcd
B3	1	0	0	1	4196	664	bcd
B4	0	1	1	0	4116	663	bcde
P2	0	1	0	0	4050	663	cde
T1	1	1	1	0	4040	671	cdef
B2	1	0	1	0	3998	664	def
B1	1	1	0	0	3654	663	ef
P1	1	0	0	0	3526	663	f

Factor modalities means followed by different letters are significantly different at the 0.05 probability level

3.2. Performance of varietal mixtures compared to the performance of their respective components in pure stand.

A strong positive correlation ($R^2 = 0.76$) was noted between observed yields in mixtures and expected yields based on the average yields of individual varietal components in pure stands (figure 3A). Most data points are close to the identity line corresponding to a perfect match between observed and expected yields. Overall, the productivity of mixtures is closely related to the productivity of their individual components in pure stand. However, several values deviate from the identity line. Notably, 'Q' and 'B3' in 2014 exhibited an observed yield higher than expected. Similarly, in 2015, all the three-variety associations 'T1', 'T2', 'T3', and 'T4' surpassed expected yields, same as T3 in 2017. The majority of two-variety associations had lower observed yields than expected.

The LER analysis did not demonstrate an overall increase in grain yield of mixtures over pure stands (mean = 1.001 with a non-significant p-value after t-test). Considering each of the three association types, the two-variety mixtures (B) showed 2.2% lower average land-use efficiency than pure stands for grain yield with a mean LER of 0.98 with a non-significant p-value. Three-variety mixtures (T) did not exhibit significant differences for grain yield compared to pure

stands, with a non-significant p-value and a mean LER of 0.99. For four-variety mixtures (Q), the mean LER was 1.03, indicating a gain of 3.4% in land-use efficiency for grain production that was also not significant. Individually, the majority of mixtures did not present LER significantly different to 1, indicating performance equivalent to pure stands (Figure 3B) except for two cases. The two-variety mixture B6 (CD with F180) had a mean LER of 0.96 significantly different from 1 (p-value <0.05), indicating a 4% reduction in mixture land-use efficiency compared to the pure stands of CD and F180. In contrast, the three-variety mixture T3 (F172 with CD and F180) produced 8% more than pure stands of these varieties, with a mean LER of 1.08 and a p-value <0.05 (Figure 3.A).

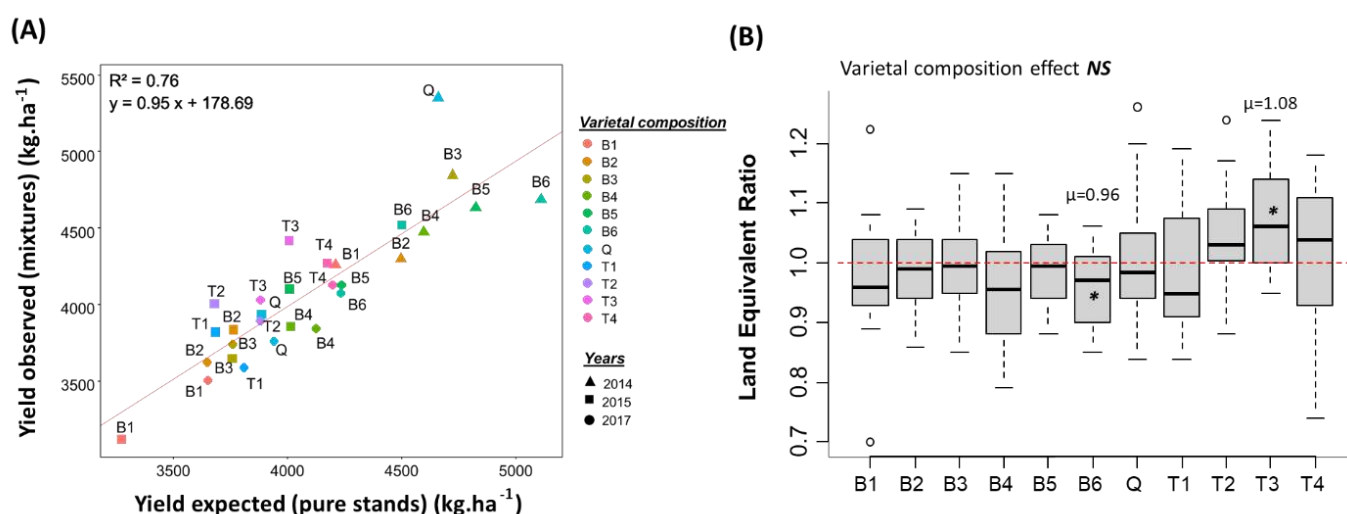


Figure 3: (A) Correlation between yield observed in mixtures and yield expected from the average of the varietal component of the mixture in pure stands. Colours of symbols refer to different varietal composition and shape of symbols refer to years. (B) Land Equivalent Ratio (LER) of different varietal composition of rice mixtures. The stars ‘*’ indicates a p-value <0.05 for a t test of the null hypothesis corresponding to a LER value of 1.

3.3. Yield comparison among varietal compositions (pure stand and mixture combinations) in which a given variety is involved.

For a given variety, the ranking for grain yield of its pure stand among all mixture compositions in which it was involved was depending on the variety (Figure 4). For F172, the plot yield of its pure stand was lower than the plot yields of all mixtures containing this variety (Figure 4.A). Overall, differences between varietal compositions containing this variety were very highly significant (p-value <0.001). Five mixture combinations involving F172 had a significantly higher grain yield than F172 (B2, B3, T2, T3, Q). For F173, the plot yield of its pure stand was higher than two mixture combinations but lower than five. Differences between varietal compositions containing this variety were significant (p-value < 0.05) but only composition B1 (with 50% F173 and 50% F172) had a significantly lower grain yield than the pure stand of F173 (Figure 4.B). For CD, its pure stand was more productive than all mixtures containing this variety. The difference between varietal compositions was highly significant (p-value < 0.01).

Two varietal compositions presented significantly lower yields than CD pure stand: T1 (33% of CD), and the composition B2 (50% CD with 50% F172) (Figure 4.C). For F180, its pure stand was the most productive among all varietal compositions in which it is involved. The difference between varietal compositions was highly significant (p -value < 0.01). Three mixture combinations had a significantly lower grain yield than F180 pure stand: Q, T2 (33% of F180, 33% of F172 and 33% of F173), and B3 (50% of F180 and 50% of F172) (Figure 4.D).

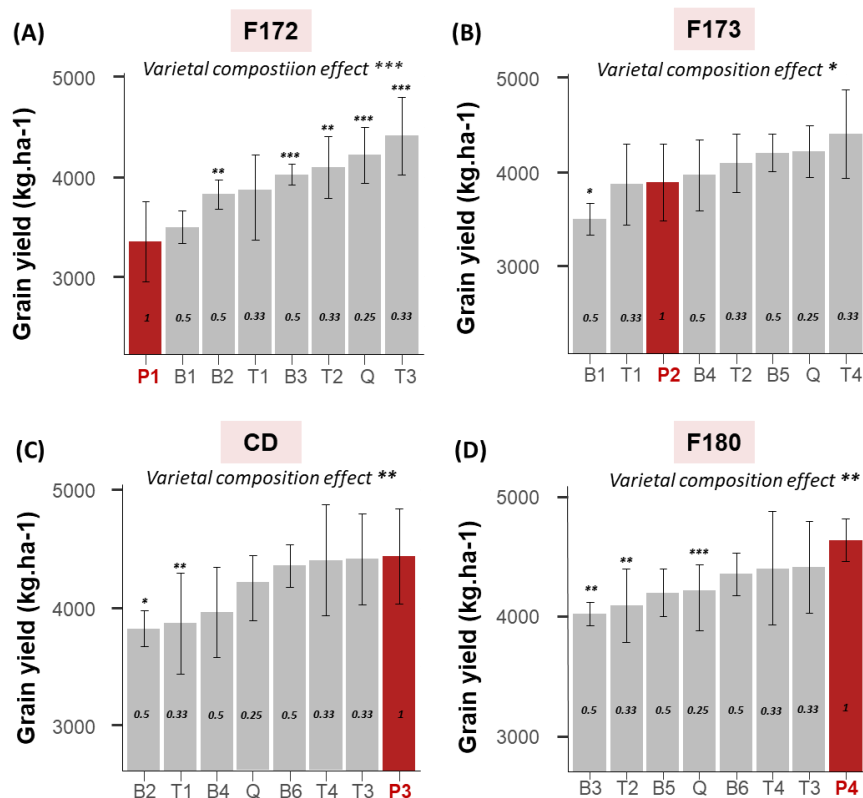


Figure 4: Yield ranking of the different combinations involving a given variety (pure stand indicated in red color). Varietal composition effects were assessed using a mixed linear model. Differences compared to pure stands (P1, P2, P3, P4) are assessed by a Dunnett test. The proportion of the studied variety in the mixture is given in the lower part of each bar in the graphic, p -value < 0.05 = *; p -value < 0.01 = **; p -value < 0.001 = ***.

3.4. Varietal plasticity according to mixtures composition

Grain yield variation has been analysed for each focal variety across the different varietal compositions in which they are involved as a way to reveal the extent of its grain yield plasticity in response to neighbouring varieties. This variation was found significant for F 173 (Figure 5B) and CD (Figure 5C). It was not significant for F172 (Figure 5A) and F 180 (Figure 5D). CD yield was the lowest when grown in pure stand. CD yield increased when grown in mixture. This increase of CD yield in mixture over CD in pure stand was significant in three occurrences: when CD was mixed with F172-F180, with F172-F173 and with F172. While F173 yield declined when associated with either F180 and CD or both, its yield increased in all other mixture combinations. This increase of F173 yield in mixture over F173 in pure stand was

significant in three occurrences when mixed with F172-CD, with F172 and with F172-F180, all combinations involving F172. Variation was not significant for F172, although a tendency for lower varietal yields in mixtures can be noticed.

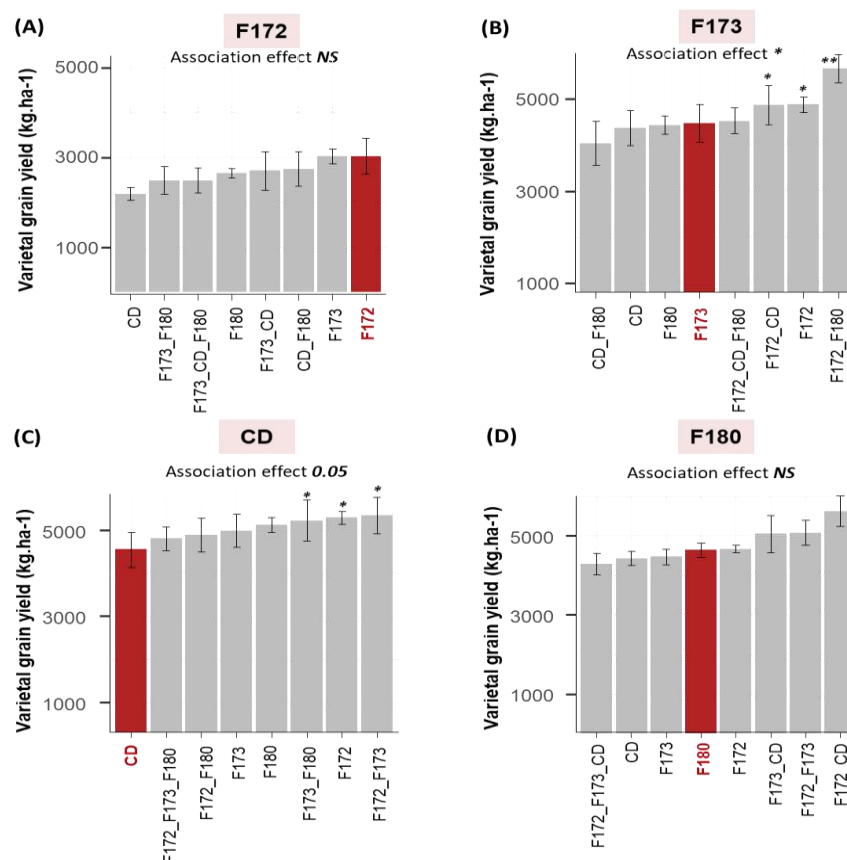


Figure 5: Varietal grain yield plasticity in F172, F173, CD and F180 in response to neighbouring varieties across different compositions. Association effects with neighbouring varieties are assessed using ANOVA with p-value mentioned at the top of each graph. Differences with variety grain yield in focal pure stands (F172, F173, CD, F180) were assessed by a linear model using Dunnett test. p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01 = **; p-value < 0.001 = ***.

Varietal plasticity was further analysed for four traits: 1000-grain weight, panicle number per m², flowering time and plant height (figure 6). No significant variation for any of these four traits was detected among mixture compositions involving either focal varieties F172 or F173. For CD the variation among mixture compositions was highly significant for flowering time and significant for plant height. Flowering time of CD was reduced in all mixtures compared to CD in pure stand. CD plant height was reduced in most mixtures compared to CD in pure stand with the exception of the mixture with F180. For F180, the variation among mixture compositions was significant for panicle number per m² and plant height. F180 increased its number of panicles per m² in most mixtures except the four varieties mixture. However, this increase was only significant when combined with F173-CD. F180 significantly reduced its plant height when mixed with F 172 but tended to increase its plant height in all mixtures involving CD, the tallest variety.

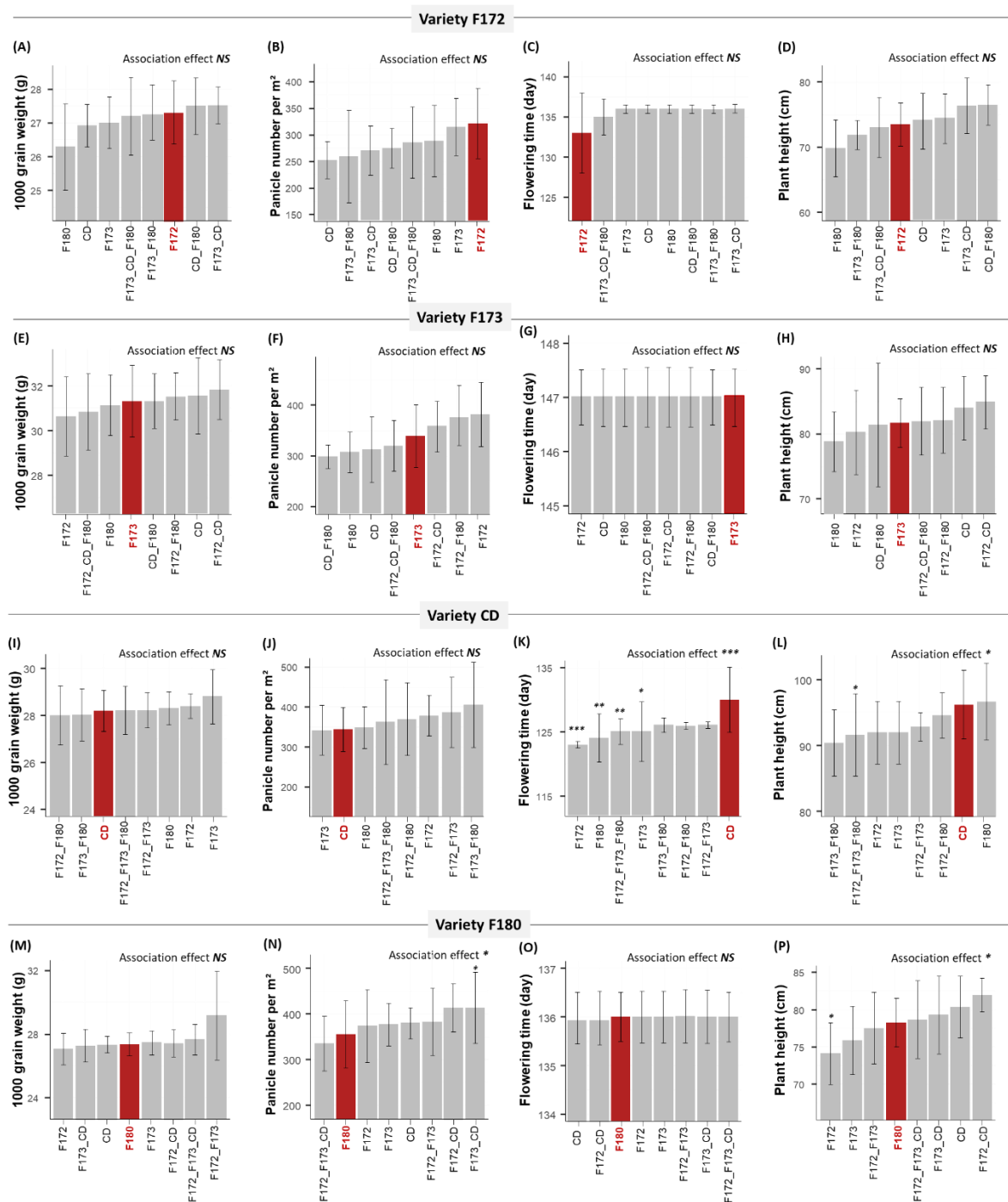


Figure 6: Traits plasticity of focal varieties F172, F173, CD and F180 in response to neighbouring varieties across different compositions. Association effects with neighbouring varieties are assessed using ANOVA with p-value mentioned at the top of each graph. Differences with variety trait performances in focal pure stands (F172, F173, CD, F180) were assessed by a linear model using Dunnett test, p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01 = **; p-value < 0.001 = ***.

DISCUSSION

4.1. No overall yield gain from varietal mixtures

Our field experiments showed that varietal mixtures did not result in overall yield gains. The average yield in pure stands across all experiments was 4242 kg/ha, and in mixtures, it was 4238 kg/ha. We observed no transgressive overyielding, i.e. no mixture combination that yielded more than the best variety in pure stand. The overall average Land Equivalent Ratio (LER) of 1.001 is in line with a meta-analysis conducted by Reiss and Drinkwater (2018) indicating that yield increased by 2.2% overall in varietal mixtures relative to their pure components in a large set of 91 studies. Varietal mixtures promote thus modest but nevertheless significant yield improvements but may be less effective for crop production enhancement when compared to other diversification strategies such as agroforestry, intercropping or crop rotations (Beillouin *et al.*, 2021). Therefore, combining varietal mixtures with those strategies could be a means to further optimize diversification effects. Whether mixing two, three, or four varieties, we did not detect any significant effect of association type. This is in contrast to studies of Reiss & Drinkwater (2018) who indicated that increasing the number of components in a varietal mixture, thus, increasing diversity, enhances its production capacity. Yet, the two highest yielding mixtures and the only mixture combination that presented a significant positive LER, were combinations of three varieties. It is thus possible to identify mixtures that achieve equal or even higher grain yields compared to their component varieties in pure stand. In accordance to the stress-gradient hypothesis of (He *et al.*, 2013) and in line with findings of Rahajaharilaza *et al.* (2023) who compared mixture effects under different levels of soil organic matter and nutrient availability, it is anticipated that stronger diversity effects and thus higher LERs may be achieved under less favourable growing conditions compared to those in our on-station experimentation (overall measured yield >4000kg ha⁻¹). Moreover, the absence of blast disease pressure may have limited the "overyielding" effect of varietal mixture as all the varieties used in this experiment were resistant or tolerant to rice blast. Overyielding increases in mixtures along with disease pressure (Borg *et al.*, 2018).

4.2. Competition between varieties in mixtures and plasticity

There was an opposition between the yield performance of a given variety in pure stand and the relative performance of mixtures including this variety. All mixtures with F172, the least productive variety, outyielded F172 in pure stand. However, the F172 component within the mixtures yielded less than F172 in pure stand. On the other hand, all mixtures including F180 or CD, the most productive varieties, yielded less than their respective pure stand. In the case of CD, the CD component within mixtures yielded more than CD in pure stand. This might be explained by unequal competitive abilities of the varieties with the more productive varieties being the most competitive (Mahaut *et al.*, 2023). Our results confirm that to improve mixture

performance, one should rather minimize competitive interactions and search for compatible varieties with good mixing abilities that produce high performance mixtures (Barot *et al.*, 2017). In our study, competition interaction between varieties in mixtures resulted in plasticity for some traits. CD significantly reduced its plant height in mixtures, which may have allowed the reallocation of spared resources toward an increased number of tillers. CD is taller and better suited for light competition than the other varieties and limits its growth in height when mixed with shorter varieties. F 180 also expressed a significant plasticity for plant height, increasing its plant height in mixtures involving CD, the tallest variety, and decreased its height in mixtures with F172 and F173. Height reduction of the tallest varieties could help reduce lodging risks. Another interesting expression of plasticity in CD, that was not observed with the other varieties, is the reduction of its flowering time when grown in mixtures. F180 significantly increased its number of tillers in mixtures illustrating its competitive ability. These results suggest that varietal plasticity should be considered when choosing varieties for mixtures. The variability among cultivar mixtures could be significantly influenced by trait plasticity. Therefore, relying solely on trait measurements in pure stands might not provide an accurate prediction of mixture performance (Dahlin *et al.*, 2020). Plasticity can be an adjustment to competition interactions but in some instances it may also contribute to increase complementarity for resource exploitation (Barot *et al.*, 2017).

4.3. Conclusion and perspectives

In our experiment, using the best four registered upland rice varieties, selected for high altitude conditions and resistance to blast disease, in order to build mixtures did not allow to identify transgressive overyielding i.e. mixtures that yield better than the best variety in pure stand. However, some mixture combinations produced statistically as much as the best varieties in pure stand. It should be possible to design more efficient mixtures for sustainable rice cultivation in Madagascar through the systematic evaluation of mixing abilities of a larger number of advanced lines of the Madagascar upland rice pedigree breeding program. A multifaceted approach of variety mixtures design should be considered (Barot *et al.*, 2017) : a trait-blind approach, based on mixing abilities, for the identification of transgressive interactions as well as a trait-based approach targeting specific services (such as pest and disease control). The assessment of mixtures performance requires on-farm evaluation, under low input and low soil fertility conditions, under which variety mixtures are likely to bring the most added value. In any case, investing in research on variety mixtures is one more way of contributing to the development of a more resilient and productive agriculture in the face of ever-changing environmental conditions (Snyder *et al.*, 2020). This is particularly relevant in Madagascar highlands where smallholder farmers are extremely vulnerable to agricultural risks and climate change (Harvey *et al.*, 2014). The authors stress the importance of real-world evaluation and the necessity for new breeding approaches to create varieties with higher mixing abilities.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

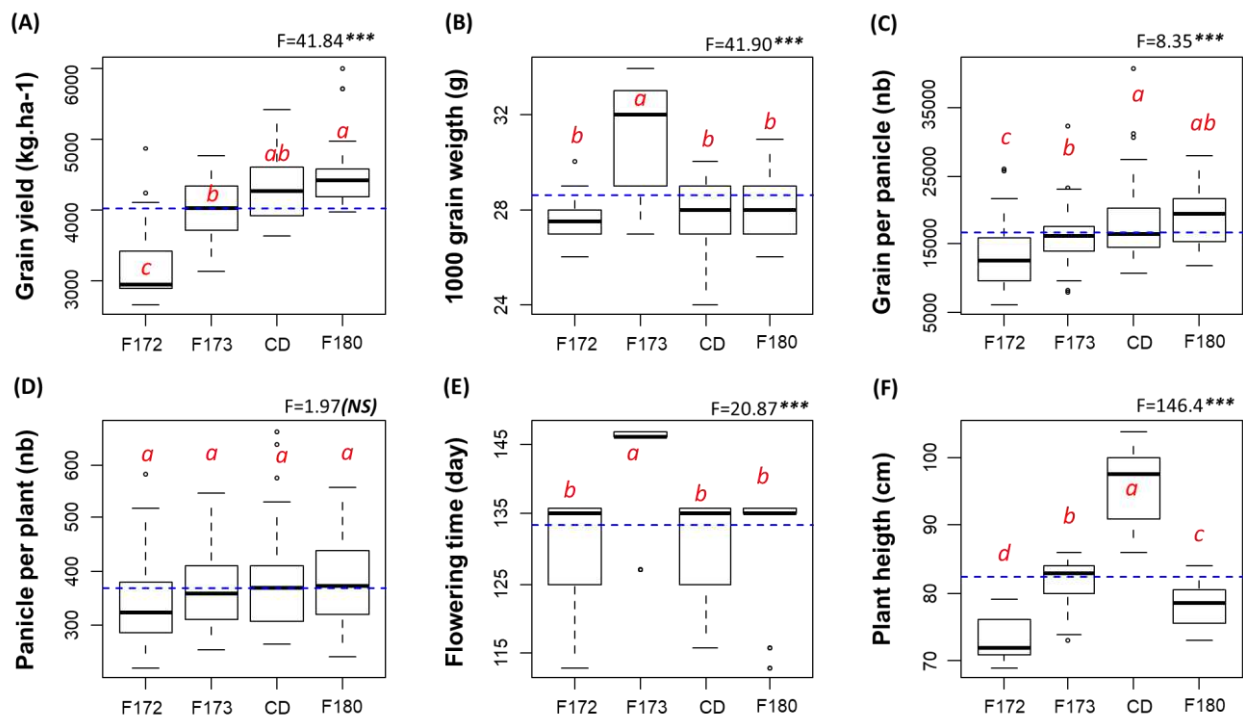


Figure S1: Variety characteristics and performance in pure stands. The difference of observed variability? between varieties was assessed by a linear model analysis, p-value < 0.05 = *; p-value < 0.01 = **; p-value < 0.001 = ***. The blue line corresponds to the average of the observed values.

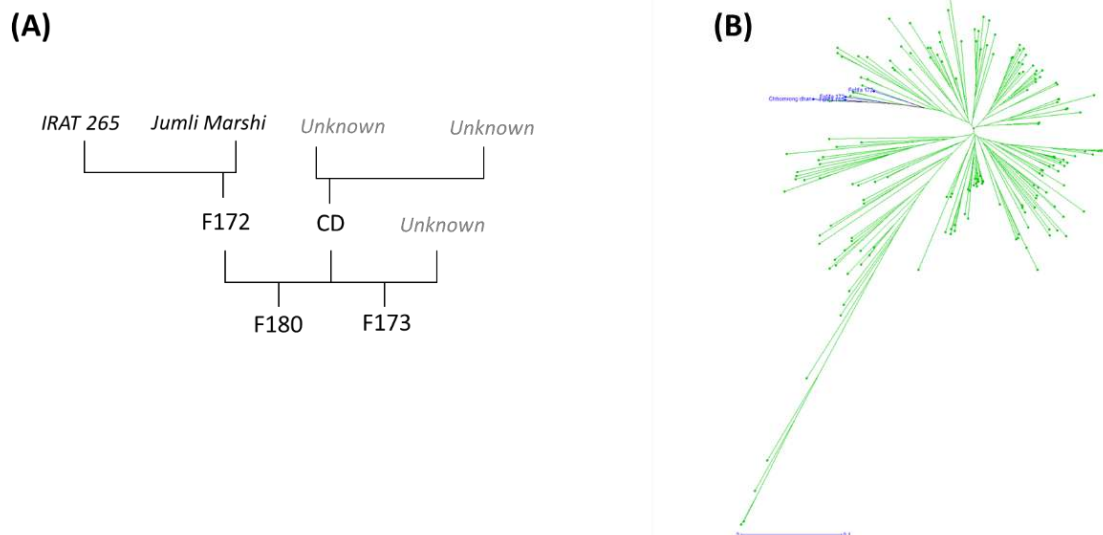


Figure S2: Pedigree information on the four varieties (CD, F172, F173, F180) used in the study (A) Genealogical relationship (B) Genetic distance (NJ tree) among 190 rice varieties used in Madagascar upland rice breeding program (Rakotoson *et al.*, 2021).

Table S1: Sample sizes according to association types within each replication and year

Year	Bloc	Sub-bloc	Association type	Plot number	Year	Bloc	Sub-bloc	Association type	Plot number	Year	Bloc	Sub - bloc	Association type	Association type per sub-bloc	Plot number		
2014	Rep1_A	1	P	4	2015	Rep1_B	1	P	4	2016	Rep1_C	6		P	3	12	
			B	6				B	6					B	2	12	
			T	0				T	4					T	3	12	
			Q	1				Q	1					Q	12	12	
	Rep2_A	1	P	4		Rep2_B	1	P	4								
			B	6				B	6								
			T	0				T	4								
			Q	1				Q	1								
	Rep3_A	1	P	4		Rep3_B	1	P	4								
			B	6				B	6								
			T	0				T	4								
			Q	1				Q	1								
Rep4_A	1	P	4	Rep4_B	1	P	4					P	3	12			
		B	6			B	6						B	2	12		
		T	0			T	4						T	3	12		
		Q	1			Q	1						Q	12	12		
Rep5_A	1	P	4	Rep5_B	1	P	4										
		B	6			B	6										
		T	0			T	4										
		Q	1			Q	1										
Total plot number per association type			P B T Q	20 30 0 5	Total plot number per association type			P B T Q	20 30 20 5	Total plot number per association type			P B T Q	24 24 24 24			

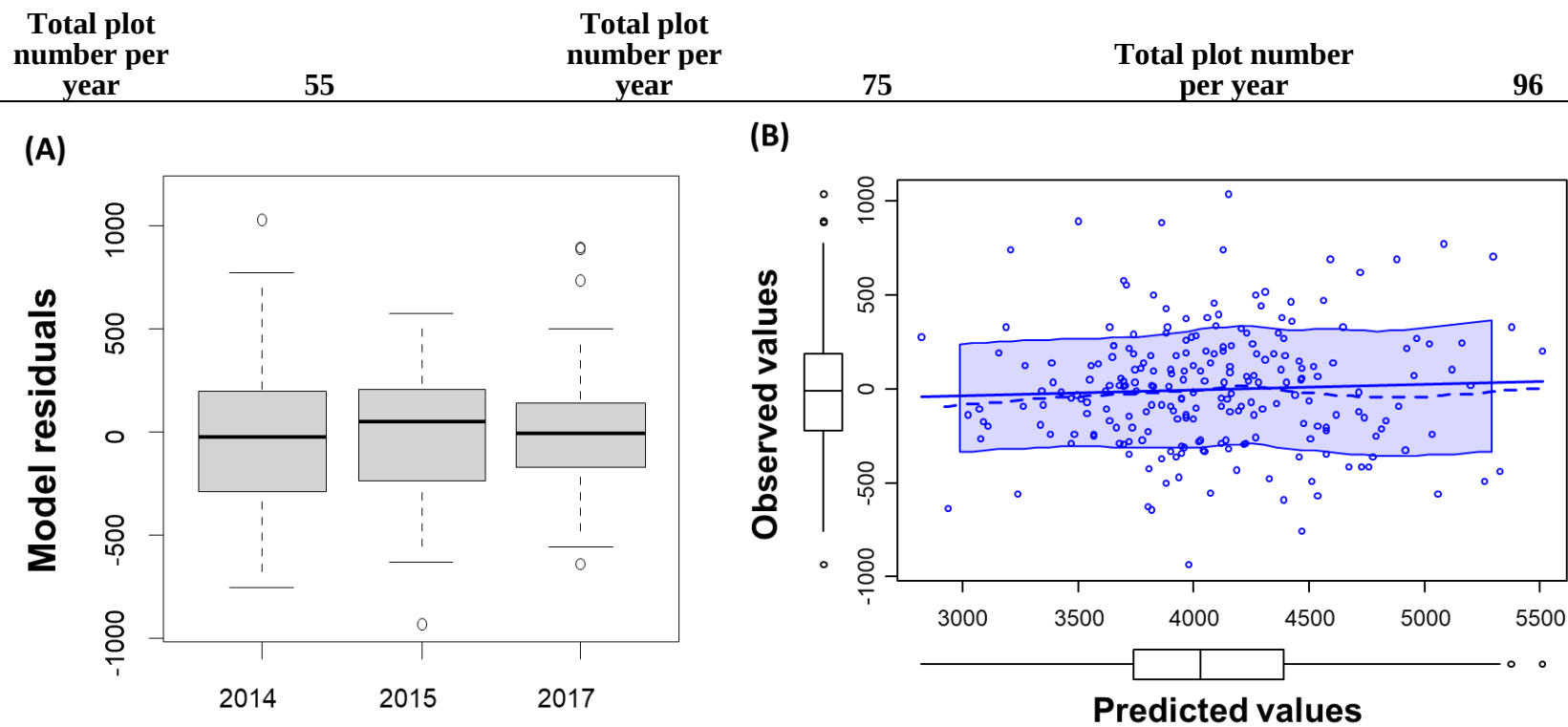


Figure S3: (A) Model residual variance per year., (B) Model scatterplot between observed values and predicted values.

Model 1 bis:

$$Y_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta} = \mu + \text{Diff_F173} + \text{Diff_CD} + \text{Diff_F180} + B_{\delta} + SB_{\delta\epsilon} + y_{\theta} + z_{\theta\alpha\beta} + e_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta} \quad (\text{Equation 1bis})$$

In this model, $Y_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta}$ represented the plot yields obtained in each plot during the three years as the variable of interest and μ the overall plot yield averages. The three differences proportion with the F172 proportion Diff_F173, Diff_CD, Diff_F180, blocks (B_{δ}) and sub-blocks ($SB_{\delta\epsilon}$) were considered as factors with fixed effects. Sub-bloc has a nested fixed effect within block. The year (y_{θ}) corresponding to the three crop seasons, as well as the year-composition interaction effect ($z_{\theta\alpha\beta}$), were considered as random factors. $e_{\alpha\beta\epsilon\delta\theta}$ was the model error. The adjusted means of grain yields per plot (lsmeans) are grouped by variety to assess changes in proportions within different varietal compositions. For each given variety, the proportion of 1 (pure) was taken as the reference and compared to other proportions (or different varietal compositions) using a Dunnett test (glht function, multcomp package) (Dunnett, 1955; Hothorn *et al.*, 2008).

In this model, we considered the proportion of each variety in each plot. This proportion varied from 1 in pure stands, 0.25 in quaternary mixtures, 0.33 in tertiary mixtures, and 0.5 in binary mixtures. In a given plot, the sum of the proportions of the present varieties equals to one. Subsequently, we took the proportion of variety F172 as an arbitrary reference and calculated new variables called ‘proportion difference’, defined as the proportion of variety F172 minus the proportion of variety n to facilitate analysis of variance. We thus created three new variables representing the differences with the proportion of variety F172 for the other three varieties: ‘Diff_F173’ for the difference with variety F173, ‘Diff_CD’ the difference with variety CD, and ‘Diff_F180’ the difference with variety F180. We then conducted a mixed-effects linear model, as in the first step of our analysis, with these three new variables as fixed-effect factors, while retaining the random-effect factors from the initial model (Equation 1)

Table S2: Analysis of the effect of the difference of proportion of three varieties (F173, CD and F180) in relation to the proportion of F172 on grain yield variation, performed with ANOVA.

Studied factors	F	Df	Df.res	Pr(>F)
Diff_F173	6.96	1	36.1	0.01 *
Diff_CD	11.16	1	35.8	0.002 **
Diff_F180	43.41	1	36.1	1.13E-07 ***
Block	2.17	11	238.1	0.02 *
Sub_block : Block	1.82	10	180.9	0.06

Table S3: Comparison of the AIC in the two models (Model 1 vs Model 1bis)

Model	df	AIC
Equation 1	39	3371.607
Equation 1 bis	28	3361.656

REFERENCES

- Banta, J.A., Stevens, M.H.H. and Pigliucci, M. (2010) 'A comprehensive test of the "limiting resources" framework applied to plant tolerance to apical meristem damage', *Oikos*, 119(2), pp. 359–369. Available at : <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17726.x>.
- Barot, S. *et al.* (2017) 'Designing mixtures of varieties for multifunctional agriculture with the help of ecology. A review', *Agronomy for Sustainable Development*, 37(2), p. 13. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0418-x>.
- Bates, D. *et al.* (2015) 'Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4', *Journal of Statistical Software*, 67, pp. 1–48. Available at : <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
- Beillouin, D. *et al.* (2021) 'Positive but variable effects of crop diversification on biodiversity and ecosystem services', *Global Change Biology*, 27(19), pp. 4697–4710. Available at: <https://doi.org/10.1111/gcb.15747>.
- Binang, W.B., Ekeleme, F. and Ntia, J.D. (2011) 'Management of Weeds of Rainfed Lowland Rice Using Cultivar Mixture Strategies', *Asian Journal of Agricultural Research*, 5, pp. 306–311. Available at: <https://doi.org/10.3923/ajar.2011.306.311>.
- Boero, F. (2015) 'From Darwin's Origin of Species toward a theory of natural history', *F1000Prime Reports*, 7. Available at: <https://doi.org/10.12703/P7-49>.
- Borg, J. *et al.* (2018) 'Unfolding the potential of wheat cultivar mixtures: A meta-analysis perspective and identification of knowledge gaps', *Field Crops Research*, 221, pp. 298–313. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.006>.
- Cardinale, B.J., Palmer, M.A. and Collins, S.L. (2002) 'Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation', *Nature*, 415, p. 4.
- Creissen, H.E. (2013) 'The role of genotypic diversity in stabilizing plant productivity in variable environments', p. 151.
- Dahlin, I. *et al.* (2020) 'Plasticity of barley in response to plant neighbors in cultivar mixtures', *Plant and Soil*, 447, pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04406-1>.
- Dunnett, C.W. (1955) A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control: *Journal of the American Statistical Association*: Vol 50, No 272. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1955.10501294?journalCode=uasa20> (Accessed: 11 September 2023).
- FAO (2021) Profil des systèmes alimentaires - Madagascar. FAO; European Union; CIRAD; Available at: <https://doi.org/10.4060/cb6861fr>.
- Frison, E.A., Cherfas, J. and Hodgkin, T. (2011) 'Agricultural Biodiversity Is Essential for a Sustainable Improvement in Food and Nutrition Security', *Sustainability*, 3(1), pp. 238–253. Available at : <https://doi.org/10.3390/su3010238>.
- Gallet, R. *et al.* (2014) 'The variety mixture strategy assessed in a G × G experiment with rice and the blast fungus *Magnaporthe oryzae*', *Frontiers in Genetics*, 4. Available at: <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00312>.
- Garruchet, V., Bosc, P.-M. and Mialet-Serra, I. (2023) 'Évolution, chiffres clés et défis', *PRéRAD-OI, Observatoire des Agricultures de l'Océan Indien*, p. 89.

Harvey, C.A. *et al.* (2014) 'Extreme vulnerability of smallholder farmers to agricultural risks and climate change in Madagascar', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1639), p. 20130089. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0089>.

He, Q., Bertness, M.D. and Altieri, A.H. (2013) 'Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress', *Ecology Letters*. Edited by M. Vila, 16(5), pp. 695–706. Available at: <https://doi.org/10.1111/ele.12080>.

Hothorn, T., Bretz, F. and Westfall, P. (2008) Simultaneous Inference in General Parametric Models - Hothorn - 2008 - *Biometrical Journal* - Wiley Online Library, Wiley online library. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bimj.200810425> (Accessed: 11 September 2023).

Ishizaki, K. *et al.* (2005) 'Breeding of Blast Resistant Isogenic Lines in Rice Variety "Koshihikari" and Evaluation of Their Characters', *Breeding Science*, 55(3), pp. 371–377. Available at : <https://doi.org/10.1270/jsbbs.55.371>.

Jaillard, B. *et al.* (2018) 'An a posteriori species clustering for quantifying the effects of species interactions on ecosystem functioning', *Methods in Ecology and Evolution*. Edited by R. Chisholm, 9(3), pp. 704–715. Available at: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12920>.

Jareen, B. *et al.* (2019) 'Evaluation of the cultivar mixture strategy as a sustainable tool for managing weeds and enhancing rice yield', *Big Data in Agriculture*, 1, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.26480/bda.02.2019.01.09>.

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

Kong, X. *et al.* (2023) 'Wheat cultivar mixtures increase grain yield under varied climate conditions', *Basic and Applied Ecology*, 69, pp. 13–25. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.baae.2023.03.007>.

Kopp, E.B., Niklaus, P.A. and Wuest, S.E. (2023) 'Ecological principles to guide the development of crop variety mixtures', *Journal of Plant Ecology*, p. rtad017. Available at : <https://doi.org/10.1093/jpe/rtad017>.

Leung, H. *et al.* (2003) 'Using Genetic Diversity to Achieve Sustainable Rice Disease Management', *Plant Disease*, 87(10), pp. 1156–1169. Available at : <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.10.1156>.

Mahaut, L. *et al.* (2023) 'Beyond trait distances: Functional distinctiveness captures the outcome of plant competition', *Functional Ecology*, pp. 1365–2435.14397. Available at: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14397>.

Mead, R. and Willey, R.W. (1980) 'The Concept of a "Land Equivalent Ratio" and Advantages in Yields from Intercropping', *Experimental Agriculture*, 16(3), pp. 217–228. Available at : <https://doi.org/10.1017/S0014479700010978>.

Montazeaud, G. *et al.* (2018) 'Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs', *Plant and Soil*, 424(1–2), pp. 187–202. Available at : <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2>.

Montazeaud, G. *et al.* (2020) 'Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: Towards ecological assembly rules for varietal mixtures', *Journal of Applied Ecology*. Edited by M. Isaac, 57(11), pp. 2285–2295. Available at: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>.

Naeem, S., Duffy, J.E. and Zavaleta, E. (2012) 'The Functions of Biological Diversity in an Age of Extinction', *Science*, 336(6087), pp. 1401–1406. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1215855>.

Panda, D., Mishra, S.S. and Behera, P.K. (2021) 'Drought Tolerance in Rice: Focus on Recent Mechanisms and Approaches', *Rice Science*, 28(2), pp. 119–132. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.01.002>.

Raboin *et al.* (2012) 'Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem: Cultivar mixtures and blast in upland rice', *Plant Pathology*, 61(6), pp. 1103–1111. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02602.x>.

Raboin *et al.* (2014) 'Upland rice varieties for smallholder farming in the cold conditions in Madagascar's tropical highlands', *Field Crops Research*, 169, pp. 11–20. Available at : <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.09.006>.

Raboin, L.-M. *et al.* (2013) 'Création variétale pour la riziculture pluviale d'altitude à Madagascar : bilan de 25 années de sélection', *Cahiers Agricultures*, 22(5), pp. 450-458 (1). Available at : <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0624>.

Raboin, L.-M. *et al.* (2016) 'Association mapping of resistance to rice blast in upland field conditions', *Rice*, 9(1), p. 59. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0131-4>.

Radanielina, T. *et al.* (2013) 'Determinants of rice varietal diversity in the region of Vakinankaratra (Madagascar)', *Cahiers Agricultures*, 22(5), pp. 442–449. Available at : <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0648>.

Rahajaharilaza, K. *et al.* (2023) 'Upland rice varietal mixtures in Madagascar: evaluating the effects of varietal interaction on crop performance', *Frontiers in Plant Science*, 14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1266704>.

Rakotoson, T. *et al.* (2021) 'Genome Wide Association Study of Nitrogen Use Efficiency and Related Agronomic Traits in Upland Rice', *Rice Science*, 28(3), p. 13.

Razafimbelo, T.M. *et al.* (2006) 'Effet de différents systèmes de culture à couverture végétale sur le stockage du carbone dans un sol argileux des Hautes Terres de Madagascar', *Etude et Gestion des Sols*, 13(2), p. 113 à 127. Available at : <https://agritrop.cirad.fr/533341/>.

Reddy, C.S. *et al.* (2011) 'Characterizing multiple linkages between individual diseases, crop health syndromes, germplasm deployment, and rice production situations in India', *Field Crops Research*, 120(2), pp. 241–253. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.10.005>.

Reiss, E.R. and Drinkwater, L.E. (2018) 'Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield', *Ecological Applications*, 28(1), pp. 62–77. Available at: <https://doi.org/10.1002/eap.1629>.

Revilla-Molina, I.M. (2009) 'Genetic diversity for sustainable rice blast management in China: adoption and impact', p. 144.

Sapoukhina, N. *et al.* (2013) 'Quantitative plant resistance in cultivar mixtures: wheat yellow rust as a modeling case study', *New Phytologist*, 200(3), pp. 888–897. Available at: <https://doi.org/10.1111/nph.12413>.

Searle (2012) Population Marginal Means in the Linear Model: An Alternative to Least Squares Means: The American Statistician: Vol 34, No 4. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00031305.1980.10483031> (Accessed: 11 September 2023).

Skamnioti, P. and Gurr, S.J. (2009) 'Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease', *Trends in Biotechnology*, 27(3), pp. 141–150. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.12.002>.

Snyder, L.D., Gómez, M.I. and Power, A.G. (2020) 'Crop Varietal Mixtures as a Strategy to Support Insect Pest Control, Yield, Economic, and Nutritional Services', *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, p. 60. Available at: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00060>.

Strange, R.N. and Scott, P.R. (2005) 'Plant Disease: A Threat to Global Food Security', *Annual Review of Phytopathology*, 43(1), pp. 83–116. Available at : <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.113004.133839>.

Takeuchi, Y. *et al.* (2006) 'Development of Isogenic Lines of Rice Cultivar Koshihikari with Early and Late Heading by Marker-assisted Selection', *Breeding Science*, 56(4), pp. 405–413. Available at: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.56.405>.

Wang, X., Chen, Y. and Zhang, S. (2017) 'Cultivar mixture improved yield and water use efficiency via optimization of root properties and biomass distribution in maize (*Zea mays* L.)', *Emirates Journal of Food and Agriculture*, p. 1. Available at: <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-08-1063>.

Wuest, S.E., Peter, R. and Niklaus, P.A. (2021) 'Ecological and evolutionary approaches to improving crop variety mixtures', *Nature Ecology & Evolution*, 5(8), pp. 1068–1077. Available at : <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01497-x>.

Zhu *et al.* (2005) 'Panicle Blast and Canopy Moisture in Rice Cultivar Mixtures', *Phytopathology*®, 95(4), pp. 433–438. Available at : <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0433>.

Zhu, Y. *et al.* (2000) 'Genetic diversity and disease control in rice', *Nature*, 406(6797), pp. 718–722. Available at : <https://doi.org/10.1038/35021046>.

DISCUSSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE

La culture du riz pluvial est une nécessité pour la sécurité alimentaire et les moyens de subsistance dans de nombreuses régions, en particulier là où l'irrigation est limitée ou peu fiable. Ces dernières années, l'utilisation de mélanges variétaux dans le riz pluvial a suscité l'attention en tant que stratégie potentielle pour améliorer les performances agronomiques et renforcer la résistance aux contraintes environnementales (Barot *et al.*, 2017). Cependant, malgré quelques avancées dans la compréhension des avantages potentiels des mélanges variétaux, plusieurs questions non résolues subsistent d'après la littérature (Figure 4).. Premièrement, la détermination des règles d'assemblage qui orientent le choix et l'arrangement des variétés au sein des mélanges, demeure un sujet controversé. Alors que certaines études ont proposé des règles spécifiques basées sur la diversité des caractéristiques (Montazeaud *et al.*, 2020b; Wuest *et al.*, 2021), d'autres soutiennent qu'une approche d'assemblage ne se basant pas aux caractéristiques peut être plus appropriée (Barot *et al.*, 2017; Kopp *et al.*, 2023). Déterminer les règles d'assemblage les plus efficaces est crucial pour optimiser les performances des mélanges variétaux. Deuxièmement, l'exploration des interactions complexes au sein des mélanges variétaux demeure un sujet de recherche intéressant. Comprendre comment les variétés associées interagissent les unes avec les autres, que ce soit par complémentarité, facilitation, compensation ou compétition, est nécessaire pour prédire la productivité globale des mélanges (Olofsson, 2004). De plus, il est nécessaire d'élucider les mécanismes par lesquels les mélanges variétaux renforcent la résistance aux contraintes biotiques, telles que les maladies. Ces mécanismes peuvent inclure des effets de barrière, des effets de dilution et d'autres facteurs encore inconnus. Enfin, les aspects techniques liés aux mélanges variétaux nécessitent des recherches approfondies. Des facteurs tels que les conditions environnementales, les pratiques de fertilisation, l'arrangement des mélanges et le nombre de variétés combinées peuvent influencer de manière significative les performances globales des mélanges variétaux. L'investigation de ces aspects techniques fournira des indications sur la mise en œuvre pratique et la faisabilité des mélanges variétaux dans les systèmes de culture du riz pluvial du monde réel (Figure 4).

En s'appuyant sur les questions non résolues et les lacunes de connaissances dans la littérature présentées dans la Figure 4, l'objectif général de cette thèse a été d'évaluer la pertinence des mélanges variétaux pour optimiser le rendement et renforcer la résistance aux contraintes

environnementales dans la culture du riz pluvial. Cet objectif a été atteint à travers des études approfondies visant à améliorer les performances agronomiques des mélanges variétaux. Les résultats ont permis d'établir des liens significatifs entre la diversité phénotypique et le rendement, ouvrant la voie à des perspectives précieuses.

L'évaluation de la résistance des mélanges variétaux aux agents pathogènes et contraintes biotiques ont également permis d'identifier des mélanges complémentaires efficaces, offrant des opportunités prometteuses pour renforcer la résilience de la production. De plus, l'étude de l'application des mélanges variétaux sous différentes configurations et au fil des années a fourni des informations intéressantes sur leur robustesse. Ces découvertes seront discutées en détail dans les sections suivantes, détaillant les implications pratiques et les avancées potentielles pour l'optimisation de la production de riz pluvial.

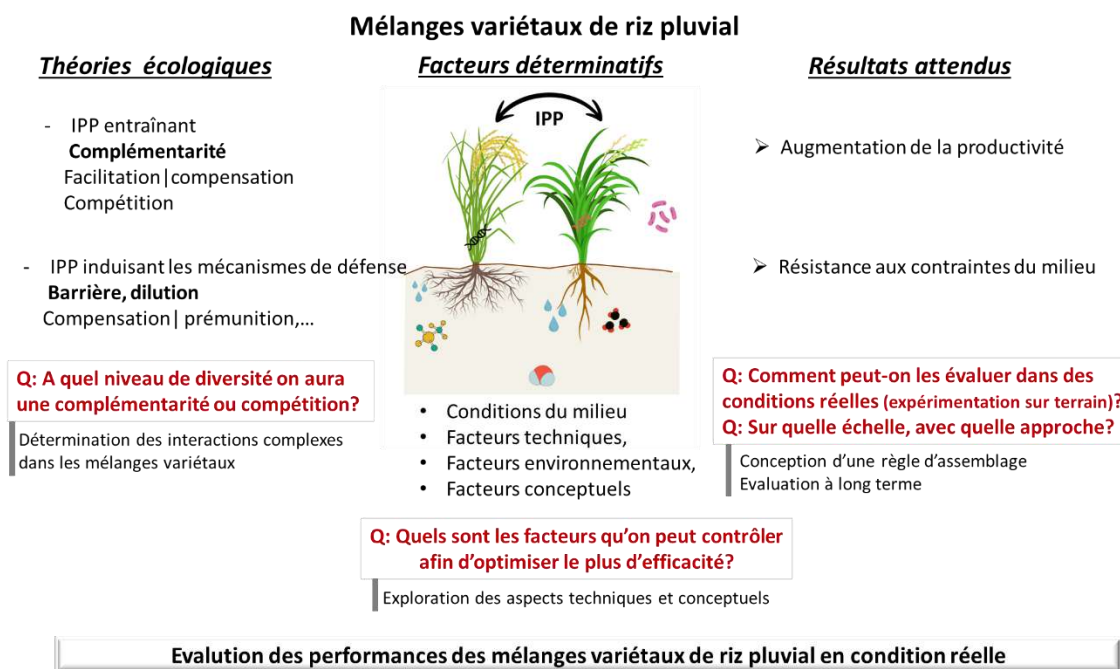


Figure 4 : Résumé des lacunes et des questions non résolues traitées dans la thèse

4.1. Compréhension des interactions plantes-plantes (IPP) et les mécanismes de défense

L'un des objectifs majeurs de cette thèse a été d'évaluer l'efficacité des mélanges variétaux de riz pluvial dans des conditions réelles, en mettant l'accent sur l'amélioration des performances agronomiques globales, notamment les rendements agronomiques globaux et la résistance à la maladie. Pour ce faire, nous avons entrepris une série d'expérimentations visant à comprendre

comment la diversité variétale peut influencer les performances des mélanges. Les interactions complexes varient selon la nature des observations : la production en grain ou biomasse ou la résistance aux contraintes biotiques telle que les maladies comme la pyriculariose (*Pyricularia oryzae*).

4.1.1. Les interactions complexes derrière les efficacités agronomiques des mélanges variétaux en condition au champ

Notre première expérimentation, présentée dans le premier chapitre, a révélé un gain significatif de 13% en rendement en grain et pas d'amélioration significative en rendement en biomasse par rapport aux cultures pures. Le deuxième chapitre de la thèse a approfondi cette analyse en évaluant l'efficacité des mélanges variétaux sur deux sites différents dans la région Vakinankaratra. Les résultats ont montré une augmentation globale de 45% en rendement en grain et de 33% en rendement en biomasse dans les mélanges par rapport aux cultures pures. Le troisième chapitre de notre étude a porté sur l'évolution de l'efficacité des mélanges variétaux au fil du temps. Bien que nous n'ayons pas observé une augmentation globale des rendements, des variations significatives ont été notées d'une année à l'autre. Sur ces trois types d'expérimentations, l'augmentation globale en rendement en grain est de 19% et celle en rendement en biomasse est de 11%. Ces pourcentages sont élevés par rapport aux rendements relatifs ($RY=1.02$) signifiant un gain de 2% dans une méta-analyse effectuée par Reiss et Drinkwater en 2018 sur des mélanges variétaux d'orge, maïs, légumineuses, avoine, sorgho, soja et blé. Par contre ils sont moins élevés que le $LER=1.3$ sur des cultures intercalaires de maïs et de soja (Li *et al.*, 2023). Ces résultats montrent que les effets sont plus prononcés sur des mélanges interspécifiques que sur des mélanges intraspécifiques. Ces gains sont souvent ramenés à des effets de complémentarité entre les variétés. Cependant, des effets de sélection où la variété la plus productive en culture pure produit le plus en mélange peut avoir lieu. On a trouvé cet effet de sélection dans notre troisième chapitre où même si les mélanges sont productifs que la moyenne des cultures pures, les rendements obtenus sont inférieurs aux rendements en pures des variétés performantes (CD et F180).

A part les effets de sélection et de complémentarité, les interactions plantes-plantes (IPP) sont souvent appréciées à l'aide des caractéristiques phénotypiques et génotypiques des variétés composant les mélanges variétaux. Nos résultats du premier chapitre ont révélé un manque de capacité prédictive des distances phénotypiques et génétiques. Or que Mahaut *et al.* (2023) ont

mis en lumière l'importance de l'étude de la diversité des caractéristiques des variétés étudiées. Nous n'avons pas trouvé de corrélation significative entre les distances sur les traits phénotypiques (basées sur des traits phénologiques, des traits aériens ou des traits racinaires) ou les distances génétiques et la production en rendement ou l'incidence de la maladie. Des caractéristiques de croissance et de développement varient entre les groupes fonctionnels, mais n'ont pas montré de corrélation directe avec les rendements. Cela indique que d'autres mécanismes complexes, probablement liés à la diversité génétique et aux interactions IPP, pourraient être en jeu. Ainsi, pour répondre à la question "À quel niveau de diversité avons-nous de la complémentarité ou de la compétition ?", nos résultats suggèrent que la diversité génétique des variétés peut influencer les mécanismes d'interaction au sein des mélanges variétaux tel qu'observé par Mahaut *et al.* en 2023. La complémentarité peut être favorisée lorsque les variétés présentent des différences significatives dans leurs caractéristiques phénotypiques ou génétiques, réduisant ainsi la compétition pour les ressources. En revanche, la compétition peut devenir plus prédominante lorsque les variétés au sein d'un mélange sont plus similaires et en concurrence directe pour les mêmes ressources.

4.1.2. Les mécanismes de défense et interactions complexes derrière la résistance aux maladies

Dans le premier chapitre de notre étude, nous avons observé une infection moyenne du *Pyricularia oryzae* légèrement plus faible dans les mélanges (moyenne = 1,87) que dans les cultures pures. En d'autres termes, le nombre de plantes attaquées par *Pyricularia oryzae* est inférieur de 6,5% dans les mélanges par rapport aux monocultures. Dans le deuxième chapitre, nous avons observé une réduction globale des infections du *Pyricularia oryzae* sur les feuilles et les panicules dans les mélanges par rapport aux cultures pures. En moyenne, les mélanges ont montré une diminution de 10% de l'incidence de la maladie sur les feuilles et de 39% de la sévérité de la maladie sur les feuilles par rapport aux cultures pures. Dans le premier chapitre, nos analyses ont permis de distinguer trois groupes fonctionnels de variétés, parmi lesquels PRIMAVERA se démarque en tant que variété exceptionnellement résistante à la pyriculariose. Les mélanges comportant la variété PRIMAVERA ont montré une résistance accrue à la maladie, suggérant un potentiel d'utilisation de cette variété pour renforcer la résilience des cultures. Les assemblages qui intègrent PRIMAVERA se sont avérés plus résistants, établissant ainsi un lien clair entre la diversité phénotypique des variétés et la résistance aux pathogènes.

Le deuxième chapitre a révélé des résultats intéressants sur l'effet des mélanges variétaux sur l'infection par *Pyricularia oryzae*. Là où la variété la plus sensible, DOURADO PRECOCE, a été présente en monoculture, nous avons observé une incidence et une gravité de la maladie plus élevées par rapport aux mélanges. Les aspects maladies ont été écartés dans le troisième chapitre à cause des choix des variétés qui sont tolérantes ou résistantes à *Pyricularia oryzae*. En ce qui concerne les mécanismes de résistance, nos résultats suggèrent que la résistance à la *Pyricularia oryzae* pourrait être influencée par des mécanismes épidémiologiques et des effets de barrière ou de dilution. En particulier, les mélanges contenant la variété la plus résistante, PRIMAVERA, se sont avérés les plus efficaces contre la *Pyricularia oryzae*, tandis que les mélanges contenant la variété la plus sensible, DOURADO PRECOCE, ont montré une sensibilité plus élevée. Cela suggère un effet de barrière ou de dilution de la résistance lorsque les variétés résistantes sont présentes dans les mélanges. Cependant, le mécanisme exact derrière ces différences nécessite une analyse plus approfondie. Pour ce qui est de la contribution de la diversité phénotypique des variétés, de la pression de maladie et d'autres facteurs à la résistance des mélanges aux pathogènes, nos résultats montrent que la diversité phénotypique des variétés peut influencer la résistance aux maladies. En particulier, les mélanges associant la variété PRIMAVERA, qui se distingue fonctionnellement des autres variétés, ont montré une plus grande résistance à la *Pyricularia oryzae*. De plus, la longueur des feuilles peut jouer un rôle dans la résistance, en offrant potentiellement plus de surface pour la colonisation par le pathogène. Les variétés d'un groupe fonctionnel se sont révélées particulièrement sensibles à la pyriculariose. Ces variétés présentaient des cycles de croissance plus longs et des feuilles plus grandes. Les mécanismes montrent comment la diversité phénotypique des variétés peut renforcer la résistance aux maladies dans les mélanges variétaux, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour les comprendre en détail. Dans l'ensemble, nos résultats montrent que les mélanges variétaux peuvent contribuer à la résistance aux maladies et aux pathogènes, mais que ces mécanismes sont complexes et dépendants du contexte. Cette compréhension des mécanismes de résistance nous aidera à développer des stratégies plus durables pour la gestion des maladies dans les cultures de riz pluvial.

4.1.3. Les compromis croissance-défense dans les plantes voisines

Le compromis ou trade-off entre croissance et défense chez le riz fait référence à l'équilibre entre l'allocation de ressources dans la croissance et dans les mécanismes de défense contre des stress tels que les ravageurs et les maladies. Les recherches ont montré que les génotypes de riz à croissance rapide ont une expression plus faible des gènes impliqués dans l'immunité, indiquant un compromis entre la croissance et la défense au niveau moléculaire. Les génotypes de riz à croissance lente et à floraison tardive montrent une plus grande expression des gènes de défense par rapport aux génotypes à croissance rapide et à floraison précoce (De Tombreur *et al.*, 2023). Le compromis entre croissance et défense chez le riz peut affecter le rendement du riz. Cependant, la relation entre le compromis croissance-défense et le rendement du riz est complexe et influencée par divers facteurs tels que les interactions phytohormonales ou à des processus biochimiques tel que le catabolisme de l'acide gibbérellique (Frunghillo, 2023). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre pleinement l'impact du compromis croissance-défense sur le rendement du riz.

L'intégration des découvertes de Detombreur *et al.* (2023) avec nos observations des différences phénotypiques et génétiques parmi les variétés de riz pluvial, permettent une compréhension plus complète des dynamiques complexes qui façonnent la performance et la résistance aux maladies des mélanges variétaux dans les conditions de terrain. Cette approche multidimensionnelle, englobant les théories écologiques, les analyses phénotypiques et génétiques, ainsi que les perspectives moléculaires, permet également une exploration plus approfondie des mécanismes sous-jacents à la productivité et à la résilience des mélanges variétaux dans les contextes agricoles.

Pour relever les défis posés par le compromis entre croissance et défense chez le riz, plusieurs stratégies potentielles se révèlent nécessaires pour atténuer ses effets négatifs sur le rendement. Tout d'abord, la démarche de sélection de variétés qui ont des traits équilibrés est prometteuse. Il s'agit de sélectionner des génotypes de riz qui présentent un équilibre optimal entre les traits de croissance et de défense. Ceci va engendrer une expression idéale des gènes impliqués dans les deux aspects et le compromis peut être géré efficacement (De Tombreur *et al.*, 2023). Ces génotypes devraient idéalement croître efficacement tout en maintenant une immunité robuste contre les stress. Deuxièmement, à la suite de la première, l'application de techniques de génie génétique offre une voie pour affiner l'expression des gènes clés impliqués dans le compromis croissance-défense. Cette stratégie vise à développer des variétés de riz qui ne sont pas seulement résistantes à divers stress, mais aussi capables de maintenir des rendements élevés,

contournant ainsi les limitations imposées par le compromis (De Tombeur *et al.*, 2023). Troisièmement, l'optimisation des pratiques culturales peuvent influencer l'équilibre croissance-défense telle que la mise en œuvre d'une fertilisation équilibrée, la gestion intégrée des nuisibles et une irrigation appropriée (Wang, 2023). Ces pratiques, favorisent tout d'abord une culture saine et résistante au stress, pouvant ensuite contribuer à de meilleurs rendements malgré le compromis inhérent. Enfin, l'application de silicium est apparue comme une stratégie intrigante. Le silicium est suggéré pour renforcer les mécanismes de défense du riz sans entraver la croissance, offrant ainsi un moyen potentiel pour contrer les effets réducteurs de rendement du compromis croissance-défense (De Tombeur *et al.*, 2023). En combinant des interventions génétiques, agronomiques et technologiques, il est possible d'atteindre un équilibre qui assure à la fois un rendement élevé et une résilience face aux stress, sécurisant ainsi la productivité et la durabilité de la culture du riz

4.2. Les facteurs et aspects techniques identifiés qui ont contribué aux efficacités des mélanges

Les facteurs qui influent sur les interactions plantes-plantes (IPP) dans les mélanges variétaux de riz pluvial comprennent divers éléments. Premièrement, il est essentiel de considérer les conditions du milieu dans lesquelles les mélanges sont cultivés. Dans notre deuxième chapitre, des variations entre les sites ont été constatés, avec un gain de biomasse deux fois plus élevé à ANK par rapport à IVO. Ces différences entre les sites soulignent l'importance de considérer les caractéristiques spécifiques de chaque emplacement lors de la mise en œuvre des mélanges variétaux. Les mélanges ont ainsi démontré une certaine capacité à réduire l'incidence de cette maladie. Un point essentiel à souligner est la différence d'efficacité des mélanges variétaux entre les sites ANK et IVO. À l'IVO, les mélanges variétaux ont réussi à réduire de manière significative l'infection par *Pyricularia oryzae*, tandis qu'à l'ANK, cet effet n'a pas été observé de manière aussi marquée. Cette disparité souligne l'importance de considérer les variations environnementales locales et de concevoir des mélanges variétaux adaptés à des conditions spécifiques. Nos résultats ont aussi montré que des conditions environnementales telles que la fertilité du sol peut avoir un impact significatif sur les performances des mélanges variétaux. Dans notre étude, les mélanges variétaux ont montré des effets plus prononcés dans des conditions de faible fertilité du sol, indiquant que l'ajout d'engrais peut influencer la performance des mélanges. L'apport d'engrais peut compenser le manque de ressources, réduisant ainsi la compétition et permettant aux variétés de mieux exploiter les ressources

disponibles. Il est donc essentiel de prendre en compte les conditions locales du site pour optimiser les mélanges variétaux.

Un autre facteur à considérer est l'identité des variétés incluses dans les mélanges. Nos résultats ont montré que certaines variétés de riz pluvial ont été plus compétitives que d'autres, en particulier lorsque ces variétés sont présentes en plus grande proportion dans les mélanges. Cela suggère que le choix des variétés incluses dans les mélanges peut influencer de manière significative les performances globales. Il est donc important de sélectionner les variétés de manière stratégique pour maximiser l'efficacité des mélanges variétaux. En ce qui concerne les facteurs techniques, l'arrangement spatial des variétés au sein des mélanges a également un impact sur les performances. Nos résultats ont montré que des arrangements spatiaux déséquilibrés (avec des proportions de variétés mélangées différentes) pouvaient conduire à de meilleurs rendements en grain. Cela suggère que l'équilibre entre les variétés n'est pas nécessairement un prérequis pour obtenir des effets positifs dans les mélanges variétaux de riz pluvial. Un arrangement spatial non équilibré peut favoriser la compétition et la complémentarité des ressources entre les variétés, conduisant à des rendements accrus. Ainsi, la manière dont les variétés sont réparties au sein des mélanges peut être un facteur que l'on peut contrôler pour optimiser l'efficacité des mélanges variétaux.

Enfin, les facteurs conceptuels liés à la compréhension des mécanismes sous-jacents des IPP sont essentiels pour optimiser les mélanges variétaux. Il est important de comprendre les mécanismes de complémentarité et de compétition qui peuvent être en jeu au sein des mélanges. Nos résultats indiquent que la nature des interactions plantes-plantes peut varier en fonction de la diversité des assemblages. Lorsque des variétés résistantes étaient présentes dans les mélanges, des mécanismes de complémentarité ont été observés, ce qui a conduit à de meilleures performances en termes de résistance à la maladie et de rendement en grain. En revanche, lorsque des variétés plus sensibles étaient présentes, la compétition pour les ressources était prédominante, entraînant des performances inférieures. Il est essentiel de comprendre ces mécanismes pour concevoir des mélanges variétaux efficaces. De plus, la plasticité des traits phénotypiques individuels peut influencer la façon dont les variétés interagissent et utilisent les ressources, ce qui a des implications directes sur les performances des mélanges variétaux. En résumé, pour optimiser l'efficacité des mélanges variétaux de riz pluvial, il est essentiel de prendre en compte les conditions du milieu, les arrangements spatiaux des variétés, la gestion de la fertilité du sol et la diversité génétique des variétés. En comprenant

et en manipulant ces facteurs, les agriculteurs peuvent améliorer la productivité et la résilience de leurs cultures, contribuant ainsi à une agriculture durable et efficace.

4.3. Stratégies à adopter pour une stabilité et durabilité des mélanges variétaux

Contrairement à l'opinion généralement établie que les mélanges variétaux procurent une stabilité de production, nos résultats du troisième chapitre ont révélé aucune différence significative dans les rendements en grain entre les différents types d'associations, y compris les cultures pures de variétés individuelles et les mélanges de deux, trois ou quatre variétés différentes. Cette découverte inattendue remet en question la croyance conventionnelle selon laquelle les mélanges variétaux garantissent intrinsèquement des rendements accrus. Cependant, en disséquant les résultats, nous pouvons noter que la composition de ces mélanges variétaux joue un rôle important dans la détermination de leur productivité. Notre recherche souligne l'importance de la composition variétale au sein des mélanges. La sélection minutieuse et les combinaisons stratégiques de variétés au sein de ces mélanges se sont révélées primordiales. Les performances exceptionnelles des cultures pures de Chomrrhong Dhan (CD) et de Fofifa 180 (F180) méritent une attention particulière, car elles affichaient les niveaux de productivité les plus élevés de notre étude. Ces résultats s'alignent sur les observations de Pandey (1978) dans le contexte des mélanges variétaux de blé, soulignant l'importance de combinaisons variétales spécifiques pour atteindre des rendements optimaux. Les interactions nuancées au sein de ces mélanges illustrent la nature complexe de la biodiversité agricole, soulignant la nécessité de stratégies sur mesure et spécifiques au contexte pour maximiser les rendements agricoles à Madagascar (Kiær *et al.*, 2012; Snyder *et al.*, 2020).

En plus de remettre en question les paradigmes établis, nos résultats mettent en évidence le rôle essentiel du contexte et des facteurs environnementaux dans la formation des résultats des mélanges variétaux. Cette variabilité des résultats reflète les observations de Kiær (2012) dans l'étude des mélanges de variétés d'orge de printemps, soulignant les dépendances contextuelles inhérentes aux pratiques agricoles. Ces résultats ont des implications profondes pour les futures recherches, soulignant la nécessité de prendre en compte les facteurs environnementaux et régionaux spécifiques lors de l'élaboration de stratégies agricoles. Notre étude, inscrite dans le contexte plus large de la biodiversité agricole, remet non seulement en question les idées existantes, mais ouvre également de nouvelles perspectives pour comprendre l'interaction

complexe des variables influençant la productivité agricole (Montazeaud, Violle, *et al.*, 2020 ; Snyder *et al.*, 2020). Alors que nous explorons davantage ces complexités, notre compréhension des mélanges variétaux continue d'évoluer, ouvrant la voie à des pratiques agricoles plus nuancées et efficaces à l'avenir.

Les mélanges variétaux de riz pluvial, comme notre étude l'a révélé, dépendent fortement de la composition variétale et des conditions environnementales. Le fait que nous n'ayons pas observé de différences significatives dans les rendements entre les mélanges variétaux et les cultures pures de variétés individuelles souligne que les mélanges varient en fonction des facteurs précis de composition variétale et du contexte de culture. Cela signifie que la stabilité et la fiabilité des mélanges varient en fonction de ces éléments. Lorsqu'ils sont bien conçus, avec des combinaisons de variétés appropriées pour le contexte spécifique de culture, les mélanges peuvent être stables et fiables, contribuant à des rendements constants et à une meilleure résilience agricole. Cependant, une composition variétale inadaptée ou des conditions environnementales défavorables peuvent compromettre leur efficacité.

4.4. Règles d'assemblage qui mettent en avant les interactions entre plantes ?

Dans le contexte des mélanges variétaux de riz pluvial, les règles d'assemblage doivent être structurées comme des « memento » pour sélectionner et agencer les variétés au sein des mélanges, visant à maximiser à la fois la production de grains et la résistance aux maladies, deux fonctions essentielles dans les systèmes de culture du riz. Nos travaux ont soulevé plusieurs questions fondamentales sur la définition de ces règles d'assemblage.

L'utilisation de la distance phénotypique et génétique pour définir des règles d'assemblage est une approche classique mais complexe, car les traits spécifiques impliqués dans la complémentarité de l'utilisation des ressources restent largement inconnus, en particulier au niveau intraspécifique. Cela rend la sélection des variétés basée sur des connaissances a priori difficile, car il est difficile de déterminer quels traits sont les plus pertinents pour favoriser la complémentarité. La méthode de regroupement a posteriori offre une alternative prometteuse en regroupant les variétés en fonction de leur capacité à se démarquer que d'autres variétés. Cette méthode permet d'optimiser les performances des mélanges variétaux sans avoir besoin de connaître a priori les traits spécifiques impliqués. Cette approche peut aider à personnaliser

les mélanges variétaux en fonction des priorités des agriculteurs, que ce soit pour augmenter les rendements ou réduire les risques de maladie.

Il est à noter que les règles d'assemblage sont d'une importance fondamentale, non seulement pour l'agriculture mais aussi pour la recherche écologique en général. Elles fournissent des instructions structurées pour atteindre des fonctions spécifiques, préserver la biodiversité et améliorer la résilience et la stabilité des écosystèmes. Cependant, les défis résident dans la complexité de l'interaction entre les règles issues de différentes théories écologiques et leur validation empirique, qui est souvent contextuelle. Nous avons proposé des modèles qui ont chacun leur finalité (production ou résistance à la maladie). Nous avons aussi réussi à conclure qu'une faible fertilité est plus efficace pour les mélanges et que sans pressions biotiques, les effets ne sont pas marqués. Et finalement, le choix des variétés peut influencer beaucoup sur les résultats obtenus. Ceci dit, nous n'avons pas pu générer des règles d'assemblages multifonctionnels généraux mais des réponses à des questions spécifiques selon des contextes spécifiques.

Pour la recherche future, il serait pertinent de poursuivre les investigations sur la création de règles d'assemblage pour les mélanges variétaux de riz pluvial. Des expérimentations à plus grande échelle, testant différentes combinaisons de variétés et évaluant leurs performances dans diverses conditions environnementales, pourraient offrir des aperçus plus approfondis. Il est également essentiel de déterminer si les mêmes assemblages de variétés peuvent simultanément maximiser à la fois la production de grains et la résistance aux maladies, un défi majeur dans de nombreux systèmes de culture dans le monde. En fin de compte, la définition de règles d'assemblage pour les mélanges variétaux dans l'agriculture est une question complexe qui nécessite une exploration continue et des avancées méthodologiques pour créer des mélanges variétaux plus performants et durables. Ces mélanges variétaux personnalisés peuvent jouer un rôle essentiel dans l'amélioration de la durabilité et de la résilience des systèmes de culture du riz pluvial, tout en répondant aux besoins spécifiques des agriculteurs.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

À travers cette thèse, nous avons exploré l'impact des associations des variétés sur la production agricole. Nous avons aussi exploré les impacts des maladies sur les mélanges variétaux, les mécanismes par lesquels les mélanges variétaux confèrent une résistance aux stress biotiques, la stabilité et la durabilité des mélanges variétaux, ainsi que les règles d'assemblage et les mécanismes d'interaction qui contribuent à leur performance. Les principales conclusions de cette étude peuvent être résumées comme suit. Selon les modalités de mélange et les variétés associées, les mélanges variétaux sont bénéfiques en rendement en grain et parfois en rendement en biomasse. Les maladies et les agents pathogènes ont un impact significatif sur la production de riz, mais les mélanges variétaux offrent une solution potentielle pour renforcer la résistance. La présence de variétés résistantes dans les mélanges peut réduire la gravité des maladies et limiter la propagation des pathogènes grâce à l'effet de dilution. Les mélanges variétaux confèrent une résistance aux stress biotiques par des mécanismes tels que l'effet barrière, où la présence de variétés résistantes agit comme une barrière physique ou biochimique, et l'effet de facilitation, où certaines variétés renforcent les mécanismes de défense des variétés voisines. Les mélanges variétaux peuvent assurer une stabilité et une durabilité, maintenant des performances cohérentes et une résilience même face aux changements des conditions environnementales. La diversité au sein des mélanges garantit qu'au moins certains génotypes sont mieux adaptés à des conditions spécifiques, entraînant une performance globalement stable, voire améliorée. Les règles d'assemblage pour la conception de mélanges variétaux performants incluent la sélection de génotypes aux traits complémentaires et l'évitement d'une similitude excessive. Les interactions positives, telles que la facilitation et le partage des ressources, améliorent la productivité et la résilience du mélange, tandis que la diversité des traits favorise l'adaptabilité et l'efficacité d'utilisation des ressources.

La contribution de cette thèse réside dans la résolution des questions non résolues dans la littérature concernant l'utilisation des mélanges variétaux dans la production de riz. Elle a fourni une compréhension complète de l'impact des maladies et des agents pathogènes sur les mélanges variétaux, élucidé les mécanismes par lesquels les mélanges confèrent une résistance aux stress biotiques, et exploré la stabilité et la durabilité des mélanges au fil du temps. De plus, cette étude a contribué aux connaissances sur les règles d'assemblage et les mécanismes d'interaction au sein des mélanges variétaux, offrant ainsi des perspectives pour optimiser leur

performance. Les résultats de cette recherche ont des implications significatives pour la production durable de riz. Les mélanges variétaux peuvent servir de stratégie efficace pour la gestion des maladies, réduisant la dépendance aux intrants chimiques et favorisant une agriculture durable. La stabilité, la durabilité et la résilience des mélanges les rendent précieux pour atténuer les impacts du changement climatique et des fluctuations environnementales. De plus, les règles d'assemblage et les mécanismes d'interaction identifiés ici peuvent guider la conception et la mise en œuvre de mélanges variétaux dans différents contextes, améliorant leur performance et leur durabilité.

Les futures directions de recherche devraient se concentrer sur l'investigation approfondie de la base génétique de la résistance et des mécanismes sous-jacents d'interaction au sein des mélanges variétaux. Comprendre les gènes et traits spécifiques impliqués dans l'attribution de la résistance faciliterait la sélection assistée par marqueurs et le développement de variétés améliorées. Explorer des mécanismes interactifs supplémentaires et étudier la dynamique à long terme des mélanges variétaux dans des environnements divers fournirait des informations précieuses sur leur adaptabilité et leur performance. En dernier lieu, cette thèse met en lumière le potentiel des mélanges variétaux dans la production durable de riz. En abordant les questions non résolues dans la littérature et en offrant des perspectives sur leur impact, leurs mécanismes, leur stabilité et leurs règles d'assemblage, cette étude contribue à la base des connaissances et ouvre des perspectives pour des recherches futures et des applications pratiques dans les systèmes agricoles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adler, P.B., Fajardo, A., Kleinhesselink, A.R., Kraft, N.J.B., 2013. Trait-based tests of coexistence mechanisms. *Ecology Letters* 16, 1294–1306. <https://doi.org/10.1111/ele.12157>
- Ahmadi, N., 2004. Upland rice for the highlands: new varieties and sustainable cropping systems to face food security. Promising prospects for the global challenges of rice production the world will face in the coming years? FAO RICE CONFERENCE.
- Albergoni, L., Pelaez, V., 2007. Da Revolução Verde à agrobiotecnologia: ruptura ou continuidade de paradigmas? *Revista de Economia*, 33. <https://doi.org/10.5380/re.v33i1.8546>
- Alletto, L., Vandewalle, A., Debaeke, P., 2022. Crop diversification improves cropping system sustainability: An 8-year on-farm experiment in South-Western France. *Agricultural Systems* 200, 103433. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103433>
- Altieri, M.A., 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Elsevier 74, 13.
- Altieri, M.A., 1989. Agroecology: A New Research and Development Paradigm for World Agriculture. *Agric. Ecosystems Environ.*, 27: 37–46.
- Altieri, M.A., Funes-Monzote, F.R., Petersen, P., 2012. Agroecologically efficient agricultural systems for smallholder farmers: contributions to food sovereignty. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0065-6>
- Atera, E.A., Itoh, K., Azuma, T., Ishii, T., 2012. Response of NERICA Rice to Striga hermonthica Infections in Western Kenya. *Int. J. Agric. Biol.* 14.
- Bakker, L.M., Mommer, L., van Ruijven, J., 2016. Can root trait diversity explain complementarity effects in a grassland biodiversity experiment? *Journal of Plant Ecology*, p111. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtw111>
- Balasubramanian, V., Sie, M., Hijmans, R.J., Otsuka, K., 2007. Increasing Rice Production in Sub-Saharan Africa: Challenges and Opportunities, in: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp. 55–133. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(06\)94002-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(06)94002-4)
- Banta, J.A., Stevens, M.H.H., Pigliucci, M., 2010. A comprehensive test of the ‘limiting resources’ framework applied to plant tolerance to apical meristem damage. *Oikos* 119, 359–369. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17726.x>
- 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>
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Becker, C., Berthomé, R., Delavault, P., Flutre, T., Fréville, H., Gibot-Leclerc, S., Le Corre, V., Morel, J.-B., Moutier, N., Muños, S., Richard-Molard, C., Westwood, J., Courty, P.-E., de Saint Germain, A., 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>
- Beillouin, D., Ben-Ari, T., Malézieux, E., Seufert, V., Makowski, D., 2021. Positive but variable effects of crop diversification on biodiversity and ecosystem services. *Glob Change Biol* 27, 4697–4710. <https://doi.org/10.1111/gcb.15747>
- Belyea, L.R., Lancaster, J., 1999. Assembly Rules within a Contingent Ecology. *Oikos* 86, 402–416. <https://doi.org/10.2307/3546646>

- Bertness, M.D., Callaway, R., 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 191–193. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90088-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90088-4)
- Bin Rahman, A.N.M.R., Zhang, J., 2023. Trends in rice research: 2030 and beyond. *Food and Energy Security* 12, e390. <https://doi.org/10.1002/fes3.390>
- Binang, W.B., Ekeleme, F., Ntia, J.D., 2011. Management of Weeds of Rainfed Lowland Rice Using Cultivar Mixture Strategies. *Asian Journal of Agricultural Research* 5, 306–311. <https://doi.org/10.3923/ajar.2011.306.311>
- Biscarini, F., Cozzi, P., Casella, L., Riccardi, P., Vattari, A., Orasen, G., Perrini, R., Tacconi, G., Tondelli, A., Biselli, C., Cattivelli, L., Spindel, J., McCouch, S., Abbruscato, P., Valé, G., Piffanelli, P., Greco, R., 2016. Genome-Wide Association Study for Traits Related to Plant and Grain Morphology, and Root Architecture in Temperate Rice Accessions. *PLoS ONE* 11, e0155425. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155425>
- Boero, F., 2015. From Darwin's Origin of Species toward a theory of natural history. *F1000Prime Rep* 7. <https://doi.org/10.12703/P7-49>
- 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>
- Breumier, P., Ramarosandratana, A., Ramanantsoanirina, A., Brocke, K. vom, Marquié, C., Dabat, M.-H., Raboin, L.-M., 2018. Évaluation participative des impacts de la recherche sur le riz pluvial d'altitude à Madagascar de 1980 à 2015. *Cah. Agric.* 27, 15004. <https://doi.org/10.1051/cagri/2017065>
- Brocke, K.V., Raboin, L.-M., Rakotomalala, J., 2016. Equipe SCRiD Amélioration génétique du riz pluvial 115.
- Brooker, R.W., Bennett, A.E., Cong, W.-F., Daniell, T.J., George, T.S., Hallett, P.D., Hawes, C., Iannetta, P.P.M., Jones, H.G., Karley, A.J., Li, L., McKenzie, B.M., Pakeman, R.J., Paterson, E., Schöb, C., Shen, J., Squire, G., Watson, C.A., Zhang, C., Zhang, F., Zhang, J., White, P.J., 2014. Improving intercropping: a synthesis of research in agronomy, plant physiology and ecology. *New Phytologist* 206, 107–117. <https://doi.org/10.1111/nph.13132>
- Cardinale, B.J., Palmer, M.A., Collins, S.L., 2002. Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature* 415, 4.
- Cardinale, B.J., Wright, J.P., Cadotte, M.W., Carroll, I.T., Hector, A., Srivastava, D.S., Loreau, M., Weis, J.J., 2007. Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 18123–18128. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709069104>
- Chen, R.-S., Lu, K.-Y., Yu, S.-C., 2002. A hybrid genetic algorithm approach on multi-objective of assembly planning problem. *Engineering Applications of Artificial Intelligence* 15, 447–457. [https://doi.org/10.1016/S0952-1976\(02\)00073-8](https://doi.org/10.1016/S0952-1976(02)00073-8)
- Chuwa, C.J., 2016. Rice blast disease caused by *Pyricularia oryzae*: epidemiology, characterization and yield loss in major rice growing areas of Tanzania. Thesis, SOKOINE UNIVERSITY OF AGRICULTURE. 114.
- Cook-Patton, S.C., McArt, S.H., Parachnowitsch, A.L., Thaler, J.S., Agrawal, A.A., 2011. A direct comparison of the consequences of plant genotypic and species diversity on communities and ecosystem function. *Ecology* 92, 915–923. <https://doi.org/10.1890/10-0999.1>
- Courtois, B., Audebert, A., Dardou, A., Roques, S., Ghneim- Herrera, T., Droc, G., Frouin, J., Rouan, L., Gozé, E., Kilian, A., Ahmadi, N., Dingkuhn, M., 2013. Genome-Wide

- Association Mapping of Root Traits in a Japonica Rice Panel. *PLoS ONE* 8, e78037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078037>
- Cowger, C., Mundt, C.C., 2002. Effects of Wheat Cultivar Mixtures on Epidemic Progression of Septoria Tritici Blotch and Pathogenicity of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology*® 92, 617–623. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.6.617>
- Craven, D., Isbell, F., Manning, P., Connolly, J., Bruelheide, H., Ebeling, A., Roscher, C., van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B., Beierkuhnlein, C., de Luca, E., Griffin, J.N., Hautier, Y., Hector, A., Jentsch, A., Kreyling, J., Lanta, V., Loreau, M., Meyer, S.T., Mori, A.S., Naeem, S., Palmborg, C., Polley, H.W., Reich, P.B., Schmid, B., Siebenkäs, A., Seabloom, E., Thakur, M.P., Tilman, D., Vogel, A., Eisenhauer, N., 2016. Plant diversity effects on grassland productivity are robust to both nutrient enrichment and drought. *Phil. Trans. R. Soc. B* 371, 20150277. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0277>
- Creissen, H.E., 2013. The role of genotypic diversity in stabilizing plant productivity in variable environments 151.
- Creissen, H.E., Jorgensen, T.H., Brown, J.K.M., 2016. Increased yield stability of field-grown winter barley (*Hordeum vulgare* L.) varietal mixtures through ecological processes. *Crop Protection* 85, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.03.001>
- Creissen, H.E., Jorgensen, T.H., Brown, J.K.M., 2013. Stabilization of yield in plant genotype mixtures through compensation rather than complementation. *Annals of Botany* 112, 1439–1447. <https://doi.org/10.1093/aob/mct209>
- Dahlin, I., Kiær, L., Bergkvist, G., Weih, M., Ninkovic, V., 2020. Plasticity of barley in response to plant neighbors in cultivar mixtures. *Plant and Soil* 447, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04406-1>
- De Boeck, L., Vandaele, N., 2011. Analytical analysis of a generic assembly system. *International Journal of Production Economics*, Innsbruck 2008 131, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2010.04.036>
- De Tombeur, F., Péliissier, R., Shiha, A., Rahajaharilaza, K., Fort, F., Mahaut, L., Lemoine, T., Thorne, S.J., Hartley, S.E., Luquet, D., Fabre, D., Lambers, H., Morel, J.-B., Ballini, E., Violle, C., 2023. Growth–defence trade-off in rice: fast-growing and acquisitive genotypes have lower expression of genes involved in immunity. *Journal of Experimental Botany* 74, 3094–3103. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad071>
- Dhanda, S., Yadav, A., Yadav, D.B., Chauhan, B.S., 2022. Emerging Issues and Potential Opportunities in the Rice–Wheat Cropping System of North-Western India. *Front. Plant Sci.* 13, 832683. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.832683>
- Díaz, S., Cabido, M., 2001. Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 646–655. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02283-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02283-2)
- Dumont, A.M., Wartenberg, A.C., Baret, P.V., 2021. Bridging the gap between the agroecological ideal and its implementation into practice. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 41, 32. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00666-3>
- Dunnett, C.W., 1955. A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control: *Journal of the American Statistical Association*: Vol 50, No 272 [WWW Document]. URL <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1955.10501294?journalCode=uasa20> (accessed 9.11.23).
- Eggermont, H., Balian, E., Azevedo, J.M.N., Beumer, V., Brodin, T., Claudet, J., Fady, B., Grube, M., Keune, H., Lamarque, P., Reuter, K., Smith, M., van Ham, C., Weisser, W.W., Le Roux, X., 2015. Nature-based Solutions: New Influence for Environmental

- Management and Research in Europe. *GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society* 24, 243–248. <https://doi.org/10.14512/gaia.24.4.9>
- Ejeta, G., Gressel, J. (Eds.), 2007. Integrating new technologies for striga control: towards ending the witch-hunt. World Scientific, Singapore ; Hackensack, NJ.
- Ekroth, A.K.E., Rafaluk-Mohr, C., King, K.C., 2019. Diversity and disease: evidence for the monoculture effect beyond agricultural systems (preprint). *Ecology*. <https://doi.org/10.1101/668228>
- El Bilali, H., 2019. Innovation-Sustainability Nexus in Agriculture Transition: Case of Agroecology. *Open Agriculture* 4, 1–16. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0001>
- Elser, J.J., Elser, T.J., Carpenter, S.R., Brock, W.A., 2014. Regime Shift in Fertilizer Commodities Indicates More Turbulence Ahead for Food Security. *PLoS ONE* 9, e93998. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093998>
- FAO, 2021. Profil des systèmes alimentaires - Madagascar. FAO; European Union ; CIRAD; <https://doi.org/10.4060/cb6861fr>
- Finckh, M.R., Gacek, E.S., Goyeau, H., Lannou, C., Merz, U., Mundt, C.C., Munk, L., Nadziak, J., Newton, A.C., de Vallavieille-Pope, C., Wolfe, M.S., 2000. Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie* 20, 813–837. <https://doi.org/10.1051/agro:2000177>
- Finckh, M.R., Mundt, C.C., 1992. Plant competition and disease in genetically diverse wheat populations. *Oecologia* 91, 82–92. <https://doi.org/10.1007/BF00317245>
- Finn, J.A., Kirwan, L., Connolly, J., Sebastià, M.T., Helgadottir, A., Baadshaug, O.H., Bélanger, G., Black, A., Brophy, C., Collins, R.P., Čop, J., Dalmannsdóttir, S., Delgado, I., Elgersma, A., Fothergill, M., Frankow-Lindberg, B.E., Ghesquiere, A., Golinska, B., Golinski, P., Grieu, P., Gustavsson, A.-M., Höglind, M., Huguenin-Elie, O., Jørgensen, M., Kadziulienė, Z., Kurki, P., Llurba, R., Lunnan, T., Porqueddu, C., Suter, M., Thumm, U., Lüscher, A., 2013. Ecosystem function enhanced by combining four functional types of plant species in intensively managed grassland mixtures: a 3-year continental-scale field experiment. *J Appl Ecol* 50, 365–375. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12041>
- Finney, D.M., Kaye, J.P., 2017. Functional diversity in cover crop polycultures increases multifunctionality of an agricultural system. *J Appl Ecol* 54, 509–517. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12765>
- Fort, F., Cruz, P., Jouany, C., 2014. Hierarchy of root functional trait values and plasticity drive early-stage competition for water and phosphorus among grasses. *Functional Ecology* 28, 1030–1040. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12217>
- 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>
- Frison, E.A., Cherfas, J., Hodgkin, T., 2011. Agricultural Biodiversity Is Essential for a Sustainable Improvement in Food and Nutrition Security. *Sustainability* 3, 238–253. <https://doi.org/10.3390/su3010238>
- Frungillo, L., 2023. Growth-defense tradeoff in rice: The role of gibberellic acid catabolism. *The Plant Cell* 35, 3635–3636. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad206>
- Furey, G.N., Tilman, D., 2023. Plant chemical traits define functional and phylogenetic axes of plant biodiversity. *Ecology Letters* 26, 1394–1406. <https://doi.org/10.1111/ele.14262>
- Gaba, S., Lescourret, F., Boudsocq, S., Enjalbert, J., Hinsinger, P., Journet, E.-P., Navas, M.-L., Wery, J., Louarn, G., Malézieux, E., Pelzer, E., Prudent, M., Ozier-Lafontaine, H., 2015. Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services:

- from concepts to design. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 607–623. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0272-z>
- Gallet, R., Bonnot, F., Milazzo, J., Tertois, C., Adreit, H., Ravigné, V., Tharreau, D., Fournier, E., 2014. The variety mixture strategy assessed in a $G \times G$ experiment with rice and the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Front. Genet.* 4. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00312>
- Gamfeldt, L., Hillebrand, H., Jonsson, P.R., 2008. MULTIPLE FUNCTIONS INCREASE THE IMPORTANCE OF BIODIVERSITY FOR OVERALL ECOSYSTEM FUNCTIONING. *Ecology* 89, 1223–1231. <https://doi.org/10.1890/06-2091.1>
- Garruchet, V., Bosc, P.-M., Mialet-Serra, I., 2023. Évolution, chiffres clés et défis. PRÉRAD-OI Observatoire des Agricultures de l’Océan Indien, 89.
- Gaudio, N., Violle, C., Gendreau, X., Fort, F., Mahmoud, R., Pelzer, E., Médiène, S., Hauggaard-Nielsen, H., Bedoussac, L., Bonnet, C., Corre-Hellou, G., Couëdel, A., Hinsinger, P., Steen Jensen, E., Journet, E., Justes, E., Kammoun, B., Litrico, I., Moutier, N., Naudin, C., Casadebaig, P., 2021. Interspecific interactions regulate plant reproductive allometry in cereal–legume intercropping systems. *Journal of Applied Ecology* 58, 2579–2589. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13979>
- Gérardeaux, E., Falconnier, G., Gozé, E., Defrance, D., Kouakou, P.-M., Loison, R., Sultan, B., Affholder, F., Muller, B., 2021. Adapting rainfed rice to climate change: a case study in Senegal. *Agron. Sustain. Dev.* 41, 57. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00710-2>
- Gerardeaux, E., Giner, M., Ramanantsoanirina, A., Dusserre, J., 2012. Positive effects of climate change on rice in Madagascar. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 619–627. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0049-6>
- Gladieux, P., Ravel, S., Rieux, A., Cros-Arteil, S., Adreit, H., Milazzo, J., Thierry, M., Fournier, E., Terauchi, R., Tharreau, D., 2018. Coexistence of Multiple Endemic and Pandemic Lineages of the Rice Blast Pathogen. *mBio* 9, 10.1128/mbio.01806-17. <https://doi.org/10.1128/mbio.01806-17>
- Glaubitz, J.C., Casstevens, T.M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R.J., Sun, Q., Buckler, E.S., 2014. TASSEL-GBS: A High Capacity Genotyping by Sequencing Analysis Pipeline. *PLoS ONE* 9, e90346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090346>
- Götzenberger, L., Bello, F., Bråthen, K., Davison, J., Dubuis, A., Guisan, A., Leps, J., Lindborg, R., Moora, M., Pärtel, M., Pellissier, L., Pottier, J., Vittoz, P., Zobel, K., Zobel, M., 2012. Ecological assembly rules in plant communities—approaches, patterns and prospects. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 87, 111–127. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00187.x>
- Griffiths, M., York, L.M., 2020. Targeting Root Ion Uptake Kinetics to Increase Plant Productivity and Nutrient Use Efficiency. *Plant Physiol.* 182, 1854–1868. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01496>
- Grime, J.P., 2003. Ecological Assembly Rules: Perspective, Advances, and Retreats. *J Veg Sci* 14, 139. [https://doi.org/10.1658/1100-9233\(2003\)014\[0139:BR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1658/1100-9233(2003)014[0139:BR]2.0.CO;2)
- Grime, J.P., 1977. Evidence for the Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. *The American Naturalist* 111, 1169–1194. <https://doi.org/10.1086/283244>
- Grzyb, A., Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A., 2020. Environmental Factors Affecting the Mineralization of Crop Residues. *Agronomy* 10, 1951. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121951>
- Harvey, C.A., Rakotobe, Z.L., Rao, N.S., Dave, R., Razafimahatratra, H., Rabarijohn, R.H., Rajaofara, H., MacKinnon, J.L., 2014. Extreme vulnerability of smallholder farmers to

- agricultural risks and climate change in Madagascar. *Phil. Trans. R. Soc. B* 369, 20130089. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0089>
- Hawes, C., Iannetta, P.P.M., Squire, G.R., 2021. Agroecological practices for whole-system sustainability. *CABI Reviews* 2021, PAVSNNR202116005. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR202116005>
- Hayashi, K., 2006. DEALING WITH MULTIPLE OBJECTIVES IN AGRICULTURE. *Handbook Of Operations Research In Natural Resources* 99, 17–31. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71815-6_2
- He, Q., Bertness, M.D., Altieri, A.H., 2013. Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecology Letters* 16, 695–706. <https://doi.org/10.1111/ele.12080>
- Hector, A., Hautier, Y., Saner, P., Wacker, L., Bagchi, R., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Spehn, E.M., Bazeley-White, E., Weilenmann, M., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Mulder, C.P.H., Palmborg, C., Pereira, J.S., Siamantziouras, A.S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Schmid, B., Loreau, M., 2010. General stabilizing effects of plant diversity on grassland productivity through population asynchrony and overyielding. *Ecology* 91, 2213–2220. <https://doi.org/10.1890/09-1162.1>
- Hector, A., Joshi, J., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Spehn, E.M., Wacker, L., Weilenmann, M., Bazeley-White, E., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Huss-Danell, K., Jumpponen, A., Leadley, P.W., Loreau, M., Mulder, C.P.H., NEEHÖVER, C., Palmborg, C., Read, D.J., Siamantziouras, A.S.D., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., 2007. Biodiversity and ecosystem functioning: reconciling the results of experimental and observational studies. *Funct Ecology* 21, 998–1002. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01308.x>
- Hoeber, S., Arranz, C., Nordh, N.-E., Baum, C., Low, M., Nock, C., Scherer-Lorenzen, M., Weih, M., 2018. Genotype identity has a more important influence than genotype diversity on shoot biomass productivity in willow short-rotation coppices. *GCB Bioenergy* 10, 534–547. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12521>
- Hooper, Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A., 2005. EFFECTS OF BIODIVERSITY ON ECOSYSTEM FUNCTIONING: A CONSENSUS OF CURRENT KNOWLEDGE. *Ecological Monographs* 75, 3–35. <https://doi.org/10.1890/04-0922>
- Hooper, D.U., Dukes, J.S., 2003. Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment: Overyielding among plant functional groups. *Ecology Letters* 7, 95–105. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00555.x>
- Hothorn, T., Bretz, F., Westfall, P., 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models - Hothorn - 2008 - Biometrical Journal - Wiley Online Library [WWW Document]. Wiley online library. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bimj.200810425> (accessed 9.11.23).
- Huang, M., Yang, C., Ji, Q., Jiang, L., Tan, J., Li, Y., 2013. Tillering responses of rice to plant density and nitrogen rate in a subtropical environment of southern China. *Field Crops Research* 149, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.04.029>
- Husson, O., Jean-Christophe, C., Ha Dinh, T., Krishna, N., 2008. Diagnostic agronomique des facteurs limitant le rendement du riz pluvial de montagne dans le nord du Vietnam. *Cahiers Agricultures* 2004, Etude originale 13, 8.
- Inthapanya, P., Sipaseuth, Sihavong, P., Sihathep, V., Chanphengsay, M., Fukai, S., Basnayake, J., 2000. Genotype differences in nutrient uptake and utilisation for grain yield

- production of rainfed lowland rice under fertilised and non-fertilised conditions. *Field Crops Research* 65, 57–68. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00070-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00070-2)
- Isbell, F., 2015. Agroecology: Agroecosystem diversification. *Nature Plants* 1, 15041. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.41>
- Ishizaki, K., Hoshi, T., Abe, S., Sasaki, Y., Kobayashi, K., Kasaneyaama, H., Matsui, T., Azuma, S., 2005. Breeding of Blast Resistant Isogenic Lines in Rice Variety “Koshihikari” and Evaluation of Their Characters. *Breed. Sci.* 55, 371–377. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.55.371>
- Jaillard, B., Deleporte, P., Isbell, F., Loreau, M., Violle, C., 2021. Consistent functional clusters explain the effects of biodiversity on ecosystem productivity in a long-term experiment. *Ecology* 102, e03441. <https://doi.org/10.1002/ecy.3441>
- Jaillard, B., Deleporte, P., Loreau, M., Violle, C., 2018a. A combinatorial analysis using observational data identifies species that govern ecosystem functioning. *PLoS ONE* 13, e0201135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201135>
- Jaillard, B., Richon, C., Deleporte, P., Loreau, M., Violle, C., 2018b. An a posteriori species clustering for quantifying the effects of species interactions on ecosystem functioning. *Methods Ecol Evol* 9, 704–715. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12920>
- Jareen, B., Anwar, M., Yeasmin, S., Islam, A.K.M.M., Rashid, Md.H., Sultana, M., Juraimi, A., 2019. Evaluation of the cultivar mixture strategy as a sustainable tool for managing weeds and enhancing rice yield. *Big Data In Agriculture* 1, 1–9. <https://doi.org/10.26480/bda.02.2019.01.09>
- Jiang, N., Yan, J., Liang, Y., Shi, Y., He, Z., Wu, Y., Zeng, Q., Liu, X., Peng, J., 2020. Resistance Genes and their Interactions with Bacterial Blight/Leaf Streak Pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in Rice (*Oryza sativa* L.)—an Updated Review. *Rice* 13, 3. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0358-y>
- Jucker, T., Coomes, D.A., 2012. Comment on “Plant Species Richness and Ecosystem Multifunctionality in Global Drylands.” *Science* 337, 155–155. <https://doi.org/10.1126/science.1220473>
- Kanaan, M.H.G., 2021. The Negative Effects of Chemical Pesticides and their Consequences on Public Health and the Environment.
- Kiær, L.P., Skovgaard, I.M., Østergård, H., 2012. Effects of inter-varietal diversity, biotic stresses and environmental productivity on grain yield of spring barley variety mixtures. *Euphytica* 185, 123–138. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0640-1>
- 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>
- Koirala, K.H., Hall, M.D.W., Professor, A.K.M., 2014. Impact of Land Ownership on Productivity and Efficiency of Rice Farmers: A Simulated Maximum Likelihood Approach. <https://doi.org/10.13140/2.1.4979.0729>
- Kong, X., Li, L., Peng, P., Zhang, K., Hu, Z., Wang, X., Zhao, G., 2023. Wheat cultivar mixtures increase grain yield under varied climate conditions. *Basic and Applied Ecology* 69, 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2023.03.007>
- Kopp, E.B., Niklaus, P.A., Wuest, S.E., 2023. Ecological principles to guide the development of crop variety mixtures. *Journal of Plant Ecology* rtad017. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtad017>
- L. Larramendy, M., Soloneski, S. (Eds.), 2021. Soil Contamination - Threats and Sustainable Solutions. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.87652>

- Lambers, H., Raven, J., Shaver, G., Smith, S., 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution* 23, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.10.008>
- Larmande, P., 2015. Genotype Investigator for Genome Wide Analysis (GIGwA). Presented at the Plant and Animal Genome XXIII Conference, Plant and Animal Genome.
- Lazzaro, M., Costanzo, A., Bàrberi, P., 2018. Single vs multiple agroecosystem services provided by common wheat cultivar mixtures: Weed suppression, grain yield and quality. *Field Crops Research* 221, 277–297. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.10.006>
- Le Roux, X., Schmid, B., Poly, F., Barnard, R.L., Niklaus, P.A., Guillaumaud, N., Habekost, M., Oelmann, Y., Philippot, L., Salles, J.F., Schlöter, M., Steinbeiss, S., Weigelt, A., 2013. Soil Environmental Conditions and Microbial Build-Up Mediate the Effect of Plant Diversity on Soil Nitrifying and Denitrifying Enzyme Activities in Temperate Grasslands. *PLoS ONE* 8, e61069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061069>
- Lehman, C.L., Tilman, D., 2000. Biodiversity, Stability, and Productivity in Competitive Communities. *The American Naturalist* 156, 19.
- Leung, H., Zhu, Y., Revilla-Molina, I., Fan, J.X., Chen, H., Pangga, I., Cruz, C.V., Mew, T.W., 2003. Using Genetic Diversity to Achieve Sustainable Rice Disease Management. *Plant Disease* 87, 1156–1169. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.10.1156>
- Li, C., Hoffland, E., Kuyper, T.W., Yu, Y., Zhang, C., Li, H., Zhang, F., van der Werf, W., 2020. Syndromes of production in intercropping impact yield gains. *Nat. Plants* 6, 653–660. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0680-9>
- Li, C., Stomph, T.-J., Makowski, D., Li, H., Zhang, C., Zhang, F., Van Der Werf, W., 2023. The productive performance of intercropping. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 120, e2201886120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2201886120>
- Li, L., Li, S.-M., Sun, J.-H., Zhou, L.-L., Bao, X.-G., Zhang, H.-G., Zhang, F.-S., 2007. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 11192–11196. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704591104>
- Lin, B.B., 2011. Resilience in Agriculture through Crop Diversification: Adaptive Management for Environmental Change. *BioScience* 61, 183–193. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.3.4>
- 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>
- Loreau, Hector, A., 2001. Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412, 72–76. <https://doi.org/10.1038/35083573>
- Loreau, M., 1998. Biodiversity and ecosystem functioning: A mechanistic model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 5632–5636. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.10.5632>
- Maestre, F.T., Callaway, R.M., Valladares, F., Lortie, C.J., 2009. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *Journal of Ecology* 97, 199–205. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x>
- Mahaut, L., Fort, F., Violle, C., Freschet, G.T., 2020. Multiple facets of diversity effects on plant productivity: Species richness, functional diversity, species identity and intraspecific competition. *Funct Ecol* 34, 287–298. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13473>
- Mahaut, L., Violle, C., Shihan, A., Péliissier, R., Morel, J., De Tombeur, F., Rahajaharilaza, K., Fabre, D., Luquet, D., Hartley, S., Thorne, S.J., Ballini, E., Fort, F., 2023. Beyond trait distances: Functional distinctiveness captures the outcome of plant competition. *Functional Ecology* 1365-2435.14397. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14397>

- Malézieux, E., 2012. Designing cropping systems from nature. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 15–29. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0027-z>
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., Tourdonnet, S., Valantin-Morison, M., 2009. Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 43–62. <https://doi.org/10.1051/agro:2007057>
- Maron, J.L., Marler, M., Klironomos, J.N., Cleveland, C.C., 2011. Soil fungal pathogens and the relationship between plant diversity and productivity: Soil pathogens, productivity and invasibility. *Ecology Letters* 14, 36–41. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01547.x>
- Marquard, E., Weigelt, A., Roscher, C., Gubsch, M., Lipowsky, A., Schmid, B., 2009. Positive biodiversity-productivity relationship due to increased plant density. *Journal of Ecology* 97, 696–704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01521.x>
- McAlvay, A.C., DiPaola, A., D’Andrea, A.C., Ruelle, M.L., Mosulishvili, M., Halstead, P., Power, A.G., 2022. Cereal species mixtures: an ancient practice with potential for climate resilience. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 42, 100. <https://doi.org/10.1007/s13593-022-00832-1>
- McGuire, S., Sperling, L., 2016. Seed systems smallholder farmers use. *Food Sec.* 8, 179–195. <https://doi.org/10.1007/s12571-015-0528-8>
- McLaughlin, A., Mineau, P., 1995. The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 55, 201–212. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(95\)00609-V](https://doi.org/10.1016/0167-8809(95)00609-V)
- Mead, R., Willey, R.W., 1980. The Concept of a ‘Land Equivalent Ratio’ and Advantages in Yields from Intercropping. *Ex. Agric.* 16, 217–228. <https://doi.org/10.1017/S0014479700010978>
- Mikaberidze, A., McDonald, B.A., Bonhoeffer, S., 2015. Developing smarter host mixtures to control plant disease. *Plant Pathol* 64, 996–1004. <https://doi.org/10.1111/ppa.12321>
- Montazeaud, G., Rousset, F., Fort, F., Violle, C., Fréville, H., Gandon, S., 2020a. Farming plant cooperation in crops. *Proc. R. Soc. B.* 287, 20191290. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1290>
- Montazeaud, G., Violle, C., Fréville, H., Luquet, D., Ahmadi, N., Courtois, B., Bouhaba, I., Fort, F., 2018. Crop mixtures: does niche complementarity hold for belowground resources? An experimental test using rice genotypic pairs. *Plant Soil* 424, 187–202. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3496-2>
- Montazeaud, G., Violle, C., Roumet, P., Rocher, A., Ecartot, M., Compan, F., Maillet, G., Fort, F., Fréville, H., 2020b. Multifaceted functional diversity for multifaceted crop yield: Towards ecological assembly rules for varietal mixtures. *J Appl Ecol* 57, 2285–2295. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13735>
- Mundt, C.C., 2002. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 381–410. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.011402.113723>
- Naeem, S., Duffy, J.E., Zavaleta, E., 2012. The Functions of Biological Diversity in an Age of Extinction. *Science* 336, 1401–1406. <https://doi.org/10.1126/science.1215855>
- OECD-FAO, 2023. OECD-FAO Agricultural Outlook. <https://doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>
- Olofsson, J., 2004. Positive and Negative Plant-Plant Interactions in Two Contrasting Arctic-Alpine Plant Communities. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 36, 464–467. [https://doi.org/10.1657/1523-0430\(2004\)036\[0464:PANPII\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1657/1523-0430(2004)036[0464:PANPII]2.0.CO;2)

- Østergård, H., Finckh, M.R., Fontaine, L., Goldringer, I., Hoad, S.P., Kristensen, K., Lammerts van Bueren, E.T., Mascher, F., Munk, L., Wolfe, M.S., 2009. Time for a shift in crop production: embracing complexity through diversity at all levels: Perspective. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1439–1445. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3615>
- Panda, D., Mishra, S.S., Behera, P.K., 2021. Drought Tolerance in Rice: Focus on Recent Mechanisms and Approaches. *Rice Science* 28, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.01.002>
- Pandey, H., Malik, B., Rao, M., 1978. Wheat Varietal Mixtures.
- Patterson, H.D., Williams, E.R., 1976. A new class of resolvable incomplete block designs. *Incomplete block designs* 10.
- Pélissier, R., Buendia, L., Brousse, A., Temple, C., Ballini, E., Fort, F., Violle, C., Morel, J.-B., 2021a. Plant neighbour-modulated susceptibility to pathogens in intraspecific mixtures. *Journal of Experimental Botany* 72, 6570–6580. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab277>
- Pélissier, R., Ducasse, A., Ballini, E., Frouin, J., Violle, C., Morel, J., 2023. A major genetic locus in neighbours controls changes of gene expression and susceptibility in intraspecific rice mixtures. *New Phytologist* 238, 835–844. <https://doi.org/10.1111/nph.18778>
- Pélissier, R., Violle, C., Morel, J.-B., 2021b. Plant immunity: Good fences make good neighbors? *Current Opinion in Plant Biology* 62, 102045. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102045>
- Pennisi, E., 2019. Do plants favor their kin? *Science* 363, 15–16. <https://doi.org/10.1126/science.363.6422.15>
- Penot E., Tokarski Y., Rakotofiringa A., Bodoy A., Ahmim, Richard A., Dabat M-H., Raharison T., Rakotoharivony A., 2008. Rôle et place du riz pluvial dans les exploitations du Vakinankaratra (Hauts Plateaux et Moyen Ouest). *Conference Paper*
- Postma, J.A., Lynch, J.P., 2012. Complementarity in root architecture for nutrient uptake in ancient maize/bean and maize/bean/squash polycultures. *Annals of Botany* 110, 521–534. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs082>
- Prieto, I., Violle, C., Barre, P., Durand, J.-L., Ghesquiere, M., Litrico, I., 2015. Complementary effects of species and genetic diversity on productivity and stability of sown grasslands. *Nature Plants* 1, 15033. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.33>
- Qi, H., Yang, J., Yin, C., Zhao, J., Ren, X., Jia, S., Zhang, G., 2019. Analysis of *Pyricularia oryzae* and *P. grisea* from Different Hosts Based on Multilocus Phylogeny and Pathogenicity Associated with Host Preference in China. *Phytopathology®* 109, 1433–1440. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-18-0383-R>
- Raboin, L.-M., Ballini, E., Tharreau, D., Ramanantsoanirina, A., Frouin, J., Courtois, B., Ahmadi, N., 2016. Association mapping of resistance to rice blast in upland field conditions. *Rice* 9, 59. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0131-4>
- Raboin, L.-M., Ramanantsoanirina, A., Dzido, J.-L., Frouin, J., Radanielina, T., Tharreau, D., Dusserre, J., Ahmadi, N., 2013. Création variétale pour la riziculture pluviale d'altitude à Madagascar : bilan de 25 années de sélection. *Cahiers Agricultures* 22, 450–458 (1). <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0624>
- Raboin, Ramanantsoanirina, A., Dusserre, J., Razasolofonahary, F., Tharreau, D., Lannou, C., Sester, M., 2012. Two-component cultivar mixtures reduce rice blast epidemics in an upland agrosystem: *Cultivar mixtures and blast in upland rice*. *Plant Pathology* 61, 1103–1111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02602.x>
- Raboin, Ramanantsoanirina, A., Dzido, J.-L., Frouin, J., Radanielina, T., Tharreau, D., Dusserre, J., Ahmadi, N., 2013. Upland rice varieties for the highlands of Madagascar:

- Review of a 25-year-long breeding program. *Cahiers Agricultures* 22, 450–458. <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0624>
- Raboin, Randriambololona, T., Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Ahmadi, N., Dusserre, J., 2014. Upland rice varieties for smallholder farming in the cold conditions in Madagascar's tropical highlands. *Field Crops Research* 169, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2014.09.006>
- Radanielina, T., 2007. Diversité génétique du riz (*Oryza sativa* L.) dans la région de Vakinankaratra, Madagascar. Structuration, distribution éco-géographique gestion in situ 188.
- Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Raboin, L.-M., Ahmadi, N., 2013a. Determinants of rice varietal diversity in the region of Vakinankaratra (Madagascar). *Cahiers Agricultures* 22, 442–449. <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0648>
- Radanielina, T., Ramanantsoanirina, A., Raboin, L.-M., Frouin, J., Perrier, X., Brabant, P., Ahmadi, N., 2013b. The original features of rice (*Oryza sativa* L.) genetic diversity and the importance of within-variety diversity in the highlands of Madagascar build a strong case for in situ conservation. *Genet Resour Crop Evol* 60, 311–323. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9837-3>
- Rahajaharilaza, K., Muller, B., Violle, C., Brocke, K. vom, Ramavovololona, Morel, J.B., Balini, E., Fort, F., 2023. Upland rice varietal mixtures in Madagascar: evaluating the effects of varietal interaction on crop performance. *Frontiers in Plant Science* 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1266704>
- Rakotoson, T., Dusserre, J., Letourmy, P., Frouin, J., Ratsimiala, I.R., Rakotoarisoa, N.V., Brocke, K.V., Ramanantsoanirina, A., Ahmadi, N., Raboin, L.-M., 2021. Genome Wide Association Study of Nitrogen Use Efficiency and Related Agronomic Traits in Upland Rice. *Rice Science* 28, 13.
- Raminoarison, M., 2021. Conception d'assemblages complexes de matières fertilisantes organiques et minérales pour accroître la fertilité des Ferralsols des Hautes Terres de Madagascar 232.
- Raminoarison, M., Razafimbelo, T., Rakotoson, T., Becquer, T., Blanchart, E., Trap, J., 2020. Multiple-nutrient limitation of upland rainfed rice in ferralsols: a greenhouse nutrient-omission trial. *Journal of Plant Nutrition* 43, 270–284. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1676906>
- Ranaivoson, L., Naudin, K., Ripoche, A., Rabeharisoa, L., Corbeels, M., 2019. Effectiveness of conservation agriculture in increasing crop productivity in low-input rainfed rice cropping systems under humid subtropical climate. *Field Crops Research* 239, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.05.002>
- Randriamanantsoa, R., Aberlenc, H.-P., Bakoly Ralisoa, O., Ratnadass, A., Vercambre, B., 2010. Les larves des Scarabaeoidea (Insecta, Coleoptera) en riziculture pluviale des régions de haute et moyenne altitudes du Centre de Madagascar. *Zoosystema* 32, 19–72. <https://doi.org/10.5252/z2010n1a2>
- Raveloson, H., Rafenomanjato, A., Ramanantsoanirina, A., Sester, M., Raboin, L.M., 2017. Gestion de la diversité variétale du riz pluvial pour contrôler la pyriculariose Management of upland rice varietal diversity to control blast 25.
- Razafimbelo, T.M., Albrecht, A., Basile, I., Borschneck, D., Bourgeon, G., Feller, C., Ferrer, H., Michellon, R., Moussa, N., Muller, B., Oliver, R., Razanamparany, C., Seguy, L., 2006. Effet de différents systèmes de culture à couverture végétale sur le stockage du carbone dans un sol argileux des Hautes Terres de Madagascar. *EGS, Agritrop* 13, 113 à 127.

- Reddy, C.S., Laha, G.S., Prasad, M.S., Krishnaveni, D., Castilla, N.P., Nelson, A., Savary, S., 2011. Characterizing multiple linkages between individual diseases, crop health syndromes, germplasm deployment, and rice production situations in India. *Field Crops Research* 120, 241–253. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.10.005>
- Reiss, E.R., Drinkwater, L.E., 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecol Appl* 28, 62–77. <https://doi.org/10.1002/eap.1629>
- Revilla-Molina, I.M., 2009. Genetic diversity for sustainable rice blast management in China: adoption and impact 144.
- Richards, R.A., 2000. Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops. *Journal of Experimental Botany* 51, 447–458. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.suppl_1.447
- Rodenburg, J., Randrianjafizanaka, M.T., Büchi, L., Dieng, I., Andrianaivo, A.P., Ravaomanarivo, L.H.R., Autfray, P., 2020. Mixed outcomes from conservation practices on soils and Striga-affected yields of a low-input, rice–maize system in Madagascar. *Agron. Sustain. Dev.* 40, 8. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-0612-0>
- Sapoukhina, N., Paillard, S., Dedryver, F., Vallavieille-Pope, C., 2013. Quantitative plant resistance in cultivar mixtures: wheat yellow rust as a modeling case study. *New Phytol* 200, 888–897. <https://doi.org/10.1111/nph.12413>
- Sarker, S., Rahman, M., Anwar, M., Hossain, M., 2020. VARIETAL MIXTURE EFFECT ON THE DISEASE INCIDENCE AND SEVERITY OF BACTERIAL BLIGHT IN RICE. *J Bangladesh Agril Univ* 1. <https://doi.org/10.5455/JBAU.76259>
- Savary, S., Willocquet, L., Elazegui, F.A., Castilla, N.P., Teng, P.S., 2000. Rice Pest Constraints in Tropical Asia: Quantification of Yield Losses Due to Rice Pests in a Range of Production Situations. *Plant Disease* 84, 357–369. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.357>
- Schaffrath, U., Scheinpfug, H., Reisener, H.J., 1995. An elicitor from *Pyricularia oryzae* induces resistance responses in rice: isolation, characterization and physiological properties. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 46, 293–307. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1995.1023>
- Searle, 2012. Population Marginal Means in the Linear Model: An Alternative to Least Squares Means: *The American Statistician*: Vol 34, No 4 [WWW Document]. URL <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00031305.1980.10483031> (accessed 9.11.23).
- Sester, M., Raboin, L.-M., Alain, R., Tharreau, D., 2008. Toward an integrated strategy to limit blast disease in upland rice. *Conference Paper. ENDURE International Conference*
- Skamnioti, P., Gurr, S.J., 2009. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease. *Trends in Biotechnology* 27, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.12.002>
- Smithson, J.B., Lenné, J.M., 1996. Varietal mixtures: a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Ann Applied Biology* 128, 127–158. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1996.tb07096.x>
- SNDR, 2020.pdf, n.d.
- Snyder, L.D., Gómez, M.I., Power, A.G., 2020. Crop Varietal Mixtures as a Strategy to Support Insect Pest Control, Yield, Economic, and Nutritional Services. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 60. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00060>
- Strange, R.N., Scott, P.R., 2005. Plant Disease: A Threat to Global Food Security. *Annual Review of Phytopathology* 43, 83–116. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.113004.133839>

- Takeuchi, Y., Ebitani, T., Yamamoto, T., Sato, H., Ohta, H., Hirabayashi, H., Kato, H., Ando, I., Nemoto, H., Imbe, T., Yano, M., 2006. Development of Isogenic Lines of Rice Cultivar Koshihikari with Early and Late Heading by Marker-assisted Selection. *Breeding Science* 56, 405–413. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.56.405>
- Tall, H., Lachaux, M., Diallo, A., Wonni, I., Tékété, C., Verdier, V., Szurek, B., Hutin, M., 2022. Confirmation Report of Bacterial Leaf Streak Disease of Rice Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Senegal. *Plant Disease* 106, 2253. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-21-2481-PDN>
- Temperton, V.M., Hobbs, R.J., Nuttle, T., Halle, S., 2005. Assembly Rules and Restoration Ecology: Bridging the Gap Between Theory and Practice. *Restoration Ecology* 13, 580–581. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2005.00074.x>
- Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M., Siemann, E., 1997. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. *Science* 277, 1300–1302. <https://doi.org/10.1126/science.277.5330.1300>
- Timsina, J., Connor, D.J., 2001. Productivity and management of rice–wheat cropping systems: issues and challenges. *Field Crops Research* 69, 93–132. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(00\)00143-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00143-X)
- Tittonell, P., Giller, K.E., 2013. When yield gaps are poverty traps: The paradigm of ecological intensification in African smallholder agriculture. *Field Crops Research, Crop Yield Gap Analysis – Rationale, Methods and Applications* 143, 76–90. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.10.007>
- Tooker, J.F., Frank, S.D., 2012. Genotypically diverse cultivar mixtures for insect pest management and increased crop yields. *J Appl Ecol* 49, 974–985. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02173.x>
- Tóth, B., Biljon, A., Moloi, M.J., Labuschagne, M., 2019. Effects of different fertilization levels on the concentration of high molecular weight glutenin subunits of two spring, hard red bread wheat cultivars. *Cereal Chem* 96, 1004–1010. <https://doi.org/10.1002/cche.10205>
- van der Plas, F., 2019. Biodiversity and ecosystem functioning in naturally assembled communities. *Biol Rev brv*.12499. <https://doi.org/10.1111/brv.12499>
- van Oort, P.A.J., Zwart, S.J., 2018. Impacts of climate change on rice production in Africa and causes of simulated yield changes. *Glob Change Biol* 24, 1029–1045. <https://doi.org/10.1111/gcb.13967>
- Vernooy, R., 2022. Does crop diversification lead to climate-related resilience? Improving the theory through insights on practice. *Agroecology and Sustainable Food Systems* 46, 877–901. <https://doi.org/10.1080/21683565.2022.2076184>
- Verret, V., Pelzer, E., Bedoussac, L., Jeuffroy, M.-H., 2020. Tracking on-farm innovative practices to support crop mixture design: The case of annual mixtures including a legume crop. *European Journal of Agronomy* 115, 126018. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126018>
- Vidal, T., Saint-Jean, S., Lusley, P., Leconte, M., Ben Krima, S., Boixel, A., Wheatamix Consortium, Vallavieille-Pope, C., 2020. Cultivar mixture effects on disease and yield remain despite diversity in wheat height and earliness. *Plant Pathol* 69, 1148–1160. <https://doi.org/10.1111/ppa.13200>
- Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., 2007. Let the Concept of Trait Be Functional! 12.
- Wang, Isbell, F., Deng, W., Hong, P., Dee, L.E., Thompson, P., Loreau, M., 2021. How complementarity and selection affect the relationship between ecosystem functioning and stability. *Ecology* 102. <https://doi.org/10.1002/ecy.3347>

- Wang, X., 2023. Editorial: Plant growth defense trade-offs: investigating growth-resistance balance. *Frontiers in Plant Science* 14.
- Wang, X., Chen, Y., Zhang, S., 2017. Cultivar mixture improved yield and water use efficiency via optimization of root properties and biomass distribution in maize (*Zea mays* L.). *Emir. J. Food Agric* 1. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-08-1063>
- Wang, Y., Zhang, Y., Ji, W., Yu, P., Wang, B., Li, J., Han, M., Xu, X., Wang, Z., 2016. Cultivar Mixture Cropping Increased Water Use Efficiency in Winter Wheat under Limited Irrigation Conditions. *PLoS ONE* 11, e0158439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158439>
- Weigelt, A., Mommer, L., Andrzejek, K., Iversen, C.M., Bergmann, J., Bruelheide, H., Fan, Y., Freschet, G.T., Guerrero-Ramírez, N.R., Kattge, J., Kuyper, T.W., Laughlin, D.C., Meier, I.C., Plas, F., Poorter, H., Roumet, C., Ruijven, J., Sabatini, F.M., Semchenko, M., Sweeney, C.J., Valverde-Barrantes, O.J., York, L.M., McCormack, M.L., 2021. An integrated framework of plant form and function: the belowground perspective. *New Phytologist* 232, 42–59. <https://doi.org/10.1111/nph.17590>
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 1–20. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7>
- Wolfe, M.S., 2000. Crop strength through diversity. *Nature* 406, 681–682. <https://doi.org/10.1038/35021152>
- Wright, A.J., Wardle, D.A., Callaway, R., Gaxiola, A., 2017. The Overlooked Role of Facilitation in Biodiversity Experiments. *Trends in Ecology & Evolution* 32, 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.02.011>
- 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>
- Yau, S.K., 1997. Efficiency of alpha-lattice designs in international variety yield trials of barley and wheat. *J. Agric. Sci.* 128, 5–9. <https://doi.org/10.1017/S0021859696003966>
- Zhang, Luo, J., Rossman, A.Y., Aoki, T., Chuma, I., Crous, P.W., Dean, R., De Vries, R.P., Donofrio, N., Hyde, K.D., Lebrun, M.-H., Talbot, N.J., Tharreau, D., Tosa, Y., Valent, B., Wang, Z., Xu, J.-R., 2016. Generic names in Magnaporthales. *IMA Fungus* 7, 155–159. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2016.07.01.09>
- Zhang, W., Liu, G., Sun, J., Fornara, D., Zhang, L., Zhang, F., Li, L., 2017. Temporal dynamics of nutrient uptake by neighbouring plant species: evidence from intercropping. *Funct Ecol* 31, 469–479. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12732>
- Zhu, Fang, H., Wang, Y.-Y., Fan, J.X., Yang, S.-S., Mew, T.W., Mundt, C.C., 2005. Panicle Blast and Canopy Moisture in Rice Cultivar Mixtures. *Phytopathology®* 95, 433–438. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0433>
- Zhu, S., Morel, J.-B., 2019. Molecular Mechanisms Underlying Microbial Disease Control in Intercropping. *MPMI* 32, 20–24. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0058-CR>
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, Jinghua, Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, JinXiang, Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S., Wang, Z., Mundt, C.C., 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406, 718–722. <https://doi.org/10.1038/35021046>

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Résultats des enquêtes sur les mélanges variétaux à Madagascar	145
Annexe 2 : Confrontation des résultats au champ avec des tests au laboratoire	149
Annexe 3 : Article scientifique issu des expérimentations au CEFE	152

Annexe 1 : Résultats des enquêtes sur les mélanges variétaux à Madagascar

(effectués en juillet 2021 par Koloina Rahajaharilaza)

Objectifs :

- ➔ Savoir l'existence possible d'adoption de mélanges variétaux à Madagascar, appréciation des avantages ou inconvénients
- ➔ Recueillir les avis des gens sur la possibilité d'application des mélanges variétaux à Madagascar

Listes des personnes interviewées :

- 1) Randrianasolo Ida, responsable de l'organisation paysanne CEFFEL (Conseil Expérimentation Formation en Fruits et Légumes)
- 2) Rasamimanana Andry, ingénieur responsable des centres d'expérimentations CEFFEL
- 3) Ramanantsoanirina Alain, Chef de Centre Régional de Recherche du Moyen Ouest (FOFIFA Antsirabe)
- 4) Ravoliarimanana Lantoniaina, responsable de la fédération des organisations paysannes de la région Vakinankaratra VFTV (vulgarisation et animation rurale)
- 5) Ranoasy Parany, directeur du groupe FIFATA regroupant des associations pour le progrès des paysans (Ceffel, Fekama, Cap Malagasy, Sif et Cecam)
- 6) Andrianimpanana Daniel, coordinateur technique national Agrisud international à Madagascar
- 7) Rakotoarivelo Jean Chrysostome, professeur à l'ESSA université d'Antananarivo spécialisé dans le développement de l'agriculture rural
- 8) Moussa Narcisse, consultant et agronome vulgarisateur du GSDM (Groupement Semis Direct de Madagascar)
- 9) Raharinivo Viviane, Responsable Laboratoire des semences et ressources phytogénétiques FOFIFA
- 10) Quelques agriculteurs des régions Vakinankaratra, Analamanga et Amoron'i Mania

A) Questions sur le riz

1. Mode de culture de riz en général, existence d'adoption de plusieurs variétés en mélanges ou pas, les raisons...
 - ➔ *Il n'y a pas de producteur qui fait des mélanges de variétés dans un même champ et en même temps pour le riz. Par contre, des mélanges existent dans un même champ dû aux mélanges non volontaires dans les semences.*

2. Adoption de plusieurs variétés de riz sur différentes régions, les raisons

- ➔ **Riz irrigué** : X265 est le record cultivée partout à Madagascar (variété traditionnelle résistante), X2799 cultivée au Sud-ouest pour son rendement,
- ➔ **Riz pluvial** : Chhomrhong Dhan (Hauts plateaux), Nerica (Moyen Ouest), B22 (Vakinankaratra et Amoron'i Mania)

3. Associations de riz (pluvial) avec d'autres cultures

- ➔ *Le riz irrigué n'est jamais mélangé avec d'autres cultures puisque les plantes sont immergées dans l'eau durant la totalité du cycle d'où l'impossibilité de cultiver d'autres cultures et ce n'est pas du tout dans la culture malgache. En période sèche, des cultures de contre saison peuvent être cultivés dans les rizières (oignon, pomme de terre, cultures maraichères, tomate,)*

➔ **Association riz pluvial-maïs :**

- Localisation : dans 12 régions de Madagascar : Vakinankaratra, Amoron'i Mania, Haute matsiatra, Ihorombe, Vatovavy Fitovinany, Itasy, Alaotra mangoro, Sofia, Menabe, Analamanga, Bongolava).
- Cette association se fait soit en culture intercalaire soit deux ou trois rangés de maïs tous les 3 m entre riz (la distance varie de 2 m à 10 m et même plus).
- Objectif : pour brise-vent et aussi les producteurs trouvent que les cultures de riz en intercalaire se comportent mieux par rapport culture seule.
- Avantage : production diversifiée, protection de culture (surtout contre vent), les cultures se comportent mieux
- Inconvénients : possible seulement que pour une surface limitée

➔ **Association riz pluvial-manioc :**

- Localisation : au nord de Madagascar, régions Diana et Sava
- Les maniocs se trouvent aux alentours des parcelles et auprès des allées comme des bordures extra et intra parcellaires.
- Objectifs : avoir des cultures diversifiés et pour valoriser l'espace
- Avantage : augmenter la rentrée d'argent par parcelle et certains parlent d'une amélioration de la structure du sol par le manioc
- Inconvénient : le temps de récolte est un peu éloigné

B) Questions sur d'autres cultures (maïs, arachide, légumineuses, pomme de terre, oignon, tomate, autres cultures maraichères ...)

4. Existence d'associations de différentes variétés d'une même culture ou espèce sur un champ donné

→ *Comme le cas de riz, des mélanges existent dans un même champ dû aux mélanges non volontaires dans les semences. Ce cas est très fréquent pour les cultures maraichères. Mais de manière volontaire, les paysans évitent plutôt les mélanges de différentes variétés pour avoir des bons récoltes (propres) qui auront des valeurs élevés dans le marché surtout pour le cas des pommes de terre.*

5. Adoption de différentes variétés d'une même culture dans différentes parcelles

→ *Pomme de terre : Variétés fifamanor : maneva, meva, diamondra, et des variétés locales : bandy akama surtout. Les variétés sont cultivées durant une même période sur différentes parcelles surtout en saison de pluie.*

- *Dans 7 régions de Madagascar (Vakinankaratra, Amoron'i Mania, Haute Matsiatra, Ihorombe, Itasy, Alaotra mangoro, Analamanga)*
- *Raisons d'adoption : variété fifamanor pour vente (responsable les hommes) et bandy akama pour consommation (surtout ce sont les femmes qui sont responsable) si culture en même période*

→ *Haricot : Haricot blanc (consommation et vente) et haricot rouge pour consommation.*

Dans 12 régions de Madagascar

→ *Oignon : Jaune et rouge (spécifiques à Betafo), variété nommée « F1 », variétés Galmi (spécifiques à Mampikony région Sofia). Cultivés en contre saison ou en saison de pluie.*

→ *Diverses variétés sont aussi utilisées pour les autres cultures tels que : le carotte, la tomate, le chou et la laitue. Les diverses variétés sont cultivées en même temps pour avoir divers produits pour la vente et avoir certaine variétés qui tolèrent aux froids lorsqu'elles sont cultivées en contre saison (hors saison de pluie)*

6. Les associations de cultures de ces différents types de cultures

→ **Maïs-légumineuse (soja, haricot ou autres).** Les paysans ont mentionné que les parcelles sont plus productives lorsqu'ils adoptent ces associations de cultures. Ceci est presque adopté partout à Madagascar

→ **Maïs-culture maraichères (carotte, oignon, tomate et pomme de terre).** Appliquées surtout aux Hautes Terres (Vakinankaratra, Itasy, Amoron'i Mania, Haute Matsiatra, Ihorombe, Alaotra). Elles sont pratiquées pour avoir plus de revenu et plus de productivité dans les parcelles.

→ **Légume feuilles (salade, chou, brèdes) avec des liliacées (oignons, ails, poireau).** Adoptées surtout pour la réduction des pressions des insectes sur les légumes feuilles puisque les liliacées sont des plantes répulsives. (4 régions : Vakinankaratra, Amoron'i Mania, Haute Matsiatra et Itasy)

- ➔ **Légumes (carottes, chou, etc) avec des légumineuses (haricot).** Pour augmenter la production et surtout pour avoir plus de diversité dans la parcelle et pour la consommation.

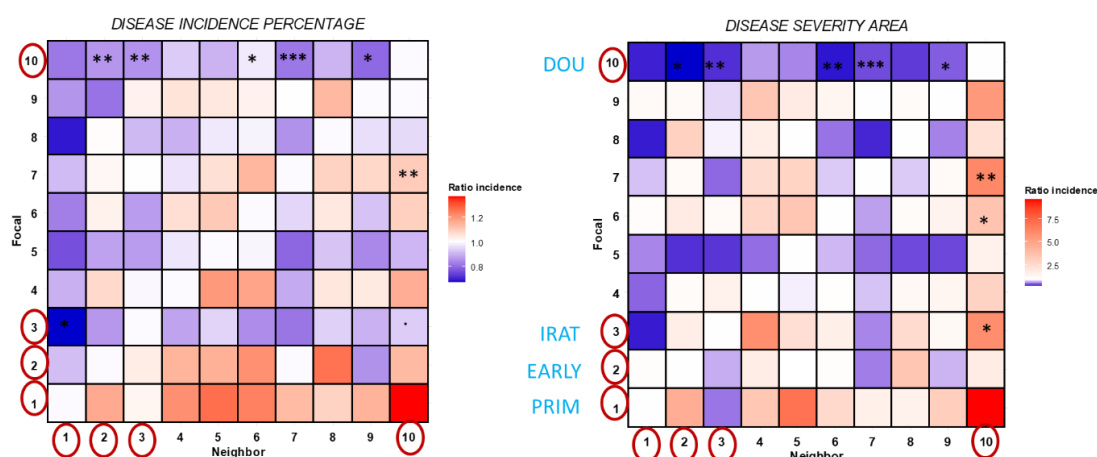
C) Motivation à appliquer les mélanges variétaux

Après une brève explication des possibilités d'application des mélanges variétaux, les bienfaits pouvant être recueillis sont proposés selon les résultats bibliographiques. Les avis et motivations des enquêtés ont été recueillis.

7. Possibilité de faire des mélanges variétaux de riz (ou d'autres cultures) à Madagascar ? (avant/après sensibilisation sur les intérêts potentiels des mélanges variétaux)
 - *Ce serait possible surtout pour les exploitations qui ont des petites surfaces et dont la majorité de leur production est destinée à l'autoconsommation.*
 - *Problèmes/contraintes = période de récolte et traitement post récolte*
8. Seriez-vous prêt à faire/promouvoir cette pratique ? Oui ou non pourquoi ?
 - *A l'unanimité les enquêtés ont répondu par OUI sous réserve de bien résoudre les contraintes engagées par cette pratique notamment récolte et traitement post récolte ;*
9. Mes modalités préférées ou à mettre en avant
 - *50% ont choisi des mélanges par lignes pour faciliter les autres pratiques*
 - *30% par des petits carrés à l'intérieur des parcelles pour faciliter les récoltes*
 - *20% pas d'idées*
10. Que faire pour accompagner, favoriser, promouvoir ce type de pratique ?
 - *Une fois la technique mise au point tout en prenant compte les différentes étapes dans la chaîne de valeur, la meilleure méthode pour favoriser et promouvoir une pratique c'est l'échange entre paysan-paysan : choisir un paysan relais/modèle/... démontrer au niveau de ce paysan la pratique avec plusieurs échanges avec leurs pairs...évaluer la pratique avec eux pour qu'elle se diffuse de façon tache d'huile.*

Annexe 2 : Confrontation des résultats au champ avec des tests au laboratoire

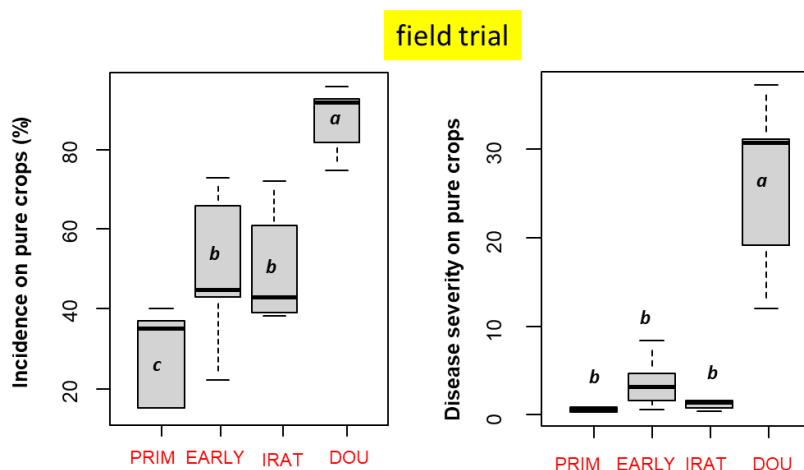
Les résultats sur les maladies pyriculariose (*Pyricularia oryzae*) durant la première expérimentation (Chapitre 1) ont suscité des questions sur des possibilités d'existence d'interaction entre les plantes NMS (Neighbour Modulation Susceptibility) entre certaines variétés. Nous avons ainsi sélectionné des variétés candidates (Primavera, Irat 380, Early Mutatn IAC 365 et Dourado Précocé). Ces questions sont issues après l'observation de l'IPMAP sur les sensibilités des variétés selon sa variété voisine



V1= PRIMAVERA, V2= EARLY MUTANT, V3= IRAT 380 et V10: DOURADO PRECOCE

Nous avons comparé les résultats obtenus sur terrains avec des résultats issus des essais sous serre sous inoculation du pathogène *Pyricularia oryzae*.

- Sensibilité basale des 4 variétés en pure au champ

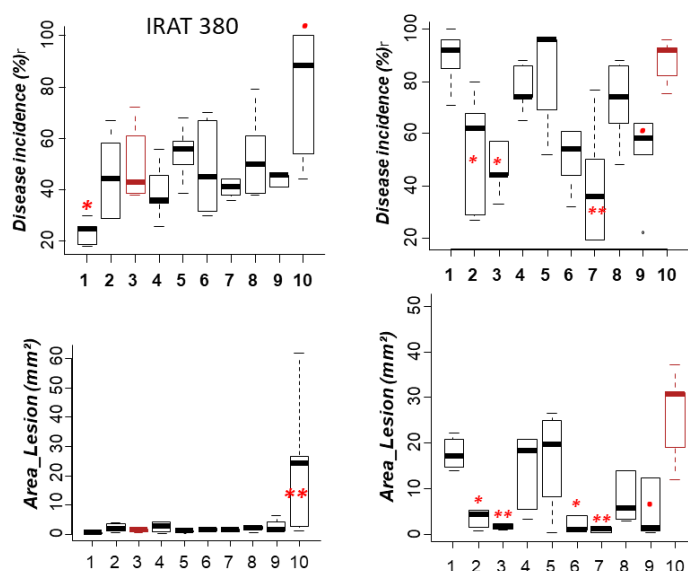


- Primavera est la variété la plus résistante, elle est non significative avec les voisins sur l'incidence ainsi que sur la sévérité
- Early Mutant IAC 165 a une sensibilité moyenne, elle est aussi non significative avec les voisins sur l'incidence ainsi que sur la sévérité

- IRAT 380 a une sensibilité moyenne. Elle est significative avec Primavera en incidence ainsi qu'avec Dourado Précocé en sévérité
- Dourado Précocé est très sensible au champ mais l'est moins en mélange. Elle présente l'effet attendu de l'effet de dilution.

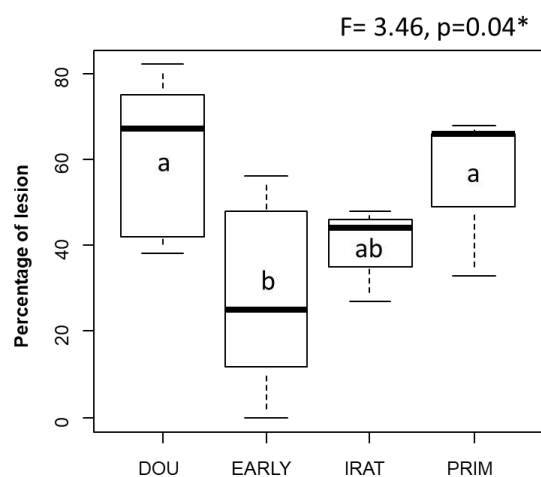
➤ Sensibilité basale des variétés IRAT 380 et Dourado précoce avec les voisins au champ

field trial



➤ Sensibilité basale des 4 variétés en pure sous serre (au labo)

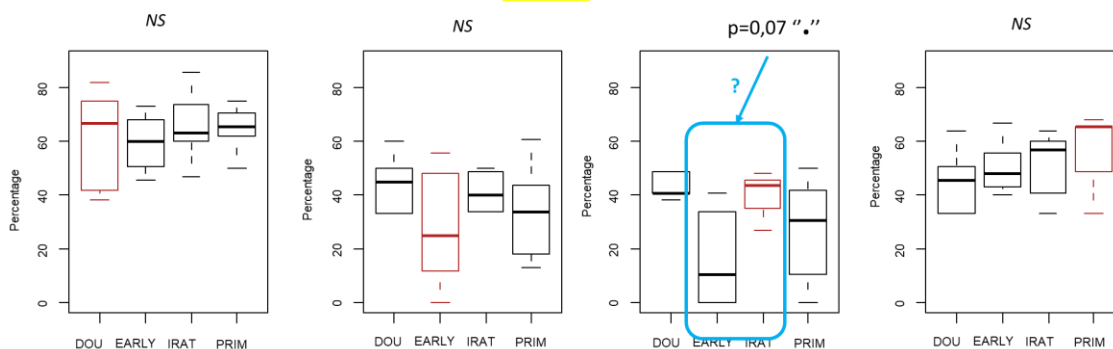
Lab trial



Les résultats ne sont pas les mêmes. Plusieurs explications possibles : conditions, diversité des souches au champ, et surtout on n'arrivait pas à multiplier la souche de *Pyricularia oryzae* identique à celle à Madagascar.

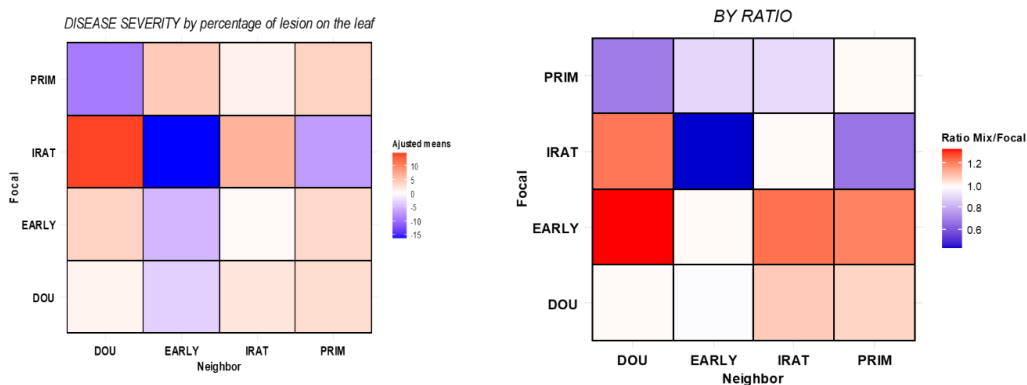
➤ Sensibilité basale des 4 variétés en fonction des voisins sous serre (au labo)

Lab trial

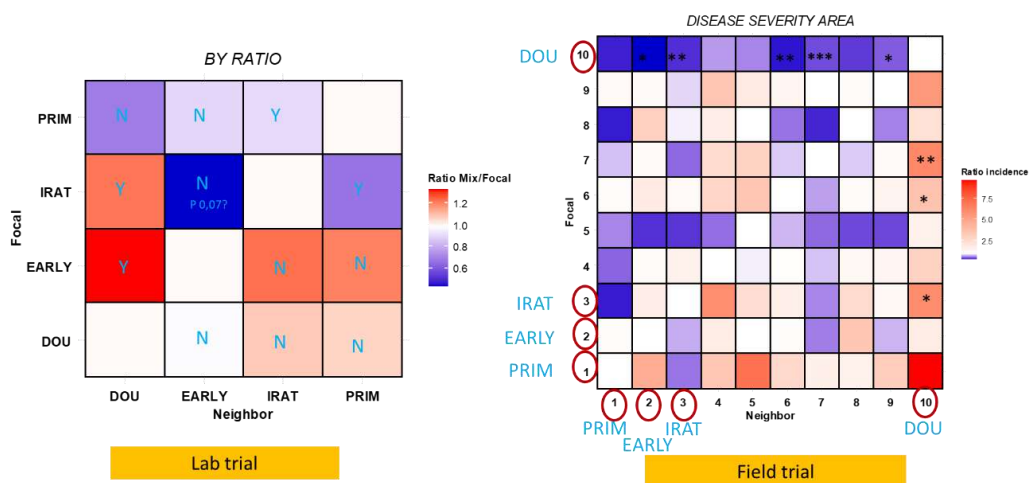


- Aucune focale n'est génériquement réceptive au voisinage, notamment DOU
=> Un effet NMS n'est sans doute pas causal de ce qui est observé au champ
- Pas de NMS détectée sauf « . » qui concerne l'association IRAT/EARLY

Les IPMAP obtenus après traitements des images sont :



En confrontant les résultats, on note que



On ne confirme pas les tendances (8No vs 3Yes; N et Y indiqués dans la matrice labo) entre labo et champ

Annexe 3 : Article scientifique issu des expérimentations au CEFÉ

Deux articles scientifiques ont été publiés dans le cadre des activités entreprises pendant la thèse durant les séjours à Montpellier. Il s'agit des essais sous conditions semi-contrôlés avec des mélanges binaires de 49 variétés et des essais où on a caractérisé ces variétés en monocultures afin d'expliquer les différences de traits en mélange. Le premier article est publié dans Functional Ecology, visible dans leur site : <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1365-2435.14397> et le second dans Journal of Experimental Botany, visible dans le site : <https://academic.oup.com/jxb/article/74/10/3094/7058230>. Les pages suivantes illustrent les premières pages de ces articles.

RESEARCH ARTICLE

Functional Ecology



Beyond trait distances: Functional distinctiveness captures the outcome of plant competition.

Lucie Mahaut^{1,2} | Cyrille Violle¹ | Ammar Shihan¹ | Rémi Pélissier³ |
Jean-Benoit Morel⁴ | Félix de Tombeur^{1,5} | Koloina Rahajaharilaza^{6,7} | Denis
Fabre^{7,8} | Delphine Luquet^{7,8} | Susan Hartley⁹ | Sarah J. Thorne⁹ | Elsa
Ballini³ | Florian Fort¹⁰

¹CEFE, CNRS, EPHE, IRD, University of Montpellier, Montpellier, France; ²FRB—CESAB, Montpellier, France; ³PHIM, Institut Agro, INRAE, CIRAD, University of Montpellier, Montpellier, France; ⁴PHIM, INRAE, CIRAD, Institut Agro, University of Montpellier, Montpellier, France; ⁵School of Biological Sciences and Institute of Agriculture, The University of Western Australia, Perth, Western Australia, Australia; ⁶Faculty of Sciences, University of Antananarivo 101, Montpellier, Madagascar; ⁷CIRAD, UMR AGAP Institut, Montpellier, France; ⁸UMR AGAP Institut, CIRAD, INRAE, Institut Agro, University of Montpellier, Montpellier, France; ⁹School of Biosciences, University of Sheffield, Sheffield, UK and ¹⁰CEFE, L'Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, University of Montpellier, Montpellier, France

Correspondence

Lucie Mahaut

Email: lucie.mahaut1@gmail.com

Funding information

Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité ; Office Français de la Biodiversité ; Université de Montpellier ; Electricité de France ; European Union's Horizon 2020 research and innovation program, Grant/Award Number : 101021641

Handling Editor : Kechang Niu

Abstract

1. Functional trait distances between coexisting organisms reflect not only complementarity in the way they use resources, but also differences in their competitive abilities. Accordingly, absolute and relative trait distances have been widely used to capture the effects of niche dissimilarity and competitive hierarchies, respectively, on the performance of plants in competition. However, multiple dimensions of the plant phenotype are involved in these plant–plant interactions (PPI), challenging the use of relative trait distances to predict their outcomes. Furthermore, estimating the effects of competitive hierarchy on the performance of a group of coexisting plants remains particularly difficult since relative trait distances relate to the effects of a focal plant on another.
2. We argue that trait distinctiveness, an emerging facet of functional diversity that characterizes the eccentric position of a species (or genotype) in a phenotypic space, can reveal the unique role played by a given individual plant in a group of competing plants. We used the model crop species *Oryza sativa* spp. *japonica* to evaluate the ability of trait distances and trait distinctiveness to predict the outcome of intraspecific PPI on the performance of single genotype and genotype mixtures. We performed a screening experiment to characterize the phenotypic space of 49 rice genotypes based on 11 above-ground and root traits. We selected nine genotypes with contrasting positions in the phenotypic space and grew them in pots following a complete pairwise interaction design.
3. Relative distances and distinctiveness based on traits associated with light competition were by far the best predictors of the performance of single genotypes—taller.



Journal of Experimental Botany, Vol. 74, No. 10 pp. 3094–3103, 2023

<https://doi.org/10.1093/jxb/erad071> Advance Access Publication 25 February 2023

This paper is available online free of all access charges (see <https://academic.oup.com/jxb/pages/openaccess> for further details)

RESEARCH PAPER

Growth–defence trade-off in rice: fast-growing and acquisitive genotypes have lower expression of genes involved in immunity.

Felix de Tombeur^{1,2,†,*}, Rémi Pélissier^{3,†}, Ammar Shihan¹, Koloina Rahajaharilaza^{4,5}, Florian Fort⁶, Lucie Mahaut¹, Taïna Lemoine¹, Sarah J. Thorne⁷, Sue E. Hartley⁷, Delphine Luquet^{4,5,8}, Denis Fabre^{5,8}, Hans Lambers², Jean-Benoît Morel³, Elsa Ballini³ and Cyrille Violle¹

¹ CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

² School of Biological Sciences and Institute of Agriculture, The University of Western Australia, Perth, Australia

³ PHIM Plant Health Institute, Univ Montpellier, Institut Agro, INRAE, CIRAD, Montpellier, France

⁴ Faculty of Sciences, DS Life and Environmental Sciences, University of Antananarivo 101, Antananarivo, Madagascar

⁵ CIRAD, UMR AGAP Institut, F-34398 Montpellier, France

⁶ CEFE, Univ Montpellier, Institut Agro, CNRS, EPHE, IRD, Univ Valéry, Montpellier, France

⁷ School of Biosciences, University of Sheffield, Sheffield, UK

⁸ UMR AGAP Institut, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Institut Agro, Montpellier, France

[†] These authors contributed equally to this work.

* Correspondence: felix.detombeur@cefe.cnrs.fr

Received 22 November 2022; Editorial decision 21 February 2023; Accepted 23 February 2023 Editor:

Ros Gleadow, Monash University, Australia

Abstract

Plant ecologists and molecular biologists have long considered the hypothesis of a trade-off between plant growth and defence separately. In particular, how genes thought to control the growth–defence trade-off at the molecular level relate to trait-based frameworks in functional ecology, such as the slow–fast plant economics spectrum, is unknown. We grew 49 phenotypically diverse rice genotypes in pots under optimal conditions and measured growth-related functional traits and the constitutive expression of 11 genes involved in plant defence. We also quantified the concentration of silicon (Si) in leaves to estimate silica-based defences. Rice genotypes were aligned along a slow–fast continuum, with slow-growing, late-flowering genotypes versus fast-growing, early-flowering genotypes. Leaf dry matter content and leaf Si concentrations were not aligned with this axis and negatively correlated with each other. Live-fast genotypes exhibited greater expression of *OsNPR1*, a regulator of the salicylic acid pathway that promotes plant defence while suppressing plant growth. These genotypes also exhibited greater expression of *SPL7* and *GH3.2*, which are also involved in both stress resistance and growth. Our results do not support the hypothesis of a growth–defence trade-off when leaf Si and leaf dry matter content are considered, but they do when hormonal pathway genes are considered. We demonstrate the benefits of combining ecological and molecular approaches to elucidate the growth–defence trade-off, opening new avenues for plant breeding and crop science.

Keywords: Defence gene, growth–defence trade-off, intraspecific variation, plant defence, plant economics spectrum, plant functional trait, plant immunity, rice (*Oryza sativa*), silica, silicon.

© The Author(s) 2023. Published by Oxford University Press on behalf of the Society for Experimental Biology.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

In this thesis, we explored rice cultivation intricacies, with a particular focus on the unique challenges faced by farmers in Madagascar. Divided into three interconnected parts, the study aims to elucidate the ecological and agronomic dynamics that underscore the multifaceted role of rice in the context of human livelihoods and food security. The first part of the thesis is grounded in ecological theory, which posits that increasing genetic diversity has the potential to promote multiple agronomic performances simultaneously. This becomes particularly relevant in traditional low-input farming systems, where the impact of climate change on yields is exacerbated by increased pest and pathogen pressures. The specific objective here is to investigate the potential of varietal mixtures cultivating different genotypes within a field to enhance multiple agronomic outcomes. This includes a critical examination of the composition of the most promising mixtures, recognizing the challenges in identifying optimal combinations. Building upon this theoretical foundation, the second part of the thesis unfolds through on-farm experiments conducted in Madagascar. The focus is on assessing the potential of genotype mixtures of tropical upland rice to concurrently improve crop yield and resistance to pathogens. Ten varieties, grown both as pure stands and pairwise combinations, are subjected to traditional low input growing conditions. The results reveal an average gain of 14% in grain yield and 4% in biomass yield for varietal mixtures compared to pure stands. Furthermore, the incidence and severity of blast disease are significantly reduced in genotypic mixtures, affirming their potential to promote either agronomic yield or pathogen resistance. However, the study also underscores the complexity of identifying specific combinations that can simultaneously enhance both outcomes, challenging conventional wisdom in the search for assembly rules of crop mixtures. The third part broadens the scope to rainfed upland rice farming in the Vakinankaratra region of Madagascar, where the crop holds pivotal importance. Here, varietal mixtures are proposed as a solution to challenges such as poor soil fertility and susceptibility to diseases like pyricularia. The study aims to evaluate the ecological and agronomic benefits of varietal mixtures, considering two approaches: the intentional selection of diverse traits and the combination of varieties with similar traits. A three-year trial with four upland rice varieties elucidates the dynamics of varietal interactions, revealing nuanced outcomes and emphasizing the need for context-specific approaches to optimize yield. The thesis provides a holistic understanding of the intricate interplay between ecological principles, agronomic practices, and the socio-economic context in the realm of rice cultivation. The findings underscore the potential of varietal mixtures to enhance both agronomic performance and disease resistance, offering valuable insights for sustainable rice cultivation practices in the face of evolving environmental and socio-economic conditions.

Keywords: varietal mixtures, agronomic performance, ecological dynamics, upland rice, *Pyricularia oryzae*, sustainable agriculture, climate change.

RESUME

Cette thèse se focalise sur l'étude des cultures de riz pluvial à Madagascar. L'objectif général est de caractériser et expliquer autant que possible l'intérêt des mélanges variétaux pour améliorer les performances agronomiques globales et les comportements en relation aux contraintes biotiques, cas du riz pluvial. La question principale est : Comment évaluer et expliquer les performances des mélanges variétaux de riz pluvial en conditions réelles ? Dans cette recherche, notre étude se concentre sur le paysage complexe de la culture du riz, mettant l'accent sur le contexte agricole exigeant de Madagascar. L'étude se déroule en trois parties interconnectées, chacune contribuant à une compréhension holistique des dynamiques écologiques et agronomiques inhérentes à la riziculture. La première partie s'appuie sur la théorie écologique, avançant que l'augmentation de la diversité génétique au sein des cultures de riz a le potentiel d'améliorer simultanément diverses performances agronomiques. Cette perspective revêt une importance particulière dans les systèmes agricoles traditionnels à faible apport, où le changement climatique menace les rendements à la fois par des impacts directs et des pressions accrues de ravageurs et de pathogènes. L'objectif est d'évaluer la viabilité des mélanges variétaux, c'est-à-dire la combinaison de différents génotypes dans un champ, pour réaliser ces avantages multiples. L'identification des mélanges optimaux représente un défi décisif, marquant l'objectif fondamental de cette première partie. La deuxième partie transpose la théorie en pratique à travers une expérience sur le terrain réalisée dans les conditions difficiles de Madagascar. Quatre variétés de riz, cultivées en tant que cultures pures et en toutes les combinaisons deux à deux, sont soumises à des conditions de culture traditionnelles à faible apport. L'accent est mis sur l'évaluation du potentiel des mélanges pour améliorer simultanément le rendement des cultures et la résistance aux pathogènes, en particulier à la maladie pyriculariose causée par le pathogène *Pyricularia oryzae*. L'étude utilise des approches a priori pour identifier les combinaisons variétales les plus efficaces. Les résultats révèlent un gain notable de 14% du rendement en grain et une augmentation de 4% du rendement en biomasse grâce aux mélanges variétaux. De plus, l'incidence et la sévérité de la maladie pyriculariose sont réduites de 21% et 48%, respectivement. Cependant, la complexité émerge car différentes combinaisons de génotypes excellent dans la promotion soit du rendement agronomique, soit de la résistance aux pathogènes, remettant en question l'hypothèse selon laquelle un seul mélange peut optimiser les deux résultats. La troisième et dernière partie élargit la perspective à la culture du riz pluvial dans la région de Vakinankaratra à Madagascar. La proposition des mélanges variétaux comme solution aux défis tels que la pauvreté en éléments nutritifs du sol et la vulnérabilité aux maladies constitue le contexte. Un essai sur trois ans impliquant quatre variétés rustiques de riz de pluvial a été utilisé pour évaluer diverses combinaisons, de mélanges variétaux. Bien que le rendement global en grain ne diffère pas significativement entre les types d'associations, l'étude révèle des dynamiques nuancées dans le comportement des variétés individuelles au sein des mélanges. En conclusion, cette thèse souligne les avantages écologiques et agronomiques des mélanges variétaux dans le contexte de la riziculture. Des fondements théoriques à l'expérimentation sur le terrain et à un essai sur le terrain approfondi, l'étude démontre non seulement les gains potentiels en rendement et en résistance aux maladies, mais met également en lumière l'interaction complexe des différentes variétés de riz au sein des mélanges. Ces conclusions offrent des aperçus précieux pour des pratiques de riziculture durables et résilientes, en particulier face à l'évolution des conditions environnementales et socio-économiques.

Mots-clés : mélanges variétaux, performances agronomiques, dynamique écologique, riz pluvial, *Pyricularia oryzae*, agriculture durable, changement climatique.