

Université de Montréal

**La culture intercalaire de *Brassica oleracea* avec *Trifolium repens* et le maintien de la communauté de champignons mycorhiziens arbusculaires en agroécosystème**

*Par*

Merlin Caron

Institut de recherche en biologie végétale

Département de sciences biologiques, Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de M. Sc. en Sciences biologiques

Juillet 2023

© Merlin Caron, 2023

Université de Montréal

Unité académique : Département de sciences biologiques, Faculté des arts et des sciences

---

*Ce mémoire intitulé*

**La culture intercalaire de *Brassica oleracea* avec *Trifolium repens* et le maintien de la communauté de champignons mycorhiziens arbusculaires en agroécosystème**

*Présenté par*

**Merlin Caron**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Mohamed Hijri**

Président-rapporteur

**Pierre-Luc Chagnon**

Directeur

**Jacynthe Masse**

Codirectrice

**Jean-Pascal Matteau**

Évaluateur externe

## Résumé

La gestion efficace des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) est largement considérée comme une stratégie prometteuse pour le développement de l'agriculture durable et de conservation. Or, la culture conventionnelle de Brassicaceae non-mycorhiziennes, un groupe qui comprend plusieurs cultures d'une grande importance économique en Amérique du Nord, telles que le chou régulier (*Brassica oleracea* var. *capitata*) et le brocoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), peut réduire la densité des CMA dans les agroécosystèmes.

Dans le but de réduire l'impact négatif des cultures de brocoli et de chou sur l'abondance des CMA au champ, nous proposons de cultiver ces plants en compagnonnage persistant avec du trèfle blanc (*Trifolium repens* L.), une plante dépendant largement des CMA. Nous avons testé l'impact de la culture intercalaire de *B. oleracea*, sur (1) la colonisation des racines de Brassicaceae par les CMA et le rendement de ces cultures, et (2) la vitesse et l'intensité de colonisation d'une culture subséquente associée aux CMA, le maïs sucré, et son rendement.

Dans cette étude, nous avons observé que les CMA pouvaient coloniser et former des vésicules dans les racines de cultures de *B. oleracea*, même lorsque cultivées sans culture mycorhizienne d'entre-rang, probablement via d'autres sources de carbone. Néanmoins, plus de brocolis étaient colonisés lorsqu'ils étaient cultivés dans les parcelles avec trèfle, mais ils étaient colonisés à une plus basse intensité. Comme escompté, l'adoption d'une culture de couverture intercalaire de trèfle persistant à travers les deux rotations a réduit le délai de colonisation de la culture de maïs et en a augmenté le rendement.

**Mots-clés :** Champignons mycorhiziens arbusculaires, colonisation racinaire, rendements, *Brassica oleracea*, *Zea mays* L., culture intercalaire, plantes non-mycorhiziennes, agriculture durable

## Abstract

Efficient management of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) holds much potential in conservation and sustainable agriculture. Growing non-mycorrhizal Brassicaceae crops, including crops of great economic importance in North America such as regular cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and broccoli (*B. oleracea* var. *italica*), has been associated with reduced AMF density in agroecosystem.

In the hope of reducing the negative impact of broccoli and cabbage culture on AMF abundance in fields, we cultivated these crops alongside mycorrhizal white clover (*Trifolium repens* L.) in a persistent intercropping system. We tested the impact of *B. oleracea* intercropping on (1) AMF root colonization levels and crop yield, and on (2) the AMF colonization speed and level, as well as the yield of a following mycorrhiza-dependent crop rotation, sweet maize (*Zea mays* L.)

In this study, we found that AMF could colonize and produce vesicles in *B. oleracea* crop roots, even when grown without a mycorrhizal intercrop, probably through other carbon sources. Intercropping with clover still led to more broccolis being colonized by AMF, but at a lower intensity than in sole crop plots. As expected, use of a persistent clover intercrop reduced colonization delay and increased yield of the subsequent maize rotation.

**Keywords** : Arbuscular mycorrhizal fungi, root colonization, yield, *Brassica oleracea*, *Zea mays* L., intercropping, non-mycorrhizal plants, sustainable agriculture.

# Table des matières

Résumé .....	1
Abstract .....	2
Table des matières .....	3
Liste des tableaux .....	5
Liste des figures.....	6
Liste des sigles et abréviations .....	8
Remerciements .....	9
Chapitre 1 – Introduction générale.....	10
1.1 – Contexte de l’expérience .....	10
1.2 – Les champignons mycorhiziens arbusculaires en agroécosystèmes .....	11
1.2.1 – Définition et caractéristiques générales.....	11
1.2.2 – Rôles en agroécosystèmes .....	12
1.2.3 – Stratégies de conservation .....	14
1.3 – La culture maraîchère de <i>Brassica oleracea</i> .....	17
1.3.1 – Importance économique et caractéristiques de la culture.....	17
1.3.2 – Les plantes non-mycorhiziennes .....	18
1.3.3 – Interactions des <i>Brassica</i> avec les champignons mycorhiziens arbusculaires .....	19
1.4 – La culture intercalaire.....	21
1.4.1 – Le compagnonnage et ses applications .....	21
1.4.2 – L’effet de la culture intercalaire sur les CMA et les plantes non-mycorhiziennes ....	23
1.4.3 – La conservation des CMA au bénéfice des plantes mycorhiziennes.....	24
1.5 – Objectifs et hypothèses de l’étude.....	26
1.5.1 – Objectifs .....	26

1.5.2 - Hypothèses .....	27
1.6 - Organisation du mémoire .....	27
Chapitre 2 – Intercropping <i>Brassica oleracea</i> with persistent white clover leads to earlier AMF root colonization and higher yields in a subsequent maize rotation .....	28
2.1 – Abstract .....	29
2.2 – Introduction .....	29
2.3 – Materials and methods.....	31
2.4 – Results .....	37
2.5 – Discussion .....	43
2.6 – Conclusion.....	46
2.7 – Supplementary materials .....	47
Chapitre 3 – Discussion générale .....	59
3.1 – Retour sur les objectifs et les hypothèses de l'étude .....	59
3.1.1 – Le profil de colonisation et les rendements de cultures de brocoli et de chou en association avec une culture mycorhizienne .....	59
3.1.2 – La cinétique de colonisation et les rendements d'une culture de maïs en association avec une culture mycorhizienne persistante, suite à une rotation non-mycorhizienne de <i>Brassica oleracea</i> .....	61
3.2 – Perspectives et conclusion.....	63
Références bibliographiques .....	66

## Liste des tableaux

Table S1. Initial physico-chemical properties of L'Acadie experimental farm's soil, as measured in autumn 2021.....	47
Table S2. Statistical models for effects of applied treatments on A) proportion of broccoli colonized by AMF, B) <i>Brassica</i> crops AMF colonization intensity, C) <i>Brassica</i> crops yields, D) Maize root colonization level by hyphae, E) Maize root colonization level by arbuscules, F) Maize overall yield.....	48

## Liste des figures

Figure 1. AMF structures, dark septate endophytes and other endophytes as observed in broccoli (A, C) and cabbage (B, D) root tissues. Labels: AMF arbuscule (A), hyphae (H) and vesicle (V), dark septate endophyte (DSE), other endophytes (OE). .....	35
Figure 2. Proportion of sampled broccoli and cabbage crops which were colonized (>0% root length) by AMF at each sampling time (Bro D36: broccoli, 36 days post-transplant; Bro D64: broccoli, 64 days post-transplant; Cab D81: cabbage, 81 days post-transplant), for each treatment combination. ....	38
Figure 3. Mean percent (%) root length colonization of colonized broccoli and cabbage by AMF hyphae and vesicle at different times (Bro D36: broccoli, 36 days post-transplant; Bro D64: broccoli, 64 days post-transplant; Cab D81: cabbage, 81 days post-transplant), for each treatment combination. Uninfected samples (0 % colonization) were not included. Error bars define standard error on the mean. ....	39
Figure 4. Mean total yield (g / m <sup>2</sup> ) of broccoli and cabbage heads per plot, for each treatment combination. Error bars define standard error on the mean. ....	40
Figure 5. Mean percent (%) root length colonization of maize by AMF arbuscules, hyphae and vesicles from June 20th to July 18th (days 14 to 42 post-sow), for plots in which a clover intercrop was present and absent, in which either broccoli (A) or cabbage (B) were previously grown. The smooth was estimated through a generalized additive model. Error bars define standard error on the mean. ....	41
Figure 6. Mean total yield (g / m <sup>2</sup> ) of sellable and unsellable maize crops combined, for plots in which a clover intercrop was present and those in which it was absent. Error bars define standard error on the mean. ....	42
Figure S1. Field- (A) and plot-wide (B) overview of the experimental design for the 2021 <i>Brassica</i> rotation. * Broccoli crops were spaced 0.20 m apart, while cabbage crops were 0.40 m apart. ....	53
Figure S2. Overall AMF colonization levels and AMF arbuscule colonization levels of broccoli at mid-growth (Bro D36), harvest (Bro D64) and cabbage at mid-growth (Cab 81), regardless of the applied treatments. ....	54



Figure S3. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), dark septate endophyte (DSE) and other endophyte root colonization levels (%) of broccoli at mid-growth (Bro D36), harvest (Bro D64) and cabbage at mid-growth (Cab 81), for each treatment combination. ....54

Figure S4. Mean sellability percentage (%) of maize ears per plot, separated by the presence or absence of intercrop and previous crop type. Error bars define standard error on the mean. ....55

Figure S5. Mean total yield (g / m<sup>2</sup>) per plot of sellable (a) and unsellable (b) maize crops, for plots in which a clover intercrop was present and those in which it was absent. Error bars define standard error on the mean.....55

Figure S6. In-row soil nitrate (a) and plot soil orthophosphate (b) levels (ppm) of depending on the crop type, presence or absence of intercrop, and fertilizer dose (half as red bars and full as blue bars), as measured via digestion (Maynard et al., 2007) and Mehlich-III methods (Mehlich, 1984) respectively. Fertilizer application times and doses are represented by the dotted lines and with red (full dose) and blue text (half dose), respectively. ....56

## **Liste des sigles et abréviations**

CMA / AMF : Champignons mycorhiziens arbusculaires / Arbuscular mycorrhizal fungi

AAC / AAFC : Agriculture et agroalimentaire Canada /Agriculture and Agri-Food Canada

CRAAQ : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec

## Remerciements

La réalisation de ce mémoire de maîtrise n'aurait pas été possible sans la contribution de plusieurs acteurs. Je tiens à remercier mon directeur Pierre-Luc Chagnon et ma codirectrice Jacynthe Masse pour leur soutien constant et tout au long de ce projet de maîtrise.

Je tiens à également remercier les chercheur.es Franck Stefani (AAC), Joan Laur (IRBV) et Geneviève Lajoie (IRBV) pour leur contribution et leurs conseils.

J'exprime ici un remerciement spécial à mes collègues de l'Institut de Recherche en Biologie Végétale, Hiba Benmohamed, Rolando Trejo-Pérez, Mattis Pelletier, Valérie Moreau, Audrey Morency, Noah Boodhoo, ainsi que les professionnel.le.s de recherche d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, Guillaume Trépanier, Sarah-Maude Parent, Carl Bélec, Lobna Abdellatif, Claudia Banchini, Anaëlle Bohbot et tous les employé.es de la ferme expérimentale de L'Acadie, qui ont tous contribué de près ou de loin à ce projet.

Finalement, merci à mes proches et à mes amis, qui m'ont supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

# Chapitre 1 – Introduction générale

## 1.1 – Contexte de l'expérience

L'industrie agricole mondiale fait face à de nombreux défis. Les rendements nécessaires à l'alimentation de la population sont de plus en plus difficiles à atteindre dans un contexte où la surface de terre cultivable diminue, la population augmente et les changements climatiques affectent les rendements (Maja & Ayano, 2021; Ortiz et al., 2021). L'intensification agricole observée durant les dernières décennies, caractérisée par une faible diversité de cultures et une forte dépendance en intrants externes (fertilisants et pesticides) accélère la dégradation des sols agricoles, ce qui précarise davantage de la sécurité alimentaire future (Bracken, 2019; Panwar et al., 2008; Yang et al., 2020). De plus, la perte par lessivage de fertilisants coûteux massivement épandus en agriculture intensive mène à des enjeux environnementaux et à des coûts supplémentaires pour arriver à maintenir les rendements (Y. Wang et al., 2019; Agriculture and Agri-Food Canada, 2020). Ainsi, il est important de développer des pratiques d'agriculture de conservation permettant de limiter l'utilisation de fertilisants tout en gardant des rendements comparables à ceux obtenus par les méthodes conventionnelles (Solaiman et al., 2015).

Parce qu'ils offrent de nombreux services écosystémiques (e.g. mobilisation du phosphore, contribution au maintien des agrégats) les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) sont considérés comme un pilier de l'agriculture durable (Roy-Bolduc & Hijri, 2010; Smith & Read, 2008; Thirkell et al., 2017). Malgré les avantages de l'association symbiotique avec des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA), près de 30% des plantes, dont les Brassicaceae (ici, *Brassica oleracea*), ne forment que peu ou pas de symbioses mycorhiziennes (Cosme et al., 2018) et peuvent diminuer la densité et le potentiel colonisateur des CMA dans les sols agricoles (Gavito & Miller, 1998a; Harinikumar & Bagyaraj, 1988). Cela peut nuire aux cultures dépendantes des CMA subséquentement cultivées dans le même sol (Arihara & Karasawa, 2000; Douds & Millner, 1999). Une solution à ce problème pourrait être d'utiliser des cultures intercalaires mycorhizées (ici, *Trifolium repens* L.) en compagnonnage avec des Brassicaceae pour maintenir une population de CMA actifs dans le sol par le soutien du réseau mycorhizien commun, même pendant une saison de culture de Brassicaceae.

Il est cependant nécessaire d'évaluer l'effet d'une telle pratique sur les rendements de la culture principale, en plus de son impact sur la colonisation et productivité d'une culture mycotrophe (ici, *Zea mays* L.) à la rotation subséquente. En effet, la persistance au champ de la communauté de CMA durant la culture de *Brassica*, potentiellement facilitée par le trèfle en entre-rang, pourrait accélérer ou à tout le moins réduire la latence de colonisation d'une culture dépendante à la mycorhization comme le maïs, à la rotation suivante, résultant en une meilleure nutrition. L'évaluation pluridimensionnelle du potentiel réel d'une telle pratique sera discutée dans ce document, en commençant par une revue de littérature résumant les connaissances actuelles concernant les CMA en agroécosystèmes, leurs implications dans la culture de crucifères et la culture de maïs sucré, ainsi que le potentiel d'emploi d'une culture intercalaire mycotrophe pour la conservation des sols et du réseau mycorhizien.

## 1.2 – Les champignons mycorhiziens arbusculaires en agroécosystèmes

### 1.2.1 – Définition et caractéristiques générales

Les champignons mycorhiziens arbusculaires, ou CMA, établissent une symbiose obligatoire avec plus de 70% des plantes vasculaires terrestres connues (Brundrett & Tedersoo, 2018). Leur association avec la plupart végétaux daterait d'il y a environ 450 millions d'années, soit au moment de l'apparition des premières plantes vasculaires terrestres (Antoine et al., 2021). La majorité des CMA font partie du sous-embranchement des *Glomeromycotina* alors que d'autres, aussi nommés *fine root endophytes*, sont plutôt classifiés dans le sous-embranchement des *Mucoromycotina*; tous forment une symbiose avec les plantes de manière similaire (Albornoz et al., 2021; Orchard, Hilton, et al., 2017; Orchard, Standish, et al., 2017). La distinction entre ces deux groupes de CMA ne sera donc pas faite dans ce document.

Les CMA, de par leurs réseaux mycéliens, pénètrent généralement dans les racines fines de leur hôte via un hyphopode (ou appressorium), après quoi leurs hyphes généralement non septées régulièrement colonisent le cortex racinaire et y forment généralement des vésicules, structures de stockage de lipides, de noyaux, et d'arbuscules, structures d'échange de nutriments en forme d'arbuste composé de fins hyphes s'invaginant dans les cellules (Smith & Read, 2008). À

l'extérieur de la racine, les CMA développent plus ou moins leur mycélium extra-racinaire et produisent des spores. La symbiose CMA-plante est basée sur l'échange, à l'interface des arbuscules et de la paroi cellulaire, de C prenant la forme de sucres et de lipides provenant de la photosynthèse du partenaire végétal, contre de l'eau et des nutriments du sol peu disponibles aux plantes (e.g. phosphates) fournis par le partenaire fongique à l'interface de (majoritairement) l'arbuscule et de la membrane plasmique, soit dans l'apoplasme (Rich et al., 2017; Smith & Read, 2008). Les fonctions symbiotiques des CMA seraient également facilitées par le microbiome retrouvé dans leur mycorrhizosphère et hyphosphère, où l'on retrouve des bactéries ayant notamment la capacité de solubiliser le P du sol (Barea et al., 2005; G. Wang et al., 2023). Les plantes mycorhizées par un même CMA dans un environnement donné forment ce que l'on appelle un réseau mycorhizien commun. Un même réseau mycélien peut être à l'origine de la colonisation de multiples plants mycorhiziens de mêmes ou différentes espèces, puisque l'association CMA-plante est peu spécifique (Sanders, 2003; Smith & Read, 2008).

### 1.2.2 – Rôles en agroécosystèmes

Des efforts importants ont été déployés dans les dernières décennies afin d'exploiter économiquement cette symbiose mycorhizienne (Koide & Mosse, 2004), en gérant mieux les populations de CMA en place (Chagnon et al., 2022) ou en inoculant les champs agricoles avec des propagules mycorhizienne de provenance commerciale (Hijri, 2016). L'apport principal des CMA à la croissance des plantes est leur capacité à faciliter l'acquisition de nutriments du sol pour leur hôte (Smith & Smith, 2011). Cette fonction est accomplie via le relâchement de composés solubilisant des nutriments et l'absorption directe de nutriments logés dans des micropores inaccessibles aux racines de plantes, mais accessibles aux hyphes beaucoup plus fins (i.e., 1-10  $\mu\text{m}$ ) des CMA (Smith & Smith, 2011; Solaiman et al., 2015). Le mycélium extra-racinaire des CMA agit ainsi comme une extension des racines, augmentant grandement la surface d'exploitation des nutriments du sol (Kakouridis et al., 2022). Ceci est particulièrement important pour le phosphore, qui est peu mobile dans le sol, et qui ne peut donc pas rejoindre les racines par diffusion de masse (Smith & Read, 2008; Smith & Smith, 2011; Tinker & Nye, 2000). Cette fonction peut être parfois directement liée aux rendements, particulièrement lorsque les plants sont cultivés avec peu d'intrants, ou pourrait réduire la quantité d'intrants nécessaire à la bonne

nutrition des plants (Higo et al., 2018; Hijri, 2016; Ortas et al., 2019; Smith & Read, 2008). Similairement, les CMA pourraient fournir d'autres sources de nutriments essentiels à leur partenaire végétal, comme le Zn et le Cu, qui sont aussi peu mobiles dans le sol, ainsi que le N sous forme de nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) ou d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), aussi importants à la croissance des cultures (Smith & Read, 2008). La capacité des CMA d'obtenir ces nutriments comme monnaie d'échange pour les plantes leur donne un rôle très important comme organismes symbiotiques pour plusieurs cultures mycorhiziennes. Quoique cela ne se traduise pas toujours en une augmentation du rendement, surtout dans un système agricole où sont appliqués des fertilisants chimiques, favoriser la densité des populations de CMA dans le sol pourrait réduire la demande en intrants (M. H. Miller et al., 1995; Solaiman et al., 2015). Les CMA seraient aussi en mesure d'améliorer l'accès aux plantes à l'eau emprisonnée dans les micropores du sol (où elle est fortement retenue par tension superficielle) et de favoriser la capacité de rétention d'eau du sol, deux facteurs qui peuvent atténuer le stress hydrique des plantes hôtes quand les précipitations se font rares (Augé, 2004; Begum et al., 2019; Smith & Read, 2008). Les CMA peuvent aussi améliorer la réponse des plantes à d'autres stress abiotiques non nutritionnels, comme les contaminants traces, les températures extrêmes et la salinité (Begum et al., 2019; Miransari, 2011; Porcel et al., 2012; Smith & Read, 2008). Les CMA peuvent également protéger la plante contre plusieurs organismes phytopathogènes, notamment en stimulant la réponse de défense systémique de l'hôte, et via la compétition pour l'espace dans les racines et/ou le sol (Hooker et al., 1994; Pozo & Azcón-Aguilar, 2007; Jung et al., 2012). Certaines études montrent aussi que la mycorhization d'une plante peut réduire sa susceptibilité à la consommation par des insectes herbivores généralistes, particulièrement les insectes broyeurs, susceptibles d'amplifier la réponse de défense reliée à l'acide jasmonique (Jung et al., 2012; Koricheva et al., 2009). De plus, les plants reliés par un même réseau mycorhizien peuvent échanger divers signaux et nutriments. Par exemple, la réponse de défense systémique (i.e. le taux d'acide jasmonique) d'un plant sain peut être stimulée par l'infection/le stress d'un plant adjacent relié par le réseau mycorhizien (Song et al., 2010, 2019). Plusieurs auteurs ont noté le rôle du réseau mycorhizien commun, quoique d'une importance encore largement inconnue, dans l'allocation de ressources d'un système, comme par le transfert de nutriments (N, P, C et autres) de racines mortes vers des racines saines ainsi qu'entre des plants sains reliés par un réseau mycorhizien commun (He et al., 2003; Simard & Durall, 2004; Smith & Read, 2008). Les CMA sont également reconnus pour leur contribution à la bonne structure du sol.

En plus de soutenir physiquement le sol par leur mycélium extra-racinaire, qui agit comme liant entre les particules, la paroi cellulaire des CMA contient de la glomaline (Driver et al., 2005), une glycoprotéine favorisant la stabilité des agrégats (R. M. Miller & Jastrow, 1992, 2000). De ce fait, leur présence dans le sol contribuerait à la préservation de la macroporosité des sols agricoles (R. M. Miller & Jastrow, 1992).

En bref, les différents bénéfices aux plantes et au sol qu'apportent les CMA font de ceux-ci d'importants alliés à la culture d'espèces végétales mycorhiziennes, particulièrement dans des systèmes d'agriculture durable. En agroécosystème à intrants réduits, des auteurs ont corrélé la diversité de la communauté de CMA et/ou la colonisation des racines d'une plante mycorhizienne avec une meilleure acquisition de nutriments (Hooker & Black, 1995; Solaiman et al., 2015), la réduction de stress biotiques et abiotiques des plantes (Hooker & Black, 1995; Solaiman et al., 2015), une hausse de la qualité visible et nutritive des récoltes (Hart et al., 2015; Noceto et al., 2021) et une meilleure conservation du sol à long terme (Hooker & Black, 1995; R. M. Miller & Jastrow, 1992). Si bien valorisés, les CMA semblent donc détenir un potentiel économique et environnemental en agriculture durable via l'amélioration et la stabilité de la performance et de la qualité des plants, ainsi que leur contribution à la bonne structure des sols et autres services écosystémiques (Bethlenfalvay, 1992; Rillig et al., 2019; Solaiman et al., 2015).

### 1.2.3 – Stratégies de conservation

Le potentiel des CMA en agriculture a créé un engouement pour la production et l'application d'inocula mycorhiziens exogènes. Cependant, ces inocula ne comprennent généralement qu'une seule espèce (*Rhizophagus irregularis*), ou quelques espèces de CMA connus comme étant généralistes et cosmopolites (Basiru et al., 2020; Davison et al., 2021; Salomon et al., 2022). Quoique l'inoculation de CMA exogènes au champ ait été trouvée bénéficiaire à la productivité des cultures dans plusieurs cas (Cely et al., 2016; Hijri, 2016), d'autres n'ont pas rapporté de hausse de productivité suite à l'inoculation (Salomon et al., 2022). Certains ont émis l'hypothèse que différentes cultures avec des besoins spécifiques (dépendamment des traits de la culture et du type de sol où elle pousse) pourraient davantage bénéficier de communautés mycorhiziennes (1) diversifiées et (2) indigènes (Douds et al., 2005). De plus, il n'y a aucune garantie que l'inoculum appliqué pourra compétitionner contre les CMA indigènes et s'établir de façon permanente (Abbott et al., 1983; Antoine et al., 2021). Il est aussi ardu de prédire la persistance à long terme



dans le sol des champignons d'inoculum dans le contexte d'un système d'agriculture conventionnelle (Antoine et al., 2021; Bethlenfalvay, 1992), malgré l'apparente dominance des CMA rudéraux, comme ceux retrouvés dans beaucoup d'inocula populaires, dans les champs agricoles fréquemment perturbés (Chagnon et al., 2022; Jansa et al., 2002). À ce jour, les résultats d'études portant sur la viabilité économique de l'utilisation des inocula commerciaux sur le marché montrent une efficacité assez inconsistante des bioinoculants, tel que noté par plusieurs auteurs (Faye et al., 2013; Igiehon & Babalola, 2017; Salomon et al., 2022). L'introduction dans les écosystèmes de CMA produits commercialement suscite également des préoccupations vis-à-vis leur impact potentiel sur les communautés de CMA indigènes (Hart et al., 2017). L'application de bioinoculants fongiques au sol a le potentiel d'affecter la diversité microbienne du sol et de perturber la communauté de CMA indigènes, déjà bien adaptés à l'écosystème local (Hart et al., 2017). Certaines pratiques agricoles peuvent favoriser la résilience des communautés locales de CMA, plus génétiquement et fonctionnellement diverses qu'un inoculum commercial (Chagnon et al., 2022; Salomon et al., 2022). Les efforts et ressources des producteurs agricoles sont donc peut-être mieux investis dans la promotion de pratiques agricoles favorisant la santé du sol et de sa communauté microbienne au long terme, que dans l'achat de biostimulants mycorhiziens (Boddington & Dodd, 2000).

Malgré l'omniprésence des CMA dans les sols, différentes pratiques contribuent à déterminer l'abondance de ceux-ci et l'abondance relative de différentes espèces de CMA en champ agricoles. L'utilisation abondante de fertilisants chimiques, notamment comme source externe de P, est reconnue pour réduire dans certains cas la richesse spécifique et la diversité de la communauté ou des spores de CMA (Mathimaran et al., 2007; R. Zhang et al., 2020; Sheng et al., 2013; S. Zhang et al., 2021), la production de spores des CMA (Douds & Millner, 1999; Douds & Schenck, 1990 b) ainsi que la fréquence de colonisation des plants (Douds & Schenck, 1990 b; Ryan et al., 1994). Cependant, des études ont relié l'épandage de fertilisants avec une hausse de sporulation des CMA (Qin et al., 2015; S. Zhang et al., 2021). Des auteurs ont aussi observé que l'utilisation de fertilisants chimiques pouvait sélectionner pour des espèces de CMA typiquement moins mutualistes, ce qui peut avoir un impact négatif sur la croissance de l'hôte (Johnson, 1993; Peng et al., 1993; Douds & Millner, 1999). Un travail du sol complet, en contraste avec le travail du sol réduit, en bandes ou absent, peut diminuer l'inoculum de champignons mycorhiziens (Galvez et al., 1995; Sheng et al., 2013), la mycorhization des racines (Bethlenfalvay, 1992; O'Halloran et

al., 1986) et endommager le mycélium extra-racinaire par la perturbation du sol (Galvez et al., 1995; McGonigle & Miller, 1996), ce qui réduit l'efficacité de l'acquisition de nutriments (Bethlenfalvay, 1992; Douds & Millner, 1999; Evans & Miller, 1990). Pour ce qui est de l'utilisation de pesticides, leur effet semble largement dépendre du type précis de pesticide employé et de son contexte; on ne peut donc pas généraliser leur impact sur la communauté de CMA des agroécosystèmes (Trappe et al., 1984; Johnson & Pflieger, 1992). Ceci dit, l'utilisation du glyphosate, herbicide le plus vendu et épandu au Canada en 2019 (Santé Canada, 2021), peut diminuer indirectement la biomasse de spores et d'hyphes de CMA dans le sol ainsi que la mycorhization des plants (Helander et al., 2018; Zaller et al., 2014).

Toujours en est-il que le facteur le plus déterminant pour la structure de la communauté de CMA est l'identité et l'abondance des hôtes végétaux, dû à la nature obligatoire de la symbiose pour le partenaire fongique (Smith & Read, 2008). Laisser le sol à nu, sans y laisser une couverture de plantes hôtes pendant un certain temps, peut réduire le nombre de propagules de CMA au champ et la colonisation de la prochaine culture (Bethlenfalvay, 1992; Johnson & Pflieger, 1992). La semence d'un couvert végétal lorsque le champ est inutilisé, particulièrement en hiver dans les climats plus froids, peut donc bénéficier à l'infectivité, l'abondance et la diversité de l'inoculum de CMA à la saison de croissance subséquente (Dodd & Jeffries, 1986; Johnson & Pflieger, 1992; Galvez et al., 1995). De plus, certains avancent que la monoculture soutenue (Johnson et al., 1992; Boddington & Dodd, 2000) et le choix de l'hôte végétal (Kiers & van der Heijden, 2006) peuvent potentiellement sélectionner pour des CMA moins mutualistes, d'où l'importance de l'identité de l'hôte disponible. Bien que les CMA soient considérés comme symbiotes généralistes depuis longtemps, ceux-ci démontrent tout de même une certaine préférence de l'hôte, ce qui sélectionne pour l'établissement de certaines espèces fongiques plus que d'autres (Ellouze et al., 2012; Sanders, 2003; Smith & Read, 2008). Il a aussi été démontré que des systèmes de culture incluant une espèce non-mycorhizienne pouvaient réduire à long terme la colonisation des autres plants et l'inoculum de CMA, puisque les espèces non-mycorhiziennes ne dépendent pas des CMA pour l'acquisition de leurs nutriments (Bethlenfalvay, 1992; Fontenla et al., 1999; R. M. Miller & Jastrow, 1992).

## 1.3 – La culture maraîchère de *Brassica oleracea*

### 1.3.1 – Importance économique et caractéristiques de la culture

Les cultures de *Brassica oleracea*, une Brassicaceae provenant d'Europe, sont toutes des variétés dérivées de la sélection de différentes parties de ce chou sauvage domestiqué (i.g. feuilles externes pour le kale, feuilles de la tête pour le chou blanc, têtes florales pour le brocoli et les choux-fleurs) à partir du Moyen-Âge (Mabry et al., 2021; Petruzzello, 2023). On compte aujourd'hui plus de 14 variétés cultivées à travers le monde provenant de cette espèce, pour une production globale en tonnes métriques (t) estimée à 25.8 M pour les brocolis et choux-fleurs et à 71.7 M pour les différents choux, en 2021 (FAO, 2023). Cette importance économique est reflétée au Canada, où les productions commercialisées estimées de choux réguliers frais (*B. oleracea* var. *capitata*) et de brocolis (*B. oleracea* var. *italica*) s'élevaient à 139 314 t. et 40 013 t. respectivement, en 2021 (Statistique Canada, 2023). Cela correspond, en 2021, à une valeur à la ferme de 74,15M\$ CDN pour le chou et de 84,68M\$ CDN pour le brocoli (Statistique Canada, 2023).

Les besoins nutritionnels des brocolis et des choux sont assez élevés par rapport à d'autres cultures maraîchères ; lors de leur culture, on recommande typiquement un apport externe important de fertilisants, particulièrement ceux de nature azotée (Agriculture and Agri-Food Canada, 2005; CRAAQ, 2013; Loughton, 2013; Respondek & Zvalo, 2008; Zvalo & Respondek, 2007). Ces cultures sont vulnérables à plusieurs insectes ravageurs (e.g. *Trichoplusia ni*, *Delia radicum.*, etc.) et microorganismes phytopathogènes (e.g. *Pseudomonas marginalis*, *Fusarium oxysporum*, etc), causant des pertes économiques importantes (Agriculture and Agri-Food Canada, 2005; Loughton, 2013). On recommande donc une rotation aux 2-5 ans au minimum pour éviter les dommages causés par ces ennemis naturels (Agriculture and Agri-Food Canada, 2005).

Une autre caractéristique majeure de *B. oleracea* est son phénotype non-mycorhizien arbusculaire, dû à son inhabilité à établir une symbiose fonctionnelle nutritionnellement bénéfique avec les CMA (Cosme et al., 2018; Sharma et al., 2023).

### 1.3.2 – Les plantes non-mycorhiziennes

L'impact de la symbiose mycorhizienne sur la performance de la culture dépendra, entre autres, de la fertilité du sol (Johnson et al., 1997; Peng et al., 1993; Smith et al., 2003), de la rapidité de la colonisation (Gavito & Miller, 1998b; Grant et al., 2001), de l'identité du champignon et de la plante. Certaines cultures (e.g., blé commun) dépendent faiblement des CMA (Plenchette et al., 1983; Tawarayama, 2003), et certaines plantes sont même strictement non-mycorhizées ou très faiblement mycorhizées (Cosme et al., 2018). C'est le cas des plantes opportunistes adventices dans les milieux riches, comme les Brassicaceae, et les Chenopodiaceae, ou des plantes ayant évolué des stratégies alternatives pour acquérir le P en sols fortement météorisés, comme par exemple, les Proteaceae et les Velloziaceae (Lambers et al., 2015; Lambers & Teste, 2013; Teodoro et al., 2019). Pour ces plantes non mycotrophes, bien que l'on puisse parfois observer des structures de CMA (i.e. hyphes et vésicules) dans leurs racines (Cosme et al., 2018), il est très rare d'y observer des structures d'échange nutritionnel, comme les arbuscules, et plusieurs questionnent donc la nature nutritionnelle de cette association symbiotique (Cosme et al., 2018; Fernández et al., 2019).

La colonisation des cellules corticales des plantes mycorhiziennes se déroule ainsi : (1) germination ou élongation des hyphes du CMA près des racines, (2) échange de facteurs présymbiotiques diffus produits par la plante (strigolactones et autres) et le CMA (myc et autres) induisant des changements transcriptionnels chez l'un et l'autre afin de faciliter l'infection, (3) contact entre les futurs partenaires, en réponse à quoi le CMA forme un appressorium ou hyphopode, structure de pénétration, et traverse l'épiderme, (4) colonisation intercellulaire du cortex de l'hôte facilitée par la plante, (5) formation de structures de stockage (vésicules) et de structures d'échange (arbuscules) dans des invaginations de cellules végétales (Bonfante & Requena, 2011; Giovannetti & Sbrana, 1998; Lambais, 2006; Parniske, 2008). Dans le cas d'une symbiose infructueuse (i.e. avec une plante non-mycorhizienne), plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'évitement de la colonisation des racines et de l'établissement d'une symbiose fonctionnelle. Autre que par l'absence de gènes nécessaires à l'échange de nutriments, certaines de ces stratégies incluent la production de facteurs antagonistes inhibant la germination des spores et l'élongation des hyphes, l'absence ou la réduction de gènes et de signaux permettant l'entrée et la formation de structures symbiotiques, ainsi que la stimulation d'une défense systémique efficace (Vierheilig et al., 1995; Giovannetti & Sbrana, 1998; Fontenla et al., 1999; Fernández et al., 2019).

Des auteurs ont suggéré que la présence d'hyphes et de vésicules dans les racines de plantes non-mycorhiziennes pourrait être due à la colonisation de tissus morts, dépourvus de ces mécanismes de défense (Allen et al., 1989; Hirrel et al., 1978; Veiga et al., 2013). La colonisation suivie de la formation de vésicules dans les tissus de plantes non-mycorhiziennes, sans bénéfice nutritionnel, peut tout de même bénéficier aux CMA déjà associés à un ou des partenaires mycorhiziens, en servant de sites de stockage de propagules dormantes pour lesquelles des racines mortes pourraient constituer de bons substrats (Veiga et al., 2013).

### 1.3.3 – Interactions des *Brassica* avec les champignons mycorhiziens arbusculaires

La famille des Brassicaceae, qui comporte le brocoli et le chou, cultures ciblées dans notre projet, comporte une majorité d'espèces considérées comme non-mycorhiziennes (Cosme et al., 2018). Alors que certains auteurs ont noté l'absence de CMA dans des Brassicaceae (Hirrel et al., 1978), plusieurs autres ont recensé la colonisation par des hyphes et vésicules (Demars & Boerner, 1996; Harley & Harley, 1987) et parfois même la présence d'arbuscules (Cera et al., 2021; Orłowska et al., 2002), lorsqu'à proximité de plants mycorhiziens. Pour ce qui est de *B. oleracea*, le peu d'études quantifiant la colonisation des racines de cette espèce montre aussi des résultats contradictoires, certains décrivant une colonisation avec arbuscules, quoique ces dernières ne semblent jamais photographiées (Güneş et al., 2019; Nelson & Achar, 2001; Ross & Harper, 1973), alors que d'autres notent l'absence d'arbuscules (Harley & Harley, 1987; Tanwar et al., 2014) ou même de colonisation (Hirrel et al., 1978; Tong et al., 2015). Plusieurs mécanismes de répression des CMA ont été proposés à ce jour pour expliquer la non-mycorhization des Brassicaceae, quoiqu'aucun principal responsable n'a été identifié à ce jour (Sharma et al., 2023). Par exemple, il a été prouvé que les isothiocyanates, dérivés de glucosinolates indoliques, molécules de défense produites dans les tissus de Brassicaceae et relâchées dans le sol par ces dernières pour contrer les pathogènes et ravageurs, peuvent réduire la colonisation des racines, inhiber la germination des spores et l'élongation des hyphes de CMA (Vierheilig & Ocampo, 1990; Schreiner & Koide, 1993; Vierheilig et al., 1995; Anthony et al., 2020). Tel que démontré par Tong et al. (2015), les concentrations de certains glucosinolates dans les tissus de brocoli peuvent augmenter en présence de CMA et d'un réseau soutenu par une plante hôte. De plus, les profils de glucosinolate et leurs potentiels antifongiques varient selon le Brassicaceae (Carlson et al., 1987; Verkerk et al., 2009);

différentes variétés de légumes dérivés de *B. oleracea* pourraient avoir différents niveaux de résistance à la colonisation et avoir différents impacts sur les communautés de CMA. Les gènes de glucosinolate semblent donc être d'importants déterminants du statut non-mycorhizien de plusieurs Brassicaceae, en plus des gènes impliqués directement dans l'établissement de la symbiose (Sharma et al., 2023). Il est présentement incertain si des cultivars de *B. oleracea* possèdent encore l'ensemble de gènes associés à la symbiose avec les CMA (i.e. boîte à outils symbiotique), mais l'absence de plusieurs gènes clés nécessaires à la symbiose comme ceux responsables du transport de P a été confirmée chez *Brassica rapa*, ainsi que plusieurs autres espèces de Brassicaceae (Cosme et al., 2018; Delaux et al., 2013, 2014). Historiquement, les Brassicaceae auraient largement perdu cette « boîte à outils » symbiotique avant la diversification des Limnanthaceae, dans l'ordre des Brassicales (Delaux et al., 2014). Enfin, certaines Brassicaceae montrent une surstimulation des gènes de défense systémique lorsqu'en présence de CMA, notamment via la voie de signalisation de l'acide salicylique (impliqué dans la défense contre les pathogènes biotrophes), ce qui pourrait expliquer l'absence de colonisation ou à tout le moins son inhibition (Fernández et al., 2019; Poveda et al., 2019).

Puisque les Brassicaceae ne forment généralement pas de symbioses fonctionnelles (obligatoires à la survie des CMA) et relâchent des composés dans le sol qui nuisent aux CMA, il est attendu que leur culture puisse nuire aux populations natives de CMA dans les champs agricoles, particulièrement lorsque cultivés en monoculture. Il a été démontré que la culture de Brassicaceae peut dans certains cas réduire la rapidité de colonisation des prochaines cultures (Gavito & Miller, 1998a; Sorensen et al., 2005) et le nombre de propagules du sol (Douds & Millner, 1999; Fontenla et al., 1999; Harinikumar & Bagyaraj, 1988; Zubek et al., 2013). Cela peut nuire aux cultures mycotrophes subséquentes dans le schéma de rotation (Arihara & Karasawa, 2000; Karasawa et al., 2002). Cela dit, Floch et al. (2022) ont démontré qu'une population de CMA était tout de même en mesure de persister à une monoculture soutenue de *Brassica napus*.

Une avenue intéressante pour pallier l'effet négatif de la culture de plantes non-mycorhiziennes sur les CMA est l'introduction de plantes mycorhiziennes lors de la même saison de croissance, par exemple via un système de culture intercalaire. Jusqu'à maintenant, la plupart des études se sont penchées sur l'influence des rotations sur les CMA (e.g., Guzman et al., 2021), mais l'ajout de plantes mycorhiziennes au champ tout en gardant une culture principale non-mycorhizienne

(i.e. dans un système de culture intercalaire) pourrait aussi être une stratégie intéressante, qui permettrait de garder des plantes mycotrophes à toutes les phases de la rotation. Ainsi, une solution au manque de plante hôte aux CMA lors de la culture de *B. oleracea* pourrait être de semer une espèce mycorhizienne à proximité du plant principal, tel que le trèfle blanc (*T. repens* L.), afin de soutenir la croissance de ces symbiotes obligatoires.

## 1.4 – La culture intercalaire

### 1.4.1 – Le compagnonnage et ses applications

La culture intercalaire est une méthode de culture associée qui consiste à faire croître plus d'une plante à proximité les unes des autres (Agriculture and Agri-Food Canada, 2019; MAPAQ, 2017). Les plants d'une telle culture peuvent suivre divers types d'arrangements spatio-temporels comme la culture mixte, en rangs alternés, en bandes alternées, en alternance dans le rang, à relais dans le temps, avec entre-rangs et avec culture piège (Lithourgidis et al., 2011). Dans le cadre de cette pratique, la/les cultures supplémentaires peuvent elles aussi produire des revenus, ou il peut s'agir d'une espèce typiquement utilisée comme plante de couverture, par exemple semée entre les rangs d'une culture principale. La culture intercalaire est loin d'être une méthode de culture récemment développée. La polyculture a historiquement longtemps été la pratique agricole de choix, par exemple chez plusieurs des Premières Nations du Canada (Agriculture and Agri-Food Canada, 2021), et est encore traditionnellement employée dans les pays en voie de développement, qui utilisent des méthodes de culture souvent plus traditionnelles et génétiquement diverses (Altieri, 1999; Bracken, 2019; Lithourgidis et al., 2011). Ceci dit, cette technique montre un potentiel et un intérêt grandissant en agriculture durable et de conservation dans les pays développés (Agriculture and Agri-Food Canada, 2019; Machado, 2009), où les sols sont souvent appauvris et les cultures gravement à risque de dommage par des ravageurs après de multiples années de monoculture intensive, une pratique ayant gagné en popularité avec la mécanisation de l'agriculture (Lithourgidis et al., 2011).

Plusieurs avantages sont associés à la hausse de biodiversité d'un agroécosystème apportée par la culture intercalaire. Utiliser une culture de couvre-sol intercalaire promeut, entre autres choses: la

diminution des dommages reliés aux pathogènes spécifiques à la culture principale (Andow, 1991; Björkman et al., 2010; Theunissen et al., 1995; Åsman et al., 2001) surtout via une baisse de la concentration (i.e. dilution) de leurs ressources (Björkman et al., 2010; Finch & Collier, 2000; Root, 1973), le contrôle des populations de mauvaises herbes par compétition (Ramert et al., 2002; Singh et al., 2010), la bonne santé du sol via la stimulation du microbiome du sol (Sun et al., 2019), l'utilisation plus efficace des amendements et la réduction du lessivage (Zougmoré et al., 2000; Ramert et al., 2002; Yang et al., 2020), la réduction de l'érosion du sol par couverture (Zougmoré et al., 2000) ainsi que, lorsqu'une légumineuse est sélectionnée comme culture intercalaire, l'enrichissement du sol en N par fixation biologique (Ramert et al., 2002; Cong et al., 2015). De plus, dépendamment de la culture intercalaire sélectionnée, celle-ci peut produire elle-même des rendements. L'efficacité de ces services dépend de la complémentarité des espèces de plantes sélectionnées et de l'identité des pathogènes influençant le système (Theunissen et al., 1995; Åsman et al., 2001; Y. Zhang et al., 2015). Typiquement, lors de la culture de multiples plants à rendement, on sélectionne une culture à croissance rapide et une autre à croissance lente, afin que les deux atteignent leur stade mature à différents moments (Lithourgidis et al., 2011; Y. Zhang et al., 2015). Les producteurs tiennent cela en compte ainsi que plusieurs autres facteurs, comme l'espacement et la compétition potentielle entre les cultures, lorsqu'ils sélectionnent des agencements (Lithourgidis et al., 2011). Par exemple, un choix de plante compagne populaire lors de la culture intercalaire de céréales est une légumineuse, comme le soya; la fixation de N par leurs nodules racinaires de *Rhizobium* en fait un engrais vert de choix (Y. Zhang et al., 2015).

Bien entendu, l'établissement d'un système de culture intercalaire comporte des défis supplémentaires par rapport à un système sans culture intercalaire. Entre autres, gérer une culture intercalaire peut nécessiter un entretien manuel plus laborieux et plus coûteux (Ramert et al., 2002). Les plants en entre-rangs peuvent aussi développer une compétition avec les cultures principales pour l'acquisition des ressources du sol (i.e. eau, nutriments) ce qui peut provoquer la réduction des rendements, quoique la productivité nette se voit parfois plutôt augmentée grâce aux autres bénéfices acquis ou les rendements des autres cultures, si la combinaison des espèces est optimale (Aziz et al., 2015; Yang et al., 2020). Dans le cas de *B. oleracea*, les impacts perçus d'une culture intercalaire sur la performance varient (Choudhuri, 2016; Ocampo, 1986; Singh et al., 2010; Tong et al., 2015). Theunissen et al., (1995) ont toutefois démontré une baisse de la productivité couplée d'une hausse de la résistance aux pathogènes lorsque semés avec une culture



de couverture intercalaire de trèfle blanc. Il est important de bien évaluer les risques et bénéfices potentiels d'un compagnonnage spécifique, si l'on veut que la pratique soit économiquement avantageuse.

#### 1.4.2 – L'effet de la culture intercalaire sur les CMA et les plantes non-mycorhiziennes

Un impact non négligeable et relativement moins étudié de l'utilisation d'une culture de couverture intercalaire mycorhizienne (ici, le trèfle blanc) lors de la culture de plantes typiquement non-mycorhiziennes est que la culture associée peut soutenir le réseau mycorhizien et favoriser la colonisation de la plante non-hôte (ici, une Brassicaceae) par les CMA (Cosme et al., 2018; Hirrel et al., 1978). Les trèfles, comme le trèfle blanc, sont des cultures de couverture typiquement bien mycorhizées (Jakobsen et al., 1992; Tawarayama, 2003); ils ont donc la capacité de maintenir un réseau de mycélium extra-racinaire au sol. Plusieurs études en milieu contrôlé montrent que la présence de plantes hôtes à proximité de plantes non-hôtes (dont *B. oleracea*) autrement peu ou pas colonisées permet ou favorise la colonisation de ces dernières (Demars & Boerner, 1996; Hirrel et al., 1978; Ocampo, 1986; Y. Wang et al., 2021). La présence de plantes mycorhiziennes à proximité de plantes non-mycorhiziennes pourrait donc aussi potentiellement augmenter et maintenir l'inoculum de CMA dans le sol. L'infection d'une plante non-mycorhizienne a parfois un effet négatif sur la productivité de celle-ci (Cosme et al., 2018; Fernández et al., 2019; Wagg et al., 2011; Y. Wang et al., 2021), mais les résultats sont équivoques dans la littérature. Certains ont montré que, pour les cultures du genre *Brassica*, le contact (e.g. par inoculation) de CMA avec leur racine pouvait stimuler la croissance (Nelson & Achar, 2001; Purakayastha et al., 1998; Tanwar et al., 2014) alors que d'autres ont plutôt trouvé des effets neutres (Tong et al., 2015) ou négatifs (Ocampo, 1986; Poveda et al., 2019) sur la plante non-mycorhizienne. De tels résultats contradictoires s'expliquent par les différents mécanismes par lesquels les CMA peuvent influencer les Brassicaceae. D'une part, la colonisation des Brassicaceae par les CMA stimule la production de molécules de défense associées à la protection contre les pathogènes biotrophes (Fernández et al., 2019; Poveda et al., 2019; Y. Wang et al., 2021), ce qui peut engendrer un coût métabolique important (Fernández et al., 2019; Stringlis et al., 2018). Toutefois, si stimuler la production de molécules de défense (e.g., acide salicylique) les aide à se défendre contre d'autres pathogènes biotrophes (e.g., virus, rouilles), l'effet net pourrait alors être positif sur la plante. De

plus, la colonisation de *B. oleracea* pourrait être un facteur sous-estimé qui expliquerait en partie le rôle de répression des pathogènes assuré par une culture intercalaire de trèfle blanc. De même, bien que les racines de Brassicaceae ne soient généralement pas colonisées par les structures d'échange nutritionnel des CMA (i.e. les arbuscules), certains ont suggéré qu'une plante non-mycorhizienne pourrait tout de même bénéficier d'un certain apport nutritionnel par échanges via les hyphes des CMA (Cosme et al., 2018). Il est difficile de prédire l'impact d'un réseau mycorhizien supporté par *T. repens* sur les rendements de *B. oleracea* dans ce contexte. Des études en pot portant sur *A. thaliana* (Veiga et al., 2013) et sur *B. oleracea* (Ocampo, 1986) dans des systèmes similaires montrent une baisse de productivité de la culture principale lorsqu'en contact avec un réseau mycorhizien supporté par *T. repens* et *Sorghum vulgare*, respectivement, mais une telle observation n'a pas encore été faite en champ. Similairement, l'effet d'une culture intercalaire de plante mycorhizienne sur la colonisation de *B. oleracea* par son réseau mycorhizien n'a jamais été testé en champ. Il est aussi encore incertain dans quels cas la colonisation de *B. oleracea* résulte en la production d'arbuscules et l'étendue de la fonctionnalité symbiotique de ces structures. Cela dit, l'addition de trèfle en compagnonnage avec *B. oleracea* pourrait permettre la persistance des CMA au champ lors de la saison de croissance et pendant l'hiver, et ainsi bénéficier à une rotation mycotrophe subséquente.

#### 1.4.3 – La conservation des CMA au bénéfice des plantes mycorhiziennes

Puisque les CMA nécessitent un partenaire symbiotique pour leur survie, la présence de plantes hôtes dans le champ est nécessaire au bon soutien d'un réseau mycorhizien arbusculaire. Ainsi, une culture intercalaire couvre-sol persistante comme le trèfle blanc a le potentiel d'assurer la présence active du réseau mycorhizien d'un tel partenaire pendant une plus longue période au champ, soit préalablement à la plantation de la culture principale, ou même lorsque la culture principale est de type non-mycorhizienne. Un réseau mycorhizien intact préétabli, maintenu par une culture associée mycorhizienne lors de la culture de plantes mycorhiziennes, peut mener à la colonisation plus rapide de la culture d'intérêt ou des autres plantes environnantes (Brito et al., 2019; Goss et al., 2017; Trinchera et al., 2019), surtout si la rotation précédente inclut une plante non-mycorhizienne qui aurait pu être néfaste aux CMA. Cet effet peut être complété par l'absence ou la réduction du labourage, qui peut endommager le mycélium extra-racinaire et ainsi

retarder la colonisation de l'hôte (Brito et al., 2019). Plusieurs auteurs notent une augmentation de rendements des cultures relativement dépendantes des mycorhizes (e.g. maïs, légumineuses, pois, tomates, patates), lorsqu'associées aux CMA (Cely et al., 2016; Higo et al., 2018; Hijri, 2016; Smith & Read, 2008; Tawaraya, 2003), quoique ces bénéfices sont non garantis et dépendants du contexte (Ryan & Graham, 2018; Thirkell et al., 2017; Verbruggen & Kiers, 2010). Cette augmentation des rendements serait due en grande partie au bénéfice nutritif qu'apporte la symbiose (Smith & Read, 2008). Cela dit, une colonisation tôt en saison de croissance facilitée par un réseau mycorhizien préalablement bien établi pourrait faire bénéficier une culture en lui permettant d'acquérir plus de nutriments plus tôt dans son cycle de vie (Gavito & Miller, 1998b). Gavito et Miller (1998a) ont noté qu'une culture de *Brassica* à la rotation précédente pouvait ralentir la colonisation par des CMA, ainsi que les taux de colonisation d'une culture de maïs, d'où le potentiel de maintenir une culture mycotrophe au champ afin de soutenir la nutrition d'un réseau mycorhizien. L'établissement rapide d'une symbiose mycorhizienne dans les racines de cultures comme le maïs, qui nécessite un apport de P constant, pourrait contribuer à éviter une carence en P en début de saison, susceptible d'affecter négativement les rendements (Gavito & Miller, 1998b; Grant et al., 2001). Une culture de couverture intercalaire persistante et mycorhizienne, d'autant plus après une rotation de *Brassica*, pourrait ainsi améliorer la nutrition du maïs en début de saison et en augmenter les rendements par le biais de la colonisation racinaire rapide des CMA (Gavito & Miller, 1998a, 1998b; Higo et al., 2018).

Un autre aspect important de l'effet qu'une culture intercalaire mycorhizienne peut avoir sur les CMA d'un agroécosystème est l'impact potentiel sur la structure de la communauté de CMA. L'inclusion d'une plante associée vivace en agroécosystème, dont la communauté de CMA est typiquement dominée par la famille des Glomeraceae (Helgason et al., 1998; Maherali & Klironomos, 2012), peut maintenir une plus grande diversité de CMA au champ en favorisant, par exemple, les espèces à sporulation tardive (Chagnon et al., 2022). Celles-ci pourraient potentiellement être plus efficaces pour transférer des nutriments du sol à la plante, dû à l'investissement relativement important dans leur mycélium extra-racinaire (Chagnon et al., 2013, 2022).

Ainsi, la culture intercalaire de maïs avec une légumineuse a le potentiel d'augmenter les rendements d'une culture de maïs, sous des conditions idéales (Drakopoulos et al., 2021;

Javanmard et al., 2020; Kramberger et al., 2014). Un angle moins étudié des bénéfices potentiels qu'une culture intercalaire mycorhizienne peut avoir sur une culture de maïs, cependant, est celui des avantages associés à la conservation de la communauté de CMA du sol, surtout lorsqu'affectés négativement par une rotation précédente de Brassicaceae.

## 1.5 – Objectifs et hypothèses de l'étude

### 1.5.1 – Objectifs

Cette étude vise à analyser les interactions entre les CMA, une rotation de cultures de *Brassica* (le chou blanc, *B. oleracea* var. *capitata* et le brocoli, *B. oleracea* var. *italica*) et de maïs sucré (*Zea mays* L.), ainsi qu'une culture d'entre-rang persistante de trèfle blanc (*T. repens* L.).

Le premier objectif de ce travail de maîtrise était d'évaluer l'effet d'une culture intercalaire persistante de trèfle blanc (plante hautement mycotrophe) en entre-rang et le réseau mycorhizien maintenu par celle-ci sur le profil de colonisation racinaire par les CMA d'une culture de brocoli et de chou, ainsi que sur leur rendement, sous différents régimes de fertilisation.

Le deuxième objectif était d'évaluer les effets de cette même culture de trèfle blanc en entre-rang sur la cinétique de mycorhization des racines et les rendements d'une culture de maïs sucré (*Z. mays* L.), suite à la culture de *B. oleracea*.

La littérature évaluant l'effet à long terme de la culture de *B. oleracea* sur les CMA du sol et leurs interactions avec les cultures subséquentes est pauvre. J. A. Ocampo (1980) n'a observé aucun effet significatif de la culture de cette plante sur la colonisation d'une culture suivante, mais ce système a été testé en pot, sans plante mycorhizienne associée et sans mesurer l'effet de la rotation précédente sur les rendements. La conception d'une expérience en champ permettra d'étudier l'interaction tripartite entre la culture principale, la culture d'entre-rang et la communauté de CMA diverse d'un tel système dans un contexte moins contrôlé et plus représentatif des conditions agricoles.

### 1.5.2 - Hypothèses

Objectif 1 (2021) : Évaluer le profil de colonisation et les rendements de cultures de brocoli et de chou en association avec une culture mycorhizienne.

Hypothèse 1 : La culture intercalaire de trèfle et la fertilisation réduite permettront la colonisation ou augmenteront les niveaux de colonisation par des CMA dans les racines de brocolis et de choux à travers la saison via le maintien d'un réseau mycorhizien extra-racinaire actif.

Hypothèse 2 : La productivité du brocoli et du chou sera impactée par la présence d'une culture intercalaire; cette pratique pourrait avoir un effet global positif (via la promotion de la santé du sol, la dilution des pathogènes et l'enrichissement en N), ou négatif (via la colonisation « forcée » par les CMA et la compétition pour les ressources) sur les rendements, ce qui est difficile à prédire.

Objectif 2 (2022) : Évaluer la cinétique de colonisation et les rendements d'une culture de maïs en association avec une culture mycorhizienne persistante, suite à une culture non-mycorhizienne de *B. oleracea*.

Hypothèse 1 : La culture de couverture intercalaire soutiendra un réseau mycorhizien actif plus tôt à la rotation subséquente, résultant en la colonisation plus intense et/ou plus tôt en saison des racines de maïs par les CMA que dans les parcelles ayant subi une culture de *Brassica* sans culture associée l'année précédente.

Hypothèse 2 : La mycorhization plus tôt en saison du maïs améliorera la nutrition du maïs au début de sa croissance et ainsi augmentera les rendements totaux, en plus des avantages potentiels liés à la culture intercalaire.

### 1.6 - Organisation du mémoire

À la suite de la revue de littérature ci-haut, un article scientifique en préparation pour la soumission sera présenté, suivi d'une discussion et conclusion générale du projet discutant plus en détail les résultats obtenus et les perspectives de ce projet.

## **Chapitre 2 – Intercropping *Brassica oleracea* with persistent white clover leads to earlier AMF root colonization and higher yields in a subsequent maize rotation**

Merlin Caron<sup>1,2</sup>, Pierre-Luc Chagnon<sup>2</sup>, Franck Stefani<sup>3</sup>, Jacynthe Masse<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut de recherche en biologie végétale, Jardin Botanique de Montréal and Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

<sup>2</sup>Saint-Jean-sur-Richelieu Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec, Canada

<sup>3</sup>Ottawa Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Canada

L'article suivant est en préparation pour la soumission dans un journal scientifique. L'article fut rédigé en entier par moi, Merlin Caron, sous la supervision de Jacynthe Masse et Pierre-Luc Chagnon. Les résultats de colonisation du brocoli, l'analyse de concentration d'orthophosphates du sol et la totalité des tests statistiques furent produits par moi ou sous ma supervision. J'ai aussi participé à la production de données de métacommunauté bactérienne, fongique et mycorhizienne arbusculaire, qui seront potentiellement intégrées à l'article avant sa soumission ou dans une future publication. Ces données ne sont pas présentées dans ce mémoire dû à des contraintes de temps. Les données de colonisation des choux furent fournies par l'équipe du Centre de recherche et de développement d'Ottawa (AAC). Le plan expérimental, l'établissement des parcelles expérimentales, l'entretien de ces parcelles, l'échantillonnage des sols et des racines, les autres analyses physico-chimiques des sols, ainsi que la prise des données de productivité des cultures et de la cinétique de la colonisation racinaire du maïs ont été faits par les équipes de Pierre-Luc Chagnon, Jacynthe Masse et de la ferme expérimentale de l'Acadie du Centre de recherche et de développement de Saint-Jean-sur-Richelieu (AAC).

## 2.1 – Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associate with many crops and facilitate nutrient acquisition, which may enhance yields, especially in low input agricultural systems. However, many Brassicaceae crops, such as broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) do not associate with AMF, and including a *Brassica* in a rotation may even reduce AMF inoculum potential for the colonization of subsequent mycorrhiza-dependent crops, such as maize (*Zea mays* L.). We hypothesized that intercropping *B. oleracea* with a mycorrhizal intercrop which is maintained between phases of the rotation would help AMF persist through a non-mycorrhizal culture and would affect both *Brassica* and the subsequent crop growth. We tested the effect of a persistent white clover (*Trifolium repens* L.) intercrop system on (1) AMF colonization profiles and yields of broccoli and cabbage and (2) AMF colonization speed and levels, as well as yield of the subsequent crop in the rotation, sweet maize. We found that broccoli was colonized by AMF more frequently when intercropped, but at a lower intensity earlier in the season. We also observed earlier AMF colonization in maize's roots with intercrop, which may explain their higher overall yield.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, root colonization, yield, intercropping, sustainable agriculture, non-mycorrhizal plants, *Brassica oleracea*, *Zea mays* L., *Trifolium repens* L.

## 2.2 – Introduction

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form an obligate symbiosis with most agricultural crops through entry in root tissues, colonization, and formation of nutrient exchange structures. Multiple agroecosystem services have been associated to their presence in soil (e.g. physical and chemical aggregate stabilization; R. M. Miller & Jastrow, 1992) and their colonization of crop roots (e.g. defense priming against pathogens; Jung et al., 2012), the most important being their ability to acquire soil nutrients (Smith & Smith, 2011; Solaiman et al., 2015) and water (Kakouridis et al., 2022) more efficiently than roots and to transfer them to their host in exchange for photosynthates (Smith & Read, 2008). This mycorrhization has been shown to enhance yields in

AMF-dependent crops, such as maize (*Zea mays* L.), especially in reduced input systems (Higo et al., 2018; Hijri, 2016; Ortas et al., 2019; Smith & Read, 2008). To maximize the benefits of this association, producers may adapt their practices to preserve local soil AMF propagules and services through reduced fertilization (Douds & Schenck, 1990; Johnson, 1993; Peng et al., 1993; Ryan et al., 1994), reduced usage of some pesticides (Helander et al., 2018; Zaller et al., 2014), reduced or no tilling (O'Halloran et al., 1986; Galvez et al., 1995; McGonigle & Miller, 1996; Sheng et al., 2013) and mycorrhizal cover crops (Galvez et al., 1995; Johnson & Pflieger, 1992). Including non-mycorrhizal (NM) crops in a rotation may also have negative impacts on soil AMF propagules (Fontenla et al., 1999; Harinikumar & Bagyaraj, 1988; Karasawa et al., 2002; Ocampo, 1980).

Such NM crops include broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*), both important crops in Canada (Statistique Canada, 2023) and members of the mostly NM Brassicaceae family (Cosme et al., 2018). Most *Brassica* crops resist AMF infection through defense mechanisms, such as glucosinolate production and pathogen response (Fernández et al., 2019; Sharma et al., 2023), and lack the symbiotic toolkit needed to form symbiotic relationships (Cosme et al., 2018; Delaux et al., 2014). Nonetheless, they may be colonized by AMF hyphae (although not arbuscules) if grown near mycorrhizal plants (Hirrel et al., 1978; Ocampo et al., 1980; Veiga et al., 2013). AMF can prove detrimental to Brassicaceae plants productivity when “forcibly” colonizing their roots (Ocampo, 1986; Veiga et al., 2013), and trigger a costly pathogen immune response in the host (Fernández et al., 2019; Stringlis et al., 2018). Moreover, since AMF are obligatory symbionts and Brassicaceae plants actively suppress their growth and spore germination through glucosinolates, which are hydrolyzed in the antifungal isothiocyanate (Vierheilig & Ocampo, 1990; Schreiner & Koide, 1993; Anthony et al., 2020), Brassicaceae crops can sometimes delay or decrease the colonization of a subsequent mycotrophic crop, such as maize (Arihara & Karasawa, 2000; Gavito & Miller, 1998a; Higo et al., 2018; Sorensen et al., 2005). Integrating a mycorrhizal plant in a rotation which includes *Brassica* crops may help mitigate the negative impacts of the NM culture on native field AMF by providing a suitable host, but also increase AMF-NM plant interactivity, which comes at the risk of lower immediate yields. A way to integrate an additional culture in a crop rotation is through intercropping systems. Such systems may be employed for their potential advantages, such as pests protection (Björkman et al., 2010; Theunissen et al., 1995; Åsman et al., 2001), weeds control



(Singh et al., 2010) and soil conservation (Zougmone et al., 2000), but plant pairs need to be carefully selected to limit potential competition for soil nutrients.

Earlier and higher AMF colonization of maize roots may lead to better early nutrition and higher yields in maize (Gavito & Miller, 1998b; Grant et al., 2001) and this, as Higo et al. (2018) have demonstrated, can be accomplished through prior conservation of AMF networks via mycorrhizal cover crops. Thus, sowing a persistent mycorrhizal culture, such as white clover (*Trifolium repens* L.), as an intercrop shows promise as a practice to help preserve AMF from agricultural soils during a rotation including a *Brassica*, and may mitigate the NM crop's detrimental impact on the colonization profile of a subsequent mycorrhizal crop. This practice has yet to be tested in field trials, as does the outcome of intercropping *B. oleracea* crops with host plants regarding its colonization profile and productivity. Understanding the outcome of such interactions will be key to the implementation of efficient agronomic practices which take local AMF populations preservation into account.

In this field study, we first (1) investigated AMF colonization profile and performance of NM broccoli and cabbage cultures, regrouped under the term *Brassica* going forward, when intercropped with the mycorrhizal white clover, under both full and reduced fertilizer regime. The crops were selected for their potential phenotypic differences and different harvest dates. Secondly (2), we investigated the effects of this persistent clover intercrop and the previous crop type on the AMF colonization speed and intensity, as well as yield, of a mycotrophic sweet maize crop growing in the same plots, the following year.

## 2.3 – Materials and methods

### **Experimental design, sampling, and yield measurements**

Our study was carried out during the 2021 and 2022 growing seasons on Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC)'s L'Acadie experimental farm, in southern Quebec, Canada (45°18'N, 73°21'O). Its clay-loam mineral soil (Orthic Humic Gleysol) comes from a mix of AAFC's St-Blaise, Boreaux and Sabrevois soil series (Lamontagne et al., 2002). During 2021 and 2022 growing seasons, mean field temperatures were of 18.1 and 18.7°C and total precipitations were

of 423.5 and 502.5 mm, respectively (Environment and Climate Change Canada, 2023). Rotation history in this field includes rye in 2018, maize and rattlepods intercropping on a rye mat in 2019 and barley-based green manure in 2020. General physico-chemical properties of the field's soil were analyzed in 2021 (Table S1).

A randomized complete block design was set up in a 3850 m<sup>2</sup> field. In 2021, each of the 4 blocks had 3 binary treatments applied as controlled variables: crop type (broccoli or cabbage), intercropping (with white clover intercrop or without any intercrop) and fertilizer doses (130 kg/ha N, 120 kg/ha P and 120 kg/ha K or half as much) in 25 m<sup>2</sup> plots for a total of 8 treatment combinations and a total of 32 plots (Figure S1). To ensure the establishment of clover before *Brassica* transplant date, an extra 60 kg/ha N, 55 kg/ha P and 120 kg/ha K (or half as much in reduced dose plots) were applied between main rows to the intercrop plots at clover sowing date, 48 days prior to transplant.

In 2022, sweet maize (*Zea mays* L.) was cultivated in the same plots under the same but simplified randomized complete block design, with intercropping and lack of intercropping being the applied treatments. White clover, being a perennial plant, was still very well established in intercrop plots. It was mown prior to maize sowing (June 6<sup>th</sup> 2022) to reduce potential light obstruction to the seedlings. Minimal recommended doses of fertilizer for sweet maize culture (94 kg/ha N, 15 kg/ha P and 40 kg/ha K) were applied in every plot (CRAAQ, 2013). Fertilizer and crop type differential treatments from 2021 were still considered when performing statistical tests.

During the *Brassica* year, drip irrigation was used for watering. Ripcord (BASF SE, Ludwigshafen, Germany), Exirel (FMC, Philadelphia, USA) and Matador (Syngenta, Basel, Switzerland) insecticides were applied when necessary. To minimize mechanical and chemical soil disturbance in both years, minimal tillage was done on the soil prior to transplant/sowing and plots were hand-weeded throughout the growing seasons, which resulted in a minimal number of weeds still being present. Broccoli and cabbage were transplanted at an interval of 20 cm and 40 cm respectively and a spacing of 76 cm between rows, while maize seeds were sown at interval of 18 cm in-rows and a spacing of 76 cm between rows. The first and last rows of each plot were kept unsampled.

For AMF root colonization assessment in 2021 (broccoli and cabbages), complete root system samples were taken at five points in time to evaluate changes throughout the growing season: 10

seedlings of cabbage and broccoli were kept at transplant date (June 21<sup>st</sup> 2021), and 4 plant's roots were sampled at each crop's estimated mid-growth (July 28<sup>th</sup> 2021 or day 36 for broccoli, September 10<sup>th</sup> 2021 or day 81 for cabbage) and harvest (August 24<sup>th</sup> 2021 or day 81 for broccoli, October 28<sup>th</sup> 2021 or day 126 for cabbage). A 3-point composite bulk soil sample of each plot was also taken at transplant and harvest date of each crop for physical and chemical characterization of the soil. *Brassica* crops yields were measured at each crop's harvest dates: from August 24<sup>th</sup> 2021 to September 10<sup>th</sup> 2021 for the broccoli, and on October 28<sup>th</sup> 2021 for the cabbage. Crop heads from 2 out of the 6 rows were harvested and classified as either sellable or unsellable (e.g. damage, imperfection, or underdevelopment). Out of these, sellable crop heads' fresh weights were measured and compiled.

In 2022, a composite sample of maize roots (from 2 plants) was taken in two dedicated rows in each plot every 7 days after maize emergence, from June 20<sup>th</sup> to July 18<sup>th</sup> 2022 (days 14 to 42 post-sow), and once at the flowering stage, on August 11<sup>th</sup> 2022 (day 66 post-sow), to monitor AMF root colonization development for a total of six points in time. Root samples were stored up to 2 weeks at 4°C until pretreatment, after which they were stored at -20°C until root staining. From August 31<sup>st</sup> to September 7<sup>th</sup>, each ear from two untouched rows were harvested and peeled before being weighted and classified either as sellable or unsellable.

### **Root colonization assessment**

To prepare the root samples prior to endophyte staining for colonization assessment, each whole root system was defrosted at room temperature, thoroughly washed under sink water and their fine roots were cut into over 40 randomly selected fragments of ~1 cm in length. These fine root fragments were loaded into modified 25 mL syringes specifically designed to facilitate root staining, which were cut at one end and affixed with a filter membrane. To stain the root endophytes, we used a variation of Vierheilig et al. (1998)'s ink and vinegar root endophyte staining method, slightly modified to accommodate for our specific roots and available tools. These modifications were guided by a series of tests conducted to determine the parameters which produced the best overall root clearing and staining results. For the *Brassica* crops, the roots were cleared in a 10% (m/v) KOH solution kept at 90°C for 2 hours and then thoroughly rinsed in tap water. The fragments were then acidified in a 1% (v/v) acetic acid solution for 5 minutes, before

being stained for 5 minutes in the ink staining agent (acetic acid 4.75% (v/v), black ink 5% (v/v), ammonium molybdate tetrahydrate 1% (m/v)). Finally, root fragments were once again thoroughly rinsed in tap water and then stored for over 12 hours in a lactoglycerol solution (lactic acid 0.83% (v/v), glycerol 16.67% (v/v), pure water 82.5% (v/v)) to dilute any extra ink. The same was done for maize roots, except that clearing time was reduced to 1h and staining time was increased to 15 minutes.

After staining and storing, at least 20 well-conserved root fragments were laid into parallel lines on a microscope slide and mounted using a semi-permanent glycerol jelly mounting medium (water 46.15% (v/v) glycerol 53.85% (v/v), gelatin 7.7% (m/v), thymol 0.2% (m/v)), as described by Widden (2001). The mounted slides were stored at room temperature until observation, which was performed using optical microscopes at 400X magnification. AMF root colonization levels were measured as per McGonigle et al. (1990)'s "magnified intersect" method, by assessing the presence or absence of specific structures on 100 fields of view per sample. The structures considered for this study were AMF hyphae, vesicles and arbuscules (Figure 1). The presence of dark septate endophytes and other endophytes were also noted.

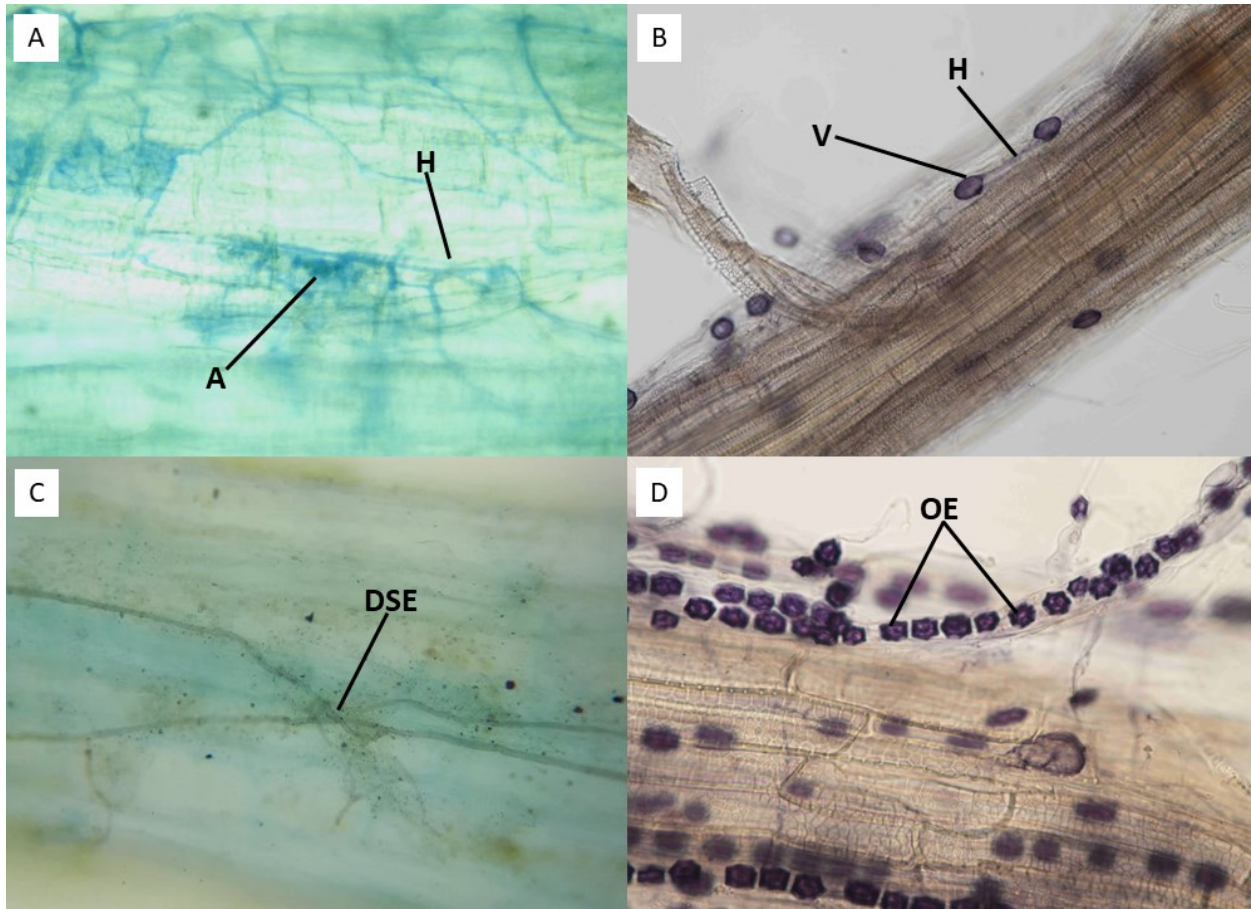


Figure 1. AMF structures, dark septate endophytes and other endophytes as observed in broccoli (A, C) and cabbage (B, D) root tissues. Labels: AMF arbuscule (A), hyphae (H) and vesicle (V), dark septate endophyte (DSE), other endophytes (OE).

While colonization levels of 36-day grown broccoli were measured on 4 root systems, this was reduced to 3 root systems for the 64-day grown broccoli and 81-day grown cabbage due to time constraints. Unfortunately, a freezer malfunction caused the loss of all 126-day grown cabbage roots destined for root colonization assessment; these will therefore not be considered for root colonization analyses. The observer assessing AMF colonization also differed between crop types, which may impact comparability between broccoli and cabbage colonization levels.

## Statistical analyses

In this study, we analyzed, 1) the ratio of *Brassica* crops colonized by AMF at each sampling time, 2) the AMF root colonization levels (%) of colonized *Brassica* crops at each sampling time, 3) the sellable yield (g / m<sup>2</sup>) of both *Brassica* cultures, 4) the AMF root colonization (%) earliness and speed of the subsequent maize culture, and finally 5) the total (sellable and unsellable) yield (g / m<sup>2</sup>) of the maize culture.

### *Effects of fertilization and intercropping on Brassica's root colonization and yield*

The number of broccoli samples showing > 0% AMF colonization were compiled for each plot at each sampling dates. The respective effects of fertilization, intercropping and their interaction on the proportion of crops which were infected by AMF were tested using a generalized linear mixed-effects model (*glmm*) with Poisson distribution, log link function and random block effect using R package *glmmTMB* (Brooks et al., 2017). The 81-day cabbage post-transplant samples were left out of this analysis, as all but one sample were colonized.

The effects of both treatments on AMF root colonization levels of colonized broccoli at day 36 were tested using a *glmm* with Poisson distribution, log link function and random block effect, using R package *glmmTMB*. For broccoli at day 64 and cabbage at day 81, a linear mixed-effect model (*lmer*) using R package *lmerTest* (Kuznetsova et al., 2017) was used instead, in order to meet model assumptions. For these analyses, the mean AMF colonization level per plot was calculated using only the samples showing > 0% AMF colonization.

Effects of fertilization, intercropping and their interaction on broccoli and on cabbage centered fresh yield values were tested using R package *lmerTest*'s *lmer* function with blocks as a random effect.

### *Effects of intercropping on maize's root colonization and yield*

Effects of intercropping and previous crop on the maize AMF hyphae and arbuscule colonization levels and speeds for each of the sampling dates were tested with a generalized additive model (*gam*) with a quasi-binomial distribution and a logit link function with block as random factor using the R package *mgcv* (Wood, 2011).

Effects of intercropping on centered maize total yield (sum of sellable and unsellable yield) were tested with a *lmer* with block as a random variable using R package *lmerTest*.

All model assumptions were met, except for that of day 64 broccoli's colonized plant ratio, which showed under-dispersion of its residuals. Statistical analyses were done using R version 4.2.1 (R Core Team, 2022). Effects were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## 2.4 – Results

### ***Brassica* roots colonization by AMF**

Throughout the broccoli and cabbage growing seasons, the plants' roots became gradually infected with AMF, regardless of the treatment. Even if not significant, more of the observed broccoli root systems harbored AMF by mid-growth and harvest (Figure 2) in plots where a clover intercrop was present (*Incidence Rate Ratio (IRR)* = 2.33,  $P = 0.220$  and *IRR* = 1.80,  $P = 0.292$ , respectively (Table S2a)). All but one sampled cabbage root systems had been colonized >0% by day 81 (Figure 2). While structures resembling AMF arbuscules were observed in 6 broccoli root systems (Figure S2), most AMF organs consisted of AMF hyphae and vesicles.

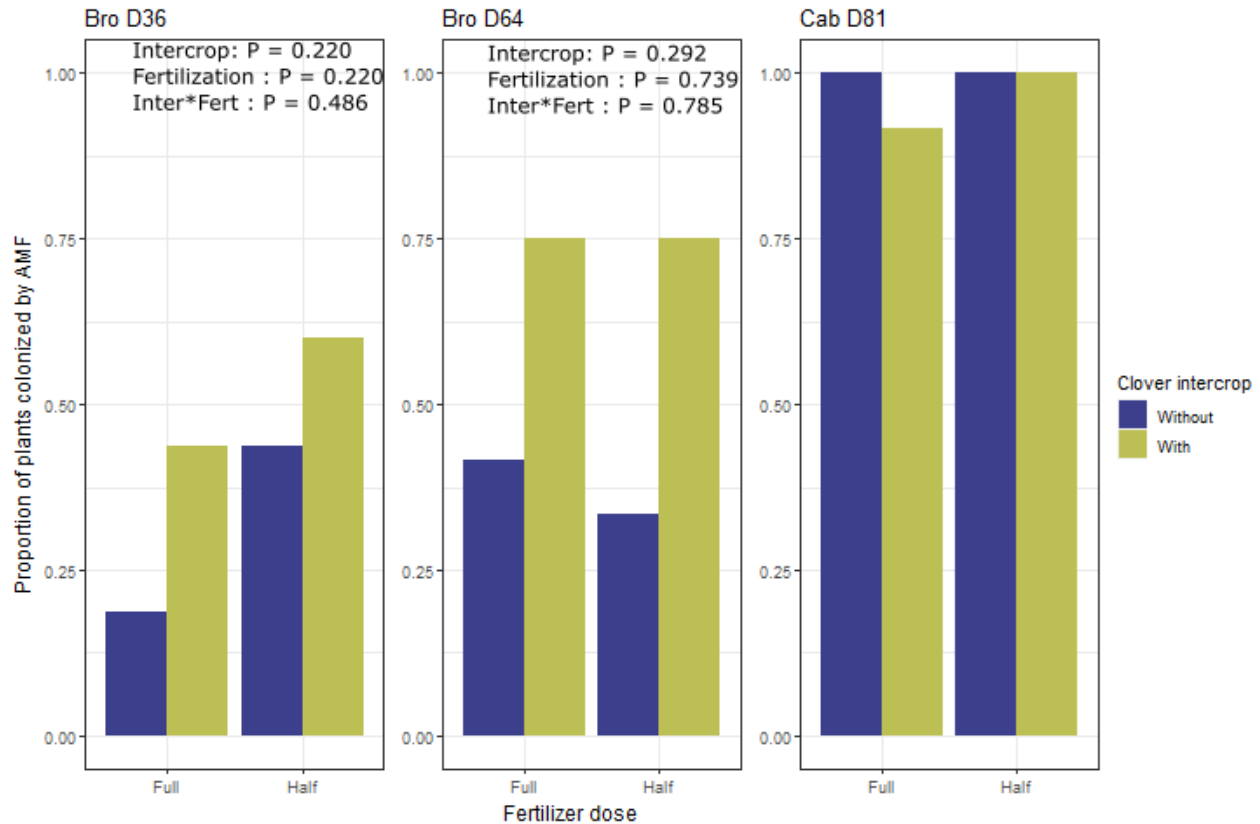


Figure 2. Proportion of sampled broccoli and cabbage crops which were colonized (>0% root length) by AMF at each sampling time (Bro D36: broccoli, 36 days post-transplant; Bro D64: broccoli, 64 days post-transplant; Cab D81: cabbage, 81 days post-transplant), for each treatment combination.

Since mechanisms underlying the events of an AMF's entry in the root and those of the following colonization of the root tissues are separated, combined with the fact that many plants were not colonized before a certain time, we evaluated the effects of fertilization and intercropping on the presence of AMF in roots and on the intensity level of root colonization (percentage of root length colonized by AMF) of infected plants separately. The mean levels of colonization of infected plant root systems stayed under 30% throughout the season, regardless of the treatments (Figure 3). On day 36 post-transplant, the infected broccoli roots' AMF colonization levels were higher ( $IRR = 0.30$ ,  $P < 0.001$ , Table S2b) in plots without an intercrop than in those with a clover intercrop. This same effect was not found in the 64 days post-transplant broccoli and 81 days post-transplant cabbage (Table S2b). Mean vesicle levels were very low for the broccoli crops (< 5%) but reached > 50% for each treatment combination in the 81 days post-transplant cabbage samples. The *Brassica* roots were also extensively colonized by other root endophytes (Figure S3).



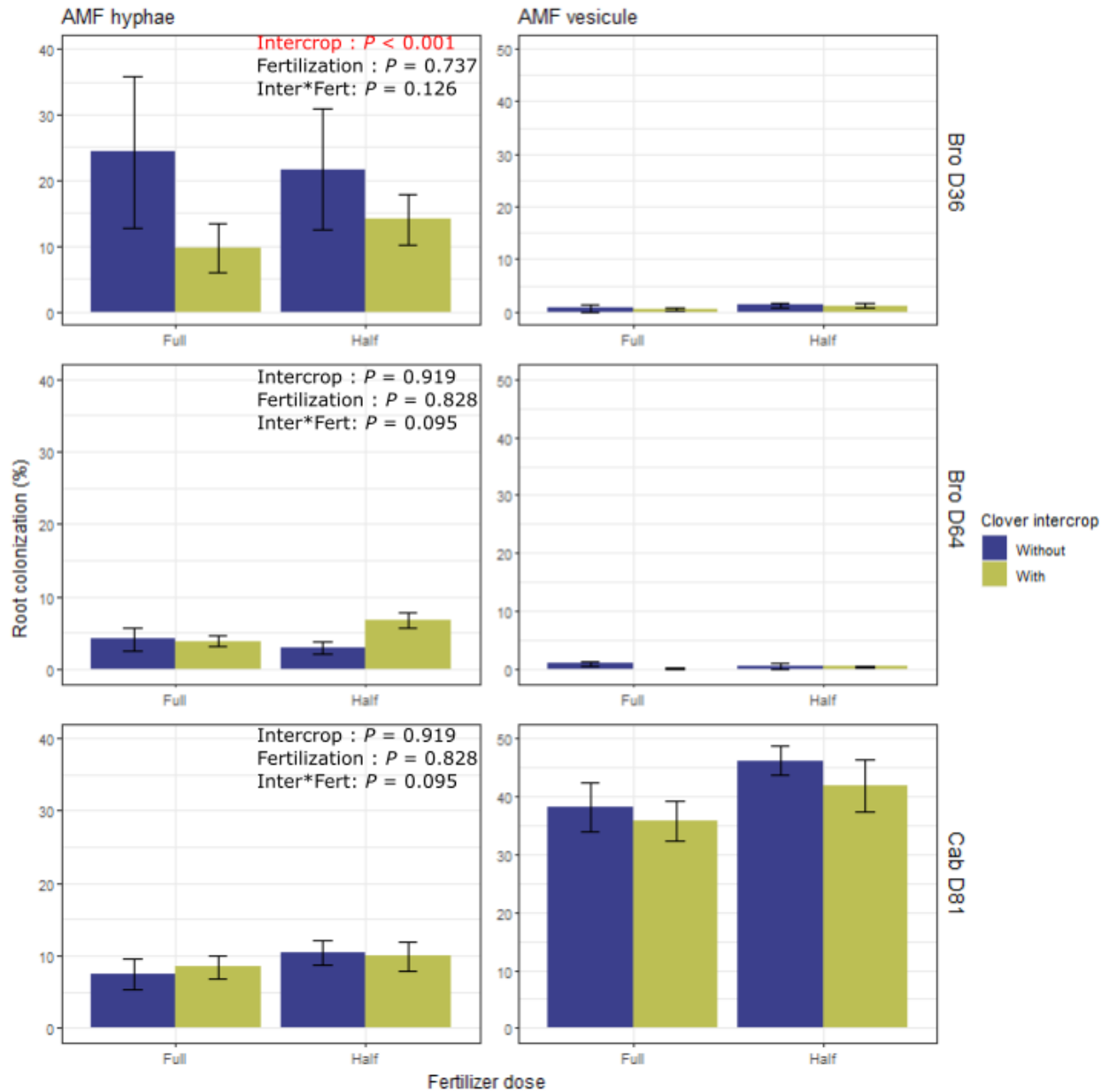


Figure 3. Mean percent (%) root length colonization of colonized broccoli and cabbage by AMF hyphae and vesicle at different times (Bro D36: broccoli, 36 days post-transplant; Bro D64: broccoli, 64 days post-transplant; Cab D81: cabbage, 81 days post-transplant), for each treatment combination. Uninfected samples (0 % colonization) were not included. Error bars define standard error on the mean.

## Brassica crops yields

None of the treatments showed a statistically significant effect on either broccoli and cabbage sellable yields (Table S2c); nonetheless, intercropped broccoli and cabbage seemed to show lower yields ( $Est. = 0.78$ ,  $P = 0.210$  and  $Est. = 0.49$ ,  $P = 0.505$ , respectively) compared to crops grown without intercrop (Figure 4).

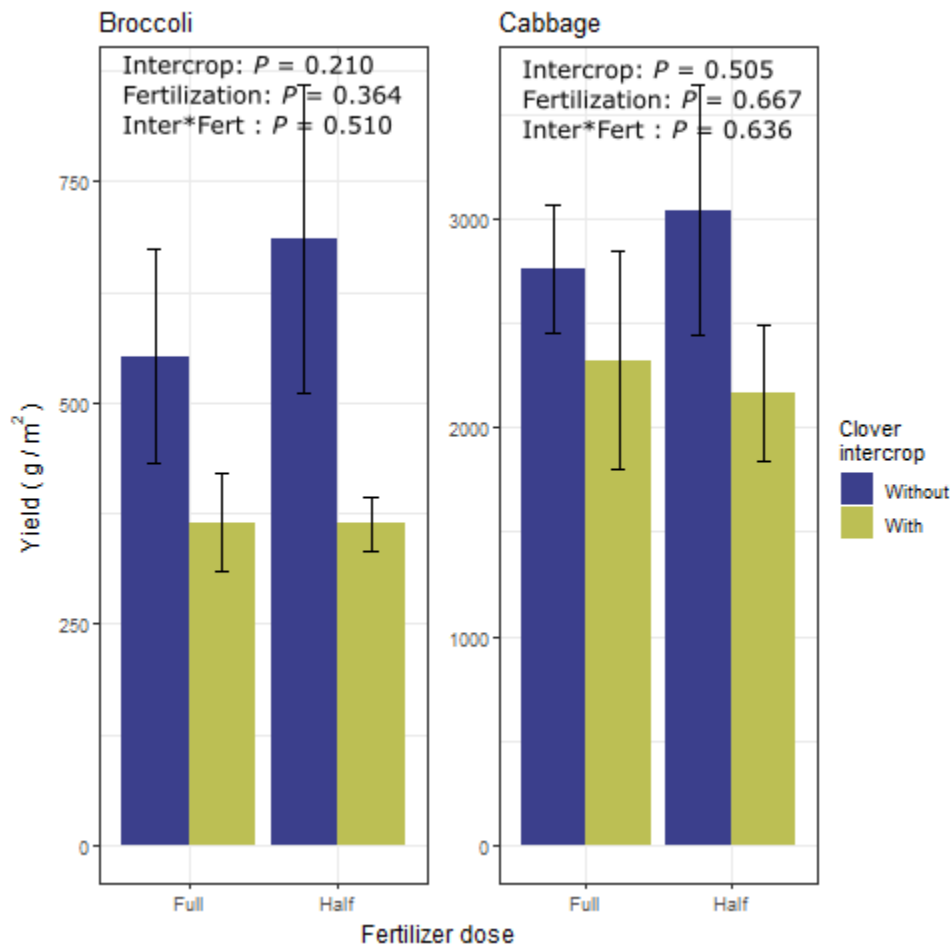


Figure 4. Mean total yield (g / m<sup>2</sup>) of broccoli and cabbage heads per plot, for each treatment combination. Error bars define standard error on the mean.

## Maize root colonization by AMF

Maize roots showed higher colonization levels by AMF hyphae and arbuscules (Table S2d-e,  $Est. = 0.441$  and  $1.023$  respectively,  $P < 0.001$ ) in presence of a clover intercrop, until flowering stage (Figure 5). Plants from the intercropped plots were more than twice as colonized at emergence

than those in plots without clover, and colonization levels plateaued earlier (Figure 5), as evidenced by the negative effect of intercrop on the arbuscule and hyphal colonization speed smoother function in the GAM model (Table S2d-e,  $F = 3.992$  and  $9.641$  respectively,  $P < 0.001$ ). Root colonization levels in plots without an intercrop only plateaued at the flowering stage (66 days post-sow).

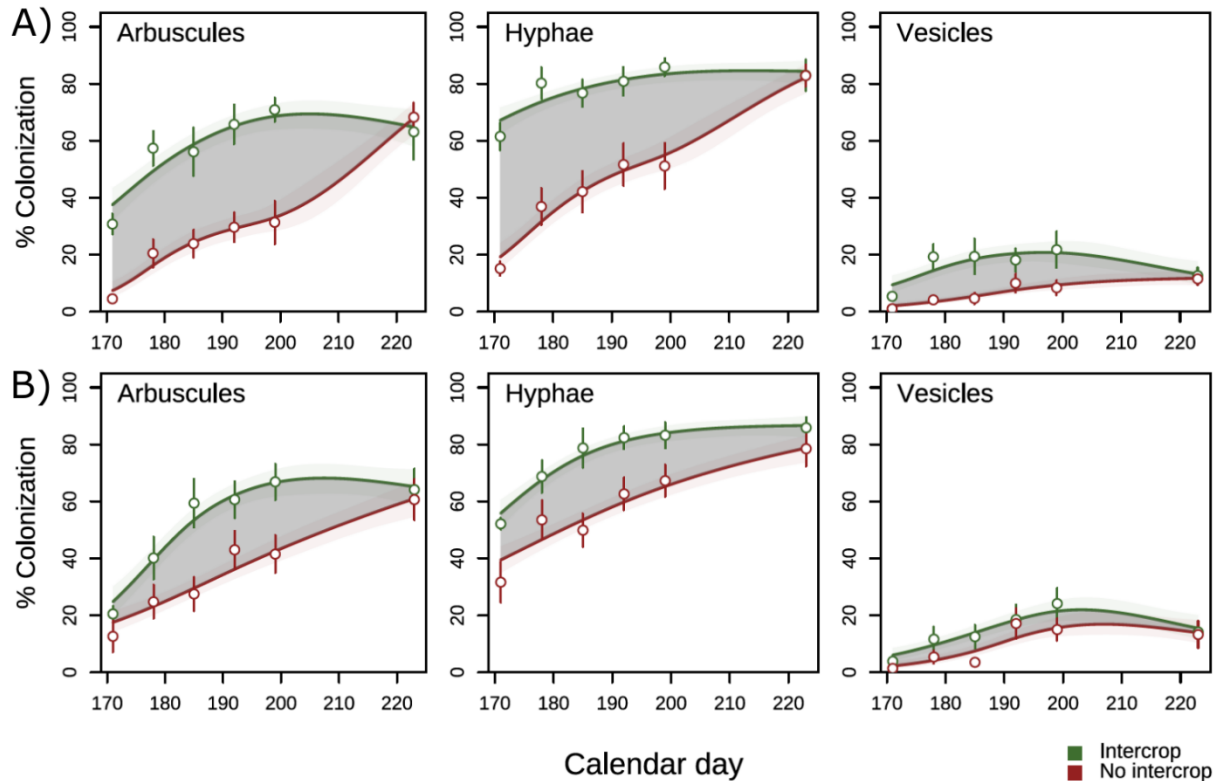


Figure 5. Mean percent (%) root length colonization of maize by AMF arbuscules, hyphae and vesicles from June 20th to July 18th (days 14 to 42 post-sow), for plots in which a clover intercrop was present and absent, in which either broccoli (A) or cabbage (B) were previously grown. The smooth was estimated through a generalized additive model. Error bars define standard error on the mean.

Crop type may have also influenced colonization speed; plots in which cabbage were planted, rather than broccoli, seemed to show slightly delayed root colonization by hyphae (Table S2d,  $Est. = 0.061$   $P = 0.1274$ ; Figure 5).

## Maize crop yield

When growing alongside an intercrop, maize total peeled-ear biomass was higher than when maize was grown alone (Figure 6, Table S2f, *Est.* = 1.13,  $P < 0.001$ ). Sellable and unsellable ear weights were combined to estimate the overall yield, since most of the maize ear were deemed unsellable (Figure S4). Nevertheless, intercropping also seemed to affect sellable yield and unsellable yield independently (Figure S5). Past treatments from 2021 showed no significant effect on yield (Table S2f) and lessened the model fit.

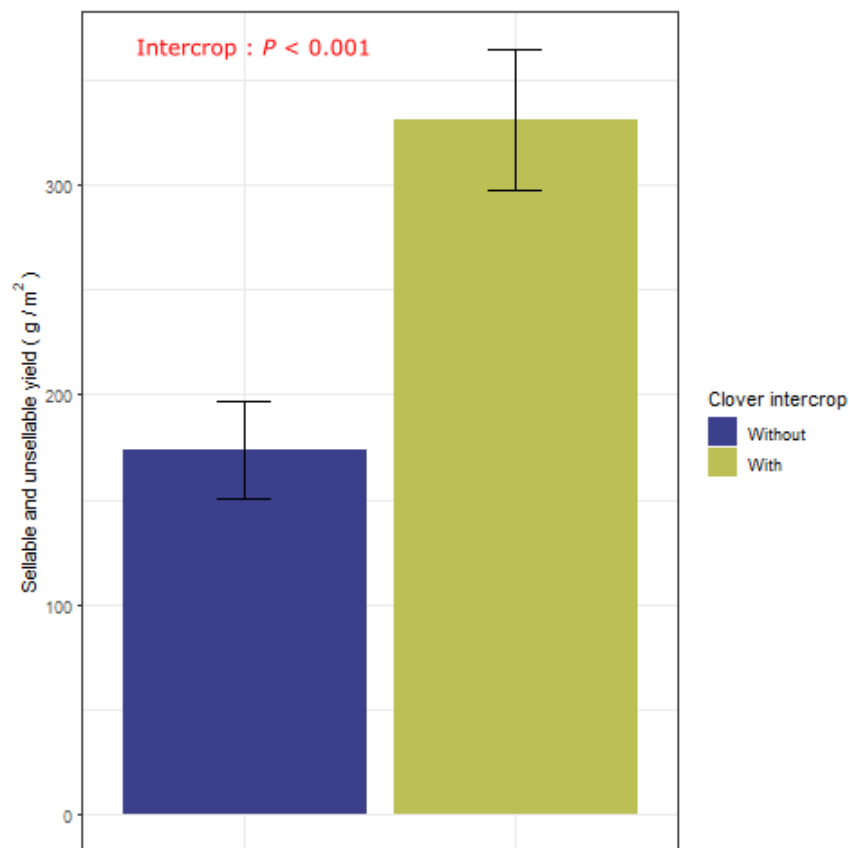


Figure 6. Mean total yield (g / m<sup>2</sup>) of sellable and unsellable maize crops combined, for plots in which a clover intercrop was present and those in which it was absent. Error bars define standard error on the mean.

## 2.5 – Discussion

### *Effects of fertilization and intercropping on Brassica roots colonization and productivity*

In the present study, we investigated the interaction between a highly mycotrophic *T. repens* intercrop culture and two NM *B. oleracea* crops, namely broccoli (var. *italica*) and cabbage (var. *capitata*), in an agroecosystem. Contrary to our initial assumption, the presence of an AMF host intercrop was not necessary for the infection of *B. oleracea* roots. This is contrary to findings in previous microcosm experiments, where inoculated NM Brassicaceae plants typically remain uncolonized unless mycotrophic plants in the vicinity are supporting an AMF network (Fernández et al., 2019; Hirrel et al., 1978; Veiga et al., 2013), although AMF hyphae and vesicles were observed in sole-cropped Brassicaceae in a few instances (Demars & Boerner, 1996). Infection of *Brassica* crops in non-intercropped plots in this study may be caused by the growth of mycorrhizal weeds in these plots, which could not be perfectly eliminated via hand weeding. In plots without an intercrop, this small number of leftover weeds could have still supported a mycorrhizal network near the *Brassica* roots, thus enabling their infection by AMF propagules. Still, more of the sampled broccoli plants were found to be colonized by AMF in intercropped plots (Figure 2), although this trend was not statistically significant (Table S2a). A developed and active AMF network maintained by clover, which was well established at the time of planting may have been favorable to the early infection of more root systems. The very marginal presence of arbuscules in colonized broccoli is in line with previous microcosm experiments conducted on broccoli (Tanwar et al., 2014) and another cabbage variety (Newman & Ritz, 1986; Ocampo, 1980), and suggests that this colonization may not result in any significant nutritional relationship between the *Brassica* crops and AMF (Fernández et al., 2019; Marx et al., 1982). To our knowledge, this study presents, for the first time, a photograph of arbuscules in *B. oleracea* root tissues (Figure 1). Interestingly, while more Broccoli crops were infected by AMF in intercropped plots early on, these crops were colonized at a lesser extent (Table S2b) than those in plots without clover (Figure 3). While this has not been tested in our study specifically, this may be due to the AMF preferential allocation of nutrients to plants offering higher carbon rewards, as demonstrated by Fellbaum et al. (2014), although Walder et al. (2012) and Knegt et al. (2016) have shown contradicting results in terms of preferential hyphal biomass allocation in roots. To our knowledge, a similar study has yet to be

conducted on a non-host and host plant pair in which the host features varying levels of mutualism. Here, in intercropped plots, white clover should provide AMF with a significant source of C, unlike *B. oleracea*, thus AMF which have colonized both may prefer to allocate growth in the former. In non-intercropped plots, on the other hand, quality hosts may be sparser, considering the lesser cover and the NM phenotype of some weeds (Jordan et al., 2000; Rinaudo et al., 2010). Later in the season (i.e. at cabbage's mid-growth, 81 days post-transplant), most cabbage crops showed AMF colonization in their roots, with a high prevalence of vesicles. While more cabbage may have been colonized compared to broccoli simply due to their longer time growing in field pre-sampling, we cannot exclude the crop type as an explanatory factor. After all, glucosinolate profiles may differ from broccoli to cabbage and impact their interaction with AMF differently (Sharma et al., 2023). The same can be said for the sudden high counts of vesicles in cabbage, which suggests that *B. oleracea* roots may act as a storage unit for AMF propagules formed of C derived from better hosts (Lekberg et al., 2010, 2015), or that it may simply be a product of the use of a different crop type. Still, we cannot exclude the possibility that AMF may have obtained at least some of this C from the NM host's tissues (Lekberg et al., 2015). As for yield, the lack of statistical significance of the observed negative effect of the intercrop on broccoli and cabbage productivity (Figure 4) may be due to the high variability and relatively low observation count of our data (Table S2c). Intercropping may have impacted *Brassica* yields through 1) induced increase of root infection by an AMF network supported by a host intercrop, which has been shown in other cases to reduce productivity (Ocampo, 1986; Veiga et al., 2013) and/or 2) direct competition for soil nutrients. As our soil nutrient analyses have shown, soil nitrate levels plummeted after the transplant date and remained low until harvests, regardless of the applied fertilizer dose (Figure S6a). In this study, the full nitrate fertilizer dose represented the minimum recommended dose for broccoli culture, and was below recommendations for cabbage culture split application (CRAAQ, 2013). The observed yellowing of leaves (not measured), characteristic of nitrate deficiency (Veazie et al., 2020; Wei et al., 2012), and overall low nitrate levels (Figure S6a) in all plots might explain both the lack of a significant effect of fertilizer dose on yield (Table S2c), and support clover's potential competition for nutrients with the *Brassica* crops, as intercropped clover has been shown to compete for nitrate with a main crop in some instances, despite acquiring nitrate through nitrogen fixation (Thorsted et al., 2006). Still, these results suggest that the presence of an intercrop was not a major driver of broccoli and cabbage yield.

### *Effects of intercropping and fertilization on maize root colonization and productivity*

While the colonization and extensive production of vesicles in *Brassica* roots growing without an intercrop suggest that some AMF could acquire C through their association with alternative hosts, *Brassica* monocultures may still impact AMF populations through fungal antagonist production (Schreiner & Koide, 1993; Sharma et al., 2023) and reduced symbiont availability. This may be why intercropping significantly increased AMF hyphae and arbuscule colonization levels in maize roots from emergence to flowering (Figure 5, Table S2d-e). The use of a persistent intercrop through both phases of the rotation may have 1) helped preserve AMF populations, especially through a NM crop rotation, and 2) led to the early development of an active mycorrhizal network before maize sowing, as the clover culture was already well established at that time. This ensures high levels of maize root colonization by AMF early in the season, as pre-established AMF networks are readily available for the infection of new roots through their ERM, which typically leads to earlier and faster colonization than with other propagules (Brito et al., 2019; Goss et al., 2017). This shorter colonization delay seems even more apparent in plots which had a cabbage culture history, compared to broccoli (Figure 5), although the difference in colonization earliness depending on crop type was not statistically significant (Table S2d). This slight possible legacy effect of crop type may be explained by the longer period during which cabbage was present in the soil compared to broccoli, thus maintaining its negative effect on AMF populations for a longer period, and/or by the different glucosinolate profiles found in *B. oleracea* varieties (Carlson et al., 1987; Verkerk et al., 2009), which may negatively impact AMF populations differently (Sharma et al., 2023).

The higher levels of AMF colonization observed in intercropped plots early in the season result in more mutualistic interactions between them and their host through arbuscules. Since maize is highly dependent on mycorrhiza to acquire its nutrients (Tawaraya, 2003), this can lead to better nutrition of maize crops in their early stages (Gavito & Miller, 1998b). Studies have shown the importance of constant maize nutrition throughout the growing season, as early P deficiency can lead to lower yields (Grant et al., 2001). As such, this improved early nutrition through AMF exchange may, at least in part, explain higher yields in the presence of the intercrop (Figure 6, S2f). Studies have shown, however, that legume intercrops can influence the productivity of cereals (e.g., maize, millet, wheat) via other mechanisms such as improved N nutrition through

biological fixation by the legume (Kramberger et al., 2014) or improved weed control (Abdin et al., 2000). Our experiment does not allow to tease apart these mechanisms from the effect of early AMF colonization of maize plants. It must thus be reminded that our correlation between intercrop presence and maize yield cannot be interpreted as a causal link.

It must also be noted that due to expected benefits of the intercrop through arbuscular mycorrhizal symbiosis establishment and biological N fixation, only half of the recommended N dose for maize was applied in the field in the post-emergence phase. This has led to most maize ears being considered unsellable, most probably due to such low inputs (and potentially overly late sowing date). Further studies manipulating N application rates along with a clover intercrop are needed to optimize this management practice of including a clover intercrop when growing maize in rotation with a *Brassica*.

## 2.6 – Conclusion

Our trial showed that, contrary to prior studies conducted in microcosms, *B. oleracea* crops could be infected with AMF hyphae and vesicles when grown in an agricultural field, even without the co-culture of mycorrhizal hosts. This was probably due to the minimal presence of weeds found in hand-weeded natural agroecosystems, which seemed to supply AMF enough C for entry in *Brassica* roots and even plenty vesicle formation in cabbage roots. When intercropped with white clover, broccoli root tissues were more likely to be invaded due to the presence of an active network earlier in the growing season, but this interestingly led to lower root colonization intensity earlier on, which may be due to AMF investing biomass preferentially in the better host, the clover intercrop. Neither broccoli nor cabbage seemed to benefit from AMF colonization; in contrary, the presence of a clover intercrop may have been slightly detrimental to broccoli and cabbage yield whether it be through higher AMF colonization occurrence or direct competition, although this effect was less clear.

Maize cultivated with this persistent intercrop during the subsequent phase of the rotation were colonized at higher levels early on and showed higher yields in plots where an intercrop was present. Here, an established AMF network at the time of planting probably permitted this earlier



mycorrhization and may have reduced the colonization delay associated with a history of Brassicaceae culture. This earlier colonization should lead to efficient nutrient acquisition early in the growing season, which may explain the higher maize yields in intercropped plots.

As such, intercropping persistent mycorrhizal cultures with *Brassica* cultures may help reduce their negative impact on soil AMF future inoculum, as well as on the subsequent mycorrhizal hosts which benefit nutritionally from them, but needs to be implemented cautiously as to limit growth depression in the former. At the very least, this study solidifies the great potential of cultivating maize with preestablished mycorrhizal plants to maximize yield through their association with AMF in low input systems. We recommend a higher scale agronomic study to assess the economic potential of such a practice more accurately.

## 2.7 – Supplementary materials

Table S1. Inital physico-chemical properties of L'Acadie experimental farm's soil, as measured in autumn 2021.

% O.M *	Mean pH	Ca * (ppm)	Cu * (ppm)	K * (ppm)	Mg * (ppm)	Mn * (ppm)	P * (ppm)	Zn * (ppm)	Mean bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	Annual precipitations (mm) **	Mean annual temperature (°C) **
3.1	5.97	4984	2.58	254	354	24	194	1.34	1.52	785.44	7.80

\* Analysis provided by external firms

\*\* Source: Historical Data, Environment and natural resources, Government of Canada, available:

[https://climate.weather.gc.ca/historical\\_data/search\\_historic\\_data\\_e.html](https://climate.weather.gc.ca/historical_data/search_historic_data_e.html)

Table S2. Statistical models for effects of applied treatments on A) proportion of broccoli colonized by AMF, B) *Brassica* crops AMF colonization intensity, C) *Brassica* crops yields, D) Maize root colonization level by hyphae, E) Maize root colonization level by arbuscules, F) Maize overall yield.

A) Count of broccoli colonized by AMF at mid-growth (Count Col Bro D36) and at harvest date (Count Col Bro D64) *glmm*'s using Poisson distribution and log identity link function with the presence of a clover intercrop (IntercropY), half fertilizer dose (FertilizationH) and their interaction (IntercropY: FertilizationH) as predictors, and block as a random effect. Bro D64 model encountered underdispersion of residuals and singular fit.

<i>Predictors</i>	Count Col Bro D36			Count Col Bro D64		
	<i>Incidence Rate Ratios</i>	<i>CI</i>	<i>P</i>	<i>Incidence Rate Ratios</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	0.75	0.24 – 2.33	0.618	1.25	0.52 – 3.00	0.618
IntercropY	2.33	0.60 – 9.02	0.220	1.80	0.60 – 5.37	0.292
FertilizationH	2.33	0.60 – 9.02	0.220	0.80	0.21 – 2.98	0.739
IntercropY:FertilizationH	0.55	0.10 – 2.94	0.486	1.25	0.25 – 6.23	0.785
<b>Random Effects</b>						
$\sigma^2$	0.48			0.47		
$\tau_{00}$	0.00 <sub>Bloc</sub>			0.00 <sub>Bloc</sub>		
N	4 <sub>Bloc</sub>			4 <sub>Bloc</sub>		
Observations	16			16		
Marginal R <sup>2</sup> / Conditional R <sup>2</sup>	0.278 / NA			0.228 / NA		

B) AMF root colonization intensity *glmm* for broccoli colonized by AMF at mid-growth (Col Bro D36) using Poisson distribution and log identity link function, as well as *lmer*'s for broccoli at harvest date (Col Bro D64) and cabbage at mid growth (Col Cab 81), with the presence of a clover intercrop (IntercropY), half fertilizer dose (FertilizationH) and their interaction (IntercropY: FertilizationH) as predictors, and block as a random effect.

Predictors	Col Bro D36 ( <i>glmm</i> )			Col Bro D64 ( <i>lmer</i> )			Col Cab D81 ( <i>lmer</i> )		
	Incidence Rate Ratios	CI	<i>p</i>	Estimates	CI	<i>p</i>	Estimates	CI	<i>p</i>
(Intercept)	24.80	14.77 – 41.64	<0.001	3.35	0.84 – 5.86	0.015	7.50	0.98 – 14.02	0.028
IntercropY	0.30	0.19 – 0.48	<0.001	0.15	-3.16 – 3.46	0.919	0.75	-8.47 – 9.97	0.860
FertilizationH	0.95	0.68 – 1.31	0.737	-	-3.88 – 3.19	0.828	3.00	-	0.485
IntercropY : FertilizationH	1.56	0.88 – 2.75	0.126	3.84	-0.83 – 8.52	0.095	-1.25	-	0.835
								14.29 – 11.79	
<b>Random Effects</b>									
$\sigma^2$	0.06			3.52			34.23		
$\tau_{00}$	0.21	Bloc		0.05	Bloc		0.00	Bloc	
ICC	0.77			0.01					
N	4	Bloc		4	Bloc		4	Bloc	
Observations	13			14			16		
Marginal R <sup>2</sup> / Conditional R <sup>2</sup>	0.493 / 0.883			0.459 / 0.467			0.045 / NA		

C) Broccoli (Bro c-yield) and cabbage (Cab c-yield) centered yield *lmer*'s with the presence of a clover intercrop (IntercropY), half fertilizer dose (FertilizationH) and their interaction (IntercropY: FertilizationH) as predictors, and block as a random effect.

<i>Predictors</i>	<b>Bro c-yield</b>			<b>Cab c-yield</b>		
	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	0.25	-0.78 – 1.28	0.593	0.21	-0.95 – 1.37	0.689
IntercropY	-0.78	-2.08 – 0.52	0.210	-0.49	-2.10 – 1.11	0.505
FertilizationH	0.55	-0.75 – 1.85	0.364	0.32	-1.29 – 1.92	0.667
IntercropY:FertilizationH	-0.56	-2.40 – 1.28	0.510	-0.49	-2.76 – 1.78	0.636
<b>Random Effects</b>						
$\sigma^2$	0.66			1.01		
$\tau_{00}$	0.17 <sub>Bloc</sub>			0.04 <sub>Bloc</sub>		
ICC	0.20			0.04		
Observations	16			16		
Marginal R <sup>2</sup> / Conditional R <sup>2</sup>	0.288 / 0.434			0.135 / 0.168		

D) Maize AMF hyphae colonization levels (%) GAM, with the presence of intercrop (InterYes) and crop history of cabbage or broccoli (PrevCropCab or PrevCropBro) as parametric predictors, as well as their interaction and that of the random block effect on the smooth of colonization level by date (s(date)). The model was estimated using a quasi-binomial distribution with logit link function, through the restricted maximum likelihood (REML) method.

Component	Term	Estimate	Std Error	t-value	p-value
A. parametric coefficients	(Intercept)	-5.282	0.048	-110.611	0.0000***
	InterYes	0.441	0.042	10.530	0.0000***
	PrevCropCab	-0.061	0.040	-1.531	0.1274
Component	Term	edf	Ref. df	F-value	p-value
B. smooth terms	s(date):InterNo	2.617	5.000	21.304	0.0000***
	s(date):InterYes	1.995	5.000	3.992	0.0000***
	s(date):PrevCropBro	0.001	5.000	0.000	0.5178
	s(date): PrevCropCab	0.001	5.000	0.000	0.4797
	s(block)	2.032	3.000	2.148	0.0256*
Signif. codes: 0 <= '***' < 0.001 < '**' < 0.01 < '*' < 0.05					
Adjusted R-squared: 0.566, Deviance explained 0.562					
-REML : -617.602, Scale est: 0.000481, N: 192					

E) Maize AMF arbuscule colonization levels (%) GAM, with the presence of intercrop (InterYes) and crop history of cabbage or broccoli (PrevCropCab or PrevCropBro) as parametric predictors, as well as their interaction and that of the random block effect on the smooth of colonization level by date (s(date)). The model was estimated using a quasi-binomial distribution with logit link function, through the restricted maximum likelihood (REML) method.

Component	Term	Estimate	Std Error	t-value	p-value
A. parametric coefficients	(Intercept)	-0.835	0.132	-6.322	0.0000***
	InterYes	1.023	0.123	8.286	0.0000***
	PrevCropCab	0.002	0.121	0.016	0.9869
Component	Term	edf	Ref. df	F-value	p-value
B. smooth terms	s(date): InterNo	1.924	5.000	15.080	0.0000***
	s(date): InterYes	2.492	5.000	9.641	0.0000***
	s(date): PrevCropBro	0.000	5.000	0.000	0.7567
	s(date): PrevCropCab	0.000	5.000	0.000	0.9393
	s(block)	1.770	3.000	1.483	0.0600.
Signif. codes: 0 <= '***' < 0.001 < '**' < 0.01 < '*' < 0.05					
Adjusted R-squared: 0.541, Deviance explained 0.530					
-REML : -73.266, Scale est: 0.147, N: 192					

F) Maize overall yield LMER model comparison (with intercrop as sole predictor, versus with intercrop, previous crop type history and interaction as predictors), with blocks as random effect. The simpler model was selected for analysis for its lower AIC.

Predictors	Centerd_overall_yield			Centered_overall_yield		
	Estimates	CI	p	Estimates	CI	p
(Intercept)	-0.56	-1.05 – -0.08	<b>0.024</b>	-0.33	-0.97 – 0.32	0.305
IntercropY	1.13	0.55 – 1.71	<b>&lt;0.001</b>	0.83	-0.00 – 1.66	0.051
CropC				-0.48	-1.31 – 0.36	0.250
CropC:IntercropY				0.60	-0.57 – 1.78	0.303
<b>Random Effects</b>						
$\sigma^2$	0.64			0.65		
$\tau_{00}$	0.06	Block		0.06	Block	
ICC	0.09			0.09		
N	4	Block		4	Block	
Observations	32			32		
Marginal R <sup>2</sup> / Conditional R <sup>2</sup>	0.318 / 0.380			0.334 / 0.392		
AICc	88.632			92.978		

Figure S1. Field- (A) and plot-wide (B) overview of the experimental design for the 2021 *Brassica* rotation. \* Broccoli crops were spaced 0.20 m apart, while cabbage crops were 0.40 m apart.

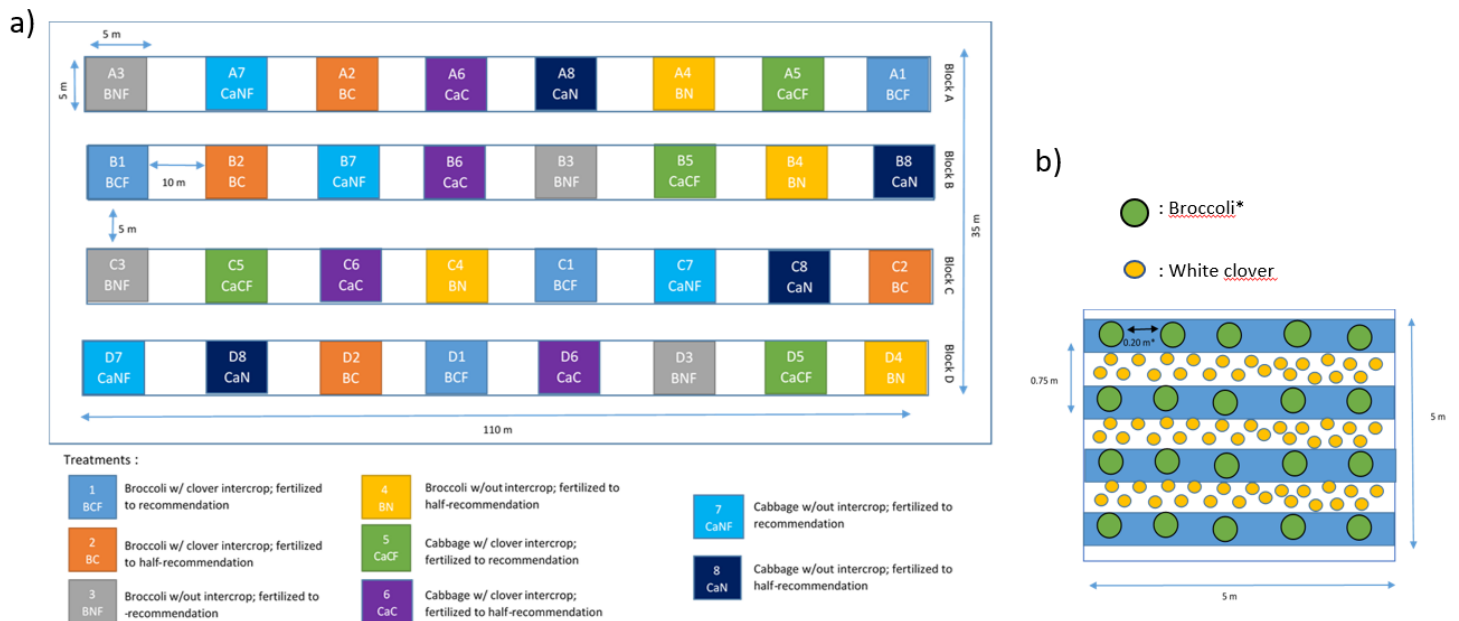


Figure S2. Overall AMF colonization levels and AMF arbuscule colonization levels of broccoli at mid-growth (Bro D36), harvest (Bro D64) and cabbage at mid-growth (Cab 81), regardless of the applied treatments.

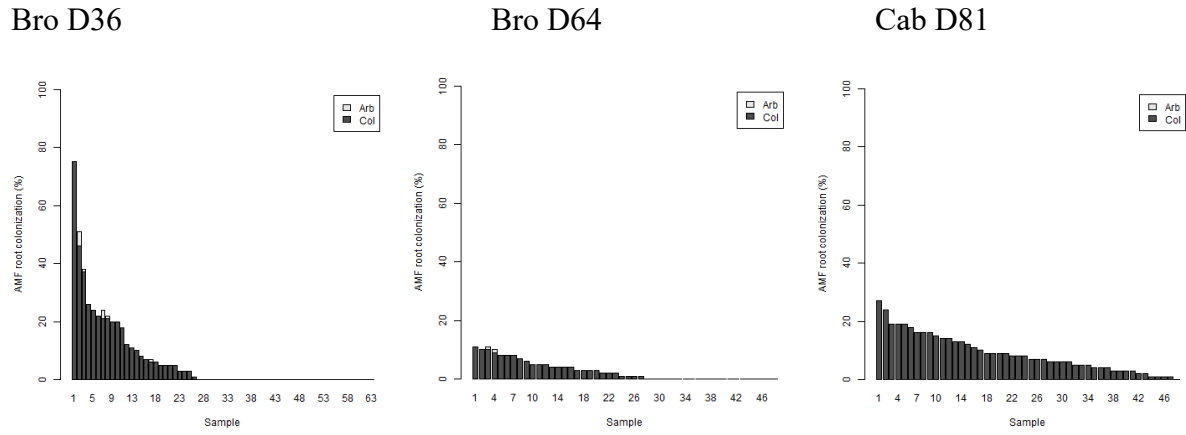


Figure S3. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), dark septate endophyte (DSE) and other endophyte root colonization levels (%) of broccoli at mid-growth (Bro D36), harvest (Bro D64) and cabbage at mid-growth (Cab 81), for each treatment combination.

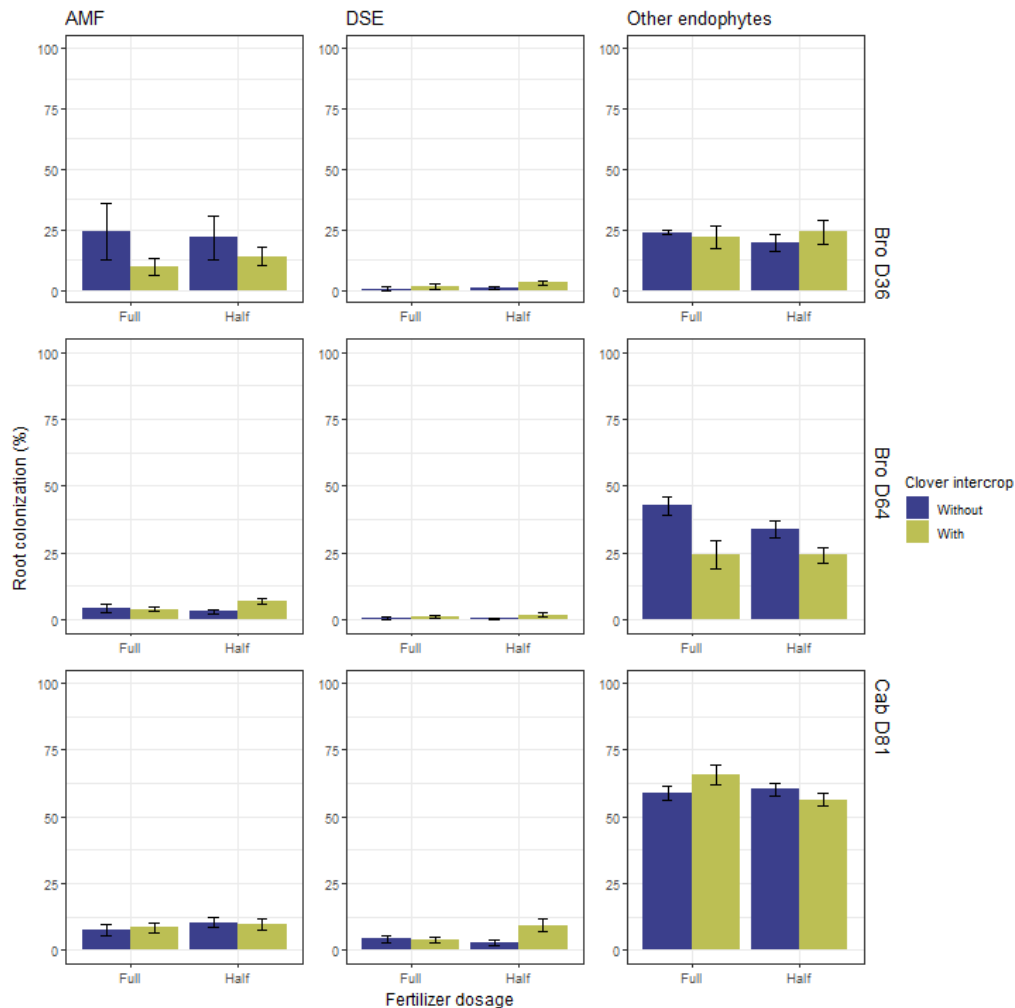




Figure S4. Mean sellability percentage (%) of maize ears per plot, separated by the presence or absence of intercrop and previous crop type. Error bars define standard error on the mean.

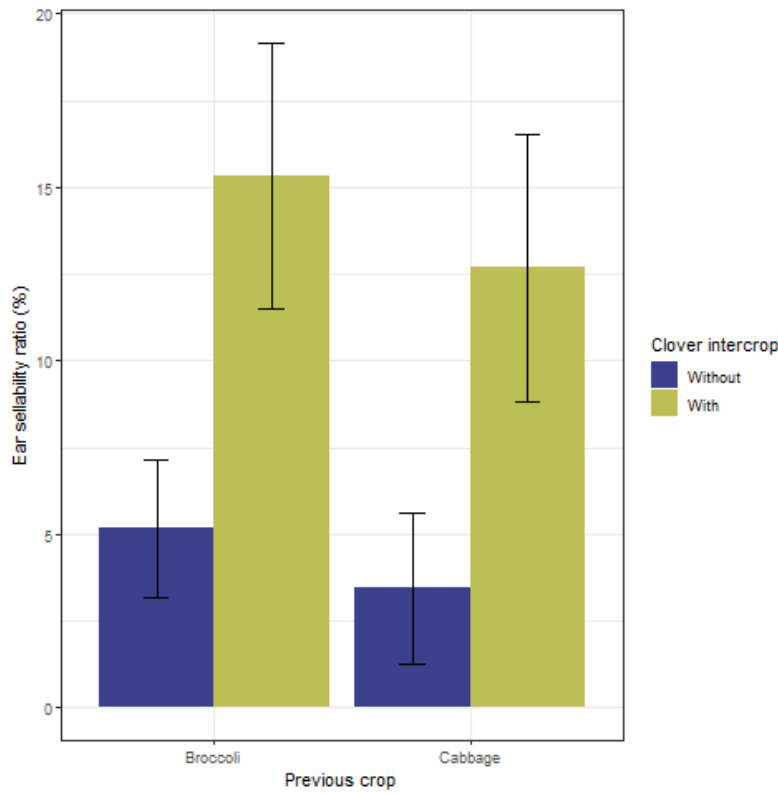
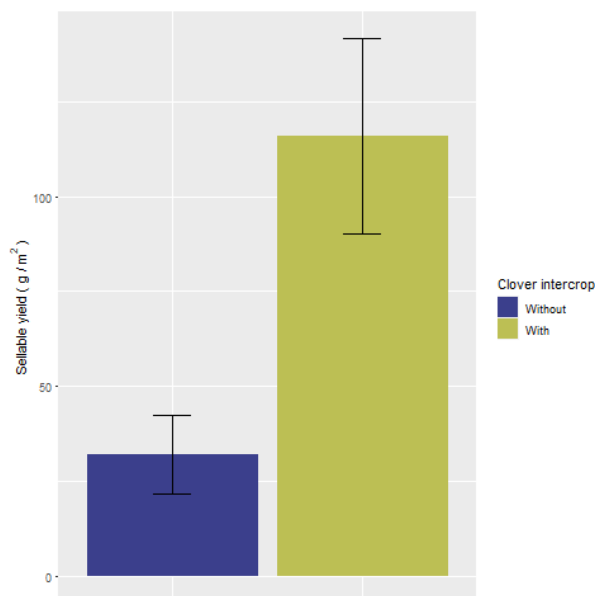


Figure S5. Mean total yield ( $\text{g} / \text{m}^2$ ) per plot of sellable (a) and unsellable (b) maize crops, for plots in which a clover intercrop was present and those in which it was absent. Error bars define standard error on the mean.

a)



b)

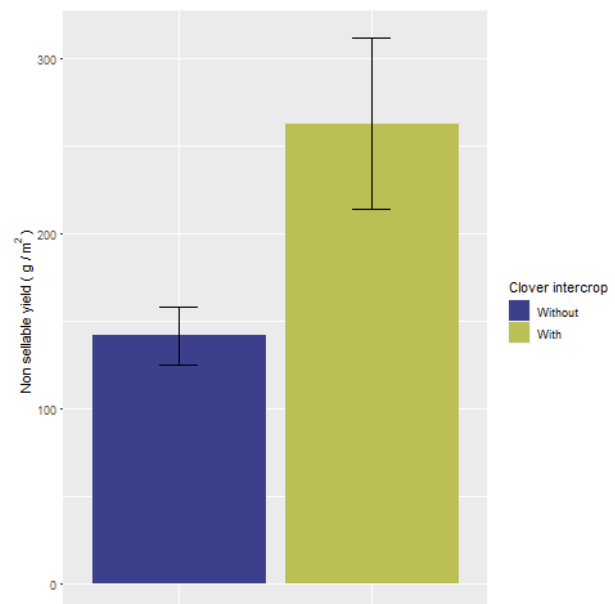
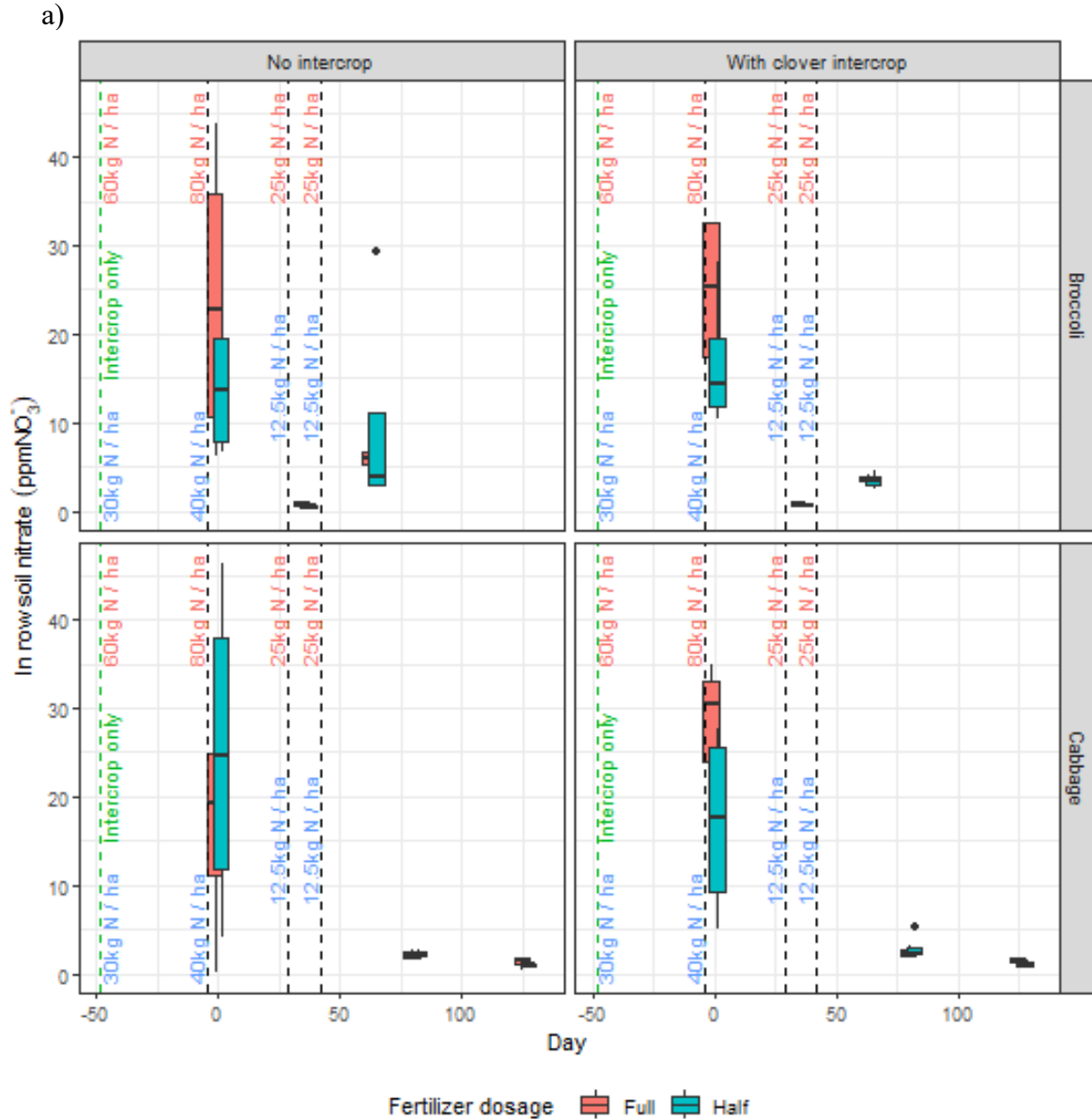
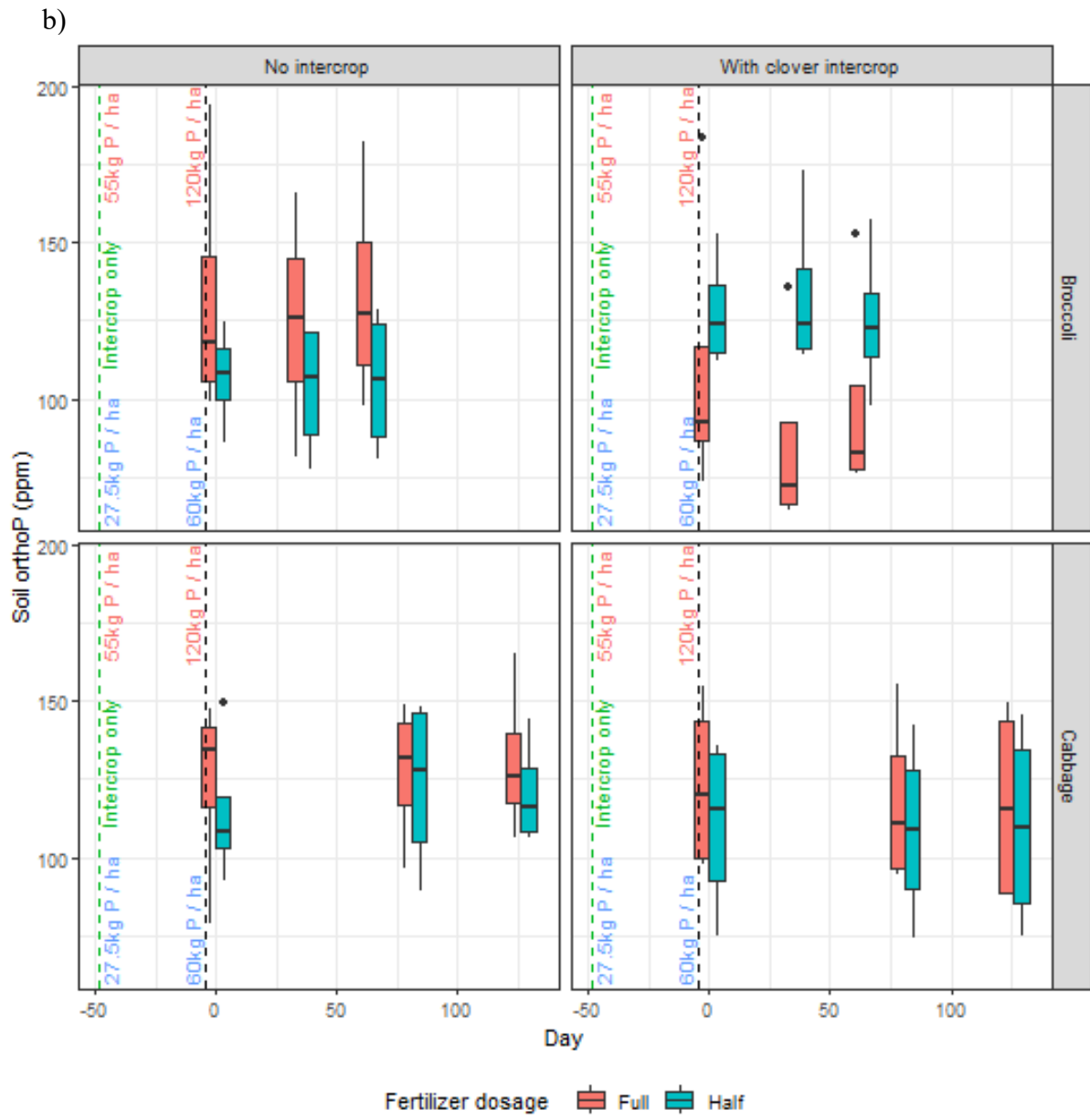


Figure S6. In-row soil nitrate (a) and plot soil orthophosphate (b) levels (ppm) of depending on the crop type, presence or absence of intercrop, and fertilizer dose (half as red bars and full as blue bars), as measured via digestion (Maynard et al., 2007) and Mehlich-III methods (Mehlich, 1984) respectively. Fertilizer application times and doses are represented by the dotted lines and with red (full dose) and blue text (half dose), respectively.







## Chapitre 3 – Discussion générale

### 3.1 – Retour sur les objectifs et les hypothèses de l'étude

Au cours de ce projet de maîtrise, nous avons préalablement répondu à plusieurs questions concernant les interactions entre les CMA, les cultures de *B. oleracea* et une culture subséquente de maïs sucré lorsqu'en culture intercalaire avec du trèfle blanc, directement en agroécosystème. Les résultats obtenus au terme de ce projet de maîtrise seront solidifiés par l'équipe d'AAC lors du cumul des résultats des deux autres réplifications de ce plan expérimental sur différents champs agricoles en 2022-2023 et en 2023-2024.

#### 3.1.1 – Le profil de colonisation et les rendements de cultures de brocoli et de chou en association avec une culture mycorhizienne

La première année (2021), nous avons cultivé du brocoli (*B. oleracea* var. *italica*) et du chou (*B. oleracea* var. *capitata*) dans des parcelles (1) semées d'une culture de couverture intercalaire de trèfle blanc (*T. repens*) ou sans culture de trèfle et (2) à pleine ou demi-dose de fertilisants. Le but de ce concept expérimental était d'évaluer l'effet, en agroécosystème, d'une culture de couverture intercalaire mycorhizienne (ici, le trèfle) sur le profil de colonisation racinaire par les CMA et sur les rendements du brocoli et du chou, sous différents régimes de fertilisation. La culture mycorhizienne d'entre-rang a le potentiel de promouvoir la persistance de CMA dans le champ lors de (et après) la culture de plantes non-mycorhiziennes (voir l'objectif 2), mais il est important d'évaluer son impact direct sur la culture non-mycorhizienne. Notamment, les études en pots démontrent qu'une culture intercalaire mycorhizienne peut promouvoir la colonisation de Brassicaceae (Ocampo et al., 1980; Veiga et al., 2013), ce qui peut causer une baisse de productivité (Ocampo, 1986; Veiga et al., 2013). Mais qu'en est-il de ces interactions en champ agricole, où les conditions de croissance sont beaucoup plus complexes?

Hypothèse 1 : La culture de couverture intercalaire de trèfle et la fertilisation réduite permettront ou augmenteront la colonisation par les CMA des racines des deux variétés de *B. oleracea*.

Cette hypothèse est à la fois confirmée et infirmée. Plus de systèmes racinaires de brocoli furent en effet colonisés par des CMA dans les traitements avec trèfle plutôt que sans, quoique ce patron

était non statistiquement significatif, potentiellement dû au faible nombre de parcelles répliquées sur le terrain. En ce sens, la culture intercalaire semble avoir permis la colonisation de plus de plants, plus rapidement. Cependant, plusieurs plants des parcelles sans culture associée étaient tout de même colonisés et, contre toute attente, plus intensément que ceux dans les parcelles avec trèfle, au milieu de la croissance des plants de brocoli. Il se peut que les CMA, dans ce cas, aient préféré investir leur biomasse dans un hôte de meilleure qualité (le trèfle, plutôt que le brocoli), soit un hôte fournissant davantage de C au partenaire fongique (Fellbaum et al., 2014). Cet effet de la culture intercalaire est cependant absent chez le chou, qui fut échantillonné plus tard dans la saison. Malgré que la grande majorité des systèmes racinaires de choux étaient colonisés, le fait que peu importe le traitement, la moyenne de la colonisation par les hyphes ne dépasse pas 15% et que les arbuscules n'ont été que rarement observés suggère qu'aucun échange nutritionnel significatif n'a lieu, entre CMA et *Brassica* (Cosme et al., 2018; Fernández et al., 2019; Marx et al., 1982). Il est donc d'autant plus surprenant d'observer autant de vésicules dans les racines de choux : les CMA ont visiblement pu trouver une source de C suffisante à la production de vésicules, même dans les parcelles sans trèfle. Ce cas montre donc l'importance d'également étudier les interactions entre les plantes non-mycorhiziennes et les CMA en terrain naturel, où les CMA ont accès à des sources de C alternatives en périphérie des plantes non-mycorhiziennes. Ici, les rares mauvaises herbes ayant persisté au désherbage manuel pourraient avoir servi d'hôtes aux CMA dans les parcelles sans trèfle, permettant ainsi leur nutrition et la colonisation des *Brassica*. De plus, les tissus en senescence des plantes non-mycorhiziennes, dépourvus de leurs mécanismes de défense, seraient susceptibles à la colonisation par les CMA (Glenn et al., 1985; Veiga et al., 2013), permettant ainsi l'infection de certaines portions des racines de *Brassica* dans les parcelles sans trèfle. L'effet de la fertilisation, cependant, est moins marqué. Les CMA semblent avoir colonisé plus de plants de brocoli en mi-saison dans les parcelles mi-fertilisées; un effet qui s'est estompé au temps de la récolte, possiblement puisque les concentrations de nutriments étaient très similaires à ce moment dans le sol de toutes les parcelles, malgré le traitement différentiel.

Hypothèse 2 : La culture intercalaire de trèfle aura un impact sur les rendements des deux variétés de *B. oleracea*, qu'il soit positif ou négatif.

Puisque la culture intercalaire comporte différents facteurs qui affectent la productivité, il est difficile d'en découpler les effets avec notre plan expérimental. Ici, la culture intercalaire de trèfle

semble avoir légèrement réduit, de manière non statistiquement significative, le rendement des *Brassica*, mais les résultats sont ponctués d'une grande variance. Il est probable qu'un cumul d'effets négatifs (e.g. compétition pour les ressources, promotion de la colonisation par les CMA) et positifs (e.g. protection contre les pathogènes (Theunissen et al., 1995), enrichissement en N (Cong et al., 2015), contrôle des mauvaises herbes (Singh et al., 2010)) liés à la présence d'une culture intercalaire de trèfle ait mené à la variance et baisse de rendements observées. Ici, il est possible que le plus haut taux de plants colonisés en début de saison par les CMA ait impacté les rendements totaux, puisque la colonisation de Brassicaceae en culture intercalaire a été associée à une baisse des rendements (Ocampo, 1986; Veiga et al., 2013). De plus, il se peut bien que le trèfle ait compétitionné pour l'eau ou pour l'azote, malgré sa capacité à fixer biologiquement l'azote (Thorsted et al., 2006), vu la relativement faible dose de nitrates appliquée, même dans les parcelles au régime de fertilisation pleine. Dû à un problème de communication, les taux d'azote qui ont été appliqués aux champs étaient en dessous de la norme et particulièrement bas pour le chou; les résultats obtenus, même pour le traitement à pleine dose de fertilisants, sont donc plus représentatifs d'une culture à bas intrants, que conventionnelle. La différence insuffisante entre les concentrations de nitrates appliquées pourrait également expliquer l'absence d'un effet sur les rendements de la fertilisation.

### 3.1.2 – La cinétique de colonisation et les rendements d'une culture de maïs en association avec une culture mycorhizienne persistante, suite à une rotation non-mycorhizienne de *Brassica oleracea*

La deuxième année (2022), nous avons cultivé du maïs sucré (*Zea mays* L.) dans les mêmes parcelles, en présence d'une culture associée de trèfle blanc persistant de l'année précédente, ou sans trèfle. Le but de ce deuxième volet à notre expérience était d'évaluer l'effet d'une culture intercalaire mycorhizienne persistante (ici, le trèfle) sur la cinétique de colonisation racinaire par les CMA et sur les rendements du maïs, après une culture de *B. oleracea*. Tel que démontré par Ocampo (1980), Gavito & Miller (1998a) et Fontenla et al. (1999), une culture de Brassicaceae a le potentiel de réduire l'inoculum de CMA au sol, menant à un délai ou réduction de la mycorhization des plants prochainement cultivés dans le même sol. Cette réduction ou ce délai de mycorhization peut se traduire en une baisse de rendements chez le maïs (Arihara & Karasawa,

2000), d'où l'intérêt de tenter d'atténuer l'impact de la culture de Brassicaceae via une culture intercalaire mycorhizienne. Récemment, Higo et al., 2018 ont démontré le potentiel de l'utilisation d'une culture de couverture mycorhizienne préétablie lors de la culture de maïs, pour favoriser la mycorhization rapide et la productivité de cette culture. Ici, nous avons appliqué un principe similaire pour tester l'impact d'une culture de couverture intercalaire mycorhizienne préétablie, spécifiquement après une rotation de deux variétés de *Brassica* différentes.

Hypothèse 1 : La culture intercalaire de couverture de trèfle persistant augmentera l'intensité et/ou la précocité de colonisation par les CMA des racines de la culture de maïs, suivant une rotation de *B. oleracea*.

Cette hypothèse est confirmée par les résultats de notre étude; les systèmes racinaires de maïs étaient colonisés par des hyphes et arbuscules de CMA à de plus hauts niveaux tôt en saison et atteignaient un plateau de colonisation plus rapidement dans les parcelles comportant une culture intercalaire de trèfle que dans celles qui n'en avaient pas. Les tests statistiques et la visualisation montrent que cet effet est fort et clair, à la fois pour l'observation d'hyphes et d'arbuscules dans les racines. La présence d'une culture de couverture intercalaire mycorhizienne bien établie au début de la croissance du maïs suggère qu'un réseau d'hyphes extra-racinaire de CMA actif était disponible pour l'infection rapide et efficace du maïs, tôt en saison (Brito et al., 2019; Goss et al., 2017). Le type de *Brassica* cultivé à l'année précédente semble aussi avoir eu un impact sur le délai de colonisation par les hyphes, quoique cet effet est plus faible et moins clair ( $P = 0.1274$ ). Les parcelles où du chou était précédemment cultivé seul semblent montrer un délai plus prononcé que celles où du brocoli était cultivé. Cet effet serait cohérent avec la littérature, puisque le chou est resté au champ pour une période près de deux fois plus longue que le brocoli, et aurait donc pu produire dans ses tissus racinaires plus de glucosinolates totaux, nuisibles aux CMA du sol (Schreiner & Koide, 1993; Sharma et al., 2023; Vierheilig & Ocampo, 1990), pendant une plus longue période. Toujours en est-il que cet effet semble faible et n'affecte pas significativement la productivité du maïs; l'importance relative du type de *Brassica* planté à la rotation précédente est donc moindre par rapport à l'impact de la présence d'une culture intercalaire mycorhizienne. Cependant, il est impossible de découpler les effets respectifs du trèfle et d'une rotation précédente de Brassicaceae non-mycorhizienne (peu importe la variété) sur le délai de mycorhization du maïs, dans notre étude.



Hypothèse 2 : La culture intercalaire de trèfle persistant augmentera les rendements de la culture de maïs, suivant une rotation de *B. oleracea*.

Cette hypothèse est également confirmée par nos résultats. Les rendements totaux (la somme des masses des épis considérés vendables et non vendables) étaient significativement plus élevés dans les parcelles où le trèfle était présent. Ces résultats sont probablement au moins en partie dus à la mycorhization plus rapide des plants lorsque cultivés en intercalaire, ce qui a été associé à l'amélioration de la nutrition du maïs en début de saison et ainsi, à son tour, à l'augmentation des rendements du maïs (Gavito & Miller, 1998b; Grant et al., 2001). Cela dit, la culture intercalaire peut aussi jouer plus directement un rôle clé dans l'effet observé, considérant les multiples bénéfiques associés à la culture intercalaire de maïs, lorsque bien implémentée (Abdin et al., 2000; Carver et al., 2022; Javanmard et al., 2020; Ngwira et al., 2012). Il est, encore une fois, difficile de séparer ces deux effets dans le contexte de cette étude. La culture intercalaire est d'ailleurs le seul traitement ayant eu un effet majeur. Ni la variété de *B. oleracea* préalablement cultivée (malgré un effet mineur sur la cinétique de colonisation) ni la dose de fertilisants appliqués à la rotation précédente n'ont eu d'impact sur les rendements du maïs. Il est important d'adresser aussi la basse proportion d'épis qui ont été considérés comme vendables. Les conditions de fertilisation du maïs, lors de cette étude, sont plus représentatives d'un système à intrants réduits (dose minimale recommandée par le CRAAQ (2013)) et le semis fut effectué relativement tard. La productivité s'en est vue impactée : c'est pourquoi la biomasse totale des épis a été considérée pour cette portion de l'étude, plutôt que la biomasse vendable.

### 3.2 – Perspectives et conclusion

Cette étude met en évidence le potentiel d'introduire une culture mycorhizienne d'entre-rang afin de maximiser les rendements de maïs sucré à travers les CMA dans un système à intrants réduits, après une rotation de *Brassica*. Nos résultats renforcent aussi la notion que la gestion des CMA à travers les pratiques d'agriculture de conservation est une importante stratégie pour réduire l'application de fertilisants tout en limitant l'impact sur les rendements (Rillig et al., 2019). Cependant, afin de mieux démontrer le potentiel économique de cette pratique, une étude agronomique à plus grande échelle répliquant plus exactement les méthodes typiques de la culture

du maïs sera nécessaire. L'impact de la culture intercalaire de *B. oleracea* avec du trèfle devrait aussi être évalué à grande échelle sous des conditions agronomiques afin de mieux évaluer les compromis entre les coûts et les bénéfices immédiats et futurs de ce système, ainsi que de trouver les conditions optimales à ce pairage. Aussi, il a été impossible de découpler les effets sur les rendements de la colonisation par les CMA et de la culture de trèfle dans une telle étude. Un jeu de données plus complet incluant davantage de variables directement ou indirectement affectées par l'intercalaire permettrait d'employer des méthodes statistiques utilisant une approche plus holistique, comme la modélisation par équations structurelles, afin de mieux décrire les interactions entre CMA, intercalaire et rendements.

Les résultats de ce projet de maîtrise comblent également en partie un vide dans nos connaissances au sujet des interactions entre Brassicaceae et CMA, dont la majorité des études sont effectuées en microcosmes. Le développement d'un réseau d'hyphes et d'une grande quantité de vésicules dans les racines de choux, dans les parcelles sans trèfle de notre étude, suggère que les CMA des agroécosystèmes peuvent persister à une rotation de *Brassica* dans les racines de celles-ci, via une source alternative de C. L'association avec les mauvaises herbes restantes suite au désherbage pourrait potentiellement soutenir de manière saisonnière, au moins en partie, la communauté de CMA durant les rotations incluant des *Brassica*, un mécanisme qui mériterait d'être étudié dans le futur.

Durant une culture de *Brassica*, la composition de la communauté de CMA (et ses traits fonctionnels) pourrait être modifiée selon si les CMA ont accès à un hôte mycorhizien abondant comme culture associée, ou non. Floc'h et al. (2022) ont démontré que la communauté de CMA persistait après 10 ans de monoculture de *Brassica napus*, mais que cette pratique affectait la composition de la communauté de CMA, comparativement aux rotations de *B. napus* avec des cultures mycorhiziennes. Comment la monoculture de Brassicaceae affecte la composition de la communauté de CMA, comparativement à leur culture intercalaire, est encore incertain. Puisque la modification de la communauté de CMA par la méthode de culture employée a le potentiel d'affecter la performance des plantes hôtes subséquentes de la rotation, identifier les tendances d'effet de différentes pratiques agricoles sur les communautés de CMA sera nécessaire pour maximiser les bénéfices de la gestion des CMA en agroécosystèmes. Pour mieux interpréter les relativement nombreuses études se penchant sur la modification des communautés de CMA, par

contre, il sera impératif de tisser davantage de liens entre les traits et la taxonomie des CMA. Le projet de maîtrise présent avait aussi initialement comme but de caractériser l'influence de la culture seule ou intercalaire avec une plante mycorhizienne de Brassicaceae sur la composition des communautés bactérienne, fongique et de CMA. La culture associée avec le trèfle a le potentiel de (1) modifier la composition et fonctionnalité des CMA colonisant le brocoli, le chou et le maïs, pour des CMA potentiellement plus mutualistes à travers le maintien d'une rétroaction positive de mutualisme (Bever, 2002), et (2) aider à préserver en partie la diversité de CMA lors d'une rotation de *B. oleracea* par l'effet réservoir dans les plantes hôtes, tel que suggéré par Chagnon et al. (2022). Malheureusement, ces données n'ont pas pu être produites à temps pour la publication de ce mémoire, et seront présentées dans d'autres publications. Alors que ce projet de maîtrise nous informe sur l'effet de la culture de couverture intercalaire mycorhizienne sur le potentiel d'inoculum des CMA, cet angle métagénomique nous informera sur l'impact qu'a la culture intercalaire sur la composition de la communauté de CMA, et donc par extension sur la fonctionnalité de ces symbiontes via les récentes et futures études visant à démystifier les interactions plantes-sol.

## Références bibliographiques

- Abbott, L. K., Robson, A. D., & Hall, I. R. (1983). Introduction of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi into agricultural soils. *Australian Journal of Agricultural Research*, 34(6), 741–749. <https://doi.org/10.1071/ar9830741>
- Abdin, O. A., Zhou, X. M., Cloutier, D., Coulman, D. C., Faris, M. A., & Smith, D. L. (2000). Cover crops and interrow tillage for weed control in short season maize (*Zea mays*). *European Journal of Agronomy*, 12(2), 93–102. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(99\)00049-0](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(99)00049-0)
- Agriculture and Agri-Food Canada. (2005). *Crop profile for cabbage and broccoli in Canada / Prepared by Pesticide Risk Reduction Program*. <https://publications.gc.ca/site/fra/9.692184/publication.html>
- Agriculture and Agri-Food Canada. (2019, January 18). *Intercropping – a new planting method for large-scale Prairie agriculture?* [Business plan]. <https://agriculture.canada.ca/en/news-agriculture-and-agri-food-canada/scientific-achievements-agriculture/intercropping-new-planting-method-large-scale-prairie-agriculture>
- Agriculture and Agri-Food Canada. (2020). *Agriculture and water quality* [Resource list]. <https://agriculture.canada.ca/en/environment/watershed-protection/agriculture-and-water-quality>
- Agriculture and Agri-Food Canada. (2021). *Better Grown Together*. <https://agriculture.canada.ca/en/agri-info/better-grown-together>
- Albornoz, F. E., Ryan, M. H., Bending, G. D., Hilton, S., Dickie, I. A., Gleeson, D. B., & Standish, R. J. (2021). Agricultural land-use favours Mucoromycotinian, but not Glomeromycotinian, arbuscular mycorrhizal fungi across ten biomes. *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1111/nph.17780>
- Allen, M. F., Allen, E. B., & Friese, C. F. (1989). Responses of the Non-Mycotrophic Plant *Salsola kali* to Invasion by Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *The New Phytologist*, 111(1), 45–49.

- Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1), 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00028-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00028-6)
- Andow, D. A. (1991). Vegetational Diversity and Arthropod Population Response. *Annual Review of Entomology*, 36(1), 561–586. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.36.010191.003021>
- Anthony, M. A., Celenza, J. L., Armstrong, A., & Frey, S. D. (2020). Indolic glucosinolate pathway provides resistance to mycorrhizal fungal colonization in a non-host Brassicaceae. *Ecosphere*, 11(4), e03100. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3100>
- Antoine, S., Hériché, M., Boussageon, R., Noceto, P.-A., van Tuinen, D., Wipf, D., & Courty, P. E. (2021). A historical perspective on mycorrhizal mutualism emphasizing arbuscular mycorrhizas and their emerging challenges. *Mycorrhiza*, 31(6), 637–653. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01053-2>
- Arihara, J., & Karasawa, T. (2000). Effect of previous crops on arbuscular mycorrhizal formation and growth of succeeding maize. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(1), 43–51. <https://doi.org/10.1080/00380768.2000.10408760>
- Åsman, K., Ekbom, B., & RÅmert, B. (2001). Effect of Intercropping on Oviposition and Emigration Behavior of the Leek Moth (Lepidoptera: Acrolepiidae) and the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Environmental Entomology*, 30(2), 288–294. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-30.2.288>
- Augé, R. (2004). Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. *Canadian Journal of Soil Science*, 84. <https://doi.org/10.4141/S04-002>
- Aziz, M., Mahmood, A., Asif, M., & Ali, A. (2015). Wheat-based intercropping: a review. *Undefined*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Wheat-based-intercropping%3A-a-review.-Aziz-Mahmood/ce9c32540a16f488a088f5b01ed06bc4958f6873>
- Barea, J.-M., Pozo, M. J., Azcón, R., & Azcón-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1761–1778. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri197>
- Basiru, S., Mwanza, H. P., & Hijri, M. (2020). Analysis of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Inoculant Benchmarks. *Microorganisms*, 9(1), E81. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010081>

- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., & Zhang, L. (2019). Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Plant Growth Regulation: Implications in Abiotic Stress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>
- Berta, G., Fusconi, A., Trotta, A., & Scannerini, S. (1990). Morphogenetic modifications induced by the mycorrhizal fungus *Glomus* strain E3 in the root system of *Allium porrum* L. *New Phytologist*, *114*(2), 207–215. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00392.x>
- Bethlenfalvai, G. J. (1992). Mycorrhizae and Crop Productivity. In *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture* (pp. 1–27). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/aspectpub54.c1>
- Bever, J. D. (2002). Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *269*(1509), 2595–2601. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2162>
- Björkman, M., Hambäck, P. A., Hopkins, R. J., & Rämert, B. (2010). Evaluating the enemies hypothesis in a clover-cabbage intercrop: effects of generalist and specialist natural enemies on the turnip root fly (*Delia floralis*). *Agricultural and Forest Entomology*, *12*(2), 123–132.
- Boddington, C. L., & Dodd, J. C. (2000). The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. II. Studies in experimental microcosms. *Plant and Soil*, *218*(1), 145–157. <https://doi.org/10.1023/A:1014911318284>
- Bonfante, P., & Requena, N. (2011). Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, *14*(4), 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.014>
- Bracken, M. E. S. (2019). Monocultures Versus Polycultures. In B. Fath (Ed.), *Encyclopedia of Ecology (Second Edition)* (pp. 483–486). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11169-8>
- Brito, I., Goss, M. J., Alho, L., Brígido, C., van Tuinen, D., Félix, M. R., & Carvalho, M. (2019). Agronomic management of AMF functional diversity to overcome biotic and abiotic stresses - The role of plant sequence and intact extraradical mycelium. *Fungal Ecology*, *40*, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.001>
- Brooks, M. E., Kristensen, K., Benthem, K. J. van, Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Maechler, M., & Bolker, B. M. (2017). glmmTMB Balances Speed and

Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2), 378–400.

- Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108–1115. <https://doi.org/10.1111/nph.14976>
- Carlson, D. G., Daxenbichler, M. E., VanEtten, C. H., Kwolek, W. F., & Williams, P. H. (1987). Glucosinolates in Crucifer Vegetables: Broccoli, Brussels Sprouts, Cauliflower, Collards, Kale, Mustard Greens, and Kohlrabi. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(1), 173–178. <https://doi.org/10.21273/JASHS.112.1.173>
- Carver, R. E., Nelson, N. O., Roozeboom, K. L., Kluitenberg, G. J., Tomlinson, P. J., Kang, Q., & Abel, D. S. (2022). Cover crop and phosphorus fertilizer management impacts on surface water quality from a no-till corn-soybean rotation. *Journal of Environmental Management*, 301, 113818. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113818>
- Cely, M. V. T., de Oliveira, A. G., de Freitas, V. F., de Luca, M. B., Barazetti, A. R., dos Santos, I. M. O., Gionco, B., Garcia, G. V., Prete, C. E. C., & Andrade, G. (2016). Inoculant of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (*Rhizophagus clarus*) Increase Yield of Soybean and Cotton under Field Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00720>
- Cera, A., Duplat, E., Montserrat-Martí, G., Gómez-Bolea, A., Rodríguez-Echeverría, S., & Palacio, S. (2021). Seasonal variation in AMF colonisation, soil and plant nutrient content in gypsum specialist and generalist species growing in P-poor soils. *Plant and Soil*, 468(1), 509–524. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05140-3>
- Chagnon, P.-L., Bradley, R. L., Lafond, J., Paré, M. C., & Penaud, V. (2022). Trait-based and phylogenetic filtering of arbuscular mycorrhizal fungal communities under long-term agricultural practices. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05155-w>
- Chagnon, P.-L., Bradley, R. L., Maherali, H., & Klironomos, J. N. (2013). A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends in Plant Science*, 18(9), 484–491. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.05.001>
- Choudhuri, P. (2016). Intercropping in cabbage (*Brassica Oleracea* L.var. capitata f.) for growth, yield, quality and sustainable soil health under foothills of Eastern himalayan region.

- Journal of Applied and Natural Science*, 8(4), 1740–1747.  
<https://doi.org/10.31018/jans.v8i4.1033>
- Cong, W.-F., Hoffland, E., Li, L., Six, J., Sun, J.-H., Bao, X.-G., Zhang, F.-S., & Van Der Werf, W. (2015). Intercropping enhances soil carbon and nitrogen. *Global Change Biology*, 21(4), 1715–1726. <https://doi.org/10.1111/gcb.12738>
- Cosme, M., Fernández, I., Heijden, M. G. A. V. der, & Pieterse, C. M. J. (2018). Non-Mycorrhizal Plants: The Exceptions that Prove the Rule. *Trends in Plant Science*, 23(7), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.04.004>
- CRAAQ. (2013). *Guide de référence en fertilisation, 2e édition actualisée*. <https://www.craaq.qc.ca/Publications-du-CRAAQ/guide-de-reference-en-fertilisation-2e-edition-actualisee/p/PSOL0104-PDF>
- Davison, J., Moora, M., Semchenko, M., Adenan, S. B., Ahmed, T., Akhmetzhanova, A. A., Alatalo, J. M., Al-Quraishy, S., Andriyanova, E., Anslan, S., Bahram, M., Batbaatar, A., Brown, C., Bueno, C. G., Cahill, J., Cantero, J. J., Casper, B. B., Cherosov, M., Chideh, S., ... Öpik, M. (2021). Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 231(2), 763–776. <https://doi.org/10.1111/nph.17240>
- Delaux, P.-M., Séjalon-Delmas, N., Bécard, G., & Ané, J.-M. (2013). Evolution of the plant-microbe symbiotic “toolkit.” *Trends in Plant Science*, 18(6), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.01.008>
- Delaux, P.-M., Varala, K., Edger, P. P., Coruzzi, G. M., Pires, J. C., & Ané, J.-M. (2014). Comparative Phylogenomics Uncovers the Impact of Symbiotic Associations on Host Genome Evolution. *PLOS Genetics*, 10(7), e1004487. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004487>
- Demars, B. G., & Boerner, R. E. J. (1996). Vesicular arbuscular mycorrhizal development in the Brassicaceae in relation to plant life span. *Flora*, 191(2), 179–189. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30711-9](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30711-9)
- Dodd, J. C., & Jeffries, P. (1986). Early development of vesicular-arbuscular mycorrhizas in autumn-sown cereals. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(2), 149–154. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90019-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90019-2)



- Douds, D. D., & Millner, P. D. (1999). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1), 77–93. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00031-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00031-6)
- Douds, D. D., & Schenck, N. C. (1990). Increased Sporulation of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi by Manipulation of Nutrient Regimens. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(2), 413–418.
- Drakopoulos, D., Kägi, A., Six, J., Zorn, A., Wettstein, F. E., Bucheli, T. D., Forrer, H.-R., & Vogelgsang, S. (2021). The agronomic and economic viability of innovative cropping systems to reduce Fusarium head blight and related mycotoxins in wheat. *Agricultural Systems*, 192, 103198. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103198>
- Driver, J. D., Holben, W. E., & Rillig, M. C. (2005). Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(1), 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.06.011>
- Ellouze, W., Hamel, C., Cruz, A. F., Ishii, T., Gan, Y., Bouzid, S., & St-Arnaud, M. (2012). Phytochemicals and spore germination: At the root of AMF host preference? *Applied Soil Ecology*, 60, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.004>
- Environment and Climate Change Canada. (2023). *Historical Data*. [https://climate.weather.gc.ca/historical\\_data/search\\_historic\\_data\\_e.html](https://climate.weather.gc.ca/historical_data/search_historic_data_e.html)
- Evans, D. G., & Miller, M. H. (1990). The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular—arbuscular mycorrhizal colonization of maize. *New Phytologist*, 114(1), 65–71. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00374.x>
- FAO. (2021). *Crops and livestock products*. FAOHome. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Faye, A., Dalpé, Y., Ndung'u-Magiroi, K., Jefwa, J., Ndoye, I., Diouf, M., & Lesueur, D. (2013). Evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inoculants. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(6), 1201–1208. <https://doi.org/10.4141/cjps2013-326>
- Fellbaum, C. R., Mensah, J. A., Cloos, A. J., Strahan, G. E., Pfeffer, P. E., Kiers, E. T., & Bücking, H. (2014). Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants. *New Phytologist*, 203(2), 646–656. <https://doi.org/10.1111/nph.12827>

- Fernández, I., Cosme, M., Stringlis, I. A., Yu, K., Jonge, R. de, Wees, S. M. van, Pozo, M. J., Pieterse, C. M. J., & Heijden, M. G. A. van der. (2019). Molecular dialogue between arbuscular mycorrhizal fungi and the nonhost plant *Arabidopsis thaliana* switches from initial detection to antagonism. *New Phytologist*, 223(2), 867–881. <https://doi.org/10.1111/nph.15798>
- Finch, S., & Collier, R. h. (2000). Host-plant selection by insects – a theory based on ‘appropriate/inappropriate landings’ by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 91–102. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00684.x>
- Floc’h, J.-B., Hamel, C., Laterrière, M., Tidemann, B., St-Arnaud, M., & Hijri, M. (2022). Long-Term Persistence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Rhizosphere and Bulk Soils of Non-host *Brassica napus* and Their Networks of Co-occurring Microbes. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2022.828145>
- Fontenla, S., García-Romera, I., & Ocampo, J. A. (1999). Negative influence of non-host plants on the colonization of *Pisum sativum* by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1591–1597. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00087-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00087-5)
- Galvez, L., Douds, D. D., Wagoner, P., Longnecker, L. R., Drinkwater, L. E., & Janke, R. R. (1995). An overwintering cover crop increases inoculum of VAM fungi in agricultural soil. *American Journal of Alternative Agriculture*, 10(4), 152–156. <https://doi.org/10.1017/S0889189300006391>
- Gavito, M. E., & Miller, M. H. (1998a). Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and Soil*, 198(2), 185–192. <https://doi.org/10.1023/A:1004314406653>
- Gavito, M. E., & Miller, M. H. (1998b). Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. *Plant and Soil*, 199(2), 177–186. <https://doi.org/10.1023/A:1004357322582>
- Giovannetti, M., & Sbrana, C. (1998). Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza*, 8(3), 123–130. <https://doi.org/10.1007/s005720050224>

- Glenn, M. G., Chew, F. S., & Williams, P. H. (1985). Hyphal Penetration of Brassica (Cruciferae) Roots by a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *The New Phytologist*, *99*(3), 463–472.
- Goss, M. J., Carvalho, M., & Brito, I. (2017). Chapter 6 - The Significance of an Intact Extraradical Mycelium and Early Root Colonization in Managing Arbuscular Mycorrhizal Fungi. In M. J. Goss, M. Carvalho, & I. Brito (Eds.), *Functional Diversity of Mycorrhiza and Sustainable Agriculture* (pp. 111–130). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804244-1.00006-X>
- Grant, C. A., Flaten, D. N., Tomasiewicz, D. J., & Sheppard, S. C. (2001). The importance of early season phosphorus nutrition. *Canadian Journal of Plant Science*, *81*(2), 211–224. <https://doi.org/10.4141/P00-093>
- Güneş, H., Demir, S., & Durak, E. D. (2019). Relationship between Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae families with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *KSÜ Tarım ve Doga Dergisi*, *22*(Suppl. 1), 102–108.
- Guzman, A., Montes, M., Hutchins, L., DeLaCerde, G., Yang, P., Kakouridis, A., Dahlquist-Willard, R. M., Firestone, M. K., Bowles, T., & Kremen, C. (2021). Crop diversity enriches arbuscular mycorrhizal fungal communities in an intensive agricultural landscape. *New Phytologist*, *231*(1), 447–459. <https://doi.org/10.1111/nph.17306>
- Harinikumar, K. M., & Bagyaraj, D. J. (1988). Effect of crop rotation on native vesicular arbuscular mycorrhizal propagules in soil. *Plant and Soil*, *110*(1), 77–80. <https://doi.org/10.1007/BF02143542>
- Harley, J. L., & Harley, E. L. (1987). A Check-List of Mycorrhiza in the British Flora-Addenda, Errata and Index. *The New Phytologist*, *107*(4), 741–749.
- Hart, M., Antunes, P., Chaudhary, B., & Abbott, L. (2017). Fungal inoculants in the field: Is the reward greater than the risk? *Functional Ecology*, *1*. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12976>
- Hart, M., Ehret, D. L., Krumbein, A., Leung, C., Murch, S., Turi, C., & Franken, P. (2015). Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves the nutritional value of tomatoes. *Mycorrhiza*, *25*(5), 359–376. <https://doi.org/10.1007/s00572-014-0617-0>

- He, X.-H., Critchley, C., & Bledsoe, C. (2003). Nitrogen Transfer Within and Between Plants Through Common Mycorrhizal Networks (CMNs). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(6), 531–567. <https://doi.org/10.1080/713608315>
- Helander, M., Saloniemi, I., Omacini, M., Druille, M., Salminen, J.-P., & Saikkonen, K. (2018). Glyphosate decreases mycorrhizal colonization and affects plant-soil feedback. *Science of The Total Environment*, 642, 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.377>
- Helgason, T., Daniell, T. J., Husband, R., Fitter, A. H., & Young, J. P. (1998). Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394(6692), 431. <https://doi.org/10.1038/28764>
- Higo, M., Takahashi, Y., Gunji, K., & Isobe, K. (2018). How are arbuscular mycorrhizal associations related to maize growth performance during short-term cover crop rotation? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1388–1396. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8606>
- Hijri, M. (2016). Analysis of a large dataset of mycorrhiza inoculation field trials on potato shows highly significant increases in yield. *Mycorrhiza*, 26(3), 209–214. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0661-4>
- Hirrel, M. C., Mehravar, H., & Gerdemann, J. W. (1978). Vesicular–arbuscular mycorrhizae in the Chenopodiaceae and Cruciferae: do they occur? *Canadian Journal of Botany*, 56(22), 2813–2817. <https://doi.org/10.1139/b78-336>
- Hooker, J. E., & Black, K. E. (1995). Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Components of Sustainable Soil-Plant Systems. *Critical Reviews in Biotechnology*, 15(3–4), 201–212. <https://doi.org/10.3109/07388559509147408>
- Hooker, J. E., Jaizme-Vega, M., & Atkinson, D. (1994). Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. In S. Gianinazzi & H. Schüepp (Eds.), *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems* (pp. 191–200). Birkhäuser. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8504-1\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8504-1_15)
- Igiehon, N. O., & Babalola, O. O. (2017). Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(12), 4871–4881. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8344-z>
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., & Robson, A. D. (1992). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. *New Phytologist*, 120(3), 371–380. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01077.x>

- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., & Frossard, E. (2002). Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, *12*(5), 225–234. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0163-z>
- Javanmard, A., Amani Machiani, M., Lithourgidis, A., Morshedloo, M. R., & Ostadi, A. (2020). Intercropping of maize with legumes: A cleaner strategy for improving the quantity and quality of forage. *Cleaner Engineering and Technology*, *1*, 100003. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2020.100003>
- Johnson, N. C. (1993). Can Fertilization of Soil Select Less Mutualistic Mycorrhizae? *Ecological Applications*, *3*(4), 749–757. <https://doi.org/10.2307/1942106>
- Johnson, N. C., Copeland, P. J., Crookston, R. K., & Pflieger, F. L. (1992). Mycorrhizae: Possible Explanation for Yield Decline with Continuous Corn and Soybean. *Agronomy Journal*, *84*(3), 387–390. <https://doi.org/10.2134/agronj1992.00021962008400030007x>
- Johnson, N. C., Graham, J.-H., & Smith, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum\*. *New Phytologist*, *135*(4), 575–585. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00729.x>
- Johnson, N. C., & Pflieger, F. L. (1992). Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Cultural Stresses. In *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture* (pp. 71–99). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub54.c4>
- Jordan, Zhang, & Huerd. (2000). Arbuscular-mycorrhizal fungi: potential roles in weed management. *Weed Research*, *40*(5), 397–410. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2000.00207.x>
- Jung, S. C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J. A., & Pozo, M. J. (2012). Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. *Journal of Chemical Ecology*, *38*(6), 651–664. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0134-6>
- Kakouridis, A., Hagen, J. A., Kan, M. P., Mambelli, S., Feldman, L. J., Herman, D. J., Weber, P. K., Pett-Ridge, J., & Firestone, M. K. (2022). Routes to roots: direct evidence of water transport by arbuscular mycorrhizal fungi to host plants. *New Phytologist*, *236*(1), 210–221. <https://doi.org/10.1111/nph.18281>
- Karasawa, T., Kasahara, Y., & Takebe, M. (2002). Differences in growth responses of maize to preceding cropping caused by fluctuation in the population of indigenous arbuscular

- mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(6), 851–857. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00017-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00017-2)
- Kiers, E. T., & van der Heijden, M. G. A. (2006). Mutualistic Stability in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: Exploring Hypotheses of Evolutionary Cooperation. *Ecology*, 87(7), 1627–1636. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[1627:MSITAM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[1627:MSITAM]2.0.CO;2)
- Klironomos, J. N. (2003). Variation in Plant Response to Native and Exotic Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Ecology*, 84(9), 2292–2301. <https://doi.org/10.1890/02-0413>
- Knecht, B., Jansa, J., Franken, O., Engelmoer, D. J. P., Werner, G. D. A., Bücking, H., & Kiers, E. T. (2016). Host plant quality mediates competition between arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, 20, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.09.011>
- Kogel, K.-H., Franken, P., & Hüchelhoven, R. (2006). Endophyte or parasite – what decides? *Current Opinion in Plant Biology*, 9(4), 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.001>
- Koide, R., & Mosse, B. (2004). A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, 14, 145–163. <https://doi.org/10.1007/s00572-004-0307-4>
- Koricheva, J., Gange, A. C., & Jones, T. (2009). Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: a meta-analysis. *Ecology*, 90(8), 2088–2097. <https://doi.org/10.1890/08-1555.1>
- Kramberger, B., Gselman, A., Kristl, J., Lešnik, M., Šuštar, V., Muršec, M., & Podvršnik, M. (2014). Winter cover crop: the effects of grass–clover mixture proportion and biomass management on maize and the apparent residual N in the soil. *European Journal of Agronomy*, 55, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2014.01.001>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82, 1–26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Lambais, M. R. (2006). Unraveling the signaling and signal transduction mechanisms controlling arbuscular mycorrhiza development. *Scientia Agricola*, 63, 405–413. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000400013>
- Lambers, H., Martinoia, E., & Renton, M. (2015). Plant adaptations to severely phosphorus-impooverished soils. *Current Opinion in Plant Biology*, 25, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.04.002>

- Lambers, H., & Teste, F. P. (2013). Interactions between arbuscular mycorrhizal and non-mycorrhizal plants: do non-mycorrhizal species at both extremes of nutrient availability play the same game? *Plant, Cell & Environment*, 36(11), 1911–1915. <https://doi.org/10.1111/pce.12117>
- Lamontagne, L., Martin, A., Grenon, L., & Cossette, J.-M. (2002). *Étude pédologique du comté de Saint-Jean (Québec)* (Bulletin d'extension n° 12). Laboratoires de pédologie et d'agriculture de précision, Centre de recherche et de développement sur les sols et les grandes cultures, Direction générale de la recherche, Agriculture et Agroalimentaire Canada,.
- Lekberg, Y., Hammer, E. C., & Olsson, P. A. (2010). Plants as resource islands and storage units – adopting the mycocentric view of arbuscular mycorrhizal networks. *FEMS Microbiology Ecology*, 74(2), 336–345. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00956.x>
- Lekberg, Y., Rosendahl, S., & Olsson, P. A. (2015). The fungal perspective of arbuscular mycorrhizal colonization in ‘nonmycorrhizal’ plants. *New Phytologist*, 205(4), 1399–1403. <https://doi.org/10.1111/nph.13118>
- Lithourgidis, A., Dordas, C., Damalas, C., & Vlachostergios, D. (2011). Annual intercrops: an alternative pathway for sustainable agriculture. *Australian Journal of Crop Science*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Annual-intercrops%3A-an-alternative-pathway-for-Lithourgidis-Dordas/6784415127b0fcd031416171e8ed02f34372fc52>
- Loughton, A. (2013, January). *Production et Manutention du Brocoli*. Ministère de l’Agriculture, de l’Alimentation et Des Affaires Rurales. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/90-139.htm>
- Mabry, M. E., Turner-Hissong, S. D., Gallagher, E. Y., McAlvay, A. C., An, H., Edger, P. P., Moore, J. D., Pink, D. A. C., Teakle, G. R., Stevens, C. J., Barker, G., Labate, J., Fuller, D. Q., Allaby, R. G., Beissinger, T., Decker, J. E., Gore, M. A., & Pires, J. C. (2021). The Evolutionary History of Wild, Domesticated, and Feral Brassica oleracea (Brassicaceae). *Molecular Biology and Evolution*, 38(10), 4419–4434. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab183>
- Machado, S. (2009). Does intercropping have a role in modern agriculture? *Journal of Soil and Water Conservation*, 64(2), 55A-57A. <https://doi.org/10.2489/jswc.64.2.55A>

- Maherali, H., & Klironomos, J. N. (2012). Phylogenetic and Trait-Based Assembly of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities. *PLOS ONE*, 7(5), e36695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036695>
- Maja, M. M., & Ayano, S. F. (2021). The Impact of Population Growth on Natural Resources and Farmers' Capacity to Adapt to Climate Change in Low-Income Countries. *Earth Systems and Environment*, 5(2), 271–283. <https://doi.org/10.1007/s41748-021-00209-6>
- MAPAQ. (2017, August 24). *Savoir tirer profit des cultures intercalaires*. MAPAQ. [https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Regions/monteregie/articles/agroenvironnement/Pages/Savoir\\_tirer\\_profit\\_cultures\\_intercalaires.aspx](https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Regions/monteregie/articles/agroenvironnement/Pages/Savoir_tirer_profit_cultures_intercalaires.aspx)
- Marx, C., Dexheimer, J., Gianinazzi-Pearson, V., & Gianinazzi, S. (1982). Enzymatic Studies on the Metabolism of Vesicular–Arbuscular Mycorrhizas. *New Phytologist*, 90(1), 37–43. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03238.x>
- Mathimaran, N., Ruh, R., Jama, B., Verchot, L., Frossard, E., & Jansa, J. (2007). Impact of agricultural management on arbuscular mycorrhizal fungal communities in Kenyan ferralsol. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 119(1), 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.06.004>
- Maynard, D. G., Kalra, Y. P., & Crumbaugh, J. A. (2007). *Nitrate and exchangeable ammonium nitrogen (chapter 6)*. <http://cfs.nrcan.gc.ca/publications?id=27486>
- McGonigle, T. P., & Miller, M. H. (1996). Mycorrhizae, Phosphorus Absorption, and Yield of Maize in Response to Tillage. *Soil Science Society of America Journal*, 60(6), 1856–1861. <https://doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000060034x>
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495–501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 15(12), 1409–1416. <https://doi.org/10.1080/00103628409367568>
- Miller, M. H., McGonigle, T. P., & Addy, H. D. (1995). Functional Ecology of Vesicular Arbuscular Mycorrhizas as Influenced by Phosphate Fertilization and Tillage in an



- Agricultural Ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology*, 15(3–4), 241–255. <https://doi.org/10.3109/07388559509147411>
- Miller, R. M., & Jastrow, J. D. (1992). The Role of Mycorrhizal Fungi in Soil Conservation. In *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture* (pp. 29–44). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.2134/asaspecpub54.c2>
- Miller, R. M., & Jastrow, J. D. (2000). Mycorrhizal Fungi Influence Soil Structure. In Y. Kapulnik & D. D. Douds (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 3–18). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_1)
- Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*, 29(6), 645–653. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.04.006>
- Nelson, R., & Achar, P. N. (2001). Stimulation of Growth and Nutrient Uptake by VAM Fungi in Brassica Oleracea Var. Capitata. *Biologia Plantarum*, 44(2), 277–281. <https://doi.org/10.1023/A:1010211711882>
- Newman, E. I., & Ritz, K. (1986). Evidence on the Pathways of Phosphorus Transfer Between Vesicular – Arbuscular Mycorrhizal Plants. *New Phytologist*, 104(1), 77–87. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1986.tb00635.x>
- Ngwira, A. R., Aune, J. B., & Mkwinda, S. (2012). On-farm evaluation of yield and economic benefit of short term maize legume intercropping systems under conservation agriculture in Malawi. *Field Crops Research*, 132, 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.014>
- Noceto, P.-A., Bettenfeld, P., Boussageon, R., Hériché, M., Sportes, A., van Tuinen, D., Courty, P.-E., & Wipf, D. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi, a key symbiosis in the development of quality traits in crop production, alone or combined with plant growth-promoting bacteria. *Mycorrhiza*, 31(6), 655–669. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01054-1>
- Ocampo, J. A. (1980). Effect of crop rotations involving host and non-host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of host plants. *Plant and Soil*, 56(2), 283–291. <https://doi.org/10.1007/BF02205857>
- Ocampo, J. A. (1986). Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of “host” and “non-host” plants: Effect on the growth responses of the plants and competition between them. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(6), 607–610. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90083-0](https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90083-0)

- Ocampo, J. A., Martin, J., & Hayman, D. S. (1980). Influence of Plant Interactions on Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Infections. I. Host and Non-Host Plants Grown Together. *New Phytologist*, *84*(1), 27–35. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb00746.x>
- O'Halloran, I. P., Miller, M. H., & Arnold, G. (1986). ABSORPTION OF P BY CORN (*Zea mays* L.) AS INFLUENCED BY SOIL DISTURBANCE. *Canadian Journal of Soil Science*, *66*(2), 287–302. <https://doi.org/10.4141/cjss86-030>
- Orchard, S., Hilton, S., Bending, G. D., Dickie, I. A., Standish, R. J., Gleeson, D. B., Jeffery, R. P., Powell, J. R., Walker, C., Bass, D., Monk, J., Simonin, A., & Ryan, M. H. (2017). Fine endophytes (*Glomus tenue*) are related to Mucoromycotina, not Glomeromycota. *New Phytologist*, *213*(2), 481–486. <https://doi.org/10.1111/nph.14268>
- Orchard, S., Standish, R. J., Dickie, I. A., Renton, M., Walker, C., Moot, D., & Ryan, M. H. (2017). Fine root endophytes under scrutiny: a review of the literature on arbuscule-producing fungi recently suggested to belong to the Mucoromycotina. *Mycorrhiza*, *27*(7), 619–638. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0782-z>
- Orłowska, E., Zubek, Sz., Jurkiewicz, A., Szarek- Łukaszewska, G., & Turnau, K. (2002). Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae) and *Plantago lanceolata* L. (Plantaginaceae) from calamine spoil mounds. *Mycorrhiza*, *12*(3), 153–159. <https://doi.org/10.1007/s00572-001-0155-4>
- Ortas, I., Iqbal, T., & Yücel, Y. C. (2019). Mycorrhizae enhances horticultural plant yield and nutrient uptake under phosphorus deficient field soil condition. *Journal of Plant Nutrition*, *42*(10), 1152–1164. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1609500>
- Ortiz, A. M. D., Outhwaite, C. L., Dalin, C., & Newbold, T. (2021). A review of the interactions between biodiversity, agriculture, climate change, and international trade: research and policy priorities. *One Earth*, *4*(1), 88–101. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.12.008>
- Panwar, J., Yadav, R. S., Yadav, B. K., & Tarafdar, J. C. (2008). Arbuscular Mycorrhizae: A Dynamic Microsymbiont for Sustainable Agriculture. In Z. A. Siddiqui, Mohd. S. Akhtar, & K. Futai (Eds.), *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry* (pp. 159–176). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7_6)
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, *6*(10), 763–775. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>

- Peng, S., Eissenstat, D. M., Graham, J. H., Williams, K., & Hodge, N. C. (1993). Growth Depression in Mycorrhizal Citrus at High-Phosphorus Supply (Analysis of Carbon Costs). *Plant Physiology*, *101*(3), 1063–1071.
- Petruzzello, M. (2023, May 3). *List of economically important members of the family Brassicaceae* | *Britannica*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/topic/list-of-economically-important-members-of-the-family-Brassicaceae-2003887>
- Plenchette, C., Fortin, J. A., & Furlan, V. (1983). Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, *70*(2), 199–209. <https://doi.org/10.1007/BF02374780>
- Pons, S., Fournier, S., Chervin, C., Bécard, G., Rochange, S., Frey, N. F. D., & Pagès, V. P. (2020). Phytohormone production by the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *PLOS ONE*, *15*(10), e0240886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240886>
- Porcel, R., Aroca, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2012). Salinity stress alleviation using arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *32*(1), 181–200. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0029-x>
- Poveda, J., Hermosa, R., Monte, E., & Nicolás, C. (2019). *Trichoderma harzianum* favours the access of arbuscular mycorrhizal fungi to non-host Brassicaceae roots and increases plant productivity. *Scientific Reports*, *9*(1), 11650. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48269-z>
- Powell, J. R., Parrent, J. L., Hart, M. M., Klironomos, J. N., Rillig, M. C., & Maherali, H. (2009). Phylogenetic trait conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *276*(1676), 4237–4245. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1015>
- Pozo, M. J., & Azcón-Aguilar, C. (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, *10*(4), 393–398. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.05.004>
- Purakayastha, T. J., Singh, C. S., & Chhonkar, P. K. (1998). Growth and iron nutrition of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck), grown in a Typic Ustochrept, as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of pyrite and farmyard manure. *Biology and Fertility of Soils*, *27*(1), 35–38. <https://doi.org/10.1007/s003740050396>
- Qin, H., Lu, K., Strong, P. J., Xu, Q., Wu, Q., Xu, Z., Xu, J., & Wang, H. (2015). Long-term fertilizer application effects on the soil, root arbuscular mycorrhizal fungi and community

- composition in rotation agriculture. *Applied Soil Ecology*, 89, 35–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.01.008>
- R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (4.1.3). R Foundation for Statistical Computing}. <https://www.R-project.org/>
- Ramert, B., Lennartsson, M., & Davies, G. (2002). The use of mixed species cropping to manage pests and diseases – theory and practice. In J. Powell & et al (Eds.), *Proceedings of the UK Organic Research 2002 Conference* (pp. 207–210). Organic Centre Wales, Institute of Rural Studies, University of Wales Aberystwyth. <https://orgprints.org/id/eprint/8289/>
- Respondek, A., & Zvalo, D. V. (2008). *Cabbage, VEGETABLE CROPS PRODUCTION GUIDE FOR NOVA SCOTIA*. Perennia.
- Rich, M. K., Nouri, E., Courty, P.-E., & Reinhardt, D. (2017). Diet of Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Bread and Butter? *Trends in Plant Science*, 22(8), 652–660.  
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.05.008>
- Rillig, M. C., Aguilar-Trigueros, C. A., Camenzind, T., Cavagnaro, T. R., Degrune, F., Hohmann, P., Lammel, D. R., Mansour, I., Roy, J., van der Heijden, M. G. A., & Yang, G. (2019). Why farmers should manage the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 222(3), 1171–1175. <https://doi.org/10.1111/nph.15602>
- Rinaudo, V., Bàrberi, P., Giovannetti, M., & van der Heijden, M. G. A. (2010). Mycorrhizal fungi suppress aggressive agricultural weeds. *Plant and Soil*, 333(1), 7–20.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-009-0202-z>
- Root, R. B. (1973). Organization of a Plant-Arthropod Association in Simple and Diverse Habitats: The Fauna of Collards (*Brassica Oleracea*). *Ecological Monographs*, 43(1), 95–124.  
<https://doi.org/10.2307/1942161>
- Ross, J. P., & Harper, J. A. (1973). Hosts of a Vesicular-Arbuscular Endogone Species. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*, 89(1/2), 1–3.
- Roy-Bolduc, A., & Hijri, M. (2010). The Use of Mycorrhizae to Enhance Phosphorus Uptake: A Way Out the Phosphorus Crisis. *Journal of Agricultural Science and Food Research*, 2(1).  
<https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000104>
- Ryan, M. H., Chilvers, G. A., & Dumaresq, D. C. (1994). Colonisation of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on

- a conventional neighbour. *Plant and Soil*, 160(1), 33–40.  
<https://doi.org/10.1007/BF00150343>
- Ryan, M. H., & Graham, J. H. (2018). Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist*, 220(4), 1092–1107. <https://doi.org/10.1111/nph.15308>
- Salomon, M. J., Demarmels, R., Watts-Williams, S. J., McLaughlin, M. J., Kafle, A., Ketelsen, C., Soupir, A., Bücking, H., Cavagnaro, T. R., & van der Heijden, M. G. A. (2022). Global evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inoculants under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology*, 169, 104225.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104225>
- Sanders, I. R. (2003). Preference, specificity and cheating in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Trends in Plant Science*, 8(4), 143–145. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00012-8](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00012-8)
- Santé Canada. (2021). *Rapport sur les renseignements relatifs aux ventes de produits antiparasitaires de Santé Canada de 2019*. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/reports-publications/pesticides-pest-management/corporate-plans-reports/pest-control-products-sales-report.html>
- Schreiner, R. P., & Koide, R. T. (1993). Antifungal compounds from the roots of mycotrophic and non-mycotrophic plant species. *New Phytologist*, 123(1), 99–105.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb04535.x>
- Sharma, A., Sinharoy, S., & Bisht, N. C. (2023). The mysterious non-arbuscular mycorrhizal status of Brassicaceae species. *Environmental Microbiology*, 25(5), 917–930.  
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.16339>
- Sheng, M., Lalande, R., Hamel, C., & Ziadi, N. (2013). Effect of long-term tillage and mineral phosphorus fertilization on arbuscular mycorrhizal fungi in a humid continental zone of Eastern Canada. *Plant and Soil*, 369(1), 599–613. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1585-4>
- Simard, S. W., & Durall, D. M. (2004). Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1140–1165.  
<https://doi.org/10.1139/b04-116>
- Singh, R., Kumar, H., & Singh, A. (2010). Brassica based intercropping systems- a review. *Agric. Rev.*, 31, 253–266.

- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Smith, S. E., & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 227–250. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103846>
- Smith, S. E., Smith, F. A., & Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal Fungi Can Dominate Phosphate Supply to Plants Irrespective of Growth Responses. *Plant Physiology*, 133(1), 16–20. <https://doi.org/10.1104/pp.103.024380>
- Solaiman, Z. M., Abbott, L. K., & Varma, A. (Eds.). (2015). *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration* (2014th edition). Springer.
- Song, Y., Wang, M., Zeng, R., Groten, K., & Baldwin, I. T. (2019). Priming and filtering of antiherbivore defences among *Nicotiana attenuata* plants connected by mycorrhizal networks. *Plant, Cell & Environment*, 42(11), 2945–2961. <https://doi.org/10.1111/pce.13626>
- Song, Y., Zeng, R. S., Xu, J. F., Li, J., Shen, X., & Yihdego, W. G. (2010). Interplant Communication of Tomato Plants through Underground Common Mycorrhizal Networks. *PLOS ONE*, 5(10), e13324. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013324>
- Sorensen, J. N., Larsen, J., & Jakobsen, I. (2005). Mycorrhiza formation and nutrient concentration in leeks (*Allium porrum*) in relation to previous crop and cover crop management on high P soils. *Plant and Soil*, 273(1), 101–114. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-6960-8>
- Statistique Canada. (2023). *Tableau 32-10-0365-01 Superficie, production et valeur à la ferme des légumes commercialisés* [Data set]. <https://doi.org/10.25318/3210036501-fra>
- Stringlis, I. A., Proietti, S., Hickman, R., Van Verk, M. C., Zamioudis, C., & Pieterse, C. M. J. (2018). Root transcriptional dynamics induced by beneficial rhizobacteria and microbial immune elicitors reveal signatures of adaptation to mutualists. *The Plant Journal*, 93(1), 166–180. <https://doi.org/10.1111/tpj.13741>
- Sun, F., Pan, K., Olatunji, O. A., Li, Z., Chen, W., Zhang, A., Song, D., Sun, X., Huang, D., & Tan, X. (2019). Specific legumes allay drought effects on soil microbial food web activities of the focal species in agroecosystem. *Plant and Soil*, 437(1), 455–471. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03990-6>
- Tanwar, A., Aggarwal, A., & Parkash, V. (2014). Effect of bioinoculants and superphosphate fertilizer on the growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). *New*

- Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 42(4), 288–302.  
<https://doi.org/10.1080/01140671.2014.924537>
- Tawarayama, K. (2003). Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49(5), 655–668.  
<https://doi.org/10.1080/00380768.2003.10410323>
- Teodoro, G. S., Lambers, H., Nascimento, D. L., de Britto Costa, P., Flores-Borges, D. N. A., Abrahão, A., Mayer, J. L. S., Sawaya, A. C. H. F., Ladeira, F. S. B., Abdala, D. B., Pérez, C. A., & Oliveira, R. S. (2019). Specialized roots of Velloziaceae weather quartzite rock while mobilizing phosphorus using carboxylates. *Functional Ecology*, 33(5), 762–773.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2435.13324>
- Theunissen, J., Booij, C. J. H., & Lotz, L. a. P. (1995). Effects of intercropping white cabbage with clovers on pest infestation and yield. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 74(1), 7–16. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1995.tb01869.x>
- Thirkell, T. J., Charters, M. D., Elliott, A. J., Sait, S. M., & Field, K. J. (2017). Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *Journal of Ecology*, 105(4), 921–929. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12788>
- Thorsted, M. D., Weiner, J., & Olesen, J. E. (2006). Above- and below-ground competition between intercropped winter wheat *Triticum aestivum* and white clover *Trifolium repens*. *Journal of Applied Ecology*, 43(2), 237–245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01131.x>
- Tinker, P. B., & Nye, P. H. (2000). *Solute Movement in the Rhizosphere*. Oxford University Press.
- Tong, Y., Gabriel-Neumann, E., Krumbein, A., Ngwene, B., George, E., & Schreiner, M. (2015). Interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and intercropping with sesame (*Sesamum indicum*) on the glucosinolate profile in broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Environmental and Experimental Botany*, 109, 288–295.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.06.008>
- Trappe, J. M., Molina, R., & Castellano, M. (1984). Reactions of Mycorrhizal Fungi and Mycorrhiza Formation to Pesticides. *Annual Review of Phytopathology*, 22(1), 331–359.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.py.22.090184.001555>
- Trinchera, A., Ciaccia, C., Testani, E., Baratella, V., Campanelli, G., Leteo, F., & Canali, S. (2019). Mycorrhiza-mediated interference between cover crop and weed in organic winter cereal

- agroecosystems: The mycorrhizal colonization intensity indicator. *Ecology and Evolution*, 9(10), 5593–5604. <https://doi.org/10.1002/ece3.5125>
- Veazie, P., Cockson, P., Henry, J., Perkins-Veazie, P., & Whipker, B. (2020). Characterization of Nutrient Disorders and Impacts on Chlorophyll and Anthocyanin Concentration of *Brassica rapa* var. *Chinensis*. *Agriculture*, 10(10), 461. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100461>
- Veiga, R. S. L., Faccio, A., Genre, A., Pieterse, C. M. J., Bonfante, P., & van der HEIJDEN, M. G. A. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi reduce growth and infect roots of the non-host plant *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment*, 36(11), 1926–1937. <https://doi.org/10.1111/pce.12102>
- Verbruggen, E., & Kiers, T. (2010). Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evolutionary Applications*, 3(5–6), 547–560. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00145.x>
- Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., De Schrijver, R., Hansen, M., Gerhäuser, C., Mithen, R., & Dekker, M. (2009). Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S219–S219. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800065>
- Vierheilig, H., Alt, M., Mäder, P., Boller, T., & Wiemken, A. (1995). Spreading of *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, across the rhizosphere of host and non-host plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(8), 1113–1115. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00021-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00021-6)
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004–5007. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998>
- Vierheilig, H., & Ocampo, J. A. (1990). Role of root extract and volatile substances of non-host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal spore germination. *Symbiosis (Rehovot)*, 9(1–3), 199–202.
- Wagg, C., Antunes, P. M., & Peterson, R. L. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungal phylogeny-related interactions with a non-host. *Symbiosis*, 53(1), 41–46. <https://doi.org/10.1007/s13199-011-0107-5>



- Walder, F., Niemann, H., Natarajan, M., Lehmann, M. F., Boller, T., & Wiemken, A. (2012). Mycorrhizal Networks: Common Goods of Plants Shared under Unequal Terms of Trade. *Plant Physiology*, *159*(2), 789–797. <https://doi.org/10.1104/pp.112.195727>
- Wang, G., Jin, Z., George, T. S., Feng, G., & Zhang, L. (2023). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance plant phosphorus uptake through stimulating hyphosphere soil microbiome functional profiles for phosphorus turnover. *New Phytologist*, *238*(6), 2578–2593. <https://doi.org/10.1111/nph.18772>
- Wang, Y., He, X., & Yu, F. (2021). Non-host plants: Are they mycorrhizal networks players? *Plant Diversity*. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2021.06.005>
- Wang, Y., Ying, H., Yin, Y., Zheng, H., & Cui, Z. (2019). Estimating soil nitrate leaching of nitrogen fertilizer from global meta-analysis. *Science of The Total Environment*, *657*, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.029>
- Wei, Z. Y., Zhang, Z. P., Lee, M. R., Sun, Y. P., & Wang, L. J. (2012). Effect of 5-Aminolevulinic Acid on Leaf Senescence and Nitrogen Metabolism of Pakchoi Under Different Nitrate Levels. *Journal of Plant Nutrition*, *35*(1), 49–63. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.631666>
- Widden, P. (2001). The use of glycerin jelly for mounting stained roots for the observation and quantification of endomycorrhizal fungi. *Mycologia*, *93*(5), 1026–1027. <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063236>
- Wood, S. N. (2011). Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, *73*(1), 3–36. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x>
- Yang, T., Siddique, K. H. M., & Liu, K. (2020). Cropping systems in agriculture and their impact on soil health-A review. *Global Ecology and Conservation*, *23*, e01118. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01118>
- Zaller, J. G., Heigl, F., Ruess, L., & Grabmaier, A. (2014). Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Scientific Reports*, *4*(1), 5634. <https://doi.org/10.1038/srep05634>
- Zhang, R., Mu, Y., Li, X., Li, S., Sang, P., Wang, X., Wu, H., & Xu, N. (2020). Response of the arbuscular mycorrhizal fungi diversity and community in maize and soybean rhizosphere

