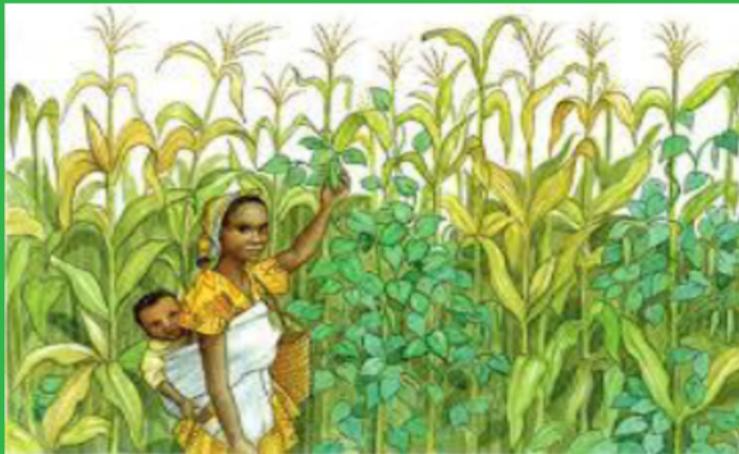


# AMELIORATION VARIETALE POUR LES CULTURES EN ASSOCIATION MAÏS/SOJA

Rapport de projet de groupe dans le cadre de l'ECUE 1.3.  
« Tolérance aux stress biotiques et abiotiques »

Babacar DIOUF - Paul DUMEAUX - Princia NAKOMBO

Février 2020



**ECUE.1.3 : Tolérance aux stress biotiques et abiotiques**

# **MAIZE AND SOYBEAN INTERCROPPING IN NIGERIA**



**Rédigé par:**

**Babacar DIOUF \_ Paul DUMEAUX \_Princia NAKOMBO**

I.	Contexte	3
II.	L'association de culture Soja/Maïs :	4
III.	Contraintes biotiques et abiotiques de chaque culture	6
	A. Contraintes biotiques du soja	6
	1. Généralité sur la rouille du soja au Nigéria	6
	2. Biologie du pathogène	7
	3. Symptômes	8
	4. Mécanisme de défense contre <i>P. pachyrhizi</i>	9
	5. Choix de gestion de la résistance	10
	B. Contrainte biotique du Maïs.	11
	1. Connaissance du pathogène / Biologie et écologie	11
	2. Résistance du maïs.	13
	3. Screening et phénotypage	15
	C. Contrainte abiotique du soja	17
	1. Modification de la qualité et la quantité de lumière dans le couvert et son influence sur le soja :	17
	2. Stratégies face à l'ombrage et diversité génétique chez le soja :	19
	3. Sélection de variétés adaptées à l'ombrage, screening de variétés tolérantes :	20
IV.	Caractérisation de l'idéomix et design de culture	22
	A. Critères de sélection de l'idéomix de l'association Maïs/soja	22
	B. Cycle et Design de culture	24
	1. Cycle culturale	24
	2. Design de culture	27
V.	Schéma de sélection	29
	A. Index de sélection en Association	29
	1. Land Equivalent Ration (LER)	29
	2. Competitive Ratio (CR)	30
	3. Relative Yield (RY)	30
	4. Aptitude Générale à l'Association (AGA) et Aptitude Spécifique à l'Association (ASA)	30
VI.	Références bibliographiques	35

## I. Contexte

Durant les trois dernières décennies, la culture du maïs (*Zea mays*) s'est rapidement développée dans les savanes humides d'Afrique de l'ouest, remplaçant les cultures céréalières traditionnelles telles que le sorgho et le millet (V.m *et al.*, 1996). La culture du soja (*Glycine max*) s'est également développée dans les savanes Nigériennes en raison de son importance en tant que culture alimentaire et commerciale majeur et sa large utilisation dans l'industrie alimentaire et l'alimentation animale (Sanginga *et al.*, 2002). L'association de culture dans les savanes nigérianes s'est intensifiée en raison de la forte pression démographique. En raison de l'augmentation de la population, il y a une pénurie des terres agricoles dans le Nord du Nigeria et la propriété foncière par exploitation est inférieur à un ha. Malgré les avantages de la culture intercalaire maïs/soja, cette pratique est essentiellement traditionnelle. Dans la plupart des cas, le maïs est cultivé en mélange avec le soja à des intervalles arbitraires, ce qui entraîne de faible rendement (Kamara *et al.*, 2019). La culture en association du maïs et du soja au Nigéria est une agriculture semi intensive avec des faibles apports de fertilisants. Les travaux champêtres sont totalement financés par les agriculteurs eux-mêmes.

D'après des statistiques de la FAO, sur le continent africain, le Nigéria est le premier producteur de maïs et de soja suivi de l'Afrique de sud qui a longtemps dominé la production de ces cultures. La production de maïs par le Nigeria devrait se chiffrer à 11 millions de tonnes en 2019/2020, soit une variation de -0.31 % par rapport aux saisons précédentes (2018/2019). L'utilisation totale pour 2019/20 devrait légèrement augmenter par rapport aux années précédentes. Elle devrait dépasser légèrement 13 millions de tonnes, soit une hausse de 5,23 % par rapport à 2018/19. L'utilisation pour la consommation domestique devrait légèrement augmenter par rapport aux années précédentes. Elle devrait tourner autour de 11 millions de tonnes, soit une hausse de 6,30 % par rapport à 2018/19. Les prévisions concernant les stocks d'ici la fin de la campagne en 2020 peuvent avoisiner 2 millions de tonnes, soit 0 % de hausse. La production de maïs au Nigeria constitue 24% de la production céréalière totale. Le soja quant à lui représente entre 65 à 75% de la production de légumineuses du Nigéria. En 2018, 75 8033 t de soja ont été produites (FAO, 2018). Le soja est cultivé pour l'alimentation humaine (lait, fromage de soja, huile végétale) et animale (poulet "tourteau", moutons et chèvres "fane"). Elle contient en moyenne 40% de protéines, c'est l'aliment le plus riche en protéines de toutes les sources alimentaires végétales ou animales courantes trouvées au Nigeria. Les produits des récoltes (maïs et soja) sont essentiellement transformés et consommés localement. Avec l'essor de nouveaux marchés (local et international), une démographie grandissante, le souci de rester le leader sur le marché africain, la tendance serait d'augmenter la production de Maïs et du soja Nigériens afin de répondre à ces demandes. Cependant, la culture de ces espèces est très dépendante des conditions environnementales. La prise en compte des stress biotiques et abiotiques que peuvent subir cette association couramment mise en pratique au Nigéria dans l'optique de proposer des variétés adaptées serait d'une grande utilité.

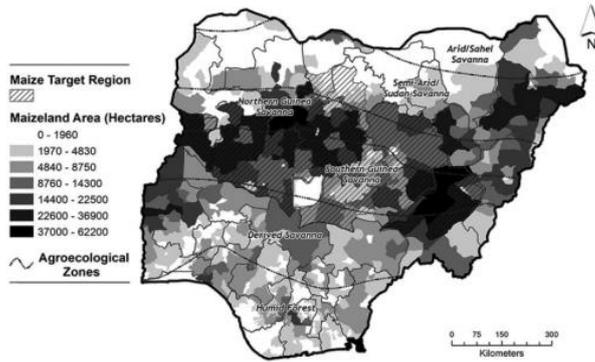


Figure 7.2 Major maize-producing regions in Nigeria.  
Sources: Author's adaptation from HarvestChoice 2015a, b.

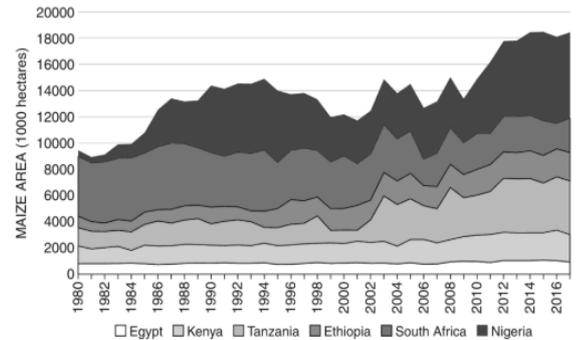
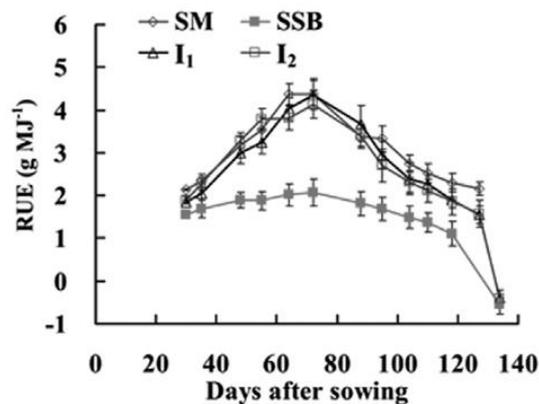


Figure 7.4a Maize area harvested for Africa's top maize producers 1980 to 2017.  
Unit: 1000 hectares.  
Source: FAOSTAT 2018.

## II. L'association de culture Soja/Maïs :

D'après des analyses comparatives de diverses cultures intercalaires avec le soja, Du et al. (2018) indique que le maïs est le meilleur partenaire (Du *et al.*, 2018). Ces deux espèces possèdent des caractéristiques complémentaires ainsi que des saisons de culture similaires. Le maïs est une culture en C4 consommatrice d'azote qui occupe une niche écologique relativement plus élevée que le soja. Le soja est quant à lui une culture en C3 fixatrice d'azote qui occupe une niche écologique relativement basse dans le couvert. Le maïs possède des grandes feuilles cylindriques et allongées, tandis que celles du soja sont petites et rondes. Ces caractéristiques permettent donc des complémentarités de niches entre les deux espèces, conduisant à une meilleure utilisation des ressources. (Du *et al.*, 2018). Iqbal et al. (2019), rapporte également que les températures élevées, l'intensité lumineuse et la faible humidité au sein du couvert de maïs augmentent le taux de photosynthèse de ces feuilles (Iqbal *et al.*, 2019). Gao et al. (2010) ont quant à eux conclu que l'association maïs/soja (en inter-culture relai) présente une RUE (Radiation Use Efficiency) supérieur à la monoculture (Gao *et al.*, 2010). Différentes études ont également montré que la concurrence et l'interaction interspécifique souterraine représentées la moitié de l'augmentation du rendement du maïs cultivé en intercalaire avec du soja (Li *et al.*, 2007; Lv *et al.*, 2014). Lv et al. (2007) ont ainsi démontré une meilleure alimentation azotée et phosphorée du maïs en association maïs/soja, dans une situation avec fertilisation. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer ces résultats : le soja peut transférer une partie de l'azote symbiotique fixé au maïs, et il a une plus grande capacité à acidifier la rhizosphère en mobilisant du phosphore peu soluble, ce qui serait bénéfique pour fournir de l'azote aux deux cultures (Lv *et al.*, 2014) Selon Shaoming et al. (2004), la biomasse et la quantité d'azote absorbée par le maïs ont augmenté en culture intercalaire, tandis qu'une biomasse et une absorption d'azote plus faible ont été enregistrées pour le soja (Shaoming *et al.*, 2004). Enfin, Rahman et al. (2017), ont également démontré une meilleure utilisation de l'eau dans le système de cultures associées maïs/soja en relai par rapport à la monoculture (Rahman *et al.*, 2017).



Évaluation des valeurs moyennes de Radiation Use Efficiency (RUE) en fonction du temps sur trois saisons de culture dans le nord de la Chine. SM : Monoculture de maïs – SSB : Monoculture de soja –  $I_1$  : 3 rangs de soja alterné avec un range de maïs –  $I_2$  : 3 rangs de soja alterné avec deux rangs de maïs. (Gao *et al.*, 2010)

L'inter-culture maïs/soja permettrait également d'améliorer la fertilité des sols. Ceci est d'autant plus vrai dans les systèmes de cultures à faible niveau d'intrant, ce qui est le cas au Nigeria. D'après Regehr *et al.* (2015), l'association céréales-légumineuses est une pratique durable de gestion des terres qui permet l'amélioration sur le long terme de l'alimentation azoté et la réduction de la dépendance aux engrais azotés (Regehr *et al.*, 2015). Des résultats suggèrent également que la culture intercalaire de maïs / soja augmente la disponibilité du phosphore, améliorant la fertilité du sol et la production de la culture suivante (XiaoChun *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014). Enfin, l'association maïs/soja permet également d'apporter de la diversité dans des rotations simplifiées, comme c'est le cas au Nigeria où le maïs peut être cultivé durant plusieurs années successivement.

L'inter-culture maïs/soja aurait également un impact sur le control des adventices et des ravageurs. Différentes expériences sur le terrain ont été menées au Cameroun pour comparer la réduction du rendement et le niveau de dégâts causé par des foreurs de tiges en monoculture de maïs et en inter-culture (Chabi-Olaye *et al.*, 2005). Les résultats ont démontré dans certaines conditions des différences significatives. Un nombre de larve plus élevé à un stade précoce a ainsi été observé dans la monoculture, tout comme des dégâts sur tige et épi plus important. Un avantage de l'inter-culture sur la monoculture de maïs ou de soja a également été observé dans la lutte contre les mauvaises herbes ('43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture'). Dolijanovic *et al.* (2008), ont ainsi relevé moins d'infestation et de biomasse d'adventices par espèce dans les systèmes de culture intercalaires maïs/soja.

Une stratégie combinant la sélection de cultivars adaptés à l'inter-culture et un design de semis optimal et compacte, permettrait d'obtenir un rendement du maïs similaire à celui de la monoculture, avec une production supplémentaire de soja (Du *et al.*, 2018). Des études ont montré que, selon le design de semi, des LER comprises entre 1,2 et 1,4 pouvaient être obtenu (Liu *et al.*, 2018). Une étude réalisée au Nigeria en 2009 et 2010, a obtenu des LER de 1,87 et 1,86 respectivement (Ijoyah & Fanen, 2012). D'autres résultats obtenus au Nigeria ont montré que ce système de culture permet une meilleure exploitation des ressources limités. Ils montrent également, à travers le Gross Monetary Value index et le Monetary Advantage index ( $MAI = (\text{valeur combiné des cultures associées}) \times (\text{LER} - 1) / \text{LER}$ ) que ce système présente un avantage

économique par rapport à la monoculture (Kamara et al., 2019). Une seconde étude réalisée également au Nigeria rapporte que les agriculteurs gagneraient un revenu plus élevé en cultivant le maïs et le soja en association (Muoneke *et al.*). L'inter-culture présente en revanche un plus grand bénéfice lorsque les intrants sont faibles, et cet avantage diminue à mesure que les intrants augmentent (Du et al., 2018).

Toutefois, il reste encore du travail à faire pour comprendre de manière détaillée les mécanismes intervenant dans ce type de système de culture. Il est ainsi nécessaire d'améliorer la compréhension des phénomènes de compétition et de complémentarité. De même, des cultivars optimaux et adaptés doivent encore être développés, telles que des maïs semi-nains, des sojas tolérants à l'ombre ou encore des variétés adaptées aux microenvironnements et aux contextes pédoclimatiques locaux. Le design de semi joue également un rôle très important dans les performances de l'association et les relations entre espèces. Enfin, même si ce système de culture est largement pratiqué dans certains pays telles que l'Iran, le Pakistan, le Nigeria ou encore l'Égypte, La Chine est le pays où il est le plus développé et étudié. L'association maïs /soja y est traditionnellement présente et d'importants travaux de recherches y sont réalisés afin d'augmenter sa productivité, son efficacité et ses performances. Une large partie des connaissances présentées dans ce travail font ainsi référence à des études réalisées en Chine. Cependant, le maïs et le soja y sont principalement cultivés en bandes relais avec un semis et une récolte du soja plus tardive que le maïs. Il est donc important de tenir compte de cette différence avec le système de culture réalisé au Nigeria où maïs et soja sont semés en même temps et récoltés majoritairement en même temps (Raji, 2007). Ceci peut notamment conduire à des différences dans les performances du système ou encore au niveau des relations entre espèces. En effet, le succès d'une culture-intercalaires dépend de la complémentarité temporelle et spatiale dans l'utilisation des ressources (Xue *et al.*, 2016). Cependant, au vu du nombre restreint de recherches réalisées dans d'autre pays sur l'association maïs/soja, et notamment au Nigeria, ces études chinoises constituent une première approche essentielle pour aborder notre problématique. On peut aujourd'hui parler en Chine d'un système d'association maïs/soja amélioré et adapté à une agriculture moderne, tandis que dans les autres pays et notamment au Nigeria l'association reste encore à majorité traditionnelle (Iqbal *et al.*, 2019). L'augmentation des performances de ce type de système de culture au Nigeria passe donc par la création de variétés améliorées adaptées, mais également par une amélioration des pratiques agronomiques et agricoles telles que le développement de la mécanisation.

### III. Contraintes biotiques et abiotiques de chaque culture

#### A. Contraintes biotiques du soja

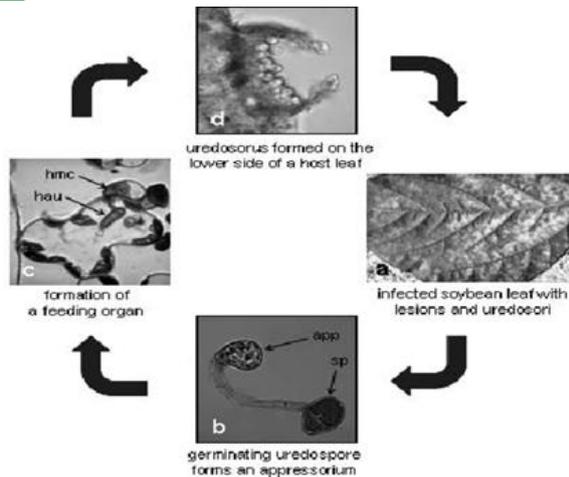
##### 1. Généralité sur la rouille du soja au Nigéria

La rouille du soja, causée par *Phakopsora pachyrhizi*, est l'une des maladies foliaires les plus importantes sur le plan économique qui affecte le soja au Nigeria (Dugje *et al.*; Hartman & Murithi). Elle peut causer des pertes de rendement allant jusqu'à 60 à 80 %. Originaire du Japon (1902), cette maladie a été signalée en Afrique de l'ouest notamment au Nigeria en 1999 dans l'état d'Oyo (Twizeyimana *et al.*, 2008a). La maladie est désormais endémique

dans la plupart des régions productrices de soja au Nigeria (Twizeyimana *et al.*, 2008a). La savane dérivée est la zone la plus sensible à la rouille, elle est caractérisée par un milieu favorable à leur développement et une grande diversité de souches de ce pathogène ('Rouille soja final.pdf'; Twizeyimana *et al.*, 2008b; Badu-Apraku & Fakorede, 2017). Les cultivars résistants et les fongicides sont les principales stratégies de gestion de la rouille du soja (Hartman *et al.*, 2005). Cependant, la lutte chimique dans les plantations commerciales de soja augmente considérablement les coûts de production et n'est donc pas une option viable dans les systèmes de production de subsistance de la plupart des pays en développement d'Afrique. Le déploiement de cultivars résistants reste alors la stratégie la plus durable pour gérer la rouille du soja.

## 2. Biologie du pathogène

*Phakopsora pachyrhizi* est un basidiomycète de la famille des *Phakopsoraceae*. Ce champignon forme des urédospores qui sont libérées de l'urédie par un ostiole et dispersées par le vent sur de longue distance (10 à 20 km). Il est capable de rester en suspension dans l'air dans de grandes sections des zones de culture du soja. Les spores des pustules primaires sont celles qui causent le plus d'infection et sont plus néfastes de la floraison jusqu'au remplissage des graines. Dans des conditions appropriées, les urédospores germent avec un seul tube germinatif. La croissance du tube germinatif se termine par la formation d'un appressorium globuleux, non orné, approximativement de la même taille qu'une urédospore, *P. pachyrhizi* pénètre directement dans les feuilles plutôt que d'utiliser les ouvertures des stomates comme les autres champignons. Celle-ci commence par la formation d'une structure en forme d'entonnoir, appelée cône appressoriel, à l'intérieur de l'appressorium. Lors de la pénétration, les cellules épidermiques s'effondrent, se désorganisent et montrent des signes de mort cellulaire. Après pénétration, l'hyphe se développe à travers la cellule épidermique et atteint l'espace intercellulaire ; il se forme un septum qui le sépare de l'hyphe primaire émergente. La formation du premier haustoria a lieu 24 à 48 h après le contact initial entre les urédospores et un hôte sensible. Ensuite, une colonisation intense du tissu mésophylle se produit et les espaces intercellulaires des feuilles se remplissent de mycélium fongique. Le cycle du pathogène se poursuit jusqu'à ce que la culture soit défoliée ou jusqu'à ce que l'environnement devienne défavorable au pathogène. *Phakopsora pachyrhizi* est un champignon polycyclique : dans le cycle de la maladie, les urédiniospores asexuées continuent à infecter la même plante. Les téliosporos (spores sexuelles) sont les spores de survie. Les basidiospores sont les spores qui peuvent contaminer un hôte alternatif mais aucun hôte alternatif n'est connu à ce jour pour ce pathogène. Les urédiniospores ont besoin d'un minimum de six heures pour infecter les feuilles à une température favorable. *P. pachyrhizi* est un parasite obligatoire ce qui signifie que ce champignon a besoin d'un tissu végétal vivant pour sa croissance, sa production d'urédiospores et sa survie. Ce champignon ne survit pas dans le sol et il n'existe aucun cas connu de dispersion de la maladie par les graines de plantes infectées. Dans des conditions favorables de chaleur et d'humidité (15 à 28°C, plus 80 % d'humidité relative), de nouvelles vagues de contamination peuvent se produire tous les 9 à 10 jours. En condition naturelle, il peut infecter jusqu'à 31 espèces de 17 genres, notamment de nombreuses légumineuses, parmi lesquelles le soja (*Glycine max*) est la principale espèce cultivée hôte.



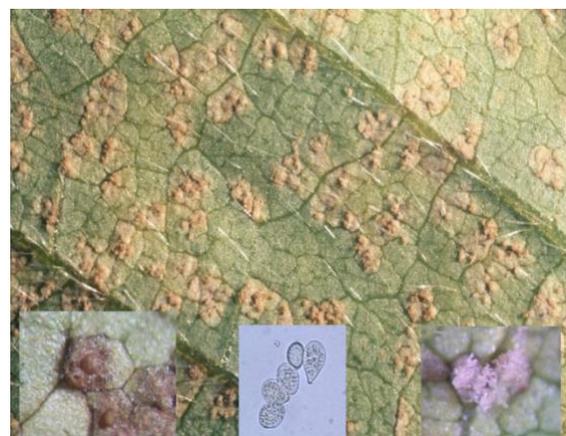
Cycle de développement du pathogène

### 3. Symptômes

Les symptômes causés par le *P.pachyrhizi* débutent sur les parties basales de la plante puis évoluent vers les parties apicales (Twizeyimana *et al.*, 2009). Tout d'abord, elles se présentent sur les feuilles infectées sous la forme de taches irrégulières à angulaires, ayant une coloration jaune et dont le diamètre varie entre 2 et 5 mm<sup>2</sup> (Akem). Ces taches ou lésions peuvent s'agglomérer près des nervures. Après 5 à 8 jours, ces feuilles infectées présentent sur leur face inférieure des petites lésions brunes à brun foncé ou brun rougeâtre sur lesquelles se trouvent de petites pustules surélevées ou protubérances. Il s'agit des fructifications du champignon connues sous le nom d'urédies (Akem; Dugje *et al.*; Hartman & Murithi). Ces structures sont le lieu de production de masses de spores appelées urédospores, ces masses de spores ont une coloration beige à rosée. Les urédies peuvent également être présentes sur la face supérieure des feuilles, les pétioles, les gousses et les tiges. La poudre brune ou rouille tombe lorsque les feuilles gravement infectées sont touchées. Avec l'évolution de la maladie, les taches s'agglomèrent, les feuilles sèchent et une défoliation prématurée peut être observée en cas d'infection grave ('Rouille asiatique du soya - Maladies').



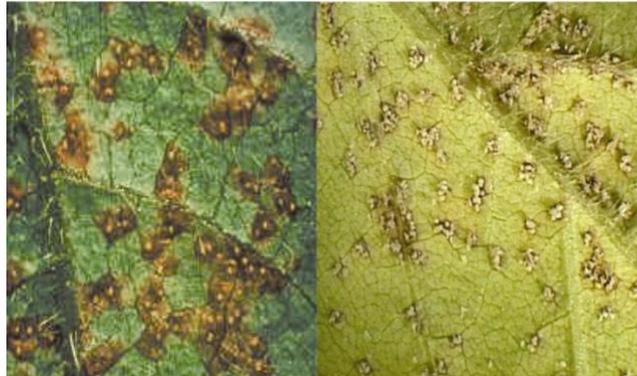
Plant de soja infecté



Urédies et uredospores

Ainsi lors d'une interaction pathogène/hôte, on distingue trois types de phénotype : "Tan", "RB" et "immunitaire" (Twizeyimana *et al.*, 2008a, 2009). Les interactions sensibles (Tan) sont

caractérisées par des lésions de couleur fauve avec de nombreuses urédies très sporulantes, alors que les cultivars résistants développent généralement des lésions brunes rougeâtre avec peu ou pas de sporulation (RB). Le nombre d'urédies sur la surface inférieure de la feuille est généralement de deux à cinq par lésion Tan et de zéro à deux par lésion RB. Le phénotype dit "immunitaire" est une interaction incompatible sans aucun symptôme de maladie visible sur les feuilles de l'hôte. Les symptômes causés par la rouille du soja peuvent être confondus avec ceux de certaines maladies bactériennes comme la brûlure bactérienne ou la pustule bactérienne ('2. Les maladies fongiques des Légumineuses à graines en Afrique de l'Ouest').



: Phénotype TAN (à gauche) et RB (à droite)

#### 4. Mécanisme de défense contre *P. pachyrhizi*

Une résistance spécifique à *P. pachyrhizi* a été signalée et des gènes de résistance monogéniques Rpp ont été mis en évidence (Hartman *et al.*, 2005; Cooper *et al.*, 2013; Langenbach *et al.*, 2016) ; on en distingue environ six en fonction des isolats utilisés et des zones d'étude. Ces gènes induisent une résistance spécifique pour seulement un ensemble limité d'isolats de rouille. La résistance dépend d'une interaction génétique spécifique entre les gènes de résistance de l'hôte et les gènes d'avirulence de l'agent pathogène. Les gènes des plantes codent principalement des protéines de liaison aux nucléotides et des protéines de répétition riches en leucine (NLR), qui agissent comme des récepteurs immunitaires pour reconnaître les protéines effectrices des agents pathogènes délivrées dans les cellules hôtes pendant l'infection (Periyannan *et al.*, 2017). En effet, lors de l'infection, il existe de multiples points où le champignon entre en contact avec les cellules foliaires où il pourrait être reconnu par le système immunitaire de la plante. Si une protéine effectrice pathogène est détectée ou reconnue par une protéine de résistance de la plante, il s'ensuit une réponse de défense appelée résistance hypersensible déclenchée par l'effecteur (ETI) (Periyannan *et al.*, 2017). La réaction associée à l'ETI comprend la signalisation de la kinase des protéines activées par des agents pathogènes (MAP), la génération d'espèces oxydatives réactives, l'expression des gènes et les altérations des protéines, la signalisation hormonale de l'acide salicylique et de l'éthylène, le renforcement des parois cellulaires et la production de produits chimiques, de peptides et d'enzymes antimicrobiens. Dans le soja résistant à *P. pachyrhizi* avec des gènes de résistance Rpp 2 et 3, les expressions des gènes contrôlant des processus biochimiques similaires sont induites pendant l'infection par la rouille. Pandey *et al.* (2011) ont utilisé une méthode dite "virus-induced gene silencing" (VIGS) pour montrer que les orthologues du soja de *A. thaliana*, les gènes Enhanced Disease Susceptibility 1 (GmEDS1), Phytoalexin Deficient 4 (GmPAD4) et

Nonexpressor of Pathogenesis-Related genes 1 (GmNPR1), régulateurs de la signalisation de l'acide salicylique, essentiels pour la défense contre les pathogènes fongiques et bactériens biotrophes, fonctionnent dans le cadre de la résistance à la rouille du soja induite par Rpp2 (Cooper *et al.*, 2013). En outre, ils ont montré que les gènes des précurseurs enzymatiques de la biosynthèse de la lignine et des composés antimicrobiens, la phénylalanine-ammoniac-lyase 1 (GmPAL1), l'isoflavone O-méthyltransférase (GmO-MT) et la famille Cytochrome P450 83 E12 (Cyp83E12) et 5 TF qui régulent l'expression de ces gènes, font également partie du système de résistance à médiation Rpp2 (Cooper *et al.*, 2013). La résistance induite par Rpp2 pourrait également être due à l'expression d'un gène biphasique. Une analyse transcriptomique de plants de soja portant le gène Rpp1 a révélé une hausse de l'expression des gènes de la lipoxygénase et de la peroxydase dans une interaction incompatible, suggérant ainsi une fonction importante pour ces gènes dans la résistance induite par Rpp1. L'hypothèse était que la protéine Rpp1 activée entraînait la migration des protéines vers le noyau ou entraînait un changement dans l'accumulation des protéines dans le noyau qui influençait alors l'expression des gènes liés à la défense. Une régulation à la hausse des gènes impliqués dans la voie de phénylpropanoïde a également été observée dans les plantes porteuses de Rpp1 après infection par des isolats de *P.pachyrhizi* compatibles ou incompatibles.

## 5. Choix de gestion de la résistance

La sélection pour la résistance à *P. pachyrhizi* s'effectue par des cribles classiques de germplasm basés sur les trois phénotypes d'infection : "Tan", "RB" et "immun". L'analyse du germplasm de soja réalisé au Nigéria par l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA) a ainsi permis de mettre en évidence une résistance médiée par quatre gènes monogéniques nommés Rpp1, Rpp2, Rpp3 et Rpp4 qui sont des gènes de résistance spécifiques aux races de *P. pachyrhizi* présentes dans la zone d'étude (Twizeyimana *et al.*, 2008b, 2009). Par ailleurs, il faut noter qu'aucun des cultivars de soja actuellement en production commerciale dans le monde n'est résistant à tous les isolats de *P. pachyrhizi* (Hartman *et al.*, 2005). Ce champignon est reconnu pour sa grande plasticité ; en effet, le mécanisme de défense contre *P. pachyrhizi* a été surmontée dans la nature à plusieurs reprises en raison de la grande capacité du champignon à développer de nouvelles races. En général, ce scénario de contournement de la résistance médiée par le gène Rpp est connu sous le nom de syndrome "boom and bust". Bien que tous les gènes Rpp aient été cartographiés en fonction de groupes de liaison particuliers (LG), Rpp1 sur LG-G, Rpp2 sur LG-J, Rpp3 sur LG-C2, Rpp4 sur LG-G, aucun des gènes n'a été cloné à ce jour. Une condition préalable à l'introduction des gènes Rpp connus dans les cultivars de soja à haut rendement et commercialement exploitables sont l'association de caractéristiques phénotypiques avec des marqueurs moléculaires. Des marqueurs de répétition de séquence simple (SSR) ont été identifiés et peuvent désormais être utilisés pour la sélection assistée par marqueurs. Ainsi, dans le cadre de notre étude, en raison du caractère endémique de la maladie et de l'efficacité de contournement de la résistance par le pathogène, réaliser un pyramidage de gènes afin d'obtenir une variété élite ne serait pas une solution efficace à long terme. Cela conduira à la création de pathogène résistant à tous les gènes de résistance présents dans le germplasm. Notre stratégie de sélection se tourne alors vers la création de lignées isogéniques, c'est-à-dire des lignées partageant un fond génétique commun pour des caractères d'intérêt mais

qui se différencient sur le type de gène de résistance qui sera introgressé par backcross successif à l'aide de marqueurs moléculaires. Nous aurons donc quatre lignées isogéniques qui seront cultivées en association avec du maïs ; dans ce contexte il n'est pas nécessaire de réaliser un phénotypage pour la résistance à la maladie car la sélection de ce caractère sera assistée par des marqueurs moléculaires. Toutefois, le phénotypage de ce caractère se réalise généralement au champ où la sévérité de la maladie (% de feuilles infectées), le type de lésions (RB ou TAN), le pourcentage de sporulation (nombre de lésions avec sporulation) sont relevés suivant un protocole (Hartman *et al.*, 2005). L'efficacité de cette stratégie de sélection repose sur le fait que ces lignées bénéficieront de leur arrangement spatial c'est-à-dire du design de culture afin de réduire la pression du pathogène. Il s'agit d'un effet de barrière d'une part du maïs face au pathogène qui permettra de limiter sa propagation et d'autre part d'une lignée de soja résistante face à une autre lignée qui serait sensible à la souche du pathogène présent mais aussi, d'un effet de dilution de l'impact que peut avoir le pathogène sur le soja d'autant plus que toutes les variétés ne seront pas sensibles simultanément. Aussi, l'infection d'une plante voisine induit des signalisations qui permettent aux autres plantes de déclencher leur système de défense et ainsi résister à de possibles attaques du pathogène.

## B. Contrainte biotique du Maïs.

### 1. Connaissance du pathogène / Biologie et écologie

Le mildiou du maïs (*Sorghum Downy Mildew*) est une maladie présente majoritairement dans la zone agro-écologique de la forêt humide et de la savane guinéenne (Olanya *et al.*, 1993). Bien qu'aucune étude systématique sur l'estimation de la perte de rendement n'ait été menée au Nigeria, des pertes pouvant atteindre 86 % ont été signalé (Anaso *et al.*, 1989). Les plantes infectées produisent rarement des épis (Olanya *et al.*, 1993). L'oomycète *Peronosclerospora Sorghi* a été identifié comme l'agent causal du mildiou sur le maïs au Nigeria (Anaso *et al.*, 1987). Ce pathogène endémique a également été observé sur le sorgho (*Sorghum bicolor* L.) et des espèces indigènes pérennes. (Olanya *et al.*, 1993). Au sud de cette zone agro-écologique il se conserverait ainsi sur ces espèces. Au nord de la savane guinéenne le pathogène se maintient sous la forme de oospores qui peuvent se conserver dans les sols et qui constituent la principale source de l'inoculum primaire (Badu-Apraku & Fakorede, 2017). La présence d'oospores dans les plants de sorgho infectés serait également un facteur primaire de propagation et d'infection (Olanya *et al.*, 1993). Les expérimentations menées par Bain et Alford (1969) ont également démontré que les semences pouvaient être un facteur de transmission (Bain & Alford, 1969). Cependant, la transmission par la semence n'a pas été démontrée au Nigeria selon Olanya et al. (1993). La transmission peut également se faire par voie aérienne de plante à plante par des conidies (Rashid *et al.*, 2018). Produites en abondance les conidies permettent une augmentation polycyclique rapide et la propagation d'une épidémie en une campagne de culture. Il a été démontré que les feuilles infectées peuvent produire jusqu'à 12000 conidies par cm<sup>2</sup> de surface foliaire par jour (Badu-Apraku & Fakorede, 2017). Une vitesse de vent très faible suffit ainsi pour disperser les conidies et former une infection secondaire dans les champs de maïs (Arulselvi *et al.*, 2018). *Peronosclerospora Sorghi* peut

donc infecter les racines par les oospores et les feuilles par les conidies, puis atteindre le méristème provoquant une infection systémique si la plante est assez jeune. Lorsque l'infection est tardive, celle-ci peut se limiter à des lésions locales sur les feuilles. Les plantes de maïs sont sensibles à une infection systémique pendant les 2 ou 3 premières semaines de croissance (Kenneth & Shahor, 1973). Les plantes infectées de manière systémique présentent un rabougrissement de la tige (Olanya *et al.*, 1993). Elles présentent également des feuilles raides, étroites et jaunies. La maladie se caractérise par des rayures chlorotiques sur les feuilles, ainsi que par un nanisme. L'inflorescence peut être totalement déformée et les épis sont remplacés par une masse de feuilles tordues que l'on appelle « crazy top » (Badu-Apraku & Fakorede, 2017). Lors d'une infection précoce, les rayures apparaissent normalement deux semaines après les semis. Les plantes infectées précocement meurent généralement environ quatre semaines après l'infection (Arulselvi *et al.*, 2018). Chez le sorgho, il a été démontré que chez les cultivars résistants, le développement du pathogène est arrêté précocement au niveau du point de pénétration, tandis que chez les cultivars sensibles, il progresse jusqu'à la colonisation complète de la plante (Mauch-Mani *et al.*, 1989).



Symptôme « crazy top » provoqué par *Peronosclerospora Sorghi* (Badu-Apraku & Fakorede, 2017)



Pied de maïs infecté par *Peronosclerospora Sorghi* (©CIMMYT)



Symptomes de *Peronosclerospora Sorghi* sur maïs (©Rob Williams/CAB international)

Une spécialisation du *P.Sorghii* au maïs a été signalé au Nigeria. Un pathotype confiné au maïs est ainsi présent uniquement dans la zone humide du sud du Nigeria où il provoque des dégâts importants par infection systémique (Olanya & Fajemisin, 1993). Tandis qu'un pathotype infectieux du maïs et du sorgho est présent au nord du Nigeria.

## 2. Résistance du maïs.

Plusieurs lignées de maïs résistantes à *Peronosclerospora Sorghi* ont été identifiées pour des niveaux de résistances variables (Sireesha & Velazhahan, 2017). La nature de la résistance est quantitative polygénique et complexe. La résistance variétale est une des méthodes les plus efficaces et économiques pour contrôler ce pathogène (Arulselvi *et al.*, 2018). Plusieurs études ont rapporté que la sensibilité semblait être dominante en cas de fortes pressions maladies, alors que la résistance est dominante lors de pressions maladies limitées (Kaneko & Aday, 1980; Singburadom & Renfro, 1982). Des études approfondies sur la résistance ont été réalisées par le réseau asiatique de biotechnologie (AMBIONET) coordonné par le CIMMYT dans quatre pays asiatiques, à savoir l'Inde, l'Indonésie, les Philippines et la Thaïlande (George *et al.*, 2004; Nair *et al.*, 2004). Différentes équipes de recherche ont également entrepris des études de cartographie QTL dans différents pays avec des populations cartographiées diverses (Agrama *et al.*, 1999; George *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2005; Jampatong *et al.*, 2013; Lohithaswa *et al.*, 2015). Six régions génomiques sur les chromosomes 1,2,6,7 et 10 ont été identifiées pour la résistance au mildiou, y compris un QTL majeur sur le **chromosome 6** qui est impliqué dans la résistance à cinq espèces de *Peronosclerospora* différentes identifiées en Asie (Nair *et al.*, 2005).

Agrama *et al.* (1999), ont identifié trois QTLs pour la résistance à *P. Sorghi*. Deux d'entre eux ont été cartographiés sur le **chromosome 1** et le troisième sur le **chromosome 9**. Une héritabilité de la réaction à la maladie de 0,7 a été obtenue, durant 2 saisons de culture au champ en Égypte avec des conditions artificielles d'inoculation. Le pourcentage de variance phénotypique expliqué par chaque QTL varie entre 12,4 % et 23,8 %. Ces trois QTLs de résistance présentent des effets additifs. Certains résultats indiquent également que des effets non-additifs détermineraient le contrôle de la résistance (Singburadom & Renfro, 1982).

Sabry *et al.* (2006) ont quant à eux détecté, en Thaïlande, trois QTLs de résistance à *P. Sorghi*. Un se situe sur le **chromosome 2** est présente un effet important (70 % de la variation phénotypique), tandis que les deux autres situés sur les **chromosomes 3 et 9** présentent des effets mineurs (4% de la variation phénotypique) (Sabry *et al.*, 2006). Ces trois QTL

présentaient également des effets additifs. Le fait que la même région du chromosome 2 ait été associé à la résistance à *P. Sorghi* dans différents environnements de test suggère qu'un gène majeur ou un complexe de gènes de résistance pourrait occuper cette région. L'effet additifs associé à ce QTL varie de 4,26 à 31,06 selon l'étude et l'environnement. (Sabry *et al.*, 2006). Le QTL sur la même région du chromosome 3 a également été identifié par Jadhav *et al.* (2019). Dans leur étude, ce QTL détecté par composite interval mapping dans trois environnements explique 14,9 % de la variation phénotypique (Jadhav *et al.*, 2019). Des locus de résistance à d'autre stress biotiques telles que la mosaïque du maïs a également été identifié dans cette région chromosomique (Jadhav *et al.*, 2019). L'une des principales difficultés rencontrées dans les études de résistance du maïs au mildiou, est la difficulté de noter avec précision la réaction à la maladie. La maturité de la plante et la quantité d'inoculum sont des facteurs qui influences l'expression de la maladie. De multiples évaluations effectuées dans différents endroits sont nécessaires pour évaluer avec précision le déterminisme génétique de la résistance. Des valeurs d'héritabilité allant de 93 % à 48 % ont ainsi été mesuré dans différents environnements. Ces différences de valeurs d'héritabilité peuvent être attribué aux différentes conditions expérimentales et pressions de maladies (Sabry *et al.*, 2006). La complexité de ce caractère quantitatif implique une cartographie soigneusement analysée sur plusieurs années et dans différents environnements. Une étude a également été réalisé afin de valider certains des QTLs identifiés. Lohithaswa *et al.* (2015) ont identifié des QTLs localisés sur les **chromosomes 2, 3 et 6**. Le QTL sur le chromosome 3 présentait l'effet majeur et expliqué jusqu'à 12,6 % de la variabilité phénotypique. Tandis que les deux autres QTLs ont eu des effets mineurs avec une variation phénotypique de 7,1 et 2 % (Lohithaswa *et al.*, 2015). Les QTLs sur les chromosomes 3 et 6 ont ensuite été introgressé par sélection assisté par marqueur dans huit lignées de maïs sensibles. Selon cette étude, l'introgression des deux QTLs a permis d'augmenter la résistance des lignées. Sur 21 plantes présentant les deux QTLs, 10 % des plantes présentées au maximum des symptômes systémiques (feuilles chlorotiques). Les QTLs présentaient cependant des intervalles importants de 36,8 cM pour le chromosome 3 et 40,9 cM pour le chromosome 6 (Lohithaswa *et al.*, 2015).

Enfin, une étude GWAS (Genome-wide association study) a également été conduite sur un panel de 368 lignées adaptées à la zone agro-écologique asiatique (Rashid *et al.*, 2018). 26 SNPs ont été significativement associées à la résistance à *P. Sorghi* avec des valeurs de P-value inférieur à 0,05 (une correction de Bonferonni a été réalisé). Six des haplotypes sont localisés dans les mêmes régions chromosomiques que les QTLs identifiés dans les autres études et huit nouvelles régions chromosomiques ont été identifié. Des associations fortement significatives ont ainsi été trouvé sur les **chromosome 2, 3, 6 et 9** et recouvre des QTLs déjà identifiés (George *et al.*, 2003; Nair *et al.*, 2005; Jampatong *et al.*, 2013; Lohithaswa *et al.*, 2015). Cette étude permet également d'identifier des gènes candidats car une partie des SNPs identifiés sont localisés sur des gènes annotés qui influencent la résistance à des maladies dans diverses cultures et notamment le mildiou (Rashid *et al.*, 2018).



Comparaison entre un maïs résistant au mildiou (gauche) et un maïs sensible (droite). Photo par : Nothando F. Mafu, PMB, UKZN. Prise à l'IIAM Chokwe, Mozambique. Date : 13/03/11.

### 3. Screening et phénotypage

Différentes techniques de phénotypage ont été développées afin de trier le matériel génétique. Le phénotypage pour la résistance à *P. Sorghi* peut être réalisé en plein champs ou en serre. Nous utiliserons dans notre cas les deux possibilités. Le phénotypage en serre sera réalisé sur les ressources génétique et en F2. Tandis que le phénotypage en plein champs sera réalisé en F3.

Nous n'avons pas trouvé de bibliographie détaillant précisément des protocoles de phénotypage en serre sur maïs. Cependant, ce type de phénotypage a bien été conduit dans des études sur la résistance du maïs à *P. Sorghi* (Sabry *et al.*, 2006). En revanche nous avons trouvé des études présentant des protocoles détaillés de phénotypage en serre sur du sorgho pour *P. Sorghi* (Narayana *et al.*, 1995).

*P. Sorghi* est un oomycète obligatoire. Pour réaliser le phénotypage, l'inoculum doit donc être collecté et appliqué directement sur le matériel à tester (Maize research for stress environments, 1995). Des pépinières de plantes infectées doivent ainsi être réalisées dans des serres en condition contrôlée afin de maintenir le pathogène. L'inoculum y est maintenu sur un cultivar sensible. Les conidies sont prélevées sur des plantes de 3 semaines infectées de manière systémique. Ces plantes sont cultivées dans une serre à  $25\text{ °C} \pm 4\text{ °C}$ . Les plantes sont exposées à la lumière pendant la journée. Les feuilles sont coupées et essuyées avec du coton absorbant humide pour éliminer le mildiou qui a été produit précédemment et essuyées à nouveau avec du papier absorbant pour éliminer l'humidité de la surface des feuilles. Les feuilles sont coupées à 4-5 cm de long et placées avec leur surface abaxiale tournée vers le haut dans des plaques de Pétri de 9 cm de diamètre recouvertes de papier buvard humide des deux côtés. Les plaques sont incubées à  $20\text{ °C}$  pendant 6-7 heures pour la sporulation. Les conidies sont récoltées en lavant les feuilles sporulées dans de l'eau distillée froide ( $5\text{ °C}$ ) à l'aide d'une brosse en poil de chameau.

La suspension est filtrée à travers une double couche de tissu de mousseline pour éliminer les conidiophores et autres particules. La concentration de conidies est ajustée à  $6 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$  à l'aide d'un hémacytomètre. Un agent mouillant peut-être ajouté à la suspension.

Lors d'un phénotypage en serre, Narayana et al. (1995) ont obtenu sur du sorgho un coefficient de corrélation de 0,68 entre la serre et le champ et une incidence plus élevée en serre. Tous les génotypes identifiés comme résistant en serre l'étaient également en champ tandis que l'inverse n'était pas vrai. Une diversité plus importante de niveau de sensibilité a été examinée en serre par rapport au champ et la méthode des lignes d'infections. C'est donc pour ces raisons que nous réalisons le phénotypage en serre sur les ressources génétiques et en F2, car il nous semble plus précis. De plus la serre est plus appropriée pour des effectifs importants, comme c'est le cas durant ces premières étapes du schéma de sélection. Enfin, la serre permet également de ne pas être dépendant des conditions climatiques et environnementales, le phénotypage peut donc être réalisé toute l'année. Ceci est notamment intéressant en ce qui concerne les ressources génétiques de départ. La méthode d'inoculation des plantules par pulvérisation en serre permet d'assurer une plus grande précision dans la sélection des génotypes résistants. L'incidence maximale du mildiou (100 %) a été observée lorsque les semis ont été inoculés au stade de la première feuille (Narayana et al., 1995). Les semis sont réalisés dans des pots de 10 cm de diamètre dans des serres à  $25 \text{ °C} \pm 4\text{°C}$ , à hauteur de 30 graines par pot et 3 pots par génotype. Une lignée sensible bien identifiée est également présente pour chaque expérimentation telle que CM500. Lorsque les pieds ont levé et que les premières feuilles sont visibles, les plantules sont déplacées, 1 heure avant inoculation, dans une chambre d'inoculation maintenue à  $20 \text{ °C} \pm 1\text{°C}$  avec une humidité relative élevée (100%). La pulvérisation est ensuite réalisée à l'aide d'une solution de conidies en suspension ( $6 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ) et un atomiseur jusqu'à ce que toute la surface des plantules soit recouverte de fines gouttelettes d'inoculum. Une incubation est ensuite réalisée durant 18h à  $20\text{°C}$ , à une humidité relative élevée (90-100 %) et dans le noir. Les plantules inoculées sont ensuite placées dans une serre maintenue à  $25 \text{ °C} \pm 4\text{°C}$  et à une humidité relative de 70 – 90 % pendant 3 semaines. Le nombre de pieds sains et infectés est ensuite relevé et le pourcentage d'incidence est calculé à 7, 15 et 21 jours après inoculation (Narayana *et al.*, 1995; Sabry *et al.*, 2006). Les plantes qui montrent des symptômes d'infections systémiques ou locales sont considérées comme infectées (Radwan *et al.*, 2011). Les génotypes qui présentent des niveaux d'incidence inférieurs ou égaux à 10 % sont considérées comme résistantes. Il peut être également intéressant de compter les plantes qui présentent seulement des lésions locales et celles qui présentent des symptômes systémiques. Ceci peut donner une idée de la sévérité de la maladie par génotype.

Étant donné que deux pathotypes ont été identifiés au Nigeria il peut être intéressant de réaliser ce travail pour en double. Cependant, nous n'avons pas lu de bibliographie faisant état d'une sévérité différente des deux pathogènes. Le type de résistance est quantitative et aucune étude fait état d'un génotype résistant à un pathotype et sensible au second. Cependant, cela demande donc des études plus poussées. Dans le cas où cela serait avéré alors l'ensemble du travail précédent doit être réalisé pour chacun des pathotypes.

Ensuite un phénotypage au champ est réalisé en F3 sur environ 200 génotypes. Au moins deux essais maladies sont réalisés. Un au nord de la savane guinée et un second au sud de la savane guinéenne. Une inoculation directe des semences de la lignée sensible est réalisée (Cardwell *et al.*, 1997). Les feuilles infectées sont préalablement prélevées et stérilisées par lavage à la Javel (hypochlorite de sodium à 3,0 %). Elles sont ensuite rincées à l'eau du robinet pour éliminer les vieilles conidies. Les semences de la variété sensible sont pré-germées pendant 96 heures et lavées à la Javel pendant 1 minute puis à l'eau du robinet. Elles sont ensuite inocuées en plaçant une couche de semences sur les feuilles infectées dans des récipients propres. Puis elles sont laissées incubées dans un incubateur à 21°C et 100% d'humidité pendant la nuit. Elles sont ensuite semées dès le lendemain en plein champ. Cette étape demande une main d'œuvre importante, cependant le contexte d'étude nous le permet. Dans le cas, où cela n'est pas possible on peut seulement se limiter à l'étape suivante, l'infection artificielle sur plante.

Étant donné l'effectif important de génotypes testés en F3 (environ 200), il peut être intéressant d'utiliser un dispositif de blocs aléatoires incomplets équilibrés à 2 répétitions. Les rangées du cultivar sensible sont semées tout autour du bloc expérimental ainsi qu'une bande de 2 m entre chaque bande de 3 m des génotypes testés (Rashid *et al.*, 2018). Une suspension de conidies est pulvérisée sur le cultivar sensible au stade 2-3 feuilles jusqu'au ruissellement sur la plante à l'aide d'un pulvérisateur à dos ou d'un épandeur entre 4 et 6h du matin (environ  $2 \times 10^4$  conidies par plante). L'inoculation est répétée pendant 7 jours. Les génotypes testés sont semés environ 15 jours après le semis du cultivar sensible (Cardwell *et al.*, 1997). Le processus d'inoculation est répété sur ces génotypes. Chaque génotype est semé sur une ligne de 3 m de long avec un espacement de 20 cm entre les plantes et 75 cm entre les rangées. Le nombre total de plantes infectées par ligne (symptômes locaux et systémique) est relevé à 21 et 35 jours après la levée et l'incidence est calculé. Une notation de résistance est ensuite appliquée :

- 0 % : très résistant
- 1-10 % = résistant
- 11-25 % = résistance moyenne
- 26 – 50 % = sensibilité moyenne
- 51 – 75% = sensible
- 76-100 % = très sensible.

La solution de conidies en suspension peut être réalisée comme détaillé au niveau du phénotypage en serre. Cependant une deuxième méthode est également réalisable. Des feuilles infectées peuvent être prélevées aux alentours de 2h30 du matin. Elles sont ensuite lavées dans l'eau à raison de 15 feuilles par litre (Jadhav *et al.*, 2019)

## C. Contrainte abiotique du soja

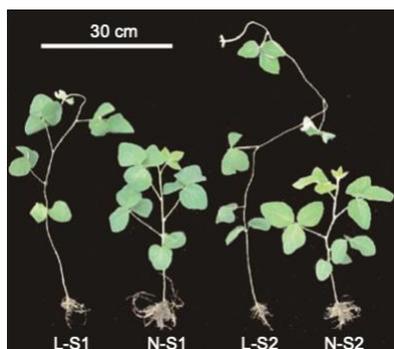
### 1. Modification de la qualité et la quantité de lumière dans le couvert et son influence sur le soja :

Plusieurs études antérieures ont démontré que ce type de design d'inter-culture maïs/soja modifie le microclimat au sein du couvert. En ce qui concerne l'environnement du soja, les propriétés d'intensités lumineuses et de spectre lumineux sont ainsi modifiées. Le rapport

(R/FR) entre la lumière rouge (R) (655 à 665 nm) et la lumière rouge lointaine (FR) (725 nm à 735 nm) chute de 1,05 – 1,35 à 0,55 – 0,85 entre la monoculture de soja et l'inter-culture. La quantité de rayonnement solaire qui traverse le couvert de maïs est ainsi riche en lumière FR mais présente une faible lumière visible (R). De plus, la PAR (Photosynthetically Active Radiation) en monoculture de soja est plus élevée que celle en inter-culture (Yang *et al.*, 2014). La perturbation de ces paramètres lumineux et l'ombrage du maïs constituent donc un stress pour le soja. L'augmentation de ce stress diminue l'efficacité photosynthétique du soja ainsi que le rapport chlorophylle a/b (Cui *et al.*, 2014). Des expérimentations réalisées par Su *et al.* (2014), ont montré qu'en culture intercalaire avec le maïs, le soja présente un taux de photosynthèse significativement réduit (-38,3%), tout comme le taux de transpiration (-42,7%) et la conductance stomatique (-55,4 %). On observe également une augmentation significative de la teneur en chlorophylle (+ 27,4 %) et de la teneur en Chl b (+52,2%). (Su *et al.*, 2014). Ce stress entraîne également des changements morphologiques chez le soja. Sous l'effet de l'ombrage, Lui *et al.* (2017) ont observé une augmentation de la longueur des entre-nœuds, de la hauteur des plantes ainsi que de la surface foliaire spécifique (surface foliaire total / biomasse total) et une réduction de l'épaisseur des feuilles et du nombre de ramifications (Liu *et al.*, 2017b). Le manque de lumière dans un système de culture intercalaire réduit également le nombre de graines par plante, la masse de biomasse aérienne ainsi que le poids de 100 grains, ce qui entraîne une diminution du rendement du soja cultivé en culture associée avec le maïs (Zhu *et al.*, 2010). Enfin, l'élongation de la tige entraîne une sensibilité accrue à la verse réduisant la qualité et le rendement du soja (Liu *et al.*, 2015).



Pied de soja en monoculture (gauche) et culture intercalaire maïs/soja (droite)(Liu *et al.*, 2015)



Échantillon de 2 génotypes de soja (S1 et S2) dans des conditions de culture intercalaire maïs/soja (L) et de monoculture (N). (Wu *et al.*, 2017)

La période critique pour la détermination du nombre de grain chez le soja se situe entre le début de la floraison (R1) et l'obtention des premiers grains (R5). Jiang et Egli (1993) ont ainsi rapporté que l'ombrage de R1 à R5 réduisait de manière significative la photosynthèse et la biomasse du soja, diminuant le taux de croissance et le nombre de grains (Jiang & Egli, 1993). En culture associée le soja requiert plus de temps thermique pour l'organogénèse qu'en monoculture (Liu *et al.*, 2017b). Selon Liu et al. (2017), la réduction la plus importante de la qualité par rapport à la quantité de lumière implique un impact plus important sur la morphologie que sur la croissance.

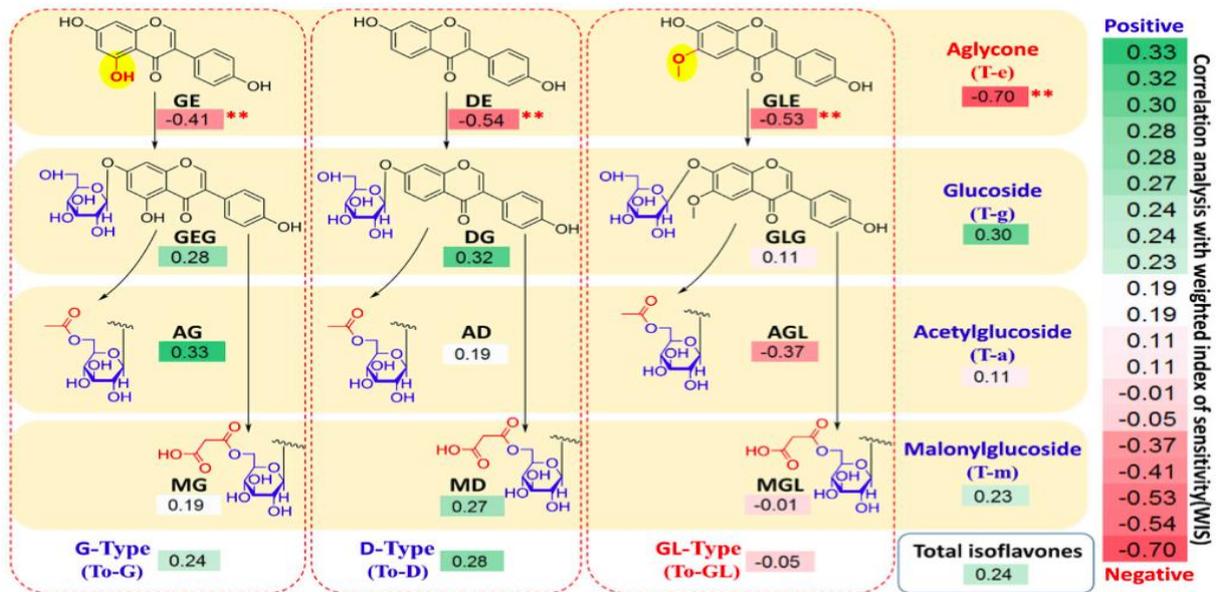
## 2. Stratégies face à l'ombrage et diversité génétique chez le soja :

Afin de faire face à ce stress lumineux lié à l'ombrage, les plantes ont développé deux stratégies principales : l'évitement et la tolérance (Gong *et al.*, 2015). L'allongement de la tige et de l'hypocotyle en condition d'ombrage sont des traits majeurs d'évitement de la plante, dans le but d'intercepter relativement plus de lumière (Liu *et al.*, 2017b). Cependant, ceci entraîne l'allocation du carbone vers l'allongement de la tige au détriment du développement des racines et des feuilles. Ce trait d'évitement favorise également la verse et réduit l'indice de récolte, affectant ainsi le rendement (Gong *et al.*, 2015). Cette stratégie d'évitement implique de plus un diamètre de tige réduit ainsi qu'un nombre réduit de ramifications et de nœuds sur la tige principale. La surface foliaire moyenne diminue donc en condition d'ombrage à cause d'une diminution de la taille des feuilles et du nombre de ramifications. Or, la surface foliaire est un facteur important qui affecte l'interception de la lumière et la biomasse de la plante (Yao *et al.*, 2016). Ainsi l'augmentation de la quantité de lumière interceptée en conditions d'ombrage grâce à l'élongation de la tige ne permet pas de compenser l'effet de la réduction de la surface foliaire (Liu *et al.*, 2017b). La stratégie d'évitement n'est donc pas la meilleure stratégie pour le soja cultivé en culture associée au maïs (Gong *et al.*, 2015). La stratégie de tolérance implique donc tout d'abord l'absence de traits classiques d'évitement de l'ombre comme l'allongement de la tige principale. Elle implique également une adaptation complexe et spécifique à la vie à l'ombre comme l'augmentation de la surface foliaire spécifique et de la teneur en chlorophylle ou la diminution du ratio Chl a/b (Gommers *et al.*, 2013). Les génotypes de soja présentent une plus grande variabilité dans l'évitement que dans la tolérance à l'ombre pour augmenter le gain en carbone (Gong *et al.*, 2015). Gong et al. (2015) ont ainsi rapporté dans une étude précédente que la plasticité des traits de tolérance à l'ombre, tels que la teneur en chlorophylle ou l'augmentation de la surface foliaire spécifique, est inférieure à celle des traits d'évitement de l'ombre, tel que l'élongation de la tige. Su et al. (2014) ont cependant montré que la réduction de l'accumulation de la biomasse de soja en condition d'ombrage était d'avantage causée par une diminution de la surface foliaire que par la diminution du taux de photosynthèse (Su *et al.*, 2014). Les plantes tolérantes à l'ombre ont en effet une surface foliaire plus élevée que les plantes intolérantes (Valladares & Niinemets, 2008). Afin de sélectionner de sojas tolérants à l'ombre

et à haut rendement dans un système de culture associé au maïs, différents caractères doivent ainsi être pris en compte : une longueur de tige plus courte, une surface foliaire importante, un nombre de gousses et de grains par branche élevée et un nombre de ramifications importantes (Wu *et al.*, 2017).

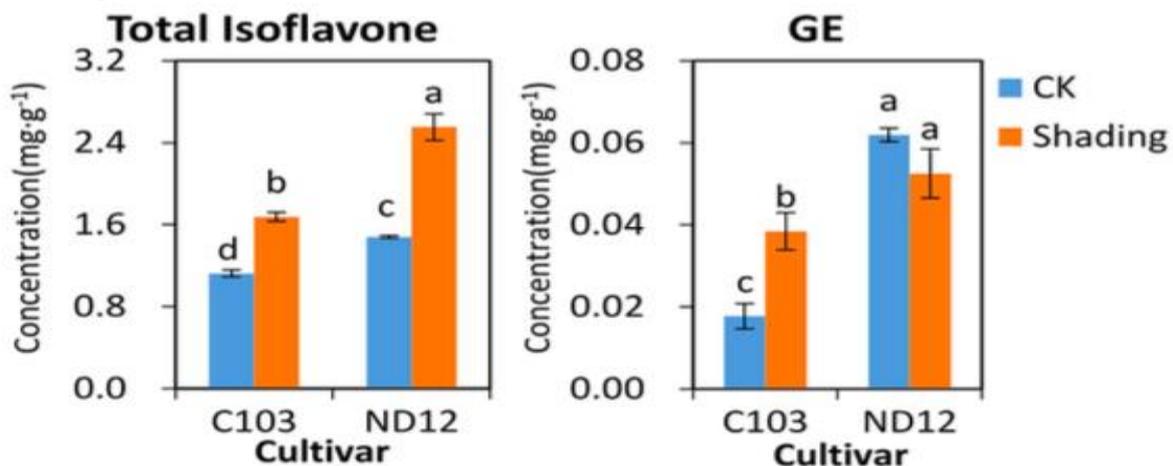
### 3. Sélection de variétés adaptées à l'ombrage, screening de variétés tolérantes :

Estimer la tolérance à l'ombrage du germplasm de soja afin de sélectionner des variétés adaptées au système de culture intercalaire est une des deux stratégies permettant de faire face à la compétition au niveau de la ressource lumineuse. Des méthodes d'évaluation ont été développées et ont été utilisées avec succès pour cribler plusieurs types de germplasm de soja pour une bonne tolérance à l'ombre (Liu *et al.*, 2015, 2017a). Une de ces méthodes consiste à évaluer le degré d'élongation du soja dans un système de culture intercalaire avec du maïs en comparaison avec une monoculture (Liu *et al.*, 2015). Cette méthode d'évaluation dépend principalement de caractères agronomiques en mono et inter-culture et du calcul de deux indices : l'indice de sévérité de l'élongation (vining severity index), l'indice pondéré d'élongation (weighted vining index) et l'indice pondéré de sensibilité à l'ombre (WIS). Au stade de la floraison différentes caractéristiques morphologiques du soja sont mesurées afin de calculer ces indices : longueur de la tige, nombre de nœuds, longueur de l'hypocotyle, longueur des entrenœuds, diamètre de la tige, résistance à la rupture de la tige et biomasse des tiges (Liu *et al.*, 2015). Cette méthode d'évaluation reste cependant lourde et chronophage. Selon Liu *et al.* (2016) elle peut prendre plus de deux ans et est sensible aux facteurs environnementaux. Liu *et al.* (2017) ont par la suite mis en place une méthode de phénotypage simple, rapide et pratique pour l'évaluation de la tolérance à l'ombrage. Elle consiste à analyser le profil en isoflavone des graines par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). Plusieurs aglycones (genistein (GE), daidzein (DE) et glycitein (GLE)) ont ainsi été identifiés comme des composants clés impliqués dans la tolérance à l'ombrage du soja, et pouvant être utilisés comme des biomarqueurs des génotypes tolérants. Liu *et al.* (2017), ont ainsi rapporté que la concentration en aglycones dans les graines était significativement corrélée de manière négative ( $P$ -value  $< 0,01$ ) avec le WIS. Tandis que les autres isoflavones étaient positivement corrélées avec le WIS.



Analyse de corrélation entre la teneur en isoflavones et l'indice de sensibilité pondéré (WIS). Les chiffres des cases colorées sont des coefficients de corrélation qui sont exprimés selon l'échelle de couleur indiquée à côté de l'image. \*\* Indique la signification au niveau  $P < 0.01$  et \* indique la signification au niveau  $P < 0.05$  (Liu *et al.*, 2017a).

Les flavonoïdes inhérents ou induits dans les plantes peuvent protéger les processus de photosynthèse dans des conditions extrêmes de lumière (Pandey & Pandey-Rai, 2014). Pour mieux identifier la relation entre la teneur en isoflavone et la tolérance à l'ombre, Liu *et al.* (2017) ont réalisé une expérimentation dans un phytotron en appliquant un ombrage sur deux génotypes (ND 12 : un génotype tolérant à l'ombre – C103 : un génotype sensible à l'ombre). Sous un environnement contrôlé, le traitement de l'ombre a induit des variations dans les profils isoflavonoïdes des feuilles de soja qui différaient entre les deux génotypes. Ils ont pu observer que la teneur en aglycone était nettement plus élevée chez le génotype avec un niveau de tolérance élevé, en particulier sous traitement à l'ombrage. Ces résultats suggèrent donc que les aglycones, et particulièrement GE, jouent un rôle important dans la réponse au stress d'ombrage.



Concentration totale d'isoflavones et de génistéine (GE) des plants de soja cultivés dans des conditions normales et à l'ombre. (Liu *et al.*, 2017a)

Des études ont également montré que de nombreux paramètres associés à la peroxydation ont été détectés dans du soja cultivé en intercalaire et soumis à l'ombrage du maïs (Liu *et al.*, 2017a). Or, la peroxydation des lipides est une oxydation des lipides insaturés qui dégrade l'activité photosynthétique (Sandmann & Böger, 1980). Les flavonoïdes constituent un groupe de composés polyphénoliques secondaires ayant d'importantes propriétés antioxydantes (Heim *et al.*, 2002). Les graines de soja contiennent 12 isoflavones qui sont présents sous quatre formes différentes : aglycones,  $\beta$ -glucosides, malonylglucosides et acétylglucosides. Le blocage de la fonction hydroxyle active par glycosylation entraîne une diminution des effets inhibiteurs. Liu *et al.* (2017) ont ainsi identifié, lors d'une expérience de simulation de stress d'ombrage, le GE comme l'antioxydant ayant l'activité la plus élevée en raison de ses deux groupes hydroxyles actifs. Cette étude a également démontré que le facteur génétique joue un rôle plus important que l'environnement dans la biosynthèse des isoflavones. L'analyse des isoflavones dans les graines permet donc de prédire le potentiel de tolérance à l'ombre sans menée d'expérience sur le terrain (Liu *et al.*, 2017a). Lors du screening des ressources génétiques et afin d'identifier des sojas tolérants à l'ombre, nous réaliserons donc une analyse de la teneur en isoflavones des graines par HPLC. Puis à l'aide d'une analyse en composante principale nous pourrions diviser les différents génotypes en plusieurs groupes. Les génotypes ayant un rapport de concentration plus élevé en aglycones, et particulièrement en GE, peuvent alors être sélectionnés comme tolérants à l'ombre (Liu *et al.*, 2017a).

## IV. Caractérisation de l'idéomix et design de culture

### A. Critères de sélection de l'idéomix de l'association Maïs/soja

L'idéomix a été défini avec la volonté d'augmenter la performance globale de l'association. Le maïs est l'espèce principale du mélange nous voulons donc conserver un niveau de rendement élevé. Cependant, nous avons identifié que le maïs est également l'espèce la plus compétitrice de l'association ('Screening of Maize Hybrids under Maize/Soybean Intercropping Based on Their Combining Abilities and Multiple Cropping Components - SciAlert Responsive Version'). Cette compétition est en partie liée à la strate supérieure du couvert et notamment à l'ombrage du maïs sur le soja. Or, le rendement final du soja est pénalisé par ce stress, pénalisant la performance de l'association. Nous avons donc choisi ce caractère de l'association comme stress abiotique pour notre étude. Cela nous a permis de travailler sur un stress lié au système de culture mais également à l'interaction entre ces deux espèces. Le choix de ce trait est central dans notre approche Abiotique. Il fait donc référence au partage de la ressource lumineuse au sein du couvert. L'utilisation d'une espèce en C3, le soja, et d'une autre en C4, le maïs, peut être un premier élément du partage de la ressource lumineuse. Cependant, afin de réduire d'avantage ce stress, nous aurions également pu choisir de sélectionner sur la phénologie des deux cultures. Le levier de la précocité associé à une inter-

culture en relai, comme cela est pratiqué en Chine, aurait pu éventuellement nous permettre de limiter, par exemple, le stress aux périodes critiques. Nous aurions ainsi pu agir sur la complémentarité temporelle de l'usage de la ressource. Or le contexte climatique local tout comme les pratiques agricoles nous ont contraint à rejeter cette option. Nous avons choisi en alternative de travailler sur la complémentarité spatiale et donc sur l'architecture du soja et du maïs ainsi que sur le caractère de tolérance du soja à l'ombrage. Le développement de cultivars de maïs semi nain maïs présentant un rendement élevé permet de réduire l'influence de l'ombrage du maïs sur le soja (Gong *et al.*, 2014; Du *et al.*, 2018). Tout comme des maïs à feuilles convergentes et au port érigé. Ces caractères doivent être les plus homogènes possible au sein de la variété synthétique. En ce qui concerne le soja, la sélection sur la tolérance à l'ombrage peut se baser sur des traits spécifiques comme : une longueur de tige plus courte, une surface foliaire importante, un nombre de gousses et de grains par branche élevée et un nombre de ramification importante (Wu *et al.*, 2017). Cette sélection peut être complétée par la sélection à partir de biomarqueurs sur graines comme vue précédemment. Au niveau de ressources génétique, nous pourrions utiliser un certain nombre de cultivars de soja qui présentes des phénotypes insensibles à l'ombrage et qui ont été identifiés en Chine (Du *et al.*, 2018). Ces traits relatifs à l'interaction et à la compétition entre les deux espèces doivent être complétés par des traits plus centraux et agronomiques telle que le rendement, la résistance à la verse, la précocité ou des caractéristiques du grain. Or, en ce qui concerne le rendement nous n'avons pas pu définir clairement le coût de la sélection pour la compétition en lumière et ses interactions avec le rendement. Il est en effet important de déterminer dans quelle mesure la sélection d'un génotype de maïs semi-nain et peu compétitif peu pénaliser son rendement. Ou encore, quelle est l'influence sur son rendement de la sélection pour la tolérance à l'ombre du soja et des traits liés. Nous avons cependant tenté d'apporter une partie des réponses à travers notre schéma de sélection et l'utilisation notamment d'index.

En ce qui concerne les stress biotiques, nous avons choisi de travailler sur une maladie pour chacune des deux espèces. *P.Sorghii* sur le maïs implique une résistance polygénique quantitative. Ce type de résistance est par nature relativement durable. Les mécanismes de résistance du maïs n'ont pas été clairement identifiés. Le CIMMYT à une grande expérience dans l'amélioration de la résistance au mildiou. Des populations spécifiques ou encore des lignées ont ainsi été améliorées et présente des niveaux de résistance élevés (De Leon & Lothrop, 1994). Au Nigeria, l'amélioration pour la résistance à *P.Sorghii* a commencé au milieu des années 1970 à travers une collaboration entre le Programme National Nigérien sur le maïs et l'IITA (International Institute of Tropical Agriculture). Cet effort a abouti à partir des années 80 à la création de variétés synthétiques à maturité précoce ou tardive (Open pollinated variétés (OPV)) résistantes (Ajala *et al.*, 2003). Du matériel végétal résistant à également été développé pour le Nigeria à partir de lignées hybrides initialement obtenues en Asie et notamment en Thaïlande (*Maize research for stress environments*, 1995). Nous avons donc choisi dans un premier temps de se reposer sur un screening variétal précis de ces ressources génétiques pour obtenir une variété synthétique avec un niveau élevé de tolérance. Cependant, nous avons pu lire dans la bibliographie que le déterminisme génétique de *P.Sorghii* commencé à être bien étudié malgré sa complexité. Des QTLs de résistances auraient été introgressés par sélection assistée par marqueur avec des résultats intéressants (Lohithaswa *et al.*, 2015). Dans un second

temps, nous pourrions donc approfondir ces éléments à travers de la cartographie de QTL dans l'environnement Nigérien et les pathotypes locaux, ou encore de la cartographie fine. Puis introgresser les QTLs dans les parents constituants/parents de la variété synthétique. Cela nous permettrait également d'étudier d'avantage les deux pathotypes locaux identifiés. La rouille étant identifiée comme la maladie foliaire la plus prépondérante au Nigéria, nous avons également choisi de créer des variétés résistantes à cette maladie. Des gènes monogéniques conférant la résistance ont été identifié, ceux-ci seront utilisé pour la création des nouvelles variétés qui répondent aux contraintes que nous avons identifié dans l'association de cette légumineuse et du maïs au Nigéria.

Le choix d'une variété synthétique dans le cas du maïs a été réalisé dans un souci d'augmenter et de renforcer la diversité génétique de l'association. L'hétérogénéité génétique d'une association peut s'accroître par l'augmentation du nombre d'espèce mais également du nombre de génotype. L'objectif étant de maximiser le fonctionnement de tous les composants intra et inter spécifique ainsi que leur capacité à cohabiter et à fonctionner les uns avec les autres (Litrice & Violle, 2015). L'objectif était également de renforcer la plasticité et la résilience dans un contexte de changement climatique où les stress biotiques et abiotiques varient fortement en intensité et où les ressources sont limitées. La sélection récurrente réalisé dans le cas des variétés synthétiques permet également un renouvellement et une amélioration constante et progressive des constituants / parents. De plus, elle peut permettre de préparer le matériel génétique pour future schéma de sélection d'hybride. Enfin, les variétés synthétiques répondent également au contexte économique et agricole local. Elles permettent en effet de proposer des variétés à un coût limité aux agriculteurs. Ces derniers peuvent également ressemer une partie de leur récolte une à deux fois tout en maintenant une homogénéité du matériel génétique et de ses performances. Ils ne sont ainsi pas contraints, comme c'est le cas avec des variétés hybrides, de racheter chaque année des semences.

Enfin l'idéomix implique un design de semis bien défini. Celui-ci influence le stress abiotique liée à la lumière. Il peut également jouer un rôle dans la propagation des maladies au sein du couvert. Le choix d'alterner les lignées isogénique a ainsi été réalisé en ce sens. Le but étant de limiter la propagation et la dissémination de la rouille.

## B. Cycle et Design de culture

### 1. Cycle culturale

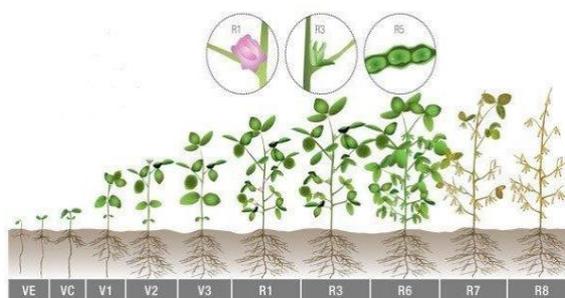
La région de la savane Guinéenne correspond à la zone de production majeure à la fois du maïs et du soja dans lesquelles les pathogènes choisis présentent une grande virulence. A cet effet, trois sites d'expérimentation ont été choisies à Zaria dans le Nord de la savane Guinéenne, Abuja au centre et Makurdi au sud. Le climat se compose d'une saison sèche allant d'Octobre à Mars et d'une saison des pluies de Avril à Septembre. Durant la saison des pluies, une quantité de 1000 à 1500 mm d'eau est observé. Le sol est de type sablo-limoneux (Ijoyah et al. 2012). Au Nigéria, les cultures sont influencées par le climat et le type de sol des zones agroécologiques, la période de plantation dépend donc de la température et de la durée du jour.

Le soja, *Glycine max* est une plante herbacée annuelle dicotylédones de la famille des Fabacées à jours courts, elle nécessite donc un temps chaud pour une production optimale. Sa taille varie entre 0,2 à 1 m en fonction de la précocité. Il faut environ 4 à 7 jours après la plantation pour commencer à pousser et environ 90 à 150 jours après le semis pour arriver à maturité. La gousse déhiscente des graines de soja est généralement verte mais devient brun jaunâtre à maturité, les graines étant dures et sèches. Le cycle végétatif du soja est caractérisé par trois grandes étapes : la phase de développement végétatif qui dure environ 40 jours pendant laquelle la plante installe son système racinaire avec la mise en place des nodosités ; la plante utilise essentiellement l'azote du sol. Pendant la phase floraison/fructification les nodosités sont bien développées et fonctionnelles, la majeure partie de l'azote métabolisé est alors d'origine atmosphérique. Cette période dure environ 50 jours et correspond à la phase où la plante est très sensible à un déficit hydrique mais aussi à divers pathogènes. La phase de maturation des graines dure environ 50 jours et s'achève par la chute des feuilles. La durée du cycle végétatif est comprise entre 100 et 160 jours selon le type variétal et la région où il est cultivé. Dans la zone d'étude, les variétés de soja préconisées sont généralement précoces en raison des risques de stress hydrique en fin de cycle. La somme des températures varie, suivant les variétés, de 400 à 600 degrés jours (base 6 °C) de la levée à la floraison, et de 1 500 à 1 900 degrés jours de la levée à la maturité.

**Table 1. Recommended soybean varieties for Guinea savanna ecological zones in Nigeria.**

Variety	Ecology	Characteristics	<i>Striga</i> control
TGX 1448-2E	Southern and northern Guinea savannas	Medium maturing, high yield, low shattering, high oil content, excellent grain color	Good
TGX 1835-10E	Guinea savanna	Early maturing, rust resistant, pustule resistant	Not known
TGX 1485-1D	Guinea savanna	Early maturing, pustule resistant, rust susceptible	Not known

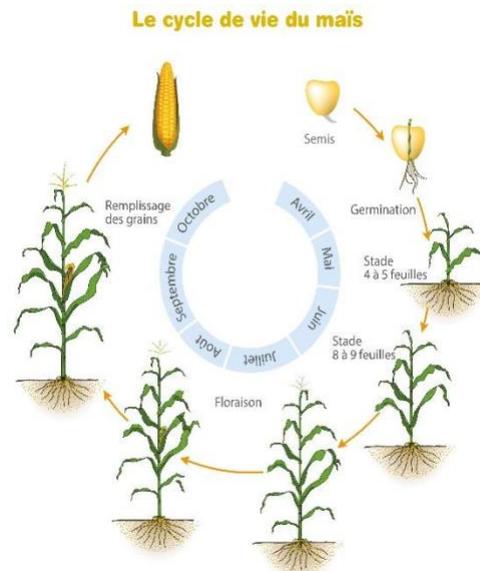
**N.B.** Early and extra-early maturing varieties are strongly recommended in the Sudan savanna because of the low amount and duration of rainfall in the zone.



*Cycle végétatif du soja*

Le maïs, *Zea mays* quant à lui est une plante herbacée tropicale annuelle de la famille des Poacées. Son cycle végétatif varie entre 4 mois et 6 mois selon les variétés. Il est caractérisé par une phase végétative pendant laquelle les racines, la tige et des feuilles apparaissent. Au stade 6 à 8 feuilles, la panicule mâle, contenant les étamines et donc le pollen, apparaît. Quelques jours plus tard, apparaîtront les fleurs femelles, qui donneront les épis. Simultanément

au développement des fleurs femelles, on observe l'apparition de soies qui sont des récepteurs du pollen et qui fécondera l'ovule par la suite. Ce stade marque la fin de la floraison et le point de départ de la fécondation et du remplissage des grains ainsi que la maturation des épis. La fécondation des fleurs femelles par le pollen se déroule généralement en juillet-août. Dans la savane guinéenne la période de semis du maïs varie entre fin Avril à fin Mai (au Sud) et fin Mai début juin (au Nord). Quatre groupes de maturité sont nécessaires pour répondre aux besoins



*Cycle végétatif du maïs*

variétaux de maïs de la sous-région pour la consommation humaine, l'alimentation des volailles et du bétail et l'utilisation industrielle. Ces groupes sont les variétés extra-précoces (80-85 jours jusqu'à maturité), précoces (90-95 jours jusqu'à maturité), intermédiaires (100-110 jours jusqu'à maturité) et tardives (> 120 jours jusqu'à maturité). Les variétés très précoces jouent un rôle de soudure en juillet dans les zones de savane du Soudan et du nord de la savane de Guinée après la longue saison sèche.

Le calendrier cultural ainsi proposé illustre l'itinéraire technique c'est à dire les périodes dédiées à la préparation du sol avec labour, le passage d'une herse et éventuellement la réalisation d'un faux semis, des dates de semis et de récolte. Le climat de la zone d'étude permet de réaliser qu'un cycle cultural par an. Nous choisissons de réaliser le semis du maïs et du soja simultanément entre la 3<sup>ème</sup> semaine d'Avril et 1<sup>ère</sup> semaine de Juin en culture non irriguée. Ceci dans le but d'éviter les risques d'un stress hydrique imposé lors de la saison sèche. Le semis est ainsi réalisé à 2-3 cm de profondeur pour permettre une bonne levée. Les variétés utilisées sont des variétés à maturité normale de soja et de précocité moyenne pour le maïs. Les cultures ont donc toutes deux un développement de 90 à 110 jours environ, ce qui correspond à environ 1800 – 1900° jours. La récolte aussi est faite en même temps avec des machines adaptées comme proposé par Isqbal et al., 2018 en Chine.



Calendrier culturel



Outils de semis (à gauche) et de récolte (à droite) de maïs et de soja de façon simultanée

## 2. Design de culture

L'arrangement spatial des cultures a montré un effet considérable sur les cultures (Salez). En effet, le dispositif doit être raisonné en fonction des attentes des agriculteurs. Pour une meilleure performance des cultures c'est à dire pour avoir un rendement équilibré et élevé des cultures en association, (Iqbal *et al.*, 2019) ont montré que l'altération de deux rangs de chaque culture aboutissait à des rendements supérieurs à ceux des monocultures. Ainsi, les deux espèces seront semées en alternance de deux rangs chacune facilitant par ailleurs les passages des machines. Les lignes de soja seront disposées à raison d'une ligne par lignées isogéniques tandis que les variétés synthétiques de soja seront semées mélangées ; les tailles des parcelles seront d'environ 6 m<sup>2</sup> (3 x 2m). Ce design permet une bonne utilisation des ressources avec une amélioration du microclimat sur la parcelle et une bonne interception lumineuse. Il permet un contrôle des adventices en limitant leur développement, des ravageurs et des maladies en diminuant leur incidence. Il améliore la fertilité des sols et l'acquisition d'azote par l'immobilisation à long terme et permet la réduction de l'application de fertilisants azotés. En outre, ce design favorise l'amélioration des rendements par une utilisation efficace des parcelles mais aussi les revenus des agriculteurs d'après Iqbal *et al.*, 2018.

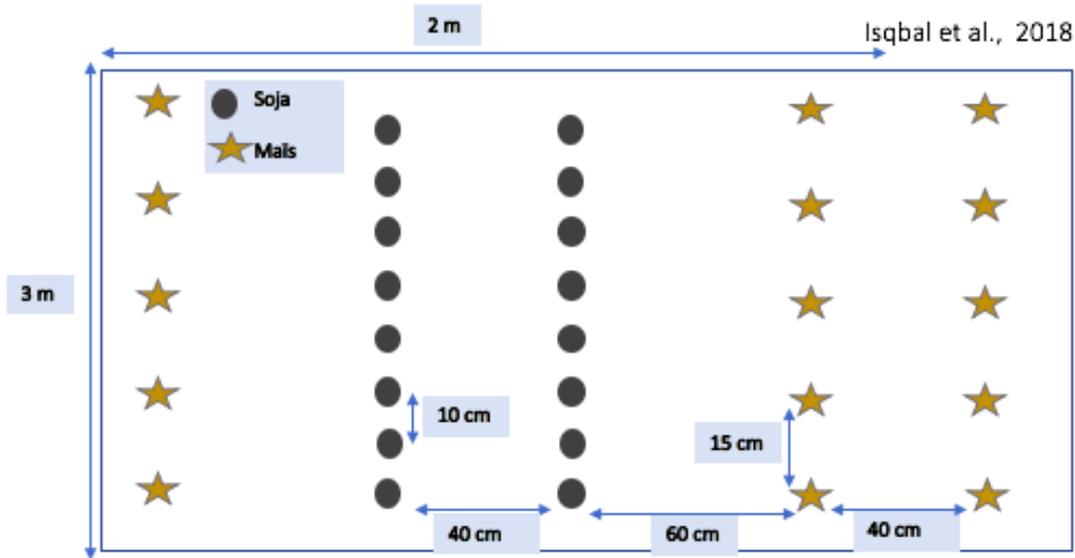


Table 1. Comparative analysis of maize and soybean intercropping systems in different countries.

Country	Plant density in monocropping system ( $\times 10^3$ plants $ha^{-1}$ )		Plant density in intercropping system ( $\times 10^3$ plants $ha^{-1}$ )		Sole crop yield ( $kg ha^{-1}$ )		Intercrop yield ( $kg ha^{-1}$ )		LER	Reference
	Maize	Soybean	Maize	Soybean	Maize	Soybean	Maize	Soybean		
China (traditional)	167	167	83	83	10,186	2414	7274	1004	1.14	(Lv et al., 2014)
China (MSIS)	59	117	59	117	7190	1470	6350	2180	2.36	(Chen et al., 2017)
Democratic Republic of the Congo	53	160	40	160	1558	568	985	423	1.52	(Muyayabantu, Kadiata, & Nkongolo, 2013)
Egypt	71	143	24	95	8781	2322	6890	1446	1.41	(Aziz et al., 2012)
Ethiopia	44	500	44	375	3190	1994	2769	909	1.28	(Waktola et al., 2014)
Ghana	56	111	56	222	3360	1550	4000	590	1.56	(Addo-Quaye, Darkwa, & Ocloo, 2011)
India	83	333	42	250	3545	1090	2465	960	1.54	(Yogesh et al., 2014)
Iran	90	330	45	165	10,052	2232	10,192	1850	1.67	(Mahmoudi et al., 2013)
Kenya	27	222	19	143	4950	1440	6110	350	1.81	(Matusso, Mugwe, & Mucheru-Muna, 2013)
Nepal	40	200	40	200	4760	1990	4270	1260	1.38	(Khatni, Dahal, Amgain, & Karki, 2014)
Nigeria	33	200	33	200	5200	1280	4800	1210	1.87	(Ijoyah & Fanen, 2012)
Serbia	36	400	36	400	10,682	2218	13,257	1929	2.11	(Dolijanović et al., 2009)

China (traditional): Intercrop yields were adjusted to whole plot basis.

Democratic Republic of the Congo: Maize sole crop yield was calculated from gross income and maize unit price (300 CDF/kg).

Egypt: 1 aradab = 200 kg, 1 feddan (fed.) = 0.42 ha.

India: 1 q = 50 kg.

La densité de semis est également l'un des paramètres importants à prendre en compte lors d'une association céréale/légumineuse. Nous allons donc conserver les densités de semis proposées par Ijoyah & Fanen, 2012 en monoculture et en association car cette étude a été réalisée au Nigeria et présente des résultats favorables à la culture en association.

	<i>Maïs</i>	<i>Soja</i>
	750 grains/épis	80 graines/plante
<i>Nb graines / parcelle</i>	30 000*	9600**
<i>Peuplement par m2</i>	3-4 plantes	20 plantes
<i>Peuplement par parcelle (6m2)</i>	20 plantes	120 plantes
<i>Densité par hectare</i>	33 000 Plantes/ha	200 000 Plantes/ha

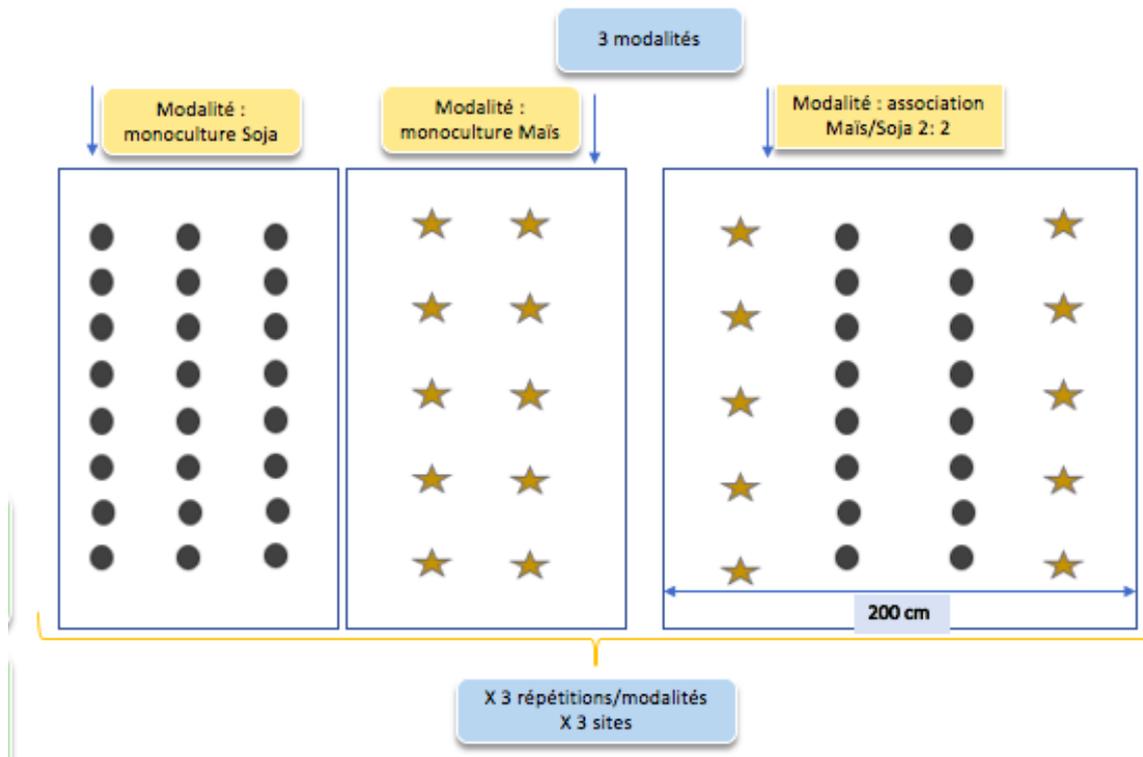
2 épis par pied de maïs :  $2 \times 750 \times 20 = 30\,000$  grains

\*\* 80 graines/plante : 80 x 120 = 9600 Graines / parcelle.

A chaque cycle de culture nous estimons le nombre des graines disponibles par parcelle de nos deux espèces dans le tableau ci-dessus.

Nous effectuons trois modalités : un soja en culture pure, un maïs en culture pure et une association maïs / soja.

Chaque modalité sera répétée trois fois et sur trois sites de la savane Guinéenne.



## V. Schéma de sélection

Les performances en mélange ne sont pas toujours corrélées à celles en pur, ce qui rend difficile la prédiction des performances des mélanges à partir des pures. Il est donc nécessaire d'évaluer les génotypes en mélange pour estimer l'aptitude à la culture en mélange des génotypes. À partir des observations en mélange on peut estimer l'aptitude au mélange des génotypes. Pour cela plusieurs index sont utilisés.

### A. Index de sélection en Association

#### 1. Land Equivalent Ration (LER)

Le LER traduit la superficie qui serait nécessaire en cultures pures pour obtenir les mêmes rendements qu'en culture associée. Cet index qui sera utilisé pour apprécier l'association entre une variété de maïs et de soja

$$LER = \frac{Rdt \text{ espèce A associée}}{Rdt \text{ espèce A associée}} \times \frac{Rdt \text{ espèce B associée}}{Rdt \text{ espèce B associée}}$$

Si  $LER > 1$  : l'associé produit un gain de rendement par rapport aux cultures pures

Si  $LER < 1$  : l'association entraîne une perte de rendement par rapport aux cultures pures

## 2. Competitive Ratio (CR)

Le CR donne le degré exact de compétition d'une espèce par rapport à l'autre dans l'association. Par exemple un CR espèce A égal à 3 signifie que l'espèce A est trois fois plus compétitive que l'espèce B qui lui est associée. Dans nos schémas de création variétale, le CR sera utilisé pour déterminer la compétitivité du maïs. L'objectif c'est d'avoir une variété de maïs moyennement compétitive pour qu'elle n'impacte pas trop le rendement du soja.

$$CR \text{ espèce } a = \frac{R a}{R b} \times \frac{\text{Proportion de surface consacrée à B}}{\text{Proportion de surface consacrée à A}}$$

Où : R a et R b sont les rendements relatifs des deux espèces.

Les proportions sont données par les ratios de densité de chaque espèce.

## 3. Relative Yield (RY)

Le RY permet d'évaluer un génotype dans un mélange en indiquant s'il est plus ou moins résistant, stable, productif dans le mélange qu'en monoculture. Le RY permettra d'évaluer le comportement des variétés de soja en association lors de leur évaluation dans le schéma de sélection

$$Relative \text{ Yield } B = \frac{\text{Productivity mixte } B}{\text{Productivity monoc } B}$$

Si  $RY > 0,5$  la variété B se comporte mieux en association qu'en culture pure

Si  $RY < 0,5$  la variété A se comporte moins bien en association qu'en culture pure.

## 4. Aptitude Générale à l'Association (AGA) et Aptitude Spécifique à l'Association (ASA)

Elle est déterminée en calculant le rendement moyen d'une variété de soja en association avec toutes les variétés de maïs testées.

$$AGA (B) = \frac{\sum \text{Rendement } B}{N}$$

D'où B est la variété évaluée ; N le nombre de total d'association.

L'AGA d'une variété est appréciée en la comparant avec les AGA de toutes les autres variétés de la même espèce.

L'ASA permet d'apprécier la performance d'une variété A en association avec une variété B.

L'objectif est de trouver la meilleure association permettant aux deux composants de maximiser leurs rendements

## B. Schéma de sélection lignées isogéniques de soja

Les caractéristiques de l'idéotype du soja vont orienter le choix des ressources génétiques à utiliser. Ce pendant un nombre important de matériel génétique sera recensé afin d'effectuer un screening permettant d'identifier 17 géotypes portant des caractères d'intérêt. Les 17 géotypes présélectionnés permettront d'effectuer environ 250 intercroisements pour obtenir des graines F1.

### **Sélection en pépinière**

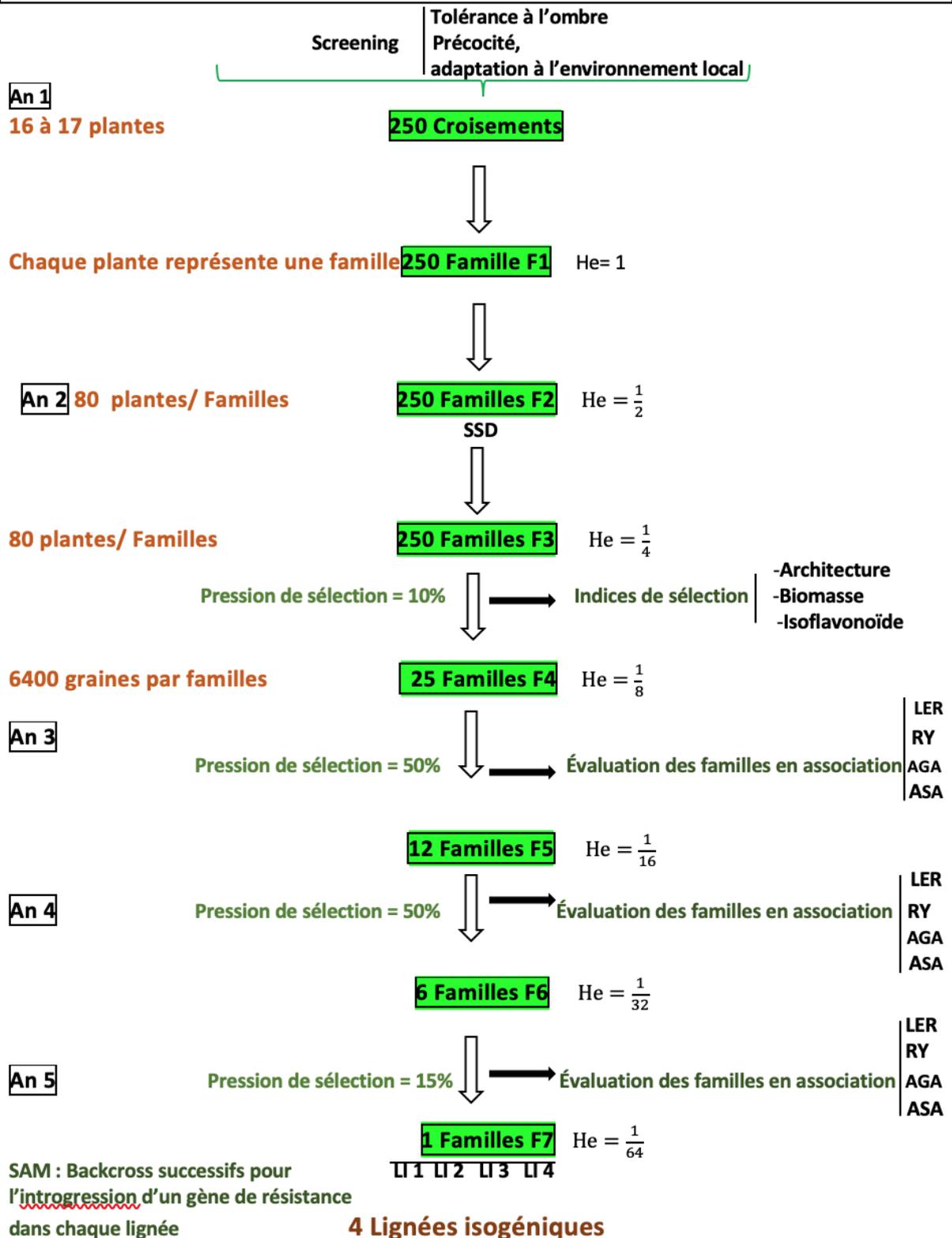
Les graines F1 seront mises en cultures et l'ensemble des plantes vont subir une autofécondation pour produire des graines F2. Toutes les graines F2 issues d'une même plante F1 sont considérées appartenir à la même famille. Une plante de soja produit en moyenne 90 graines. Ainsi chaque famille en F2 sera constituée de 80 plantes disposées en ligne pour un effectif de 250 familles. Pour avancer en F3 une prise individuelle de graine sera effectuée sur toutes les plantes F2 des 250 familles. La méthode appliquée est la sélection par filiation monograine.

### **Sélection en Milieu réel**

Les 250 familles en F2 seront évaluées en milieu réel afin d'appliquer une pression de sélection de 10% sur les familles pour constituer la F4. Les critères de sélection évalués en F3 sont l'architecture, la taille et la teneur en isoflanoïde. Les 25 familles avancées en F4 seront évaluées en association avec les variétés synthétiques maïs dans un seul environnement. C'est à partir de ce stade, les critères de sélection seront définis sur la base des indices de sélection précédemment définis. En F4 seul 50% des familles sera avancé en F5. Les F5 seront aussi évaluées en association avec le maïs mais cette fois-ci dans 3 environnements différents. Une pression de sélection de 50% sera appliquée à nouveau, ainsi seul 6 familles sera avancées en F6. Ces graines seront semées à leur tour et la même démarche sera effectuée, mais cette fois-ci l'évaluation se fera dans 6 environnements différents afin de sélectionner la meilleure famille à avancer en F7.

A ce stade la lignée élite ne présente pas de gène de résistance pour répondre au critère de l'idéotype de départ qui est de créer 4 lignées isogéniques comportant chacune un gène de résistance de la rouille. Pour ce faire quatre lignées identiques de soja seront identifiées et chacune sera croisée avec une autre plante ayant un gène de résistance de la rouille. Cette méthode back-cross assisté par marqueur consiste à réaliser des croisements à chaque génération entre la lignée receveur et les nouveaux individus possédant le gène de résistance. L'opération sera répétée 2 fois. Comme la taille de chaque gène de résistance fait environ 2cM, il faut produire en BC1 250 plantes et BC2 436 plantes pour pouvoir obtenir la lignée élite presque identique à celle du départ. Les plantes obtenues après croisement sont inoculées avec l'agent pathogène en serre isolée pour confirmer la résistance des plantes identifiées.

## Schéma de sélection lignées isogéniques Soja



## C. Schéma de sélection variété synthétique de maïs

Le matériel végétatif de départ sera constitué de ressources génétiques déjà développées par différents centres de recherche (CIMMYT, ITA MAIZE, CPV, land race). Un screening basé sur les caractéristiques de l'idéotype sera effectué afin de sélectionner 21 variétés. Ces derniers permettront d'effectuer 400 intercroisements pour obtenir 400 F1.

### **Les clones : Lignées d'observations :**

Les graines F1 seront mises en culture puis autofécondées et pour minimiser la perte de variabilité le passage en F2 se fera en ressèment une seule graine de chaque génotype de la génération précédente. En F2 le taux d'hétérozygotie est égale à 50%, il faudrait 5 générations de plus, pour une durée de 4 ans pour obtenir des lignées fixées. Ce pendant l'haplodiploïdisation sera appliqué sur les 400 F2 afin de gagner du temps sur la fixation des caractères. Les plantes ploïdes obtenues par cette méthodes donnent en générale peu de graines. Elles doivent être semées pour être multipliées afin d'obtenir suffisamment de graines diploïdes à évaluer en pinière. A ce stade seul 50% des 400 lignées sera sélectionnée pour l'étapes suivantes. Le criblage appliqué pour choisir les 200 lignées se basera sur la précocité, la résistance au mildiou et la taille. Les lignées sélectionnées seront évaluées pour une première fois en milieu réel. Les mêmes critères de sélection appliqués précédemment en pépinière seront retenus lors des essais sur le terrain. A ce stade, une pression de sélection de 5% sera appliqué sur les 200 lignées testées. Dix lignées sont retenues à cette étapes pour constituer les polycross qui permettront d'avoir des lignées synthétiques.

### **Polycross :**

Le polycross est une association d'un nombre limité de parents en isolement destinés à se féconder entre eux. Cet intercroisement permet de bénéficier de l'effet d'hétérosis qui est la performance de la descendance par rapport à la moyenne des deux parents ou par rapport au meilleur parent. Notre polycross de départ aura 10 composants, chaque plante pourra recevoir le pollen de 9 autres plantes. Les graines de chaque plante mère (lignée élite) sont récoltées pour être évaluer en association avec les lignées de soja, dans un seul environnement. Sur la base des index prédéfinis, une pression de sélection de 50% est appliqué sur les 10 lignées (clones) qui avaient constitués le polycross de départ. L'étape suivante consiste à mettre en place un polycross constitué de 5 clones précédemment retenus. Les graines issues des plantes mères seront à nouveau évaluer en association avec le soja mais cette fois-ci dans 3 environnements différents. Grâce au index de sélection, les trois meilleurs clones seront sélectionnés. Leurs descendances obtenues en polycross sera évaluée dans 6 environnements différents en association avec le soja afin de définir leur zone de prédilection. Les variétés synthétiques finales à développer seront constituées de la descendance des 3 lignées élites croisées au seins d'un polycross.

## Schéma de sélection variété synthétique de maïs

Ressources génétiques : CIMMYT / IITA MAIZE / CPV/ land race  
Screening sur la résistance au mildiou, la taille, le port, la couleur des grains

**An 1**

20 à 21 plantes

**400 Croisements**



**400 F1**

He = 1



**400 F2**

He =  $\frac{1}{2}$

1 plante par génotype

**An 2**

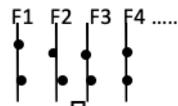
Haploïdisation

**400 Haploïdes doublés**

He = 0



**400 lignées fixées**



Indices de sélection

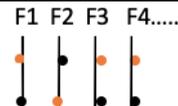
- précocité
- Résistance
- Taille

80 plantes/ Familles

Pression de sélection de 50%

**An 3**

**200 Lignées fixées**



Indices de sélection

- précocité
- Résistance
- Taille

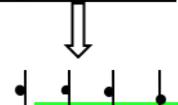
80 plantes/ Familles

Pression de sélection de 5%

Test maladie en milieu réel

Environ 250 graines par plante

**10 lignées fixées**

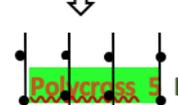


50 graines/lignée

Évaluation des p mères en association

LER,  
CR  
AGA  
ASA

Pression de sélection = 50%

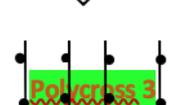


Évaluation des p mères en association

LER  
CR  
AGA  
ASA

**An 4**

Pression de sélection = 60%



Évaluation finale en association

LER  
CR  
AGA  
ASA

**An 5**

**Variété Synthétique**

## VI. Références bibliographiques

**43rd Croatian and 3rd International Symposium on Agriculture.** : 5.

**Agrama HA, Moussa ME, Naser ME, Tarek MA, Ibrahim AH. 1999.** Mapping of QTL for downy mildew resistance in maize. *Theoretical and Applied Genetics* **99**: 519–523.

**Ajala SO, Kling JG, Kim SK, Obajimi AO. 2003.** Improvement of maize populations for resistance to downy mildew. *Plant Breeding* **122**: 328–333.

**Akem CN.** Maladies du soja : biologie, identification et lutte. : 39.

**Anaso AB, Emechebe AM, Tyagi PD, Manzo SK. 1989.** Assessment of loss in yield due to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) of maize in Nigerian guinea savanna. *Tropical Pest Management* **35**: 301–303.

**Anaso AB, Tyagi PD, Emechebe AM, Manzo SK. 1987.** Identity of a downy mildew in maize in Nigerian Guinea savanna. *Samaru Journal of Agricultural Research* **5**: 13–23.

**Arulselvi S, Selvi B, Pandiyan M. 2018.** Sorghum Downy Mildew of Maize – A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **7**: 1472–1488.

**Badu-Apraku B, Fakorede MAB. 2017.** Breeding for Disease Resistance in Maize. In: *Advances in Genetic Enhancement of Early and Extra-Early Maize for Sub-Saharan Africa*. Cham: Springer International Publishing, 379–410.

**Bain DC, Alford WW. 1969.** Evidence that downy mildew (*Sclerospora sorghi*) of Sorghum is seedborne. *Plant Disease Reporter* **53**: 802–803.

**Cardwell KF, Kling JG, Bock C. 1997.** Methods for screening maize against downy mildew *Peronosclerospora sorghi*. *Plant Breeding* **116**: 221–226.

**Chabi-Olaye A, Nolte C, Schulthess F, Borgemeister C. 2005.** Relationships of intercropped maize, stem borer damage to maize yield and land-use efficiency in the humid forest of Cameroon. *Bulletin of Entomological Research* **95**: 417–427.

**Cooper B, Campbell KB, McMahon MB, Luster DG. 2013.** Disruption of *Rpp1* -mediated soybean rust immunity by virus-induced gene silencing. *Plant Signaling & Behavior* **8**: e27543.

**Cui L, Su BY, Yang F, Yang WY. 2014.** Effects of photo-synthetically active radiation on photosynthetic characteristics and yield of soybean in different maize/soybean relay strip intercropping systems. *Scientia Agricultura Sinica* **47**: 1489–1501.

**De Leon C, Lothrop JE. 1994.** Lowland tropical germplasm development in Asia with emphasis on selection for downy mildew. *CIMMYT Maize Program Special Report (CIMMYT)*.

**Dugje IY, Omoigui LO, Ekeleme F, Bandyopadhyay R, Kumar PL, Kamara AY.** Farmers' Guide to Soybean Production in Northern Nigeria. : 20.

- Du J, Han T, Gai J, Yong T, Sun X, Wang X, Yang F, Liu J, Shu K, Liu W, et al. 2018.** Maize-soybean strip intercropping: Achieved a balance between high productivity and sustainability. *Journal of Integrative Agriculture* **17**: 747–754.
- Gao Y, Duan A, Qiu X, Sun J, Zhang J, Liu H, Wang H. 2010.** Distribution and Use Efficiency of Photosynthetically Active Radiation in Strip Intercropping of Maize and Soybean. *Agronomy Journal* **102**: 1149–1157.
- George MLC, Prasanna BM, Rathore RS, Setty TAS, Kasim F, Azrai M, Vasal S, Balla O, Hautea D, Canama A, et al. 2003.** Identification of QTLs conferring resistance to downy mildews of maize in Asia. *Theoretical and Applied Genetics* **107**: 544–551.
- George ML, Regalado E, Warburton M, Vasal S, Hoisington D. 2004.** Genetic diversity of maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica* **135**: 145–155.
- Gommers CMM, Visser EJW, Onge KRS, Voeselek LACJ, Pierik R. 2013.** Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends in Plant Science* **18**: 65–71.
- Gong WZ, Jiang CD, Wu YS, Chen HH, Liu WY, Yang WY. 2015.** Tolerance vs. avoidance: two strategies of soybean (*Glycine max*) seedlings in response to shade in intercropping. *Photosynthetica* **53**: 259–268.
- Gong W, Qi P, Du J, Sun X, Wu X, Song C, Liu W, Wu Y, Yu X, Yong T, et al. 2014.** Transcriptome Analysis of Shade-Induced Inhibition on Leaf Size in Relay Intercropped Soybean. *PLoS ONE* **9**.
- Hartman GL, Miles MR, Frederick RD. 2005.** Breeding for Resistance to Soybean Rust. *Plant Disease* **89**: 664–666.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **13**: 572–584.
- Ijoyah MO, Fanen FT. 2012.** Effects of different cropping pattern on performance of maize-soybean mixture in Makurdi, Nigeria. *Scientific Journal of Crop Science*: 9.
- Iqbal N, Hussain S, Ahmed Z, Yang F, Wang X, Liu W, Yong T, Du J, Shu K, Yang W, et al. 2019.** Comparative analysis of maize–soybean strip intercropping systems: a review. *Plant Production Science* **22**: 131–142.
- Jadhav KP, Senthil N, Tamilarasi PM, Ganesan KN, Paranidharan V, Raveendran M, Ramalingam J. 2019.** QTL mapping for sorghum downy mildew disease resistance in maize (*Zea mays* L.) in recombinant inbred line population of UMI79 X UMI936 (w). *Current Plant Biology* **20**: 100124.

- Jompatong C, Jompatong S, Jompuk C, Sreewongchai T, Grudloyma P, Balla C, Prodmatee N. 2013.** Mapping of QTL affecting resistance against sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in maize (*Zea mays* L). *Maydica* **58**: 119–126.
- Jiang H, Egli DB. 1993.** Shade Induced Changes in Flower and Pod Number and Flower and Fruit Abscission in Soybean. *Agronomy Journal* **85**: 221–225.
- Kamara AY, Tofa AI, Ademulegun T, Solomon R, Shehu H, Kamai N, Omoigui L. 2019.** MAIZE–SOYBEAN INTERCROPPING FOR SUSTAINABLE INTENSIFICATION OF CEREAL–LEGUME CROPPING SYSTEMS IN NORTHERN NIGERIA. *Experimental Agriculture* **55**: 73–87.
- Kaneko K, Aday BA. 1980.** Inheritance of Resistance to Philippine Downy Mildew of Maize, *Peronosclerospora philippinensis*1. *Crop Science* **20**: cropscl1980.0011183X002000050011x.
- Kenneth R, Shahor G. 1973.** Systemic infection of sorghum and corn by conidia of *Sclerospora Sorghi*. *Phytoparasitica* **1**: 13–21.
- Langenbach C, Campe R, Beyer SF, Mueller AN, Conrath U. 2016.** Fighting Asian Soybean Rust. *Frontiers in Plant Science* **7**: 797.
- Les maladies fongiques des Légumineuses à graines en Afrique de l’Ouest. : 39.**
- Li L, Li S-M, Sun J-H, Zhou L-L, Bao X-G, Zhang H-G, Zhang F-S. 2007.** Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**: 11192–11196.
- Litrico I, Violle C. 2015.** Diversity in Plant Breeding: A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* **20**: 604–613.
- Liu J, Hu B, Liu W, Qin W, Wu H, Zhang J, Yang C, Deng J, Shu K, Du J, et al. 2017a.** Metabolomic tool to identify soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] germplasms with a high level of shade tolerance at the seedling stage. *Scientific Reports* **7**: 42478.
- Liu X, Rahman T, Song C, Su B, Yang F, Yong T, Wu Y, Zhang C, Yang W. 2017b.** Changes in light environment, morphology, growth and yield of soybean in maize-soybean intercropping systems. *Field Crops Research* **200**: 38–46.
- Liu X, Rahman T, Song C, Yang F, Su B, Cui L, Bu W, Yang W. 2018.** Relationships among light distribution, radiation use efficiency and land equivalent ratio in maize-soybean strip intercropping. *Field Crops Research* **224**: 91–101.
- Liu W, Zou J, Zhang J, Yang F, Wan Y, Yang W. 2015.** Evaluation of Soybean (*Glycine max*) Stem Vining in Maize-Soybean Relay Strip Intercropping System. *Plant Production Science* **18**: 69–75.

- Lohithaswa HC, Jyothi K, Sunil Kumar KR, Puttaramanaik, Hittalmani S. 2015.** Identification and introgression of QTLs implicated in resistance to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) C. G. Shaw) in maize through marker-assisted selection. *Journal of Genetics* **94**: 741–748.
- Lv Y, Francis C, Wu P, Chen X, Zhao X. 2014.** Maize-Soybean Intercropping Interactions Above and Below Ground. *Crop Science* **54**: 914–922.
- Maize research for stress environments. 1995.* CIMMYT.
- Mauch-Mani B, Schwinn FJ, Guggenheim R. 1989.** Early infection stages of the downy mildew fungi *Sclerospora graminicola* and *Peronosclerospora sorghi* in plants and cell cultures. *Mycological Research* **92**: 445–452.
- Muoneke CO, Ogwuche MAO, Kalu BA.** Effect of maize planting density on the performance of maize/soybean intercropping system in a guinea savannah agroecosystem. : 12.
- Nair SK, Prasanna BM, Garg A, Rathore RS, Setty TAS, Singh NN. 2005.** Identification and validation of QTLs conferring resistance to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) and Rajasthan downy mildew (*P. heteropogoni*) in maize. *Theoretical and Applied Genetics* **110**: 1384–1392.
- Nair SK, Prasanna BM, Rathore RS, Setty TAS, Kumar R, Singh NN. 2004.** Genetic analysis of resistance to sorghum downy mildew and Rajasthan downy mildew in maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Research* **89**: 379–387.
- Narayana YD, Mughogho LK, Bandyopadhyay R. 1995.** Evaluation of greenhouse inoculation techniques to screen sorghum for resistance to downy mildew. *Euphytica* **86**: 49–53.
- Olanya OM, Fajemisin JM. 1993.** Host-range and survival studies of *Peronosclerospora sorghi* at two locations in Nigeria. *International Journal of Pest Management* **39**: 13–18.
- Olanya OM, Fajemisin JM, Oyekan P. 1993.** Incidence and geographical distribution of downy mildew on maize caused by *Peronosclerospora sorghi* in Nigeria. *International Journal of Pest Management* **39**: 28–34.
- Periyannan S, Milne RJ, Figueroa M, Lagudah ES, Dodds PN. 2017.** An overview of genetic rust resistance: From broad to specific mechanisms. *PLoS pathogens* **13**: e1006380–e1006380.
- Pandey N, Pandey-Rai S. 2014.** Modulations of physiological responses and possible involvement of defense-related secondary metabolites in acclimation of *Artemisia annua* L. against short-term UV-B radiation. *Planta* **240**: 611–627.

**Radwan GL, Perumal R, Isakeit T, Magill CW, Prom LK, Little CR. 2011.** Screening Exotic Sorghum Germplasm, Hybrids, and Elite Lines for Resistance to a New Virulent Pathotype (P6) of *Peronosclerospora sorghi* Causing Downy Mildew. *Plant Health Progress* **12**: 17.

**Rahman T, Ye L, Liu X, Iqbal N, Du J, Gao R, Liu W, Yang F, Yang W. 2017.** WATER USE EFFICIENCY AND WATER DISTRIBUTION RESPONSE TO DIFFERENT PLANTING PATTERNS IN MAIZE–SOYBEAN RELAY STRIP INTERCROPPING SYSTEMS. *Experimental Agriculture* **53**: 159–177.

**Raji JA. 2007.** Intercropping soybean and maize in a derived savanna ecology. *African Journal of Biotechnology* **6**.

**Rashid Z, Singh PK, Vemuri H, Zaidi PH, Prasanna BM, Nair SK. 2018.** Genome-wide association study in Asia-adapted tropical maize reveals novel and explored genomic regions for sorghum downy mildew resistance. *Scientific Reports* **8**: 366.

**Regehr A, Oelbermann M, Videla C, Echarte L. 2015.** Gross nitrogen mineralization and immobilization in temperate maize-soybean intercrops. *Plant and Soil* **391**: 353–365.

**Sabry A, Jeffers D, Vasal SK, Frederiksen R, Magill C. 2006.** A region of maize chromosome 2 affects response to downy mildew pathogens. *Theoretical and Applied Genetics* **113**: 321–330.

**Sandmann G, Böger P. 1980.** Copper-mediated Lipid Peroxidation Processes in Photosynthetic Membranes. *Plant Physiology* **66**: 797–800.

**Sanginga N, Okogun J, Vanlauwe B, Dashiell K. 2002.** The contribution of nitrogen by promiscuous soybeans to maize based cropping the moist savanna of Nigeria. *Plant and Soil* **241**: 223–231.

**Screening of Maize Hybrids under Maize/Soybean Intercropping Based on Their Combining Abilities and Multiple Cropping Components - SciAlert Responsive Version.**

**Shaoming L, Ping Z, Maopan F, Shichang G, Yi Z. 2004.** Nitrogen Uptake and Utilization in Intercropping System of Maize and Soybean. *Yunnan Nong ye da xue xue bao = Journal of Yunnan Agricultural University* **19**: 572–574.

**Singburadom N, Renfro BL. 1982.** Heritability of resistance in maize to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) C.G. Shaw). *Crop Protection* **1**: 323–332.

**Sireesha Y, Velazhahan R. 2017.** Analysis of defense genes expression in maize upon infection with *Peronosclerospora sorghi*. *Cereal Research Communications* **45**: 272–283.

- Su BY, Song YX, Song C, Cui L, Yong TW, Yang WY. 2014.** Growth and photosynthetic responses of soybean seedlings to maize shading in relay intercropping system in Southwest China. *Photosynthetica* **52**: 332–340.
- Twizeyimana M, Ojiambo PS, Ikotun T, Ladipo JL, Hartman GL, Bandyopadhyay R. 2008a.** Evaluation of Soybean Germplasm for Resistance to Soybean Rust ( *Phakopsora pachyrhizi* ) in Nigeria. *Plant Disease* **92**: 947–952.
- Twizeyimana M, Ojiambo PS, Sonder K, Ikotun T, Hartman GL, Bandyopadhyay R. 2009.** Pathogenic Variation of *Phakopsora pachyrhizi* Infecting Soybean in Nigeria. *Phytopathology* **99**: 353–361.
- Valladares F, Niinemets Ü. 2008.** Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **39**: 237–257.
- V.m M, J S, K W. 1996.** MACRO CHARACTERIZATION OF AGRICULTURAL SYSTEM IN WEST AFRICA, AN OVERVIEW IN RESOURCE AND CROP MANAGEMENT RESEARCH. **21**: 9–12.
- Wang Z-G, Jin X, Bao X-G, Li X-F, Zhao J-H, Sun J-H, Christie P, Li L. 2014.** Intercropping Enhances Productivity and Maintains the Most Soil Fertility Properties Relative to Sole Cropping. *PLoS ONE* **9**.
- Wu Y, Yang F, Gong W, Ahmed S, Fan Y, Wu X, Yong T, Liu W, Shu K, Liu J, et al. 2017.** Shade adaptive response and yield analysis of different soybean genotypes in relay intercropping systems. *Journal of Integrative Agriculture* **16**: 1331–1340.
- XiaoChun W, WenYu Y, WangJun R, XiaoYan D, Qun Z, DaBing X, TaiWen Y. 2012.** Study on the differences in yield and nutrient absorption of maize in wheat/maize/soybean and wheat/maize/sweet potato relay intercropping systems. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* **18**: 803–812.
- Xue Y, Xia H, Christie P, Zhang Z, Li L, Tang C. 2016.** Crop acquisition of phosphorus, iron and zinc from soil in cereal/legume intercropping systems: a critical review. *Annals of Botany* **117**: 363–377.
- Yang F, Huang S, Gao R, Liu W, Yong T, Wang X, Wu X, Yang W. 2014.** Growth of soybean seedlings in relay strip intercropping systems in relation to light quantity and red:far-red ratio. *Field Crops Research* **155**: 245–253.
- Yao H, Zhang Y, Yi X, Zhang X, Zhang W. 2016.** Cotton responds to different plant population densities by adjusting specific leaf area to optimize canopy photosynthetic use efficiency of light and nitrogen. *Field Crops Research* **188**: 10–16.
- Zhu W, Wenyu Y, Qilin W. 2010.** Effects of shading in maize/soybean relay-cropping system on the photosynthetic characteristics and yield of soybean. : 1502–1507.