



Directives pour la régénération Maïs

Suketoshi Taba¹ et S. Twumasi-Afriyie²

¹International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), Mexique

² CIMMYT, Ethiopie



Introduction

Le maïs (*Zea mays* L. spp. *mays*) est une plante exogame et monoïque annuelle, qui a évolué dans le Sud du Mexique, vraisemblablement à partir de son parent proche, le téosinte. Les épis portant les semences sont situés sur les côtés, aux inter-noeuds de la plante, tandis que les fleurs mâles (panicule) se situent au sommet de la plante. En Amérique Latine, il existe plus de 250 races et cultivars locaux. Certaines races d'Amérique du Sud poussant en moyenne altitude, ont des saisons de croissance de plus de 10

mois alors que certaines races à maturation précoce mettent moins de 3 mois entre la plantation et la récolte. Certaines races mesurent 4 à 5 mètres de haut, ce qui rend la pollinisation difficile. Les cultivateurs de maïs ont traditionnellement classifié les écotypes du maïs selon l'adaptation aux environnements de croissance : tropical (<1200 m), moyenne altitude (1200-1900 m) et moyenne montagne (1900-2600 m), pour ceux poussant entre les latitudes 26° Nord et 26° Sud ; et tempéré pour les cultivars poussant au-dessus de 26° Nord et en dessous de 26° Sud.

La diversité des phénotypes et les adaptations grandement divergentes des races de maïs et des cultivars locaux représentent souvent des contraintes à la régénération. Les accessions de germoplasme sont soit génétiquement hétérozygotes (populations panmictiques) soit homozygotes (lignées consanguines). Les pratiques et les procédures recommandées pour la régénération du germoplasme du maïs sont compilées à partir de l'expérience acquise et de la référence aux études théoriques portant sur la taille des échantillons et le mode de croisement.

Choix de l'environnement et de la saison de plantation

Conditions climatiques

- Choisir, si possible, un environnement dont les conditions correspondent à celles du site initial de collection.
- En conditions pluvieuses, une pluviométrie de 500-700 mm est considérée comme étant optimale (selon les accessions de germoplasme et la texture de la terre) ; l'irrigation est nécessaire lorsque la pluviométrie est inférieure.
- Le germoplasme du maïs tempéré est adapté à des photopériodes longues, $\geq 13,4$ heures d'ensoleillement. Dans les latitudes tempérées, l'initiation de la floraison du maïs tropical requiert des photopériodes plus courtes.
- La régénération des populations naturelles de maïs adaptées aux environnements frais et ayant des saisons de croissance de plus de 10 mois (telles que celles de la moyenne montagne des Andes, de l'Amérique Centrale et du Sud du Mexique) nécessitera une collaboration avec les banques de gènes nationales.
- Le maïs peut pousser à des températures allant de 5 °C à 45 °C. Cependant il réussit généralement le mieux entre 25 °C et 35 °C. Les températures extrêmement élevées, notamment associées à une humidité faible, peuvent diminuer la viabilité du pollen et entraîner une mauvaise mise à graine.

Préparation à la régénération

Quand régénérer

- Lorsque le nombre de semences viables par accession est inférieur à 1500, pour les collections active ou de base des populations panmictiques, et inférieur à 250 semences pour les lignées consanguines.
- Lorsque la viabilité des semences descend en dessous de 85 % du pourcentage de germination initial pour les collections actives, tel que déterminé par le contrôle de la viabilité (pour plus de détails, voir FAO/IPGRI, 1994 ; ISTA, 2008).

Prétraitements

- Il est recommandé d'appliquer des fongicides et des insecticides aux semences, afin de protéger l'émergence de la plantule et la croissance au champ.

Précautions

- Dans le cas des populations panmictiques, maintenir une taille importante de population effective à travers les cycles de régénération (>100 épis ou supérieur à 4 fois la taille de l'échantillon initial, en choisissant la plus petite des deux valeurs). Ceci afin d'éviter la dérive génétique, la consanguinité et les pertes ultérieures d'allèles (Crossa, 1987 ; Crossa et al., 1994, Wang et al. 2004).
- Avant et après la régénération, inspecter et trier les plantes produisant des semences en ce qui concerne les organismes nuisibles et les maladies et selon les règlements de la quarantaine. Ceci afin de fournir des semences de qualité pour l'échange et l'utilisation de semences (Mezzalama et al., 2001).
- Prendre des précautions supplémentaires s'il y a risque de contamination par les OGM. Après la régénération, trier les lots de semences en ce qui concerne la présence d'OGM et éliminer les lots contaminés (Mezzalama et al. 2008).

Méthode de régénération

Régénérer le maïs par pollinisation contrôlée.

Pollinisation artificielle

Cette méthode est la plus couramment utilisée pour la régénération et la multiplication d'accession de germoplasme. Elle peut être réalisée soit de plante à plante soit par croisement en chaîne. Le croisement en chaîne est recommandé pour régénérer de grandes quantités d'accessions.

- Le croisement de plante à plante (mode dioïque) utilise chaque plante en tant que mâle ou femelle. Cette technique nécessite deux fois plus de terrain que le croisement en chaîne pour produire le même nombre d'épis et double la taille de la population efficace (si on récolte 100 épis, la population efficace est de 200).
- Le croisement en chaîne (mode monoïque) utilise chaque plante en tant que mâle et femelle.

Procédure

1. Recouvrir le bourgeon de l'épi de chaque plante à l'aide d'un sac à bourgeon (enveloppe en papier cristal), avant l'apparition des soies (photo 2).
2. Placer un sac à panicule (sac de pollinisation) le jour précédent la pollinisation, afin de recueillir le pollen de la fleur mâle (panicule) (photo 3).
3. Le lendemain matin, pencher et secouer légèrement la plante afin de recueillir le pollen dans le sac à panicule (photo 4).
4. Enlever la protection en papier cristal enveloppant les soies de la plante femelle et polliniser les soies à l'aide du pollen provenant du sac à panicule.
5. Recouvrir immédiatement les soies à l'aide de l'enveloppe en papier cristal, ainsi que les panicules à l'aide du sac à panicule ; ceci jusqu'à la récolte.
6. Il est nécessaire de maintenir une bonne synchronisation entre la formation des soies et celles de la panicule.
7. Réaliser la pollinisation avant que la température n'atteigne 36 °C.

Pollinisation naturelle ou libre

- On peut utiliser la pollinisation naturelle (c'est-à-dire le mode de pollinisation libre pour la fertilisation de la semence) à condition que la régénération soit réalisée sur une exploitation agricole, selon un contrat établi avec les fermiers cultivant les races locales de maïs spécialement adaptées aux conditions de culture en exploitation agricole. Dans ces conditions, utiliser des lots isolés dans les champs du fermier.
- Pour les banques de stockage active et de base, recueillir un large échantillon de semences (3-5 kg) à partir des lots de régénération à pollinisation libre.

Prévention de la contamination par les OGM

- Lors de la réalisation de la pollinisation artificielle, prévenir la contamination par les OGM provoquée par la migration de pollen provenant de l'extérieur du lot de régénération. Recouvrir les soies par des enveloppes hermétiques en papier cristal et les panicules par des sacs à pollen. Procéder ensuite à une pollinisation rapide et précise.
- Si l'on suspecte le moindre risque de contamination, mettre des plantes sentinelles en bordure (matériaux végétaux, hybrides ou variétés bien adaptés) en vue de la détection des OGM fortuits provenant des champs de régénération externes et

internes. De telles plantes doivent être débarrassées de leur panicule et soumises à la pollinisation libre par le mélange des sources de pollen migrant vers les champs de régénération. Tester les semences accumulées à partir des rangées sentinelles pour ce qui est de la présence fortuite d'OGM. (Mezzalama et al., 2008).

Induction de la floraison

- Dans des conditions tempérées, l'initiation de la floraison des accessions de germoplasme de maïs tropical, sensibles à la photopériode, est stimulée par la mise à l'ombre 8 heures par jour pendant 6-8 semaines après l'ensemencement. Ceci permet la pollinisation et la récolte d'un nombre limité de telles accessions (Mark Millard, pers. comm.). Utiliser cette technique pour régénérer quelques accessions de germoplasme à saison longue chaque année.

Disposition des plantations, densité et distance

- Agencer les lots de régénération en tant qu'expérience non reproduite, séparément des lots de reproduction ou des champs de production.
- Autant que possible et afin de faciliter la gestion du champ et des opérations, regrouper les accessions séparément, selon la maturité et la taille de la plante ainsi que le type de pollinisation (autofécondation forcée ou accouplement).
- Alternier les couleurs des semences pour faciliter la détection de la pollinisation croisée non souhaitée.
- Ajuster la taille du lot et la densité des plantes aux accessions de germoplasme soumises à la régénération. Par exemple, pour l'installation de 256 plantes par lot (60 m²) et une récolte de plus de 100 épis (populations panmictiques), utiliser pour chaque accession 16 rangées mesurant 5 m de long et séparées de 75 cm. Planter 2 semences par monticule afin d'installer 16 plantes par rangée, après éclaircie.
- Une densité et une taille de lot appropriées peuvent être utilisées, selon la maturité et la taille des plantes des accessions.
- Planter des lignées consanguines sur 8-10 rangées par accession (21 plantes par rangée de 5 m de long) afin d'obtenir 168 plantes permettant de produire suffisamment de semences. Maintenir la pureté des lignées en plantant les mêmes semences parentales originales lors des régénérations suivantes (8-10 épis autofécondés), au lieu de planter les semences accumulées lors de la régénération précédente. Récolter les épis autofécondés dont les plantes, les épis et le type de grain sont uniformes.
- Dans les cas de la pollinisation naturelle, planter les accessions à une distance de 200-300 m avec plus de 200 plantes par accession au champ. Ceci afin d'obtenir 100 épis demi frères bien pleins (la population efficace étant de 100) et de récolter 100 épis au centre du lot pour représenter l'accession.
- Si la régénération ne parvient pas à produire 100 épis (ou tout autre nombre de semences requis), effectuer une deuxième régénération de la même accession, en utilisant des semences de la même origine. Associer les épis de la première et de la deuxième régénération pour représenter le cycle de régénération.

Gestion des cultures

Le maïs se cultive généralement en conditions pluviales, mais il peut aussi se cultiver sous irrigation.

Irrigation

- Appliquer une irrigation supplémentaire pendant les périodes de sécheresse.
- Si la régénération est effectuée sous irrigation, occasionner un stress hydrique, 2 semaines avant et après la floraison. Ceci est crucial pour une bonne mise à graine et un bon développement des épis.

Fertilisation

- Apporter suffisamment de nutriments minéraux afin de permettre une croissance normale de la plante.
- Effectuer les applications de N-P-K recommandées pour la pré-émergence, puis d'azote au moment de la culture.
- Sous les tropiques, on utilise souvent une application minimum d'engrais, soit 80-20-20 de N-P-K, pour les essais en exploitation agricole.

Organismes nuisibles et maladies courants

- Il est recommandé de contacter vos experts en santé des plantes, afin d'identifier les symptômes des éventuels organismes nuisibles et maladies ainsi que les mesures de contrôle appropriées. Les organismes nuisibles et maladies suivantes sont courants chez le maïs :
- Dans les régions tropicales, les larves dévoreuses de racines, le ver gris, les thrips, *Dalbulus maidis*, *Cicadulina spp.*, *Spodoptera frugiperda* et d'autres insectes attaquent les racines, les feuilles et les tiges (Ortega 1987).
- Les maladies affectant les feuilles, les tiges et les grains sont les mildious, les rouilles du maïs, les brûlures des feuilles causées par *Turcicum* et *Maydis*, les tâches grises, la pourriture de la tige causée par *Pythium*, les pourritures de la tige causées par *Fusarium* et *Gibberella*, la pourriture de la tige causée par *Stenocarpella* (*syn. Diplodia maydis*), la pourriture de la tige causée par l'antracnose (*Collectotrichum graminicola*), la pourriture de l'épi causée par *Penicillium*, les pourritures de l'épi causées par *Fusarium* et *Gibberella*, la pourriture du grain causée par *Cephalosporium*, la pourriture de l'épi causée par *Stenocarpella*, le charbon commun (*Ustilago maydis*), le virus de la mosaïque nanisante du maïs, le virus de la mosaïque en tirets, le virus des rayures fines du maïs, le rabougrissement buissonneux du maïs et le rabougrissement du maïs (The CIMMYT Maize Program 2004).

Lutte contre les parasites et les organismes nuisibles

Consulter un expert en santé des plantes pour avis.

- Réduire les dommages causés par les insectes par l'application opportune de l'insecticide approprié. Il est cependant difficile de contrôler les maladies des feuilles et de la tige ainsi que les pourritures des épis.
- Prendre conscience de l'incidence des organismes nuisibles et des maladies locales dans chaque région et éviter les points chauds où se trouvent les organismes nuisibles et les maladies dévastateurs.
- Lorsqu'ils sont excessifs, les stress hydrique et le stress dû à la sécheresse aggravent le problème.
- Coordonner l'inspection périodique des champs par les pathologistes et les virologues pendant la saison de croissance.

Elimination des non-conformités

- L'élimination des non-conformités au sein des accessions est réalisée dans les lots de régénération au stade de plantule et de floraison. En effet les accessions de semences peuvent être contaminées par d'autres génotypes ou accessions provenant de la régénération précédente ou de la contamination du pollen au moment de la pollinisation.

Autres

- Eviter la contamination par le pollen étranger, y compris les transgènes.
- Respecter les pratiques rotationnelles appropriées selon les systèmes de cultures de la région.

Récolte

1. Avant la récolte, enregistrer toutes les caractéristiques agronomiques pertinentes (voir documentation ci-dessous).
2. Juste avant la récolte, enregistrer le nombre de plantes ayant subi la verse et le nombre de plantes pollinisées.
3. Au moment de la récolte, la couche noire de la semence est formée et la plupart des feuilles sont sèches, notamment les feuilles de l'enveloppe. Enlever les épis pollinisés et placer l'épi soit sous la plante, soit à l'avant de la rangée pour inspection. (photos 5a, b)
4. Inspecter davantage les épis de manière individuelle avant et après le décorticage et enlever les grains malades, contaminés ou anormaux se trouvant sur l'épi.
5. Inclure les épis nets ayant des grains de bonne qualité pour représenter le cycle de régénération. Enregistrer le nombre d'épis formant l'accession de semence, dans le carnet de bord de régénération.
6. Traiter les épis récoltés par de l'insecticide afin de les protéger des dommages causés par les insectes lors du traitement des semences.

Nombre d'épis récoltés par épi pollinisé

- Recueillir 10 semences à partir de 100 plantes mères ou 50 semences à partir de 20 plantes mères, ou alors prendre un nombre égal de semences à partir du plus grand nombre possible de plantes mères, afin de maintenir une taille efficace élevée de la population (N_e) [Crossa et al. 1994; Vencovsky et Crossa 1999].

Gestion de l'après récolte

1. Pré sécher les épis récoltés, dans une chambre contenant de l'air chauffé et soufflé à travers les amoncellements d'épis (pas plus de 35 °C), afin de réduire l'humidité des semences à environ 13-15 %. Si le maïs est relativement humide lors de la récolte, maintenir les températures de séchage en dessous de 30 °C. Là où les facilités de séchage ne sont pas disponibles, faire sécher les épis à l'ombre avec une bonne circulation d'air.
2. Décortiquer les épis jusqu'au niveau de l'enveloppe individuelle. Equilibrer les échantillons de semences préparés à partir de tous les épis pour représenter le cycle de régénération, en prélevant un nombre égal de grains par épi. Faire davantage sécher à l'air les lots de semences des accessions. L'idéal est de confectionner plusieurs sachets de régénération contenant chacun deux semences provenant chacune des épis individuels (pour une conservation à long terme) pour les cycles de régénération ultérieurs (Crossa 1987).

3. Effectuer un séchage secondaire des semences en les plaçant dans des sachets en tissu ou en papier et en entreposant ces derniers dans une chambre de séchage à l'air, à une humidité et une température faibles (10-15 °C et 15-20 % d'humidité relative) ; et ce pendant au moins 4 semaines, jusqu'à ce que le taux d'humidité du grain soit équilibré à 6-8 %. Ceci est habituellement réalisé à l'aide d'appareils de séchage spéciaux réunissant des fonctions d'aération et de déshumidification. Si l'on ne dispose pas d'un tel équipement, sécher les semences à l'aide de gel de silice ou d'un autre dessiccateur approprié, jusqu'à ce que le taux d'humidité soit de 7-8 %.
4. Préparer plusieurs ensembles de lots équilibrés en vue de leur préservation dans les collections active, de base et de double de sécurité. Envoyer un échantillon de chaque accession à un laboratoire de santé des semences, à des fins de quarantaine.
5. Avant le stockage, enregistrer le poids d'essai des semences (poids de 1000 semences) ainsi que le pourcentage de germination.
6. Enregistrer les autres données concernant la régénération (voir documentation ci-dessous), dans le système de gestion de la banque de gène. Vérifier les données de passeport originales afin de constater si les caractéristiques des semences sont les mêmes que celles décrites dans les enregistrements originaux. Ceci afin de remplacer, si nécessaire, les semences anciennes par des semences régénérées (voir 8. ci-dessous).
7. Conserver les échantillons dans les lieux de stockage respectifs, selon les normes de la banque de gène (collections active, de base et de double de sécurité).
8. Remplacer les anciennes semences de la collection active et/ou de base, par les nouvelles semences régénérées, afin de faciliter la gestion et d'économiser l'espace. Il peut être nécessaire de conserver un petit échantillon des semences originales comme matériel de référence.

Suivi de l'identité de l'accession

- Confirmer l'accession de semence régénérée, pour ce qui est de l'identité de l'accession, par les données de caractérisation concernant la couleur et la texture du grain.
- Lors de la récolte, vérifier à nouveau la couleur et la texture du grain, les types d'épi et de grain, la classification de la maturité et de la race, par rapport aux enregistrements originaux de l'accession se trouvant dans la base de données passeport de la banque de gène (et enregistrés lors de l'introduction initiale). Le type de plante peut être utilisé pour le suivi de l'identité de l'accession, mais il peut ne pas être constant à travers les cycles de régénération, en particulier dans des environnements différents de régénération ou de collection. La classification de la race peut être reconfirmée par le phénotype de la plante ainsi que les caractéristiques de l'épi et du grain.
- Après avoir décortiqué les épis et pendant le traitement des semences, vérifier le lot de semences par rapport aux échantillons originaux de l'accession servant de référence permanente. Accoler des étiquettes comportant le numéro d'identification de l'accession de la banque de gène et le numéro de lot du champ de l'accession, à l'intérieur et à l'extérieur du sac contenant les semences et des sacs en tissu.

Documentation de l'information pendant la régénération

Il est recommandé de tenir un carnet de bord de la pépinière de régénération, permettant de documenter l'identification, la caractérisation, l'origine de la semence, le nombre de plantes pollinisées et récoltées ainsi que les caractéristiques agronomiques de l'accession et de l'introduction. Le carnet de bord peut contenir les informations détaillées suivantes :

- Nom du site de régénération et plan / coordonnées GPS
- Nom du collaborateur
- Numéro de référence du champ/du lot/de la pépinière/de la serre
- Numéro de l'accession ; identification de la population
- Source de semence
- Données, emplacement et numéro de lot du site de régénération précédent
- Date d'ensemencement et densité
- Configuration utilisée pour le champ
- Détails de la gestion du champ (arrosage, engrais, contrôle des mauvaises herbes, des organismes nuisibles, des maladies et autres).
- Conditions environnementales du site de régénération (altitude, photopériode, température, précipitation, type de terre, autres).
- Emergence dans le champ ou la serre (nombre de plants ayant germé).
- Nombre de plantes établies
- Nombre de jours entre l'ensemencement et la formation des soies et de celle de la panicule (fleur mâle)
- Méthode utilisée pour le contrôle de la pollinisation : plante à plante, croisement en chaîne, pollinisation libre
- Nombre de plantes pollinisées
- Date de la récolte
- Nombre de plantes récoltées (épis pollinisés ou épis)
- Poids au champ des épis récoltés
- Pourcentage d'humidité de la semence lors de la récolte
- Evaluation de la performance agronomique de l'accession, tenant compte du poids au champ, de la qualité de la semence, de l'uniformité et de la résistance à la verse.
- Les caractéristiques agro morphologiques de la plante et de l'épi (longueur de l'épi, diamètre de l'épi, nombre de rangées de grains, longueur du grain, largeur du grain, épaisseur du grain, hauteur de la plante, hauteur de l'épi, nombre de feuilles situées au dessus de la feuille de l'épi, nombre de jours précédent la formation des soies, nombre de jours précédent la floraison mâle, évaluation de la pourriture de l'épi) sont enregistrées en tant que données de caractérisation et sont utilisées pour l'analyse multi-variée permettant de regrouper les accessions (Franco et al. 2005)
- Validation ou répétition de la régénération, en se basant sur la taille efficace de la population et/ou l'inadéquation possible entre l'accession de semence et les données passeport ainsi que les échantillons de semence de référence.
- Photo des épis et des grains
- Date de stockage des semences
- Pourcentage de germination initial des semences stockées
- Pourcentage d'humidité de la semence lors du stockage des semences
- Documentation concernant la levée de la quarantaine par l'unité de santé des semences.

Références et lecture complémentaire

- The CIMMYT Maize Program. 2004. Maize diseases: A guide for field identification. 4e édition. CIMMYT: Mexico, D.F.
- Crossa J. 1989. Methodologies for estimating the sample size required for genetic conservation of outbreeding crops. *Theoretical Applied Genetics* 77:153–161.
- Crossa J, Taba S, Eberhart SA, Bretting P, Vencovsky R. 1994. Practical considerations for maintaining germplasm in maize. *Theoretical Applied Genetics* 89:89–95.
- FAO/IPGRI. 1994. Genebank Standards. FAO, Rome, Italie.
- Franco J, Crossa J, Taba S, Shands H. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Science* 45:1035–1044.
- Hartkamp AD, White JW, Rodriguez Aguilar A, Banzinger M, Srinivasan G, Granados G, Crossa J. 2000. Maize production environments revisited: A GIS-based approach. CIMMYT, Mexico City, Mexique.
- ISTA. 2008. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Secrétariat de l'ISTA, CH-Suisse.
- Lafitte HR. 1994. Identifying production problems in tropical maize: A field guide. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Mezzalama ML, Gilchrist L, McNab A. 2001. Seed health: rules and regulations for the safe movement of germplasm. CIMMYT, Mexico D.F.
- Ortega AC. 1987. Insect pests of maize. A guide for field identification. CIMMYT, Mexico D.F.
- Pardey PG, Koo B, Van Dusen E, Skovemand B, Taba S, Wright BD. 2004. CIMMYT genebank in *Saving Seeds: The economics of conserving crop genetic resources ex-situ in the future harvest centers of the CGIAR*, pp. 21–47. CABI Publishing, UK.
- Salhuana W. 1995. Conservation, evaluation and use of maize genetic resources. In: Engels JMM, Rao RR, éditeurs. *Regeneration of Seed Crops and Their Wild Relatives*. ICRISAT, Inde.
- Wang J, Crossa J, van Ginkel M, Taba S. 2004. Statistical genetics and simulation models in genetic resource conservation and regeneration. *Crop Science* 44:2246–2253.

Remerciements

Ces directives ont été évaluées par les pairs, Jose Crossa, de l'*International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT)*, au Mexique, Major Goodmann, aux Etats-Unis et Zachary K. Muthamia, du *National Genebank of Kenya (NGK)*, au Kenya.

Comment citer correctement cet ouvrage

Taba S. and Twumasi-Afryie S. 2008. Directives pour la régénération: maïs. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 11 pp.



1 Champ de maïs à San José de Minas.
Suketoshi Taba

2 Bourgeons d'épis de maïs recouverts
d'enveloppes en papier cristal.
Suketoshi Taba

3 Sac de pollinisation placé de façon à
recueillir le pollen.
Suketoshi Taba

4 Recueil du pollen par agitation des sacs de
pollinisation.
Suketoshi Taba

5a et b Epis récoltés pour l'inspection au
champ.
Suketoshi Taba

