



Année Académique :
2021-2022

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

EN BIORESSOURCES-AGRONOMIE

Option : Amélioration des ressources agricoles

Par

Numéro d'ordre :
111/2022

IRIE Bi Tah Paterne

THEME :

**Différenciation phénotypique et moléculaire de
quinze lignées de maïs (*Zea mays* L.) développées
à Daloa (Côte d'Ivoire) par la mutation induite**

Soutenu le : 01/10/2022 à 16H00

Jury :

M. KOKO Anauma Casimir, Maître de Conférences ; Université Jean Lorougnon Guédé, **Président**

M. KONAN N'guessan Olivier, Maître de Conférences ; Université Jean Lorougnon Guédé, **Directeur
Scientifique et Encadreur**

M. YAO Kouakou Abessika Georges, Maître-Assistant ; Université Jean Lorougnon Guédé,
Examineur

TABLES DES MATIERES

DEDICACE	v
REMERCIEMENTS	vi
LISTE DES ABREVIATIONS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS	3
1.1 Origine et répartition du maïs	3
1.2 Systématique	3
1.3 Description du maïs.....	3
1.3.1 Description botanique.....	3
1.3.2 Racines.....	4
1.3.3 Tige.....	4
1.3.4 Feuilles.....	4
1.3.5 Organes reproducteurs.....	5
1.3.6 Fruits.....	5
1.3.7 Description génomique.....	5
1.4 Variétés de maïs en Côte d’Ivoire.....	5
1.5 Importance du maïs	6
1.5.1 Alimentation humaine	6
1.5.2 Alimentation animale	6
1.5.3 Importance thérapeutique	7
1.5.4 Importance industrielle.....	7
1.6 Conditions écologiques du développement du maïs	7
1.7 Récolte et conservation du maïs.....	8
1.8 Amélioration génétique des plantes	8
1.8.1 Méthodes d’amélioration génétiques des plantes.....	8
1.8.1.1 Méthodes classiques d’amélioration génétique	8
1.8.1.2 Méthodes biotechnologiques	8
1.8.1.3 Technique d’hybridation somatique.....	9
1.8.1.4 Transgénèse	9
1.8.1.5 Mutagenèse	9
1.9 Notion de diversité génétique	9
1.9.1 Étude de la diversité génétique	10

1.9.2	ISSR.....	10
	DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	11
2.1	Zone d'étude	11
2.2	Matériel.....	11
2.2.1	Matériel végétal.....	11
2.2.2	Matériel technique.....	12
2.2.2.1	Matériel technique au champ	12
2.2.2.2	Matériel technique au laboratoire	12
2.3	Méthodes.....	12
2.3.1	Méthodologie au champ	12
2.3.1.1	Dispositif expérimental	12
2.3.1.2	Mise en place de la parcelle et phase de semis	13
2.3.1.3	Entretien et amendement de la parcelle.....	14
2.3.1.4	Mesure et observation des paramètres.....	14
2.3.2	Analyse moléculaire avec les marqueurs ISSR	15
2.3.2.1	Echantillonnage.....	15
2.3.2.2	Extraction d'ADN	15
2.3.2.3	Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait.....	16
2.3.2.4	Préparation des solutions d'ADN à amplifier.....	16
2.3.2.5	Amplification de l'ADN par PCR.....	16
2.3.3	Analyses.....	18
	TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	18
3.1	RESULTATS	19
3.1.1	Différenciation phénotypique des lignées	19
3.1.1.1	Classification des lignées au moyen des paramètres phénologiques	19
3.1.1.2	Classification des lignées en fonction des paramètres de croissance et de développement.....	20
3.1.1.3	Classification des lignées en fonction des paramètres de productions.....	22
3.1.1.4	Corrélation entre les paramètres étudiés.....	25
3.1.1.5	Structuration de la diversité par analyse en composantes principales	27
3.1.1.6	Corrélation entre les axes d'étude et les paramètres	27
3.1.1.7	Projection des individus dans le plan factoriel	28
3.1.1.8	Classification hiérarchique ascendante des lignées étudiées	30
3.1.2	Analyse moléculaire des douze lignées étudiées	30
3.1.2.1	Quantité et qualité des ADN extraits.....	30

3.1.2.2	Analyse des profils ISSR et niveaux de polymorphismes.....	30
3.1.2.3	Analyse de la diversité génétique des lignées étudiées à travers les statistiques descriptives.....	31
3.1.2.4	Relations génétiques entre les lignées de maïs étudiées.....	32
3.2	DISCUSSION.....	36
	CONCLUSION.....	41
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	42

DEDICACE

À

Ma tendre famille

REMERCIEMENTS

Une personne ne saurait se réaliser dans la société sans l'appui pédagogique d'une ou plusieurs personnes. En toute humilité, nous désirons témoigner notre gratitude à toutes les personnes qui nous ont soutenus d'une manière ou d'une autre pour le bon déroulement le bon déroulement et l'aboutissement de notre travail. Nos remerciements s'adressent particulièrement :

-Au Professeur TIDOU Abiba Sanogo, épouse KONE, Présidente de l'Université Jean Lorougnon GUEDE de Daloa et ses collaborateurs pour avoir autorisé mon inscription dans cette Université et de créer un cadre propice pour nos études.

-À Docteur TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences en phytopathologie et Directrice de L'UFR Agroforesterie et son équipe, nous voulons témoigner toutes notre reconnaissance pour la sollicitude permanente dans la formation et l'encadrement des étudiants. Aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail. En occurrence,

-Docteur KOKO Anauma Casimir, Maître de conférences, je témoigne ma profonde gratitude pour ses conseils avisés et pour son implication au bien être des étudiants et pour avoir accepté de présider le jury de cette soutenance ;

-Docteur KONAN N'guessan Olivier, Maître de Conférences, Directeur scientifique de ce mémoire, qui n'a ménagé aucun effort en créant les conditions favorables pour le bon déroulement de ce travail. Ses conseils, ses encouragements, ses orientations pertinentes et sa disponibilité nous ont été d'un grand intérêt. Merci professeur pour vos conseils avisés et votre soutien ;

-Docteur KONAN Olivier, Maître de conférences, mon encadrant, pour l'intérêt qu'il a continuellement accordé à cette étude. Son exigence particulière dans le travail nous a permis, en un temps très court, d'acquérir une expérience ;

-Docteur YAO Kouakou Abessika Georges, Maître-Assistant, à qui je suis infiniment reconnaissant. Merci pour l'honneur que vous me faite d'examiner et d'améliorer mon document.

-À l'ensemble du corps enseignant de L'UFR Agroforesterie, en particulier Docteur SOUMAHIN Éric, Maître-Assistant, à qui nous devons notre formation jusqu'au Master II de Bioressources-agronomie, option Amélioration des ressources agricoles.

-À mon aîné KOUADIO Kouamé Léonard, pour sa disponibilité, ses conseils et ses efforts fournis pour la réalisation de ce travail. Grand merci à tous autres aînés dont KOUADIO N'gbe Ange Emmanuella, KOFFI Tahia Jean Yves, AKESSE Blaise, SORO Chigata Lohona, et

KANGA Ahou Nadia sans oublier notre cadette du laboratoire Kouakou Affouet Laurelle pour leur conseil, aide et soutien.

-À mon Oncle HONORE Youlougoué, pour ses conseils, encouragements, et surtout son soutien financier qu'il nous accorde depuis tout petit jusqu'à ce jour. Merci Papa Youlougoué pour tout, Dieu seul saura te remercier.

-À toute la promotion de master, ainsi qu'à tous ceux qui d'une manière ou d'une autre a contribué la réalisation de ce travail, recevez de tout cœur, l'expression de notre profonde gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS

µl	microlitre
BET	Bleu d’Ethidium
UV	Ultra- Violet
PVP	Polyvinylpyrrolidone
ADN	Acide désoxyribonucléique
ISSR	Inter simple sequence repeat
PCR	Polymerase chain reaction
ANOVA	Analyse de variance
ACP	Analyse en composantes Principales
CHA	Classification hiérarchique ascendante
PCoA	Analyse en coordonnées principales.
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean
CNRA	Centre National de Recherche Agronomique
Dger	Délai de germination
TGer	Taux de germination
FIM	Floraison mâle
FIF	Floraison femelle
EFl	Ecart à la floraison
LE	Longueur de l’épi
ME	Masse de l’épi
NGE	Nombre de grains par épi
MTE	Masse totale de l’épi
NESG	Nombre d’épi sans grains
M100G	Masse de 100 grains
Diam	Diamètre au collet de la plante
Haut	Hauteur totale de la plante
HI	Hauteur d’insertion de l’épi
NPD	Nombre de pieds après démariage
Na	Nombre d’allèles observé
Ne	Nombre effectif d’allèles
He	Diversité génétique de Nei
I	Index d’information de Shannon

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition chimique des principales parties des grains de maïs	6
Tableau II : Caractéristiques des amorces utilisées	16
Tableau III: Effet de la lignée sur les paramètres phénologiques	20
Tableau IV: Effet de la lignée sur les paramètres de croissance et développement	21
Tableau V : Effet de la lignée sur les paramètres de production	24
Tableau VI: Matrice de corrélation des différents paramètres	26
Tableau VII : Valeurs propres et pourcentage de variation exprimée par les axes de l'ACP .	27
Tableau VIII : Corrélation entre les différents paramètres et les axes.....	28
Tableau IX: Description des groupes par les variables mesurées.....	30
Tableau X : Nombre de loci et pourcentage de polymorphisme générés par les amorces ISSR	31
Tableau XI : Valeurs des paramètres de diversité génétique estimés par le logiciel GenAlex	31
Tableau XII : Matrice de distance génétique présentant les coefficients de similarité de Nei et Li (Dice) entre les lignées de maïs sur base des données ISSR.....	34

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Morphologie d'une plante de maïs.....	4
Figure 2 : Présentation de la zone d'étude.....	11
Figure 3 : Dispositif expérimental.....	13
Figure 4 : Mise en place de la parcelle d'étude.....	13
Figure 5 : Cercles de projection des variables.....	28
Figure 6 : Arbre hiérarchique des lignées sur le plan factoriel.....	29
Figure 7 : Exemple de profil électrophorétique obtenu chez les 15 lignées de maïs étudiées (ISSR 09).....	31
Figure 8 : Analyse en coordonnées principales basée sur les données ISSR.....	32
Figure 9 : Arbre non enraciné construit par les programmes FreeTree et TreeView 5.2 sur la base des coefficients de similarité de Nei et Li et de la méthode d'agrégation UPGMA, et montrant les relations au sein des lignées de maïs étudiés.....	35

INTRODUCTION

Maïs (*Zea mays* L.), plante appartenant à la famille des poacées est la céréale la plus énergétique et la plus produite dans le monde (Deffan *et al.*, 2015). Sa culture répond à des besoins de plus en plus croissants de consommation et de commercialisation (Boone *et al.*, 2008). Au niveau mondial, sa production annuelle était estimée à 1162352997 tonnes en 2020 pour une superficie totale d'environ 202 millions d'hectares (FAOSTAT, 2022) avec les Etats-Unis, la Chine, le Brésil et l'Argentine comme principaux pays producteurs. En Afrique, avec plus de 90 millions de tonnes produites en 2020 (FAOSTAT, 2022), cette plante occupe, jusqu'à ce jour, une place de choix dans la consommation alimentaire des populations. Elle constitue une base du régime alimentaire des populations rurales comme urbaines (Boone *et al.*, 2008).

En Côte d'Ivoire, le maïs représente avec le riz, les céréales les plus cultivées et les plus consommées (Akanvou *et al.*, 2009). En effet, longtemps considéré comme simple produit de subsistance, cette espèce fait aujourd'hui l'objet d'une spéculation agricole qui s'intensifie de plus en plus du fait des enjeux économiques de cette culture devenue plus importants (Blassonny, 2013). De plus, pour ses atouts nutritifs (riche en amidon, présence de protéines, de minéraux) (Nuss & Tanumihardjo, 2011), il est utilisé aussi bien dans l'alimentation humaine qu'animale et même dans certaines industries comme les brasseries, savonneries, huileries où il sert de matière première (Boone *et al.*, 2008). La production nationale du maïs a connu une légère augmentation sur la période de 2015 à 2020. En effet, la production qui était estimée à 1026000 tonnes en 2015, est passée à 1175715 tonnes en 2020 pour une superficie totale emblavée de 558406 ha (FAOSTAT, 2022).

Malgré l'importance du maïs, sa culture est confrontée à de nombreuses difficultés qui affectent de façon drastique le rendement. Il s'agit de la perte de la fertilité des sols, la dégénérescence génétique des variétés cultivées, l'utilisation de variétés locales à faible rendement constituant l'essentiel du matériel végétal utilisé dans l'agriculture traditionnelle et surtout des effets catastrophiques du changement climatique telle que la sécheresse. Afin de contribuer à l'amélioration du rendement et de satisfaire les besoins alimentaires des populations, il est nécessaire de lever ces différentes contraintes liées à la culture de cette plante. Ainsi, l'utilisation des intrants chimiques a été proposée par certains chercheurs. Cependant, en dépit des coûts relativement élevés de ceux-ci, ils sont nocifs pour l'homme et dégradent l'environnement. Au regard de cette situation, la mise au point de variétés améliorées à haut rendement (Deffan *et al.*, 2015) et répondant aux contraintes environnementales, demeure la solution ultime. En effet, l'amélioration variétale est un outil extrêmement puissant (Rossignol *et al.*, 2000) pour obtenir un matériel végétal performant à haut rendement et tolérant à divers stress environnementaux (Chalbi & Demarly, 1991). L'amélioration par voie classique

constitue la première technique et consiste à mettre au point des variétés par le croisement entre deux parents à caractères intéressants et complémentaires. Cette méthode très utilisée dans les programmes d'amélioration a permis, en particulier au Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) (Deffan *et al.*, 2015) de développer des variétés de maïs hautement productives et résistantes à plusieurs maladies telles que la pourriture des tiges, la pourriture des épis, le virus de la striure (Bodoharisoa *et al.*, 2009). Ces hybrides conçus sans accès directement au génome se voient plus tard influencés par l'environnement. Par ailleurs, l'ingénierie génétique a fourni un mécanisme, la transgénèse, qui a permis d'introduire directement dans le génome du maïs des gènes exotiques provenant d'espèces et d'organismes apparentés ou pas sans passer par la voie sexuelle de l'hybridation (Bodoharisoa *et al.*, 2009). Cette technique a permis la mise au point de plusieurs Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Notamment, les espèces résistantes aux insectes (maïs Bt), aux stress abiotiques (Morin, 2002) ainsi que le maïs WAXY à meilleurs valeurs nutritives, doux et agréables (Bodoharisoa *et al.*, 2009). Cependant, cette technique aussi impressionnante qu'elle soit, est sujette à de nombreuses polémiques et révèle une méfiance par rapport à ses impacts sur la santé humaine et sur l'environnement (Oury, 2006). Toutes ces divergences sur les OGM laissent les autorités ivoiriennes dans la difficulté à adopter une position définitive (Boraud *et al.*, 2010). En attente de l'adoption de la loi sur ceux-ci, aucun organisme génétiquement modifié ne circule officiellement dans le pays (Boraud *et al.*, 2010). Dans l'optique de rechercher des solutions durables pouvant faire face aux différents problèmes déjà énumérés, le projet IVC5040 a été initié. Celui-ci vise la mise au point de variétés de maïs adaptées aux conditions pédoclimatiques du Nord de la Côte d'Ivoire par la technique de la mutation induite au rayonnement gamma. En effet, l'action à forte dose sur les organismes vivants est susceptible de provoquer des modifications dans le matériel génétique (ADN) afin d'augmenter la variabilité d'espèces végétales cultivées capables de s'adapter à diverses contraintes liées à leurs cultures. La présente étude s'inscrit dans ce cadre et a pour objectif général la différenciation génétique de quinze (15) lignées de maïs développées à Daloa par la technique de la mutation. De manière spécifique, il s'agit de :

- 1) réaliser une évaluation phénotypique des quinze lignées produites ;
- 2) réaliser une évaluation génotypique des quinze lignées produites.

Outre l'introduction et la conclusion suivie de quelques perspectives, le présent mémoire comprend trois grandes parties. La première partie est consacrée aux généralités. La deuxième partie présente le matériel et les différentes méthodes utilisées. La troisième expose les résultats obtenus suivis de leur discussion.

PREMIÈRE PARTIE :
GÉNÉRALITÉS

2.1 Origine et répartition du maïs

Le maïs aussi appelé blé d'Inde au Canada est une plante tropicale herbacée annuelle, largement cultivée comme céréale pour ses grains riches en amidon, mais aussi comme plante fourragère (Baubricourt & Hedin, 1988). C'est une plante originaire d'Amérique latine. Il a été obtenu par la domestication, au Mexique, d'une téosinte annuelle : la téosinte Balsas (*Zea mays ssp Parviglumis*) 7000 ans av J-C (Hufford *et al.*, 2012). À partir de la fin du XVI^{ème}, le maïs s'est propagé en Afrique (James McCann, 2001) et c'est dès le début du XVII^{ème} siècle, qu'il est devenu une culture relativement bien implantée du Nord au Sud de la Côte d'Ivoire (Dominique, 1990). Depuis lors, cette implantation accompagne grâce à son potentiel de stockage et à sa forte productivité, la diversification socio-économique, l'urbanisation et le développement d'un commerce vivrier (Dominique, 1990). Le maïs est aujourd'hui cultivé partout dans le monde et est devenu la première céréale mondiale devant le riz et le blé (Carraretto, 2005).

2.2 Systématique

Le maïs est une plante monocotylédone appartenant à la famille des graminées. Il représente une seule espèce avec de nombreuses variétés (Direction de l'agriculture, 2001). La position systématique du maïs se présente de la manière suivante :

Règne : Plantae
Embranchement : Phanérogames
Sous-embranchement : Angiospermes
Classe : Monocotylédone
Ordre : Cyperales
Famille : Poaceae
Genre : *Zea*
Espèce : *Zea mays* (L.)

2.3 Description du maïs

2.3.1 Description botanique

Le maïs est une angiosperme annuelle monoïque, à tallage faible voire nul (Ristanovic, 2001). Bien qu'il soit auto-fertile (Henri *et al.*, 1968), le maïs est une plante allogame. Il est principalement anémophile et présente un métabolisme photosynthétique de type C4 (Gallais, 1984). Plante herbacée à jours court (Escalante *et al.*, 2002), cette espèce se développe en deux grandes phases. La phase végétative allant de la germination à l'apparition de la panicule (Abendroth *et al.*, 2011) tandis que la phase reproductive qui est une période dont le début est

marqué par l'apparition de la soie immature au sommet de l'épi (Abendroth *et al.*, 2011). La morphologie du plant de maïs est présentée à la Figure 1.

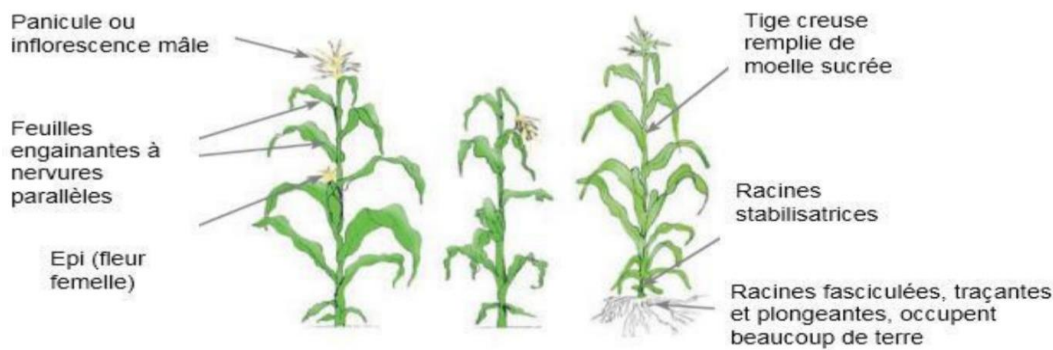


Figure 1 : Morphologie d'une plante de maïs (Escalante *et al.*, 2002)

2.3.2 Racines

Le système racinaire du maïs est fibreux et traçantes. Il est constitué non seulement de racines de type fasciculé qui est superficielle pouvant atteindre une profondeur supérieure à un mètre (Gay, 1999). Mais aussi, de racines de type adventives aériennes ou crampons qui se forment sur les nœuds de la base des tiges (Escalante *et al.*, 2002). Encore appelé racine d'ancrage, les racines adventives se développent à partir des premiers nœuds situés au-dessus du sol (Ristanovic, 2001).

2.3.3 Tige

Le maïs possède une unique tige dont la taille est variable de 40 cm à 6 m et avec un diamètre pouvant atteindre 3 à 4 cm d'épaisseur s'amincissant vers le sommet (Ndiaye, 1987). Pour les variétés les plus cultivées, la taille varie généralement de 1 à 3 m (Gay, 1999). Cette tige lignifiée et constituée de moelle sucrée, est formée de plusieurs entre-nœuds d'une vingtaine de centimètre chacune, et qui sont séparés par autant de nœuds (Maybelline & Maïga, 2012). La tige se subdivise donc en entre-nœuds, dont le nombre varie de 6 à 20 (Ristanovic, 2001). Au niveau de chaque nœud est insérée une feuille de façon alternée sur la tige (Escalante *et al.*, 2002).

2.3.4 Feuilles

Les feuilles de maïs sont de grandes tailles pouvant atteindre environ 1 m de long et 10 cm de large. Son nombre est plus important chez les génotypes de cycle long (Gay, 1984) et selon la variété, il est variable de 9 à 43 feuilles (Samayoa *et al.*, 2018). S'insérant de manière alternée au niveau des nœuds, toutes les feuilles de maïs comprennent trois (3) parties : le limbe, la zone ligulaire et la gaine. Ces feuilles à limbes allongées et à nervures parallèles se fixent par la base et sont aigues à l'extrémité. Sa zone ligulaire se compose de petite ligule située entre le limbe et la gaine (Escalante *et al.*, 2002).

2.3.5 Organes reproducteurs

Le maïs est une plante protandre, dont l'inflorescence mâle (la panicule) est située au sommet de la tige et l'inflorescence femelle (épi), à l'aisselle d'une feuille à mi-hauteur du plant (Doré & Varoquaux, 2006). L'inflorescence mâle est une panicule située au dernier nœud de la tige. Cette panicule terminale est formée de plusieurs ramifications appelées épillets. Les inflorescences femelles ou les épis sont situés à l'aisselle des plus grandes feuilles au milieu de la tige. Ce sont des épis enveloppés dans des feuilles modifiées, appelées spathes, qui se dessèchent à maturité. Chaque épi comporte une « rafle » sur laquelle sont insérés généralement en rangées verticales des centaines de soies à deux fleurs femelles dont une seule est fertile.

2.3.6 Fruits

Un pied de maïs donne naissance à trois ou quatre épis selon les variétés, mais un seul atteint généralement son développement complet. Selon les variétés, les grains sont disposés en 8 à 20 rangées verticales le long de l'axe central de l'épi, appelé rafle. Le grain de maïs est un caryopse et existe sous des formes multiples (globulaire, ovoïde, prismatique), et sous de différentes couleurs (blanc, jaune, roux, doré, violet, noir). Cette dernière (couleur des grains) dépend de la nature du tégument ainsi que de la couche d'aleurone (Ristanovic, 2001). Ces grains sont parfois lisses ou ridés. Un épi peut contenir environ 500 à 1 000 grains avec un poids moyen de 150 g à 330 g à maturité. Chaque grain est composé d'un germe (embryon + cotylédon), d'un albumen et d'un péricarpe qui est une enveloppe extérieure dure qui empêche l'entrée de champignons et de bactéries (Escalante *et al.*, 2002).

2.3.7 Description génomique

Le maïs présente une diversité nucléotidique deux (2) à cinq (5) fois plus grande que les autres céréales cultivées (Tian *et al.*, 2009). Bien que, le génome du maïs soit de mieux en mieux connu, en particulier depuis le séquençage de la lignée B73 en 2009 (Schnable *et al.*, 2009), les raisons d'une telle variabilité restent incertaines. Le génome du maïs ($2n=20$) compte environ 40.000 gènes pour une taille totale de 2,1 Gpb, dont plus de 60 % d'éléments transposables (Jiao *et al.*, 2017). Ces derniers constituent probablement un facteur clef de cette remarquable diversité (Doré & Varoquaux, 2006) chez le maïs.

2.4 Variétés de maïs en Côte d'Ivoire

Il existe une grande variabilité chez le maïs. En Côte d'Ivoire, la production est assurée par diverses variétés traditionnelles et améliorées. Ceux-ci sont consignés en annexe 1.

2.5 Importance du maïs

2.5.1 Alimentation humaine

Le maïs est cultivé pour ses grains, riches en amidon (environ 63 %), qui constituent la base de l'alimentation de nombreuses populations (Tableau I). Il possède une valeur énergétique semblable à celle des légumineuses sèches. Historiquement, il a été l'aliment de base de toutes les civilisations précolombiennes. Dans les pays en voie de développement, notamment en Afrique subsaharienne et en Amérique latine, sa consommation reste très importante. En Côte d'Ivoire, cette céréale constitue une base du régime alimentaire des populations rurales puisqu'elle entre dans diverses compositions culinaires. Le maïs éclaté (pop-corn) se consomme sous forme de grignotage. Les épis frais grillés ou bouillis sont le plus souvent consommés en dehors des principaux repas, en guise de friandise (Rouanet, 1984). De plus, le maïs, réduit en farine est préparé sous forme de bouillies, de galettes cuites ou encore sous une forme plus compacte appelé "Kabatoth" en langue malinké. Il est aussi consommé sous forme de couscous.

Tableau I: Composition chimique des principales parties des grains de maïs

Composant chimique	Péricarpe (%)	Albumen (%)	Germe (%)
Protéines	3,7	8,0	18,4
Fibres brutes	86,7	2,7	8,8
Cendres	0,8	0,3	10,5
Amidon	7,3	87,6	8,3
Sucre	0,34	0,62	10,8

Source : (Escalante *et al.*, 2002)

2.5.2 Alimentation animale

La plante entière peut être consommée par le bétail comme fourrage frais ou sec ou comme ensilage. Le maïs est une plante d'élevage d'embouche, il permet donc d'engraisser plus rapidement les bovins et augmente ainsi la production de lait des vaches. La teneur assez faible du maïs en protéines et sa relative pauvreté en lysine et méthionine obligent à avoir recours à des compléments protéiques (Kenzy & Wahaj, 2015). Très tôt, l'amélioration de la teneur en protéines est devenue un sujet de recherche important pour les chercheurs. C'est ainsi que les efforts de la sélection classique ont conduit au développement d'un nouveau maïs à haute valeur protéique dénommé QPM (Joanis, 2018). Au niveau mondial, les deux tiers du maïs produit sont utilisés pour l'alimentation animale, 27 % pour l'alimentation humaine principalement à travers les produits de la maïserie.

2.5.3 Importance thérapeutique

Le maïs est un puissant antioxydant qui protège le corps en neutralisant les radicaux libres responsables de dommages cellulaires et/ou le cancer. Il a le potentiel pour soulager la douleur et posséder des propriétés analgésiques. Les styles de l'inflorescence femelle, filaments très allongés portant les stigmates, appelés « cheveux de maïs » ou « barbes de maïs » ou « soies », sont inscrits dans la pharmacopée traditionnelle, notamment en France pour leurs propriétés cholagogues, diurétiques et anti lithiasiques (Émile, 1974). Ils sont également utilisés pour l'amélioration de la pression artérielle, du fonctionnement du foie et de la bile. Le principal nutriment de la soie de maïs est le potassium qui est un puissant diurétique. Les racines et les feuilles de maïs sont utilisées pour traiter des plaintes d'estomac (Lans, 2006).

2.5.4 Importance industrielle

Le maïs a de multiples débouchés en industrie agroalimentaire (Kenzy & Wahaj, 2015). Les produits de la semoulerie sont utilisés dans les produits alimentaires (polenta, céréales à petit déjeuner, brasserie). L'huile de maïs (extraite des germes) est utilisée en alimentation humaine, dans l'industrie pharmaceutique et dans l'industrie cosmétique. La distillation de maïs permet la fabrication d'alcools tels que le gin, la bière et le whisky, notamment le whisky de maïs (au moins 80 % de maïs) et le bourbon (de 51 à 79 %).

2.6 Conditions écologiques du développement du maïs

La plante de maïs exige quelques conditions écologiques pour assurer son bon développement et sa croissance. En effet, cette plante exige des températures allant de 20 à 25 °C pendant la germination, de 20 à 30 °C pour la croissance et de 21 à 30 °C pour une bonne floraison (Joanis, 2018). Au-delà de ces températures (maximum > 35 °C) la vitalité du pollen et à sa germination sont influencés d'où une fécondation incomplète (Luciani, 2004).

Dans la culture du maïs, l'eau est le facteur limitant des rendements dans beaucoup de conditions de production (Ndiaye, 2003). Elle est indispensable pendant la période d'un mois que dure la floraison (Fakorede & Akimyemiju, 2003). Une diminution de son alimentation hydrique provoque une chute de la photosynthèse (Katerji & Bethenod, 1997). En fonction du cycle, le besoin hydrique du maïs varie entre 500 mm et 900 mm (Rouanet, 1997). Cependant, il préfère une pluviométrie dont l'optimum est de 450 à 800 mm avec un temps chaud et claire. La nutrition minérale du maïs est constituée principalement d'azote (N), d'acide phosphorique (H₃PO₄), de la potasse (K₂O), de la chaux (CaO), et de la magnésie (MgO). Chacun de ces éléments aura son rôle pour la culture et un apport optimum de ceux-ci contribuera à atteindre le meilleur rendement (Ost, 2012). Ces éléments nutritifs doivent être présents sous une forme assimilable pour que les végétaux puissent les absorber (Ali, 2007). De plus, les sols riches en

matières organiques et possédant de bonnes propriétés physiques représentent le support adéquat pour le bon développement du maïs (Bazoumana *et al.*, 2009). Il préfère des sols dont la profondeur est variable entre 0,80 à 1 m avec un pH allant de 5,5 à 7,5. Mais il est moins tolérant à la salinité du sol par rapport à d'autres céréales (Westphal *et al.*, 1985).

2.7 Récolte et conservation du maïs

La récolte du maïs grain peut être réalisée à des périodes différentes, selon l'objectif recherché par l'agriculteur. Aussi selon l'utilisation, les épis sont récoltés frais ou secs. Les épis peuvent être récoltés frais 60 à 75 jours après semis pour les variétés de cycle court et 75 à 85 jours pour les variétés de cycle long (Akanvou *et al.*, 2006). Généralement, ils sont récoltés lorsque les spathes sont sèches. Le mode de conservation dépend de l'utilisation du maïs, et donc de la partie de la plante qui sera récoltée et valorisée. Pour le maïs grain, les épis peuvent être séchés naturellement en silo-cage (cribs) ou alors avec des séchoirs industriels. Le séchage des grains à l'air chaud permet d'augmenter la durée de conservation.

2.8 Amélioration génétique des plantes

L'amélioration variétale est un mécanisme très délicat et long qui tient compte des facteurs génétiques, physiologiques et pédoclimatiques (Salah, 2005). Il vise la création de matériel végétal nouveau présentant les meilleures caractéristiques agronomiques et phytosanitaires (Gallais, 2000). La recherche du rendement de plus en plus élevé des végétaux notamment chez le maïs a poussé la recherche à préconiser différentes méthodes d'amélioration (Bellon *et al.*, 2003).

2.8.1 Méthodes d'amélioration génétiques des plantes

2.8.1.1 Méthodes classiques d'amélioration génétique

Ce sont des méthodes permettant d'incorporer des gènes par croisement entre deux géniteurs appartenant à la même espèce ou non (Seilleur, 1996). Cette méthode est plutôt simple à mettre en œuvre par l'améliorateur (Lecoq *et al.*, 2004). Toutefois, elle présente des difficultés d'hybridation, voire d'incompatibilités entre espèces, qui compliquent la tâche des améliorateurs (Fuchs, 2008). De plus, cette méthode est un processus très long (Astier *et al.*, 2001) et ne nécessite pas de test de descendance, ni de contrôle de la fécondation.

2.8.1.2 Méthodes biotechnologiques

Au cours de ces dernières décennies, l'amélioration des plantes pour la création de nouvelles variétés a connu une évolution rapide. Elle bénéficie désormais des outils biotechnologiques d'exploration des ressources génétiques et de création de variétés, qui viennent enrichir les méthodes classiques de sélection (Charrier *et al.*, 1997). Ces méthodes biotechnologiques

d'amélioration des plantes sont essentiellement la méthode par la création des hybrides somatiques, la mutagenèse, la polyploïdisation, la transgénèse.

2.8.1.3 Technique d'hybridation somatique

La technique d'hybridation somatique ou fusion de protoplastes est une approche très puissante pour l'amélioration génétique (Pinheiro *et al.*, 2008). Elle consiste tout d'abord à isoler les protoplastes à fusionner, puis à les transférer sur un milieu de régénération, où des cals se développent en embryons somatiques et donnent des plantules (Davey *et al.*, 2005). Cette technique a l'avantage d'accroître la diversité des pools géniques des espèces cultivées, non seulement en contournant les incompatibilités ou contraintes sexuelles, mais aussi en combinant les génomes nucléaires, chloroplastiques et mitochondriaux suivant de nouvelles règles (Ollitrault *et al.*, 2000).

2.8.1.4 Transgénèse

La transgénèse est un concept consistant à introduire directement en laboratoire dans le génome d'une plante, un ou plusieurs gène(s) ou une séquence, codant ou non une protéine soit sous forme d'ADN complémentaire, soit sous forme d'ADN désirés sans effectuer de croisement. À l'issue de cette technique on obtient des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). De part cette méthode d'amélioration, plusieurs espèces végétales transgéniques résistantes aux insectes et aux virus ont été développées et commercialisées. Parmi ces plantes transgéniques, il y a le coton, le soja, le maïs, le papayer (Fuchs, 2008).

2.8.1.5 Mutagenèse

Les mutations sont des changements héréditaires qui se produisent dans le matériel génétique des organismes vivants. Ces changements se produisent pour diverses raisons et peuvent être naturels ou induits. Ils peuvent être reconnus comme des variantes phénotypiques à différents stades du cycle de vie, mais les effets principaux sont génétiques (Lundqvist, 2014). Deux types de mutagènes sont couramment utilisés pour l'induction de mutations chez les végétaux : mutagène chimique et la mutagène physique. Une illustration détaillée de ces mutagènes est faite en Annexes (Voir Annexe 2).

2.9 Notion de diversité génétique

La diversité génétique, fondement de la biodiversité (Parizeau, 1997) est extrêmement importante car elle représente le matériel de base sur lequel peut agir la sélection. Elle peut de plus se concevoir comme une assurance permettant l'adaptation à de nouvelles conditions environnementales (Lewin, 1992).

2.9.1 Étude de la diversité génétique

L'utilisation de la diversité dans un programme de sélection passe inévitablement par son estimation et par le choix du type de marqueur susceptible de la traduire le plus fidèlement possible. En effet, les différentes méthodes d'analyse de la diversité génétique sont basées sur des marqueurs qui renseignent sur le niveau de polymorphisme génétique (Dominique, 2009). Trois types de marqueurs sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique. Ce sont les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires. Ces marqueurs sont utilisés pour la caractérisation des individus. Ils permettent de connaître la diversité génétique des organismes et de les classer à partir des analyses. Ainsi, pour des estimations raisonnablement précises et non biaisées de la diversité génétique, une attention adéquate doit être portée sur ces différentes méthodes (Mohammadi & Prasanna, 2003). Dans cette étude, la caractérisation s'est effectuée par le biais des marqueurs moléculaires, particulièrement les marqueurs ISSR.

2.9.2 ISSR

Les ISSR sont des marqueurs non spécifiques de locus, de type dominant. Sa technique d'utilisation appelé technique ISSR-PCR (Inter Simple Séquence Repeat- PCR), a été principalement développé par Wu *et al.*, (1994). Cette technique est basée sur l'amplification par PCR des régions entre les microsatellites. Elle permet ainsi, d'amplifier un grand nombre de fragments d'ADN par réaction, et est supérieure aux marqueurs RAPD en termes de détection de polymorphismes et de reproductibilité (Ye *et al.*, 2008). La technique d'amplification intermicrosatellites est une technique flexible et peut être utilisée pour étudier la génétique des populations, pour la taxonomie moléculaire, la recherche de mutants somatiques et la cartographie (Yin *et al.*, 2002). Elle a principalement été employée jusqu'à présent dans des études de diversité d'espèces forestières ou agronomiques (Gupta *et al.*, 2008), souvent en complément d'une autre technique (RAPD ou RFLP) ou parfois à des fins de comparaison. La production des marqueurs ISSR est, par rapport aux marqueurs AFLP, SSR et RFLP, moins coûteuse, rapide et facile à optimiser.

DEUXIÈME PARTIE :
MATERIEL ET METHODES

3.1 Zone d'étude

L'étude a été effectuée sur une parcelle expérimentale de l'université Jean Lorougnon Guédé, située dans la ville de Daloa, au Centre-ouest de la Côte d'Ivoire (Figure 2). Daloa se situe entre 6°53'38 de latitude nord et 6°27'0 de longitude Ouest. Elle est caractérisée par un sol de type ferrallitique plutôt acide (Ph 4,5 - 6), une pluviométrie moyenne de 1142,5 mm de pluie par an (Amani, 2018) et un climat tropical. L'essai s'est déroulé sur un sol de type ferrallitique (Ayolié *et al.*, 2016), profond et dont le précédent cultural était le maïs.

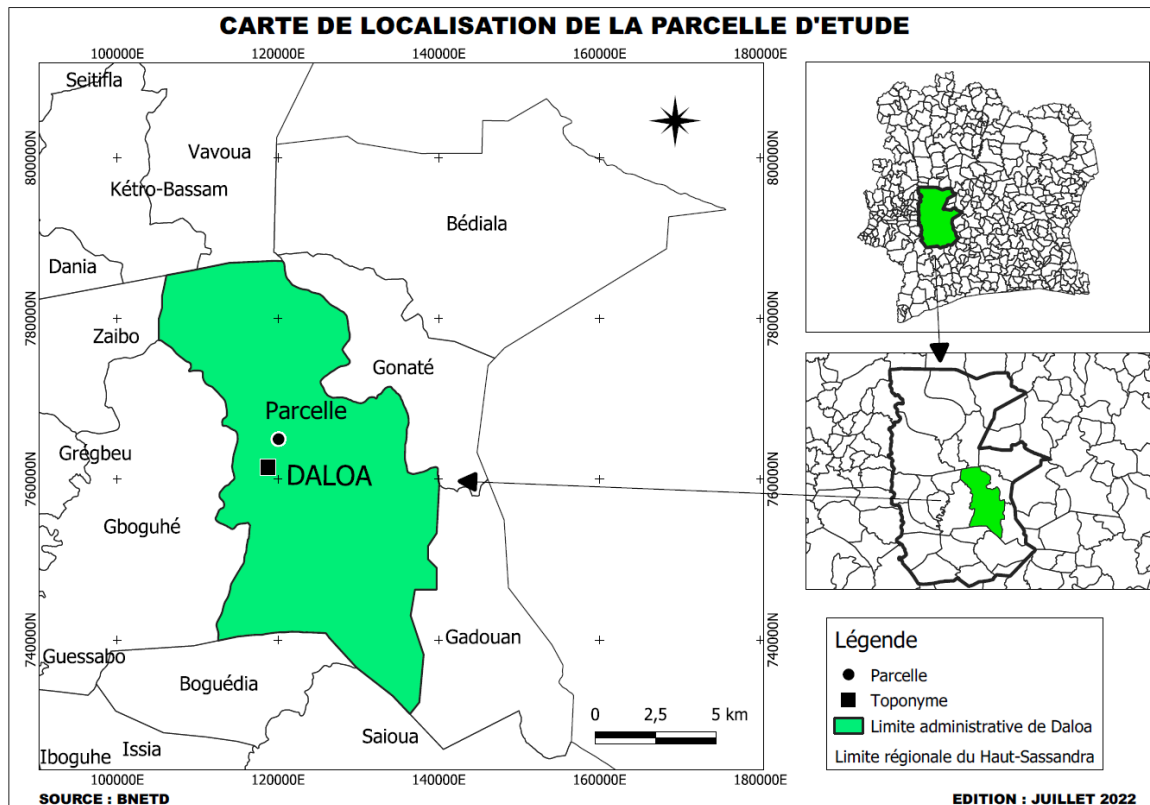


Figure 2 : Présentation de la zone d'étude (Source : BNETD, 2022)

3.2 Matériel

3.2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour la réalisation de cette étude est constitué de plantes de maïs de la sixième génération issues des semences de 15 lignées obtenues par irradiation gamma de la variété EV8728 aux doses 200 et 300 grays à Seibersdorf en Autriche (Annexe 3). En effet, les semences (M0) obtenues après l'irradiation constituait la génération zéro qui selon un dispositif approprié ont été semées. Les plantes issues de ces semences (M0) ont été autofécondées pour obtenir les semences (M1) de la génération un. Le processus de semi suivi d'autofécondation des plantes a chaque fois été réalisé afin de stabiliser les caractères générés par la mutation. Ainsi 264 lignées putatives ont été obtenu dont 61 ont été sélectionnées rigoureusement pour la suite des travaux.

3.2.2 Matériel technique

Pour la réalisation de nos travaux, nous avons principalement eu recours à du matériel non seulement pour les activités au champ mais aussi et surtout au laboratoire. L'illustration de quelques matériels est présentée en annexe 4.

3.2.2.1 Matériel technique au champ

Pour la réalisation de cette étude, le matériel suivant a été utilisé. Il s'agit essentiellement de tracteur, d'abaques et machette, qui ont servi pour le sarclage, le labour et la réalisation des points de semis ; d'un système d'arrosage goutte à goutte pour apporter de l'eau aux plantes et de pieds à coulisse, de planches graduées qui ont servi respectivement à la mesure du diamètre et des hauteurs des plants de maïs.

3.2.2.2 Matériel technique au laboratoire

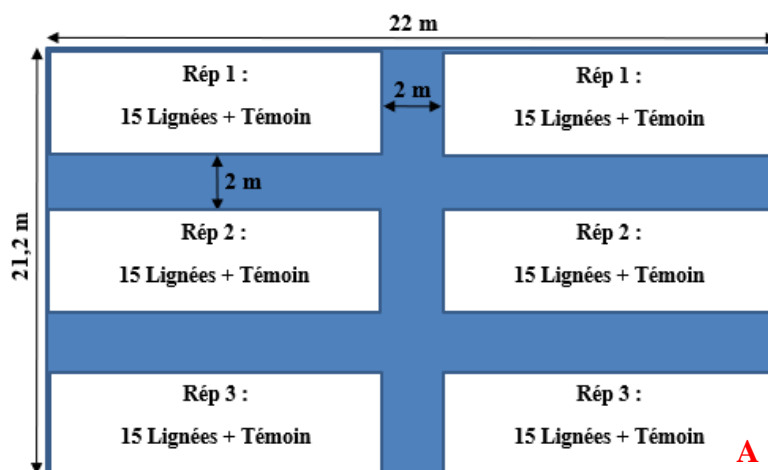
Le rôle des éléments constitutifs du matériel utilisé au laboratoire est consigné en annexe 5.

3.3 Méthodes

3.3.1 Méthodologie au champ

3.3.1.1 Dispositif expérimental

Sur une parcelle de 475,2 m² (22 x 21,2) a été réalisée cette expérimentation. Le dispositif expérimental utilisé était celui de Fisher avec deux blocs (1 et 2) comportant chacun trois (03) répétitions complètement randomisées (Figure 3. A). La randomisation a été réalisée au moyen du logiciel CropStat v 7.2. En effet, les répétitions, distantes de deux (02) m comptaient chacune 16 lignes séparées de 0,8 m. Chaque ligne comportait douze (12) poquets séparés de 0,4 m. Au total 96 lignes de 4,5 m de long et distantes de 0,8 m ont été emblavées. Illustration schématique d'une répétition est sur la figure 3. B



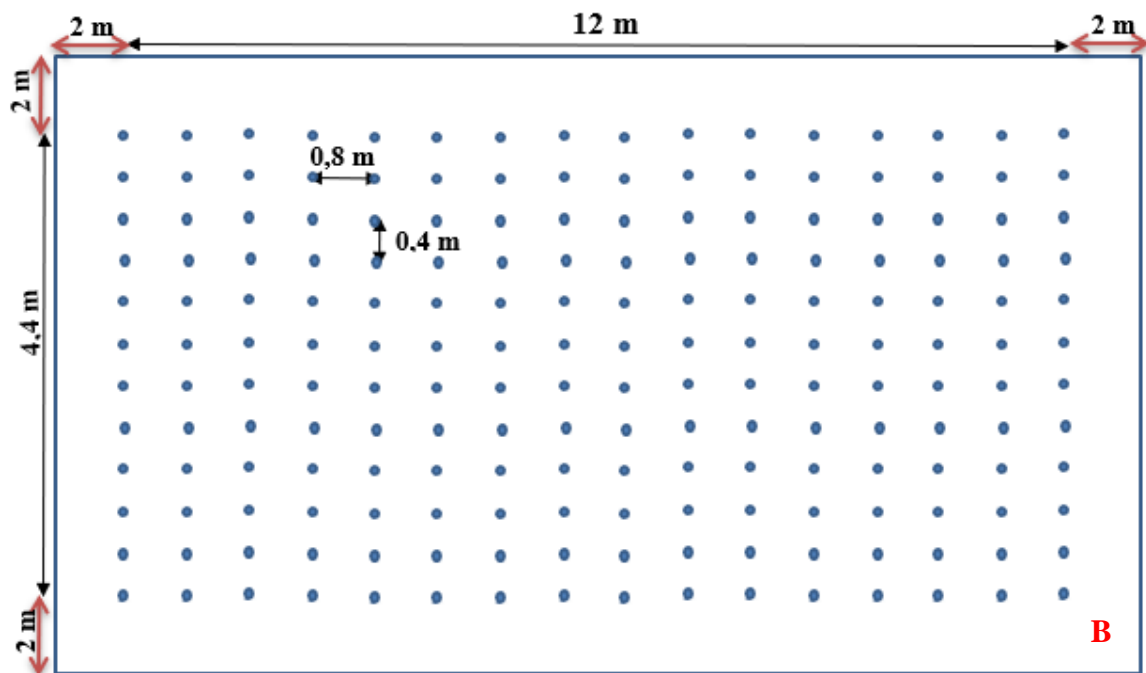


Figure 3 : Dispositif expérimental

A : présentation des blocs et répétition ; B : illustration d'une répétition

3.3.1.2 Mise en place de la parcelle et phase de semis

La mise en place de la parcelle a débuté par la mise à nu de celle-ci suivie d'un labour (Figure 4.A). Un piquetage a d'abord été réalisé dans le but de la délimiter suivant le dispositif expérimental sus-décrit (Figure 3), Les poquets ont par la suite été réalisés suivant les lignes préalablement délimitées (Figure 4. B). Enfin, le semis a été réalisé en enfouissant trois (03) graines par poquet à une profondeur de 2 à 3 cm. Une cuillerée à café d'un mélange à volume égal de deux insecticides VITAL 3G et PYRICAL 5G pour protéger les graines contre les insectes et les mille-pattes du sol afin de permettre leur germination dans un environnement sain.



Figure 4 : Mise en place de la parcelle d'étude

A : Mise à nu et labour, B : Confection des points de semis

3.3.1.3 Entretien et amendement de la parcelle

La parcelle et ses alentours ont régulièrement été maintenus propres par sarclage manuel et un contrôle régulier des adventices. L'insecticides KAPAAS a été utilisé par pulvérisation hebdomadaire pour lutter contre les ravageurs principalement la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera Frugiperda*). L'arrosage était assuré par un système d'irrigation goutte à goutte tous les deux (02) jours aux heures moins chaudes (07 h – 09 h ou à partir de 17 h). Deux semaines après semé, un démariage a été réalisé afin de laisser deux (02) plantes par poquet. Cette opération a été suivi d'un apport d'engrais NPK 15-15-15 à la dose de 5 g pour les deux (02) plantes du même poquet.

3.3.1.4 Mesure et observation des paramètres

Les mesures ont été effectuées sur un effectif de 15 plantes sélectionnées de façon aléatoire sur chaque ligne, dans chaque répétition, soit un total de 45 plantes par lignée. Dix-neuf caractères sélectionnés parmi les descripteurs du maïs (IPGRI, 1991) ont été retenus. Il s'agit de :

- ❖ taux de germination (TGer) : c'est le rapport entre le nombre des grains semés et le nombre de grains germées par jour ;
- ❖ délai de germination (DGer) : c'est le temps de germination de 50 % de grains semés ;
- ❖ nombre de plantes après démariage (NPD): c'est le nombre de plantes obtenu après démariage ;
- ❖ diamètre au collet (Diam) : c'est la mesure en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse l'épaisseur au collet de la plante de maïs ;
- ❖ hauteur de la plante (Haut) : c'est la mesure en centimètres de la hauteur des plants, elles se détermine à l'aide d'un mètre-ruban, à partir du sol jusqu'à la base de la feuille paniculaire ;
- ❖ hauteur d'insertion de l'épi (HI) : elle correspond à la mesure en centimètre du niveau d'insertion de l'épi depuis la base de la plante jusqu'à son nœud d'insertion ;
- ❖ délais de floraisons mâle (FIM) et femelle (FIF) : ce sont respectivement les temps au bout duquel 50 % de la panicule produit du pollen et une quantité raisonnable de soies apparait ;
- ❖ l'écart à la floraison (EFI) : c'est l'intervalle de temps entre les floraisons femelle et mâle;
- ❖ la masse totale de l'épi (MTE): c'est la quantité en gramme d'épis récoltés par lignée ;
- ❖ du nombre d'épi récolté (NER) : c'est le nombre d'épis récoltés par lignée ;
- ❖ du nombre d'épi sans grains (NESG) : c'est le nombre d'épi récolté ne portant pas de grains ;
- ❖ la longueur (LE) en centimètre et le diamètre (DE) en millimètre de l'épi : il s'agissait de mesurer respectivement la longueur et le diamètre de chaque épi débarrassé de sa spathe ;

- ❖ la masse de l'épi (ME) : c'est la mesure en gramme de l'épi débarrassé de sa spathe ;
- ❖ nombre de grain par épi (NGE) : il est obtenu par calcul selon la formule suivante :

$$NGE = NRE \times NGR ;$$
- ❖ la masse de cent grains (M100G) : c'est la mesure en gramme de la masse de cent grains par épi.

3.3.2 Analyse moléculaire avec les marqueurs ISSR

3.3.2.1 Echantillonnage

Un mois après semis, des échantillons de feuilles ont d'abord été prélevés de façon aléatoire sur 10 plantes par lignée. Après prélèvement, chaque échantillon est placé dans une enveloppe avant d'être directement conservé dans de la glace (Figure 7). L'ensemble des échantillons est ensuite transporté au laboratoire et conservé au congélateur -80 ° C. Ces échantillons sont finalement lyophilisés et conservés pour des travaux ultérieurs.

3.3.2.2 Extraction d'ADN

L'extraction et la purification d'ADN génomique d'ADN a été réalisé conformément au protocole du kit POMEGA avec de profondes modifications. Ainsi, 50 mg de feuilles lyophilisées ont été broyées dans des tubes Eppendorfs de 2 ml à l'aide d'un broyeur automatique à bille de tungstène ou Tissue Lyser II. 800 µl de solution tampon préalablement chauffée à 65 ° C ont été ajoutées. Ce tampon est un mélange de 800 µl de solution de lyse Promega ; 1,6 µl de Mercapto-éthanol et de 2,4 mg de PVP. L'ensemble a été porté pendant une heure à incubation au Bain-marie à 65 ° C. Après refroidissement pendant 5 minutes sur la paillasse, 3 µl de RNase ont été ajoutés et le mélange d'abord été homogénéisé grâce à un Vortex avant d'être incubé à 37 ° C au bain-marie pendant 15 minutes. Après refroidissement pendant 5 minutes sur la paillasse, 800 µl d'un mélange (24 :1) de chloroforme : alcool-isoamylique ont été ajouté. Le contenu des tubes a, par la suite été vigoureusement mélangé manuellement par inversion-redressement plus d'une cinquantaine de fois avant d'être centrifugés à 6200 G pendant 20 min. 600 µl de chaque surnageant ont délicatement été prélevés et transférée dans des tubes de 1,5 ml supplémentés de 600 µl de l'Isopropanol. Chaque contenu a délicatement été mélangée par inversion-redressement des tubes jusqu'à ce que la pelote d'ADN soit visible, puis placés au congélateur à -20 ° C pendant 20 min. Les tubes ont à nouveau été centrifugés à 6200 G pendant 10 min. Le surnageant a été délicatement été éliminé et le culot, représentant l'ADN a été conservé puis lavé par inversion-redressement de chaque tube avec 600 µl d'éthanol 70 %. Après centrifugation pendant 5 min à 6200 G, le surnageant a délicatement encore été éliminé et les tubes ont été séchés à 50 ° C à l'étuve pendant 15 min. Après refroidissement pendant 5 minutes sur la paillasse, 100 µl de solution de réhydratation ont été ajoutés au contenu de chaque

tube et l'ensemble a été laissé sur la paillasse toute la nuit pour la réhydratation de l'ADN obtenu.

3.3.2.3 Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait

L'estimation de la concentration (ng/μl) et de la pureté des différents extraits d'ADN a directement été réalisée au moyen du NanoDrop. Par ailleurs, afin de confirmer ces résultats, une appréciation sur gel d'agarose a été nécessaire. En effet, 6 μL de chaque extrait d'ADN ont été complétés par 4 μl de bleu de bromo-phénol puis coulés sur un gel d'agarose à 1 %. L'ensemble a ensuite été porté à migration pendant 30 minutes sous une tension de 100 Volts dans du tampon TAE 0,5 X. Ce gel a finalement été visualisé et photographié au transilluminateur à UV.

3.3.2.4 Préparation des solutions d'ADN à amplifier

Les ADN des différents individus ont été mélangés par lignée à raison de 10 μL par individu selon la méthode du « bulk DNA » (Mefti & Bourzerzou, 2012). En effet, cette méthode avait pour but la prise en compte de la variabilité intra-lignée. La méthode du « Bulk DNA » est une méthode largement utilisée pour l'évaluation de la diversité chez les plantes (Reyes-Val *et al.*, 2013).

3.3.2.5 Amplification de l'ADN par PCR

3.3.2.5.1 Choix des amorces

Onze amorces ISSR désignées par des chiffres allant de 1 à 9 ont été sélectionnées pour réaliser la polymérisation. Les différentes caractéristiques de ces amorces choisies sont résumées dans le tableau II.

Tableau II : Caractéristiques des amorces utilisées

N° d'ordre	Amorces	Séquences	T° d'hybridation
1	ISSR N7	5'-GTGGTGGTGGTGYC-3'	57,9
2	ISSR 09	5'-CTCCTCCTCCTCCTCCTC-3'	57,7
3	ISSR 857	5'-ACACACACACACACACCG-3'	57,7
4	ISSR Dat	5'-GAGAGAGAGAGAGAAC-3'	44
5	ISSR N6	5'-GAAGAAGAAGAAGAARC-3'	42,7
6	ISSR 17899A	5'-CACACACACACAAG-3'	43,3
7	ISSR 807	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGT-3'	47
8	ISSR 887	5'-GCATCTTCTCTCTCTCTC-3'	47,9
9	ISSR 17899B	5'-GGCAACAACAACAACA-3'	48,8

3.3.2.5.2 Amplification de l'ADN

La PCR a été réalisée pour chaque échantillon dans un volume réactionnel de 15 μL contenant 3 μL de tampon PCR 5 X ; 1,5 μL de MgCl_2 25 mM ; 0,3 μL de dNTP 10 mM ; 4 μL d'amorce ISSR 10 μM ; 0,08 μL de Taq polymérase 5 U ; 2 μL d'ADN et 4,12 μL d'eau stérile.

La réaction de PCR a été effectuée dans un Thermocycleur et s'est déroulée en 35 cycles comportant chacun trois principales étapes : (i) une dénaturation qui consiste à chauffer à une température élevée permettant à l'ADN double brins de se séparer par rupture des liaisons hydrogènes ; (ii) une hybridation qui consiste à un refroidissement rapide favorisant la fixation des amorces à chaque extrémité complémentaire de l'ADN simple brin ; (iii) une élongation grâce à la Taq polymérase qui permet la synthèse de nouveaux brins d'ADN. Ainsi, pour cette étude le programme appliqué était : la dénaturation initiale de 2 minutes à 94° C suivie de 35 cycles composés de la dénaturation à 94 ° C pendant 30 secondes, l'hybridation pendant 45 secondes à la température de l'amorce considérée, l'élongation à 72 ° C pendant 2 minute suivie de l'élongation finale à 72 ° C pendant 5 minutes.

3.3.2.5.3 Visualisation des fragments de l'amplification

Dans une cuve d'électrophorèse horizontale, les produits d'amplification ont fait l'objet d'une électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 % (2 g d'agarose pour 100 mL de tampon TAE (0,5 X) auquel ont été ajoutés 2 μL de bromure d'éthidium (BET). Cette technique repose sur la séparation des fragments d'ADN en fonction de leur taille sous l'action d'une tension électrique. Pour ce faire, le contenu (produit PCR) de chaque tube a été déposé dans chaque puits du gel à l'aide d'une micropipette ajustable. Par ailleurs, parallèlement aux échantillons à tester, un marqueur de poids moléculaire de 100 paires de bases a été déposé dans un puits de chaque gel (à raison de 2 μL). La migration a ensuite été réalisée sous une tension électrique de 100 volts pendant 1 heure 30 minutes dans le tampon TAE (0,5 X).

3.3.2.5.4 Révélation des fragments amplifiés

Après électrophorèse, le gel de migration a été placé dans un trans-illuminateur photographique sous lumière ultraviolet (UV) pour la révélation et la photographie des bandes d'ADN amplifiées. Le BET, incorporé au gel d'agarose est un agent chimique qui s'intercale entre les bases azotées permettant ainsi de visualiser les fragments d'ADN amplifiés à travers une fluorescence sous la lumière UV.

3.3.2.5.5 Lecture des gels issus de l'électrophorèse

La lecture visuelle des gels a permis d'établir une matrice binaire 0/1 traduisant respectivement l'absence/présence de bandes à chacun des locus, pour chaque lignée. Seules les bandes claires

et bien visibles ont été prises en compte comme marqueurs ISSR. Par ailleurs, Les tailles des bandes obtenues ont été déterminées par lecture à l'aide d'un marqueur de poids moléculaire de 100 paires de bases.

3.3.3 Analyses

Les données collectées sur le terrain ont été d'abord consignées dans un classeur avec Microsoft Excel 2016 et dépouillées au moyen des logiciels SPSS v22.0 et R v3.6.3. Le logiciel SPSS a servi à réaliser d'une part une analyse de variance (ANOVA) suivie du test post-hoc de Student-Newman-Keuls pour la classification des lignées en fonction des paramètres étudiés ;

Et d'autres parts à établir une corrélation entre les différentes variables afin d'apprécier le lien entre certains paramètres.

Le package Factoshiny logiciel R a par ailleurs été utilisé pour une analyse en composantes principales (ACP) sur la matrice de corrélation et les facteurs générés ont permis de structurer la diversité des lignées étudiés. Un regroupement de celles-ci en différentes classes homogènes a été effectué par la méthode de classification hiérarchique ascendante (CHA). Par ailleurs, ce package a aussi servi à réaliser le test d'homogénéité des différents groupes de l'ACP.

Les données moléculaires ont été analysées à partir des logiciels, GenALEx 6.5, FreeTree et TreeView (Win32, version 5.2). Pour chaque amorce, le nombre total de bandes et le taux de polymorphisme ont été calculés. Des estimations de la diversité génétique au sein et entre les populations ont été obtenues avec le logiciel GenALEx. Le pourcentage de loci polymorphes (PPL), la diversité des gènes de Nei (He) et l'indice d'information de Shannon (I) ont été calculés. L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a été utilisée pour évaluer statistiquement la répartition de la variabilité génétique au sein et entre les populations à l'aide du programme GenAlex. De plus, le logiciel GenALEx a permis une analyse multivariée. Elle a consisté en une analyse en coordonnées principales (PCoA) afin de visualiser les tendances de la distance génétique entre les cultivars. Cette PCoA a été fondée sur les corrélations pour transformer les variables, dans notre cas les marqueurs ISSR, en variables synthétiques ou axes. Cette analyse a permis ainsi de définir les marqueurs qui contribuent le mieux à la description de la structuration de la variabilité et d'obtenir une projection des variétés selon leur ressemblance. Enfin, la matrice binaire obtenue a été traitée avec le logiciel FreeTree pour générer une matrice de distance génétique présentant les coefficient de dissimilarité de Jaccard entre les douze cultivars de mil sur la base des données ISSR. Une analyse typologique a ensuite, été réalisée en utilisant la méthode du neighbor-joining, du logiciel FreeTree ; ce qui a permis d'élaborer, grâce au programme TreeView, un dendrogramme montrant l'inter-relation entre les cultivars.

TROISIÈME PARTIE :
RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 RESULTATS

4.1.1 Différenciation phénotypique des lignées

4.1.1.1 Classification des lignées au moyen des paramètres phénologiques

Les moyennes de paramètres phénologique notés en fonction des lignées étudiées sont consignées dans le tableau III. L'examen du tableau laisse entrevoir un effet hautement significatif (p -Value $<0,001$) de la lignée sur les paramètres considérés. Cela traduit une grande diversité matérialisée par plusieurs groupes statistiquement différents pour chaque paramètre mesuré.

D'abord, cette variabilité a été exprimée au niveau du délai de germination par quatre groupes distincts. La lignée L8 et le témoin T0 (variété EV8728) ont formé premier groupe (G1). Les semences issues de ceux-ci ont germé précocement avec un délai de germination de 4,33 jours après semis tandis que les lignées L32 et L77A avec 6,17 jours, formant le groupe quatre (G4) ont été les plus tardives. Les lignées L99 et L77B avec un délai de 5 jours et la lignée L75 (5,5 jours) ont respectivement représenté les groupes deux (G2) et trois (G3). Par ailleurs, les autres lignées ont été intermédiaires aux différents groupes déjà cités.

Ensuite, malgré la forte diversité observée, matérialisée par huit groupes statistiquement distincts, toutes les lignées ont enregistré des valeurs moyennes de floraison femelle nettement supérieures à celle du témoin T0 (G1) dont les soies ont apparu en moyenne 51,22 jours après semis. Parmi la population de lignées étudiées, les plus précoces à la floraison femelle la lignée L46 avec 54,2 jours (G2) constituant le groupe deux (G2) et le groupe trois (G3) qui refermait les lignées L63, L72 et L91 avec respectivement 55,9 ; 55,77 et 55,91 jours après semis. Le groupe quatre (G4) est constitué des lignées L51 (56,4) ; L8(56,53) ; L80 (56,33) et la lignée L99(56,62). La lignée L32, avec un délai de 58 jours constituait le groupe 5 (G5). Le groupe 6 (G6) était composé des lignées L61 (58,69) et L77A (58,81) tandis que le septième groupe (G7) comprenait uniquement la lignée L77B (59,21). Les plantes de la lignées L75(60,48), formant le groupe 8 (G8) ont été les plus tardives car ayant fleuri 60,48 jours après semis.

Parallèlement à la floraison femelle, les fleurs mâles des plantes issues du témoin (T0) ont été les plus précoces (G1) avec 52,3 jours par rapport aux lignées étudiées. Cependant, les lignée L46 et L95 avec respectivement de délais de floraison mâle de 55,3 et 55,5 jours après semis ont été les plus précoces. Par ailleurs, la lignée L77A a été la plus tardive avec un délai moyen de 62,5 jours.

Enfin l'écart entre les délais de floraison mâle et femelle a varié entre 0 et 3,78 jours. Cependant, 4 grands groupes statistiquement distincts ont permis de classer ces écarts en fonction des lignées considérées. Ainsi le groupe 1 (G1) caractérisé par des écarts plus faibles (inférieurs à 1)

est constitué des lignées L75 (0,0) ; L51(0,13) ; L32 (0,56±1,7) ; L8(0,27) ; L61(0,96±0,8) ; L95(0,7) et L77B (0,71) ainsi que le témoin T0 avec un écart de 0,6. Le second groupe est composé de la lignée L63 avec une moyenne de 2,17 jours. Le groupe 3 comporte les lignées L71 (2,93) ; L72 (2,7) ; L80 (2,6) et L91 (2,95) tandis que le groupe 4 est quant à lui est constitué de la lignée L77A possédant le plus grand écart (3,78).

Tableau III: Effet de la lignée sur les paramètres phénologiques

Lignée	DGer Moy±Ec	FIF Moy±Ec	FIM Moy±Ec	Efl Moy±Ec
L32	6,17±0,9 ^d	58±1,8 ^e	58,5±1,5 ^{de}	0,56±1,7 ^a
L46	5,33±0,5 ^{bc}	54,2±2,0 ^b	55,3±1,3 ^{ab}	1,1±1,7 ^{ab}
L51	5,33±0,5 ^{bc}	56,4±1,3 ^d	56,5±1,1 ^c	0,13±0,5 ^a
L61	5,83±0,4 ^{cd}	58,69±1,4 ^f	59,6±1,1 ^f	0,96±0,8 ^a
L63	5,17±0,4 ^{bc}	55,9±1,0 ^c	58±0,6 ^d	2,17±0,7 ^b
L71	4,67±0,5 ^{ab}	53,03±1,5 ^{ab}	55,9±0,8 ^{bc}	2,93±1,3 ^c
L72	5,33±0,8 ^{bc}	55,77±1,6 ^c	58,4±1,1 ^{de}	2,7±1,2 ^c
L75	5,5±0,8 ^c	60,48±2,8 ^h	60,4±2,5 ^h	0±0,9 ^a
L77A	6,17±0,4 ^d	58,81±1,1 ^f	62,5±1,7 ⁱ	3,78±1,8 ^d
L77B	5±0,6 ^b	59,21±1,4 ^g	59,9±4,1 ^g	0,71±4,7 ^a
L8	4,33±0,8 ^a	56,53±1,2 ^d	56,8±1,4 ^{cd}	0,27±1,2 ^a
L80	5,17±0,4 ^{bc}	56,33±0,9 ^d	58,9±1,2 ^e	2,6±1,3 ^c
L91	5,33±0,5 ^{bc}	55,91±1,1 ^c	58,8±1,2 ^e	2,95±1,6 ^c
L95	5,17±0,4 ^{bc}	54,83±1,4 ^{bc}	55,5±1,1 ^b	0,7±1,2 ^a
L99	5±0,0 ^b	56,62±1,5 ^d	57,7±1,1 ^d	1,13±1,2 ^{ab}
T01	4,33±0,5 ^a	51,77±2,0 ^a	52,3±1,9 ^a	0,6±0,8 ^a
P-Value	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

DGer : Délai de Germination ; **FIF** : Délai de la Floraison femelle ; **FIM** : Délai de la Floraison male ; **Efl** : Ecart à la floraison (tous ces paramètres s'expriment en jours). NB : Les valeurs affectées de la même lettre, dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

4.1.1.2 Classification des lignées en fonction des paramètres de croissance et de développement

Le tableau IV présente la distribution des valeurs moyennes des différents paramètres de développement mesurés sur l'ensemble de la population de maïs étudiée. L'examen de ce tableau révèle une grande diversité hautement significative des lignées étudiées.

L'observation du taux de germination a permis de classer cette population en 6 groupes. Le premier groupe (G1) était composé des lignées ayant les taux les plus faibles. Ceux sont les lignées L61 et L77A avec des taux respectifs de 43,98 et 48,61 %. La lignée L91 avec un taux de 67,13 % représentait le second groupe (G2). Le troisième groupe (G3) est formé des lignées L63 et L75 avec un taux moyen de germination de 76,39 %. La lignée L77B ayant enregistré un taux de 81,02 % compose le groupe 4 (G4) tandis que le groupe 5 (G5) regroupait la lignée

80 et du témoin T0 avec taux respectifs de 91,67 et 93,05. Par ailleurs, l'excellent taux de germination a été enregistré par la lignée L71 avec 97,22 %. Le nombre de plants obtenus après démariage a significativement varié entre 13 et 24. Cette variation a été matérialisé par 5 groupes. Cependant, la lignée L61 a présenté le plus faible nombre (13) tandis que le plus grand nombre de plantes (23 en moyenne) a été obtenu avec les lignées L72 ; L80 ; L95 ; L71 et le témoin T0. Le diamètre au collet des plants a été l'un des paramètres les moins discriminants car il a permis de classifier les lignées étudiées en seulement deux groupes statistiquement distincts. En effet, les plantes des lignées L61 et L77A ont enregistré les plus fortes valeurs de diamètre au collet (30 mm en moyenne).

La classification des lignées en fonction de la hauteur des plantes a montré une très forte variabilité. Cette variabilité a été représentée par huit (08) groupes distincts. En effet, les plantes de la lignée L91 sont présentés comme les plus courte avec une hauteur moyenne de 158 cm par rapport à celles de la lignée L61 qui ont été les plus grandes hauteurs avec 206,33 cm en moyenne. Par ailleurs, au niveau de la hauteur d'insertion de l'épi, malgré, une forte variabilité observée, les plantes témoins ont donné des épis insérés plus haut (108,43 cm) que ceux de l'ensemble des lignées étudiées. Cependant, le niveau d'insertion des épis était plus important chez les lignées L80 et L95 qui étaient respectivement de 100,87 et 99,1 cm tandis que les épis de la lignée L91 ont été insérés plus bas (76,43 cm).

Tableau IV: Effet de la lignée sur les paramètres de croissance et développement

Lignée	Diam Moy±Ec	Haut In Moy±Ec	Haut Pl Moy±Ec	TGer Moy±Ec	NPD Moy±Ec
L32	23,4±2,3 ^a	83,5±9,7 ^b	173,46±13,8 ^{bc}	60,65±8,3 ^{ab}	16,83±2,0 ^b
L46	22,7±1,8 ^a	93,13±12,6 ^{cd}	193,56±21,3 ^e	74,07±8,5 ^{bc}	19,67±2,8 ^c
L51	20,7±2,8 ^a	80,23±8,2 ^{ab}	166,2±7,8 ^{ab}	74,07±9,4 ^{bc}	20,5±1,8 ^c
L61	30,2±10,8 ^b	98,37±14,0 ^d	206,33±34,4 ^h	43,98±9,5 ^a	13,5±2,4 ^a
L63	21,4±3,7 ^a	89,93±9,8 ^c	179,1±13,0 ^c	76,39±9,0 ^c	21,17±1,9 ^d
L71	20,4±3,6 ^a	86,2±12,7 ^{bc}	181,93±15,4 ^d	97,22±3,5 ^f	23,33±0,8 ^e
L72	21,1±3,2 ^a	98,07±9,3 ^d	197,4±19,5 ^g	88,43±9,1 ^{de}	23±1,5 ^e
L75	19,8±4,5 ^a	80,83±18,7 ^{ab}	190,03±18,5 ^{de}	76,39±9,4 ^c	18,33±3,2 ^{bc}
L77A	30,3±12,0 ^b	91,2±12,1 ^c	188,23±33,0 ^{de}	48,61±6,7 ^a	15,5±1,5 ^{ab}
L77B	25,2±32,4 ^{ab}	97,63±10,8 ^d	194,63±15,9 ^{ef}	81,02±13,7 ^d	22,17±2,2 ^d
L8	22,1±2,4 ^a	97,7±35,2 ^d	170,46±18,1 ^b	89,35±11,5 ^{de}	22,33±3,3 ^d
L80	21,1±2,2 ^a	100,87±11,7 ^e	199,66±13,6 ^g	91,67±5,5 ^e	23±0,8 ^e
L91	19,5±2,8 ^a	76,43±20,6 ^a	158,46±10,8 ^a	67,13±14,4 ^b	18,33±3,7 ^{bc}
L95	21,1±3,5 ^a	99,1±14,4 ^e	196,24±12,3 ^f	87,5±7,1 ^{de}	23,17±1,3 ^e
L99	18,4±2,1 ^a	94,37±8,4 ^{cd}	180,23±11,8 ^{cd}	77,78±11,6 ^{cd}	20,83±3,4 ^d
T01	24±2,6 ^{ab}	108,43±17,5 ^f	200,5±30,7 ^g	93,05±3,8 ^e	23,5±0,8 ^e
P-Value	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Diam : diamètre au collet ; **Haut In** : hauteur d'insertion de l'épi ; **Haut Pl** : hauteur de la plante ; **TGer** : Taux de germination ; **NPD** : nombre de plantes après démariage. NB : Les valeurs affectées de la même lettre, dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

4.1.1.3 Classification des lignées en fonction des paramètres de productions

L'effet de la lignée sur toutes les données de production est représenté dans le tableau V. Ce tableau révèle ainsi un effet très hautement significatif sur l'ensemble de ces données de production. En effet, l'analyse statistique effectuée montre une forte divergence interlignée au niveau de la masse totale de l'épi. Cette divergence s'exprime par la répartition des lignées en divers groupes. Ainsi, il se distingue le premier groupe (G1) qui renferme les lignées ayant les masses moyennes les plus faibles (395 à 1021 g). Il s'agit des individus L32, L51, L61, L71, L75, L77A, L77B, L8, L91 et L99. Le deuxième groupe (G2) ayant une moyenne plus élevée (2382 g), regroupe uniquement la lignée L46 ; et le dernier groupe (G3) représenté par le témoin T01, présente la plus grande masse totale de l'épi avec la moyenne estimée à 2785 g.

Le nombre d'épis récoltés lors de l'essai a permis de distinguer les lignées de façon très significative ($p\text{-Value} < 0,001$). En effet, l'observation des moyennes de cette variable révèle deux groupes distincts. D'un côté le groupe 1 (G1) qui est composé de la lignée L61, a enregistré peu d'épis à la récolte (8 épis récoltés). D'un autre côté, il y a le deuxième groupe (G2) dont les plantes ont produit plus d'épis. Il s'agit du témoin T01 et de la lignée L77B avec une moyenne de 21 épis récolté par lignée.

Les lignées étudiées ont présenté des différences assez significatives au niveau du nombre d'épi sans grains. En effet, il ressort de l'analyse de variance que les lignées L46, L71, L8, L99 et le témoin T01 ont des épis bien rempli puisqu'ils présentent la plus faible moyenne du nombre d'épis sans grains (0,33 épis sans grains). Cependant seul les épis de la lignée L95 n'ont pratiquement pas obtenu de grains sur leurs épis.

A l'exception des précédant paramètres, la longueur de l'épi a montré une grande variabilité entre la population de lignée. Cette forte variabilité est illustrée par l'obtention de six (6) différents groupes de lignées se distinguant les unes des autres par la taille de leur épi. Ainsi, la plus grande taille a été observé chez le témoin T01 avec une longueur moyenne de 15,24 cm. Tandis que les épis les plus court ont été obtenu chez la lignée L75 avec 8,41 cm de longueur. En outre les résultats de l'analyse sur le diamètre de l'épi ont montré une différence hautement significative entre les lignées étudiées. En effet, à travers la circonférence de l'épi il se distingue cinq groupes différents dont le premier (G1) est composé de la lignée L99 avec des épis ayant les petits diamètres (31,66 mm). Il s'en suit le second groupe (G2) qui renferme les lignées L61 (35,66 mm), L71 (35,48 mm), L72 (35,85 mm) et la lignée L75 (35,38 mm). Ensuite vient le groupe 3 (G3) constitué des lignées L32 (37,36 mm), L51 (36,44 mm), L63 (36,37 mm), L77A (37,03 mm), L8 (37,45 mm) et L80 (38,17 mm). Le quatrième groupe est composé des lignées

L46 (41,93 mm), L91 (40,46 mm), et L95 (42,61 mm). Enfin le dernier groupe (G5) composé uniquement du témoin T01 avec le diamètre le plus gros (45,66 mm).

Les résultats de l'analyse font apparaître des différences très hautement significatives au niveau de la masse de l'épi de chaque lignée. Sur l'ensemble des lignées étudiées la lignée L77B se différencie des autres par les épis de faibles masses (31,11 g). Par ailleurs, la variété EV8728 (T01) a enregistré la masse d'épi la plus élevée avec une moyenne de 128,18 g.

En terme, de nombre de grains par épi, les résultats ont révélé une importante divergence entre les populations de lignées. Celles-ci se distinguent par diverses moyennes obtenues pour cette variable. En effet, ces moyennes très variables présentent un maximum de 487,04 grains sur les épis du témoin T01 ; et un minimum de 141,13 grains pour les épis de la lignée L77B. Des différences très significatives ont été également observées chez les lignées pour la masse de 100 grains. En effet, à travers la masse de 100 grains, il se distingue 4 différents groupes dont le premier (G1) est composé des lignées L8 (15,44 g) et L99 (14,35 g) possédant les plus faibles masses. Le second groupe (G2) constitué des lignées L32, L80 et L91 ayant une moyenne plus élevée d'environ 21 g. Le groupe 3 (G3) qui regroupe uniquement la lignée L46 a enregistré une masse de 22,91 g et enfin le dernier groupe (G4) ayant obtenu la plus grande masse de 100 grains. Ce groupe est constitué des lignées L72 (24,32 g) et L77B (23,65 g) et du témoin T01 (24,16 g).

Tableau V : Effet de la lignée sur les paramètres de production

Lignée	MTE Moy±Ec	NER Moy±Ec	NESG Moy±Ec	LE Moy±Ec	DE Moy±Ec	ME Moy±Ec	NGE Moy±Ec	M100G Moy±Ec
L32	1021±591 ^a	16,33±7,5 ^{ab}	1±1 ^{ab}	11,96±2,9 ^{bc}	37,36±3,5 ^c	51,52±21,5 ^{cd}	262,22±99,8 ^d	20,97±3,3 ^b
L46	2382±229 ^b	18,5±0,7 ^{ab}	0±0 ^a	13,87±2,4 ^e	41,93±7,1 ^d	100,13±64,5 ^h	424,3±75,4 ^h	22,91±2,3 ^c
L51	975±308 ^a	18±7,8 ^{ab}	1±1,7 ^{ab}	10,98±4,3 ^b	36,44±2,8 ^c	41,86±10,7 ^b	231±50,3 ^{bc}	19,05±2,6 ^{ab}
L61	395±232 ^a	8±3,6 ^a	0,67±1,1 ^{ab}	12,3±1,5 ^c	35,66±6,1 ^b	52,35±14,7 ^{cd}	297,92±54,2 ^e	19,04±2,4 ^{ab}
L63	1295±473 ^{ab}	19,75±5,6 ^{ab}	2,25±2,8 ^{ab}	12,34±1,4 ^c	36,37±2,0 ^c	62,47±14,2 ^d	329,14±57,9 ^g	17,99±2,8 ^{ab}
L71	730±200 ^a	15,33±1,1 ^{ab}	0,33±0,5 ^a	10,5±2,1 ^b	35,48±2,6 ^b	47,16±14,0 ^{bc}	183,12±51,6 ^{ab}	24,57±3,0 ^e
L72	1582±1079 ^{ab}	16,75±3,2 ^{ab}	2±1,4 ^{ab}	13,4±1,3 ^d	35,85±1,9 ^b	63,86±13,0 ^e	245,83±35,0 ^c	24,32±2,1 ^d
L75	420±165 ^a	14±2,6 ^{ab}	2,33±2,0 ^{ab}	8,41±2,0 ^a	35,38±1,6 ^b	38,68±7,0 ^b	199,09±46,1 ^b	18,9±3,2 ^{ab}
L77A	828±101 ^a	17,33±3,2 ^{ab}	1,33±1,1 ^{ab}	11,31±0,6 ^b	37,03±2,6 ^c	48,41±9,9 ^c	211,92±41,7 ^b	22,38±1,7 ^{bc}
L77B	716±168 ^a	21±2,6 ^b	2±1,7 ^{ab}	10,25±1,5 ^{ab}	33,2±3,4 ^{ab}	31,11±8,1 ^a	141,13±32,7 ^a	23,65±2,0 ^d
L8	620±400 ^a	12±3,6 ^{ab}	0±0 ^a	12,32±1,9 ^c	37,45±3,7 ^c	60,64±22,7 ^d	424,59±90,5 ^h	15,44±3,3 ^a
L80	1301±290 ^{ab}	18±2,6 ^{ab}	2,67±0,5 ^{ab}	13,99±1,3 ^e	38,17±2,8 ^c	68,51±12,6 ^f	313,68±39,2 ^f	21,12±3,0 ^b
L91	538±136 ^a	9,33±2,3 ^{ab}	2±2 ^{ab}	11,34±1,8 ^b	40,46±2,6 ^d	57,38±11,8 ^d	271,73±41,4 ^d	21,53±1,5 ^b
L95	1533±764 ^{ab}	19,25±3,3 ^{ab}	4,75±1,5 ^b	12,32±2,5 ^c	42,61±3,2 ^d	80,13±28,8 ^g	293,48±86,3 ^e	24,69±2,9 ^e
L99	480±199 ^a	10,67±6,0 ^{ab}	0,33±0,5 ^a	10,94±2,3 ^b	31,66±3,1 ^a	36,16±14,0 ^{ab}	269,57±109,9 ^d	14,35±2,1 ^a
T01	2785±320 ^c	21±2 ^b	0,33±0,5 ^a	15,24±2,0 ^f	45,66±3,6 ^e	128,18±30,2 ⁱ	487,04±92,8 ⁱ	24,16±2,8 ^d
P-Value	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

MTE : Masse totale de l'épi ; **NER** : Nombre d'épi par rangée ; **NESG** : Nombre d'épi sans graine ; **LE** : Longueur d'épi ; **DE** : Diamètre de l'épi ; **ME** : Masse de l'épi ; **NER** : Nombre de rangée par épi ; **NGR** : Nombre de grain par rangée ; **NGE** : Nombre de grain épi ; **M100G** : Masse de 100 grains

NB : Les valeurs affectées de la même lettre, dans la même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.3.1.1.2. Structuration de la diversité des lignées étudiées

4.1.1.4 Corrélation entre les paramètres étudiés

La matrice de corrélation des différents paramètres étudiés est rapportée dans le tableau VI. Une corrélation significative ($\geq |0,50|$) a été observée entre les différents paramètres mesurés. L'analyse de cette matrice a révélé que le délai de germination a présenté une corrélation significativement positive avec floraison femelle ($r=0,68$) et la floraison male ($r=0,61$) et une corrélation négativement significative avec le taux de germination ($r = -0,82$) et le nombre de plantes après démariage ($r = -0,8$). Le taux de germination a montré une corrélation hautement significative avec le nombre de plantes après démariage ($r = 0,97$) et une corrélation significativement négative avec le diamètre au collet ($r = -0,65$), la floraison male ($r = -0,60$) et la floraison femelle ($r = -0,59$). La hauteur d'insertion de l'épi s'est révélée fortement corrélée avec la hauteur totale de la plante ($r = 0,74$), la masse totale de l'épi ($r =0,51$), la longueur ($r =0,67$), la masse de l'épi ($r = 0,54$), le nombre de grains par rangée ($r =0,54$) et le nombre de grain par épi ($r=0,5$). En dehors de la hauteur d'insertion de l'épi, la hauteur totale de la plante ne présente aucune autre corrélation significative avec tous les autres paramètres.

La masse totale de l'épi en plus de présenter une corrélation positivement significative avec la hauteur d'insertion de l'épi, elle montre une corrélation positive hautement significative avec le nombre d'épi récolté ($r = 0,66$), la longueur de l'épi ($r = 0,79$), le diamètre de l'épi ($r = 0,76$), la masse de l'épi ($r = 0,91$), le nombre de grain par épi ($r = 0,65$) et la masse de 100 grains ($r = 0,51$). Cependant elle admet une corrélation négativement significative avec la floraison male ($r = -0,68$) et la floraison femelle ($r = -0,69$). Le nombre d'épi récolté a présenté également une corrélation significativement positive avec la masse de 100 grains ($r =0,54$) en plus du nombre de plantes après démariage et de la masse totale de l'épi sus cité. La longueur de l'épi présente une forte corrélation avec le diamètre de l'épi ($r =0,6$), la masse de l'épi ($r = 0,8$), et le nombre de grains par épi ($r = 0,78$). Mais celle-ci est corrélée négativement à la floraison male ($r = -0,5$) et à la floraison femelle ($r = -0,6$). La corrélation du diamètre de l'épi est significativement positive avec non seulement la masse totale de l'épi ($r = 0,76$) et la longueur de l'épi ($r = 0,6$) mais aussi avec la masse de l'épi ($r = 0,9$), le nombre de grains par épi ($r =0,69$). Toutefois il est corrélé négativement avec les floraison male ($r = -0,6$) et la floraison femelle ($r = -0,6$). La masse de l'épi a été corrélé positivement avec le nombre de grains par épi ($r =0,84$) mais négativement avec la floraison male et la floraison avec respectivement $r = -0,7$ pour chaque corrélation. L'analyse a révélé de plus que le nombre de grains par épi a une corrélation significative et négative avec la floraison femelle ($r = -0,6$).

Tableau VI: Matrice de corrélation des différents paramètres

Variables	DGer	TGer	NPD	Diam	HI	Haut	MTE	NER	NESG	LE	DE	ME	NGE	M100G	FIM	FIF	EFl
DGer	1																
TGer	-0,82	1															
NPD	-0,80	0,97	1														
Diam	0,44	-0,65	-0,60	1													
HI	-0,42	0,32	0,39	0,32	1												
Haut	0,02	0,07	0,06	0,44	0,74	1											
MTE	-0,27	0,37	0,42	-0,01	0,51	0,39	1										
NER	-0,15	0,40	0,51	0,02	0,31	0,29	0,66	1									
NESG	0,19	0,13	0,19	-0,18	0,00	0,19	-0,02	0,29	1								
LE	-0,24	0,21	0,28	0,15	0,67	0,37	0,79	0,31	-0,11	1							
DE	-0,21	0,18	0,19	0,04	0,27	0,14	0,76	0,33	0,13	0,6	1						
ME	-0,36	0,31	0,32	0,04	0,54	0,36	0,91	0,39	-0,06	0,8	0,9	1					
NGE	-0,43	0,20	0,19	0,00	0,50	0,12	0,65	0,07	-0,31	0,78	0,69	0,84	1				
M100G	0,04	0,22	0,25	0,19	0,19	0,41	0,51	0,54	0,31	0,27	0,48	0,40	-0,1	1			
FIM	0,68	-0,60	-0,60	0,37	-0,34	-0,03	-0,68	-0,30	0,22	-0,5	-0,6	-0,7	-0,7	-0,20	1		
FIF	0,61	-0,59	-0,61	0,32	-0,31	-0,02	-0,69	-0,29	0,18	-0,6	-0,6	-0,7	-0,6	-0,38	0,87	1	
EFl	0,20	-0,08	-0,04	0,12	-0,08	-0,02	-0,05	-0,04	0,10	0,12	-0,1	-0,1	-0,2	0,32	0,35	-0,1	1

NB : - Les chiffres affectés de la couleur rouge montrent l'existence d'une corrélation significative positive entre les variables concernées ;

- Les chiffres affectés de la couleur noir en gras indiquent l'existence d'une corrélation significative négative entre les variables concernées

4.1.1.5 Structuration de la diversité par analyse en composantes principales

Le tableau VII expose les valeurs propres ainsi que le pourcentage de variance de chaque axe. Au total, six (06) axes ont été représentés avec une variance totale exprimée de 95,539. Or, selon le critère de Kaiser, tout axe dont la valeur propre est supérieure à 1 doit être retenu pour l'analyse. Cependant, les trois (03) premiers axes sur les quatre obéissant à cette règle ont été retenus pour décrire la variabilité totale des lignées. En effet, ces axes permettent d'expliquer 76 % de la variance totale dont 43,31 % pour le premier ; 20,78 % pour le deuxième et 11,91 % pour le troisième.

Tableau VII : Valeurs propres et pourcentage de variation exprimée par les axes de l'ACP

Composantes principales	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 5	Axe 6
Valeurs propres	6,063	2,909	1,668	1,482	0,855	0,398
% Variance totale	43,309	20,779	11,913	10,588	6,108	2,842
% Variance totale accumulée	43,309	64,089	76,002	86,589	92,697	95,539

4.1.1.6 Corrélation entre les axes d'étude et les paramètres

L'examen des corrélations des variables avec les axes (Tableau VIII) montre que les paramètres de l'épi ainsi que le nombre de plante après démariage, le taux de germination et la hauteur d'insertion de l'épi (HI) ont positivement été corrélés à l'axe 1 tandis que les paramètres phénologiques lui ont été négativement corrélés. Tous ces paramètres ont donc activement concouru à l'élaboration de l'axe 1. Les paramètres de croissance (diamètre au collet et hauteur des plantes) ont positivement été corrélés à l'axe 2 tandis que la masse de 100 graines et l'écart entre les délais de floraison mâle et femelle ont défini le troisième axe.

Par ailleurs, la projection des variables dans le plan factoriel (Figure 5) a confirmé les corrélations précédemment établies. En effet, la corrélation entre les différents paramètres a ainsi été appréciée sur le cercle par l'angle entre les différents vecteurs représentatifs des variables. L'intensité du lien entre deux variables est inversement proportionnelle à la mesure de l'angle formé par les deux vecteurs représentatifs.

Tableau VIII : Corrélation entre les différents paramètres et les axes

Paramètres	Axe 1		Axe 2		Axe 3	
	Corrélation	p-value	Corrélation	p-value	Corrélation	p-value
ME	0,87	9,51E-06				
LE	0,77	5,54E-04				
NGE	0,75	8,94E-04				
DE	0,72	1,67E-03				
NPD	0,7	2,49E-03				
Tger	0,69	3,25E-03				
HI	0,61	1,17E-02				
Dger	-0,71	2,14E-03				
FIF	-0,87	1,08E-05				
FIM	-0,88	7,13E-06				
Diam			0,85	2,92E-05		
Haut			0,59	1,65E-02		
M100G					0,63	9,16E-03
Efi					0,53	3,41E-02

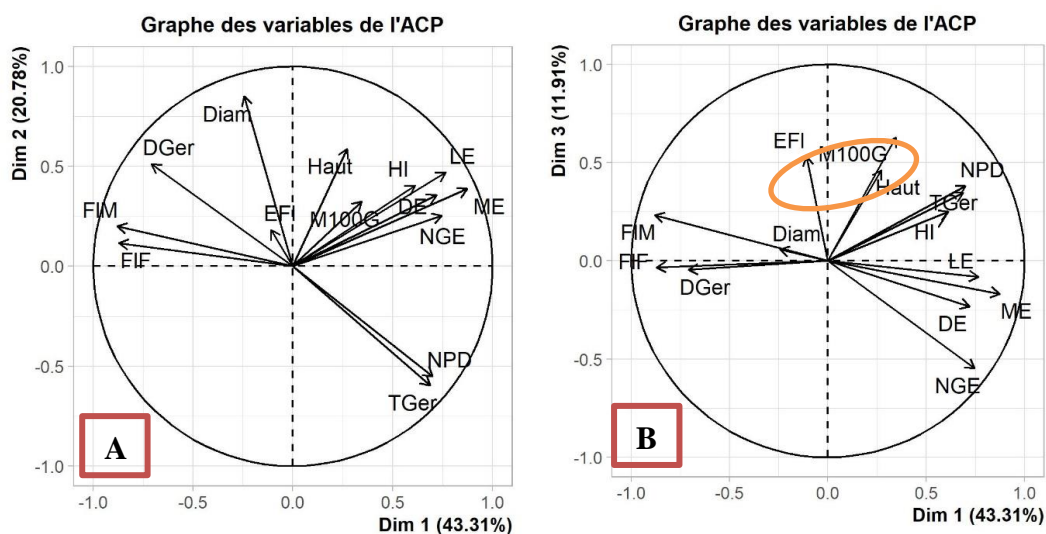


Figure 5 : Cercles de projection des variables

A : Projections des variables sur les axes 1 et 2 ; B : Projection des variables sur les axes 1 et 3

4.1.1.7 Projection des individus dans le plan factoriel

La figure 9, présente la projection des individus (lignées) sur le plan formé par les axes 1 et 2 en fonction de leur contribution. L'examen de la figure 6 permet de distinguer 3 groupes d'individus statistiquement distincts dont la contribution relative à la formation des axes est la plus importante. Le groupe 1 (G1) composé des lignées L61 et L77A, le groupe 2 (G2) constitué des L8, L32, L51, L63, L71, L72, L75, L77B, L80, L91 et L99 tandis que le groupe 3 (G3) regroupe les lignées L46 et L95 ainsi que le témoin T01 (EV8728).

Par ailleurs, le test d'homogénéité (Tableau IX), décrit les variables significativement associées à chaque groupe. Ainsi, le groupe 1 est caractérisé par des lignées avec des plantes de gros diamètre au collet ayant germé et fleuri tardivement (valeurs du test positive). Ces lignées sont aussi caractérisées leur faible taux de germination comptant par conséquent le nombre de plantes bas après démariage (valeurs du test négative). Le groupe 2 est singularisé par des lignées avec des plantes à faibles dimensions (faible diamètre au collet et faible hauteur) produisant de petits épis (valeurs du test négative). Le groupe 3 renferme des plantes avec de gros et longs épis portant des nombres élevés de graines (valeurs du test positive). Ce groupe est surtout caractérisé par la précocité à la floraison des individus le composant (valeurs du test positive).

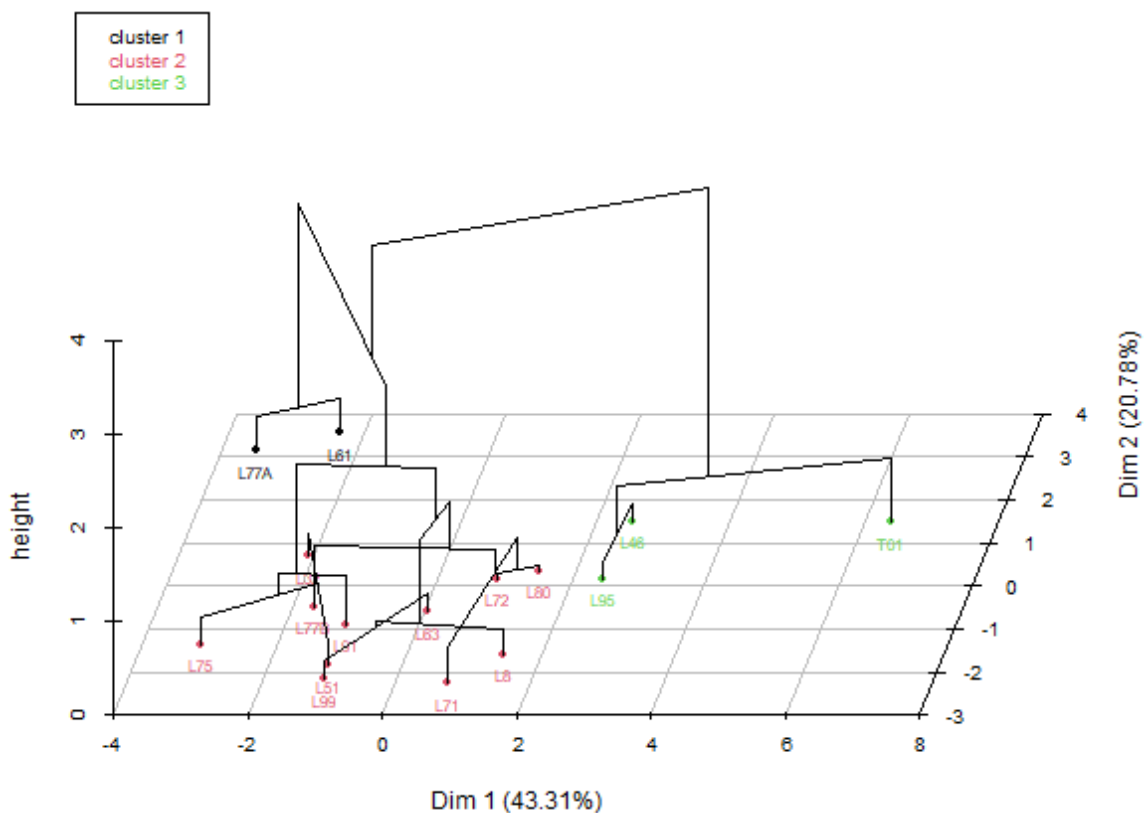


Figure 6 : Arbre hiérarchique des lignées sur le plan factoriel

Tableau IIX: Description des groupes par les variables mesurées

Groupe	Variabes	Valeur test	Moyenne Groupe	Moyenne Totale	p-Value
Groupe 1	Diam	+3,36	30,29±0,03	22,63±3,33	0,0007
	DGer	+2,15	6,0±0,17	5,24±0,5	0,031
	FIM	+2,03	61,12±1,47	57,86±2,3	0,04
	NPD	-2,88	14,5±1,0	20,32±2,96	0,004
	TGer	-2,98	46,3±2,31	76,71±14,94	0,003
Groupe 2	Haut	-2,14	181,05±12,74	186,03±13,33	0,032
	DE	-2,3	36,16±2,25	37,54±3,46	0,022
	ME	-2,3	50,85±12,07	60,53±24,21	0,022
	Diam	-2,41	21,23±1,78	22,63±3,34	0,016
Groupe 3	ME	+3,24	102,81±19,71	60,53±24,21	0,001
	DE	+3,15	43,40±1,62	37,54±3,46	0,002
	NGE	+2,36	401,61±80,63	286,61±90,78	0,018
	LE	+2,13	13,81±1,19	11,97±1,61	0,033
	FIF	-2,34	53,6±1,32	56,41±2,23	0,019
	FIM	-2,74	54,4±1,44	57,86±2,35	0,006

4.1.1.8 Classification hiérarchique ascendante des lignées étudiées

Une classification hiérarchique ascendante (CHA) des lignées étudiées issues de l'analyse en composantes principales a été effectuée. Le dendrogramme ainsi généré avec la méthode d'agrégation de Ward, au point du niveau de troncature 2,2 a confirmé la structuration en trois (03) groupes statistiquement distincts de la diversité des lignées étudiées précédemment révélée par l'ACP. Le dendrogramme issu de la CHA des lignées est présenté en annexe 6.

4.1.2 Analyse moléculaire des douze lignées étudiées

4.1.2.1 Quantité et qualité des ADN extraits

Les quantités des extraits ont varié de 132,1 à 2770,9 ng/μL avec une moyenne de 1993,353 ng/μL. Quant à la qualité (DO 260/280), elle a varié de 0,56 à 2,3 avec une moyenne de 1,540. L'examen des solutions d'ADN sur agarose a montré la présence d'ADN avec des profils relativement bons.

4.1.2.2 Analyse des profils ISSR et niveaux de polymorphismes

Des amplifications ont été observées chez toutes les lignées de maïs étudiées (Figure 7). La lecture des profils d'amplifications obtenus a permis de mettre en évidence 89 loci au total (Tableau X). Parmi ces loci, 85 se sont avérés polymorphes, soit un taux de polymorphisme de 95,51 %. Le nombre de loci révélés par amorce variaient de 7 (ISSR N6) à 14 (ISSR 09 et ISSR 857). Le nombre de loci polymorphes par amorce variaient également de 5 (ISSR DAT) à 14 (ISSR 857). Le taux de polymorphisme par amorce se rangeaient de 83,33 à 100%. Sur les 9 amorces utilisées, 6 amorces (ISSR 857, ISSR N7, ISSR 807, ISSR 887, ISSR 17899A, et ISSR

17899B) ont eu le taux de polymorphisme le plus élevés (100%). L'amorce ISSR DAT a fourni le plus petit taux de polymorphisme (83,33%).

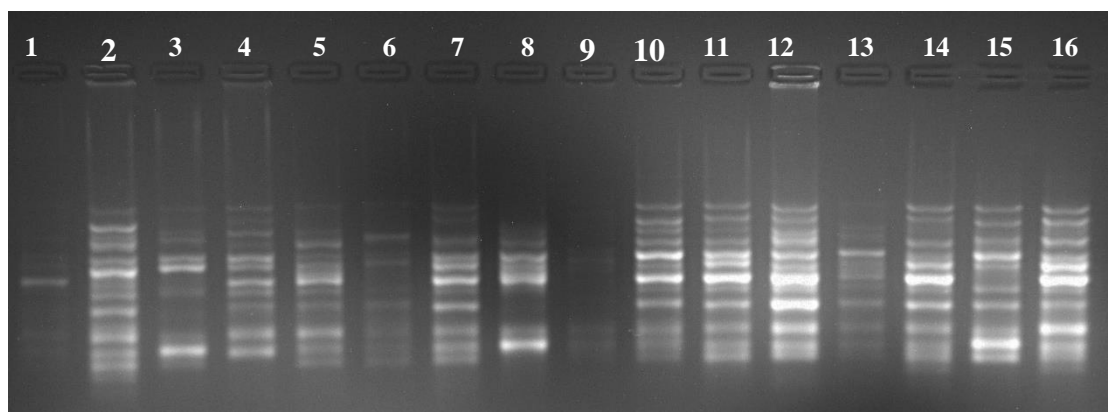


Figure 7 : Exemple de profil électrophorétique obtenu chez les 15 lignées de maïs étudiées (ISSR 09)

1) Témoin T0 ; 2) L32, 3) L91 ; 4) L77a ; 5) L75 ; 6) L51 ; 7) L71 ; 8) L8 ; 9) L95 ; 10) L61 ; 11) L63 ; 12) L99 ; 13) L77b ; 14) L80 ; 15) L72 ; 16) L46.

Tableau X : Nombre de loci et pourcentage de polymorphisme générés par les amorces ISSR

Amorces ISSR	Nb total de loci révélés	Nb de loci Polymorphes	Taux de loci polymorphes (%)
ISSR 09	14	12	85,717
ISSR 857	14	14	100
ISSR N7	8	8	100
ISSR 807	12	12	100
ISSR 887	10	10	100
ISSR 17899A	10	10	100
ISSR 17899B	8	8	100
ISSR DAT	6	5	83,33
ISSR N6	7	6	85,71
Total	89	85	95,51

4.1.2.3 Analyse de la diversité génétique des lignées étudiées à travers les statistiques descriptives

Les valeurs des paramètres de diversité génétique ont été déterminées par le logiciel GenAlex à partir des données ISSR et sont présentées dans le Tableau XI. Les valeurs suivantes ont été obtenues $N_a= 1,978$; $N_e=1,600$; $I=0,521$ et $H_e =0,349$).

Tableau XI : Valeurs des paramètres de diversité génétique estimés par le logiciel GenAlex

	N_a	N_e	I	H_e
Valeur	1,978	1,600	0,521	0,349
Erreur type	0,016	0,033	0,018	0,015

N_a : nombre d'allèles observés ; N_e : nombre effectif d'allèles ; I : index d'information de Shannon ; H_e : diversité génétique de Nei.

4.1.2.4 Relations génétiques entre les lignées de maïs étudiées

Les relations génétiques entre les lignées de maïs étudiées ont été mises en évidence par une analyse en coordonnées principales (PCoA). Les première et deuxième coordonnées principales ont représenté 47,25 % (respectivement 32,42 % et 14,83 %) de la variation totale. Le résultat de la PCoA est présenté dans la figure 8. Globalement, les lignées ont présenté une distribution assez dispersée sur le plan de la PCoA. Certaines lignées apparaissent très proches (comme par exemple L63 et L8) tandis que d'autres par contre étaient éloignées (par exemple L75 et L72). Il est à noter également que le témoin T0 était assez démarqué. Du regroupement observé sur le plan de la PCoA, les lignées étudiées se différencient génétiquement en 8 groupes. Le groupe I contient uniquement le témoin T0 ; le groupe II la lignée L75 ; le groupe III la lignée L95 ; le groupe IV les lignées L91, L51 et L77b ; le groupe V les lignées L80 et L77a ; le groupe VI les lignées L61, L71 et L46 ; le groupe VII les lignées L63 et L8 ; le groupe VIII les lignées L99, L32 et L72 ; et enfin le groupe VIII les lignées L99, L32 et L72.

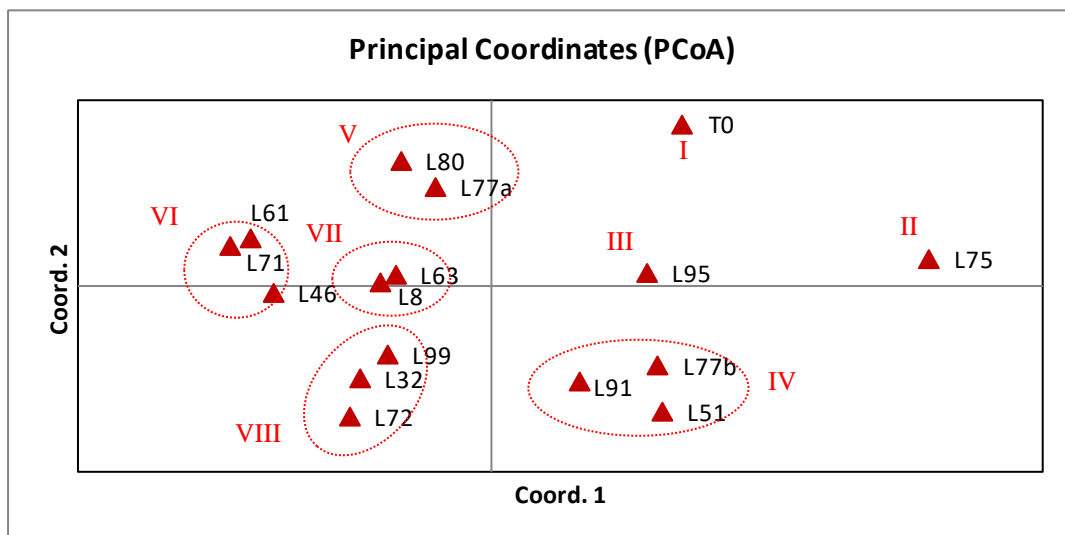


Figure 8 : Analyse en coordonnées principales basée sur les données ISSR

Les premières et deuxièmes coordonnées représentent 32,42 % et 14,83 % de la variation totale, respectivement. Pour visualiser autrement les relations génétiques entre les lignées de maïs et recueillir des informations complémentaires à même d'affiner les regroupements des lignées, une matrice de similarité génétique a été élaborée (Tableau XII) en déterminant, pour chaque paire de lignées de maïs, les coefficients de similarité de Nei et Li (appelé aussi coefficient de similarité de Dice). La détermination de chaque coefficient a été réalisée par le logiciel FreeTree qui s'est basée sur le nombre de loci différents entre chaque paire de lignées. Fondamentalement, la valeur des coefficients de Nei et Li entre deux cultivars est une indication de leur similitude génétique (et par ricochet de leur dissemblance ou éloignement génétique). Une paire de cultivars avec une valeur plus élevée est plus proche génétiquement qu'une paire

avec une valeur inférieure. Les coefficients de similarité de Nei et Li obtenus, variaient de 0,290 à 0,846 avec une moyenne de 0,629. La plus faible similitude génétique (0,290), autrement dit la plus forte dissemblance génétique a été notée entre les lignées L32 et L75. La plus grande similitude génétique (ou plus faible dissemblance génétique) a été observée entre les lignées L61 et L71 (coefficient de similarité de 0,846). Pour bien visualiser les différents groupes de similitude, un arbre non enraciné a été construit par les programmes FreeTree et TreeView 5.2 sur la base des coefficients de similarité de Nei et Li et de la méthode d'agrégation UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Cet arbre (Figure 9) a regroupé selon leur niveau de similitude les 15 lignées de maïs et le témoin T0 en 7 groupes. Le groupe I comprend le témoin T0 et les lignées L75 et L95 ; le groupe II : les lignées L91, L51 et L77B ; le groupe III : les lignées L99 et L32 ; le groupe IV : les lignées L177A et L63 ; le groupe V : les lignées L72 et L46 ; le groupe VI : les lignées L71, L61, L80, et L46 ; et enfin le groupe VII contient la lignée L8.

Tableau XII : Matrice de distance génétique présentant les coefficients de similarité de Nei et Li (Dice) entre les lignées de maïs sur base des données ISSR

	T0	L32	L91	L77a	L75	L51	L71	L8	L95	L61	L63	L99	L77b	L80	L72	L46
T0																
L32	0,518															
L91	0,575	0,629														
L77a	0,702	0,583	0,673													
L75	0,567	0,290	0,469	0,462												
L51	0,532	0,545	0,675	0,639	0,476											
L71	0,629	0,702	0,697	0,748	0,404	0,611										
L8	0,652	0,673	0,667	0,692	0,356	0,609	0,780									
L95	0,609	0,538	0,658	0,529	0,302	0,556	0,633	0,585								
L61	0,594	0,691	0,686	0,790	0,400	0,596	0,846	0,754	0,596							
L63	0,612	0,723	0,629	0,757	0,348	0,636	0,754	0,673	0,564	0,727						
L99	0,568	0,784	0,761	0,698	0,444	0,615	0,786	0,713	0,568	0,761	0,680					
L77b	0,471	0,545	0,639	0,581	0,385	0,648	0,598	0,568	0,623	0,602	0,571	0,600				
L80	0,614	0,660	0,609	0,698	0,389	0,549	0,786	0,653	0,617	0,796	0,680	0,720	0,550			
L72	0,547	0,692	0,747	0,743	0,430	0,714	0,790	0,741	0,545	0,783	0,712	0,766	0,598	0,636		
L46	0,626	0,722	0,602	0,735	0,386	0,647	0,813	0,732	0,565	0,774	0,741	0,757	0,571	0,685	0,797	

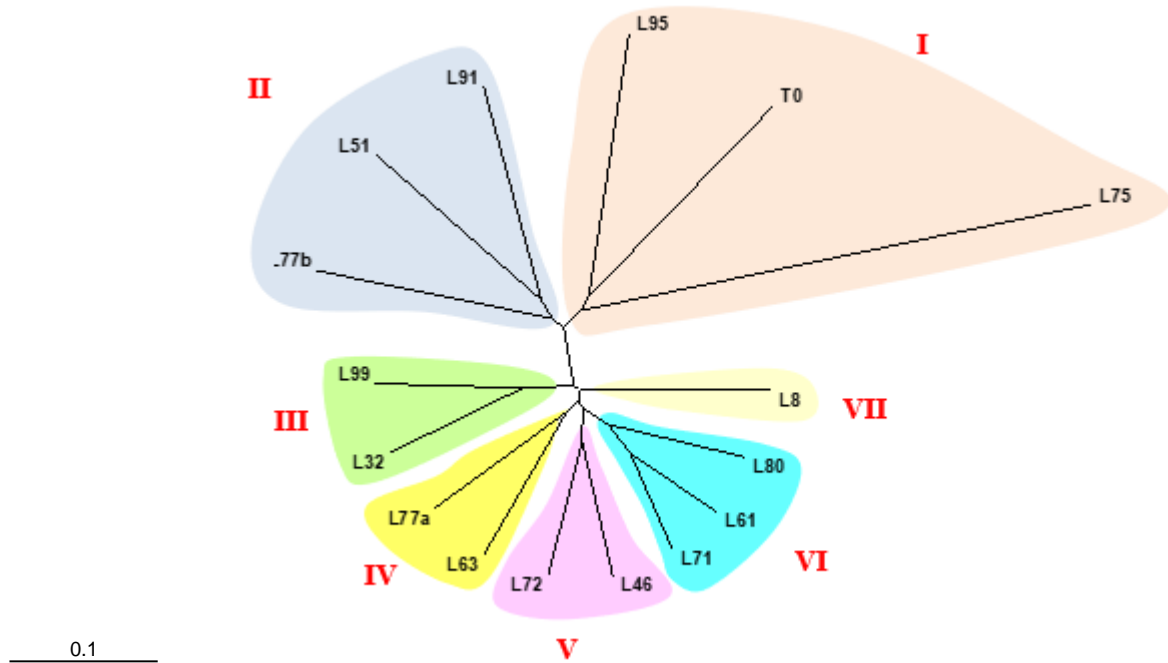


Figure 9 : Arbre non enraciné construit par les programmes FreeTree et TreeView 5.2 sur la base des coefficients de similarité de Nei et Li et de la méthode d'agrégation UPGMA, et montrant les relations au sein des lignées de maïs étudiés

4.2 DISCUSSION

La connaissance de la variabilité génétique est un outil essentiel pour la sélection variétale. La mise en évidence de cette variabilité génétique pour certains caractères phénotypiques ou morphologiques constitue la première étape indispensable dans la description des ressources génétiques (Radhouane, 2004). En effet, tout programme d'amélioration s'appuie nécessairement sur la variabilité morphologique (Smith *et al.*, 1991). Elle permet de mettre à la disposition des améliorateurs des informations capitales, nécessaires pour leurs travaux (Fraleigh, 1987) d'amélioration variétale. C'est dans cette optique qu'une étude agromorphologique de 15 lignées de maïs développées à Daloa par mutation induite a été réalisée. Les résultats ont révélé des différences hautement significatives non seulement entre les lignées choisies mais et surtout entre celle-ci (lignées) et le témoin pour l'ensemble des paramètres considérés. Des résultats similaires ont été obtenus par Attiey (1991) en analysant 200 accessions de maïs cultivées au Centre de la Côte d'Ivoire. Cette diversité morphologique ainsi exprimée montre que chez les variétés de maïs cultivées, la différenciation morphologique est souvent basée sur les traits agronomiques (Sanou, 1996). Selon Louette (1994), les caractères végétatifs (hauteur de la plante et hauteur d'insertion de l'épi), la longueur du cycle et certains paramètres de l'épi comme le diamètre sont les principaux critères utilisés par les paysans de Cuzalapa (Mexique) pour identifier les variétés de maïs.

Par ailleurs, cette diversité pourrait s'expliquer par l'irradiation appliquée aux semences de la variété EV8728 (considérée comme témoin dans la présente étude) afin d'obtenir ces lignées. En effet, l'exposition des semences au rayonnement gamma aura engendré des modifications profondes dans le génome de celles-ci qui seraient à l'origine des différents caractères observés. Feuk *et al.* (2006) ont, au cours de leurs travaux montré que cette pratique entraîne des modifications de manière aléatoire à plusieurs niveaux du génome qui seraient à l'origine d'une multitude de lignées différentes les unes des autres à divers niveaux.

Les paramètres de germination (délai et taux de germination) constituent des critères importants permettant d'évaluer la capacité germinative de chaque lignée. En effet, le délai de germination était compris entre 4 et 6 jours pour l'ensemble des lignées étudiées. Ces résultats sont légèrement en-deçà de ceux obtenus par Hubert (1978). Cet auteur a obtenu un intervalle variant de 6 à 10 jours pour les variétés de maïs étudiées. De plus, les lignées L61 et L77A ont présenté les taux de germination les plus faibles (< 50%) qui sont respectivement de 43,98 et 48,61 % tandis que le plus grand taux (97,22 %) a été enregistré chez la lignée L71. Ces résultats supposent que l'ensemble des lignées étudiées regorge une bonne capacité de germination. Cependant, les divers taux de germination obtenus au cours de cette étude pourraient

s'expliquer par les facteurs influençant la germination d'une graine. Ainsi, selon Elisabeth (1979), les conditions de germination d'une graine sont classées en deux groupes. Elle est non seulement conditionnée par les facteurs du milieu (température, humidité, lumière), mais aussi par les facteurs intrinsèques (la réserve nutritionnelle des graines) à la graine et à la présence d'une dormance ou d'une inhibition tégumentaire. Par ailleurs, le taux de germination de la lignée L61 a parallèlement engendré un plus faible nombre de plantes après démariage (13,5). Cela pourrait non seulement être dû aux caractéristiques de la lignée mais aussi et surtout à l'état des semences. Bonhomme (1981) a déclaré que les techniques et les conditions de culture agissent sur la levée et donc sur le nombre de plants. Toutefois, le nombre de plantes après démariage était plus élevé chez les lignées L72, L80, L95, L71 et le témoin. Egli *et al.* (1979) ont suggéré qu'entre la densité au semis et le nombre de plantes, il faut considérer une perte moyenne de 5 à 8 % de pieds, dû d'une part aux graines non germés mais aussi aux attaques parasitaires et des rongeurs.

De façon générale, le cycle végétatif des lignées évaluées à travers des délais de floraison mâle et femelle a considérablement varié. De 51,77 (T0) et 60,48 jours (L75) pour la floraison femelle et de 52,3 (T0) et 62,5 jours (L77A) pour la floraison mâle. Ainsi, les lignées évaluées ont globalement été plus tardives que le témoin. Par ailleurs, l'écart de temps entre les deux floraisons a relativement été faible car inférieur à 4 jours. Ce qui dénote de la synchronisation des floraisons mâle et femelle de ces lignées. Ce caractère est essentiellement très intéressant non seulement pour la multiplication de ces lignées surtout par la technique d'auto-croisement mais aussi et surtout pour les opérations d'hybridation. Nos résultats sont conformes à ceux de Fleury (2010), qui soutient que l'intervalle de temps requis entre la floraison mâle et femelle chez le maïs est inférieur à cinq (05) jours. Ce qui laisse entrevoir que les modifications provoquées par la mutation ont eu un effet hautement significatif sur la durée du cycle. En effet, la stratégie la plus utilisée par les sélectionneurs pour identifier des variétés plus tolérantes au stress est l'esquive, par raccourcissement de la durée du cycle (Sayre *et al.*, 1995). Selon Cobbinah *et al.* (2011) la précocité des variétés de niébé est une caractéristique agronomique importante qui pourrait contribuer à faire face aux phénomènes des changements climatiques et particulièrement à la sécheresse. De plus, une forte corrélation positive a été établie entre ces deux paramètres. Ces résultats concordent avec ceux de Moussa *et al.* (2018) qui ont montré que les durées des cycles semis-floraison mâle et femelle sont corrélées positivement et de manière significative.

Le niveau d'insertion de l'épi et la hauteur totale de plante, sont d'une importance capitale pour la caractérisation morphologique de la plante, la sécurisation ou optimisation de la récolte et

surtout pour la sélection d'une variété de maïs. Les résultats ont montré des différences hautement significatives entre les lignées étudiées. En effet, les plantes de la lignée L61 ont été les plus grandes. Cependant, les plantes du témoin ont globalement été plus grandes avec des épis insérés plus haut que celles de toutes les lignées considérées. Ces résultats expriment l'effet dépressif de l'irradiation sur ces lignées. Nos résultats sont en conformité avec ceux de Singh & Balyan (2009) qui ont étudié des mutants de génération 1 à 3 de blé obtenu par irradiation gamma aux doses 150 et 200 Gray. Ils ont trouvé des mutants nains avec d'autres traits améliorés. Cependant, ce caractère serait bénéfique très souhaitable au cours des différents travaux de sélection car ces mutants s'adaptent mieux aux régions à grand vent afin de limiter les dégâts causés par la verse. Cette observation est soutenue par les travaux de Useni *et al* (2012). Selon ces auteurs, la hauteur de la plante est très positivement corrélée à sa sensibilité à la verse.

La masse des épis a révélé une forte diversité au sein des lignées étudiées. Cependant, les masses les plus élevées ont été enregistrées chez le témoin (128,18 g) tandis que la plus faible (31,11 g) est observé chez la lignée L77B. De plus, le témoin a présenté des épis plus longs et plus gros avec un nombre de grains élevé que les lignées. Ces résultats sont le signe que l'irradiation aurait un effet significatif sur les dimensions de l'épi ainsi que son remplissage. Ces résultats sont en accord avec ceux de Irfaq & Nawab (2003) qui ont également observé une diminution du nombre de grains chez le blé sous l'effet des radiations. Aussi ces différentes masses obtenues au cours de cette étude sont nettement inférieures à ceux rapportés par ITCF (1989) comprises entre 280 g et 330 g.

Une répartition des lignées étudiées a été réalisée par projection dans le plan 1-2 de l'ACP. Cette projection montre une distribution des différentes lignées étudiées en fonction des paramètres choisis. Cette dispersion visiblement importante au niveau de l'ACP, atteste de l'existence d'une forte diversité entre ces lignées. Laquelle diversité est manifestée par la présence de trois grands groupes phénotypiques représentant au total plus de 64 % de la variabilité totale, qui représenteraient d'importants réservoirs de caractères intéressants pour les travaux d'amélioration à venir. Nos résultats sont similaires à ceux de Kouakou (2019) qui a obtenu trois grands groupes phénotypiques en caractérisant les mutants de maïs aux moyens de descripteurs agro-morphologiques. Cette structuration de la diversité morphologique montre que chez ces lignées de maïs développées, des traits agronomiques, comme l'indique (Sanou, 1996) sont à prendre généralement en considération pour la différenciation morphologique. Quant à la CHA, elle a permis de mettre en exergue les trois groupes précédemment révélés par l'ACP. Cela atteste de la pertinence des résultats de cette analyse. L'importance de ses

caractères quantitatifs dans la structuration de la diversité des populations de maïs a été mise en évidence par plusieurs auteurs dont (Moreno *et al.* 2006). Ainsi, bien que soumis à l'influence des conditions environnementales, ils ne doivent pas être négligés par les conservateurs dans l'étude de la diversité car ils sont essentiels en milieu paysan où ils influencent grandement les critères de sélection phénotypique.

Au niveau de l'analyse moléculaire, toutes les amorces ISSR utilisées ont donné avec succès des amplifications chez tous les cultivars de maïs étudiés. Ce succès traduit la réussite des extractions d'ADN et montre que la quantité et la qualité obtenue de chaque extrait étaient suffisantes pour permettre des amplifications. Ce résultat traduit aussi l'efficacité du protocole utilisé pour la PCR et la révélation des amplicons. Les 9 amorces utilisées ont révélé un assez grand nombre de loci (89 loci). Cela confirme la capacité des marqueurs ISSR à amplifier de nombreux fragments d'ADN par individu (Quian *et al.*, 2001). Sur les 89 loci révélés, 85 se sont montrés polymorphes soit un taux de polymorphisme de 95,51 %. Ce haut niveau de polymorphisme montre que les amorces utilisées sont très informatives en termes de mise en évidence du polymorphisme chez le maïs. Ce résultat traduit l'efficacité des marqueurs ISSR pour la caractérisation de différents génotypes de maïs. Selon Mahmoud & El-Mansy (2012), l'efficacité de ce marqueur dominant de type microsatellite est due à sa capacité à révéler les variations des nombreuses régions inter-microsatellites dispersées dans les génomes. Cette classe de marqueurs moléculaires est basée sur des répétitions inter-tandem de courtes séquences d'ADN (Shrivastava *et al.* 2018). Ces régions se trouvent entre les nombreuses répétitions microsatellites des génomes et offrent un grand potentiel pour déterminer les différences intra et inter-génomiques (Husnudin *et al.* 2019).

La valeur des paramètres de diversité génétique au sein des lignées étudiées ($N_a= 1,978$; $N_e=1,600$; $I=0,521$ et $H_e=0,349$), notamment la diversité génétique de Nei (H_e) et l'indice de diversité de Shannon (I) sont assez fortes et traduisent la présence d'une diversité assez importante au sein des lignées. Ce résultat confirme la grande diversité observée lors des observations agro-morphologiques. Cela signifie que l'irradiation au rayonnement gamma a effectivement réussi et a permis de générer des mutations responsables de la diversité observée. Selon Wang *et al.* (2017) le traitement par rayons gamma est un moyen efficace d'induire des mutations chez les plantes et les mutants sont détectable avec succès par les analyses ISSR. La diversité au sein des lignées a été précisée par la mise en évidence des différences génétiques entre lignées par l'analyse en coordonnées principales (PCoA) et la détermination des coefficients de similarité. L'analyse en coordonnées principales (PCoA) basée sur les données

ISSR a montré une large dispersion des lignées sur le plan factoriel confirmant la grande diversité présente au sein des lignées et mettant en exergue les différences entre les lignées. Un résultat similaire a été observé avec l'arbre non enraciné construit avec les coefficients de similarité. Les résultats de ces deux analyses indiquent clairement que les lignées étudiées sont génétiquement différentes les unes des autres même si quelques-unes parmi elles semblent être assez proches génétiquement. Ce résultat montre que le travail de sélection entrepris depuis l'irradiation jusqu'à cette étape de génération M6 a effectivement permis d'isoler des lignées génétiquement différentes. Le regroupement obtenu par la PCoA et les coefficients de similarité montre une nette différenciation génétique du témoin EV8728 duquel sont issues les lignées étudiées. Cela suggère un profond réaménagement génomique opéré après l'irradiation d'EV8728 pour donner les lignées étudiées. En effet, l'irradiation est même de produire d'important remaniements génétiques résultant de substitutions, de délétions, d'insertions d'une seule base, d'inversions, de duplications etc (Riviello-Flores *et al.*, 2022). Ainsi Li *et al.* (2019) en caractérisant les mutations induites chez *Oryza sativa* L. Avec les lignées mutantes de la génération M5 par reséquençage du génome entier et l'analyse bio-informatique, ont détecté 57 substitutions de base unique, 18 délétions et 6 insertions dans chaque mutant irradié. La PCoA révèle et l'arbre non enraciné ont montré une structuration de la diversité génétique des lignées étudiées différente de celle des données morphologiques. Cette absence de corrélation entre marqueurs moléculaires et caractères agro-morphologiques a été aussi rapportée par Hutardo *et al.* (2012). Les deux types de données (diversité moléculaire et phénotypique) ne doivent pas cependant être vus comme contradictoire mais plutôt comme complémentaires (Hutardo *et al.*, 2012). La différence de regroupement observée signifie qu'il faille utiliser des descripteurs morphologiques plus discriminants pour mieux caractériser les lignées. En tout état de cause, les différents groupes obtenus ici par les marqueurs moléculaires révèlent une forte différenciation génétique entre les lignées mutantes. Cela suggère la présence au sein de ces lignées d'un nombre important de gènes nouveaux (mutés) différents ; ce qui est fort intéressant pour l'augmentation de la diversité génétique du maïs et partant pour l'amélioration génétique de cette céréale importante.

CONCLUSION

Ce travail a été initié dans le but d'étudier la diversité génétique de 15 lignées de maïs développées par la technique de la mutation induite au rayonnement gamma. Des acquis majeurs ont été enregistrés. En effet, les descripteurs morphologiques ont révélé une forte diversité phénotypique importante au sein de la population de maïs étudiée. Cette diversité a été structurée en trois groupes par l'analyse en composantes principales (ACP) et confirmée par la classification ascendante hiérarchique en trois groupes distincts.

Parallèlement, l'analyse moléculaire réalisée sur base des marqueurs ISSR utilisés pour ont donné un très haut niveau de polymorphisme indiquant l'efficacité de ce type de marqueur pour l'exploration de la diversité présente au sein des lignées étudiées. Les résultats de cette analyse ont donné des écarts de similarité assez importants traduisant l'existence d'une grande diversité génétique non seulement entre les lignées choisies mais aussi et surtout entre celles-ci et le témoin. Cependant, une absence de corrélation entre marqueurs moléculaires et phénotypiques a été révélée. Ce qui suggère un affinement des descripteurs morphologiques. Par ailleurs, il serait intéressant :

- d'utiliser encore d'autres paramètres morphologiques plus pertinents afin de mieux distinguer ces lignées ;
- réaliser cette étude sur toutes les lignées développées afin d'évaluer la diversité au sein de celles-ci ;
- réaliser des tests vis-à-vis de divers stress (hydrique, salin, ...) de toutes les lignées développées ;
- réaliser des tests multi-locaux pour évaluer les potentialités en conditions réelles de chaque lignée afin de prévoir des pistes d'hybridation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abendroth L., Elmore W., Boyer R.J.M. & Marlay K.S. (2011). Corn Growth and Development. PMR 1009. Iowa State University Extension, Ames, Iowa. And consumption: Maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312: 105–112.
- AGRIDEA (2007). Fiche technique du maïs, 7 p.
- AIEA-Agence Internationale de l'Energie Atomique en collaboration avec l'Organisation des Nations Unies (FAO), (2020). Manuel d'Amélioration des Plantes par Mutation, Édité par Madeleine Spencer-Lopes, Brian P. Forster et Ljupcho Jankuloski, Vienne, Autriche, 225 p.
- Akanvou L., Akanvou R. & Toto K. (2006). Effet des variétés de maïs et de légumineuses dans la lutte contre *Striga hermontica* en zone de savane en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* 18(1) :13-21. <https://www.vulgarisation.org>, page consultée le 28/07/2022.
- Akanvou L., Akanvou R., Koffi C. & Saraka D. (2009). Evaluation agronomique des variétés de maïs riches en protéines de qualité en station et en milieu paysan dans la zone forestière de Côte D'ivoire. Mémoire, agronomie, Centre National de Recherche Agronomique, (Abidjan, Côte d'Ivoire), 317 p.
- Ali C. (2007). La fertilisation minérale des cultures : les éléments fertilisants majeurs (Azote, Potassium, Phosphore). <http://www.vulgarisation.org>. Consulté le 15/02/2022.
- Amani K. (2018). Adaptation de la riziculture pluviale à la variabilité et au Changement climatiques : apport de la modélisation dans les zones de San-Pédro, Daloa, Dimbokro et Bouaké (Côte d'Ivoire). Thèse : Géosciences et Environnement, Hydrologie, Agroclimatologie. Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'ivoire), 197 p.
- Astier S., Albouy J., Maury Y. & Lecoq H. (2001). Principes de virologie végétale : Génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. L'Institut national de la recherche agronomique, *Editions paris* (France), 488 p.
- Attiey K. (1991). Contribution à l'évaluation de la variété des cultivars traditionnels de maïs du Centre de la Côte d'Ivoire. In: État d'avancement de la recherche de la production de cultures vivrières en Afrique semi-aride, *Eds by Menyonga JM, Bezuneh T, Yayock JY, Soumana I*, pp 213-223.
- Ayolié K., Kouassi N.J., Angaman D.M., Kouadio A.B., Soro D., Kouakou T.H. & Kouadio Y.J. (2016). Effect of water stress on morphological, physiological and biochemical parameters of three varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Cultivated

- in Côte d'Ivoire. *International Journal of Scientific Engineering and Applied Science*, 2 (11): 148-161.
- Baubricourt A.G. & Hedin L. (1988). Le maïs et les industries, éd A.M. *Métailié*, 97 p.
- Bazoumana K., Ouola T., Déhou D. & Prosper N.Z. (2009). Effets des amendements locaux sur les rendements, les indices de nutrition et les bilans culturaux dans un système de rotation coton/maïs dans l'ouest du Burkina Faso. *Biotechnologie Agronomie Société Environnement*, 13(1) : 103-111.
- Bellon M.R. & Berthaud J. (2003). Participatory landrace selection for on farm conservation: an example from the Central Valleys of Oaxaca, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 401-416.
- Blassonny R. (2013). Ivoire grain, <http://www.ivoireregion.net/index.php/lanouvelle/726-germinationle-mais-veut-damer-le-pion-au-coton> ; page consultée le 25/08/2022.
- BNETD (2022). Bureau national d'études techniques et de développement. <https://www.bnetd.ci>, page consultée le 10/06/22.
- Bodoharisoa O., Rabarison T.F. & Randdrianarison L.B. (2009). Amélioration variétale du maïs, 4ème Année Agriculture ESSA, 35 : 15-21.
- Bonhomme R. (1981). Action des facteurs climatiques sur le développement du maïs. Cycle Supérieur d'Agronomie, Institut national agronomique Paris-Grignon, France. <https://www.researchgate.net/publication/329442867>, page consultée le 12/04/2022.
- Boone P.S., Charles J.D. & Wanzie L. R. (2008). Évaluation sous régionale de la chaîne de valeur du maïs, rapport technique, ATP n°1. Bethesda, MD: projet ATP, *Abt Associates Inc*, 68 p.
- Boraud N.K.M., Ake S. & Jacques G. (2010). Introduction des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Dans l'agriculture en Côte d'Ivoire : Etat de connaissance et souhaits des populations de six (6) localités du Sud du Pays, *European Scientific Journal*, 12(30) : 114-126.
- Carraretto M. (2005). Histoire de maïs d'une divinité Amérindienne à ses avatars transgéniques C.T.H.S, 56 p.
- Chalbi N. & Demarly Y. (1991). Actualités scientifiques, Amélioration des plantes par l'adaptation aux milieux arides. *Lavoisier*. Paris (France), 228 p.
- Charrier A., Jacquot M., Hamon S. & Nicolas D. (1997). L'amélioration des plantes tropicales. Montpellier, France, 623 p.
- CIRAD-GRET (2002), Memento de l'agronome, 34 p.

- Cobbinah P.B. Black R. & Thwaites R. (2011). Reflections on six decades of the concept of development: Evaluation and future research Sustainable Dev. *In Africa*, 13(7): 134-149.
- Davey M.R., Anthony P., Power J.B. & Lowe K.C. (2005). Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. *Biotechnology Advances*, 23: 131-171.
- Deffan K.P., Akanvou L., Akanvou R., Nemlin G.J. & Kouame P.L. (2015). Evaluation morphologique et nutritionnelle de variétés locales et améliorées de maïs (*Zea mays* L.) produites en Côte d'Ivoire. *Afrique science*, 11(3): 181-196 p.
- Direction de l'agriculture (2001). Rapport d'étude de la filière maïs à Madagascar : Diagnostic de la situation actuelle, détermination des régions à potentialités maïzicoles, structuration de la filière maïs. *Direction du Projet National Maïs Antananarivo*. 1, 144p.
- Dominique V. (2009). Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales Mieux comprendre, ISSN 1144-7605. Université de Cornell, *Quae* 2: 200 p.
- Doré C. & Varoquaux F. (2006). Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Institut national de la recherche agronomique, (Paris, France), pp 481- 493.
- Egli D.B. & Tekrony D.M. (1979). Relation between soybean seed vigor and yield. *Agronomy Journal*, 71: 755-758.
- Elisabeth C.L. & During C. (1979). Sumer, Coastal Arabia and the Indus Valley in Protoliterate and Early Dynastic Eras: Supporting Evidence for a Cultural Linkage. *Journal of the Economic and Social History of the Orient*, 22(2): 121- 135.
- Emile P. (1974). Les plantes médicinales. Exemple n°2308. *Presses Universitaires De France*, Paris, Rène (France), 245 p.
- Escalante M., Hoopen T. & Maïga A. (2002). Production et transformation de maïs. *Collection PRO-AGRO*, 29 p.
- Fakorede M.A. & Akinyemiju B. (2003). Climatic change: effects on maize production in tropical rainforest location. International Institute of Tropical Agriculture In *Maize Revolution in west and central Africa*. Ibadan (Nigeria), pp 272-285.
- FAO. (1993). Le maïs dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition n° 25) ISBN 92-5-203013-1. <http://www.fao.org/>. Consulté le 28/05/2022.
- FAOSTAT. (2022). <http://faostat.fao.org/faostat/>, page consultée le 20/08/22.
- Feuk L., Carson A.R. & Scherer S.W. (2006). Structural variation in the human genome.
- Fleury A. (2010). Les 44gricole techniques du semis. Association française pour l'étude du sol. <http://www.afes.fr>, page consultée le 20/07/2022.

- Fraleigh B. (1987). Importance des banques de ressources phytogénétiques, In: Amélioration et protection des plantes vivrières tropicales, Demaly Y., AUPELF-UREF, Québec (Canada), *Saint Pierre C-A*, pp 13-18.
- Fuchs M. (2008). Transgenic plants and control of virus diseases: state of the art and prospects. *Virologie*, 12(1) : 27-37.
- Gallais A. (1984). Physiologie du maïs. Institut National de Recherche Agronomique. Paris, France, 574 p.
- Gallais A. (2000). Evolution des outils de l'amélioration des plantes: de la génétique à la transgénèse. *Académie de l'Agriculture de France*, 86: 13-25.
- Gay J.P. (1999). Maïs, mythe et réalité, éd. *Atlantica*, 21 p.
- Gupta P.K., Varshney R.K., Sharma P.C. & Ramesh B. (1999). Molecular markers and their application in wheat breeding. *Plant Breed*, 118: 369-390.
- Gupta S.K., Souframanien J. & Gopalakrishna T. (2008). Construction of a genetic linkage map of black gram, *Vigna mungo* (L.) Hepper, based on molecular markers and comparative studies. *Genome*, 51: 628-637.
- Henri G., Georges C., Philippe J. & Roger G. (1968). Cours d'agriculture moderne, 182 p
- Hoopen T. & Maïga A. (2012). Maize. Production et transformation du maïs. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation CTA ISF Pro-Agro series Ingénieurs Sans Frontières Cameroun , 28 p.
- Hubert P. (1978). Recueil de fiche technique d'Agriculture spéciale à l'usage des lycées agricoles à Madagascar –Bureau du développement de la production agricole, 6 p.
- Hufford M.B., Xu X., Heerwaarden V.J., Pyhäjärvi T., Chia J.M., Cartwright R., Elshire R.J., Glaubitz J.C., Guill K.E. & Kaepler S.M. (2012). Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature Genetics*, 44: 808–811.
- Hurtado R.R., Harney A.S., Heffern M.C., Holbrook R.J., Holmgren R.A. & Meade T.J. (2012). Specific Inhibition of the Transcription Factor Ci by a Cobalt (III) Schiff Base-DNA Conjugate. *Molecular Pharmaceutics*, 9(2): 325--333.
- Husnudin U.B., Daryono B.S. & Purnomo (2019). Genetic variability of Indonesian Eggplant (*Solanum melongena*) based on ISSR markers. *Biodiversitas* 20 (10): 3049-3055.
- Irfaq M., Amin, Mohammad T., Khan A.J., Ali A., Tahir G.R. & Songklanakarin (2003). Effect of Gamma Irradiation on Some Morphological Characteristics of Three Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. Department of Agronomy, University of Agriculture, Peshawar, Pakistan. *Journal of Biological Sciences*, 2 (13): 999-1003.

- ITCF (1989). Institut Technique des Céréales et des Fourrages: Guide Pratique - Stockage et conservation des grains à la ferme. Page consultée le 15/04/2022.
- James M.C. (2001). *Maize and Grace: History, Corn, and Africa's New Landscapes*, Society for Comparative Study of Society and History, pp 1500-1999.
- Jiao Y., Peluso P., Shi J., Liang T., Stitzer M.C. & Wang B. (2017). Improved maize reference genome with single-molecule technologies. *Nature*, 546 : 524-527.
- Joanis Y. (2018). Essai d'adaptation de douze (12) variétés de maïs QPM (*Zea mays* L.) introduites à Saint Marc (Localité Lalouère). Mémoire de fin d'études agronomiques, Faculté d'Agronomie et de Médecine Vétérinaire, université d'Etat d'Haïti (Haïti), 37 p.
- Juan A.M.J., Cristina L.L., Santiago A.D.P., Ángel L.R.F., Jose L.D.L.H.A. & Cesar F.D.L.P. (2015). Multimodal manual therapy vs. Pharmacological care for management of tension type headache : A meta-analysis of randomized trials. *Cephalalgia*, 35(14) :1323-1332.
- Katerji N. & Bethenod O. (1997). Comparaison du comportement hydrique et de la capacité photosynthétique du maïs et du tournesol en condition de contrainte hydrique. Conclusions sur l'efficience de l'eau. *Agronomie, EDP Sciences*, 17(1) : 17-24.
- Kenzy M.Z. & Wahaj M. (2015). Etude sur l'alimentation du poulet de chair à base du maïs. Mémoire pour l'obtention du diplôme Master en Agronomie option technologie des industries agroalimentaires, Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen (Algérie), 65 p.
- Kouakou K.J., Yao K.B., Sika A.E., Gogbeu S.J., Koné L.S.P. & Dogbo D. O. (2019). Caractérisation de l'activité de maraîchage dans la commune de Port-Bouët (Abidjan, Côte d'Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 41(1): 6747-6756.
- Lans C.A. (2006). Ethnomedicines Used in Trinidad and Tobago for Urinary Problems and Diabetes Mellitus. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 45 p.
- Lecoq H., Moury B., Desbiez C., Palloix A. & Pitrat M. (2004). Durable virus resistance in plants through conventional approaches: a challenge. *Virus Resources*, 100: 31- 9.
- Li F., Shimizu A., Nishio T., Tsutsumi N. & Kato H. (2019). Comparison and Characterization of Mutations Induced by Gamma-Ray and Carbon-Ion Irradiation in Rice (*Oryza sativa* L.) Using Whole-Genome Resequencing. *Genes Genomes Genet*, 9: 3743-3751.
- Louette D. (1994). Gestion traditionnelle de variétés de maïs dans la réserve de la biosphère Sierra Manantlan (RBSM, états de Jalisco et Colima, Mexique) et conservation in situ

- des ressources génétiques de plantes cultivées. Thèse de doctorat de l'École Nationale Supérieure Agronomique Montpellier (France), 245 p.
- Luciani A. (2004). Le maïs fourrage. *In* : Etude du progrès génétique chez différentes espèces de grandes cultures. *Fakorede*, pp 131-153.
- Lundqvist U. (2008). Eighty years of Scandinavian barley mutation research and breeding. – *In*: Q. Y Shu., Proc. FAO/IAEA Int. Symp. on *Induced Mutations in Plants*. Vienna, Australie, pp 39– 43.
- Mahmoud M.I., El-Mansy A.B. (2012). Molecular identification of eggplant cultivars (*Solanum melongena* L.) using ISSR markers. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (1): 69-77.
- Maybelline E.T.H. & Maïga A. (2012). Production et transformation du maïs. CTA et ISF. Cameroun, 32 p.
- Mballo M. (2017). Etude des effets d'un biostimulant foliaire sur la croissance et le rendement en grains du maïs pluvial en Haute Casamance (Sénégal). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'ingénieur des travaux agricoles, Institut Supérieur de Formation Agricole et Rurale (ISFAR), Bambey, Sénégal, 31 p.
- Missihoun A.A., Agbangla C.H., Adoukonou S.C., Ahanhanzo & Vodouche R. (2012). Gestion traditionnelle et statut des ressources génétiques du sorgho (*Sorghum bicolor* L. Moench) au Nord-Ouest du Bénin. *International Journal of Biological Chemical Sciences*, 6 :1003-1018.
- Mohammadi S.A. & Prasanna B.M. (2003). Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants-Salient Statistical Tools and Considerations. *Crop Science*, 43 : 1235-1248.
- Moreno L.L., Tuxil J.I., Moo Y.E., Luis R.A., Alejo J.C. & Jarvis D.I. (2006). Traditional Maize Storage Methods of Mayan Farmers, Mexico : Implications for Seed Selection and Crop Diversity. *Biodiversity and Conservation Yucatan*, 15 : 1771–1795.
- Morin (2002). Un riz basmati transgénique résiste à la sécheresse et à l'eau saumâtre <http://www.terresacree.org/basmati.htm>. Page consultée le 28/05/2022
- Moussa A.A., Salako V.K., Charlemagne Gbemavo D.S.J., Zaman-Allah M., Kakaï R.G. & Bakasso Y. (2018). Performances agro-morphologiques des variétés locales et améliorées de maïs au sud-ouest du Niger. *African Crop Science Journals*. 26(2) : 1021- 9730.
- Ndiaye A. (1987). La sélection du maïs au Sénégal et étude de la variabilité génétique des populations. Rapport de stage de titularisation. Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, 41 p.

- Ndiaye A. (2003). Variabilité génétique des écotypes locaux de maïs pour la tolérance à la sécheresse au Sénégal. *In* Maize revolution in west and central Africa. IITA, Ibadan Nigeria. 17 p.
- Nuss T.E. & Tanumihardjo S.A. (2011). Quality Proteine of Mays Africa: Closing the protein inadequacy gap in vulnerable populations. *Advances in Nutrition*, 2 : 217–224.
- Ollitrault P., Dambier D., Froelicher Y., Carreel F., D'Hont A., Luro F., Bruyère S., Cabasson C., Lotfy S., Joumaa A., Vanel F., Maddi F., Treanton K. & Grisoni M. (2000). Ressources génétiques : apport de l'hybridation somatique pour l'exploitation des ressources génétiques des agrumes. *Cahiers Agricultures*, 9(3) : 223-236.
- Ost J.F. (2012). La fertilisation en cultures du maïs. <http://www.cipf.be>. Consulté 18/03/2022
- Oury J.P. (2006). La querelle des (Organismes Génétiquement Modifiés) OGM, *Presse Universitaire de France*, 304 p.
- Owoyele D., Bamidele V.N., Muhammed N.O., Samuel O. & Samuel A. (2010). Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Aqueous Extract of Zea mays Husk in Male Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food*, 13(2) : 343-347.
- Pinheiro D.A.J., Camassola M., Pegas H.J.A., Pelegrinelli F.M.H., Souza A.A.C., Ferreira V.T.A. & Lagunaa S.E. (2008). Generation of recombinants strains to cellulases production by protoplast fusion between *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma harzianum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 43: 403-409.
- Potvin C. (1997). « La biodiversité pour le biologiste : “protéger” ou “conserver” la nature ? », dans Marie-Hélène Parizeau, La biodiversité. Tout conserver ou tout cultiver ?, Bruxelles, *De Boeck*, pp 37- 46.
- Quian W., Ge S. & Hong D. (2001). Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza 48ranulate* from China detected by RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 440- 449.
- Radhouane L. (2004). Étude de la variabilité morpho-phénologique chez *Pennisetum glaucum* L.R. Br. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 138 : 18-22.
- Ristanovic D. (2001). Maïs, Agriculture en Afrique tropicale, *In Raemackers*, 1^{ère} édition, Bruxelles (Belgique), 1634 : 44-70.
- Riviello F., María L., Jorge C.I., Lucero M.R., Ma. de Lourdes Arévalo-Galarza, Israel Castillo-Juárez, Marcos S.H. & Carlos R.C.M. (2022). Use of Gamma Radiation for the Genetic Improvement of Underutilized Plant Varieties. *Plants*, 11(9) : 1161 p.

- Rossignol J.L., Berger R., Deutsch J., Fellous M., Lamour Isnard C., Kalageropoulos O., Picard O.M. & Devienne D.N. (2000). Génétique. Gènes et génomes. *Dunod*, Paris (France) 229 p.
- Rouanet G. (1997). Le maïs. Le technicien de l'agriculture. *Maisonneuve et Larose* éd., 142 p.
- Rouanet G. (1984). Le maïs. *Editions Maisonneuve et Larose*, Paris (France), 142 p.
- Salah B.A. (2005). Etude Phenologique Et Selection De Quelques Varietes Du Ble Dur Introduites Et Cultivées Dans Plusieurs Environnements. Mémoire En Amelioration Des Productions Végétales, Faculté Des Sciences Agronomiques Et Veterinaires Departement D'agronomie, Universite Saad Dahlab de Blida (Blida, Algerie), 114 p.
- Samayoa L., Dunne C., Andres J.R. & Holland J. (2018). Harnessing Maize Biodiversity, in *The Maize Genome*, pp 335–366.
- Sanou J. (1996). Analyse de la variabilité génétique des cultivars locaux de maïs de la zone de savane ouest africaine en vue de sa gestion et de son utilisation. Thèse de doctorat de l'École Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier (France), 98 p.
- Santoni S., Faivre R.P., Prado E. & Prat D. (2000). Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahier Agriculture*, 9 : 311-327.
- Sayre K. D., Acevedo E. & Austin R.B. (1995). Carbon isotope discrimination and grain yield for three bread wheat germoplasm groups grown at different levels of water stress. *Field Crops Ressources*, 41 : 45-54.
- Schnable P.S., Ware D., Fulton R.S., Stein J.C., Wei F. & Pasternak S. (2009). The B73 Maize Genome: Complexity Diversity and Dynamics. *Science*, 326, 1112–1115.
- Seilleur P. (1996). Amélioration génétique de la résistance aux agents phytopathogènes. In : Traité de pathologie végétale. Semal J. (col.). *Les presses agronomiques de Gembloux*, Belgique, 41 : 5-453.
- Shrivastava S., Sharma S. & Das P. (2018). Screening and identification of molecular marker for fingerprinting of brinjal hybrids and its parental lines. *International journal of current biotechnology*, 6 (1) :1-5.
- Singh R., Mohan A., Kulwal P., Kumar V., Reyazul R.M., Kumar J., Prasad M., Balyan H.S. & Gupta P.K. (2009). *Euphytica*, 168(3): 319-329.
- Smith S.E., Doss A.A. & Warburton M. (1991). Morphological and agronomic variation in North African and Arabian alfalfas, *Crop Science*, 31: 1159-1163.
- Stanton A.L., Danoff-Burg S., Cameron C.L. & Ellis A.P. (1994). Coping through emotional approach: Problems of conceptualization and confounding. *Journal of Personality and Social Psychology*, 66(2): 350–362.

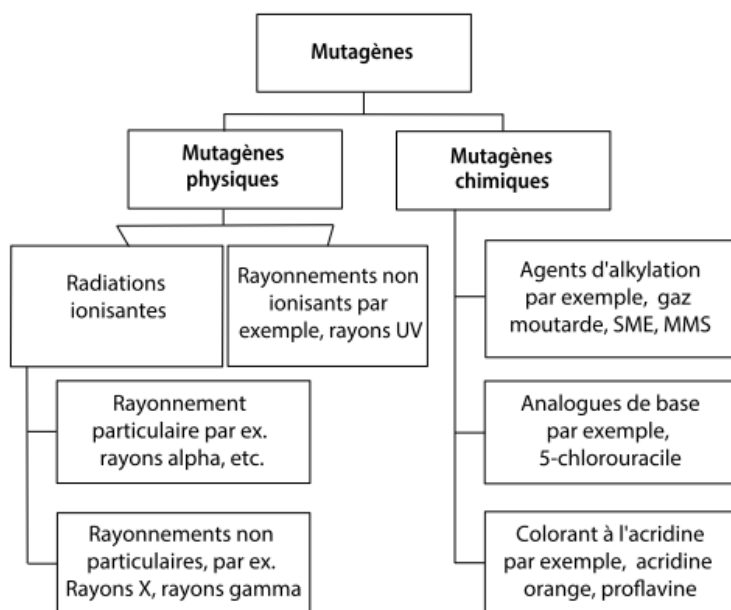
- Tian F., Stevens N.M. & Buckler E.S. (2009). Tracking footprints of maize domestication and evidence for a massive selective sweep on chromosome 10. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 : 9979–9986.
- Useni S.Y., Chukiyabo K.M., Tshomba K.J., Muyambo M.E., Kapalanga K.P., Ntumba N.F., Kasangij K.P., Kyungu K.A., Baboy L.L., Nyembo K.L. & Mpundu M.M. (2013). Utilisation des déchets humains recyclés pour l’augmentation de la production du maïs (*Zea mays* L.) sur un ferralsol du sud-est de la République Démocratique du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 66: 5070-50811.
- Wang X., Ma R., Cui D., Cao Q., Shan Z. & Jiao Z. (2017). Physio-Biochemical and Molecular Mechanism Underlying the Enhanced Heavy Metal Tolerance in Highland Barley Seedlings Pre-Treated with Low-Dose Gamma Irradiation. *Scientific Reports*, 7(14): 233 p.
- Westphal E., Embrechts J., Ferwerda J.D., Van Gils-Meeus H.A.E., Mutsaers H.J.W. & Westphal S.J.M.C. (1985). Cultures vivrières tropicales avec référence spatiale au Cameroun, Centre for Agricultural Publishing Documentation, Wageningen, Nerlande (Pays-Bas), 514 p.
- Wu K.S., Jones R., Danneberger L. & Scolnik P.A. (1994). Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic Acids Research*, 22(15): 3257-3258.
- Ye Y., Zhang J., Ning G. & Bao M. (2008). A comparative analysis of the genetic diversity between inbred lines of *Zinnia elegans* using morphological traits and RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae*, 118: 10-70.
- Yin T., Zhang X., Huang M., Wang M., Zhuge Q., Tu S., Zhu L.H. & Wu R. (2002). Molecular linkage maps of the *Populus* genome. *Genome*, 45: 541-555.

ANNEXES

Annexe 1 : Caractéristiques des principales variétés améliorées de maïs en Côte d'Ivoire

N°	Nom Variétés du CNRA	Caractéristiques			
		Cycle de maturité (jours)	Couleur et des Texture grains	Principales caractéristiques	Rendement moyen (t/ha)
01	EV99-MRP	Précoce (90-95)	Blanc semi Semi-denté	Tolérante à la sécheresse et à la Striure Riche en protéines	3-4
02	DMRESR-Y	Précoce (90-95)	Jaune, corné/denté	Tolérante à la Striure Tolérant au mildew Riche en protéines	3-4
03	DMRESR-W	Précoce (90-95)	Blanc corné	Tolérante à la Striure Tolérant au mildew Riche en protéines	3-4
04	MDJ	Intermediaire (100-105)	Jaune, corné	Tolérante à la Striure et à la verse racinaire	3-4
05	Violet de Katiola	Intermédiaire (100-105)	Violet, corné	Tolérante à la Striure et à la verse racinaire	2-3
06	GMRP-18	Intermédiaire (100-105)	Jaune, denté	Tolérante à la Striure, Riche en protéine	3-4
07	EV8728	Tardif (105-110)	Jaune, denté	Tolérante à la Striure et à la verse racinaire	3-5
08	Obatampa	Tardif (105-110)	Blanc, denté	Tolérante à la Striure, Riche en protéine	3-5
09	ACR97 TZL Comp1syn	Tardif (105-110)	Blanc, corné/denté	Tolérante à la Striure et à la verse racinaire Tolérant à <i>S. hermonthica</i>	3-4

Annexe 2 : Mutagènes courants utilisés dans l'induction de mutations de plantes(AIEA, 2020)



Annexe 3 : Caractéristiques des lignées étudiées

N° d'ordre	Lignée	Code	Couleur des grains
1	-	T0	Jaune
2	L32	S13	Jaune
3	L91	S25	Jaune
4	L77A	S43	Jaune
5	L75	S47	Jaune
6	L51	S51	Jaune
7	L71	S54	Jaune
8	L8	S66	Jaune
9	L95	S76B	Jaune
10	L61	S77	Jaune
11	L63	S82	Jaune
12	L99	S90	Jaune
13	L77B	S121	Rouge
14	L80	S148	Rouge
15	L72	S159	Jaune
16	L46	S195	Jaune

Annexe 4 : L'essentiel du matériel utilisé



Lyophilisateur



Tissue lyser



Etuve



Centrifugeuse



Hôte



Bain- marie



Vortex



Balance électrique



Plaque chauffante



Dispositif d'électrophorèse



Verrerie



Micropipettes



Thermocycleur

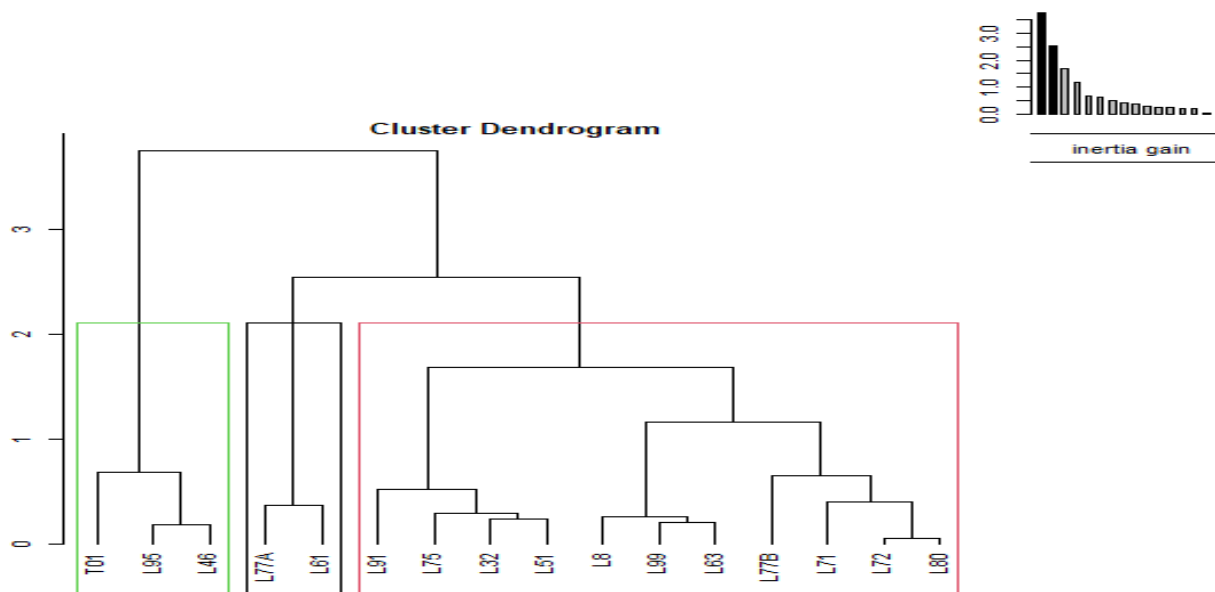


Trans-illuminateur

Annexe 5 : Liste du matériel technique utilisé au laboratoire et leur rôle

N°	Matériel	Rôle
1	Verrerie classique de labo	Faciliter les manipulations
2	Lyophilisateur	Déshydratation des extraits de feuilles
3	Balance électrique	Réaliser des pesées
4	Tissue Lyser	Broyage à billes des feuilles
5	Micropipettes	Prélèvement avec précision des solutions
6	Bain-marie	Incuber les extraits
7	Vortex	Mélanger de solutions
8	Etuve	Incuber des solution
9	Centrifugeuse	Séparation des constituants
10	NanoDrop ou spectrophotomètre UV-Visible	Quantifier l'ADN
11	Congélateur, réfrigérateur	Conserver de divers solutions
12	Dispositif d'électrophorèse	Séparer et identifier des ADN
13	Plaque magnétique chauffante	Préparer le gel d'agarose
14	Trans-illuminateur photographique	Visualiser et photographier les bandes d'ADN
15	Thermocycleur ou machine PCR	Amplifier les fragments d'ADN
16	Minuteur	Mesurer le temps
17	Hôte	Aspire les vapeurs, gaz toxiques émis par les produits à fort odeur

Annexe 6 : Dendrogramme issu de la classification hiérarchique ascendante des lignées



RESUME

Le maïs (*Zea mays* L.) est une céréale beaucoup plus utilisée dans l'alimentation humaine en Côte d'Ivoire, et de ce fait contribue activement à la sécurité alimentaire. Cependant, sa culture reste confrontée à de nombreuses contraintes liées à la dégradation des sols, au changement climatique et à la dégénérescence génétique des variétés cultivées. L'amélioration de la production de cette spéculature représente alors un axe majeur des programmes de recherche agronomique. Dans ce contexte une différenciation génétique de quinze (15) lignées de maïs développées à Daloa par la technique de la mutation au rayonnement gamma a été réalisée. Un dispositif expérimental en deux blocs avec trois (03) répétitions chacun et complètement randomisées a servi à la réalisation de cet essai. La caractérisation phénotypique de ces lignées a révélé une diversité importante au sein de la population de maïs étudiée. Cette diversité a été structurée en trois groupes distincts par l'analyse en composantes principales (ACP) et confirmée par la classification ascendante hiérarchique. Par ailleurs, une différenciation moléculaire a été réalisée au moyen de neuf (09) amorces ISSR. Ces amorces ont révélé 89 loci dont 85 se sont montrés polymorphes soit un taux de polymorphisme de 95,51 %. Cependant, une forte diversité a été révélée par les paramètres de diversité génétique. En effet, une forte diversification a non seulement été dévoilée entre les lignées maïs aussi et surtout avec le témoin. Ce qui témoigne de l'effet hautement significatif de l'irradiation réalisée. En outre, l'écart important observé entre les structurations phénotypique et moléculaire laisse entrevoir un affinement des descripteurs phénotypiques.

Mots clés : maïs, lignée, irradiation, amorce, diversité.

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is a cereal much used in human nutrition in Côte d'Ivoire, and thus contributes actively to food security. However, its cultivation remains confronted with numerous constraints related to soil degradation, climate change and genetic degeneration of cultivated varieties. The improvement of the production of this crop represents a major axis of agronomic research programs. In this context, the genetic differentiation of fifteen (15) maize lines developed in Daloa by the gamma radiation mutation technique was carried out. An experimental device in two blocks with three (03) repetitions each and completely randomized was used for the realization of this test. The phenotypic characterization of these lines revealed an important diversity within the studied corn population. This diversity was structured into three distinct groups by principal component analysis (PCA) and confirmed by hierarchical ascending classification. In addition, molecular differentiation was performed using nine (09) ISSR primers. These primers revealed 89 loci of which 85 were polymorphic, i.e. a polymorphism rate of 95.51%. However, a strong diversity was revealed by the genetic diversity parameters. Indeed, a strong diversification was not only revealed between the lines but also and especially with the control. This testifies to the highly significant effect of the irradiation performed. Moreover, the important difference observed between the phenotypic and molecular structuring suggests a refinement of the phenotypic descriptors. **Key words: corn, line, irradiation, primer, diversity.**