

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش - الجزائر -

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

El – Harrach



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat en science agronomique

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème

**Utilisation de marqueurs génétiques pour l'étude de la diversité génétique du maïs
du sud Algérien : Région du Touat et du Tidikelt**

Présenté par : M^{elle} Belalia Nawel

Thèse soutenue devant le jury :

Président :	Mme. MEKLICHE L.	Professeur ENSA, Alger
Directeur de Thèse :	Mme KHELIFI-SLAOUI M.	Professeur ENSA, Alger
Co- Directeur de Thèse	Mr. KHELIFI L.	Professeur ENSA, Alger
Examineurs :	Mr. TOUMI M.	Professeur ENS, Kouba
	Mr. BENMOUSSA M.	Professeur USDB1, Blida

Année universitaire : 2018/1019

Remerciements

Tout d'abord, louange à «**ALLAH** » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de ce travail et m'a donné la volonté, le courage et surtout la patience pour arriver à le finaliser.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mes remerciements à Madame KHELIFI-SLAOUI Majda, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger (ENSA), pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ce travail ainsi que pour ses conseils et ses encouragements qui m'ont beaucoup aidé. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude

Mes vifs remerciements s'adressent à mon co-directeur de thèse Monsieur KHELIFI Lakhdar, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) d'Alger, pour les recommandations et les conseils précieux. Pendant toute la préparation de cette thèse, il m'a laissé une grande liberté dans l'orientation de ma réflexion tout en me soutenant et en m'encourageant dans les moments difficiles, sa gentillesse et ses qualités humaines me touchent profondément, merci pour tout.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur SUNSURI Francesco, professeur à l'Université Méditerranéenne de Région de Calabre (Italie), d'avoir accepté de m'accueillir au sein du laboratoire de Plant Genetic au département d'agriculture. Je le remercie aussi pour l'intérêt et le soutien chaleureux qu'il a accordé à mon travail ainsi que pour sa gentillesse et ses qualités humaines.

J'aimerais de plus souligner ma gratitude envers Monsieur MAUCERI Antonio, pour sa précieuse assistance lors de la réalisation de certaines parties de ce travail. Je n'oublie pas non plus Madame BENALIA Soraya pour ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.

Je voudrais également remercier les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse. Ma profonde gratitude à Mme. MEKLICHE L., professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) d'Alger, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mes sincères remerciements et mon profond respect à Monsieur BENMOUSSA M., professeur à l'université Saâd Dahled de Blida, d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner le travail.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur TOUMI M., professeur à l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Kouba, pour avoir pris le temps de lire et de juger cette thèse.

Je veux aussi remercier très chaleureusement tous les ouvriers, techniciens et ingénieurs de l'ENSA ainsi que l'équipe du laboratoire LRGB et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail

En enfin, Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma famille pour son soutien et sa confiance tout au long de ce travail.

Résumé

En vue de contribuer à évaluer le germplasma du maïs autochtone algérien, nous avons procédé à caractériser un ensemble d'accessions originaires des Oasis d'Adrar en utilisant deux approches complémentaires. Une caractérisation phénotypique, basée sur 23 descripteurs agromorphologiques, et un génotypage moléculaire par les marqueurs SSR.

L'analyse de la variance a montré un effet accession très hautement significatif pour huit caractères quantitatifs qui ont expliqué la majorité de la variabilité observée. La comparaison des moyennes par le test LSD nous a permis de répartir les 60 accessions en groupes homogènes. A l'aide de l'analyse en composante principale (ACP), nous avons pu identifier les descripteurs qui discriminent le plus nos accessions de maïs et qui sont : la période de floraison, la hauteur du plant, les données relatives à l'épi et le rendement en grain. La classification ascendante hiérarchique (CAH) et l'analyse des correspondances multiples (ACM) appliquée, respectivement, pour les données quantitatives et qualitatives ont permis de répartir les accessions sahariennes selon leur performance pour les traits évalués et indépendamment de leur origine géographique. Ainsi, cette caractérisation nous a permis d'identifier les accessions ayant des traits agronomiques d'intérêt dont les plus recherchés dans les programmes d'amélioration du maïs sont le rendement et les critères d'adaptation au climat tel que la date de floraison.

Le génotypage par les marqueurs SSR a révélé une grande variabilité génétique au sein des accessions étudiées mais également l'efficacité des marqueurs choisis qui se sont révélés tous polymorphes. Un total de 191 allèles a été amplifié avec une moyenne de 10.61 allèles par locus. Parmi ces allèles, 19 sont des allèles uniques qui fournissent un outil intéressant pour mettre en évidence la différenciation génétique entre les accessions. L'analyse des statistiques de Wright, dont le (F_{is}) rend compte du faible taux de consanguinité (0.52%) au sein des accessions, ce qui concorde avec le léger déficit en hétérozygotes révélé suite à une comparaison entre l'hétérozygotie observée (H_o) et celle espérée (H_e). Quant à l'indice de fixation (F_{st}) qui correspond à la séparation entre les populations, nos résultats montrent une différenciation génétique assez importante ($F_{st} = 0.22$). La hiérarchisation de la diversité génétique globale de l'ensemble des populations par l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a montré que la diversité génétique était davantage due à la diversité intra-accessions (79.5%) qu'à la diversité inter-accessions (20%) traduisant ainsi le mode de reproduction du maïs qui fait partie des plantes allogames. L'analyse de la structure génétique des accessions étudiées par l'approche bayésienne a permis la structuration de nos accessions en deux

grands groupes indépendamment de leur origines géographiques. De même, l'estimation des distances génétiques de Nei et Li , (1979) a révélé l'absence de relation entre la structuration des populations et leur provenance.

Mots clé : *Zea mays* L, Oasis algériennes, descripteur agro-morphologiques, géotypage SSR.

Abstract

In order to contributing to the evaluation of Algerian maize germplasm, we proceeded to characterize a set of accessions originating from Oases of Adrar using two complementary approaches: a phenotypic characterization, based on 23 agro-morphological descriptors, and molecular genotyping using SSR markers.

Variance analysis showed a highly significant accession effect for eight quantitative traits that accounted for most of the observed variability. Comparing the averages by the LSD test allowed the partitioning of the 60 accessions into homogenous groups. The PCA allowed us to find out the most discriminatory descriptors of our maize accessions, which are: the flowering period, the plant height, the data on ear and the grain yield. Both Hierarchical Ascending Classification (HAC) and the Multiple Correspondence Analysis (MCA), applied respectively for the quantitative and qualitative data, partitioned the accessions according to their performance for the evaluated traits and regardless of their geographical origin. Thus, this characterization permits us to identify accessions with agronomic traits of interest; the most traits sought-after in maize improvement programs are yield and climate adaptation criteria such as the date of flowering.

SSR genotyping revealed a large genetic variability within the accessions studied, as well as effectiveness of selected markers which were all polymorphic. A total of 191 alleles were amplified with an average of 10.61 allele par locus. Of these alleles, 19 are unique alleles that provide an interesting tool to highlight genetic differentiation between accessions. The wright's statistic, whose (F_{is}) accounts for the low consanguinity rate (0,52%) within accessions, which is consistent with the slight deficit in heterozygotes revealed by comparing observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity. Regarding the fixation index (F_{st}), which present the differentiation between populations, our result show a considerable genetic differentiation ($F_{st}=0.22$). The partitioning of the overall genetic diversity of all populations through molecular variance analysis (AMOVA) showed a greater genetic diversity within accessions (79.5%) then among them (20%), thus reflecting the mode of reproduction of maize, which is part of allogamous plants. The analysis of genetic STRUCTURE of accessions studied by the Bayesian approach allowed the partitioning of all accessions in two large groups regardless of their geographical origin. Likewise, the estimation of the genetic distance of Nei and Li, (1979) revealed the lack of relationship between structure of population and their origin.

Key Word : *Zea mays* L, Algerian Oases, agro-morphological descriptor, SSR genotyping

الملخص

من اجل المساهمة في تقييم الموارد الاصلية للذرة في الجزائر، اجرينا توصيف مجموعة من العشائر المجمعة في الواحات المتواجدة في ولاية ادرار و ذلك باستعمال طريقتين متكاملتين : التوصيف المظهري باستعمال 23 واصف مظهري و التتميط الجيني باستخدام الواسمات من نوع مكروساتيليت (SSR).

اظهر تحليل التباين اختلافا كبيرا بين العشائر في ما يخص ثمانية واصفا كميا ، اذ احدثوا معظم التباين الملحوظ. كما سمحت لنا المقارنة بين المعدلات بواسطة اختبار LSD بتقسيم العشائر إلى مجموعات متجانسة. باستعمال تحليل المكونات الرئيسية (ACP) ، تمكنا من تحديد الواصفات التي تميز عشائر الذرة اكثر من غيرها و التي تتمثل في فترة الازهار ، ارتفاع النبات، البيانات المتعلقة بكوزة الذرة و عائد الحبوب. كما أن تطبيق التصنيف التسلسلي التصاعدي (CAH) و تحليل المراسلات المتعددة (ACM) على البيانات الكمية و النوعية علي التوالي مكننا من تصنيف العشائر الصحراوية وفقا لخصائصها المتعلقة بالواصفات المستعملة و بغض النظر عن اصلها الجغرافي. هكذا اسمح لنا التوصيف المظهري بتحديد العشائر المتميزة ذات المعايير المهمة زراعيًا ، حيث أن الاكثر طلبا في برامج تحسين الذرة هي المعايير المتعلقة بالإنتاجية و التكيف مع المناخ مثل فترة الازهار.

كشفت التتميط الجيني باستخدام الواسمات من نوع SSR عن وجود تنوع وراثي مرتفع بين العشائر المدروسة و بين كذا لك فعالية الواسمات المستعملة التي تبين انها متعددة الاشكال، حيث تم الكشف عن مجموع 191 البيل بمعدل 10.65 البيل في الموقع الوراثي. من بين هذه الاليلات هناك 19 اليليا خاصا، اذ يعد هذا الاخير وسيلة مهمة لتسليط الضوء على التمايز الوراثي بين العشائر. افصح تحليل احصاءات Wright و على الاخص (Fis) عن معدل مقارنة ضعيف بين العشائر (0.52) ، و هذا ما يتوافق مع وجود نقص طفيف في الافراد الهجينة و الذي تم الكشف عنه عقب المقارنة بين الهجونة الملحوظة (H_0) و الهجونة المرتقبة (H_e). اما بالنسبة لمؤثر التثبيت (Fst) و الذي يمثل التمايز بين العشائر ، فان النتائج أظهرت تمايزا وراثيا مهما (Fst=0.22). اظهر الترتيب الهرمي للتنوع الوراثي العام من خلال تحليل التباين الجزئي (AMOVA) أن 20 % من التنوع الكلي يرجع الى تنوع العشائر فيما بينها ، بينما 79.5% من هذا التنوع يعود الى اختلاف الافراد داخل العشائر. توزيع التباين الكلي بهذه الطريقة يتوافق مع نمط تكاثر الذرة المصنف مع النباتات الغيرية الالفاح. كما سمح تحليل الهيكلة الوراثية للعشائر المدروسة باستعمال النهج البايزي بهيكلة العشائر الى مجموعتين كبيرتين بغض النظر الى أصولهم الجغرافية. بالمثل ، سمح تقدير المسافات الوراثية ل Li و Nei (1979) بالتوصل الى عدم وجود علاقة بين هيكلة العشائر و الاصل الجغرافي.

الكلمات المفتاحية : *Zea mays* L ، واحات الجزائر ، الواصفات المظهرية ، التتميط الجيني SSR

Liste des figures

Figure 1 : Présentation des zones de prospection et de collecte des accessions de maïs.....	32
Figure 2 : Diagramme ombrothermique de la campagne agricole 2013 (ONM, 2016).....	36
Figure 3 : Description du protocole d'amplification PCR de type M13 (Schuelke, 2000)	41
Figure 4 : Programme d'amplification utilisé pour le génotypage	43
Figure 5 : Exemple d'un électrophorégramme obtenue suite à une électrophorèse capillaire sur séquenceur.....	44
Figure 6 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la levée	53
Figure 7 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le pourcentage de plantes émergées.....	54
Figure 8 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la floraison femelle	55
Figure 9 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la floraison mâle	57
Figure 10 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour l'ASI	59
Figure 11 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la hauteur du plant.....	60
Figure 12 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la hauteur de l'épi	62
Figure 13 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre de l'épi	63
Figure 14 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre de la rafle	64
Figure 15 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre du rachis.....	65
Figure 16 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la longueur de l'épi	67
Figure 17 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre de grain par ligne	68
Figure 18 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre de ligne par épi	69
Figure 19 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre d'épi par plant	71

Figure 20 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le poids de 100 grains	73
Figure 21 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le rendement.....	75
Figure 22 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour l’humidité à la récolte.....	77
Figure 23 : Cercle de corrélation des variables de l’ACP formé par les axes 1 et 2.....	81
Figure 24 : Projection des 60 accessions de maïs sur les deux premiers axes de l’ACP basée sur les huit descripteurs quantitatifs	81
Figure 25 : Dendrogramme réalisé à partir des distances euclidiennes calculées sur la base de huit descripteurs quantitatifs	83
Figure 26 : Représentation des caractères agro-morphologiques des trois clusters générés par la CAH	84
Figure 27 : Variabilité intra-accessions de la forme de l’épi des 60 accessions de maïs.....	86
Figure 28 : Variabilité intra-accessions de la disposition des rangés de grains des 60 accessions de maïs	87
Figure 29 : Variabilité intra-accessions de la couleur du grain des 60 accessions de maïs	88
Figure 30 : Variabilité intra-accessions du type du grain des 60 accessions de maïs.....	89
Figure 31 : Variabilité du descripteur vigueur observée chez 60 accessions de maïs	90
Figure 32 : Variabilité du descripteur dégâts sur l’épi observée chez 60 accessions de maïs	91
Figure 33 : Variabilité des descripteurs forme de l’épi (a) , disposition des rangés de grain (b) et couleur du grain (c) dans la population globale , exprimé en pourcentage	93
Figure 34 : Variabilité des descripteurs type du grain (a) , vigueur (b) et dégâts sur l’épi (c) dans la population globale , exprimé en pourcentage.	94
Figure 35 : Répartition des modalités des caractères qualitatifs sur le plan 1-2 de l’ACM basée sur les caractères qualitatifs.....	96
Figure 36 : Répartition des 60 accessions de maïs selon le plan défini par les axes 1 et 2 de l’ACM basée sur les caractères qualitatifs	96

Figure 37: Classification ascendantes hiérarchique (CAH) des 60 accessions de maïs selon les caractères qualitatifs	98
Figure 38 : Structure de la diversité génétique des 56 accessions estimée par une approche bayésienne.	105
Figure 39 : Dendrogramme UPGMA basé sur les distances génétiques de Nei et Liu (1979) générées des données SSR des 56 accessions Sud Algériennes.	108

Liste des tableaux

Tableau 1 : Evolution des superficies, productions et rendements du maïs en Algérie	10
Tableau 2 : Présentation des 60 accessions Algériennes de maïs, leur origine ainsi que leurs coordonnées géographiques.....	34
Tableau 3 : Récapitulatif des marqueurs agro-morphologiques évalués.	38
Tableau 4 : Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage des accessions de maïs	42
Tableau 5 : Degrés de liberté et moyens carrés pour les 17 variables quantitatives sur un dispositif ARCBD.	52
Tableau 6 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur floraison femelle	56
Tableau 7 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur floraison mâle.....	58
Tableau 8 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur hauteur du plant.	61
Tableau 9 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur diamètre du rachis	66
Tableau 10 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur nombre de ligne par l'épi .70	
Tableau 11 : Classement des groupes homogène pour le descripteur nombre d'épi par plant.....	72
Tableau 12 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur poids de 100 grains	74
Tableau 13 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur rendement en grain	76
Tableau 14 : Les corrélations phénotypiques des descripteurs quantitatifs mesurés pour les 60 accessions de maïs	80
Tableau 15 : Valeurs moyennes des caractères agro-morphologiques pour les trois clusters générées par la CAH	84
Tableau 16 : Récapitulatif des analyses réalisées dans la caractérisation qualitative de la collection	85
Tableau 17 : Paramètres de la diversité génétique des 18 locus microsatellites utilisés dans l'étude de 56 accessions de maïs.	100

Tableau 18 : Paramètres de la diversité génétique des accessions Sud Algériennes (Na, He, Ho, Fis et AU).	103
Tableau 19 : Analyse moléculaire de la variance (AMOVA) au sein des 56 accessions de maïs en utilisant 18 marqueurs SSR.	104
Tableau 20 : Présentation des proportions d'appartenance des accessions à chacun des deux groupes suite à l'analyse de la Structure.....	106

Abréviations

ACP : Analyse en composante principale

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMOVA : Analyse Moléculaire de la Variance

ANOVA : Analyse de la variance

ARN : Acide ribonucléique

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

ACM : Analyse des correspondances multiples

ARCBd : Augmented Randomized Complete Block Design

CAH : Classification Ascendante Hiérarchique

CDB : Convention sur la diversité biologique

CIMMYT : International Maize and Wheat Improvement Center

ENSA : Ecole Nationale Supérieure Agronomique

EST-SSR : Expressed Sequence Tagged-Simple Sequence Repeat

6-FAM : 6-Carboxyfluorescein

FAO : Food and Agriculture Organization

IBPGR : International Board for Plant Genetic Resources

IPGRI : International Plant Genetic Resources Institute

LRGB : Laboratoire des Ressource Génétiques et Biotechnologie

LSD : Least Significant Distance

LTR : Long Terminal Repeat

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

PCR : Polymerase Chain Reaction

PPDS : Plus Petite Différence Singificative

QTL : Quantitative Trait Loci

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP : Restricted Fragment Length Polymorphism

SAM : Sélection Assistée par Marqueurs

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

UPGMA : Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages

UPOV : Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales

UNCED : United Nations Conference on Environment and Development

USDA : United States Department of Agriculture

Table des matières

Remerciement

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations

Introduction générale1

Synthèse bibliographiques

I. Présentation de l'espèce4

I.1. Origine et domestication4

I.2. Classification5

I.3. Génome du maïs6

I.4. Ecologie et conditions de culture8

I.5. Culture du maïs en Algérie9

Productivité et zones de culture10

II. Etude de la variabilité génétique11

II.1. Définition de la diversité génétique11

II.2. Gestion et conservation des ressources génétiques12

II.2.1. Conservation ex-situ13

II.2.1.1. Collection et cores collection « Collection nucléaire »13

II.2.1.2. Nouvelles méthodes de conservation14

Techniques de culture in Vitro14

Cryoconservation15

Conservation du pollen et banques d'ADN15

II.2.2. Conservation in-situ16

II.3. Approche de la caractérisation de la variabilité génétique16

II.3.1. Marqueurs morphologiques et agronomiques17

II.3.2. Marqueurs biochimiques18

II.3.3. Marqueurs moléculaires19

II.3.3.1. Marqueurs dominants	20
La RAPD	20
L’AFLP	20
II.3.3.2. Marqueurs co-dominants	21
La RFLP	21
Microsatellites ou SSR	21
Polymorphisme d’un seul nucléotide (SNP)	22
II.4. Caractérisation de la variabilité génétique chez le maïs.....	23
II.4.1. Caractérisation morphologique	24
II.4.2. Caractérisation moléculaire	25
Marqueurs SSR	26
Marqueurs SNP	30

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal	31
I.1. Présentation de la zone de prospection	31
I.2. Stratégie de prospection	33
II. Méthodologies	36
II.1. Caractérisation agro-morphologique	36
II.1.1. Site de l’étude	36
II.1.2. Dispositif expérimental	37
II.1.3. Installation et conduite de l’essai	37
II.1.4. Caractérisation de la collecte	38
II.2. Caractérisation moléculaire et analyse de la diversité et la structure génétique	40
II.2.1. Extraction de l’ADN génomique	40
II.2.2. Génotypage des microsatellites	40
II.2.2.1. Amplification des marqueurs SSR avec la méthode M13	41
II.2.2.2. Séparation par électrophorèse capillaire	43
II.2.2.3. Lecture des profils	44
III. Analyse statistique des données	45

III.1. Données agro-morphologiques	45
Données quantitatives	45
Données qualitatives	45
III.2. Données moléculaires	46
III.2.1. Polymorphisme des marqueurs SSR	46
III.2.2. Analyse de la diversité génétique intra-accession.....	46
Estimation des fréquences alléliques	47
Nombre moyen (N_a) et total (N) d'allèle et nombre efficace d'allèle (N_e).....	47
Taux d'hétérozygotie	48
Indice de diversité de Shannon	48
L'écart à la panmixie	49
III.2.3. Analyse de la diversité génétique inter-accession.....	49
III.2.4. Analyse de la structure génétique	50
III.3. Corrélation entre la caractérisation agro-morphologique et moléculaire	51

Résultats et discussions

I. Résultats	52
I.1. Résultats de la caractérisation agro-morphologique	52
I.1.1. Les caractères quantitatifs	52
I.1.1.1. Analyse de la variance (analyse globale)	52
I.1.1.2. Comparaison des moyennes	53
Données relatifs à la plante	53
Données relatifs à l'épi	63
I.1.1.3. Corrélation entre les variables	78
I.1.1.4. Analyse en composante principale (ACP)	78
I.1.1.5. Classification ascendante hiérarchique (CAH)	82
I.1.2. Caractères qualitative	85
I.1.2.1. Variabilité intra-accessions.....	86
I.1.2.2. Variabilité dans l'ensemble de la collection	92
I.1.2.3. Analyse des correspondances multiples (ACM).....	95

I.1.2.4. Classification ascendante hiérarchique (CAH)	97
I.2. Résultats de la caractérisation moléculaire	99
I.2.1. Qualité des ADN extraits	99
I.2.2. Résultats du géotypage	99
I.2.2.1 Polymorphisme et diversité des SSRs	99
I.2.2.2. Analyse de la diversité intra-accession	101
I.2.2.3. Diversité inter-accessions	104
I.2.2.5. Structure génétique	104
Méthode de regroupement Bayésien	104
Classification basée sur les distances génétiques	107
1.3. Résultats de la corrélation entre les données agro-morphologiques et moléculaires	109
II. Discussion	110
II.1. Discussion relative à la caractérisation agro-morphologique	110
II.1.1. variabilité agro-morphologique	110
Caractérisation par les descripteurs quantitatifs	110
Caractérisation par les descripteurs qualitatifs	112
II.1.2. Corrélations entre les variables	112
II.1.3. Regroupement des accessions basé sur l'analyse multivariée	113
II.2. Discussion relative à la caractérisation moléculaire	115
II.2.1. Polymorphisme et diversité allélique	115
II.2.2. Diversité intra-accessions	116
II.2.3. Diversité inter-accessions	118
II.2.4. Structure génétique	119
Conclusion générale	122
Reference bibliographiques	124
Annexe 1	
Annexe 2	

Introduction générale

La diversité génétique des populations autochtones de diverses espèces végétales fait partie des ressources les plus importantes pour l'alimentation et l'agriculture. Elle peut être définie comme la variation qui existe au niveau des gènes d'un individu, d'une population, d'une espèce ou d'une communauté. Elle détermine, en effet, le potentiel adaptatif d'une population ou d'un pool d'individus dans des conditions changeantes (Petit ,1998) et constitue donc la matière première indispensable pour tout programme d'amélioration des plantes (Baudoin et *al.*, 2002 ; Kumar et Dubey, 2003).

Au cours des dernières décennies, l'intensification des pratiques agricoles et la modernisation de l'agriculture ont fortement réduit la diversité des espèces végétales et peuvent réellement conduire à une érosion des ressources phytogénétiques. La prise de conscience de ces menaces date des années soixante du siècle dernier (Pernes, 1984) et ce n'est cependant qu'une décennie plus tard, depuis la création du Centre International pour les Ressources Phytogénétiques (IBPGR) en 1974, que des efforts considérables ont été fournis pour la prospection et la conservation des plantes menacées d'érosion génétique (Charrier ,1992).

En Algérie, la bioclimatologie et l'étendue de l'aire géographique sont à l'origine de l'existence d'une diversité taxonomique, éco-systémique et paysagère importante (CDB, 2009) et font de ses territoires un gisement relativement important de ressources biologiques (Yahiaoui, 2008). En effet, il existe cinq étages bioclimatiques sur lesquels l'influence méditerranéenne s'atténue suivant un gradient Nord-Sud (CDB, 2009). En terme de végétation, l'écosystème saharien, à titre d'exemple, qui se singularise par des conditions climatiques extrêmes favorables à la sélection de gènes d'intérêts (Hawtin et *al.*, 1996), renferme 2 800 taxons avec un fort taux d'endémisme (CDB, 2009). Avec les changements climatiques, ce patrimoine naturel constitue une source de nouveaux caractères fortement recherchés pour l'amélioration de la productivité agricole.

Le maïs (*Zea mays* L.), qui est une espèce exigeante en eau (Rahel-Bouziane, 2006) et sensible à la sécheresse (Bänziger et Araus, 2007), s'est paradoxalement adapté aux conditions extrêmes qui caractérisent le climat saharien après sa culture dans les oasis Sahariennes pendant des siècles. Ce processus d'adaptation a eu lieu suite à la sélection d'allèles adaptatifs qui confèrent, en réponse aux contraintes environnementales, la tolérance à la sécheresse et aux températures élevées. Ce

germplasme autochtone mérite donc d'être conservé et évalué afin d'être utilisé dans les programmes d'amélioration du maïs.

Toute politique de conservation des ressources génétiques nécessite une description aussi exhaustive que possible de la diversité génétique des populations locales. A cet effet, et dans l'optique de collecter et connaître la diversité du maïs algérien et de construire une collection nucléaire (Core Collection) permettant son étude et son exploitation efficace, une prospection a été menée dans le Sud algérien. Une première caractérisation de cette collection basée sur la description agro-morphologique de 10 accessions de maïs a été entreprise par Djemel et *al.*, en 2011. Cette collection a montré une certaine variabilité pour l'adaptation aux conditions tempérées. Une étude plus récente a porté sur l'évaluation de la tolérance du maïs saharien à la sécheresse ; les populations étudiées peuvent être considérées comme une nouvelle source d'allèles favorables à la tolérance à ce type de stress (Djemel et *al.*, 2018). En utilisant l'approche moléculaire, qui permet une mesure directe de la diversité génétique (Gauthier et *al.*, 2002; Cömertpay et *al.*, 2012; Govindaraj et *al.*, 2015), Aci et *al.*, (2013) ont évalué la diversité génétique de 15 accessions à l'aide de 18 marqueurs SSRs. Or, compte tenu du nombre limité d'accessions ayant fait l'objet de caractérisation, ces études préliminaires restent insuffisantes pour caractériser le germplasm du maïs Algérien.

Ainsi, dans le but de contribuer à l'établissement d'une collection convenablement caractérisée sur le plan agro-morphologique et génétique, nous avons procédé, à travers la présente étude qui a fait l'objet d'une collaboration avec le laboratory of Plant Genetics au niveau du département d'AGRARIA de l'Université degli Studi Mediterranea di Reggio Calabria (Italie), à la réalisation des objectifs suivants :

- La caractérisation agro-morphologique de 60 accessions de maïs provenant des Oasis Sahariennes (Touat et Tidikelt) en se basant sur 23 descripteurs dans le but de les classer en groupes distincts et d'identifier ceux les plus performants pour la création de nouvelles variétés.
- L'évaluation de la diversité génétique ainsi que la structuration des accessions Sahariennes suite à un génotypage moléculaire en utilisant 18 marqueurs SSR. Cette analyse permet d'identifier les variations ou les similitudes génétiques ainsi que les liens qui existent entre les accessions.

- Déterminer la corrélation entre les estimations de la diversité génétique mesurée par les descripteurs agro-morphologiques et les marqueurs moléculaires.

Les objectifs assignés à notre travail se déclinent autour de trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique où seront adressés des généralités sur le maïs ainsi que les différents types de marqueurs utilisés pour l'analyse de la variabilité génétique. Dans le deuxième chapitre sont présentés le matériel végétal étudié, les méthodes d'évaluation employées ainsi que les protocoles expérimentaux et tests statistiques requis. Le dernier chapitre aborde les résultats obtenus, leurs analyses et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale résume les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

Synthèse bibliographique

I- Présentation de l'espèce

I-1- Origine et domestication

Le maïs (*Zea mays* L.) est une herbacée annuelle considérée comme étant une culture remarquablement diversifiée. Actuellement, il est cultivé dans le monde entier après sa propagation de son centre d'origine le Mexique, il y a 9000 ans (Matsuoka et al., 2002a, Van Heerwaarden et al., 2010). En effet, l'origine du maïs a fait l'objet de débat durant toute une décennie en raison de sa grande diversité phénotypique et génotypique d'une part, et son importance dans l'histoire de l'Amérique native ainsi que son rôle dans l'alimentation humaine d'autre part (Bonavia, 2014). D'après le Botaniste Russe Vavilov (1887-1943), le centre d'origine d'une espèce cultivée donnée correspond à la zone géographique où la plus grande partie de la diversité de cette culture se localise et où ses ancêtres coexistent ou ont coexisté. Ce botaniste a parcouru le monde à la recherche de plantes cultivables utiles, et grâce à ses recherches les huit régions du monde, qui concentreraient la plus grande diversité des espèces cultivées, ont été localisées (Serratos-Hernandez, 2009). Le maïs faisait partie de ces espèces, et son centre d'origine et de domestication fut situé en Amérique centrale et plus précisément au Sud du Mexique (Serratos-Hernandez, 2009).

Après Vavilov, plusieurs botanistes américains s'intéressaient à l'origine du maïs et certains chercheurs ont émis des hypothèses afin de déterminer son ancêtre. Vers la fin des années 1930, Paul Mangelsdorf et son collègue Robert Reeves ont proposé une hypothèse connue sous le nom l'hypothèse Tripartite (Mangelsdorf et Reeves, 1938,1939 ; Mangelsdorf, 1974), par le biais de laquelle les deux chercheurs ont évoqué un ancêtre inconnu pour le maïs, vu qu'ils ont remarqué l'extrême différence morphologique qui existait entre le maïs et la téosinte. Cependant, pour George Beadle, cette différence n'étant pas aussi grande, ce qui lui a conduit à proposer une autre hypothèse nommée hypothèse du téosinte (Buckler et Stevens, 2005). Elle stipule que le maïs fut domestiqué à partir du téosinte en supposant qu'à travers la sélection humaine, plusieurs petites mutations à grand effet ont conduit à la transformation du téosinte en maïs.

L'hypothèse tripartite a été largement acceptée lors de ses débuts en 1938 jusqu'à 1960. Pendant ce temps, l'hypothèse du téosinte a été abandonnée momentanément par Beadle jusqu'à 1968 où il rejoignit la controverse avec de nouvelles données pour consolider son hypothèse (Beadle, 1972, 1977, 1980). En 2002, l'étude phylogénétique entre le maïs et la téosinte à l'aide des microsatellites a confirmé ou validé l'hypothèse du téosinte en concluant que le maïs provient d'une seule domestication unicentrique qui est celle du téosinte de Balsas (*Zea mays* ssp. *parviglumis*) (Matsuoka,

2002a). Cette étude est devenue rapidement une référence pour les recherches menées sur l'histoire et l'évolution du maïs et plusieurs publications ont confirmé, par la suite, les résultats de Matsuoka et ses collaborateurs.

Au continent américain et à partir de son centre d'origine, le maïs s'est propagé, d'une part, vers le nord jusqu'au Sud-Ouest et Nord-Est des Etats-Unis puis au Canada et d'autre part vers le Sud, du Mexique à la Colombie (Tenaillon et Charcosset, 2011). Son introduction en Europe, au cours du quinzième siècle, s'est faite par deux principales voies ; la voie des Caraïbes au Sud de l'Espagne et celle du Nord-Est de l'Amérique vers le Nord de l'Europe (Rebourg et *al.*, 2003 ; Dubreuil et *al.*, 2006 a). Depuis le Nord, à travers le Sahara, cette culture atteint l'Afrique par les commerçants Arabes, ainsi que par les Portugais le long des côtes (Portères, 1955). Cette expansion géographique rapide est attribuée à la flexibilité génétique de cette culture à travers son adaptation aux différents environnements (Salmon Schreck, 2015).

I-2- Classification

Le maïs (*Zea mays* L.) est une espèce monocotylédone appartenant à la famille des Poaceae, sous-famille des Panicoideae, la tribu des Andropogoneae et au genre *Zea* (OCDE, 2003 ; USDA, 2009). Actuellement, le genre *Zea* comprend cinq espèces qui présentent majoritairement un nombre de chromosome $2n = 20$, à l'exception de *Z. perennis* (avec $2n = 40$) (Tito et *al.*, 1991; Ellneskog-Staam et *al.*, 2007). L'espèce *Z. nicaraguensis* a été décrite par Iltis et Benz, (2000) ; elle est étroitement liée à *Z. luxurians*, mais actuellement le nombre de chromosomes et la compatibilité sexuelle avec d'autres *Zea ssp.* sont inconnus (Australian Government, 2008).

Sur la base des caractéristiques morphologiques, enzymatiques, cytoplasmiques et celles ayant trait aux protéines du grain, et des délimitations géographiques, les cinq espèces du genre *Zea* sont :

- ***Zea diploperennis*** Iltis, Doebley & Guzman ($2n=20$), une téosinte diploïde pérenne, trouvé dans des régions très limitées des hautes terres de l'ouest du Mexique.
- ***Zea perennis*** (Hitchcock) Reeves & Mangelsdorf ($2n=40$), une téosinte tétraploïde pérenne avec une distribution très étroite dans les hauts plateaux de l'ouest du Mexique.
- ***Zea luxurians*** (Durieu & Ascherson) Bird ($2n=20$), une téosinte annuelle trouvé dans les régions équatoriales du sud-est du Guatemala et du Honduras.

- *Zea nicaraguensis* Iltis & Benz (2n= ?), étroitement liée à *Zea luxurians* et trouvée dans des environnements mésiques au Nicaragua (Iltis et Benz, 2000).

- *Zea mays* L. (2n=20), une espèce annuelle hautement polymorphe et diploïde, comprenant la téosinte sauvage et le maïs cultivé (Buckler et Stevens, 2005).

Cette dernière espèce, *Zea mays*, est divisée en quatre sous-espèces qui sont :

- *Z. mays* L. ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley, une téosinte annuelle trouvé dans quelques régions montagneuses du nord-ouest du Guatemala.
- *Z. mays* L. ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis, une téosinte annuelle des hauts plateaux du centre et du nord du Mexique.
- *Z. mays* L. ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley, une téosinte annuelle, commun dans les altitudes moyennes et basses du sud-ouest du Mexique.
- *Z. mays* L. ssp. *mays*, maïs ou "maïs indien", probablement domestiqué dans la vallée de la rivière Balsas, dans le sud du Mexique (Buckler et Stevens, 2005).

La sous espèce *Z. mays* ssp. *mays* est considérée comme la seule espèce cultivée; les autres espèces et sous-espèces sont des herbes sauvages, appelées téosintes (Australian Government, 2008).

I-3- Génome du maïs

Le génome du maïs est génétiquement diploïde, son annotation prédit 4200 à 5600 gènes (Australian Government, 2008) répartis sur dix chromosomes pour une taille de 2,3 à 2,7 Gb (Rayburn et al., 1993 ; Bennetzen, 2009 ; Schnable et al., 2009 ; Zhou et al., 2009). En effet, beaucoup de travaux ont porté sur la caractérisation du génome du maïs (Messing & Dooner, 2006 ; Rabinowicz & Bennetzen, 2006) qui apparemment présente un pourcentage élevé de duplications chromosomiques et de séquences d'ADN répétitif. Ces séquences répétées comprends les transposons et les rétrotransposons (Hake & Walbot 1980 ; Liu et al., 2007) qui représentent 74 % (Baucom et al., 2009) à 85 % (Schnable et al., 2009) de l'ensemble du génome , alors que les gènes du maïs ne représentent que 10 à 20 % (Barakat et al., 1997). Selon Hake et Walbot, (1980) un ADN répétitif est défini comme étant un ADN avec plus de 100 copies par génome, celui du maïs est composé de 20 % d'ADN hautement répétitif (plus de 800 000 copies par génome) et 40 % d'ADN moyennement répétitif (plus de 1000 copies par génome).

Les ADN répétitifs font parties des principaux mécanismes ayant contribué à l'évolution du génome du maïs et la génération d'une diversité génétique. Il s'agit principalement de la polyploïdisation (duplications du génome entier), les duplications segmentaires, la translocation de gènes ou de segments de gènes par des transposons, les événements de recombinaison et de conversion génique, les mutations de base unique et l'expansion de séquences simples répétées (Llaca et al., 2011). La polyploïdisation est, en effet, une force majeure dans l'évolution du génome des plantes. D'ailleurs, il a été estimé que 50 à 70% des plantes à fleurs ont connu un doublement chromosomique au moins une fois dans leur histoire évolutive (Wendel, 2000). Chez le maïs, des informations provenant d'une comparaison des séquences ont soutenu l'idée que le génome du maïs a subi au moins deux événements de polyploïdisation (Llaca et al., 2011). Selon Rhoades, (1951) et Helentjaris et al., (1988), la présence de duplications chromosomiques excessives chez le maïs est interprétée comme preuve d'une origine polyploïde de son génome.

De manière générale, les duplications chromosomiques peuvent engendrer des différences de contenu des gènes générées suite à une perte différentielle des copies dupliquées. De plus, les réarrangements chromosomiques tels que les inversions peuvent aussi engendrer des ruptures de synténie (Durant, 2014). Il a été ainsi démontré que deux lignées de maïs diffèrent dans la localisation de 20 % de leurs gènes (Morgante et al., 2005). En outre, les éléments transposables jouent également un rôle prépondérant dans les mouvements des gènes (Durant, 2014) ; certains d'entre eux tels que les Hélitrons (Lai et al., 2005, Morgante et al., 2005), les pack-MULEs (Jiang et al., 2004), les CACTA et les rétrotransposons à LTR (Wei et al., 2009a) sont capables de capturer des gènes ou des fragments de gènes et de les déplacer. Ces mouvements de gènes génèrent des variants structuraux de type CNV (*Copy Number Variant*) et PAV (*Presence -Absence Variant*) qui peuvent avoir un impact sur le phénotype puisque des différences de dosages de gènes peuvent se traduire par une variation de leur expression (Birchler et Veitia 2007).

En plus des polymorphismes qui affectent directement les séquences nucléotidiques, d'autres variations naturelles épigénétiques peuvent affecter la structure et l'organisation du génome (Holliday, 2006). Ces modifications mettent en jeu la méthylation de l'ADN, les modifications post-traductionnelles des histones et de petits et grand ARN non codants (Jammes, 2014). Par ailleurs, les variations de méthylation affectant le phénotype sont actuellement les phénomènes épigénétiques les plus étudiés (Holliday, 2006). Chez les maïs, les variations naturelles épigénétiques impliquées dans la méthylation de l'ADN et les modifications des histones ne sont pas encore bien connues (Durant, 2014).

1.4. Ecologie et conditions de culture

En raison de son potentiel génétique élevé et de sa large adaptabilité aux divers conditions agro-écologiques, le maïs (*Zea mays* L.) est l'une des céréales les plus polyvalentes à multiples usages, communément appelée la reine des céréales (Kumar et al., 2017). En effet, il est considéré comme la céréale dont la zone de culture est la plus vaste (Marchand et al., 1997), elle s'étend sur une large gamme d'altitudes et de latitudes, sous des températures allant du froid au très chaud, sur des terres humides ou semi-arides et dans différents types de sol (Shifraw et al., 2011). Originaire des tropiques où il est devenu une plante alimentaire à haut rendement, le maïs aujourd'hui est cultivé jusqu'à une latitude 40° sud, en Argentine et en Afrique du Sud, à la latitude 58° nord, au Canada (Marchand et al., 1997). La majorité des variétés de maïs sont cultivées à moyenne altitude, mais il est aussi cultivé sous le niveau de la mer dans les plaines de la Caspienne et jusqu'à 3 800 mètres au-dessus du niveau de la mer dans la cordillère des Andes. Sa culture continue de s'étendre vers de nouvelles surfaces et de nouveaux environnements (Paliwal, 2002).

Selon la latitude et l'environnement dans lesquels il est cultivé, le maïs est classé en deux types distincts : Le maïs cultivé sous des climats chauds, entre l'équateur et 30° de latitude nord ou sud, est appelé maïs tropical tandis que celui cultivé sous des climats plus froids, au-delà de 34° de latitude nord ou sud, est classé comme maïs tempéré. Les maïs subtropicaux sont cultivés entre 30° et 34° de latitude (Paliwal, 2002). D'après la classification de Dowswell et al., (1996), le maïs tropical est à son tour divisé en trois sous-classes: basses terres, moyennes altitudes et hautes terres. Bien qu'il ait été domestiqué et diversifié principalement dans une zone tropicale, la région méso-américaine (Matsuoka et al., 2002a), le maïs est actuellement cultivé principalement (60%) dans les régions tempérées chaudes où les conditions conviennent le mieux à sa culture (Ranum et al., 2014).

Le maïs est fondamentalement une culture de régions chaudes disposant d'une humidité suffisante (Brink et Belay, 2006), il est sensible au froid et nécessite une température minimale de 10°C pour une germination active et au moins 18°C pour sa floraison (USDA, 2009). En effet, cette culture ne peut survivre à des températures inférieures à 0°C pendant plus de 6 à 8 heures aux stades 5 à 7 feuilles (OCDE, 2003), ou si la température du jour dépasse 45° pendant de longues périodes. La croissance et le développement végétatif de la plante sont optimaux à des températures comprises entre 22 et 30°C (Verheye, 2010). Le gel n'est pas toléré par la plante (Brink et Belay, 2006) alors que le froid et l'humidité après la plantation favorise le développement de pathogènes (Verheye, 2010).

Étant une culture exigeante en eau, le maïs nécessite un apport d'eau régulier et souffre des périodes sèches intermédiaires. Ainsi, une culture pluviale a besoin de 450 à 600 mm dans les zones tempérées et de 600 à 900 mm dans les tropiques. Les précipitations devraient être bien réparties pendant la période de croissance, avec des périodes de temps clair et chaud entre les tempêtes. Lorsque les précipitations annuelles devraient tomber en dessous de 350 à 400 mm, un apport d'eau supplémentaire est nécessaire pour éviter la diminution du rendement. Un apport de 100 à 125 mm d'eau dans les 15 jours qui encadrent la floraison est considéré comme idéal. Une humidité insuffisante associée à des températures élevées à ce moment du cycle de croissance peut entraîner la perte de pollen avant l'apparition des soies, ou la mort du panicule et l'assèchement des soies. L'avortement du grain après la pollinisation est la principale cause de la réduction du rendement du maïs stressé par la sécheresse (Verheye, 2010).

Le maïs peut se cultiver sur toutes sortes de sols, mais ce sont les sols profonds, bien drainés et bien aérés, contenant suffisamment de matière organique et bien approvisionnés en nutriments qui lui réussissent le mieux (Brink et Belay, 2006). D'autres sols trop humides ou trop secs, gorgés d'eau ou appauvris en éléments nutritifs ne produiront de bonnes récoltes qu'avec une gestion adéquate et de bonnes pratiques culturales (Verheye, 2010). Il peut être cultivé avec succès sur des sols ayant un pH de 5,0 à 8,0 bien que l'optimum se situe entre 6,0 et 7,2. Il ne tolère pas l'asphyxie racinaire et il est sensible à la salinité (Brink et Belay, 2006).

1.5. Culture du maïs en Algérie

Sur le continent africain, l'introduction du maïs s'est effectuée vers le seizième siècle (Portère, 1955). L'une des voies d'introduction les plus pertinentes est celle de la méditerranée et le Nil (Portère, 1955), via l'Égypte en 1517 suite à sa colonisation par les Turks (Grigg, 1974) ou bien via l'Éthiopie par les portugais (Hafnagel, 1961). L'autre voie, opposée à la première, est celle de la côte du Guinée (Portère, 1955). Assez ancienne et très antérieure à l'occupation française (Miège, 1951), la culture du maïs en Algérie remonte au 16^{ème} siècle (Chevalier, 1932) suite à son introduction par les Arabes et les Maures (McCann, 2005). Sa culture existait principalement en Kabylie, dans le tell, mais également dans les territoires du Sud jusqu'au Soudan (Miège, 1951). En effet, connu pour être exigeant en eau, cette culture s'est paradoxalement adaptée aux conditions extrêmes qui caractérisent le climat saharien après sa culture dans les Oasis sahariennes pendant des siècles (Rahel-Bouziane, 2006).

Durant la période comprise entre 2000 et 2016, la culture du maïs a connu des fluctuations en termes de superficies cultivées (ha), production (t) et de rendement (q/ha) (Tableau 1). La production a diminué en 2002 (837 tonnes) puis a connu une sensible augmentation en 2006 (2456 tonnes) (FAOSTAT, 2018). De même, une augmentation des rendements a été enregistrée durant les années 2006 et 2007 avec un maximum de plus de 85 q/ha en 2006. Entre 2008 et 2011, la production a diminué progressivement jusqu'à 359 tonnes en 2010 pour une superficie cultivée de 139 ha. A partir de l'année 2012, la production n'a fait qu'augmenter d'année en année avec une production maximale de 3687 tonnes pour une superficie emblavée de 817 ha et un rendement de 45q/ha en 2016.

Tableau 1 : Evolution des superficies, productions et rendements du maïs en Algérie

Année	Superficie (ha)	Production (tonne)	Rendement (q/ha)
2000	430	1556	36,2
2001	400	1087	17,2
2002	250	837	33,5
2003	340	981	28,9
2004	210	679	31,8
2005	339	1148	33,9
2006	374	2456	65,7
2007	192	1644	85,6
2008	227	1015	44,7
2009	186	575	30,9
2010	139	359	25,8
2011	246	575	23,3
2012	686	1755	25,5
2013	370	1245	33,6
2014	983	2572	26,1
2015	712	2794	39,2
2016	817	3687	45,1

Source FAOSTAT, 2018

Les régions ayant un fort potentiel pour la production du maïs sont principalement Naama, Biskra, Ourgla et Ghardaïa (Allal, 2013). Selon Zeghouane, directeur de l'ITGC, il est vrai que le maïs est très demandeur en eau avec une consommation moyenne de 6000m³/ha, mais les disponibilités en ressource hydrique dans la région du Sud sont suffisantes pour développer cette culture (Allal, 2013). En effet, une production globale de 60.000 quintaux de maïs avait été enregistrée dans la wilaya de Ghardaïa en 2012 sur une superficie emblavée de 566 ha. De même, des rendements de 75 q/ha ont été obtenus à Adrar en 2013 (Belaïd, 2016). En effet, dans les Oasis de la wilaya d'Adrar, le maïs fait partie des céréales et des ressources fourragères cultivées qui font partie du patrimoine génétique du Sahara Algérien (Rahel-Bouziane, 2006). Ces espèces sont considérées comme propres à la région et sont, de ce fait, adaptées à son climat difficile (Rahel-Bouziane, 2006). En réalité, l'avantage des cultures de maïs locales sahariennes est accordé à leur cycle court qui permet une économie d'eau étant donné que la plante n'occupe pas le sol pour longtemps (Rahel-Bouziane et al., 2003). Ces cultivars locaux adaptés, suite à la sélection d'allèles adaptatifs, confèrent la tolérance à la sécheresse et aux températures élevées et sont, par conséquent, fortement préconisés pour les régions où les conditions agro-climatiques sont défavorables.

II- Etude de la variabilité génétique

II.1. Définition de la diversité génétique

Dans le monde des végétaux, il existe une grande diversité des formes de vie qui nous sont utiles, ou potentiellement utiles et qui regroupent des formes qu'on désigne comme sauvages, naturelles ou spontanées, sélectionnées ou créées par l'intervention humaine (Biston, 1998). Cette diversité génétique, nommée phytoressources génétique, constitue la matière première indispensable pour tout programme de sélection et d'amélioration des plantes (Baudoin et al., 2002 ; Kumar et Dubey 2003). L'intérêt que porte l'homme à cette diversité phytogénétique est ancien (Frankel et al., 1995) étant donné que les agriculteurs avaient toujours manipulé, choisi et utilisé les différences qu'ils percevaient entre les différentes espèces de plantes. Ces différences concernent principalement la morphologie, la productivité, la solidité, la qualité et la résistance aux ravageurs (Jarvis et al., 2012). En effet, Frankham et al., (2002) définissent la diversité génétique comme « la variabilité des allèles et des génotypes présents dans une population, qui se reflètent par les différences morphologiques, physiologiques et comportementales entre les individus et les populations ».

Les différences entre les individus, autrement dit la diversité intra-spécifique ou le polymorphisme génétique des populations représente un patrimoine adaptatif pour répondre aux changements environnementaux (Godelle et *al.*, 1998 ; Duminil, 2006). En d'autres termes, la diversité au sein d'une même espèce dépend de la capacité de celle-ci à s'adapter aux changements qui affectent son environnement. De ce fait, tous les individus d'une même espèce ne seront pas affectés de la même manière et donc répondent différemment face à ces changements.

L'importance de la diversité phytogénétique pour satisfaire les besoins à court-terme et réaliser une viabilité à long terme a été reconnue à l'unanimité (Jarvis et *al.*, 2012). Cependant, ces ressources sont confrontées à de graves menaces liées à divers défis dans le domaine du développement agricole ainsi que la modernisation de l'agriculture qui peuvent entraîner une perte de cette diversité et donc, une érosion des ressources phytogénétiques. A court terme, la réduction de cette diversité génétique entraînerait une diminution de la valeur adaptative (fitness), alors qu'à long terme elle est à l'origine d'une diminution du potentiel évolutif "capacité à s'adapter aux changements environnementaux" (Nicolic, 2005). Les rapports de la FAO, (1996) sur les pays confirment presque tous que l'érosion génétique s'installe, et reconnaissent qu'il s'agit d'un sérieux problème. Il paraît donc nécessaire de maintenir et conserver ces ressources qui constituent la base de tout programme d'amélioration génétique (Malvar et *al.*, 2007).

II. 2. Gestion et conservation des ressources génétiques

La conservation des ressources génétiques est d'autant plus importante que le phénomène de l'érosion génétique est réel. La principale cause de l'appauvrissement de la diversité génétique a été l'extension de l'agriculture commerciale moderne (FAO, 1996). En effet, dans le système agricole intensif, une faible compétitivité des variétés locales à base génétique large a été enregistrée, ce qui s'est traduit par une réduction sensible de cette diversité (Lefort et *al.*, 1998). Les nouvelles variétés de plantes cultivées introduites se sont substituées aux variétés traditionnelles, conduisant involontairement à leur perte (FAO, 1996).

La prise de conscience des menaces qui pèsent sur les ressources génétiques des plantes cultivées date des années 60 du siècle dernier (Pernes, 1984). Ce n'est cependant qu'une décennie plus tard, depuis la création du Centre International pour les Ressources Phytogénétiques (IBPGR) en 1974, que des efforts considérables ont été fournis pour la prospection et la conservation des plantes menacées d'érosion génétique (Charrier, 1992). Ces efforts ont concerné, en premier lieu, les plantes cultivées dites prioritaires puis les parents sauvages intéressants en amélioration génétique (Hoyt, 1992).

La conservation des ressources génétiques, animales ou végétales, qu'elle s'adresse aux parents sauvages des plantes cultivées ou aux cultivars locaux, qu'elle se fasse dans un but patrimonial ou pour des raisons commerciales ou encore de recherche, repose sur deux grandes modalités complémentaires, la conservation *in-situ* et *ex-situ* (Louette, 1994 ; Esquinas-Alcázar, 2005 ; Fady et *al.*, 2012). En effet, ces modalités de conservation varient en fonction de la biologie de la plante, de son mode de reproduction, de la physiologie de ses graines et du développement des techniques de culture *in vitro* (Hoyt, 1992).

II.2.1. Conservation *ex-situ*

La conservation *ex-situ* correspond à la conservation d'éléments constitutifs de la diversité biologique en dehors de leur milieu naturel (UNCED, 1992) en les plaçant dans des conditions artificielles de conservation afin de maintenir en l'état leur intégrité depuis leur collecte et pour une durée la plus longue possible (Berthaud et *al.*, 1999). Il s'agit d'une stratégie de conservation statique pour laquelle aucune évolution face aux variations environnementales ne peut se produire (Khan, 2014). Elle est particulièrement appropriée pour la conservation des plantes cultivées et de leurs espèces apparentées sauvages (William, 1991 ; Engelmann, 2010). A travers le monde, des collections des ressources génétiques des plantes cultivées sont conservées à long terme aux niveaux des banques de gènes (Van Hintum et *al.*, 2000) qui assurent le stockage de ces ressources et leur mise à la disposition des sélectionneurs (Louette, 1994). Le type de conservation *ex-situ* varie en fonction de la nature de la ressource génétique à préserver, du coût de la conservation et de la facilité de mise en œuvre (Gallard, 2010).

II.2.1.1. Collections et cores collections « collections nucléaires »

Jusqu'aux années 1970, le seul moyen de la conservation *ex-situ* des formes cultivées était les banques de gènes en champs où le matériel est maintenu sous forme végétative (Van Den Houwe et Swennen, 1998). A la fin des années 80, avec l'avancé remarquable en terme de collecte et de conservation des ressources génétiques, les collections sont devenues énormes et difficiles à régénérer et à maintenir. Cet accroissement considérable de la taille des collections, mais aussi l'insuffisance de la documentation disponible sur les échantillons ont constitué un obstacle à l'évaluation et l'utilisation effective des ressources génétiques (Holden, 1984). Il est alors apparu nécessaire d'avoir des collections de petite taille, contenant un minimum de redondance tout en présentant au mieux la diversité totale présente dans la collection ; c'est le concept de « core-collection » ou « collection nucléaire » (Frankel et Brown, 1984).

En effet, la core collection n'est pas une entité en elle-même, il s'agit d'un sous-ensemble d'accessions de l'ensemble de la collection qui capture le plus de diversité (Brown, 1989a). Le sous-ensemble ainsi formé fera l'objet d'une large caractérisation et évaluation et l'information qui en dérive pourra être exploitée pour une utilisation efficace de l'ensemble de la collection (Brown, 1989b).

En termes de dimension, la core collection contient 5 à 10 % de l'ensemble de la collection et conserve idéalement 70 % de ses allèles (Brown, 1989b). La réduction de la taille des collections aidera d'une part à réduire les dépenses nécessaires pour gérer les banques de gènes (Upadhyaya *et al.*, 2007) , et permettra d'autre part d'éviter la redondance des génotypes (doublons) souvent liée au mode de reproduction ou à la sur-représentation des variétés cultivées (Noirot *et al.*, 1999) . Cette redondance est rare chez les espèces allogames, très fréquente chez les autogames et devient commune chez les espèces apomictiques ou chez les plantes à multiplication végétative (Noirot *et al.*, 1999) .

II.2.1.2. Nouvelles méthodes de conservation

Le principe de la stratégie *ex-situ* repose sur la collecte et la conservation des organes qui permettent la production de nouveaux individus (Rousselle, 2010). Pour la plupart des espèces, les graines sont stockées dans les banques de gènes. Ceci implique la dessiccation des graines pour réduire leur teneur en eau afin de les stocker à basse température (Rao, 2004). Cependant, pour un certain nombre d'espèces, majoritairement tropicales et subtropicales, qui produisent des graines dites non orthodoxes récalcitrantes qui ne peuvent survivre à la dessiccation, la stratégie classique de stockage des semences ne peut être utilisée (Roberts, 1973 ; Engelmann et Engels, 2002). Aux espèces précédemment citées, s'ajoute également les espèces à multiplication végétative, telles que le manioc, la pomme de terre ou l'igname, dont la conservation pose également problème (Engelmann, 1992). Avec l'avancé de la biotechnologie, de nouvelles approches sont également disponibles pour la conservation du germplasma à savoir la cryoconservation, la culture des tissus, la conservation du pollen et les banques d'ADN (Callow *et al.*, 1997).

Techniques de culture *in vitro* : Au cours de ces dernières années, les techniques de culture *in vitro* ont connu un développement considérable, puisqu'elles ont été appliquées à plus de 1000 espèces végétales différentes (George, 1993 a, b). Elles sont d'un grand intérêt pour la collecte, la multiplication et le stockage du matériel génétique végétal (Engelmann, 1997 ; Pence *et al.*, 2002) particulièrement les espèces produisant des graines récalcitrantes ou ayant une voie de multiplication végétative (Engelmann et Engels, 2002) . Selon la durée du stockage désirée, il existe

différentes techniques de conservation *in vitro*. Pour une conservation à court et moyen terme, la technique de conservation en croissance ralentie est préconisée, alors que pour la conservation à long terme, la seule méthode utilisable est la cryoconservation (Rao, 2004 ; Engelmann, 2010).

Cryoconservation : une des méthodes de conservation à long terme consiste à conserver le matériel génétique à ultra- basse température, généralement celle de l'azote liquide (- 196 °C) (Hammer et Teklu , 2008). A cette température, toutes les divisions cellulaires et les activités métaboliques sont stoppées (Engelmann et Engels, 2002). En effet, certains matériels, comme les semences orthodoxes ou les bourgeons dormants, présentent des processus naturels de déshydratation et peuvent être cryoconservés sans aucun prétraitement (Engelmann, 2010). Chaque année, des recherches menées à travers le monde aboutissent à de nouvelles cryo-banques de matériel végétal pour tout type d'explants (apex, cals, embryons somatiques, graines, plantules, suspensions cellulaires...), aussi bien pour des plantes tropicales que pour des plantes de milieux tempérés (Sakai et Engelmann, 2007).

En raison des différents problèmes et limites confrontés avec les aires protégées et les banques de gènes, la cryoconservation est actuellement la seule technique permettant une conservation à long terme, à faible coût et un maximum de sécurité (Engelmann et Engels, 2002). Cependant, la connaissance de la nature du matériel végétal à conserver ainsi que les effets du gel sur les cellules et les tissus est primordial avant son usage. En effet, la réussite de cette technique est fortement liée à la capacité de surmonter les contraintes biologiques et physiques associées à une exposition à des températures extrêmement basses (-196°C) (Gallard, 2010).

Conservation du pollen et banques d'ADN

Le stockage du pollen, le plus souvent d'une durée limitée (Engels et Visser, 2003) constitue une source permanente de pollen viable pour la réalisation des fécondations difficiles à réussir en conditions naturelles (Ferreira et *al.*, 2007). De même que la conservation du pollen, qui a une vocation d'outil pour la création variétale (Gallard, 2010), le stockage de l'ADN peut être considéré non pas comme une méthode de conservation des ressources génétiques, mais comme outil pour les études phylogénétiques, phytogéographiques et celles des populations (Thormann et *al.*, 2006). Les limitations de l'usage des banques d'ADN résident dans le fait que les gènes seront séparés du phénotype et par conséquent, ces ressources d'ADN ne peuvent être criblées phénotypiquement surtout lorsqu'il s'agit de caractères agronomiques utiles (FAO ,1998). En plus, il n'est pas encore possible, à ce jour, de régénérer des plantes entières à partir d'ADNs stockés (Maxted et *al.*, 1997 ; Thormann et *al.*, 2006).

II.2.2. Conservation *in-situ*

D'après l'article 2 de la convention sur la diversité biologique (UNCED, 1992), la conservation *in-situ* correspond à la conservation des écosystèmes et des habitats naturels et le maintien et la reconstitution de populations viables d'espèces dans leur milieu naturel ; et dans le cas des espèces domestiquées et cultivées, dans le milieu où elles se sont développées et développé leurs caractères distinctifs. Cette stratégie de conservation est un moyen privilégié pour conserver les espèces sauvages et les ressources génétiques des espèces cultivées (Engelmann, 2010) plus particulièrement celles qui sont difficiles à conserver en banques de gènes, comme les plantes à semences récalcitrantes, ou celles qui ne peuvent pas être régénérées en dehors de leur habitat naturel (Ingram, 1984 ; FAO, 1989).

L'intérêt essentiel de la conservation *in-situ*, à l'opposé de la conservation *ex-situ*, réside dans la possibilité de maintenir les ressources génétiques dans leur milieu où elles se sont développées, ce qui permet la conservation simultanée de leur diversité génétique ainsi que leur pouvoir adaptatif continu (Louette, 1994) ; d'où la notion de gestion dynamique des ressources génétiques. Malgré les avantages de ces stratégies, la conservation à elle seule ne suffit pas ; la caractérisation, l'évaluation, la documentation et le catalogage des ressources génétiques des cultures sont nécessaires pour permettre leur utilisation efficace (Esquinas-Alcázar, 2005).

II.3. Approche de caractérisation de la variabilité génétique

La connaissance de la variation génétique dans les collections d'une espèce cultivée est d'une grande importance pour son utilisation efficace dans les programmes d'amélioration génétique (Hoxha et al., 2004 ; Reif et al., 2005 ; Shin et al., 2006 ; Laude et Carena, 2015). En effet, cette variabilité peut se concevoir comme une assurance permettant l'adaptation à de nouvelles conditions environnementales. En d'autre terme, plus une population est génétiquement diversifiée, plus elle présentera de capacités d'adaptation aux modifications survenant dans leur environnement.

L'évaluation de cette variabilité génétique, qui permet une utilisation plus efficace de celle-ci, peut se faire à l'aide d'une caractérisation morphologique et/ou génétique (marqueurs biochimiques ou moléculaires). Dans un premier temps, ce sont les marqueurs morphologiques qui ont été utilisés pour l'analyse de la diversité et le sont toujours. Plus tard, les différences cytologiques et biochimiques survenant dans les génotypes des espèces ont commencé à être utilisées, cependant l'avènement des outils génomiques, a fait que les marqueurs moléculaires sont devenus incontournables (Bhandri et al., 2017).

II.3.1. Marqueurs morphologiques et agronomiques

Les marqueurs morphologiques sont des caractères qui se manifestent à l'extérieur d'un organisme en tant que produit de l'interaction des gènes et de l'environnement (Acquaah, 2012). En d'autres termes, ces caractères sont gouvernés par un ou plusieurs gènes et sont plus ou moins influencés par l'environnement. Ainsi, un même génotype peut donner lieu à des phénotypes différents selon les conditions environnementales, alors qu'un même phénotype peut être le résultat de l'expression des différents gènes. Diverses caractéristiques taxonomiques ont été utilisées pour évaluer la diversité phénotypique et les relations entre accessions. Il s'est avéré que le choix des caractères les plus hautement héritables et les moins sujets aux biais environnementaux est un élément clé dans l'analyse de la diversité phénotypique (Sevilla et Holle, 1995).

Ces marqueurs ont déjà été utilisés avec succès dans l'étude de la diversité morphologique du maïs (Revilla et Tracy 1995 ; Beyene *et al.*, 2005a ; Salami *et al.*, 2007 ; Iqbal *et al.*, 2015 ; Kumari *et al.*, 2017 ; Quenum *et al.*, 2017) et d'autres céréales cultivées comme le blé (Martin et Ruiz, 2000; Naghavi et Amirian, 2005), le sorgho (Ayana et Bekele, 1999 ; Grenier *et al.*, 2004 ; Koffi *et al.*, 2011), le riz (Adeyemi *et al.*, 2011 ; Sanni *et al.*, 2012), le mil (Loumerem *et al.*, 2008 ; Akanvou *et al.*, 2012) et l'orge (Jaradat *et al.*, 2004) . Pour la caractérisation morphologiques du maïs, plusieurs descripteurs ont été publiés, notamment par le Conseil International des Ressources Phytogénétiques (IBPGR), le Centre International pour l'Amélioration du Blé et du Maïs (CYMMIT/IBPGR, 1991) et le descripteur publié par l'Union International pour la Protection des Variétés Cultivées des Plantes (UPOV) (UPOV, 1999, 2009). Les plus couramment utilisés sont ceux liés à la précocité, à l'architecture des plantes et au rendement (Lucchin *et al.*, 2003, Beyene *et al.*, 2005a, Obeng-Antwi *et al.*, 2012, Shrestha, 2013).

L'analyse des descripteurs morphologiques constitue une première approche dans la description du germplasm (Smith et Smith, 1989), elle révèle la diversité telle qu'elle est perçue par les agriculteurs locaux (Empereire *et al.*, 2003). Elle permet également une bonne détermination des accessions spécifiques et révèle généralement d'importants traits d'intérêt pour les sélectionneurs (Franco *et al.*, 2001). Si les caractères sont hautement héritables, les marqueurs morphologiques constituent l'un des choix pour les études de diversité, car l'hérédité du marqueur peut être contrôlée visuellement sans avoir recours aux techniques biochimiques ou moléculaires (Beyene, 2005b).

Cette caractérisation présente l'avantage d'être directe, peu coûteuse, faciles et ne nécessite pas de technologie coûteuse (Govindaraj *et al.*, 2015 ; Bhandri *et al.*, 2017). Cependant elle présente un certain nombre de limites, entre autre, un polymorphisme réduit, une héritabilité faible, une

expression tardive et surtout la vulnérabilité aux influences environnementales (Smith et Smith, 1992 ; Hoxha et *al.*, 2004) ce qui peut affecter l'estimation réelle de la variabilité génétique (Beyene et *al.*, 2006a). De plus, en raison de la nature des marqueurs morphologiques qui sont généralement dominants, il est impossible de faire la distinction entre individus homozygotes et hétérozygotes (Lefebvre et chevre ,1995 Kumar ,1999).

II.3.2. Marqueurs biochimiques

Les protéines sont les produits directs de l'expression des gènes fonctionnels (Govindaraj et *al.*, 2015), leur taille ainsi que leur composition en acides aminées est le résultat de l'information génétique portée par les séquences nucléotidiques (ADN) des gènes (AL-Huqail et Abdelhaliem, 2015). Par conséquent, toute variation induite par les mutations affectant le système protéique, est considérée comme un miroir des variations génétiques (Hamoud et *al.*, 2005). La détection de ces variations dans les populations végétales a été grandement facilitée par l'emploi de marqueurs protéiques qui peuvent être des protéines enzymatiques (allozymes) ou non enzymatique (protéines de stockage) (Karaca, 2013).

Les allozymes sont des marqueurs protéiques les plus couramment utilisés pour l'étude de la variation génétiques du maïs (Goodman et Stuber, 1983a ; Kahler, 1985 ; Wendel et *al.*, 1985). Ils peuvent être définis comme des variantes alléliques des enzymes (Mondini et *al.*, 2009) codées par un même locus génétique, assurant la même activité enzymatique , mais qui diffèrent au niveau de la structure primaire de la protéine ; cette différence concerne souvent un seul acide aminé (CIMMYT ,1988). Selon le rôle de l'enzyme et sa spécificité, le nombre d'allozymes peut varier, une enzyme agissant sur une large gamme de substrats aura une diversité plus importante qu'une enzyme très spécifique (Gillespie et Kojima, 1968).

Malgré la différence entre deux termes, les allozymes sont souvent confondus avec les isozymes (CIMMYT ,1988). Ces derniers correspondent, en effet, aux différentes formes moléculaires des enzymes, qui sont structurellement différentes, codées par plusieurs gènes et ayant la même fonction catalytique (AL-Huqail et Abdelhaliem, 2015). Ils trouvent leur origine dans les variations qui affectent les acides aminées et qui conduisent à des modifications au niveaux de la charge globale, la structure spatiale (conformation) et même les propriétés physicochimiques de la protéine (Kumar et *al.*, 2009). D'ailleurs, les allozymes peuvent être considérés comme des isozymes ayant comme critères supplémentaire d'être codés par un même locus (CIMMYT, 1988).

La détection des allozymes d'un individu pour un locus donné, peut se faire par séparation électrophorétique des différentes formes alléliques (Stuber et *al.*, 1988). Le taux de migration de ces allozymes est fonction de la taille et de la charge électrique qui sont uniques et spécifiques pour chaque variant allélique (CIMMYT, 1988). Bien que l'information fournie par l'analyse des allozymes soit très utile dans plusieurs études taxonomiques et génétiques (Doebley et *al.*, 1984 ; Smith et *al.*, 1985) , le nombre de loci polymorphes ainsi que les niveaux des polymorphismes observés sont souvent faibles (Avisé, 2004 ; Schlötterer, 2004 ; Bhandari et *al.*, 2017) , ce qui limite considérablement leur application dans les études sur la diversité génétique (Govindaraj et *al.*, 2015).

II.3.3. Marqueurs moléculaires

Considérés comme des outils puissants pour l'analyse de la diversité génétique, les marqueurs moléculaires reposent sur la mise en évidence du polymorphisme de séquences d'ADN. En effet, ces séquences déterminent la diversité des organismes, par conséquent les techniques utilisées pour évaluer ce type de polymorphisme permettent une estimation directe de la diversité présente au sein des espèces, des populations et même entre individus (Karp et *al.*, 1996 ; Hoshino et *al.*, 2012). Ces marqueurs trouvent leur origine dans les mutations qui touchent l'ADN et qui peuvent être des mutations ponctuelles, des réarrangements chromosomiques ou des erreurs de réplication de l'ADN (Paterson, 1996 ; Matsuoka et *al.*, 2002 b).

Depuis leur apparition, les marqueurs moléculaires ont modifié de façon irréversible les disciplines de la génétique et l'amélioration des plantes (Collard et Mackill, 2008). Leur usage pour l'analyse de la diversité génétique ainsi que l'analyse des empreintes génétiques s'est avéré d'une grande utilité dans la gestion efficace des collections de matériel génétique (Warburton et Hoisington, 2001). Comparer à leurs homologues phénotypiques et biochimiques, ces marqueurs offrent de nombreux avantages. Entre autres, ils couvrent un grand nombre de locus (Winter et Kahl, 1995) qui peuvent être localisés à n'importe quelle séquence sur le génome (intron, exon ou séquence régulatrice) (Mondini et *al.*, 2009). Nombreux d'entre eux sont co-dominants et peuvent ainsi différencier les génotypes homozygotes et hétérozygotes (Kesawat et Das, 2009). De plus, ces marqueurs sont neutres (Govindaraj et *al.*, 2015), sans effet pléiotropique ou épistatique (Mondini et *al.*, 2009 ; Govindaraj et *al.*, 2015), non affectés par les conditions environnementales (Duran et *al.*, 2009 ; Kesawat et Das, 2009 ; Govindaraj et *al.*, 2015) et sont indépendants de l'organe à analyser et le stade de développement de la plante (Zhang et *al.*, 2002 ; Bautista-Salas, 2009).

Plusieurs marqueurs moléculaires permettent la détection de la variabilité génétique entre les populations et entre les individus sont actuellement disponibles. Selon le mode d'action des gènes, ces marqueurs peuvent être répartis en deux grands groupes : groupe des marqueurs dominants et celui des marqueurs co-dominants.

II.3.3.1. Marqueurs dominants

La RAPD

En fonction du polymorphisme qu'elle détecte, la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams *et al.*, 1990) fait partie des techniques de révélation en masse puisque elle permet de détecter de nombreux marqueurs (fragments) simultanément. Elle repose sur l'emploi de la PCR avec des amorces courtes (6 à 10 bases) non spécifiques qui amplifient de manière aléatoire l'ADN sans avoir besoin d'une connaissance préalable des séquences génomiques (Welsh et McClelland, 1990 ; Krap *et al.*, 1998). Le polymorphisme observé entre les génotypes, révélé par présence ou absence de bande est le résultat d'une modification (mutation, insertion) au niveau du site de fixation de l'amorce (Park *et al.*, 1991). Donc c'est les amorces qui constituent les marqueurs.

La puissance de la technique RAPD réside dans sa rapidité, simplicité et son faible coût. De plus, la technique nécessite une faible quantité d'ADN et un faible niveau de technicité (Govindaraj *et al.*, 2015). Néanmoins, leur nature dominante (Williams *et al.*, 1990) et leur faible reproductibilité (Rafalsky et Tingey, 1993 ; Jones *et al.*, 1997b ; Collard *et al.*, 2005) d'une réaction à l'autre et généralement d'un laboratoire à un autre, sont les inconvénients majeurs limitant l'usage de cette technique au cours de ces dernières années.

L'AFLP

L'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) peut être considérée comme une technique intermédiaire entre la RFLP et la RAPD du fait qu'elle combine la puissance de la RAPD et la flexibilité des techniques basées sur la PCR (Mondini *et al.*, 2009). Il s'agit d'une technique de marquage moléculaire basée sur la détection des bandes polymorphes obtenues par digestion enzymatique puis amplification par PCR sélective des fragments de restriction (Vos *et al.*, 1995). C'est donc la combinaison enzyme de restriction/amorce qui permet de révéler le polymorphisme entre les individus et constitue donc le marqueur AFLP (Vos *et al.*, 1995).

Ces marqueurs ont été utilisés dans la cartographie de plusieurs espèces végétales notamment le riz (Mackill *et al.*, 1996), le maïs (Castiglioni *et al.*, 1999), la tomate (Haanstra *et al.*, 1999) et la laitue

(Jeuken et *al.*, 2001). L'un des avantages de cette technique réside dans le fait que les AFLPs font partie des marqueurs anonymes et ne nécessitent donc aucune connaissance *à priori* du génome de l'espèce étudiée (Jones et *al.*, 1997b) d'où son intérêt dans l'étude de la diversité des espèces chez lesquelles peu d'informations sur les séquences sont disponibles. De plus, cette méthode montre une reproductibilité élevée et une haute fiabilité (Muller et *al.*, 1996 ; Powell et *al.*, 1996 b ; Jones et *al.*, 1997a) , toutefois elle est confrontée aux problèmes de dominance et l'identification des individus hétérozygotes , le coût élevé ainsi que la difficulté liée à l'analyse des données (Semagn et *al.*, 2006 ; Jonah et *al.*, 2011).

II.3.3.2. Marqueurs co-dominants

La RFLP

La RFLP (Restricted Fragment Length Polymorphism) développée par Botstein et *al.*, (1980) est une technique de marquage moléculaire au cours de laquelle le polymorphisme de l'ADN est détecté par hybridation des fragments d'ADN digérés, grâce aux enzymes de restriction, par une sonde marquée chimiquement. Le polymorphisme détecté est dû à des mutations au niveau des sites de restriction de l'enzyme (polymorphisme du site de restriction) et /ou à des délétions/ insertions d'un fragment d'ADN au voisinage de la zone génomique reconnue par la sonde. C'est le couple enzyme /sonde qui constitue le marqueur (Najimi et *al.*, 2003).

Bien que cette technique soit co-dominante, hautement reproductible et permet le criblage simultané de plusieurs échantillons (Mondini et *al.*, 2009), elle est de moins en moins utilisée (Schlötterer, 2004), car elle reste très coûteuse, lente (Collard et *al.*, 2005) et techniquement difficile à mettre en place surtout les protocoles établis pour les nouvelles espèces (Avisé, 2004 ; Freeland ,2005).

Les microsatellites ou SSR

Les marqueurs SSR (simple sequence repeat), également connu sous le nom de STR (répétition courte en tandem) ou polymorphisme de longueur de séquence simple ou microsatellites, sont dans la plupart des cas, des séquences d'ADN non codantes (Jarne et *al.*,1996) constituées de quelques paires de bases répétées en tandem dont l'unité de répétition varie de 2 à 6 paires de bases (Chambers et Mc Avoy ,2000). Il peut s'agir donc d'un motif mono, di tri, tétra (Tautz, 1989) ou même hexa-nucléotidique (Oliveira et *al.*, 2006) réparti uniformément sur l'ensemble du génome et présentant un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite (Mondini et *al.*, 2009) qui varie de 5 à 50 copies

chez les plantes (Cardle et *al.*, 2000). Ces variations sont principalement dues aux erreurs de glissement de la polymérase (Schlötterer et Tautz, 1992 ; Santoni et *al.*, 2000) ainsi qu'aux mutations successives lors de la réplication de l'ADN (Ingvarsson et *al.*, 2008).

Les régions flanquantes des microsatellites, spécifiques à un locus donné (Santoni et *al.*, 2000) , ont tendance à être conservées au sein des espèces et même parfois à des niveaux taxonomiques plus élevés (Weising et *al.*, 1995 ; Govindaraj et *al.*, 2015) . Par conséquent, un microsatellite est défini par le motif répété qui le compose et la paire d'amorce unique (sens et anti-sens) qui l'encadre (Akkaya et *al.*, 1992) et servent à l'identifier et à l'amplifier.

Les microsatellites constituent le meilleur système de marquage pour de nombreux types d'analyse génétique y compris l'analyse des empreintes génétiques ainsi que l'étude de la diversité génétique (Warburton et *al.*, 2002). Outre leur répartition uniforme sur l'ensemble du génome (Powell et *al.*, 1996a), leur intérêt en cartographie génétique réside dans leur polymorphisme extrêmement élevé (Tautz, 1989), leur spécificité au locus, mais également leur caractère codominant (Morgante et Olivieri, 1993 ; Karp et *al.*, 1997). De même, les SSR sont facilement automatisés et hautement reproductibles ce qui fait d'eux d'excellents marqueurs génétiques (Matsuoka et *al.*, 2002b). Leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde nécessitant une connaissance approfondie des séquences d'ADN (Mondini et *al.*, 2009 ; Govindaraj et *al.*, 2015).

Au cours de ces dernières années, le développement de marqueurs SSR à partir des bases de données EST (Expressed Sequence Tagged ou les Étiquettes de Séquence Exprimées) plutôt que des banques génomiques s'est révélé moins laborieux et moins coûteux (Gupta et *al.*, 2003). De plus, en raison de leur association avec des séquences codantes, les EST-SSR peuvent servir à un marquage génétique direct pour la cartographie QTL des caractères agronomiques importants et augmenter ainsi l'efficacité de la sélection assistée par marqueur (SAM) (Herrmann et *al.*, 2006). Cependant, outre leur limitation aux espèces pour lesquelles ce type de base de données existe, ces microsatellites sont moins polymorphes que les SSRs génomiques à cause de la grande conservation des séquences d'ADN dans les régions transcrites (Scott et *al.*, 2000).

Polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP)

Les SNP (Single Nucleotide Polymorphism) correspondent à une forme de polymorphisme mononucléotidique engendré par une mutation ponctuelle apparue au sein des séquences codantes de l'ADN nucléaire (Vallance et *al.*, 2006) . Au niveau de ces régions codantes, les SNP lorsqu'ils sont présents, génèrent soit des mutations non synonymes entraînant un changement au niveau de la

séquence en acide aminée, ou encore des mutations synonymes qui ne modifient pas la composition en acides aminés (Mondini *et al.*, 2009). Pour un locus donné, les SNPs présentent de 2 à 4 allèles, mais le plus souvent seulement deux bases alternatives sont observées, d'où leur nature biallélique. Leur polymorphisme est fréquent chez les plantes avec un SNP toutes les 100 ou même 50 bases chez le maïs (Rafalski, 2002) ce qui peut fournir une forte densité de marqueurs près des loci d'intérêt (Picoult-Newberg *et al.*, 1999).

Contrairement aux autres marqueurs précités, la discrimination des différents allèles générés par les SNPs n'est pas fondée sur la différence de taille des séquences d'ADN (Kesawat et Kumar, 2009). Actuellement, il existe de nombreuses techniques visant à les mettre en évidence, entre autre, les balises moléculaires (molecular beacons), l'hydrolyse de sondes (Taqman assay) et les microarrays ou puce à ADN (Syvänen, 2001) qui sont l'une des plus performantes (Govindaraj *et al.*, 2015).

Chez les plantes, les SNPs sont utilisées dans plusieurs études de populations, le marquage des germplasmes, la cartographie de gènes et dans les associations génotype/phénotype (Giancola *et al.*, 2006 ; Brunel *et al.*, 2009). Outre leur usage dans la caractérisation des ressources génétiques, les SNPs peuvent servir de marqueurs pour les études de déséquilibre de liaison, études phylogénétiques mais également pour l'identification des cultivars (Rafalski, 2002). Chez le maïs, les SNPs couplés aux SSR ont été appliqués pour étudier la structure des populations ainsi que la diversité génétique (Van Inghenlandt, 2010).

II.4. Caractérisation de la diversité génétique chez le maïs

Le maïs est une plante à pollinisation croisée possédant une grande diversité génétique (Jebaraj *et al.*, 2010 ; Cholostova *et al.*, 2011 ; Prasanna, 2012) qui est trois à dix fois plus élevée que celles des autres graminées domestiques (Buckler *et al.*, 2001). Ceci est probablement due non seulement à son mode de reproduction, mais également à la diversité des environnements de culture (Aguirre *et al.*, 1998), à la présence des transposons et des rétrotransposons dans son génome (Bennetzen et Devos, 2002) et à l'existence des duplications chromosomiques qui offrent de nouvelles possibilités de mutations permettant ainsi la création d'une grande variabilité phénotypique (Helentjaris *et al.*, 1988). Selon Prasanna (2012), l'exploitation du germplasm global du maïs, riche en allèles favorables qui contribuent à augmenter les rendements ainsi que la tolérance aux stress biotique et abiotique, est limitée. Il est donc nécessaire d'exploiter toute la diversité génétique existante afin d'améliorer sa tolérance à tout type de stress (Hoxa *et al.*, 2004 ; Flint-Garcia *et al.*, 2005).

II.4.1. Caractérisation morphologique

L'évaluation de la variabilité morphologique et agronomique est particulièrement importante pour la gestion des ressources génétiques et pour l'étude du potentiel évolutif des espèces. Elle constitue également la première étape pour l'évaluation, la description et la classification du germplasm de maïs permettant ainsi son exploitation dans les programmes d'améliorations (Prasanna et Sharma, 2005 ; Wasala et *al.*, 2013).

En Europe et plus précisément en Espagne, Ruiz de Galarrata et Alvarez (2001) ont évalué et classé 100 races locales (landraces) de maïs du Nord de l'Espagne en différents groupes en se basant sur 22 caractères morphologiques. Les descripteurs de précocité, de l'architecture de la plante, des panicules, des épis et des grains ont fortement contribué à différencier 54 races Italiennes (Hartings et *al.*, 2008). Ceux employés par Lucchin et *al.*, (2003) ont révélé une faible différenciation génétique au sein de 20 populations, attribuée principalement aux flux génétiques et à l'échange de semence entre les agriculteurs. De leur côté, Ilarslan et *al.*, (2002) ont mis en évidence une variation considérable pour les caractères morphologiques et agronomiques dans une collection de maïs Turque. Au Portugal, 41 descripteurs morphologiques ont servi à l'estimation de la diversité génétique chez 43 accessions de maïs portugais (Angelo et *al.*, 2008).

Au Canada, la caractérisation de 35 populations de maïs a révélé que la plupart des caractères quantitatifs évalués présentaient des variations considérables au sein des populations qui ont été réparties en sept groupes distincts (Azar et *al.*, 1997).

En Afrique, des études sur la diversité phénotypique du maïs ont eu lieu dans plusieurs pays. En Ethiopie, l'évaluation de 180 (Beyene et *al.*, 2005 a) et 62 (Beyene et *al.*, 2006 a) accessions de maïs originaires du Nord, du Sud et de l'Ouest de l'Ethiopie à l'aide de 15 traits morphologiques a montré que les génotypes diffèrent significativement pour tous les caractères évalués. En Afrique occidentale, l'emploi de 28 traits morphologiques a révélé la présence d'un réservoir important en matière de diversité génétique (Openg-Antwi et *al.*, 2012) lors de la caractérisation de 81 accessions originaires du Ghana. De même, 16 variables qualitatives et quantitatives ont mis en évidence une grande hétérogénéité au sein de 87 accessions collectées au Sud du Bénin (Salami et *al.*, 2017). En Afrique de l'Est, plus précisément en Tanzanie, une grande variabilité a été décelée au sein des landraces originaires du Nord (Nestory et Reuben, 2016) et de différentes régions du pays (Kabululu et *al.*, 2017) ; une variabilité qui a permis d'identifier des sources potentielles de résistance à la maladie de la brûlure des feuilles (Bucheyeki, 2012). Par ailleurs, en Afrique Sub-Saharienne la caractérisation morphologique de 35 accessions de maïs a révélé une grande variabilité au sein des

populations de moyenne altitude, suivies de celles de haute puis basse altitude (Asare et *al.*, 2016). Peu d'informations sont, cependant, disponibles sur la diversité phénotypique du germplasm de maïs de l'Afrique du Nord. En Algérie, la première caractérisation morphologique a porté sur 10 accessions de maïs originaires du Sud Algérien et ayant montré une grande variabilité pour l'adaptation aux conditions tempérées (Djemel et *al.*, 2011).

A côté des descripteurs morphologiques, les marqueurs biochimiques ont également servi à caractériser et identifier les lignées de maïs (Brown et Allard 1969 ; Hunter et Kannenberg 1971 ; Gothardo et Heidrich-Sobrino, 1982 ; Goodman et Stuber, 1983b ; Lankey et *al.*, 1997) et même à étudier son origine de domestication (Doebley et *al.*, 1984). Ces marqueurs ont également été utilisés avec succès dans de nombreuses études taxonomiques et évolutives (Hamrick et Godt, 1997), cependant leur faible polymorphisme a entravé leur usage dans d'autres applications.

II.4.2. Caractérisation moléculaire

L'emploi des marqueurs moléculaires a rendu facile et a augmenté la précision lors de l'évaluation de la diversité génétique. Les RFLP sont considérés comme les premiers marqueurs moléculaires à être utilisés dans les programmes d'amélioration du maïs (Carvalho et *al.*, 2004). Au cours des années quatre-vingt-dix, ils ont servi à la caractérisation de la diversité génétique du maïs européen tempéré (Boppenmaira et *al.*, 1993) et américain (Melchinger et *al.*, 1991). Par la suite, Rebourg et *al.*, (2003) ont analysé conjointement des populations européennes et américaines en utilisant 29 loci RFLP.

Avec le progrès rapide dans le domaine de la technologie moléculaire, d'autres marqueurs ont été adoptés, entre autre, la RAPD, l'AFLP et les SSR. L'analyse comparative de la diversité génétique du maïs révélée par ces différents marqueurs a été menée par plusieurs auteurs (Pejic et *al.*, 1998 ; Hahn et *al.*, 1995 et Garcia et *al.*, 2004) qui ont montré une cohérence des informations fournies par ces marqueurs, à l'exception des RAPDs. En terme de nombre d'allèles détectés, les SSRs produisaient deux fois (100%) plus d'informations que l'AFLP et la RAPD et 40 % plus que la RFLP (Powell et *al.*, 1996c). Il semble donc que les AFLP et les SSR sont plus avantageux que les RFLP et les RAPD ; leur usage dans l'étude de la diversité génétique des populations (Reif et *al.*, 2004 ; Beyene et *al.*, 2006a) et des lignées de maïs (Smith et *al.*, 1997 ; Garcia et *al.*, 2004) s'est accompli avec succès.

Chez le maïs, les AFLP ont été employés pour étudier la relation entre les distances génétiques et la performance des hybrides en terme de rendement (Ajmone-Marsan et *al.*, 1998 ; Melchinger et *al.*, 1998), étudier la similitude génétique des lignées (Pejic et *al.*, 1998 ; Lubberstedt et *al.*, 2000 ;

Vuylsteke et *al.*, 2000b), identifier les régions chromosomiques impliquées dans la performance des hybrides et des heterosis (Vuylsteke et *al.*, 2000a) ainsi que pour la construction de la carte de liaison génétique (Vuylsteke et *al.*,1999). Cependant, leur dominance fait d'eux des marqueurs moins informatifs sur la structure génétique des populations surtout au niveau de leur composition en hétérozygotes. Les microsatellites (SSR), à leur tour, sont abondants et bien répartis dans tous le génome du maïs (Xu et *al.*, 2013). Ils ont montré un haut niveau de polymorphisme dans l'étude de la diversité génétique de cette culture (Senior et *al.*, 1998) et sont donc considérés comme des marqueurs de choix comparés aux autres marqueurs (Smith et *al.*,1997 ; Xu et *al.*, 2013).

Marqueurs SSR

Les SSR se sont révélés très utiles dans les études relatives à l'évolution du maïs. En effet, l'existence d'une grande diversité génétique au sein des landraces a poussé plusieurs auteurs à proposer l'hypothèse qui stipule l'existence de plusieurs centres d'origine. Matsuoka et *al.*, (2002b) ont mis en cause cette hypothèse et ont prouvé que le maïs est issu d'une seule domestication et d'un seul centre d'origine grâce à leur étude phylogénétique en employant 99 SSRs.

Les SSR ont également servi à la cartographie des caractères quantitatifs (QTL) qui fournissent des informations sur le nombre de gènes contrôlant les caractères ainsi que leur emplacement sur la carte de liaison. Certains QTL détectés sont impliqués dans la résistance aux virus (De Souza et *al.*, 2008), la résistance au charbon (Li et *al.*,2008) et la résistance aux mildiou (Sabry et *al.*,2006). D'autres sont reliés à la composition en nutriments sous faible teneur en azote (Liu et *al.*,2008) , au rendement en grain , à la hauteur de l'épi , au taux d'humidité (Sibov ,2003) ainsi que le rendement sous conditions de sécheresse (Xiao et *al.*,2005 ; Lu et *al.*,2006). En effet, l'analyse de 24 lignées de maïs a révélé que les marqueurs dupssr12, umc1042, bnlg1866, umc1056, dup13, umc1069, umc1962, bnlg1028 et C1344 sont impliqués dans la tolérance à la sécheresse (Dubey et *al.*, 2009).

Parmi les différents types de marqueurs basés sur la PCR, les SSR sont largement utilisés dans l'analyse de la diversité et la structure génétique du maïs. En effet, plusieurs études visant à analyser des populations de maïs à grand échelle ont été menées. Dubreuil et *al.*,(2003) ont analysé conjointement 131 populations européennes et 174 américaines en utilisant 24 SSRs . Au cour d'une autre étude, 260 lignées représentant les lignées les plus importantes des Etats-Unis, d'Europe, du Canada, de l'Afrique du Sud, de Thaïlande ainsi que celle du CIMMYT ont également fait l'objet d'une analyse de la diversité et la structure génétique en utilisant 94 SSRs (Liu et *al.*, 2003). De même, un ensemble de 155 lignées de maïs originaires des terres basses tropicales provenant du CIMMYT ont été caractérisées l'aide de 79 marqueurs SSR distribués uniformément sur tout le génome. L'analyse

des lignées tropicales Yellow et white a révélé un manque de structure au sein de ce germplasm, qui peut s'expliquer par l'origine mixte des populations utilisées pour extraire ces lignées (Xia et al., 2004). Dans le but de clarifier les origines et les modalités d'introduction du maïs en Europe, une enquête approfondie sur 275 populations de maïs d'origine européennes et américaines a fortement soutenue la voie des caraïbes et celle du Nord-Est de l'Amérique (Dubreuil et al., 2006b). Une étude plus récente visant à génotyper 1537 lignées européennes et Nord-américaines en utilisant 359 SSRs et 8244 SNPs a révélé l'organisation du germplasm européen et nord-américain en 4 clusters (Van Inghelandt et al., 2010).

A l'échelle du continent Américain, Vigoureux et al., (2008) se sont intéressés uniquement aux populations de maïs américaines afin d'élucider leur diversité génétique et leur dissémination à travers le continent. Les populations analysées comprennent 964 individus représentant presque la totalité des 350 races américaines provenant des régions géographiques allant du Sud du Chili au Canada et des pays des Andes aux îles des Caraïbes. Les résultats du génotypage avec 96 SSRs ont montré que les races mexicaines des hautes terres détenaient la plus grande diversité génétique, tandis que la plus faible s'est localisée dans les pays des Andes et du nord des Etats-Unis.

Dans l'objectif d'analyser la structuration de la diversité génétique présente dans 194 populations de maïs indigènes provenant de 23 pays d'Amérique latine et des Caraïbes, le génotypage SSR a permis d'identifier quatre groupes homogènes (Bedoya et al., 2017). Au Mexique, le centre d'origine et de domestication du maïs (Matsuoka et al., 2002a), les SSR ont été employés pour analyser la diversité et la structuration génétique des populations mexicaines (Pressoir et Berthaud, 2004; Reif et al., 2006a; Warburtun et al., 2008), mais également pour déterminer la relation qui existe entre les différentes accessions (Reif et al., 2006a). Dans le but d'évaluer la diversité du maïs indigène, considérée comme une source de nouveaux traits, Gonzalez et al., (2013) et Pineda-Hidalgo et al., (2013) ont génotypé 196 et 28 populations avec 30 et 20 SSRs, respectivement. Les auteurs ont révélé une large diversité génétique qui peut constituer un réservoir de gènes très utiles dans les programmes d'amélioration. De même, une étude similaire récente menée sur 107 populations originaires du Nord-Ouest du Mexique a prouvé le maintien d'une grande diversité intra et inter populations (Vega-Alvarez et al., 2017).

En Amérique du Sud, plus précisément en Argentine, plusieurs études génétiques régionales ont été menées afin de comprendre la diversification et la dispersion du maïs. Celle de Bracco et al., (2009) et Lia et al., (2009) ont porté sur des populations de maïs originaire du Nord-Est (NEA) et Nord-Ouest (NWA) de l'Argentine en employant 10 et 18 SSRs, respectivement. Par la suite, l'analyse

comparative de la variabilité génétique au niveau de ces deux régions a révélé que les populations du Nord de l'Argentine détenaient une diversité génétique considérable que l'on peut répartir en trois groupes distincts (Bracco et al., 2012). De même, Bracco et al., (2016) ont repris le génotypage des 19 populations NEA menée par Bracco et al., (2012) avec addition de 12 populations supplémentaires. Les auteurs remettent en question l'opinion dominante selon laquelle l'Amérique centrale est considérée comme une zone de contact entre le germplasm des Andes et celui des terres basses tropicales et mettent en évidence l'existence d'un pool génétique unique localement adapté. Olmos et al., (2014) ; Olmos et al., (2016) ont également eu recours à l'usage de 74 SSRs dans l'objectif de caractériser des lignées de maïs Argentin .

En Europe, l'emploi des SSR a permis de suivre les tendances temporelles de la diversité génétique du maïs originaire d'Europe centrale au cours des décennies précédentes à travers l'étude menée par Reif et al., (2006 b). A cet effet, 85 hybrides de maïs ainsi que leur parents denté/corné ou dent/flint ont été analysés avec 55 marqueurs SSR. Une diminution significative de la diversité génétique a été révélée au cours de cette période. Toujours à l'échelle européen, et dans l'objectif d'analyser la structuration de la diversité génétique, 72 lignées de maïs ont été réparties en deux principaux groupes chacun subdivisé en trois sous-groupes après leur génotypage à 452 loci AFLP et 93 loci SSR (Stich et al., 2006). De même, l'emploi de 20 SSRs a permis l'identification de 5 groupes distincts lors de la caractérisation de 15 hybrides de maïs originaires de différents pays, à savoir l'Italie , la Yougoslavie , la Croatie et la Turquie (Nikhou et al., 2013).

En Europe de l'Ouest, 108 accessions de maïs provenant de divers régions Suisses ont fait l'objet d'une caractérisation à l'aide de 10 SSRs (Echholz et al., 2010). La distinction entre les accessions du Nord et celles du Sud s'est traduite par la révélation de deux groupes qui se distinguent par leur données géographiques (Echholz et al., 2010 ; Freitag et al.,2012). En partant vers le Sud, et afin de comprendre la structuration des populations et la relation qui existent entre elles, 10 races et 82 lignées de maïs originaires d'Italie (Baraccia et al., 2003) et de Roumanie (Şuteu et al.,2013) ont été génotypés à l'aide des marqueurs SSR. Le germplasm du maïs originaire de la Serbie (Mikić et al., 2017), la Bulgarie (Kostova et al.,2007) et de la Turquie (Cömertpay et al.,2012) a également fait l'objet d'une caractérisation moléculaire basée sur l'emploi des SSR.

En Asie, plus précisément en Inde, une première caractérisation génétique des accessions du Nord-Est de l'Himalaya (NEH) a été menée par Sharma et al., (2010) et Singode et Prasanna, (2010) qui ont opté pour le génotypage de 48 accessions à l'aide de 41 et 42 locus SSR respectivement. Une étude complémentaire à celle précédemment citée a porté sur la caractérisation de 48 accessions de divers

sites agro-écologiques à l'exception de celles originaires du Nord-Est de l'Himalaya (Samenthi et prasanna, 2012). Le génotypage par 42 SSRs a révélé une diversité génétique considérable. D'autres études ont également porté sur l'évaluation et la structuration génétique de 10 lignées de maïsindiennes (Synrem et al., 2017) , de 124 (Qi-Lun et al., 2008) et 102 (Wei et al.,2009b) landraces chinoises , 51 lignées japonaises (Enoki et al.,2002) et 7 lignées hybrides Thaïlandaises (Phumichai et al.,2008)

En Afrique, un programme d'amélioration du maïs des hautes terres a été lancé en 1998 en collaboration avec le CIMMYT. Les objectifs initiaux du programme consistaient à faciliter la collecte, l'évaluation et la documentation des accessions de maïs des hautes terres dans les pays de l'Afrique de l'Est. Dans le cadre de ce programme, 287 accessions de maïs ont été collectées dans les régions montagneuses de l'Ethiopie. Parmi ces dernières, 62 ont été génotypées par Beyene et al., (2006b) au niveau de 20 loci afin d'estimer la diversité génétique et la relation qui existe entre ces accessions traditionnelles. Une étude similaire a été conduite par Legesse et al., (2007) pour évaluer la diversité génétique de 56 populations de maïs provenant des hautes et moyennes altitudes et originaires d'Ethiopie et du Zimbabwe. En utilisant 27 SSRs, les auteurs ont pu repartir les populations en différents groupes selon leur capacité adaptative à différentes altitudes.

Compte tenu de l'importance de la culture du maïs au Ghana, qui est considéré comme le site d'introduction du maïs au continent Africain, Oppong et al., (2014) ont caractérisé 20 populations originaires du Ghana ainsi que 4 populations témoins d'Amérique latine au niveau de 20 locus SSR. L'étude a révélé une répartition Nord /Sud des populations à travers la formation de deux grand groupes. Il est également intéressant de citer l'analyse de 1403 génotypes de maïs, qui comprend des lignées white et Yellow ainsi que des hybrides, tous originaires d'Afrique du Sud (Meinie et Fourie, 2013). Les distances génétiques de Roger's générées après génotypage avec 80 SSRs, ont permis la séparation des lignées en plusieurs groupes.

En Afrique de l'ouest et centrale, 17 lignées (Adetirimin et al., 2008) et 35 accessions de maïs (N'DA et al., 2016) ont fait l'objet d'une caractérisation à l'aide de 18 et 10 SSRs , respectivement. Nyaligwa et al., (2015) se sont intéressés à la diversité génétique présente au sein de 79 lignées élites originaires de 5 pays africains afin de détecter les génotypes uniques intéressants pour les programmes d'amélioration. Par ailleurs, en Afrique du Nord peu de travaux sur la diversité génétique du maïs ont eu lieu. En Algérie, une seule étude visant à caractériser 15 accessions originaires du Sud a été conduite par Aci et al., (2013) en employant 18 SSRs.

Marqueurs SNP

Actuellement les SNPs et les SSRs sont les marqueurs les plus couramment utilisées pour la caractérisation et l'attribution des accessions de maïs à des groupes hétérotiques (Mikić et al., 2017). En effet, cette culture est considérée très polymorphe avec une moyenne d'un SNP par 50 à 100 pb (Rafalski, 2002). De part leur abondance dans toutes les parties du génome, mais également leur adaptabilité à un génotypage automatisé, les SNP occupent une place de plus en plus importante au cours de ces dernières années. De plus, les progrès récents dans les techniques de séquençage haut débit ont conduit au développement de microarrays ou puce SNP spécifique pour le maïs capable de marquer des centaines de locus SNP simultanément. Parmi celles-ci, la puce Illumina R Maize SNP50 (Ganal et al., 2011) conférant une plus haute résolution a été largement utilisée pour les études génétiques (Huffort et al., 2013 ; Li et al., 2013). Une autre puce de génotypage à haute densité nommée Affymetrix Maize 600K a été optimisée pour le maïs tempéré européen et américain (Unterseer et al., 2014). Récemment, la puce SNP 55K, considérée comme un outil potentiellement puissant pour l'évaluation du matériel génétique, la sélection assistée par marqueurs, la cartographie des locus quantitatifs (QTL) et l'étude de l'association génomique pour le maïs tropical et tempéré, a également vu le jour (Xu et al., 2017). A titre d'exemple, Van Heerwaarden et al., (2012) ont génotypé 400 accessions de maïs en utilisant la puce Illumina R Maize SNP50. De même, un ensemble de 45 lignées de maïs originaires d'Afrique australe et des Etats - Unis ont fait l'objet d'un criblage avec 96 SNPs afin d'évaluer la diversité génétique et de classer les lignées en différents groupes hétérotiques (Richard et al., 2016).

En les comparant avec les SSR, les SNP présentent une meilleure couverture génomique (Wu et al., 2016) associée à un taux d'erreurs inférieur à celui des SSR (Jones et al., 2007c). De plus, l'emploi d'une puce SNP est 100 fois plus rapide et 4 à 5 fois moins chère qu'un génotypage SSR sur gel (Yan et al., 2010). Cependant, les SSR fournissent une résolution plus élevée que celle des SNP, étant donné que la puissance d'un SSR est similaire à celle de dix SNP (Lu et al., 2009 ; Yan et al., 2009). Ceci est attribué à la nature biallélique des SNP qui comportent moins de diversité que les SSR ayant un polymorphisme multiallélique ; ce qui fait que lors d'un génotypage SNP, un grand nombre de marqueurs est requis pour atteindre un taux de polymorphisme équivalent à celui d'un génotypage SSR (Hamblin et al., 2007). En effet, Yang et al., (2011) ont montré que les SSR sont plus informatifs que les SNP lors de caractérisation de la diversité de 155 lignées de maïs. Une étude similaire visant à étudier la capacité de 89 SSRs et 847 SNPs à déterminer la structure des populations a permis également de constater que les SSR ont mieux servi à regrouper les individus dans les populations en les comparant aux SNP (Hamblin et al., 2007).

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

La caractérisation phénotypique et moléculaire a porté sur 60 accessions de maïs (*Zea mays* L.) représentatives de la variabilité existante dans certaines Oasis du Sahara algérien. Elles font partie d'une collection de 120 accessions collectées suites à une prospection qui a été menée dans le Sud algérien. Les missions de prospection, réalisées par Khelifi et Morsli, qui visaient à collecter le maximum de diversité, ont eu lieu en 2009/ 2010 et ont couvert les différentes régions du grand Sud notamment les wilayas d'Adrar, Tamanrasset, Bechar, Ghardaïa, El-Oued et Saïda.

I.1. Présentation de la zone de prospection

Les accessions caractérisées au cours de cette étude ont été collectées principalement dans la région du Touat et du Tidikelt qui sont rattachées à la wilaya d'Adrar et de Tamanrasset (Figure 1, Tableau 2). Ces deux régions, avec leur analogue le Gourara, couvrent un cinquième du Sahara algérien et près d'un sixième du territoire national (Otmane et Kouzmine, 2013). Cet ensemble régional, le Touat, le Tidikelt et le Gourara, qui s'étale jusqu'aux confins de l'Erg oriental à l'Est, couvre en grande partie l'Erg occidental au Nord et s'ouvre sur un immense reg au Sud, le Tanezrouft (Lakhdari, 2015). Cette zone figure parmi les régions les plus arides au monde (Guillermo, 1993), l'agriculture n'est donc possible que par l'exploitation des eaux souterraines et, de ce fait, les Oasiens ont creusé aux bordures du plateau de Tademaït des galeries souterraines drainantes « Les foggaras ». Ces galeries constituent un système d'exploitation hydrique ingénieux qui distingue cette zone du Sahara des autres zones désertiques (Lakhdari, 2015).

La région du Touat, située sur les marges Ouest du plateau de Tademaït, est un chapelet de petites Oasis qui s'égrainent sur les terrasses de la rive gauche de l'Oued Messaoud. Cette vallée, fortement ensablée n'est autre que le prolongement de l'Oued Saoura qui débouchait dans la Sebkhia Mékarane (Dubost et Moguedet, 1998). Elle comprend douze communes, Tsabit, Sbaa, Bouda, Adrar, Timmi, Tamantit, Fenoughil, Tamest, Zaouit-kounta, In Zeghmir, Sali et Reggane (Merzaia et al., 2016). De Tsabit à Reggane, en passant par Adrar, la capitale, on parcourt environ 150 Km et on laisse à sa droite plus d'une centaine d'agglomérations ksouriennes (Dubost et Moguedet, 1998). Grâce à son dynamisme, le Touat constitue une plaque tournante pour les communications et les routes commerciales entre le Soudan et les capitales du Maghreb central (Otmane, 2016).

La région de Tidikelt, située au Sud du plateau de Tademaït, est une dépression complexe et morcelée creusée dans le Continental intercalaire (Despois et Raynal, 1967). Ancienne entité administrative du Bas-Sahara, cette région est actuellement divisée en deux parties : le Tidikelt oriental rattaché à wilaya de Tamanrasset et ayant In Salah comme ville principale et le Tidikelt occidental structuré autour d'Aoulef, son centre culturel et économique, et faisant partie de la wilaya d'Adrar (Bouhania, 2008 ; Otmane , 2010). Réputé pour ses relations commerciales, Tidikelt est un espace de connexion entre deux voies du commerce transsaharien qui reliait le Nord du Maghreb et la boucle du Niger (Otmane, 2010).

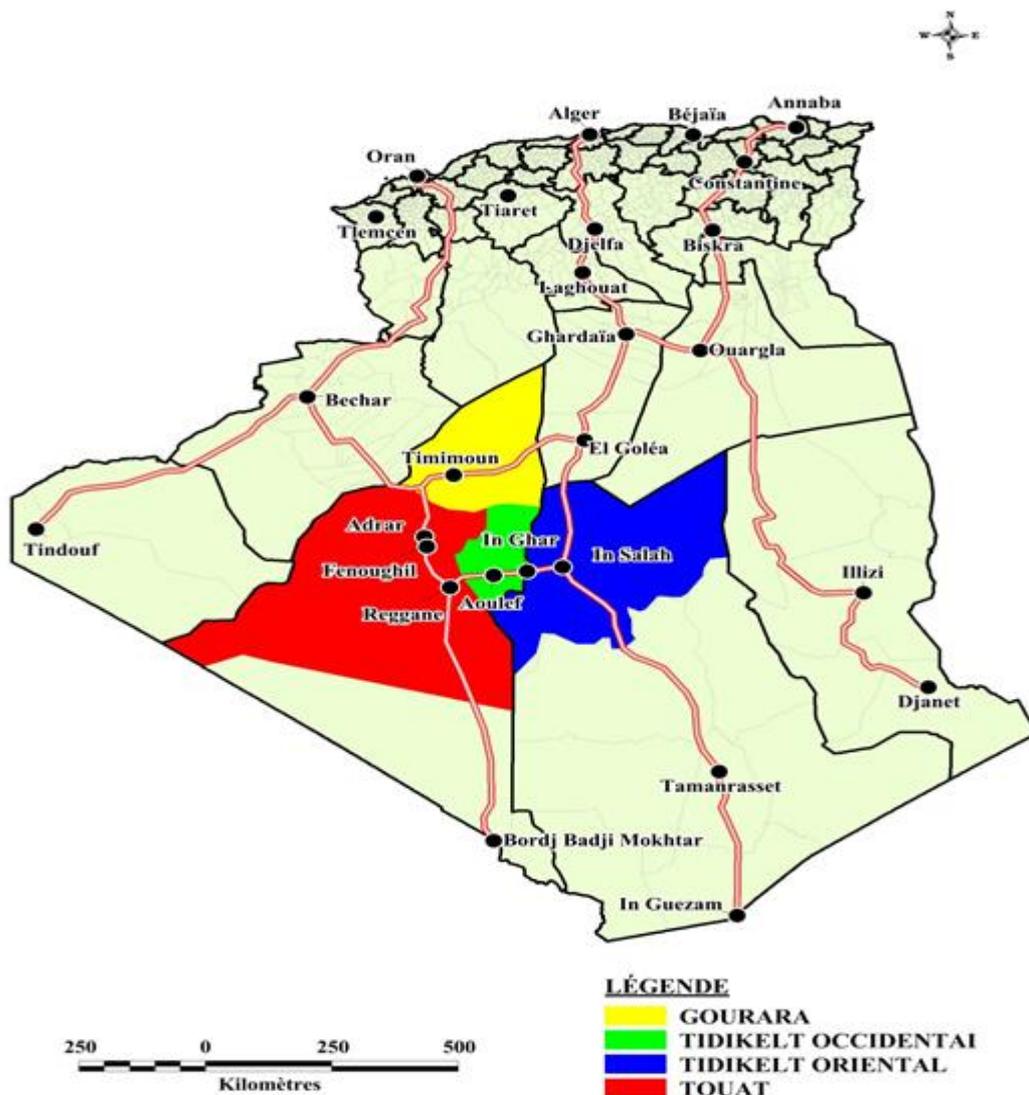


Figure 1 : Présentation des zones de prospection et de collecte des accessions de maïs.

I.2. Stratégie de prospection

L'objectif principal de la prospection est la collecte d'un maximum de diversité génétique pour l'espèce étudiée ; cette diversité conditionnera ensuite toutes les phases de l'amélioration proprement dite.

Le parcours suivi lors de la prospection a couvert 150 sites de collectes, dans près de 35 daïra (villages) localisés dans les wilayas de Saïda, El-Oued, Béchar, Ghardaïa, Adrar et Tamanrasset. Une attention particulière a été accordée au choix des sites de collectes dans la mesure où des enquêtes ont été menées avec les agriculteurs pour identifier les parcelles où il existait des plantations anciennes de maïs et où il n'existait pas de variétés commerciales. Ces plantations se trouvaient principalement dans les ksours sous forme de petites exploitations agricoles. En revanche, les parcelles localisées au niveau des villages, pouvant abriter des variétés commerciales importées, ont été écartées.

Une fiche de récolte a été remplie dans chaque parcelle récoltée. Chaque prélèvement est suivi d'un entretien avec le paysan propriétaire de la parcelle. Les informations relatives aux noms du paysan, à la variété, à la localisation du village, à l'origine des semences, aux techniques culturales, aux attaques parasitaires et à la performance agronomique sont recueillies pour chaque échantillon. Les épis collectés ont été conservés en chambre froide (4°C).

Tableau 2 : Présentation des 60 accessions Algériennes de maïs ayant fait objet de la présente étude, leur origine ainsi que leurs coordonnées géographiques.

Code	Site de collecte	Village (Daïra)	Region	Latitude	Longitude
TGN	Timoghten	Aoulef	Adrar	27° 01' 00,70"N	1° 00' 23,50"E
MRG	El Mergueb	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,90"N	1° 05' 01,08"E
BMR	Bled Moulay Rechid	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E
GAG	Gaougaou	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E
ZOI	Zaouia	Aoulef	Adrar	26° 58' 26,96"N	1° 05' 01,08"E
EGC	Erg chich	Aoulef	Adrar	25° 49' 09,70"N	0° 54' 09,00"O
RGN	Reggane	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
ZRG	Zaouit - Reggani	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
IZG	Inzeglouf	Reggane	Adrar	26° 52' 55,10"N	0° 01' 04,90"O
TMD2	Timadanine	Reggane	Adrar	26° 41' 56,00"N	0° 06' 37,00" E
TNR	Tinourt	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
BAH	Boura	Reggane	Adrar	26° 13' 43,90"N	0° 32' 26,00"O
ALL	Allouchia	Reggane	Adrar	27° 39' 01,30"N	0° 18' 54,30"O
MHZ	El Maharza	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
GNJ	Gasbet Nadjar	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
BAL	Bab Allah	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
MHF	Mahfoud	Reggane	Adrar	26° 42' 56,70"N	0° 10' 17,00"E
TAO	Taourirt	Reggane	Adrar	26° 42' 14,60"N	0° 13' 01,90"E
TMR	Tiouliline	Zaouiet kounta	Adrar	27° 02' 20,80"N	0° 05' 38,30"O
BAJ	Bouaj	Zaouiet kounta	Adrar	27° 52' 21,13" N	0° 17' 13,47" E
TLC	Tittaouine ech cheurfa	Zaouiet kounta	Adrar	27° 04' 00,90" N	0° 06' 17,00"O
TTW	Titawine	Zaouiet kounta	Adrar	27° 13' 27,21"N	0° 12' 00,20"O
TDM1	Tidmaine	Zaouiet kounta	Adrar	27° 05' 37,80"N	0° 07' 14,20"O
IZM	Inzegmir	Zaouiet kounta	Adrar	27° 05' 47,70"N	0° 08' 23,70"O
AZA	Azoua	Zaouiet kounta	Adrar	27° 06' 49,70"N	0° 08' 15,10"O
TWR	Tiwririne	Zaouiet kounta	Adrar	27° 19' 37,30"N	0° 13' 21,70"O
DRR	Adrour	Zaouiet kounta	Adrar	27° 52' 27,40"N	0° 17' 38,00"O
AGL	Arhil	Zaouiet kounta	Adrar	27° 21' 09,40"N	0° 13' 55,30"O
TMT	Timmassekh	Zaouiet kounta	Adrar	27° 22' 37,30"N	0° 15' 27,40"O
IKS	Ikkas	Zaouiet kounta	Adrar	27° 24' 23,10"N	0° 15' 37,80"O
LHM	El ahmar	Zaouiet kounta	Adrar	27° 25' 20,80"N	0° 15' 05,60"O

Matériels et méthodes

EDD	El Djedid	Zaouiet kounta	Adrar	27° 27' 35,40"N	0° 16' 21,20"O
BYY	Oulad bou yahia	Zaouiet kounta	Adrar	27° 28' 01,90"N	0° 16' 28,80"O
ANT	Ouled antar	Zaouiet kounta	Adrar	27° 26' 49,60"N	0° 16' 02,80"O
TBR	Taberkant	Zaouit kounta	Adrar	27° 13' 50.20"N	0° 12' 31.50"O
AMR1	Bahmer	Fenoughil	Adrar	27° 29' 38,30"N	0° 17' 12,30"O
AMR2	Bahmer	Fenoughil	Adrar	27° 29' 38,30"N	0° 17' 12,30"O
SDY	Bour Sidi Youssef	Fenoughil	Adrar	27° 33' 39,20"N	0° 18' 34,00"O
FNG	Fenoughil	Fenoughil	Adrar	27° 40' 27,66"N	0° 18' 00,30"O
BFD	Bouffaddi	Fenoughil	Adrar	27° 42' 44,40"N	0° 16' 22,70"O
TMN	Tamentit	Fenoughil	Adrar	27° 45' 37,80"N	0° 15' 35,90"O
SBK	Zaouia Sidi Bekri	Fenoughil	Adrar	27° 47' 32,90"N	0° 14' 48,40"O
BNT	Beni tamer	Adrar	Adrar	27° 49' 41,30"N	0° 16' 13,50"O
MSR	El mansour	Adrar	Adrar	27° 37' 20,30"N	0° 18' 24,80"O
TLL	Tililane	Adrar	Adrar	27° 53' 52,90"N	0° 14' 54,10"O
AGH	Adgha	Adrar	Adrar	27° 52' 06,12"N	0° 18' 06,09" O
AAS	Ouled Aroussa	Adrar	Adrar	27° 47' 46.80"N	0° 17' 07.50"O
IGS	Igostenne	In salah	Tamanrasset	27° 15'0 2.60"N	2° 38' 05.70" E
FEZ	Foggaret ez zoua	In salah	Tamanrasset	27° 21' 33,28"N	2° 50' 42,87" E
INS 1	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
INS 2	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
INS 3	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
INS 4	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
INS 5	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
INS 6	In Salah	In salah	Tamanrasset	27° 11' 48,40"N	2° 28' 44,90" E
IGR1	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,13" E
IGR 2	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,10" E
IGR 3	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,13" E
IGR 4	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,13" E
IGR 5	In Ghar	In Ghar	Tamanrasset	27° 06' 27,87"N	1° 54' 18,13" E

II. Méthodologies

II.1. Caractérisation agro-morphologique

L'objectif de cette partie de l'étude est d'évaluer la diversité agro- morphologique de 60 accessions de maïs originaires des Oasis Sahariennes, notamment ceux de la région de Touat et du Tidikelt, et de déterminer leur degré de similitude ou de différence par rapport à leur répartition géographique.

II.1.1. Site de l'étude

L'essai expérimental a été mis en place au cours de la saison agricole 2013 à la station expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) située dans le Nord de la plaine Sub-littorale de la Mitidja à une altitude de 32 m et à 36°47' de latitude Nord et 2°03' de longitude Est. Cette zone est caractérisée par un climat méditerranéen à hiver doux et humide avec une pluviométrie moyenne de 600 mm. En se basant sur les analyses granulométriques et physico-chimiques (Bessaad, 2016), le sol présente une texture limoneux-argileuse et un pH légèrement alcalin.

Les conditions climatiques qui ont caractérisé la campagne agricole 2013 sont représentées dans le diagramme ombrothermique élaboré à partir des précipitations et températures moyennes mensuelles (O.N.M., 2016). Après avoir atteint une moyenne de 100 mm pendant le mois de Janvier et Février, les précipitations ont connu une baisse pendant le mois de Mars et Avril ; ce qui a coïncidé avec la période de semi de la culture. Le mois de Mai était le plus pluvieux durant toute la période de l'essai (Figure 2).

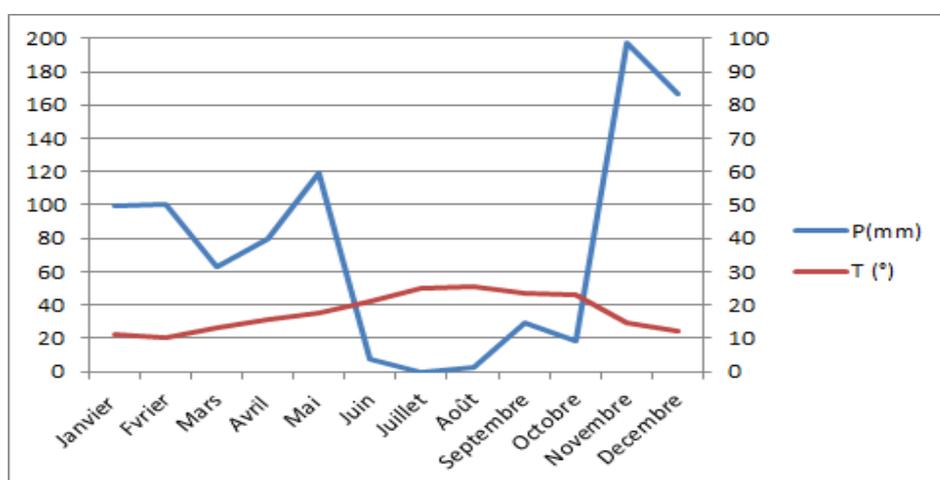


Figure 2 : Diagramme ombrothermique de la campagne agricole 2013 (O.N.M., 2016)

II.1.2. Dispositif expérimental

L'essai a été conduit suivant un dispositif de type Augmented Randomized Complete Block Design (ARCBD) tel que décrit par Federer, (1956) ; un dispositif dans lequel seuls les témoins, ayant des quantités suffisantes de semences, sont répétés dans chaque bloc. Ces témoins vont servir à l'estimation de l'erreur expérimentale ainsi que l'effet bloc (Petersen, 1985).

La parcelle expérimentale, ayant une superficie de 903 m² (43x21) comprenait trois blocs espacés de 2m. Au niveau de chaque bloc, sept témoins, dont trois sont originaires des Etats-Unis (BS17, BSL and Longfellow) et quatre d'Espagne (Norteno, Rastrojero, Tuy and Tremesino), ont été distribués de façon aléatoire. Les 60 accessions à caractériser ont également été réparties aléatoirement dans l'ensemble des blocs mais sans répétition. Au final, chaque bloc contenait 20 populations, qui diffèrent d'un bloc à un autre, et 7 témoins répétés au niveau de chaque bloc. Chaque accession a été représentée par une seule ligne de 6 m de long qui comportait 30 graines. Un espacement de 70 cm entre les lignes a permis d'obtenir une densité de 60.000 plant.h⁻¹.

II.1.3. Installation et conduite de l'essai

L'installation de l'essai a été effectuée en respectant le principe décrit par Gomez, (1972) selon lequel les blocs sont perpendiculaires à la pente tandis que les longueurs des parcelles lui sont parallèles. Un semis direct et manuel a été réalisé le 28/03/2013 à une profondeur de 3 cm et un espacement de 20 cm entre les poquets. Une fumure de type NPK (15-15-15) a été appliquée pendant la préparation du sol à raison de 150 kg/ha. L'urée (46 %) a été apportée en deux fractions, la première au stade plantule et la seconde à la montaison (45 jours après le semis) à raison de 100 kg/ha chacune.

Un désherbage chimique a porté sur l'usage d'un herbicide sélectif à base du 2.4-D et à raison d'un litre par hectare au stade début tallage. Un contrôle continu des mauvaises herbes a été effectué manuellement autant que nécessaire. L'essai a été mené en irrigué grâce au système goutte à goutte à raison de deux irrigations par semaine. Chacune dure une heure. A partir du mois de Juin, la durée de l'irrigation a été augmentée à deux heures de temps puis à trois irrigations par semaines de deux heures chacune.

II.1.4. Caractérisation de la collecte

Le choix et l'évaluation des descripteurs ont été effectués en suivant le Manuel des descripteurs du maïs publié par le Conseil International des Ressources Phytogénétiques (IBPGR ,1991) à présent l'Institut International des Ressources Phytogénétiques (IPGRI). Les données ont été collectées sur 10 plants par accession choisis aléatoirement. Un total de 23 descripteurs dont 17 quantitatifs et 6 qualitatifs ont été évalués à différents stades de développement (floraison, grain laiteux, pré-récolte, récolte et poste récolte) suivant la nature de chaque trait (Tableau 3). Les données quantitatives peuvent être réparties en deux grands groupes : les données relatives à la plante et celles relatives à l'épi.

Tableau 3 : Récapitulatif des marqueurs agro-morphologiques évalués.

Caractères quantitatifs			
Caractères	Description	Unité	Abréviation
Levée	Nombre de jours entre le semis et le jour où 50 % des plantes ont germé.	Jours	G50
Pourcentage de plantes émergées	Pourcentage de plantes émergées par rapport au nombre total semé.	%	MRG
Floraison mâle	Nombre de jours entre le semis et le jour où plus de 50 % des plantes produisent du pollen.	Jours	FM
Floraison femelle	Nombre de jours entre le semis et le jour où les soies sont visibles chez plus de 50 % des plantes.	Jours	FF
Intervalle entre la floraison mâle et femelle	Les jours à 50 % de floraison mâle – les jours à 50 % de floraison femelle.	Jours	ASI
Hauteur de la plante (cm)	Après stade grain laiteux. Du niveau du sol à la base de la panicule mâle.	cm	HP
Hauteur de l'épi (cm)	Après stade grain laiteux : Du niveau du sol au nœud d'insertion de l'épi le plus haut.	cm	HE
Longueur de l'épi (cm)	/	cm	LE
Diamètre de l'épi (cm)	Mesuré dans la partie médiane de l'épi le plus haut.	cm	DE

Diamètre de la rafle (cm)	/	cm	DRF
Diamètre du rachis (cm)	/	cm	DRC
Nombre de ligne par épi	/	/	NLE
Nombre de grain par ligne	/	/	NGL
Nombre d'épi par plant	/	/	NEP
Poids de 100 grains	/	kg	PCG
Rendement	/	Quintal.h ⁻¹	RD
Humidité à la récolte	/	%	HMR
Caractères qualitatives			
Vigueur	Une échelle de 1-9: 1= faible à 9= Vigoureux.	/	VG
Dégâts sur l'épi	Causé par pourriture et / ou insecte 0 : aucun, 3 : faible, 5 : moyen, 7 : important.	/	DG
Disposition des rangées de grains sur l'épi	Utiliser l'épi le plus haut 1 : Régulière, 2 : Irrégulière, 3 : Droite ou 4 : Spiralée.	/	DS
Forme du plus haut épi	1 : Cylindrique, 2 : cylindrico-conique, 3 : conique, 4 : sphérique.	/	FE
Type du grain	Indiquer les types de grains (3 au maximum) dans l'ordre de leur fréquence.	/	TG
Couleur du grain	Indiquer les couleurs de grains (3 au maximum) dans l'ordre de leur fréquence.	/	CG

II.2. Caractérisation moléculaire et analyse de la diversité et la structure génétique

En raison de l'importance de l'analyse moléculaire dans l'étude de diversité et de structure génétique des populations, nous avons entrepris, à côté de la caractérisation morphologique, un génotypage moléculaire des accessions de maïs à l'aide des marqueurs SSR qui sont considérés comme les plus discriminants.

Il s'agit presque du même matériel végétal précédemment utilisé pour la caractérisation morphologique à l'exception des accessions AAS, IGS, TAO et TBR ayant déjà été caractérisées sur le plan moléculaire. Après avoir stérilisé les semences de chaque accession dans une solution d'hypochlorite de sodium (20%) pendant 20 min, les graines ont été mises à germer dans des boîtes de Pétri à 25°C et à l'abri de la lumière. Pour les accessions ayant des taux de germination faible, un prétraitement avec une solution de sulfate de calcium CaSO_4 (0.5mM) sous oxygénation artificielle a été effectué.

II.2.1. Extraction de l'ADN génomique

La méthode du bulk " Bulk DNA fingerprinting method " décrite par Dubreuil et *al.*, (1999) et Rebourg et *al.*,(2001) a été adoptée pour extraire les ADN génomiques. Pour chaque accession, un bulk de 100 mg de matière fraîche a été préparé à partir d'un mélange de quantité égale de jeunes feuilles provenant de 15 individus différents. Après l'étape du broyage de ces bulks avec l'azote liquide dans des mortiers préalablement stérilisés et refroidis, l'extraction de l'ADN a été accomplie en utilisant le Kit DNeasy Plant MiniKit (Qiagen, Milano, Italy) suivant le protocole décrit par le fabricant (Annexe 1). Les ADNs extraits ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% en présence d'un marqueur moléculaire 1Kb (DNA leader Promega) afin de vérifier la présence et l'intégrité des ADNs. Par ailleurs, la concentration et le degré de pureté des ADNs sont mesurés par spectrophotométrie à l'aide du *Nanodrop* en déposant directement 1ul d'échantillon pour chaque mesure sans avoir besoin d'effectuer des dilutions.

II.2.2. Génotypage des microsatellites

Cette étape consiste en premier lieu à amplifier des microsatellites par la technique PCR, ce qui génère un polymorphisme des fragments de longueur variables d'un allèle à l'autre. En marquant l'une des amorces, nous pouvons déterminer ensuite par électrophorèse capillaire la longueur exacte de chaque allèle.

II.2.2.1. Amplification des marqueurs SSR avec la méthode M13

Principe : La technique consiste à utiliser une amorce universelle marquée par un fluorochrome afin de réduire les coûts du génotypage (Schuelke, 2000). Avec cette technique, chaque réaction PCR inclut trois amorces par locus : l'amorce sens (Forward) prolongée en 5' par l'amorce universelle, la même amorce universelle marquée et l'amorce anti-sens (Reverse) (Figure 3) (Tableau 4). L'amorce universelle utilisée dans cette étude est la queue M13 (-21) de 18 nucléotides dont la séquence est "TGTAACGACGGCCAGT" (Schuelke, 2000). Cette amorce, dérivée d'un vecteur bactérien (Steffens et al., 1993) est marquée avec un fluorochrome lui conférant un rendement élevé pour la procédure du génotypage. Dans notre cas, le fluorochrome utilisé était le 6-FAM (6-Carboxyfluorescein) de couleur bleu.

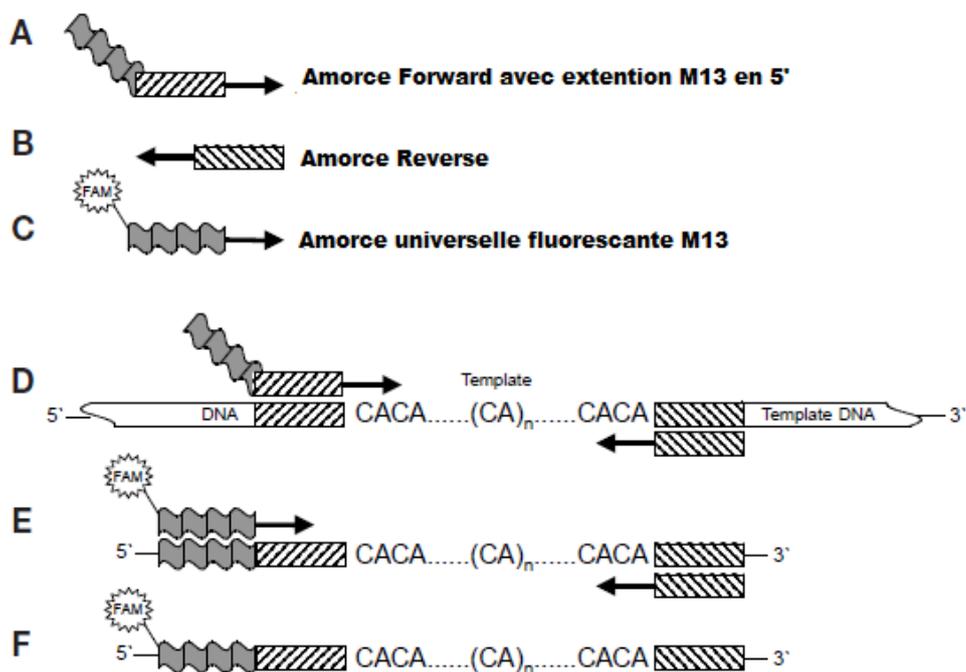


Figure 3 : Description du protocole d'amplification PCR de type M13 (Schuelke, 2000)

La réaction PCR se déroule en présence de trois amorces. (A) et (B) : représentent les amorces spécifiques aux microsatellites à amplifier avec présence de l'extension M13 en 5' de l'amorce Forward. (C) : correspond à l'amorce spécifique à la séquence M13 qui est universelle et fluorescente grâce au fluorochrome (6-FAM). (D) : Lors du premier cycle de la PCR, l'amorce sens avec l'extension M13 sont incorporés dans les produits PCR. (E) : Ces produits PCR formés constituent la cible de l'amorce fluorescente M13 qui sera par la suite incorporée lors des cycles suivants. (F) : Les produits PCR finaux marqués par le 6-FAM peuvent être visualisés grâce à un système de détection laser.

Tableau 4 : Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage des accessions de maïs

Amorce	Forward	Reverse	Bin	Motif de base	Tailles attendues	Fluorochrome
<i>umc1222</i>	CTCAGAACAGAAGCCATCAAAGC	CGTCTTCGTGAGAGACATCCTGT	1.01	(AG)20	123-219	6-FAM
<i>umc1403</i>	GTACAACGGAGGCATTCTCAAGTT	TGTACATGGTGGTCTTGTTGAGGT	1.03	(GCA)4	119-150	6-FAM
<i>umc1335</i>	ATGGCATGCATGTGTTTGTTTTAC	ACAGACGTGCCTAATTCCTGAAAG	1.06	(AG)24	105-156	6-FAM
<i>umc1165</i>	TATCTTCAGACCCAAACATCGTCC	GTCGATTGATTCCCGATGTTAAA	2.01	(TA)6	135-187	6-FAM
<i>umc1265</i>	GCCTAGTCGCCTACCCTACCAAT	TGTGTTCTTGATTGGGTGAGACAT	2.02	(TCAC)4	108-118	6-FAM
<i>phi127</i>	ATATGCATTGCCTGGAAGTGAAGGA	AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT	2.08	AGAC	108-131	6-FAM
<i>bnlg1520</i>	TCCTCTTGCTCTCCATGTCC	ACAGCTGCGTAGCTTCTTCC	2.09	(AG)22	162-198	6-FAM
<i>phi036</i>	CCGTGGAGAGACGTTTGACGT	TCCATCACCCTCAGAATGTCAGTGA	3.04	(AG)n	40-97	6-FAM
<i>umc1963</i>	CTCGTTGAGGGGATGTACAAG	CTTGCACTGGCACAGAGACG	4.04	(AGC)3	121-132	6-FAM
<i>umc1329</i>	CCTCTCACATCTCTCTCCCT	GTGTCGGTGTAGGTCTCCGTCTT	4.06	(GCC)7	75-95	6-FAM
<i>umc1225</i>	CTAGCTCCGTGTGAGTGAGTGAGT	TTCCTCTTTCTTCTGTGCAAC	5.08	(AG)6	55-128	6-FAM
<i>umc1424</i>	CCGGCTGCAGGGGTAGTAGTAG	ATGGTCAGGGGCTACGAGGAG	6.06	(TCC)7	90-150	6-FAM
<i>bnlg1740</i>	TTTTCTCCTTGAGTTCGTTTCG	ACAGGCAGAGCTCTCACACA	6.07	(AG)21	110-186	6-FAM
<i>umc1545</i>	GAAAACATGCATCAACAACAAGCTG	ATTGGTTGGTCTTGCTTCCATTA	7.00	(AAGA)4	43-90	6-FAM
<i>umc1327</i>	AGGGTTTTGCTCTTGAATCTCTC	GAGGAAGGAGGAGGTTCGTATCGT	8.01	(GCC)4	47-97	6-FAM
<i>umc1984</i>	CTCTGGCCTCTGATACCAGTTGAT	CATCCTCCTGCAGCTGTTAACTC	8.03	(CAG)3	85-116	6-FAM
<i>phi027</i>	GCGTACGTACGACGAAGACAC	CACAGCACGTTGCGGATTTCTCT	9.03	(GCGCT)n	26-78	6-FAM
<i>phi059</i>	AAGCTAATTAAGGCCGTCATCCC	TCCGTGTA CTGCGGACTC	10.02	(ACC)n	131-154	6-FAM

Protocole utilisé : Les réactions PCR ont été conduites dans un volume réactionnel de 20 µl contenant 20 ng d'ADN de chaque bulk, 2µl de tampon PCR, 1U de Taq polymérase, 0.16 µM d'amorce Forward prolongée avec une extension M13, 0.16 µM de l'amorce universelle fluorescente M13 couplée au fluorochrome 6-FAM (6-carboxy-fluoresceine) et 0.32 µM de l'amorce reverse. Le programme d'amplification est réalisé en deux boucles avec des températures d'hybridation différentes. La première boucle vise à ce que l'hybridation de l'amorce forward non marquée (queue + forward) avec l'ADN substrat soit bien spécifique (température plus élevée) , elle consiste en une

étape initiale de dénaturation à 95°C pendant 5 min, suivie de 30 cycles à 94°C /30 sec, 56°C /45 sec et 72°C /45 sec. La seconde boucle de température, qui vise à une bonne amplification de produits PCR incluant l’amorce M13 marquée, suit immédiatement la première et se déroule en 8 cycles de 94°C/30 sec ,53°C /45 sec et 72°C /45 sec (Schuelk, 2000). L’étape finale de l’extension a été accomplie à 72°C pendant 10 min (Figure 4).

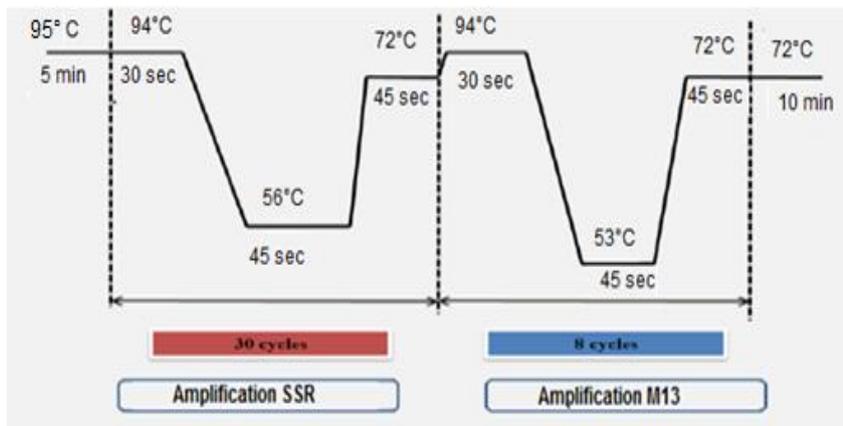


Figure 4 : Programme d’amplification utilisé pour le génotypage

II.2.2.2. Séparation par électrophorèse capillaire

Principe : Les produits d’amplification ont été visualisés par électrophorèse capillaire sur un séquenceur ABI 3500 (Applied Biosystem). Elle consiste à injecter les fragments amplifiés dans des capillaires de 36 cm remplis d’un polymère qui, sous l’influence d’un champ électrique, les fera migrer et donc les séparer selon leur taille. Les plus petits fragments passent donc en premier devant une fenêtre de lecture qui est dotée d’un laser d’excitation et d’un détecteur de la fluorescence émise. Lors de leur passage, les fluorochromes fixés sur les produits PCR seront excités et émettront, en réponse, un rayonnement saisi par le détecteur. Afin de calibrer le signal émis pour chaque fragment d’ADN et pouvoir détecter sa taille, il est nécessaire d’ajouter un marqueur de taille fluorescent avec chaque échantillon. Le logiciel couplé au séquenceur reconnaît les positions du marqueur et détermine les tailles en pb correspondantes. En utilisant une ligne de régression, le logiciel est capable d’estimer les tailles des allèles de chaque échantillon.

Protocole utilisé : Suite à l'amplification, 0.5 µl de chaque produit PCR est mélangé avec 0.4 µl de marqueur de taille marqué Gene Scan 600 Liz Size Standard (Applied Biosystem) et 9.1 µl de formamide HiDi™. Le mélange ainsi constitué est dénaturé à 95°C pendant 5min puis placé immédiatement dans la glace afin de stopper toute re-naturation éventuelle de l'ADN. Après centrifugation rapide, la microplaque est introduite dans le séquenceur.

II.2.2.3. Lecture des profils

L'analyse des profils obtenus suite aux génotypage a été effectuée avec le logiciel Gene Mapper version 5.0 (Applied Biosystem) qui nous a permis de déterminer, pour chaque bulk, les tailles brutes des fragments microsatellites amplifiés. En effet, ce logiciel présente les résultats sous forme d'électrophérogramme où chaque allèle est représenté par un pic dont la position correspond à la taille du fragment amplifié alors que la hauteur représente la fréquence de celui-ci (Figure 5). L'attribution de la taille moléculaire réelle des allèles a nécessité une lecture répétée des profils électrophorétiques en prenant bien garde aux artéfacts comme les pics parasites ou " Stutters " présents à un nucléotide d'écart par rapport aux bandes principales. A la fin de cette analyse, les hauteurs des allèles contenus dans chaque bulk sont regroupés et représentés sous forme de tableau qui constitue le jeu de données qui sera utilisé pour les analyses génétiques.

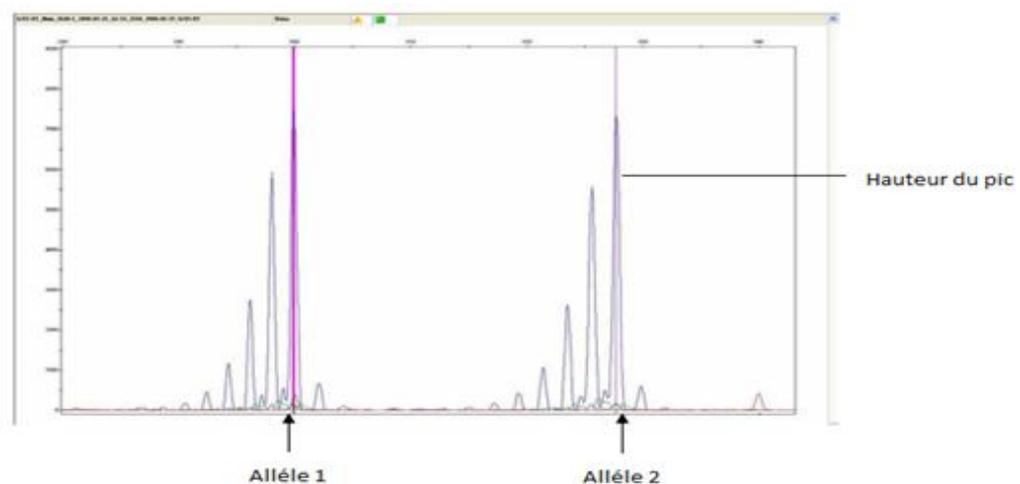


Figure 5 : Exemple d'un électrophérogramme obtenue suite à une électrophorèse capillaire sur séquenceur.

III. Analyse statistique des données

III.1. Données agro-morphologiques

Données quantitatives

Dans un premier temps, une analyse de la variance selon le model ARCBD a été effectuée à l'aide du logiciel ACBD-R par CYMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center), avec comme source de variation : bloc, témoin, accession, accession x témoin. Cette analyse a permis tout d'abord d'identifier les variables pour lesquelles il y a effet bloc. Les moyennes de ces variables sont par la suite ajustées pour toutes les accessions (non répétées) afin d'être utilisées pour le reste des analyses. Concernant l'effet accession, lorsqu'une différence significative est révélée entre les accessions pour un caractère donné, l'ANOVA est complétée par le test de comparaison des moyennes LSD (Least significant difference) effectué à l'aide du logiciel R version 3.4.1 au seuil de 5% ; l'objectif étant d'identifier les accessions qui diffèrent significativement des autres.

Le test de corrélation de Pearson prend en charge tous les traits quantitatifs afin d'estimer les corrélations entre paires de caractères au seuil de 5%. L'analyse en Composante Principale (ACP), appliquée aux variables ayant montré une différence significative entre les accessions suite à l'analyse de la variance, a permis d'identifier les traits qui différencient efficacement les accessions algériennes (XL-Stat version 2017.1). Une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) a ensuite permis de classer les accessions en clusters ou groupes homogènes selon la méthode d'agrégation de Ward, (1963) et en employant le logiciel R version 3.4.1. Avant de procéder à l'analyse multivariée (ACP et CAH), les moyennes de chaque trait ont été standardisées afin de supprimer la différence des échelles.

Données qualitatives

Dans un premier temps, nous avons analysé les caractères qualitatifs en élaborant les pourcentages des différentes modalités de chaque variable pour toutes les accessions. Par la suite, et dans l'objectif de synthétiser les informations collectées et d'évaluer les principaux caractères qui se dégagent de cet ensemble de données, une Analyse des Correspondances Multiples (ACM) suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) ont été réalisées à l'aide du logiciel XL-Stat version 2017.1 et le logiciel R version 3.4.1, respectivement.

III.2. Données moléculaires

Le tableau de données brutes présentant la hauteur des allèles contenus dans chaque bulk a été analysé à l'aide du logiciel " FreqsR " pour estimer les fréquences alléliques pour chaque accession. Par la suite, et grâce à un processus de conversion de ces fréquences alléliques à l'aide du programme F-to-L, nous avons pu déterminer la taille des allèles des individus constituant chaque bulk (Warburton et al., 2002 ; Debreuil et al., 2006 b). A partir des fréquences alléliques, divers paramètres de la diversité génétique sont calculés afin d'analyser la diversité et la structure génétique des accessions de maïs. A cet effet, quatre aspects sont pris en considération :

III.2.1. Polymorphisme des marqueurs SSR

Le nombre d'allèles par locus ainsi que l'indice de polymorphisme des loci "PIC" ont été calculés respectivement par le logiciel GenAlEx version 6.3 et Cervus version 3.0.7. En effet, le PIC nous renseigne sur la capacité d'un marqueur à détecter un polymorphisme dans une population (Botstein et al., 1980). Les valeurs du PIC varient de 0 pour les marqueurs monomorphes à 1 pour ceux hautement discriminants. Soit un locus à n allèles, l'allèle i ayant une fréquence p_i dans la population, le PIC de ce locus se calcule selon la formule décrite par Botstein et al., (1980) :

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \left[\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2 \right]$$

III.2.2. Analyse de la diversité génétique intra-accession

Dans un premier temps, l'étude a porté sur la mesure de la variabilité génétique au sein des populations étudiées. Elle a été estimée grâce aux paramètres suivants: les fréquences alléliques, le nombre moyen (N_a) et total (N) d'allèles et le nombre d'allèle efficace (N_e), le taux d'hétérozygotie (H_o et H_e), l'indice de diversité de Shannon (I) et l'écart à la panmixie (indice de fixation F_{is}). L'ensemble des paramètres de la variabilité génétique intra-accession ont été déterminés grâce aux logiciels GenAlEx version 6.3 (Peakall & Smouse 2006) et GDA (<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>).

Estimation des fréquences alléliques

Comme précédemment cité, les fréquences alléliques pour chaque accession et chaque locus ont été estimées au moyen du logiciel "Freqs R. La fréquence allélique est, en effet, le paramètre de base caractérisant une population, elle est d'une grande importance dans le processus d'évolution puisque les changements génétiques d'une population sont habituellement décrits par des changements des fréquences alléliques (Berg et Harmick, 1997).

La fréquence d'un allèle dans un échantillon est égale à deux fois le nombre d'individus homozygotes pour cet allèle (chaque homozygote porte deux copies identiques de l'allèle), plus le nombre des individus hétérozygotes comportant cet allèle (chaque hétérozygote porte une copie), divisé par deux fois le nombre total d'individus dans l'échantillon (car chaque individu porte deux allèles à ce locus) (Hartl, 1988). Pour calculer la fréquence P_i , de l'allèle i au locus k dans la population x , la formule suivante est utilisée :

$$P_{ikx} = \frac{2(n_{ii}) + n_i}{2N}$$

n_{ii} est le nombre d'individus homozygotes pour l'allèle i au locus k ,

n_i est le nombre d'individus hétérozygotes pour l'allèle i au locus k ,

N est le nombre total d'individus typés au locus k .

$$\sum_{i=1}^{l_k} P_{ik} = 1$$

Nombre moyen (N_a) et total (N) d'allèle et nombre d'allèles efficaces (N_e)

Le nombre moyen d'allèle par locus (et ou par population) traduit le polymorphisme génétique d'un locus (et ou d'une population), il est calculé selon la formule suivante :

$$N_a = \frac{1}{k} \sum_k^1 n_i$$

Avec n_i est le nombre d'allèle au locus i et k correspond au nombre de loci étudiés.

Le nombre total d'allèles (N), quant à lui, ne tient pas compte des fréquences alléliques, et donc il donne le même poids à un allèle rare qu'à un allèle fréquent dans la population. Pour pallier à ce problème, le concept du nombre d'allèles efficaces a été introduit. Il correspond au nombre théorique d'allèle possible dans une population de même taille et de même hétérozygotie à l'état stationnaire, mais dans laquelle tous ses allèles auraient la même fréquence (Kimura et Crow, 1964). Ce paramètre est plus faible que le nombre réel d'allèles sauf dans le cas où la diversité est maximale ce qui se traduit par une égalité des fréquences des différentes formes alléliques.

Taux d'hétérozygotie

L'évaluation de la variabilité génétique au sein d'une population s'effectue généralement en référence à la proportion d'hétérozygotes au niveau d'un ou plusieurs locus. La manière la plus simple est de compter le nombre d'individus effectivement hétérozygotes, ce qui permet de calculer un taux d'hétérozygotie observée (H_o). Cependant, cette proportion dépend aussi de la manière dont les couples de reproducteurs sont constitués. Ainsi, le paramètre plus employé pour apprécier la variabilité intra population est le taux d'hétérozygotie attendue ou espérée (H_e) mis au point par Nei (1987), attendu selon l'hypothèse de panmixie et compte tenu des fréquences alléliques observées. Dans une population de très grande taille, pour un locus ayant n allèles, l'allèle i ayant une fréquence P_i , le taux d'hétérozygotie attendue H_e se calcule comme suit :

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

Indice de diversité de Shannon

Ce paramètre nous renseigne sur la diversité génétique des populations, plus il est grand, moins les populations sont homogènes.

$$I = \sum_{i=1}^S (p_i * \log_2 p_i)$$

L'écart à la panmixie

Dans une population panmictique, le taux d'hétérozygotie réellement observée (H_o) est égal au taux d'hétérozygotie espérée (H_e) sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg. Un écart entre H_o et H_e peut être observé en cas de croisement non aléatoire dû à l'autofécondation ou l'autogamie. Cet écart est mesuré à l'intérieur d'une sous population par l'indice de fixation F_{is} de Wright, (1965).

$$F_{is} = 1 - \frac{H_o}{H_e}$$

- H_o : est la proportion d'individus hétérozygotes observés en moyenne dans une sous population
- H_e : est l'hétérozygotie théorique espérée ou attendue dans une population en panmixie.

Le F_{is} varie entre -1 et +1. Les valeurs négatives reflètent un excès en hétérozygotes pouvant résulter d'un flux migratoire important, alors que les valeurs positives traduisent un déficit plus ou moins important en hétérozygotes. Sous l'hypothèse panmictique, on s'attend à $F_{is}=0$.

III.2.3. Analyse de la diversité génétique inter-accession

Plusieurs approches ont permis une étude globale de la différenciation des accessions de maïs étudiées. L'indice de différenciation génétique F_{st} de Wright a été calculé sur les données globales à l'aide du logiciel GenAEx version 6.3 (Peakall and Smouse, 2006). Cet indice mesure la réduction relative des hétérozygotes liée aux différences alléliques entre sous populations. Il est directement dépendant de la subdivision et il est de ce fait utilisé pour évaluer la différenciation génétique entre les sous-populations. Sa valeur est toujours positive (0 à 1). En l'absence de subdivision $F_{st} = 0$, alors que cette valeur augmente avec le degré d'isolement des sous-populations entre elles. D'après Wright, 1978 :

- $F_{st} = 0$: les sous-populations sont identiques.
- $0 < F_{st} < 0,05$: différenciation faible,
- $0,05 < F_{st} < 0,15$: différenciation modérée,
- $0,15 < F_{st} < 0,25$: différenciation importante,
- $F_{st} > 0,25$: différenciation très importante.

La structure et le niveau de différenciation de ces populations ont également été calculés à l'aide d'Analyse Hiérarchique de Variance Moléculaire (AMOVA) réalisée par le logiciel Arlequin (Excoffier et al., 1992). Il s'agit d'une analyse de variance hiérarchique dont les données sont les distances

génétiques entre individus et dont les hypothèses sont testées par des tests de permutation 1999. L'AMOVA décompose la variance totale en trois composantes : une variation entre accessions (FST), entre individus à l'intérieur des accessions (FIS) et entre individus dans la population globale (FIT). L'hypothèse nulle du test spécifie que les individus appartiennent à une même population génétique et la significativité des hypothèses alternatives a été testée pour toutes les valeurs par 9999 permutations (logiciel Arlequin, $P < 0.05$).

III.2.4. Analyse de la structure génétique

Les approches de différenciation génétique, cité précédemment, notamment les F-statistiques et l'AMOVA, s'appuient sur des populations définies à *priori*. Or les critères retenus pour définir des populations à *priori* peuvent ne refléter que faiblement la structuration réelle. Afin de travailler sans à *priori*, une approche multilocus bayésienne a été utilisée pour classer les individus, sans prendre en compte leur origine, dans un nombre prédéfini de groupes dans l'objectif de détecter une éventuelle structuration des populations. Cette approche réalisée à l'aide du logiciel STRUCTURE (Pritchard, 2000) permet d'obtenir le nombre de groupe (K) le plus probable dans lequel se répartissent les individus étudiés. Ce nombre se détermine grâce à la distribution DeltaK en fonction de K (Evanno et *al.*, 2005). Le nombre K retenu est celui pour lequel DeltaK est maximal. Le modèle utilisé est un modèle avec admixture où le génome de chaque individu correspond à une fraction de chacun des K groupes. La structuration obtenue est représentée par un pourcentage d'appartenance de chaque individu à ces K groupes.

La différenciation génétique entre les accessions a été également étudiée par l'estimation des distances génétiques qui fait partie des méthodes les plus classiques pour l'étude des liens génétiques entre populations. En effet, la distance génétique entre deux échantillons est définie comme la proportion d'éléments génétiques qu'ils n'ont pas en commun. Ainsi, on s'attend à $D=1$ seulement lorsque deux échantillons n'ont aucun élément génétique en commun. La distance standard de Nei et Li, (1979) D_G , basée sur les fréquences alléliques, constitue la distance la plus utilisée, elle se calcule selon la formule suivante :

$$DG_{NL} = 1 - [2 N_{11} / (2 N_{11} + N_{10} + N_{01})]$$

- N_{11} est le nombre d'allèles présents chez les deux individus,
- N_{10} est le nombre d'allèles présents seulement chez l'individu i ,
- N_{01} c'est le nombre d'allèles présents seulement chez l'individu j .

Les distances génétiques calculées ont servi de matrice génétique pour établir le dendrogramme en employant le logiciel MEGA version 6 et suivant la méthode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages*). Cette méthode suppose que les vitesses d'évolution sont identiques entre les différentes branches de l'arbre (hypothèse de l'horloge moléculaire) et que la distance mesurée sur l'arbre entre deux populations est proportionnelle au temps de divergence entre ces deux populations (Berber, 2015).

III.3. Corrélation entre la caractérisation agro-morphologique et moléculaire

L'analyse conjointe des données phénotypiques et du polymorphisme moléculaire pourraient constituer une base solide pour la valorisation des ressources génétiques locales. La question qui se pose est de savoir dans quelle mesure la variabilité phénotypique observable pouvait aussi correspondre à une variabilité génotypique. Afin de répondre à cette question, la relation entre la matrice des distances euclidiennes basées sur les données morphologiques et celle des distances génétiques de Nei et Li obtenues avec les marqueurs SSR ont été analysées en utilisant le test de corrélation de Mantel, (1967) (XLSTAT, version 2017.1).

Résultats et discussion

I. Résultats

I.1. Caractérisation agro-morphologique

I.1.1. Caractères quantitatifs

I.1.1.1. Analyse de la variance (analyse globale)

L'analyse de la variance ANOVA effectuée sur les 17 variables quantitatives a indiqué que la variabilité introduite par les blocs n'a été observée que pour la hauteur du plant, la hauteur de l'épi, le diamètre de la rafle, le diamètre du rachis, le poids de 100 grains et le rendement. Les résultats de l'ANOVA ont également révélé un effet accession et témoin significatifs pour la majorité des caractères à l'exception du diamètre de l'épi, le diamètre de la rafle, la longueur de l'épi, le nombre de grains par ligne et l'humidité à la récolte (Tableau 5). De même, l'ANOVA a montré des effets accessions et témoins significatifs pour sept traits qui sont la floraison mâle et femelle, la hauteur du plant, le diamètre du rachis, le nombre de ligne par épi, le poids de 100 grains et le rendement.

Tableau 5. Degrés de liberté et carrés moyens pour les 17 variables quantitatives sur un dispositif ARCBD.

Source de variation	ddl	G50	MRG	FM	FF	ASI	HP
Blocs	2	0,79	103,06	23,1	22,3	1,71	953,35*
Témoins (T)	6	9,26**	994,74**	145,7**	154,8**	22,82**	1070,07**
Accessions (A)	59	2,31	121,81	38,2**	43,80**	4,27	523,88**
T vs A	1	169,91**	11407,1**	1137,0**	1719,8**	55,09**	44013,56**
Error	12	1,53	117,2	8,88	7,63	3,39	145,95

	ddl	HE	LE	DE	DRF	DRC	NLE
Blocs	2	646,71*	3,61	0,29	1,15**	0,20**	0,72
Témoins (T)	6	831,09**	3,96	0,18	0,39	0,03*	9,39**
Accessions (A)	59	254,17	3,45	0,07	0,13	0,04**	1,63**
T vs A	1	10056,01**	135,88**	3,73	1,01*	0,28**	0,44
Error	12	122,31	2,16	0,1	0,14	0,01	0,23

	ddl	NGL	NEP	PCG	RD	HMR
Blocs	2	7,89	0,46	0,0003**	196,57*	7,049
Témoins (T)	6	27,63	0,25	0,0001**	308,93**	10,484
Accessions (A)	59	11,89	1,16**	0,0005**	137,09*	5,019
T vs A	1	229,69**	6,94**	0,0003**	326,80*	9,475
Error	12	10,06	0,16	5,75E-06	45,63	4,3855

G₅₀: nombre de jours pour atteindre 50 % de germination ; MRG : pourcentage de plantes émergées; FF : floraison femelle ; FM : floraison mâle ; ASI : intervalle entre la floraison mâle et femelle ; HP : hauteur du plant ; HE : hauteur de l'épi ; DRF : diamètre de la rafle ; DE : diamètre de l'épi ; LE : longueur de l'épi ; DRC : diamètre du rachis ; NGL : nombre de grain par ligne ; NLE : nombre de ligne par épi , NEP : nombre d'épi par plant ; PCG : poids de 100 grains ; RD : rendement ; HMR : humidité à la récolte . (* = 0.01 < p < 0.05; ** = 0.001 < p < 0.01).

I.1.1.2. Comparaison des moyennes

Données relatives à la plante

L'évaluation des descripteurs relatifs à la plante a porté sur la levée, le pourcentage de plantes émergées, la floraison mâle et femelle, l'ASI ainsi que la hauteur de la plante et celle de l'épi.

Concernant la levée, l'analyse de la variance a mis en évidence un effet accession non significatif ($F = 1.50, P > 0.05$) (Tableau 5). Toutes les accessions n'ont atteint 50 % de levée qu'au-delà de 8 jours après le semis. L'accession IKS a mis 8 jours contrairement aux accessions TTW, EGC et AAS ayant pris un maximum de 15 jours (Figure 6). Les témoins diffèrent significativement entre eux ($F = 6.05, 0.001 < p < 0.01$) avec des valeurs maximales pour le T1 et T7.

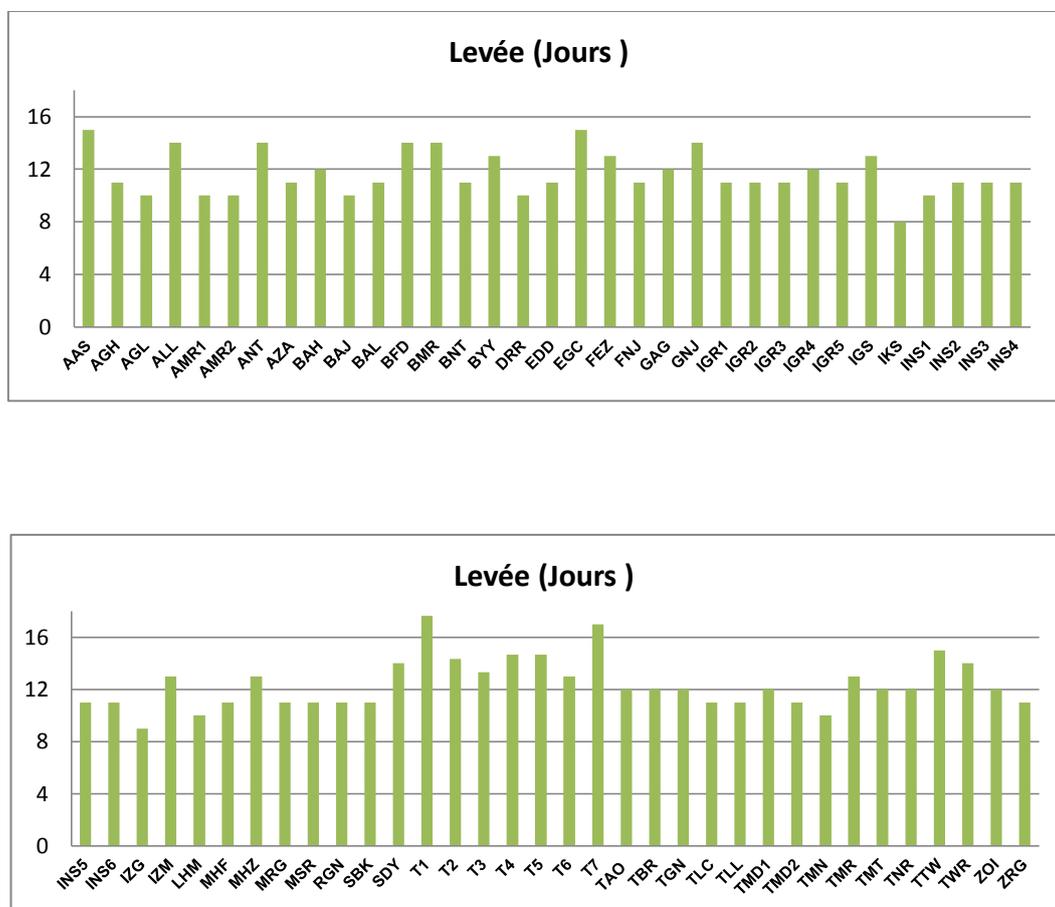


Figure 6 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la levée

Le pourcentage des plantes émergées par accession par rapport au nombre de plantes semées varie de 50 à 100 % (Figure 7). Les valeurs minimale et maximale correspondent respectivement aux populations TMD2 et MHF. En effet, 55% des accessions étudiées présentent des pourcentages de plantes émergées compris entre 60 et 80 %, alors que chez 32 % d'entre eux ces pourcentages varient de 80 à 90 %. Par ailleurs, l'analyse de la variance a montré pour ce paramètre un effet témoin très hautement significatif ($F = 8,48, P = 0.0009$) et aucun effet significatif des accessions ($F = 1.03, P = 0.5$).

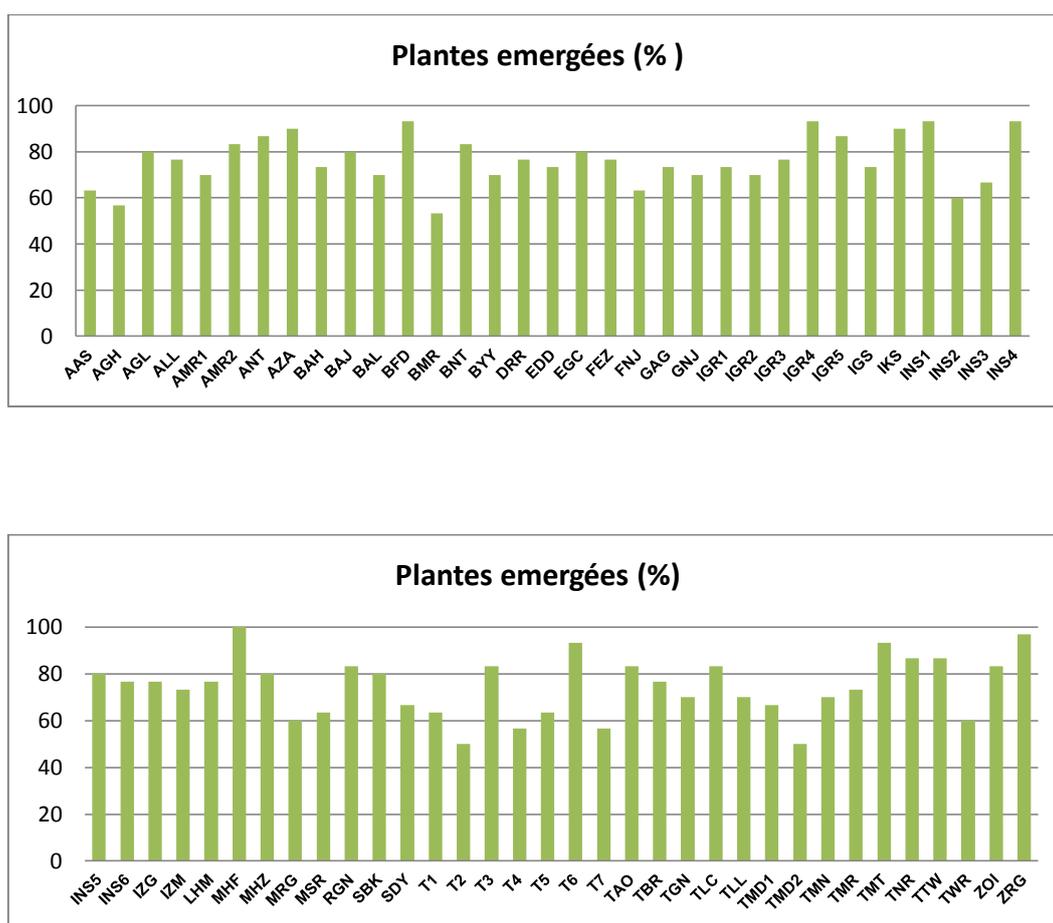


Figure 7 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le pourcentage de plantes émergées

Pour les descripteurs de précocité de la floraison mâle ($F = 4.30$, $P = 0.004$) et femelle ($F = 5.74$, $P = 0.001$), l'ANOVA a montré un effet accession hautement significatif (Tableau 5). Pour la floraison femelle, le test PPDS a permis de classer les accessions en 17 groupes homogènes dont les plus précoces sont constitués par les populations AGL, BAL, SDY, BAJ et TMD1 ayant fleuries après moins de 70 jours (Figure 8). Le groupe le plus tardif est constitué par IGR2, T6, T1, AAS, T3 et TAO (Tableau 6).

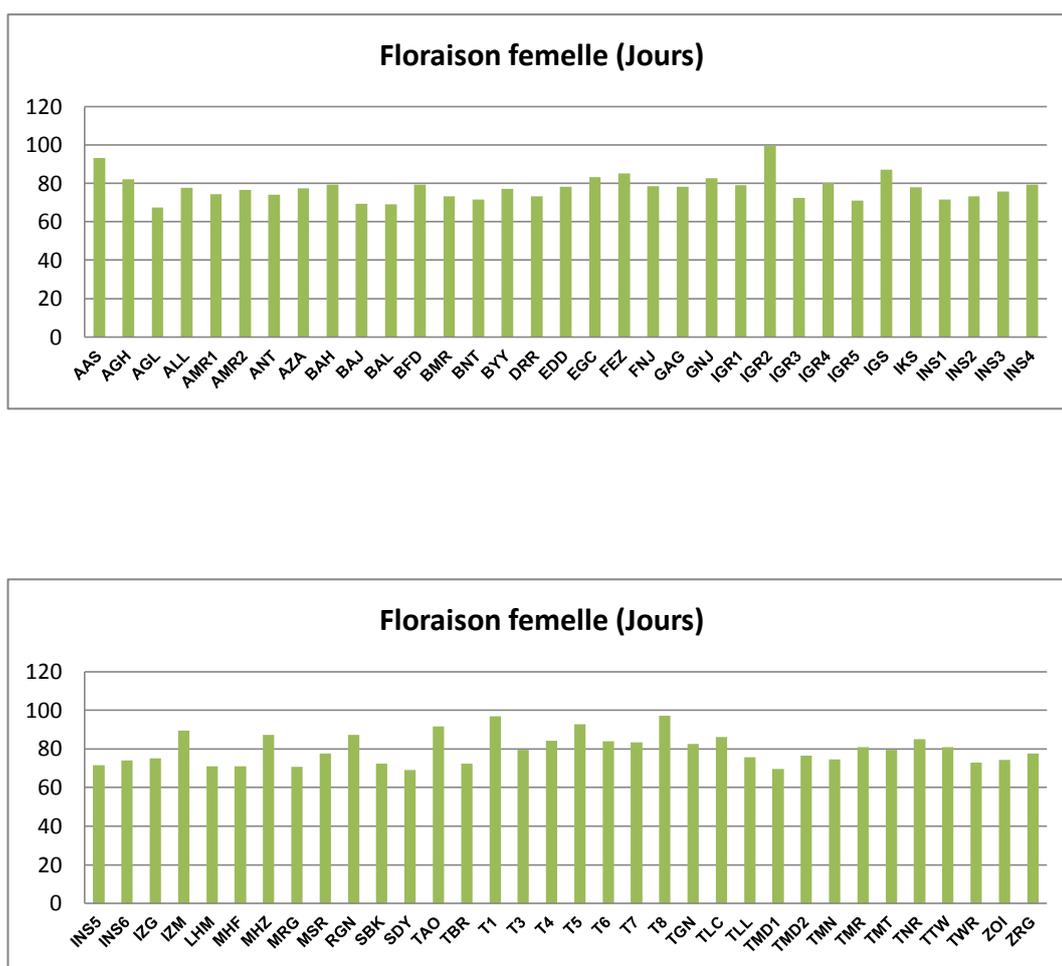


Figure 8 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la floraison femelle

Tableau 6 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur floraison femelle.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
IGR2	99,61	a	T2	79,66	efghijk	ANT	74,04	hijklmnopq
T7	97,33	a	TMT	79,61	efghijkl	INS6	74,04	hijklmnopq
T1	97	a	BAH	79,33	efghijklm	ZOI	74,33	hijklmnopq
AAS	93,33	ab	BFD	79,33	efghijklm	BMR	73,33	ijklmnopq
T4	92,66	ab	IGR1	79,04	efghijklm	DRR	73,33	ijklmnopq
TAO	91,61	ab	INS4	79,33	efghijklm	INS2	73,33	ijklmnopq
IZM	89,61	bc	FNJ	78,61	efghijklm	IGR3	72,33	jklmnopq
IGS	87,04	bcd	EDD	78,33	efghijklmn	SBK	72,33	jklmnopq
MHZ	87,33	bcd	GAG	78,33	efghijklmn	TBR	72,33	jklmnopq
RGN	87,33	bcd	IKS	78,04	efghijklmno	TWR	73,04	jklmnopq
TLC	86,04	bcde	ALL	77,61	efghijklmnop	BNT	71,61	klmnopq
FEZ	85,04	bcdef	MSR	77,61	efghijklmnop	INS1	71,61	klmnopq
TNR	85,04	bcdef	ZRG	77,61	efghijklmnop	INS5	71,61	klmnopq
T3	84,33	cdef	AZA	77,33	efghijklmnop	IGR5	71,04	lmnopq
T5	84	cdef	BYY	77,04	fghijklmnop	LHM	71,04	lmnopq
T6	83,33	cdef	AMR2	76,61	fghijklmnop	MHF	71,04	lmnopq
EGC	83,33	cdefg	TMD2	76,61	fghijklmnop	MRG	70,61	mnopq
GNJ	82,61	cdefgh	INS3	75,61	ghijklmnopq	TMD1	69,61	nopq
TGN	82,61	cdefgh	IZG	75,04	ghijklmnopq	BAJ	69,33	opq
AGH	82,04	cdefghi	TLL	75,61	ghijklmnopq	BAL	69,04	pq
TMR	81,04	cdefghij	TMN	74,61	ghijklmnopq	SDY	69,04	pq
TTW	81,04	cdefghij	AMR1	74,33	hijklmnopq	AGL	67,33	q
IGR4	80,04	defghijk						

A : accession ; M : moyenne ; GH : groupe homogène

Selon la précocité de la floraison mâle, la PPDS a permis également de dégager 12 groupes homogènes. Les accessions AGL, TMD1, BAJ, BAL, IGR5, SDY, AZA et BMR constituent les groupes les plus précoces contrairement aux génotypes IGR2, T1, T7, AAS, TLC, IGS TNR et FEZ qui constituent les groupes a et b les plus tardifs (Tableau 7, figure 9).

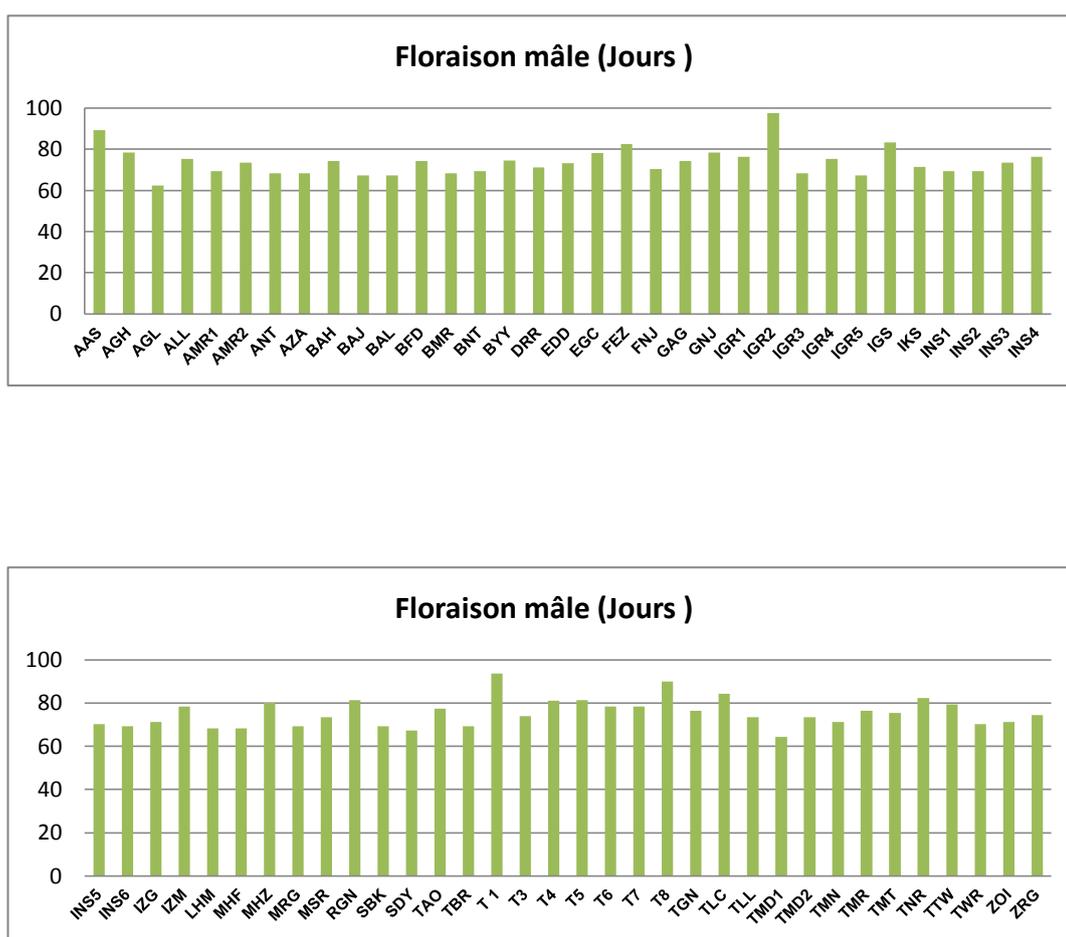


Figure 9 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la floraison mâle

Tableau 7 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur floraison mâle.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
IGR2	97,38	a	INS4	76,23	cdefghij	INS5	70,38	ghijkl
T1	93,66	a	ALL	75,38	cdefghij	TWR	70,38	ghijkl
AAS	89,23	ab	IGR4	75,38	cdefghij	BNT	69,38	hijkl
T7	90	ab	TMT	75,38	cdefghij	INS1	69,38	hijkl
TLC	84,38	bc	BYY	74,38	Defghij	INS6	69,38	hijkl
IGS	83,38	bcd	ZRG	74,38	defghij	MRG	69,38	hijkl
FEZ	82,38	bcd	BAH	74,23	defghij	AMR1	69,23	hijkl
TNR	82,38	bcd	GAG	74,23	defghij	INS2	69,23	hijkl
T4	81,33	cd	BFD	74,23	defghij	SBK	69,23	hijkl
RGN	81,23	cde	T2	74	efghij	TBR	69,23	hijkl
T3	81	cde	AMR2	73,38	efghijk	ANT	68,38	ijkl
MHZ	80,23	cdef	INS3	73,38	efghijk	LHM	68,38	ijkl
TTW	79,38	cdefg	MSR	73,38	efghijk	MHF	68,38	ijkl
AGH	78,38	cdefgh	TLL	73,38	efghijk	AZA	68,23	ijkl
GNJ	78,38	cdefgh	TMD2	73,38	efghijk	BMR	68,23	ijkl
IZM	78,38	cdefgh	EDD	73,23	efghijk	IGR3	68,23	ijkl
T5	78,33	cdefgh	IKS	71,38	fghijkl	BAL	67,38	jkl
T6	78,33	cdefgh	IZG	71,38	fghijkl	IGR5	67,38	jkl
EGC	78,23	cdefgh	TMN	71,38	fghijkl	SDY	67,38	jkl
TAO	77,38	cdefghi	DRR	71,23	fghijkl	BAJ	67,23	jkl
IGR1	76,38	cdefghij	ZOI	71,23	fghijkl	TMD1	64,38	kl
TGN	76,38	cdefghij	FNJ	70,38	ghijkl	AGL	62,23	l
TMR	76,38	cdefghij						

A : accession ; M : moyenne ; GH : groupe homogène

L'intervalle entre la floraison mâle et femelle varie de 1 à 4 jours pour plus de 64 % des populations et de 5 à 10 jours pour le reste. Les populations INS5 et MRG sont celles ayant l'intervalle le plus court, contrairement aux génotypes IZM, T4 et TAO qui présentent un ASI de dix jours (Figure 10). Suite à l'ANOVA, la différence entre les accessions s'est révélée non significative pour ce caractère ($F = 1.25, P = 0.34$) alors qu'elle est hautement significative ($F = 6.71, P = 0.002$) pour les témoins.

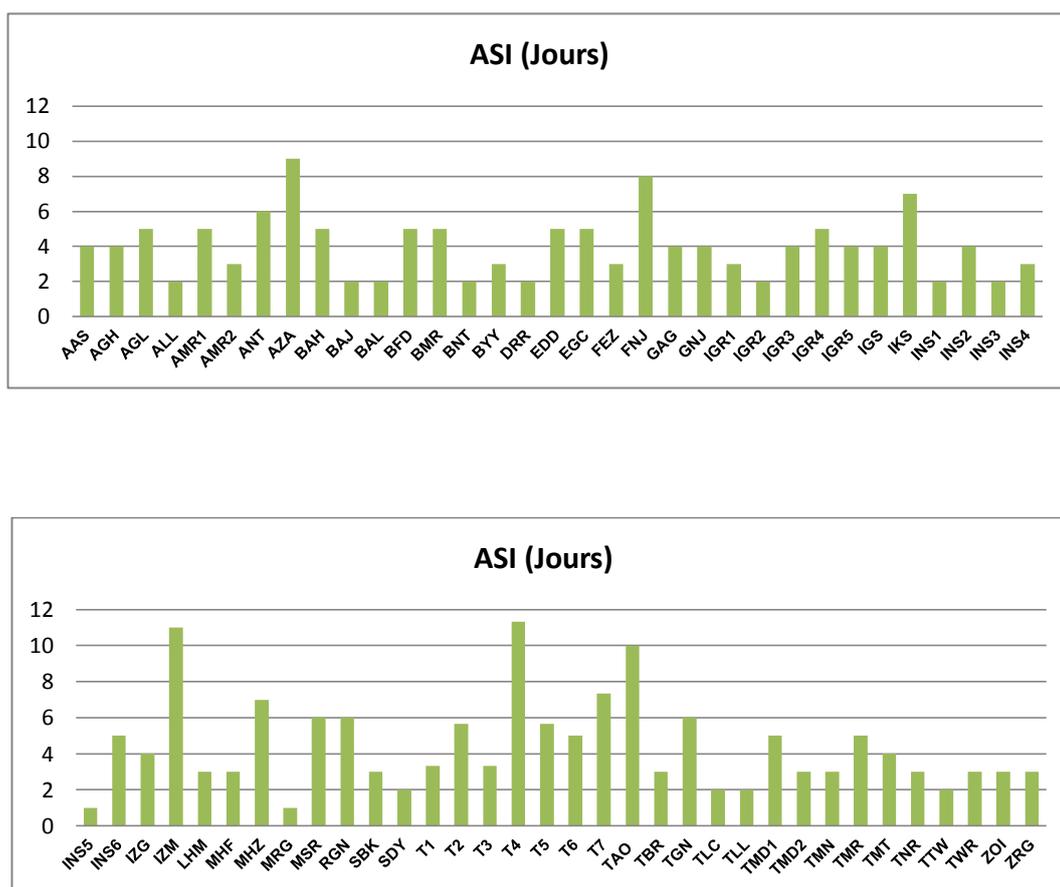


Figure 10 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour l'ASI

Pour la hauteur des plants mesurés après floraison, l'analyse de la variance a révélé une différence hautement significative entre les accessions ($F = 3.58, p = 0.009$) et également entre les témoins ($F = 7.33, p = 0.001$). La PPDS a montré que les accessions sont distribuées sur 21 groupes homogènes. Les groupes a et b, constitués par les témoins T7 et T3 et les accessions TLC, IGR2 et FEZ, se sont distingués par les hauteurs des plants les plus élevés, contrairement au groupe (u) qui comprend les accessions les moins hautes tel que AGL, BNT, TMD1, INS5 et INS1. (Figure 11, Tableau 8).

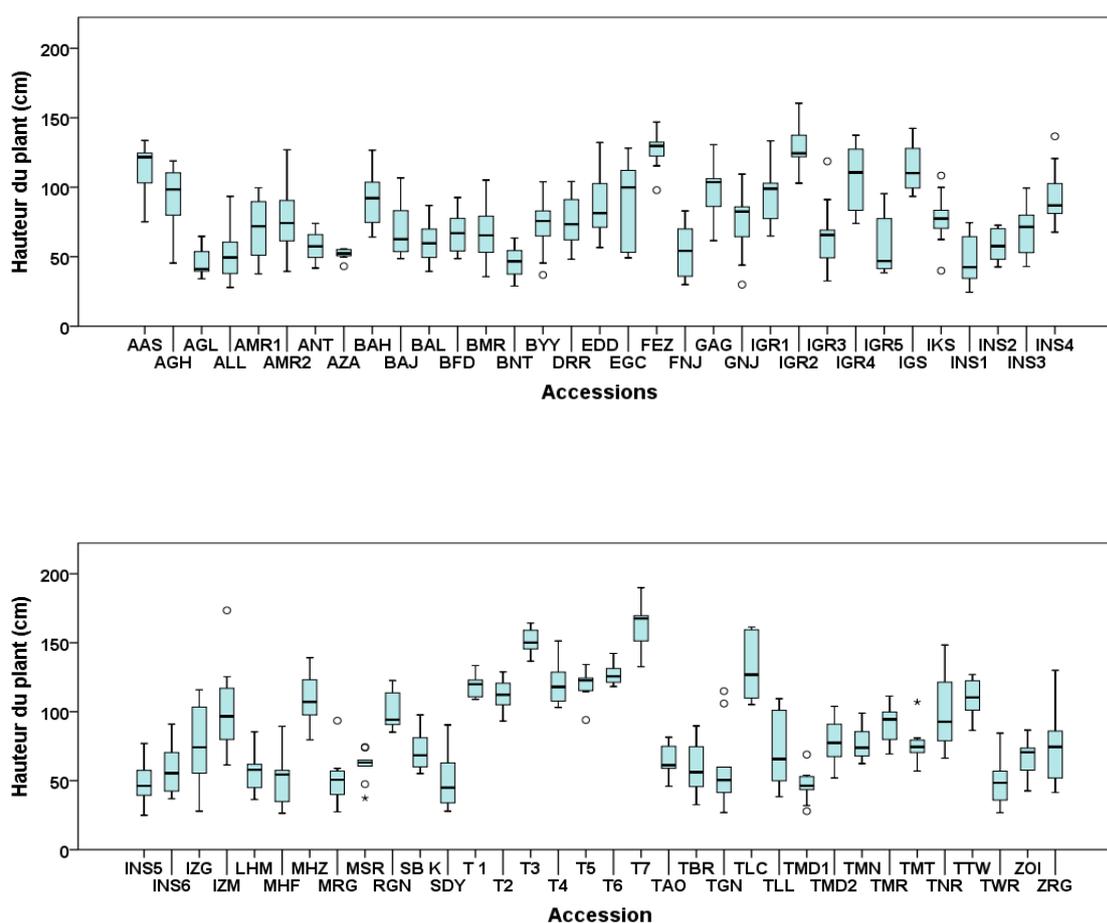


Figure 11 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la hauteur du plant

Tableau 8 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur hauteur du plant.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
T7	162.7	a	TMR	91.0	defghijklmnopqr	TAO	64.9	lmnopqrstu
T3	150.4	ab	EGC	89.6	efghijklmnopqrs	MSR	61.2	mnopqrstu
TLC	132.0	abc	EDD	88.5	efghijklmnopqrst	BAL	60.3	nopqrstu
IGR2	129.8	bcd	AMR2	78.4	fghijklmnopqrstu	INS2	59.0	opqrstu
FEZ	126.7	bcde	TMD2	77.4	fghijklmnopqrstu	TBR	58.7	opqrstu
T6	126.6	cde	IKS	77.3	fghijklmnopqrstu	TGN	58.8	opqrstu
T4	120.8	cde	TMN	77.3	fghijklmnopqrstu	ANT	57.6	opqrstu
T5	119.5	cde	DRR	75.4	ghijklmnopqrstu	IGR5	57.0	pqrstu
T1	119.1	cde	TMT	75.1	hijklmnopqrstu	INS6	56.9	pqrstu
AAS	113.7	cdef	IZG	75.3	hijklmnopqrstu	LHM	56.5	pqrstu
IGS	113.2	cdefg	GNJ	75.0	hijklmnopqrstu	FNJ	53.9	pqrstu
T2	111.9	cdefg	ZRG	74.4	hijklmnopqrstu	MHF	53.8	qrstu
MHZ	109.9	cdefgh	TLL	72.6	hijklmnopqrstu	ALL	52.1	rstu
TTW	109.0	cdefghi	BYY	71.8	hijklmnopqrstu	AZA	51.9	rtu
IGR4	107.0	cdefghij	SBK	71.5	ijklmnopqrstu	MRG	51.6	rtu
IZM	102.6	cdefghijk	BAJ	71.3	ijklmnopqrstu	SDY	50.8	stu
TNR	101.1	cdefghijkl	AMR1	70.9	ijklmnopqrstu	TWR	49.0	tu
RGN	100.4	cdefghijklm	INS3	69.3	ijklmnopqrstu	INS1	47.6	u
GAG	99.8	cdefghijklmn	BFD	68.5	jklmnopqrstu	INS5	47.2	u
IGR1	94.3	defghijklmno	BMR	67.4	jklmnopqrstu	TMD1	47.0	u
INS4	93.7	defghijklmnop	ZOI	66.8	klmnopqrstu	BNT	46.2	u
AGH	93.0	defghijklmnop	IGR3	65.8	klmnopqrstu	AGL	45.7	u
BAH	92.2	defghijklmnopq						

A : accession ; M : moyenne ; GH : groupe homogène.

L'analyse de la variance a aussi montré une différence hautement significative entre les témoins ($F = 6.79$, $p = 0.002$) et non significative entre les accessions ($F = 2.07$, $p = 0.082$) pour le caractère hauteur de l'épi. Les témoins T3 et T7 et les accessions FEZ, IGR2, AAS, TLC et IGS se sont distingués par les hauteurs des épis les plus élevées, alors que les accessions TMD1, AGL, AZA, SDY, MHF, LHM et INS1 ont présenté les hauteurs les plus faibles (Figure 12).

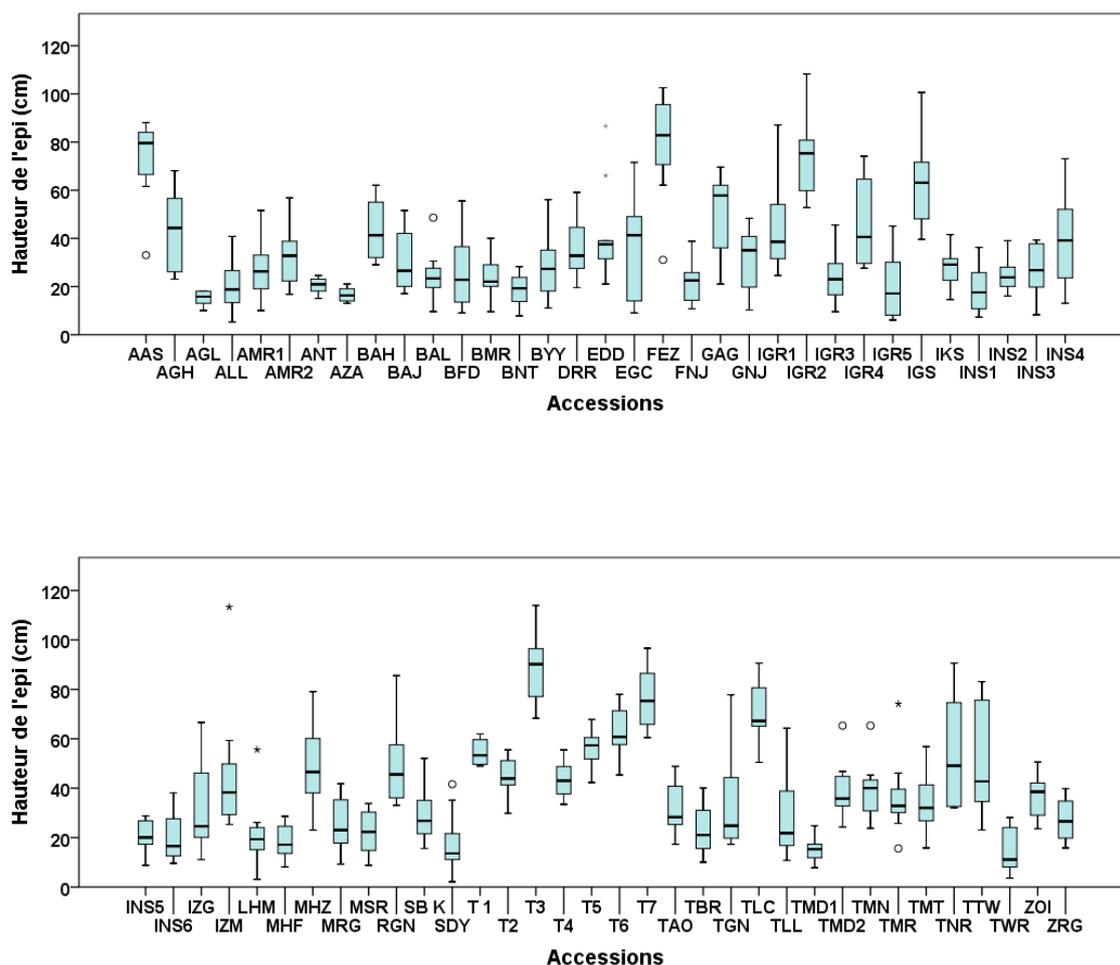


Figure 12 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la hauteur de l'épi

Données relatives à l'épi

Les données relatives à l'épi ont porté sur le diamètre de l'épi, le diamètre de la rafle et du rachis, la longueur de l'épi, le nombre de grains par ligne, le nombre de ligne par épi, le nombre d'épi par plant, le poids de 100 grains, le rendement et l'humidité à la récolte.

L'analyse de la variance a révélé une différence non significative entre les accessions ($F = 0.72$, $p = 0.79$) mais également entre les témoins ($F = 1.77$, $P = 0.18$) pour le descripteur diamètre de l'épi le plus haut. Les diamètres varient de 3.91 cm (RGN) à 2.73 cm (TLL) pour les accessions et de 4.15 cm (T2) à 3.45 cm (T4) pour les témoins (Figure 13).

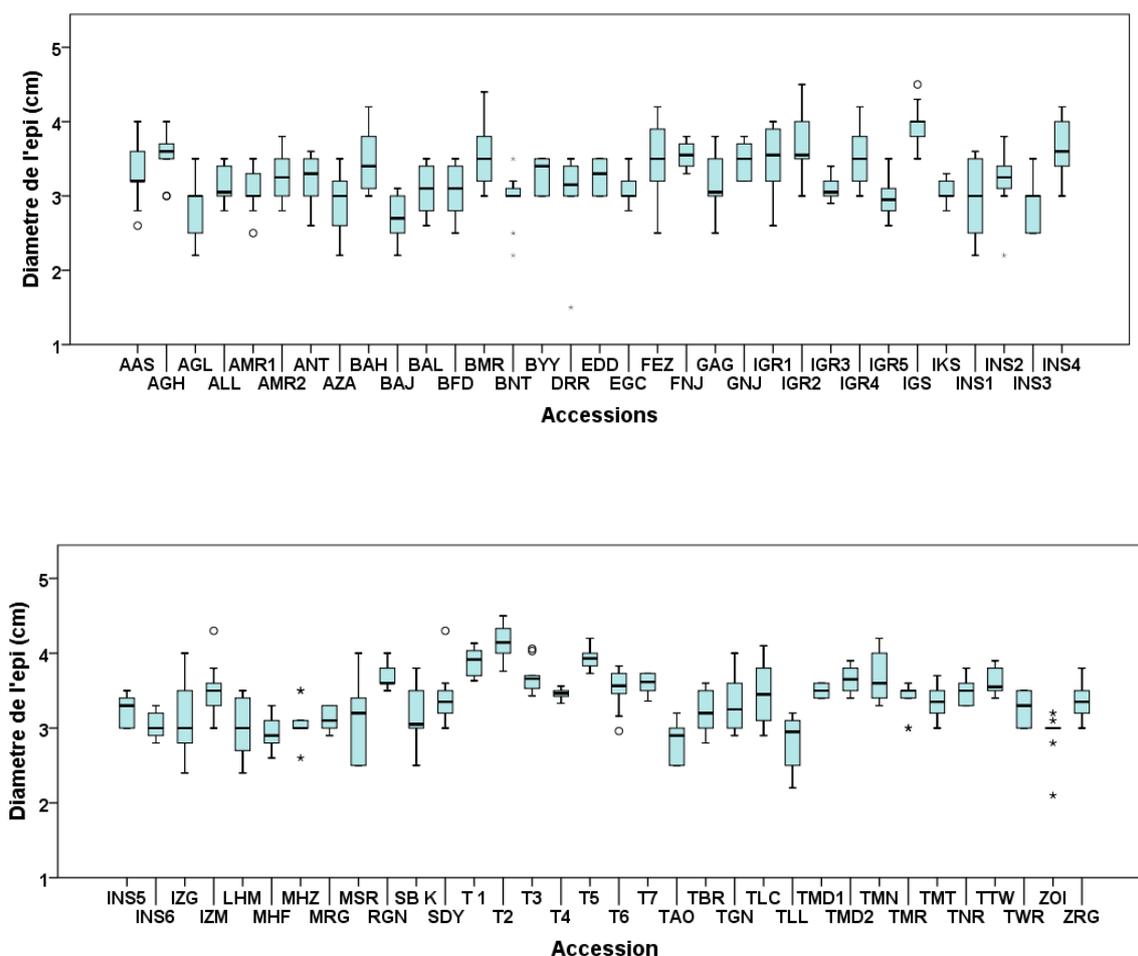


Figure 13 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre de l'épi

En ce qui concerne le descripteur diamètre de la rafle, l'ANOVA a mis en évidence une différence non significative entre les accessions ($F = 0.94$, $p = 0.58$) et même entre les témoins ($F = 2.75$, $p = 0.06$). L'intervalle varie de 2.91 cm (IGS) à 1.50 cm (LHM) pour les accessions et de 2.86 cm (T2) à 1.90 cm (T6) pour les témoins (Figure 14).

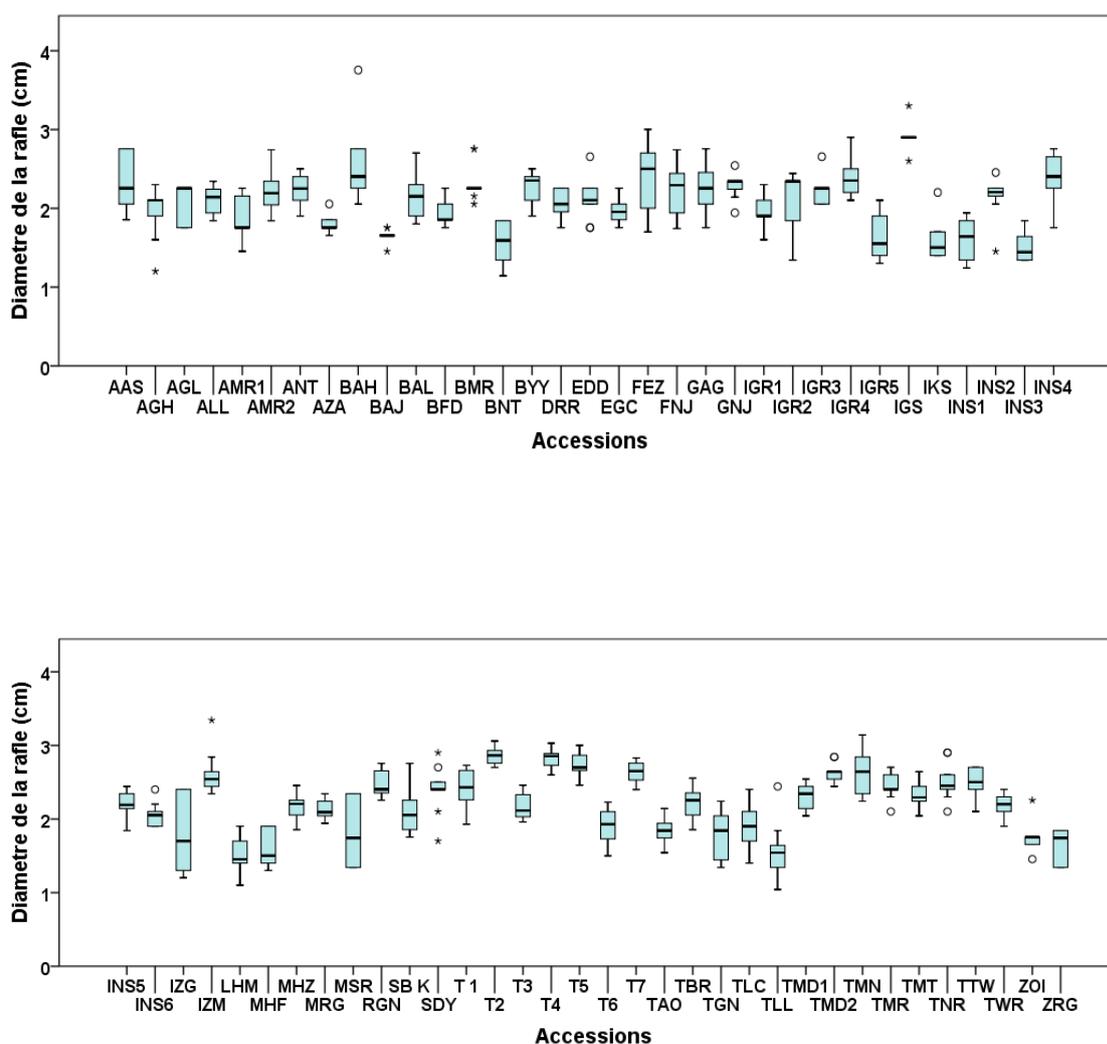


Figure 14 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre de la rafle

Pour le descripteur diamètre du rachis, l'analyse de la variance a également révélé une différence significative entre les témoins ($F = 4.25$, $p = 0.015$) à très hautement significatif entre les accessions ($F = 6.25$, $p = 0.0006$). La comparaison des moyennes par le test PPDS (LSD Fisher) a mis en évidence 15 groupes homogènes qui se chevauchent (Tableau 9). L'accession INS2 constitue le groupe de tête (a) avec une moyenne de 1,26 cm alors que l'accession ZOI occupe le groupe de plus faible diamètre (o) avec une moyenne de 0.49 cm (Figure 15).

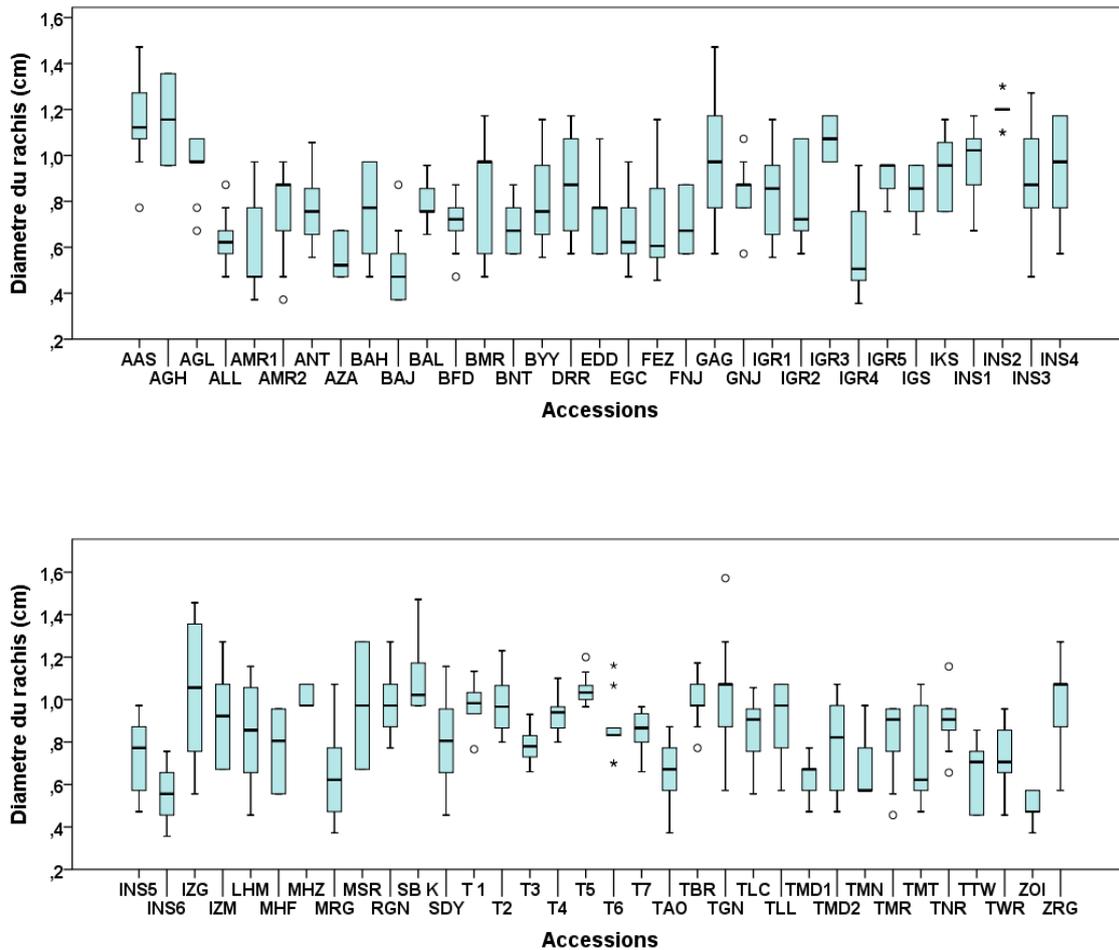


Figure 15 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le diamètre du rachis

Tableau 9 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur diamètre du rachis

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
INS2	1.26	a	IGR5	0.89	cdefghijkl	ANT	0.75	efghijklmno
SBK	1.19	b	INS3	0.89	cdefghijkl	INS5	0.75	efghijklmno
AGH	1.15	bc	TNR	0.89	cdefghijkl	EDD	0.75	efghijklmno
AAS	1.14	bc	DRR	0.87	cdefghijkl	ALL	0.74	efghijklmno
IGR3	1.07	bcd	BMR	0.86	defghijkl	TMT	0.73	efghijklmno
T5	1.06	bcd	T6	0.86	defghijkl	BFD	0.71	fghijklmno
IZG	1.053	bcd	T7	0.85	defghijkl	FEZ	0.69	fghijklmno
TGN	1.04	bcd	IGR1	0.84	defghijklm	FNJ	0.70	fghijklmno
INS4	1.02	bcde	GNJ	0.84	defghijklm	TWR	0.70	fghijklmno
MHZ	1.01	bcde	IGS	0.83	defghijklmn	BNT	0.68	ghijklmno
GAG	1.00	bcdef	LHM	0.83	defghijklmn	TAO	0.68	ghijklmno
ZRG	0.99	bcdef	SDY	0.82	defghijklmn	EGC	0.68	hijklmno
RGN	0.99	bcdefg	TLC	0.83	defghijklmn	MRG	0.67	hijklmno
TBR	0.98	bcdefg	BYY	0.82	defghijklmn	TMN	0.65	ijklmno
T1	0.97	bcdefg	TMR	0.81	defghijklmn	TTW	0.63	jklmno
T2	0.97	bcdefg	IGR2	0.80	defghijklmno	TMD1	0.62	klmno
INS1	0.96	bcdefgh	BAL	0.79	defghijklmno	IGR4	0.59	klmno
MSR	0.96	bcdefgh	T3	0.79	defghijklmno	AMR1	0.58	lmno
AGL	0.95	bcdefghi	T3	0.79	defghijklmno	AZA	0.56	mno
IKS	0.94	bcdefghi	AMR2	0.77	efghijklmno	INS6	0.55	mno
IZM	0.93	bcdefghij	TMD2	0.77	efghijklmno	BAJ	0.52	no
T4	0.92	cdefghij	BAH	0.76	efghijklmno	ZOI	0.49	o
TLL	0.90	cdefghijk	MHF	0.76	efghijklmno			

A : accession, M : moyenne, GH : groupe homogène

Le test ANOVA effectué sur la longueur des épis les plus hauts a montré des différences non significatives entre les accessions ($F = 1.59, p = 0.188$) et entre les témoins ($F = 1.82, p = 0.175$). Les valeurs sont comprises entre 16.37 cm (IGS) et 7.95 cm (BNT) pour les accessions et 16.64 cm (T7) et 13.45cm (T2) pour les témoins (Figure 16).

Les génotypes T7, IGS, IZM, T3, TLC et AAS ont enregistré les valeurs les plus élevées contrairement aux accessions AZA, MHF, BAJ, BFD, ZOI et TWR caractérisées par les longueurs les plus faibles.

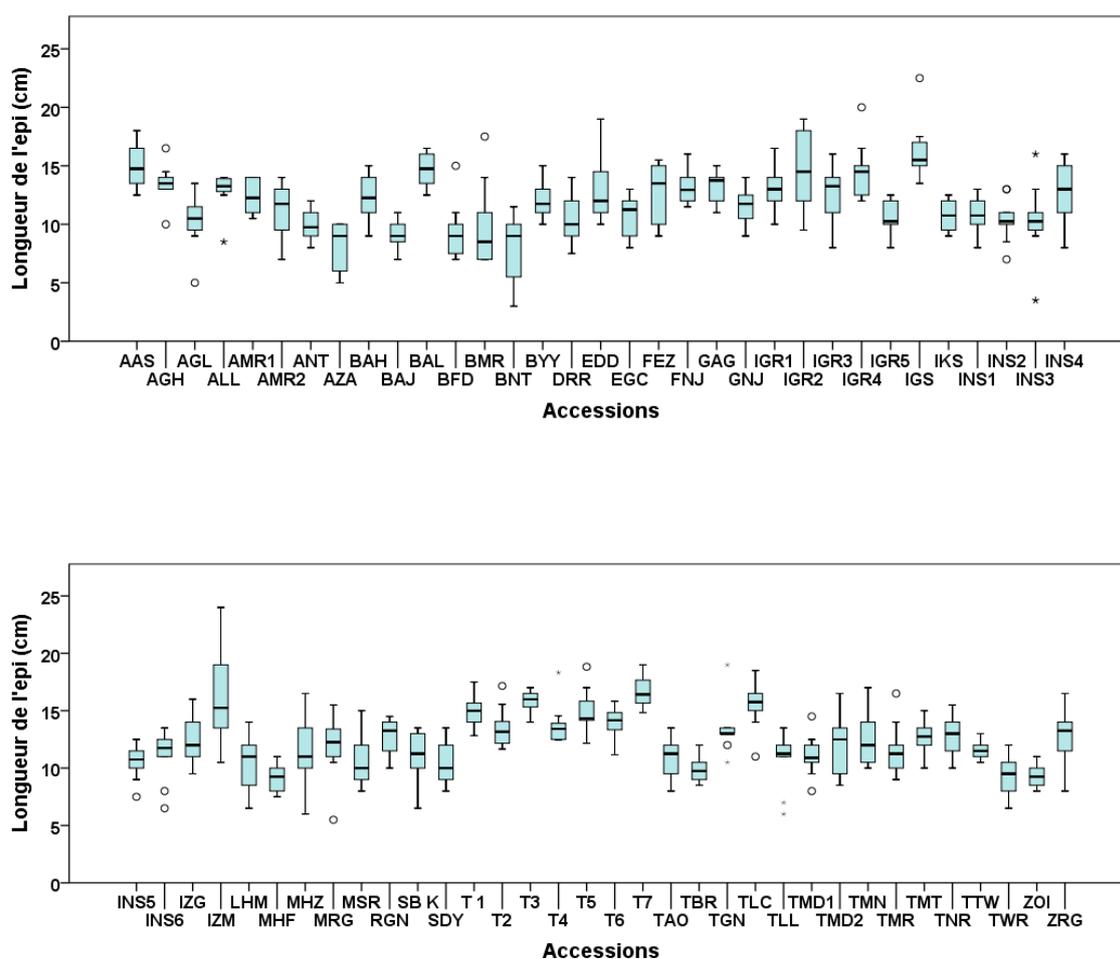


Figure 16 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour la longueur de l'épi

Suite à l'analyse de la variance, aucune différence significative entre les accessions ($F = 1.81$, $p = 0.39$) et également entre les témoins ($F = 2.74$, $p = 0.06$) n'a pu être révélée pour le descripteur nombre de grains par ligne. Ce nombre varie de 29 (IGS) à 11 (TAO) pour les accessions et de 28 (T3) à 21 (T2) pour les témoins. Les génotypes IGS, T3, IGR4, TLC, AGH, T7, IGR1 et GAG ont présenté les nombres de grains par ligne les plus élevés contrairement à leurs homologues TAO, BNT, AZA, BFD, INS3 et INS1. Des écarts importants entre les minima et les maxima ont été enregistré pour les accessions IGR2, IZM, BMR et MHZ (Figure 17).

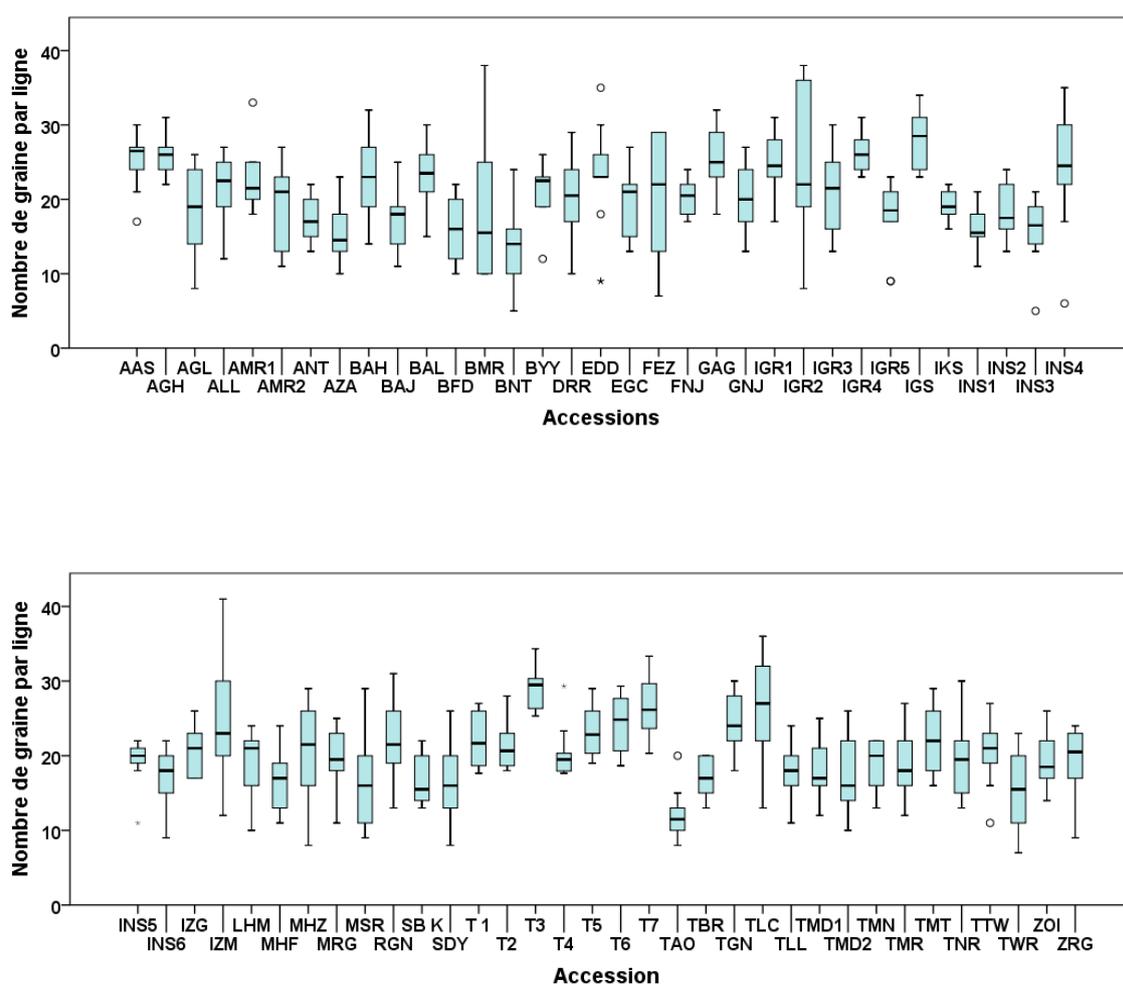


Figure 17 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre de grain par ligne.

Pour le descripteur nombre de ligne par épi, l'ANOVA a révélé une différence très hautement significative aussi bien entre les accessions ($F = 7.08$, $p = 0.0003$) qu'entre les témoins ($F = 40.78$, $p = 0.0002$). La PPDS a dégagé 18 groupes homogènes qui se chevauchent, parmi lesquels le groupe de tête (a) est constitué des génotypes T1, IGS, IGR2, TNR, IZM et IGR1 qui sont caractérisés par les nombres de lignes par épi les plus élevés. Par ailleurs, les génotypes INS6, T3, TAO, BAJ, MRG et MHZ faisant partie du dernier groupe (r) ont enregistré les nombres de lignes les plus faibles (Tableau 10, Figure 18).

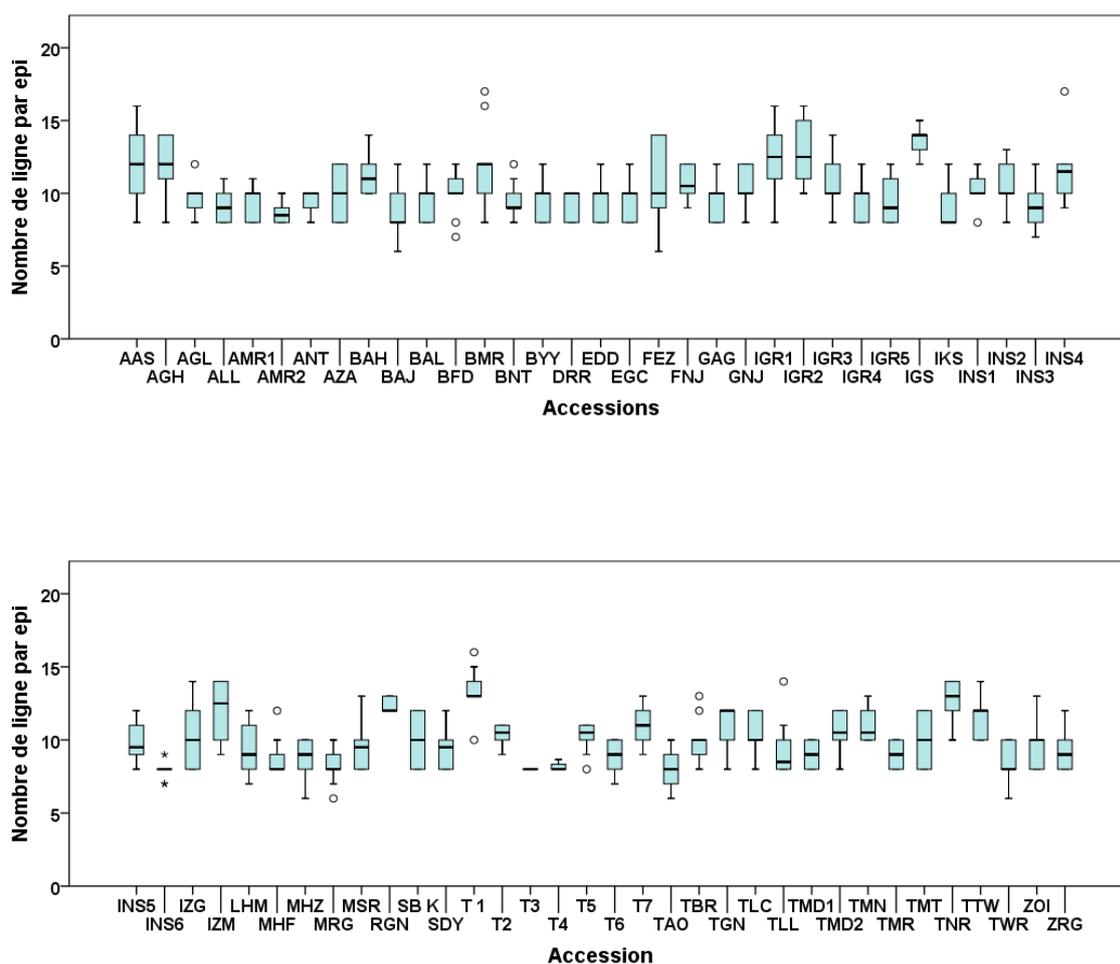


Figure 18 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre de ligne par épi

Tableau 10 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur nombre de ligne par l'épi.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
T1	13.56	a	T5	10.45	hijklm	EGC	9.473	mnop
IGS	13.52	ab	TLC	10.32	hijklmn	ANT	9.42	mnopq
IGR2	13.30	abc	INS2	10.27	hijklmn	IGR5	9.42	mnopq
TNR	12.62	abcd	IZG	10.02	ijklmno	ZRG	9.40	mnopqr
IZM	12.40	abcd	INS5	10.00	ijklmno	AMR1	9.37	mnopqr
IGR1	12.32	abcde	TMT	10.00	ijklmno	LHM	9.32	nopqr
RGN	12.17	bcdef	BFD	9.873	ijklmnop	T4	9.32	nopqr
AAS	11.87	cdefg	SBK	9.873	ijklmnop	ALL	9.30	nopqr
AGH	11.82	cdefg	AZA	9.773	jklmnop	DRR	9.27	nopqr
BMR	11.67	defgh	TBR	9.773	jklmnop	TMD1	9.10	nopqr
TTW	11.42	defghi	MSR	9.705	jklmnop	TMR	8.92	nopqr
INS4	11.37	defghi	GAG	9.673	jklmnop	IKS	8.92	nopqr
TMN	11.20	defghij	ZOI	9.673	jklmnop	AMR2	8.90	nopqr
BAH	11.17	defghijk	BAL	9.620	jklmnop	T6	8.86	opqr
TGN	11.10	defghijkl	BNT	9.605	klmnop	MHF	8.62	opqr
T7	11.06	efghijkl	TLL	9.605	klmnop	TWR	8.52	opqr
FNJ	10.90	efghijklm	BYY	9.520	lmnop	MHZ	8.47	opqr
TMD2	10.80	efghijklm	IGR4	9.520	lmnop	MRG	8.40	pqr
FEZ	10.72	fghijklm	SDY	9.520	lmnop	BAJ	8.37	pqr
IGR3	10.67	fghijklm	INS3	9.50	mnop	TAO	8.30	pqr
T2	10.66	ghijklm	AGL	9.473	mnop	T3	8.16	qr
GNJ	10.60	ghijklm	EDD	9.473	mnop	INS6	7.82	r
INS1	10.60	ghijklm						

A : accession, M : moyenne, GH : groupe homogène

Le test ANOVA appliqué sur le nombre d'épi par plant a révélé une différence très hautement significative entre les accessions ($F = 7.17, p = 0.00032$) mais non significative entre les témoins ($F = 1.57, p = 0.23$). La comparaison des moyennes par le test PPDS a mis en évidence 12 groupes homogènes devancés par le groupe (a) qui rassemble les accessions les plus productives. Parmi celles-ci, la GAG, IKS, EDD, TMD2, MRG, BMR et BAL sont en tête du groupe avec des moyennes comprises entre 3.24 et 2.71 épis. Par ailleurs, la production de l'accession TAO en terme d'épi par plant se rapproche de celle des témoins T1, T7, et T5 qui occupent ensemble le groupe le moins productif (l) avec des moyennes comprise entre 1.34 et 1.51 (Tableau 11, figure 19).

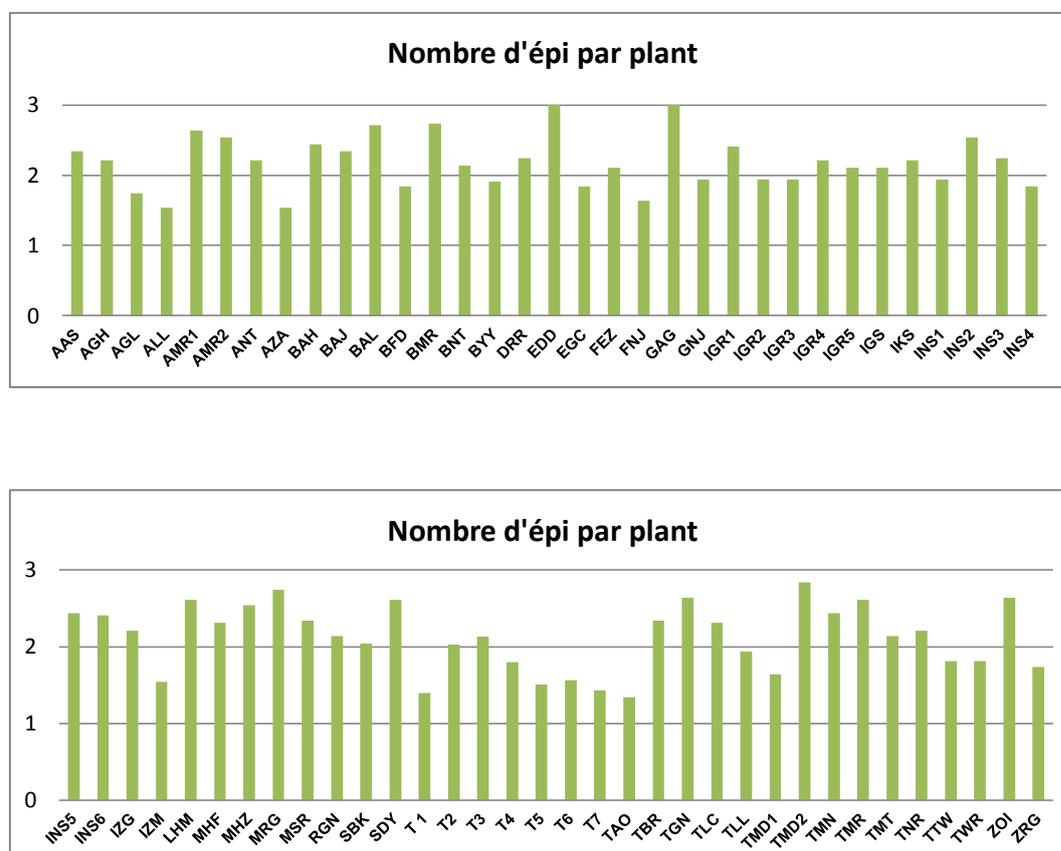


Figure 19 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le nombre d'épi par plant

Tableau 11 : Classement des groupes homogène pour le descripteur nombre d'épi par plant.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
GAG	3,24	a	BAJ	2,34	bcdefgh	IGR3	1,94	fghijkl
IKS	3,21	ab	TBR	2,34	bcdefgh	INS1	1,94	fghijkl
EDD	3,04	abc	MHF	2,31	cdefgh	TLL	1,94	fghijkl
TMD2	2,84	abcd	TLC	2,31	cdefgh	BYY	1,91	fghijkl
BMR	2,74	abcde	DRR	2,24	cdefghi	BFD	1,84	fghijkl
MRG	2,74	abcde	INS3	2,24	cdefghi	EGC	1,84	fghijkl
BAL	2,71	abcdef	AGH	2,21	cdefghi	INS4	1,84	fghijkl
AMR1	2,64	abcdefg	ANT	2,21	cdefghi	TTW	1,81	ghijkl
TGN	2,64	abcdefg	IGR4	2,21	cdefghi	TWR	1,81	ghijkl
ZOI	2,64	abcdefg	IZG	2,21	cdefghi	T4	1,80	hijkl
LHM	2,61	abcdefg	TNR	2,21	cdefghi	AGL	1,74	hijkl
SDY	2,61	abcdefg	BNT	2,14	defghij	ZRG	1,74	hijkl
TMR	2,61	abcdefg	RGN	2,14	defghij	FNJ	1,64	hijkl
AMR2	2,54	abcdefg	TMT	2,14	defghij	TMD1	1,64	hijkl
INS2	2,54	abcdefg	T3	2,13	efghij	T6	1,56	ijkl
MHZ	2,54	abcdefg	FEZ	2,11	efghijk	ALL	1,54	ijkl
INS5	2,44	abcdefgh	IGR5	2,11	efghijk	AZA	1,54	ijkl
TMN	2,44	abcdefgh	IGS	2,11	efghijk	IZM	1,54	ijkl
BAH	2,44	abcdefgh	SBK	2,04	efghijkl	T5	1,51	jkl
IGR1	2,41	abcdefgh	T2	2,03	fghijkl	T7	1,43	kl
INS6	2,41	abcdefgh	GNJ	1,94	fghijkl	T1	1,40	l
MSR	2,34	bcdefgh	IGR2	1,94	fghijkl	TAO	1,34	l
AAS	2,34	bcdefgh						

A : accession, M : moyenne, GH : groupe homogène

Pour le poids de 100 grains, l'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre les accessions ($F = 92.80$, $p < 0.0001$) et entre les témoins ($F = 19.15$, $p < 0.0001$). Le test PPDS a révélé l'existence de 10 groupes homogènes. Les valeurs les plus élevées sont celles du groupe (a) constitué par les populations RGN et MRG et les témoins T3, T5, T6 et T2. A l'opposé, les accessions TNR, IGR3, IGS, AGL et ALL font partie du dernier groupe qui comporte les valeurs les plus faibles (Tableau 12, figure 20).

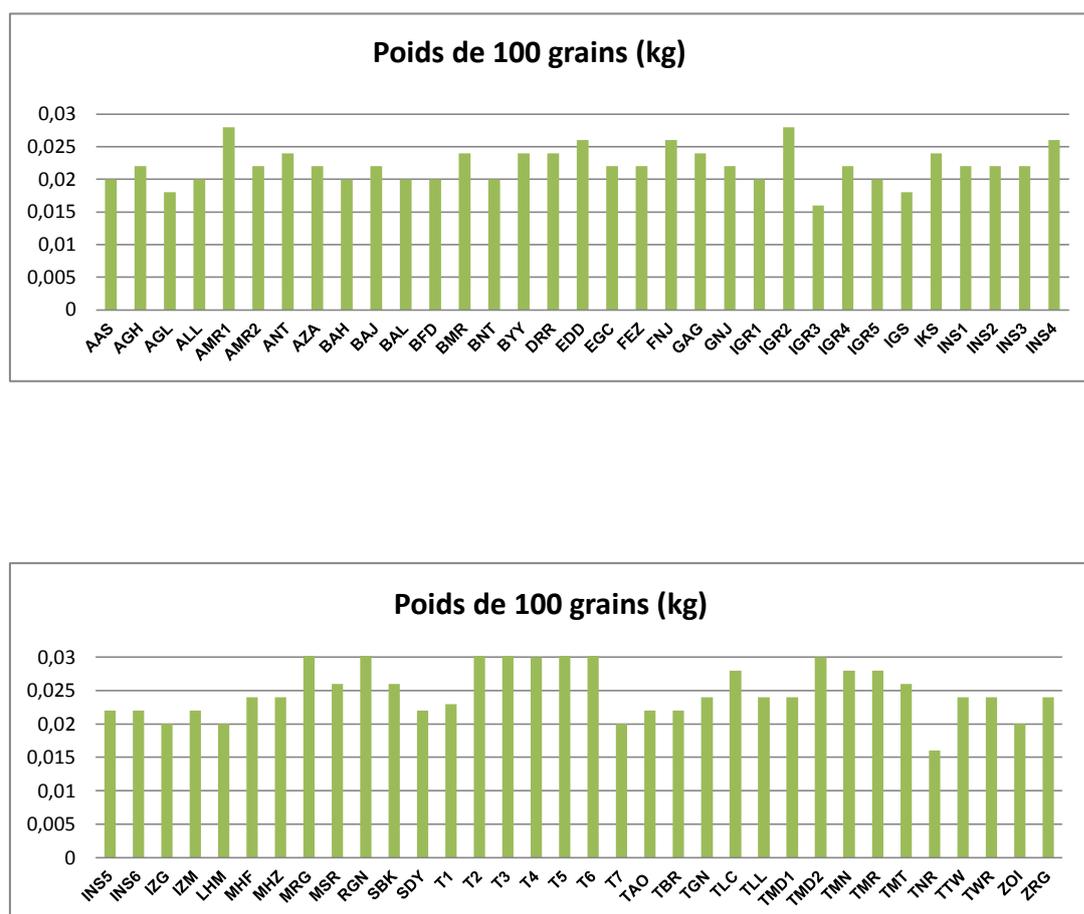


Figure 20 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le poids de 100 grains

Tableau 12 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur poids de 100 grains.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
T3	0,036	a	BYY	0,024	defghi	INS1	0,022	fghij
T5	0,034	ab	IKS	0,024	defghi	INS3	0,022	fghij
MRG	0,033	ab	MHF	0,024	defghi	INS5	0,022	fghij
T6	0,033	ab	TTW	0,024	defghi	IZM	0,022	fghij
T2	0,031	bc	TWR	0,024	defghi	TAO	0,022	fghij
T4	0,03	bcd	TGN	0,024	efghij	BAH	0,02	fghij
TMD2	0,03	bcde	TLL	0,024	efghij	AAS	0,02	fghij
AMR1	0,028	bcde	TMD1	0,024	efghij	BFD	0,02	fghij
IGR2	0,028	cdefg	ZRG	0,024	efghij	RGN	0,02	fghij
TLC	0,028	bcdef	T1	0,023	efghi	ZOI	0,02	fghij
TMR	0,028	bcdef	AGH	0,022	efghij	BAL	0,02	ghij
TMN	0,028	cdefg	AZA	0,022	efghij	IGR1	0,02	ghij
EDD	0,026	cdefg	BAJ	0,022	efghij	IGR5	0,02	ghij
INS4	0,026	cdefg	EGC	0,022	efghij	IZG	0,02	ghij
SBK	0,026	cdefg	FEZ	0,022	efghij	LHM	0,02	ghij
FNJ	0,026	defgh	IGR4	0,022	efghij	ALL	0,02	hij
MSR	0,026	defgh	INS2	0,022	efghij	BNT	0,02	hij
TMT	0,026	defgh	INS6	0,022	efghij	T7	0,02	hij
BMR	0,024	defgh	SDY	0,022	efghij	AGL	0,018	hij
DRR	0,024	defgh	TBR	0,022	efghij	IGS	0,018	hij
GAG	0,024	defgh	AMR2	0,022	fghij	IGR3	0,016	ij
MHZ	0,024	defgh	GNJ	0,022	fghij	TNR	0,016	j
ANT	0,024	defghi						

A : accession, M : moyenne, GH : groupe homogène

L'ANOVA a également révélée une différence significative entre les accessions ($F = 3.0, p = 0.02$) et hautement significative entre les témoins ($F = 6.77, p = 0.002$) pour le descripteur rendement en grain. Suite à un test PPDS, 11 groupes homogènes ont été dégagés. Les accessions TLC (62.46 q.h^{-1}), IKS (58.66 q.h^{-1}), IGR4 (54.86 q.h^{-1}), GAG (51.70 q.h^{-1}) et IGR1 (50.85 q.h^{-1}) sont en tête du classement et faisant partie du groupe le plus productif. Les plus faibles rendements sont enregistrés pour TAO (8.43 q.h^{-1}), TWR (13.72 q.h^{-1}), INS6 (14.63 q.h^{-1}), INS3 (15.57 q.h^{-1}) et BNT (16.05 q.h^{-1}) qui occupent le dernier groupe (Tableau 13, Figure 21).

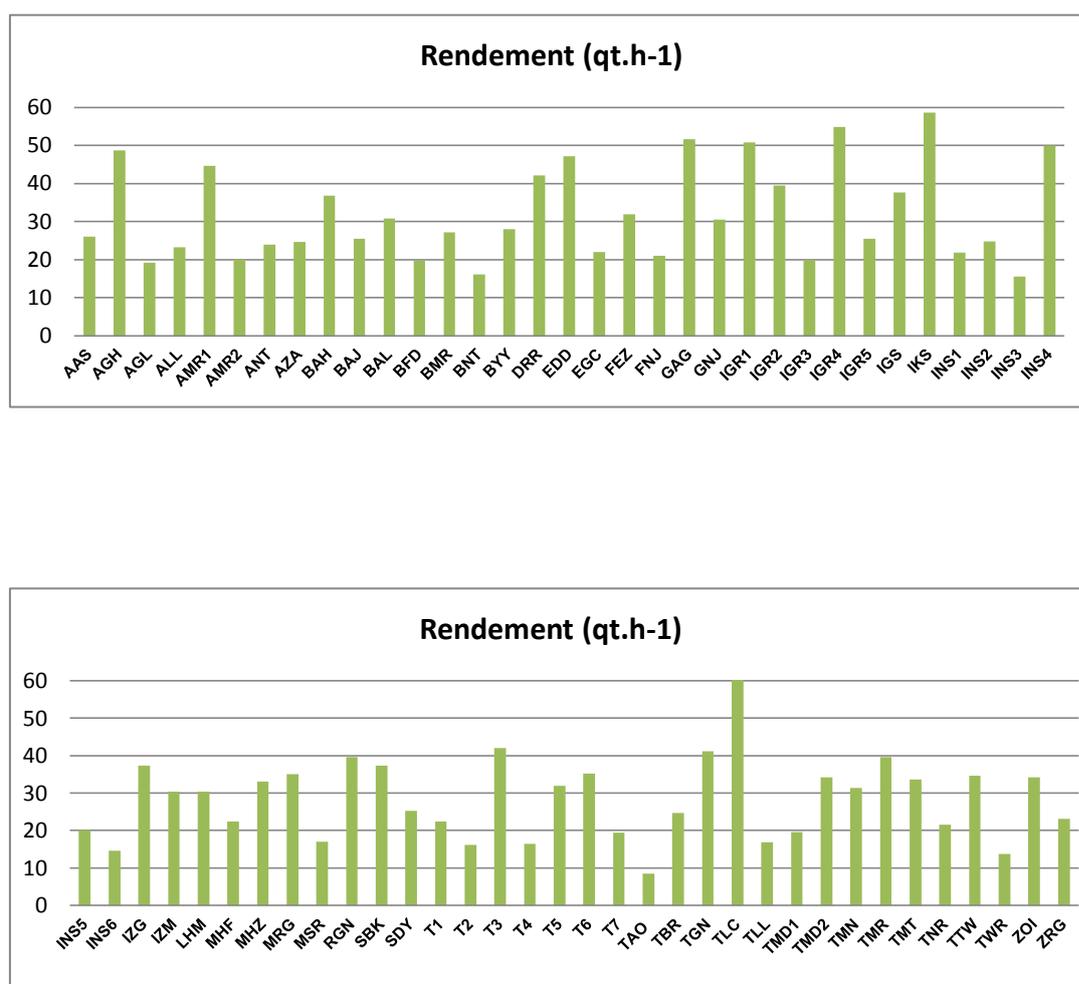


Figure 21 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour le rendement

Tableau 13 : Classement des groupes homogènes pour le descripteur rendement en grain.

A	M	GH	A	M	GH	A	M	GH
TLC	62.46	a	ZOI	34.24	defghi	MHF	22.40	ghijk
IKS	58.66	ab	MHZ	33.01	defghij	T1	22.40	hijk
IGR4	54.86	abc	TMT	33.66	defghij	EGC	22.00	hijk
GAG	51.70	abcd	FEZ	31.93	defghij	INS1	21.83	hijk
IGR1	50.85	abcd	T5	31.85	efghij	TNR	21.54	hijk
INS4	49.91	abcd	TMN	31.37	efghij	FNJ	20.98	hijk
AGH	48.69	abcde	BAL	30.74	efghij	AMR2	20.06	hijk
EDD	47.11	abcde	GNJ	30.56	efghij	INS5	20.05	hijk
AMR1	44.71	abcdef	LHM	30.40	efghijk	IGR3	19.87	hijk
DRR	42.10	abcdefg	IZM	30.39	efghijk	BFD	19.78	hijk
T3	41.92	bcdefg	BYY	27.95	efghijk	TMD1	19.57	hijk
TGN	41.18	bcdefg	BMR	27.13	efghijk	T7	19.46	ijk
IGR2	39.48	bcdefgh	AAS	26.08	fghijk	AGL	19.12	ijk
RGN	39.56	bcdefgh	BAJ	25.42	fghijk	MSR	16.96	ijk
TMR	39.54	bcdefgh	IGR5	25.41	fghijk	TLL	16.82	ijk
IGS	37.60	cdefgh	SDY	25.16	fghijk	T4	16.38	jk
IZG	37.24	cdefgh	TBR	24.65	fghijk	T2	16.12	jk
SBK	37.28	cdefgh	AZA	24.63	fghijk	BNT	16.05	jk
BAH	36.77	cdefghi	ANT	23.88	fghijk	INS3	15.57	jk
T6	35.20	defghi	INS2	24.81	fghijk	INS6	14.63	jk
MRG	34.97	defghi	ALL	23.20	fghijk	TWR	13.72	jk
TMD2	34.15	defghi	ZRG	23.04	fghijk	TAO	8.436	k
TTW	34.66	defghi						

A : accession, M : moyenne, GH : groupe homogène

Suite à l'analyse de la variance, aucune différence significative entre les accessions ($F = 1.14$, $p = 0.42$) et également entre les témoins ($F = 2.39$, $p = 0.09$) n'a pu être révélée pour l'humidité relative à la récolte. Cette dernière varie de 8.9 % (TWR) à 18.3 % (IGR4) pour l'ensemble des génotypes dont 50 % présentent des valeurs supérieures à 15 % d'humidité (Figure 22).

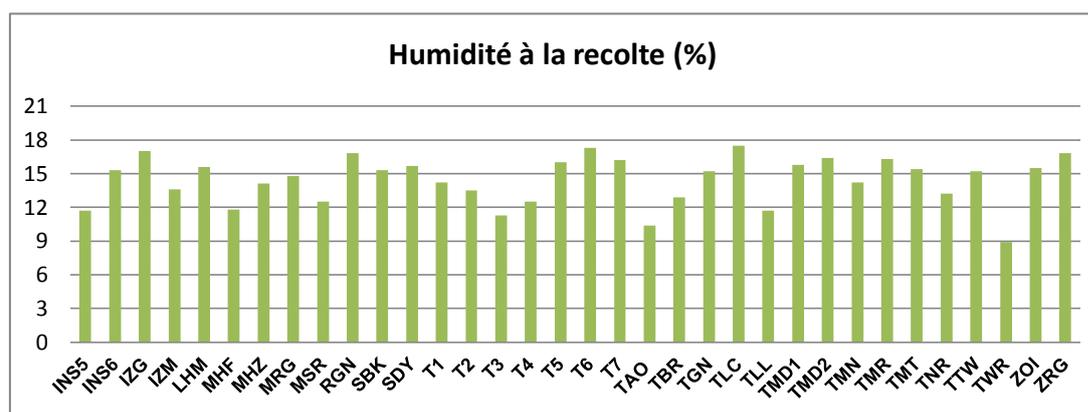
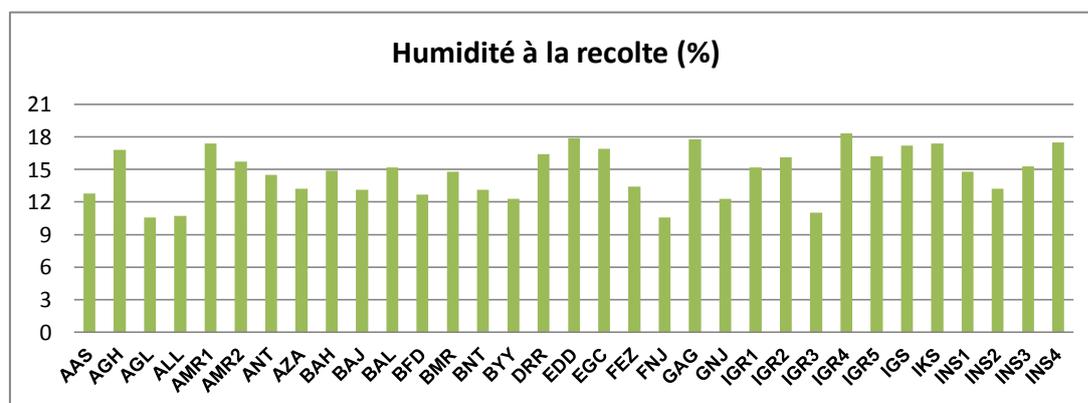


Figure 22 : Variabilité observée chez 60 accessions de maïs pour l'humidité à la récolte

I.1.1.3. Corrélation entre les variables

L'estimation du degré d'association entre les variables quantitatives étudiées a été effectuée par le test de corrélation de Pearson qui permet une estimation simultanée du sens et de la force d'une association. Le signe du coefficient de corrélation (r) nous indique le sens de la relation linéaire entre les variables, alors que la valeur de ce coefficient nous renseigne sur la force de cette relation. Plus la valeur de r est proche de +1 ou -1 plus l'association entre les deux variables est forte. Dans le but de caractériser les accessions algériennes, nous avons utilisés les moyennes de 60 accessions sans les témoins.

Une forte corrélation positive (0.95) à un seuil de 5 % a été mise en évidence entre la floraison mâle et la floraison femelle. Chacun de ces descripteurs a montré une corrélation forte avec la hauteur du plant (HP) et la hauteur de l'épi (HE) et une corrélation moyenne avec le diamètre de l'épi (DE), la longueur de l'épi (LE), le nombre de grains par ligne (NGL) et le nombre de ligne par épi (NLE). Une corrélation similaire (0.95) a été révélée entre les descripteurs hauteur du plant (HP) et hauteur de l'épi (HE) qui sont en association positive avec DRF, DE, LE, NGL, NLE, RD et HMR (Tableau 14). Ces corrélations montrent que les plantes tardives présentent une croissance maximale et tendent à développer de plus gros épis avec un nombre élevé de ligne par épi et de grains par ligne pour assurer un bon rendement en grain.

I.1.1.4. Analyse en composante principale (ACP)

Les données des descripteurs quantitatives pour lesquels les accessions diffèrent significativement ont fait l'objet d'une analyse en composante principale (ACP). L'objectif est de connaître la relation qui existe entre les descripteurs considérés et faire ressortir ceux qui ont la plus grande contribution dans la variabilité entre les accessions.

Seuls les deux premiers axes de l'ACP (Figure 23) qui ont expliqué 63.94 % de la variabilité totale ont été retenus pour l'analyse. Près de 43.64 % de cette variabilité est associé à l'axe I (F1) avec une forte contribution positive des variables précocité à la floraison mâle (FM) et femelle (FF), la hauteur du plant (HP) et le nombre de ligne par épi (NLE). Cet axe peut être décrit comme l'axe de la précocité et du développement végétatif. L'axe II (F2) qui a expliqué 20.30 % de la variabilité, est positivement associé aux variables nombre d'épi par plant (NEP), poids de 100 grains (PCG) et le rendement en grain (RD) d'où son appellation axe du rendement (Annexe 2).

La projection des 60 populations sur le plan formé par les deux premiers axes de l'ACP a fait apparaître une variabilité au sein des accessions étudiées démontrée par la dispersion du nuage des points représentant les accessions (Figure 24). De manière générale, l'axe 1 oppose les accessions les plus tardives et de grande taille TLC, IGR2, AAS, IGS, RGN, FEZ et TNR à celles les plus précoces et de petite taille AGL, TMD1, MRG, BNT, INS5, INS1 et SDY. Par ailleurs, l'axe 2 a différencié les accessions les plus productives GAG, IKS, TMD2, MRG, EDD, TMN et TGN par rapport à leur homologues les moins productives AZA, TAO, AGL, EGC, IZM, BFD et IGR 3. L'axe 1 et 2 ont isolé respectivement l'accession IGR2 caractérisée par une taille importante et une précocité de la floraison ainsi que le génotype MRG montrant le poids de 100 grains (PCG) le plus élevé.

Sur la base des traits quantitatifs évalués, nous pouvons dégager les groupes homogènes suivants :

- **Le groupe 1 (Vert)** : localisé du côté positif de l'axe 1, il comprend 17 accessions caractérisées par une floraison tardive, une hauteur élevée des plants et un rendement moyen à élevé.
- **Le groupe 2 (Noir)** : situé de côté positif de l'axe 2, ce groupe est composé de 10 accessions caractérisées par une floraison normale, une hauteur moyenne et les composantes du rendement (PCG et NEP) les plus élevées.
- **Le groupe 3 (Rouge)** : par opposition au groupe 1, ce groupe se situe du côté négatif de l'axe 1 où se positionnent les 33 accessions les plus précoces, les plus petites de taille avec une productivité (rendement) moyenne à faible.

Tableau 14 : Les corrélations phénotypiques des descripteurs quantitatifs mesurés pour les 60 accessions de maïs

Variables	MRG	G50	FF	FM	ASI	HP	HE	DRF	DE	DRC	LE	NGL	NLE	NEP	PCG	RD	HMR
MRG	1																
G50	-0,1321	1															
FF	0,0393	0,3514	1														
FM	0,0247	0,3480	0,9501	1													
ASI	0,0521	0,0841	0,3600	0,0511	1												
HP	0,0477	0,2038	0,8193	0,8660	0,0331	1											
HE	-0,0291	0,2031	0,8206	0,8900	-0,0348	0,9521	1										
DRF	-0,2023	0,3694	0,2118	0,1978	0,0866	0,2879	0,3228	1									
DE	-0,2497	0,2953	0,4576	0,4882	0,0049	0,5476	0,5373	0,4687	1								
DRC	-0,1953	-0,1148	0,0952	0,0990	0,0088	0,0767	0,0717	-0,1124	0,0717	1							
LE	-0,1541	0,0738	0,5801	0,5951	0,0772	0,6618	0,6688	0,2503	0,6225	0,1550	1						
NGL	-0,0900	0,0674	0,4957	0,5394	-0,0263	0,6645	0,6455	0,2533	0,5640	0,1554	0,8583	1					
NLE	-0,1621	0,1704	0,5406	0,5710	0,0230	0,5639	0,6035	0,2975	0,7183	0,2747	0,5630	0,5753	1				
NEP	-0,3239	-0,3136	-0,2046	-0,1397	-0,2372	-0,0310	0,0235	-0,1054	0,0102	0,0619	0,0501	0,0952	-0,1346	1			
PCG	-0,2081	-0,1331	0,0624	0,0716	-0,0145	0,1120	0,0983	0,0435	0,2449	-0,0885	0,0938	0,0259	-0,1007	0,3282	1		
RD	0,0452	-0,2092	0,3222	0,3570	-0,0363	0,5802	0,5098	0,0984	0,4000	0,1026	0,5151	0,7203	0,3225	0,3157	0,3206	1	
HMR	0,1120	-0,2229	0,1609	0,2010	-0,0863	0,4333	0,3488	0,0127	0,2995	0,0122	0,3485	0,4690	0,1687	0,3708	0,2847	0,7107	1

Les valeurs en gras sont significativement différentes de 0 à un niveau de signification alpha =0.05

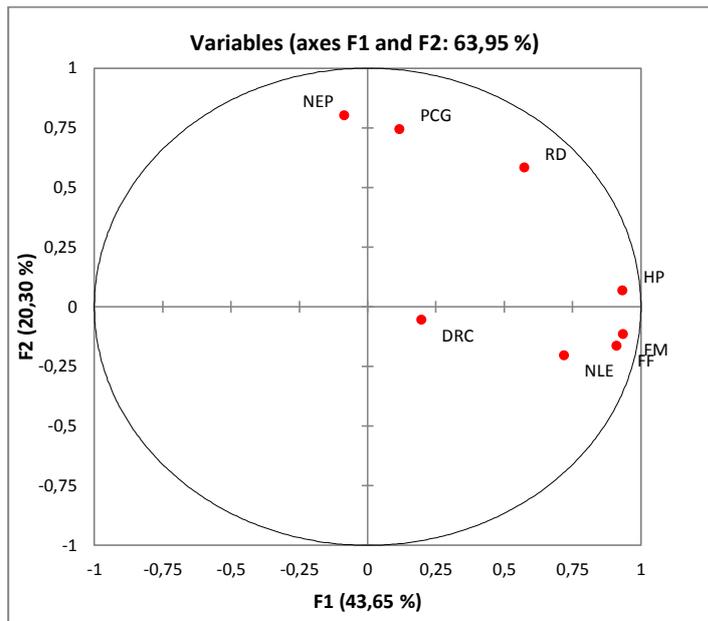


Figure 23 : Cercle de corrélation des variables de l'ACP formé par les axes 1 et 2

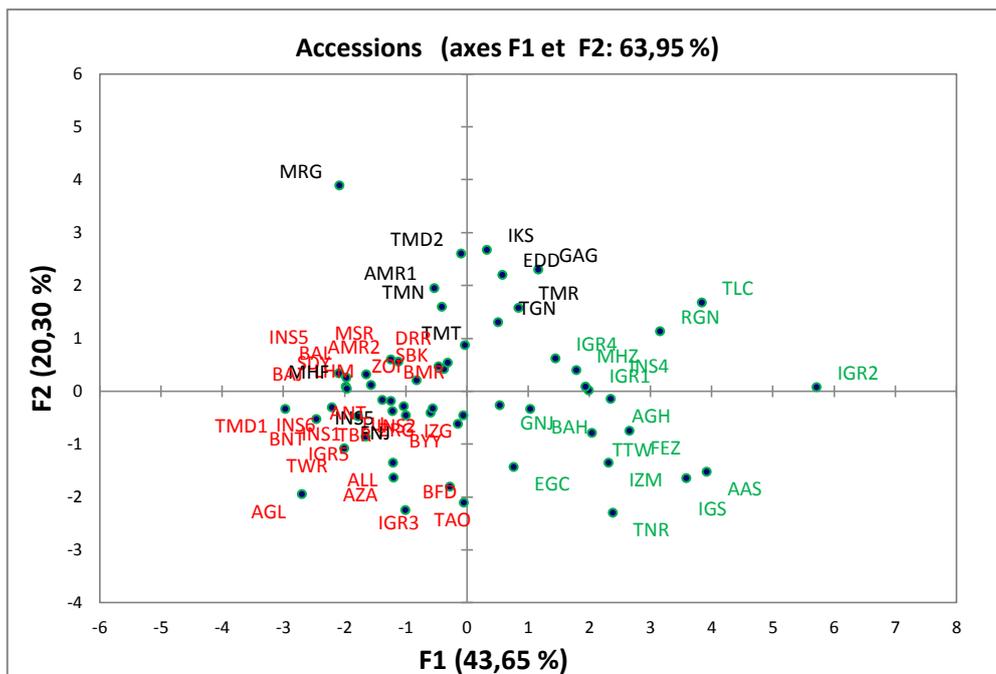


Figure 24 : Projection des 60 accessions de maïs sur les deux premiers axes de l'ACP basée sur les huit descripteurs quantitatifs

I.1.1.5. Classification ascendante hiérarchique (CAH)

Les valeurs moyennes des 8 variables quantitatives FF, FM, HP, DRC, NLE, NEP, PCG et RD ont servi de données pour la classification ascendante hiérarchique (CAH). Celle-ci a été établie sur la base des distances euclidiennes suivant le critère d'agrégation de Ward (1963). L'objectif de cette analyse est de classer l'ensemble des accessions en un nombre réduit de cluster relativement homogènes.

Le dendrogramme a permis d'identifier trois clusters homogènes (figure 25) et les caractéristiques de chaque cluster sont récapitulés dans le tableau 15 et représentés dans la figure 26. La répartition des accessions au sein de ces clusters rejoint celle établie par l'ACP. Le premier cluster est composé des 16 accessions les plus tardives (81.37 et 85.62 jours pour la FM et FF, respectivement), montrant les hauteurs des plants (105.91cm) et les diamètres du rachis (0.87 cm) les plus élevées, un nombre maximal de lignes de grains par épi (11.51), un faible nombre d'épi par plant (2.08) et un rendement moyen (39.27 qt.h^{-1}). Le cluster II comporte 10 accessions caractérisées par des floraisons normales (72.36 et 76.72 jours pour la FM et FF, respectivement) et des hauteurs moyennes des plants (75.96 cm). Un nombre maximal d'épis sont produits par plant (2.8) avec un nombre moyen de lignes de grains par épi (9.92), un rachis de faible diamètre (0.8cm), un poids de 100 grains le plus élevé (0.027g) ainsi qu'un rendement maximal (40.38 qt.h^{-1}). Le dernier cluster rassemble les 34 accessions les plus précoces (70.57 et 74.66 jours pour la FM et FF, respectivement), caractérisées par les plus petites hauteurs de la plantes (63.03cm), un nombre minimal de ligne de grains par épi (9.57), un faible poids de 100 grains (0.022) et un rendement en grain le plus faible (23.49 qt.h^{-1}).

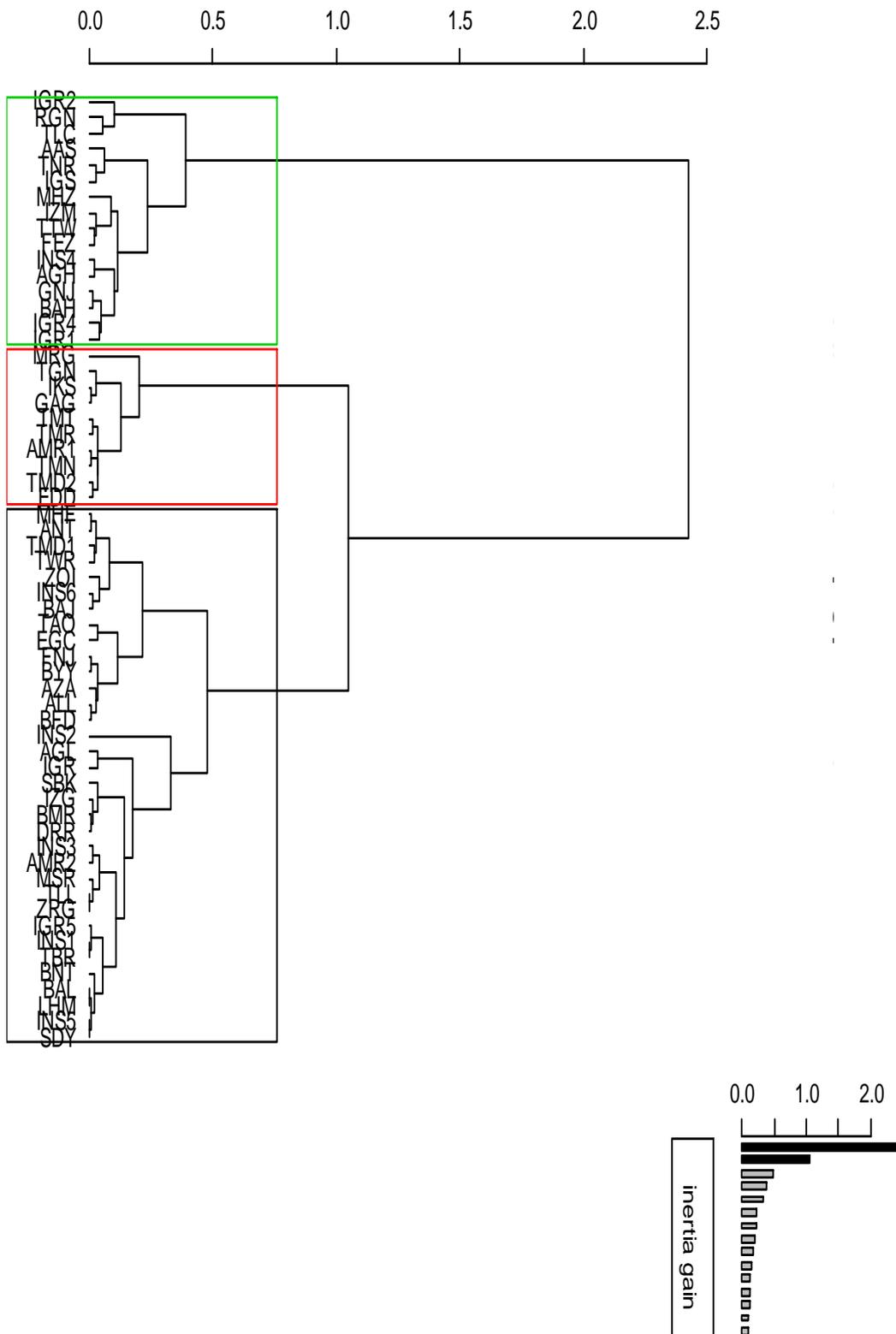


Figure 25 : Dendrogramme réalisé à partir des distances euclidiennes calculées sur la base de huit descripteurs quantitatifs

Tableau 15 : Valeurs moyennes des caractères agro-morphologiques pour les trois clusters générées par la CAH

Cluster	FF	FM	HP	DRC	PCG	NLE	NEP	RD
1	85,625	81,375	105,9110	,8720	,0230	11,519	2,0870	39,2740
2	76,727	72,364	75,9680	,8000	,0274	9,927	2,8000	40,3850
3	74,667	70,576	63,0350	,8380	,0220	9,579	2,1210	23,4940

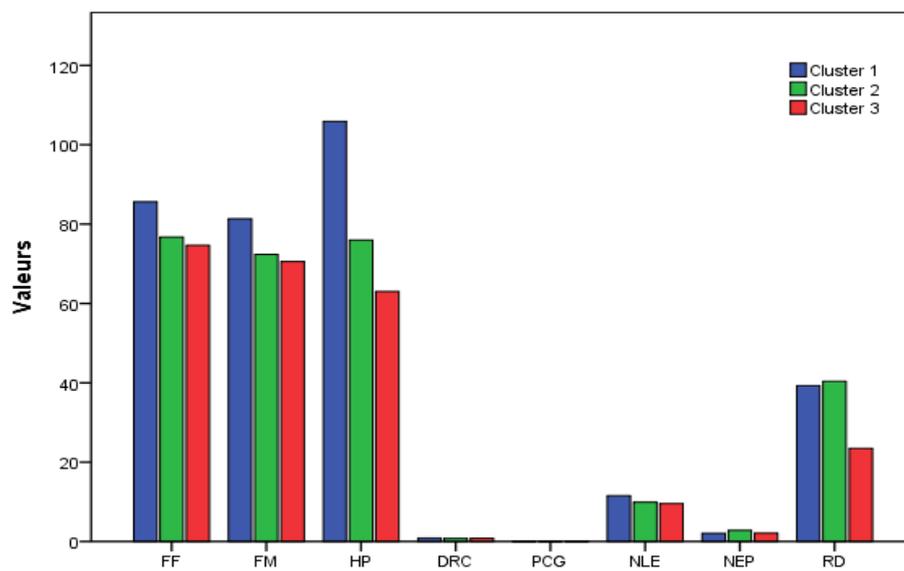


Figure 26 : Représentation des caractères agro-morphologiques des trois clusters générés par la CAH

I.1.2. Caractères qualitatifs

En premier lieu, nous décrivons la variabilité des descripteurs qualitatifs chez la collection de maïs en prenant en compte la variabilité intra-accessions. Par la suite, nous verrons comment se présentent les différents descripteurs dans l'ensemble des accessions algériennes. Afin de mettre en évidence les associations entre ces caractères qualitatifs ainsi que la structuration des accessions, une analyse des correspondances multiples (ACM) et une classification ascendante hiérarchique (CAH) ont été réalisées (Tableau 16).

Tableau 16 : Récapitulatif des analyses réalisées dans la caractérisation qualitative de la collection

Caractères	Modalité	Abréviation
Vigueur	Une échelle de 1- 9 - De 1 à 3 : vigueur faible - De 4 à 6 : vigueur moyenne - De 7 à 9 : bonne vigueur	VG
Dégâts sur l'épi	Causés par pourriture et/ou insectes 0 : aucun, 3 : faible, 5 : moyen, 7 : important	DG
Disposition des rangées de grains sur l'épi	1 : Régulière, 2 : Irrégulière, 3 : Droite ou 4 : Spiralée	DS
Forme du plus haut épi	1 : Cylindrique, 2 : cylindro-conique, 3 : conique, 4 : sphérique	FE
Type du grain	1 : Farineux, 2 : semi-farineux, 3 : denté, 4 : semi-denté, 5 : semi-corné, 6 : corné, 7 : pop, 8 : doux, 9 : opaque, 10 : tunique et 11 : cireux.	TG
Couleur du grain	1 : Blanc, 2 : jaune, 3 : pourpre, 4 : bigarré, 5 : brun, 6 : orange, 7 : tacheté, 8 : extrémité blanche et 9 : rouge	CG
Analyse de variabilité inter et intra-accessions		
Analyse des correspondances multiples (ACM)		
Classification ascendante hiérarchique (CAH)		

I.1.2.1. Variabilité intra-accessions

La caractérisation qualitative de la collection de maïs a porté sur 20 plants par accessions qui ont été évalués pour six descripteurs. La taille importante des individus évalués a permis de révéler une variabilité intra-accessions pour certains descripteurs.

Forme de l'épi

Une variabilité intra-accession a été observée pour le caractère forme de l'épi exprimée par une hétérogénéité de ce caractère chez 75 % des accessions et 43 % des témoins. Le maximum de variabilité a été observé pour IGR2, IGR5, AGL, BAJ, TLC, IGR3, IGR4 et INS6 qui ont présenté à la fois trois formes différentes. Le reste des accessions ont exprimé une ou deux forme à des pourcentages différents (Figure 27). La forme cylindrique a caractérisé près de 38 % des accessions parmi lesquelles figurent toutes les accessions originaires d'Inghar (Tamanrasset) qui sont au nombre de 5 ainsi que les sept témoins (T1 à T7), alors que la forme sphérique a été observé chez AGL et INS6.

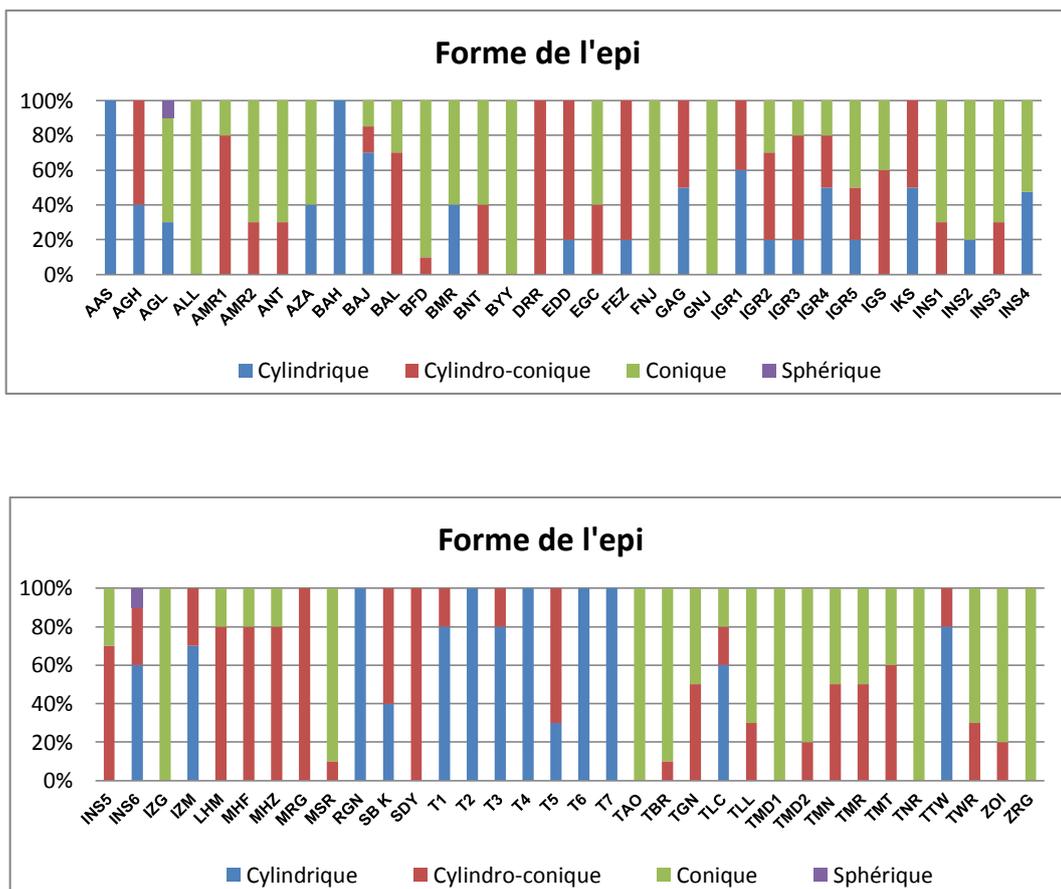


Figure 27 : Variabilité intra-accessions de la forme de l'épi des 60 accessions de maïs

Disposition des rangées de grains sur l'épi

Pour la disposition des rangées de grains, une variabilité intra-accession a été révélée pour la majorité des accessions à l'exception de ALL, FNJ, TMD1, AAS, DRR, RGN et ZOI qui ont présenté des grains disposés de façon homogène de manière régulière ou irrégulière. Le maximum d'hétérogénéité a été observé chez 35 % des accessions ayant présenté des grains disposés de trois manières différentes. Parmi ces accessions figurent tous les géotypes originaires de In Salah (Tamanrasset) qui sont au nombre de 6 ; le reste des accessions ont présenté un ou deux types de réarrangements (Figure 28). Contrairement aux accessions, les témoins ont montré une homogénéité pour ce caractère à l'exception de T5 et T7.

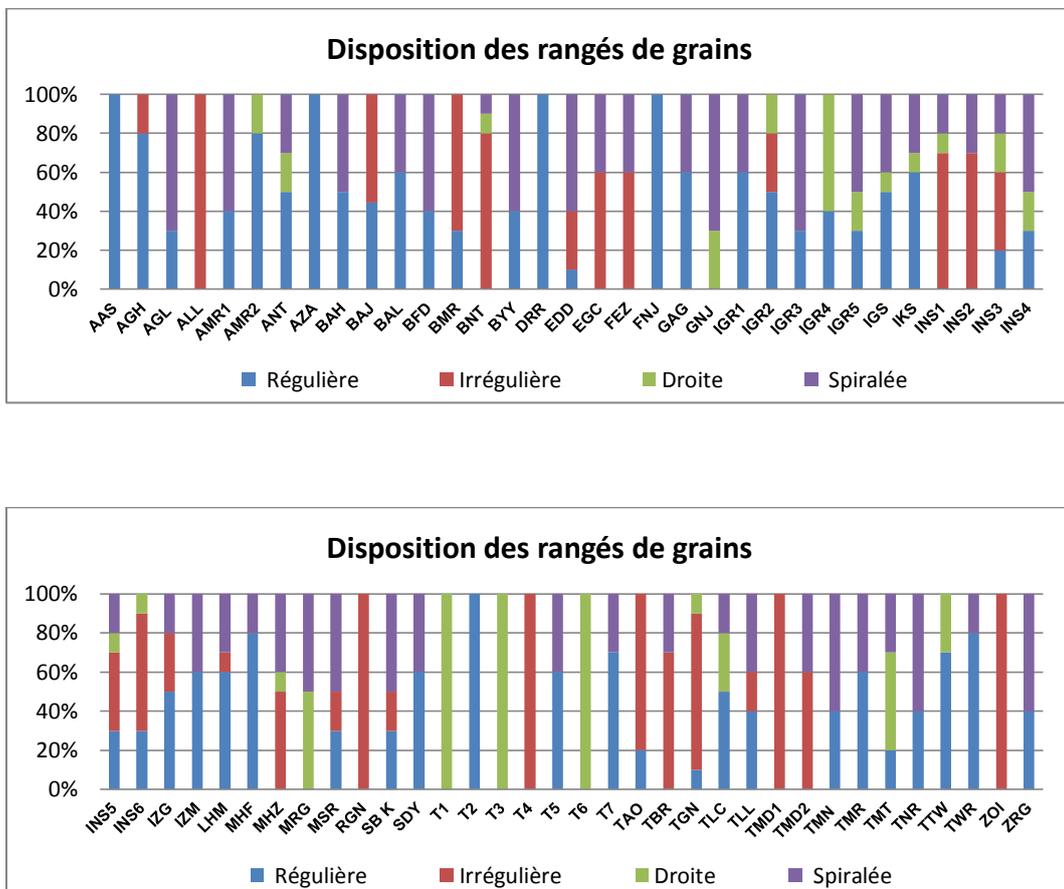


Figure 28 : Variabilité intra-accessions de la disposition des rangées de grains des 60 accessions de maïs

Couleur du grain

Concernant les descripteurs du grain, une hétérogénéité de la couleur du grain a été révélée chez près de 36 % des accessions qui ont présenté plus d’une couleur contrairement aux témoins ayant montré une homogénéité. Ce sont principalement les géotypes ANT, GAG, IZG, IGR1, IGR4, IGR5 et MRG qui ont exprimé le maximum de variabilité intra-accessions où trois différentes couleurs sont présentes à des proportions variables. Le reste des accessions ont présenté une à deux couleurs avec prédominance des couleurs jaune et orange.

La couleur brune a caractérisé les accessions ANT, IGR1, IZG, TNR, INS3 et LHM alors que la couleur bigarré a spécifié INS4. Par ailleurs, les géotypes AGL, IGR5 et MRG ont présenté la couleur blanche alors que GAG s’est privilégié par la couleur rouge (Figure 29).

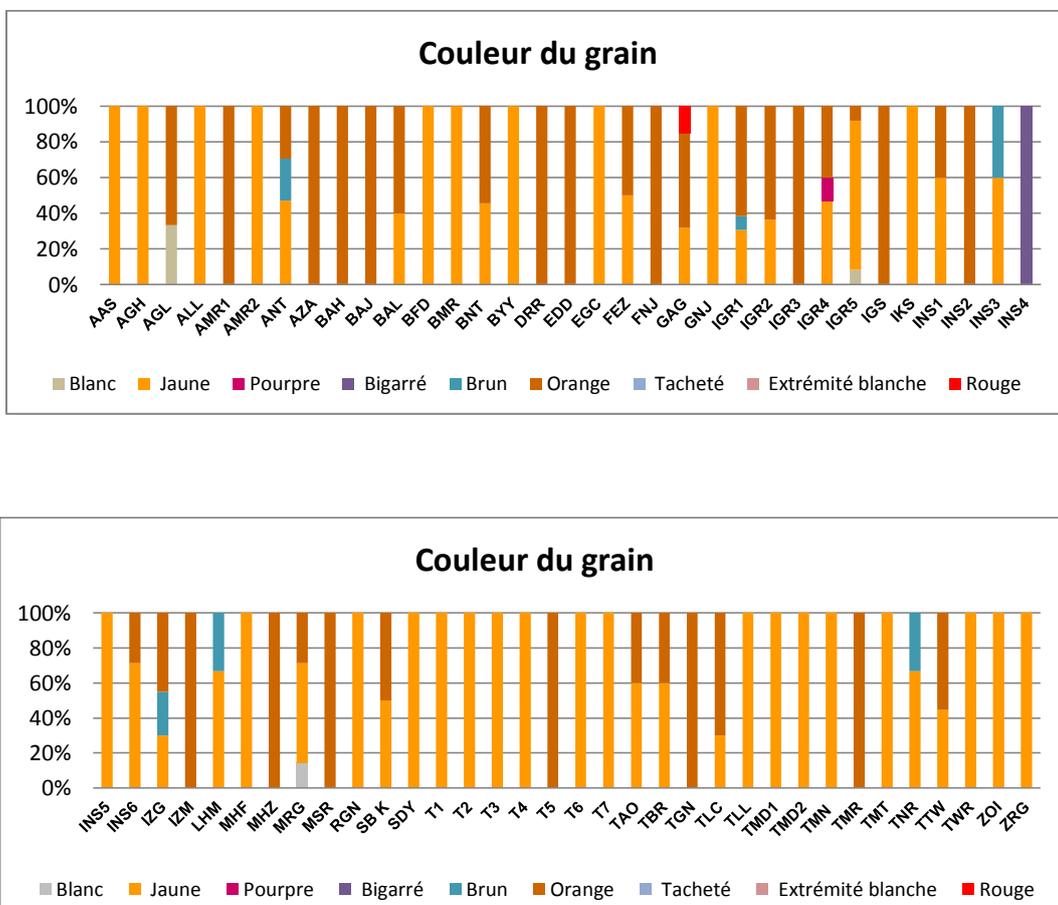


Figure 29 : Variabilité intra-accessions de la couleur du grain des 60 accessions de maïs

Type du grain

Pour le type de grain qui présente onze modalités, une variabilité a été révélée chez 25 % des accessions. Le maximum d'hétérogénéité a été observé pour INS4, IGR2 et TLC qui ont présenté quatre types de grain. Les accessions BMR, IGR4 et TTW ont présenté trois modalités alors qu'EGC, FEZ, GAG, INS6, MHZ, BAL, SDY, TGN et TMR ont exprimé deux types de grain à différentes proportions (Figure 30). Par ailleurs, les témoins ont montré une homogénéité pour ce caractère à l'exception du T3.

Le type de grain farineux a caractérisé les génotypes IGR2, EGC, INS4, TLC et TTW alors que les types pop et denté ont caractérisé respectivement les accessions (BAL et INS6) par de faibles proportions ainsi que les témoins (T3 et T7).

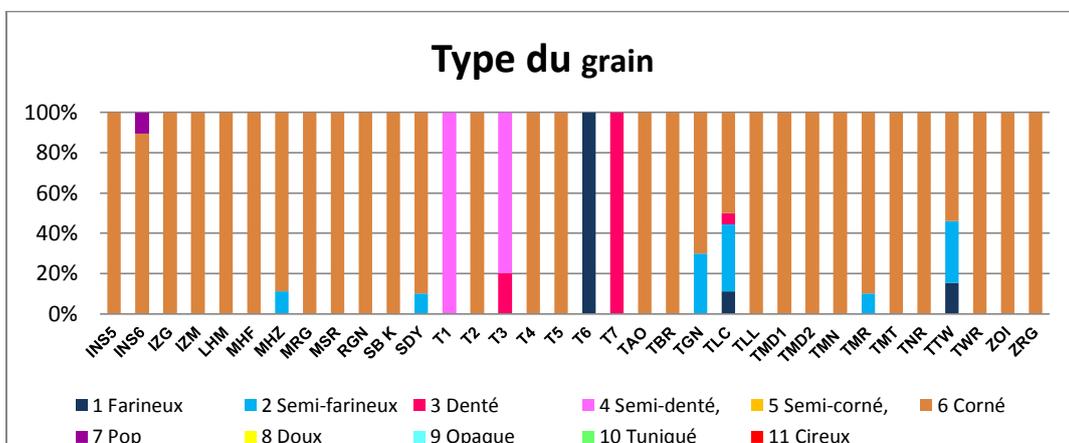
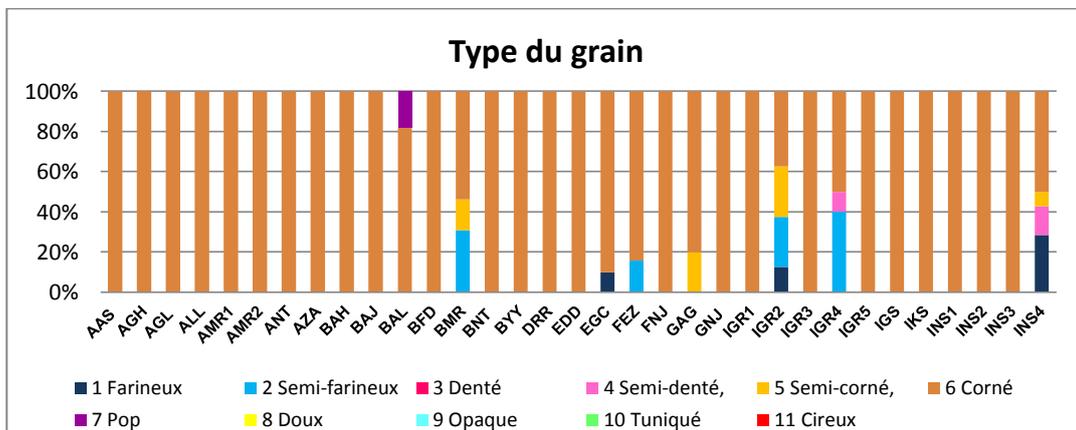


Figure 30 : Variabilité intra-accessions du type du grain des 60 accessions de maïs

Vigueur des plants

Pour la vigueur et les dégâts sur l'épi, seul la variabilité inter-accessions a été évaluée pour l'ensemble des accessions de la collection.

Sur l'ensemble des accessions évaluées 21,66 % présentent une bonne vigueur comprise entre 7 et 9 ; les génotypes EDD, DRR et IGR1 se sont révélés les plus vigoureux. Par ailleurs 76,66 % des accessions sont de vigueur moyenne qui varie de 4 à 6 alors que 1.66 % sont de faible vigueur qui ne dépasse pas la valeur de 3. Quant aux témoins, le T3 et T5 se sont montrés les plus vigoureux contrairement aux T4 qui a présenté une vigueur faible (Figure 31).

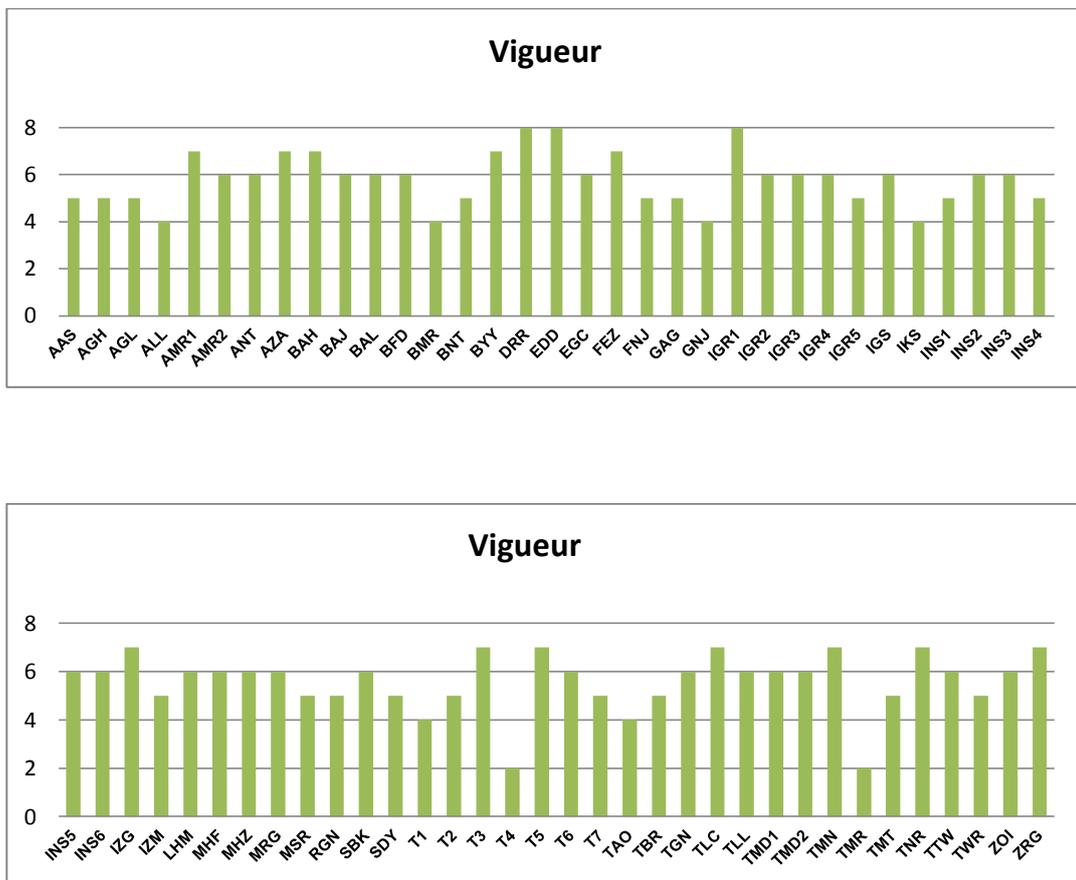


Figure 31 : Variabilité du descripteur vigueur observée chez 60 accessions de maïs

Dégâts sur l'épi

Concernant les dégâts sur l'épi, 46.66 % des accessions présentent des épis sans dégâts, suivie de 33.33 % avec des dégâts faibles et 3.33 % avec des épis fortement endommagés. Pour les témoins, les dégâts sont nuls pour T3, faible pour T1, T2, T4 et T6, moyen pour T7 et important pour T5 (Figure 32).

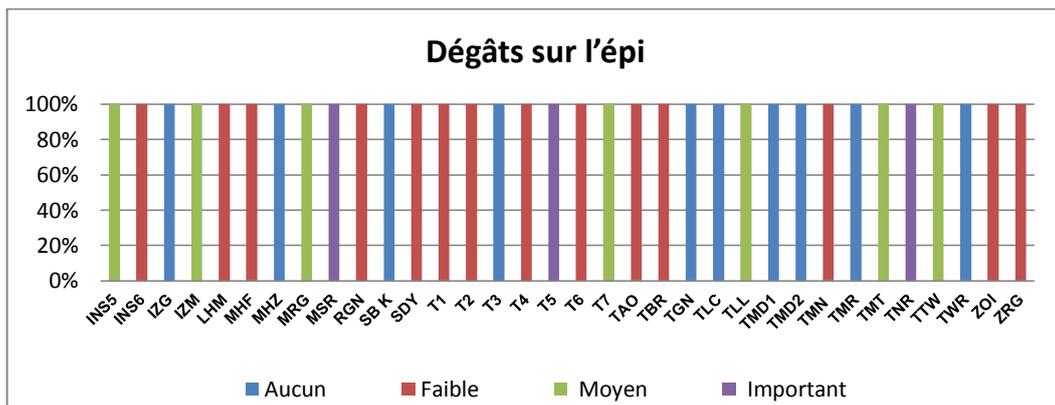
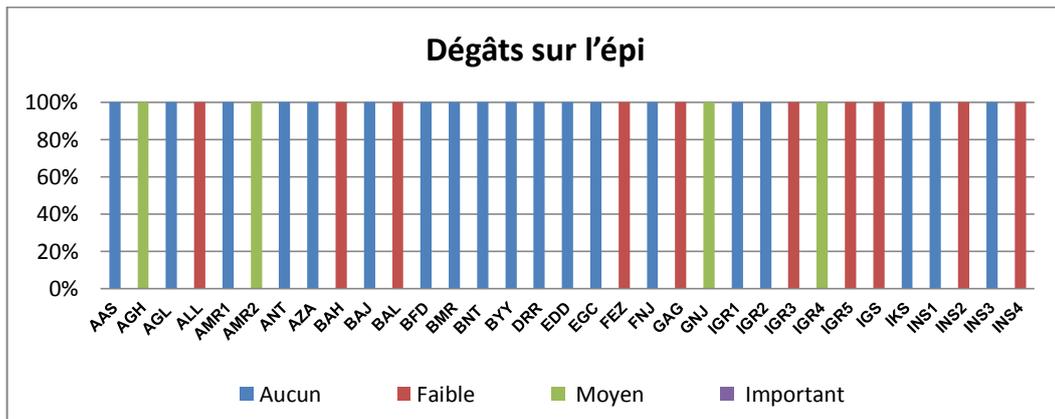


Figure 32 : Variabilité du descripteur dégâts sur l'épi observée chez 60 accessions de maïs

I.1.2.2. Variabilité dans l'ensemble de la collection

Les résultats de la variabilité au sein de la collection de maïs évaluée en employant six descripteurs qualitatifs sont représentés graphiquement (Figure 33 et 34).

Pour les descripteurs de l'épi, 45 % des individus des accessions algériennes présentent des épis de forme conique contre 14 % pour les individus témoins. 36 % sont de forme cylindro-conique, 18 % de type cylindrique et seulement 1 % présentant des épis sphériques. Les épis cylindriques sont les plus fréquents au sein des individus témoins (80 %), suivis des épis cylindro-coniques (23.8 %) et les coniques (14.28 %) (Figure 33a).

Pour la disposition des grains sur les épis, les accessions ont présenté des grains disposés de façon régulière (34%), irrégulière (33%), spiralée (28%) et droite (5%). Au sein des individus témoins, la disposition des rangées de grains est majoritairement régulière (42.85%), droite (38%), et faiblement irrégulière (14,45%) et spiralée (4,7%) (Figure 33b).

Si on considère la fréquence des couleurs des grains au sein de la collection de maïs, on constate que la couleur jaune est la plus fréquente (52 %) suivie des couleurs orange (37 %) , brune (4 %) , blanche (3 %) , pourpre (1 %) et bigarré (1 %). Pour les témoins, les grains sont de couleur jaune pour la majorité des individus (86 %), suivie de la couleur orange (14 %) (Figure 33c).

Pour le descripteur type du grain, 88 % des individus des accessions algériennes ont présenté des grains de type corné contre 42.85% des individus témoins. Des grains de type semi-farineux (5%) et semi-corné (2%) ont également été observé au sein des accessions alors que le type farineux (19%), denté (19%) et semi-denté (21,42%) ont caractérisé les individus témoins (Figure 34a).

Dans l'ensemble de la collection, les accessions les plus vigoureuses (7- 9) représentent 21.66 % contre 1.6 % d'accessions de vigueur faible (1- 3) ; le reste est pour la plupart des accessions de vigueur moyenne (4-6). Les témoins quant à eux, présentent des pourcentages proches ou similaires à ceux des accessions et qui sont par ordre de fréquence décroissant : vigueur moyenne (57,14 %), bonne (28.57 %) et faible (14.28 %) (Figure 34b).

Les dégâts sur l'épi causés par les agents biotiques et abiotiques sont absents pour 41% des individus de la collection. Des dégâts faibles, moyens ou importants ont été enregistrés respectivement chez 32, 20, et 7 % des individus. Les témoins par contre ont enregistré des dégâts faibles pour 67% des individus contre 17 % de dégâts importants ; 16 % des individus ont présentés des épis non endommagés (Figure 34c).

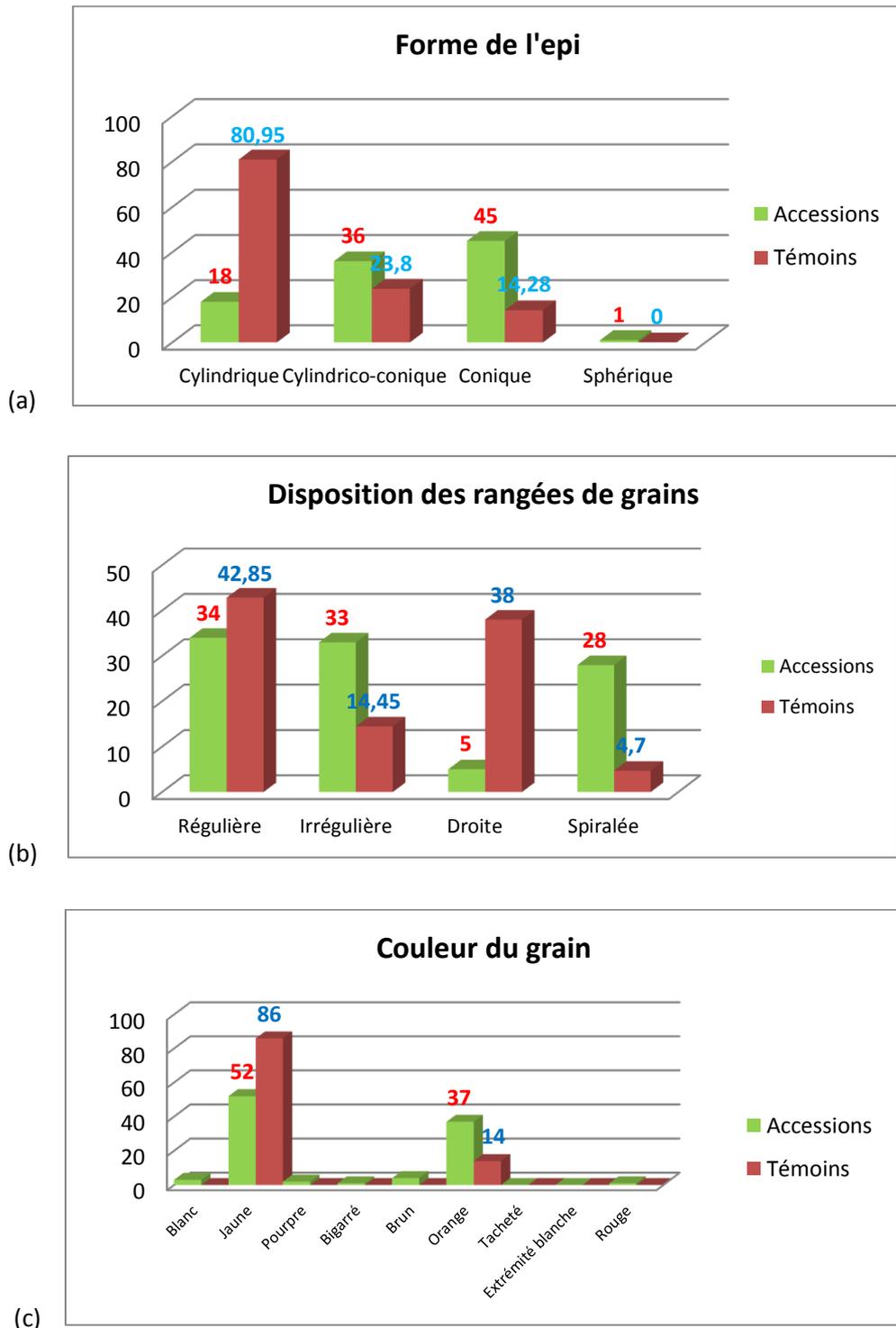


Figure 33 : Variabilité des descripteurs forme de l'epi (a) , disposition des rangées de grains (b) et couleur du grain (c) dans la population globale , exprimé en pourcentage.

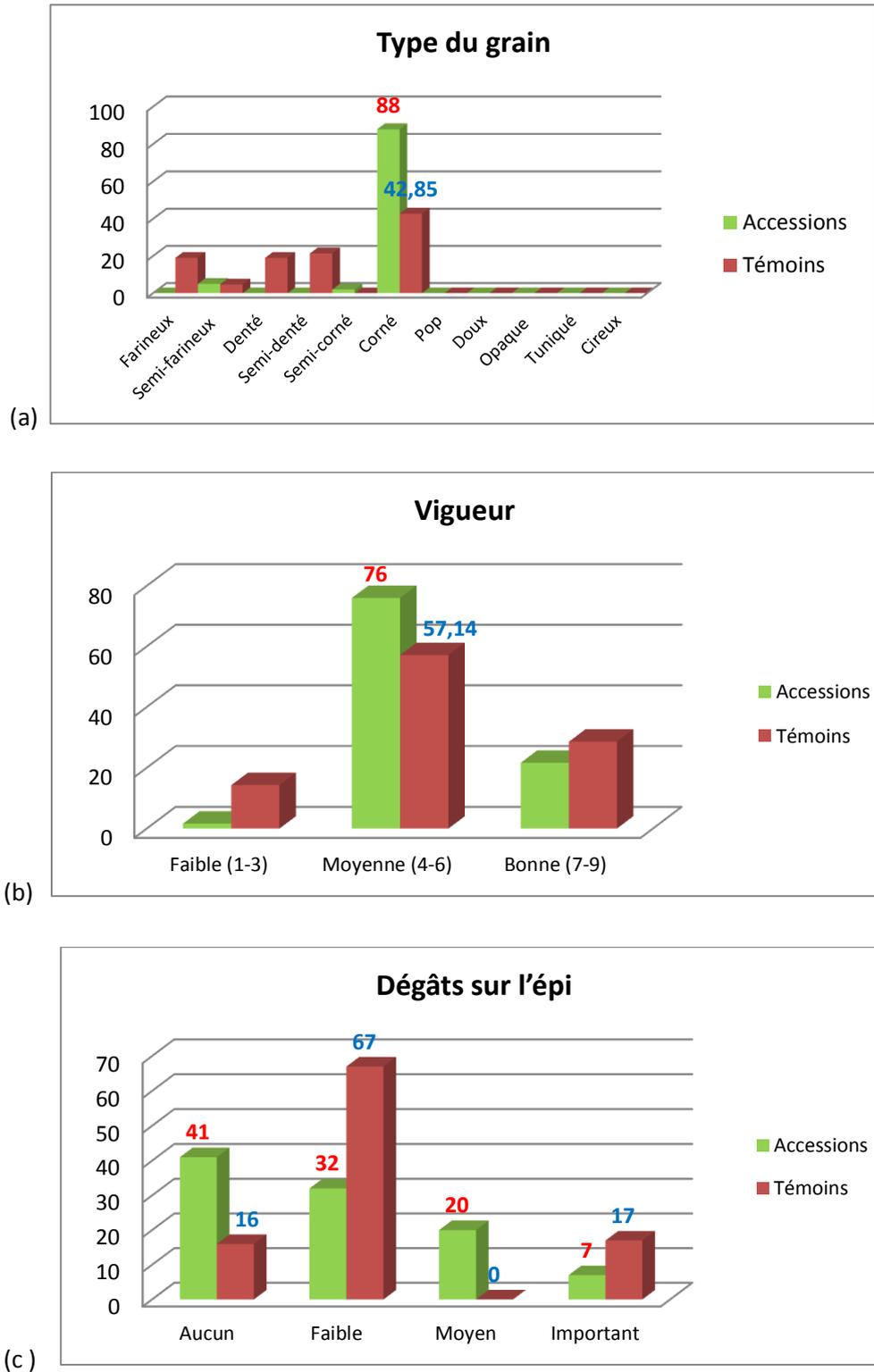


Figure 34 : Variabilité des descripteurs type du grain (a) , vigueur (b) et dégâts sur l'épi (c) dans la population globale , exprimé en pourcentage.

I.1.2.3. Analyse des correspondances multiples (ACM)

L'ACM a permis de caractériser et de regrouper les accessions de maïs en se basant sur l'ensemble des caractères qualitatifs évalués. Seuls les deux premiers axes de l'ACM, qui ont expliqué près de 41% de la variabilité existante, ont été pris en compte (Figure 35).

Pour l'axe 1, ayant absorbé 23.29 % de la variabilité totale, les modalités vigueur moyenne 2 (VG-M1, 9.5 %) , vigueur faible 2 (VG-F2, 4.5%), couleur jaune (CG-2, 5.8%) , couleur jaune – orange (CG-2.6, 4.06 %) , couleur bigarrée (CG-4, 9.11%) , dégâts moyens sur l'épi (DG-M, 11.57 %) , disposition droite (DS-D, 17.65 %) , disposition irrégulière (DS-I, 5.85 %) , forme cylindrique (F-CL, 5.74 %) et forme conique des épis (FE-CN, 4.7 %) ont représenté 82.25 % de cette variabilité. En effet, l'axe 1 a opposé les modalités forme cylindrique (FE-CL), disposition droite des grains (DS-D) et la vigueur moyenne 2 (VG-M2) aux modalités forme conique (FE-CN), disposition irrégulière (DS-I) et vigueur faible 2 (VG-F2).

Les modalités vigueur bonne 2 (VG-B2, 6.9 %) , couleur jaune (CG-2, 4.61%) , couleur bigarrée (CG-4, 6.27 %) , couleur orange (CG-6, 15.74 %) , couleur orange –rouge (CG-6.9, 8.46 %) , dégâts nulles (DG-N, 5.73 %) , dégâts importants (DG-I, 5.17 %) ainsi que les forme cylindrique à cylindro-conique (F-CL-CC, 8.55 %) et cylindro-conique à conique (F-CC-CN, 3.59 %) ont présenté 65.02 % de la variabilité de l'axe 2 qui a absorbé 17.54 % de la variation totale. Cet axe oppose la couleur orange (CG-6), les dégâts nuls (DG-N) et la forme cylindro-conique à conique (F-CC-CN) aux modalités couleur jaune (CG-2), dégâts importants (DG-I) ainsi que la forme cylindrique à cylindro-conique (F-CL-CC).

La projection des 60 accessions sur le plan formé par les deux axes de l'ACM a montré une variabilité au sein des accessions démontrée par la dispersion du nuage des points (Figure 36). L'axe 1 a opposé les accessions TTW, MRG et IGR4 caractérisées par des grains de couleur orange, des épis de forme cylindrique moyennement endommagés aux accessions BMR, IKS, ALL, GNJ et IGR5 qui se distinguent par des grains de couleur jaune et des épis de forme conique avec des dégâts nuls à faibles. L'axe 2 a opposé TMT, INS4 et MSR qui sont moyennement vigoureuses et présentant des grains de couleur bigarrée aux géotypes IGR2, TNR et TGN qui sont vigoureuses à grains de couleur orange et des épis non endommagés. Cet axe a également isolé l'accession GAG caractérisée par des grains de couleur orange et rouge disposés de façon régulière sur des épis cylindriques ou cylindro-coniques qui sont faiblement endommagés

I.1.2.4. Classification ascendante hiérarchique (CAH)

La classification ascendante hiérarchique des 60 accessions étudiées selon les critères qualitatifs évalués a mis en évidence quatre groupes distincts indépendamment de leur origine géographique (Figure 37).

Le premier groupe est constitué de 12 accessions dont la majorité présente des épis de forme conique très résistants aux agents pathogènes. Les grains de couleur jaune sont disposés de façon irrégulière ou spiralée, à l'exception d'AAS, IKS et TWR ayant montré une disposition régulière. Le deuxième groupe comprend 19 accessions de vigueur moyenne à bonne. Les épis présentent des dégâts moyens à faibles avec des grains de couleur jaune, à l'exception d'INS4 ayant des grains de couleur bigarrée. L'ensemble des génotypes présentent des grains disposés de manière régulière, irrégulière ou spiralée.

Le troisième groupe est constitué de 10 accessions de vigueur moyenne à faible avec des grains de type corné et de couleur orange disposés de façon régulière sur les épis à l'exception d'INS2. Les dégâts causés par les agents biotiques et abiotiques sont faibles à moyens pour l'ensemble des génotypes, mais importants pour MSR et TNR. Le dernier groupe comprend 19 accessions réparties en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe rassemble 7 génotypes caractérisés par une vigueur moyenne à bonne et des grains majoritairement de couleur jaune-orange. Les dégâts sur les épis sont faibles à nuls. Le deuxième sous-groupe, quant à lui, comprend 12 génotypes dont 6 sont les plus vigoureux de toute la collection. Les épis sont très résistants aux attaques avec absence totale des dégâts, sur lesquels sont disposés de façon régulière des grains de couleur orange.

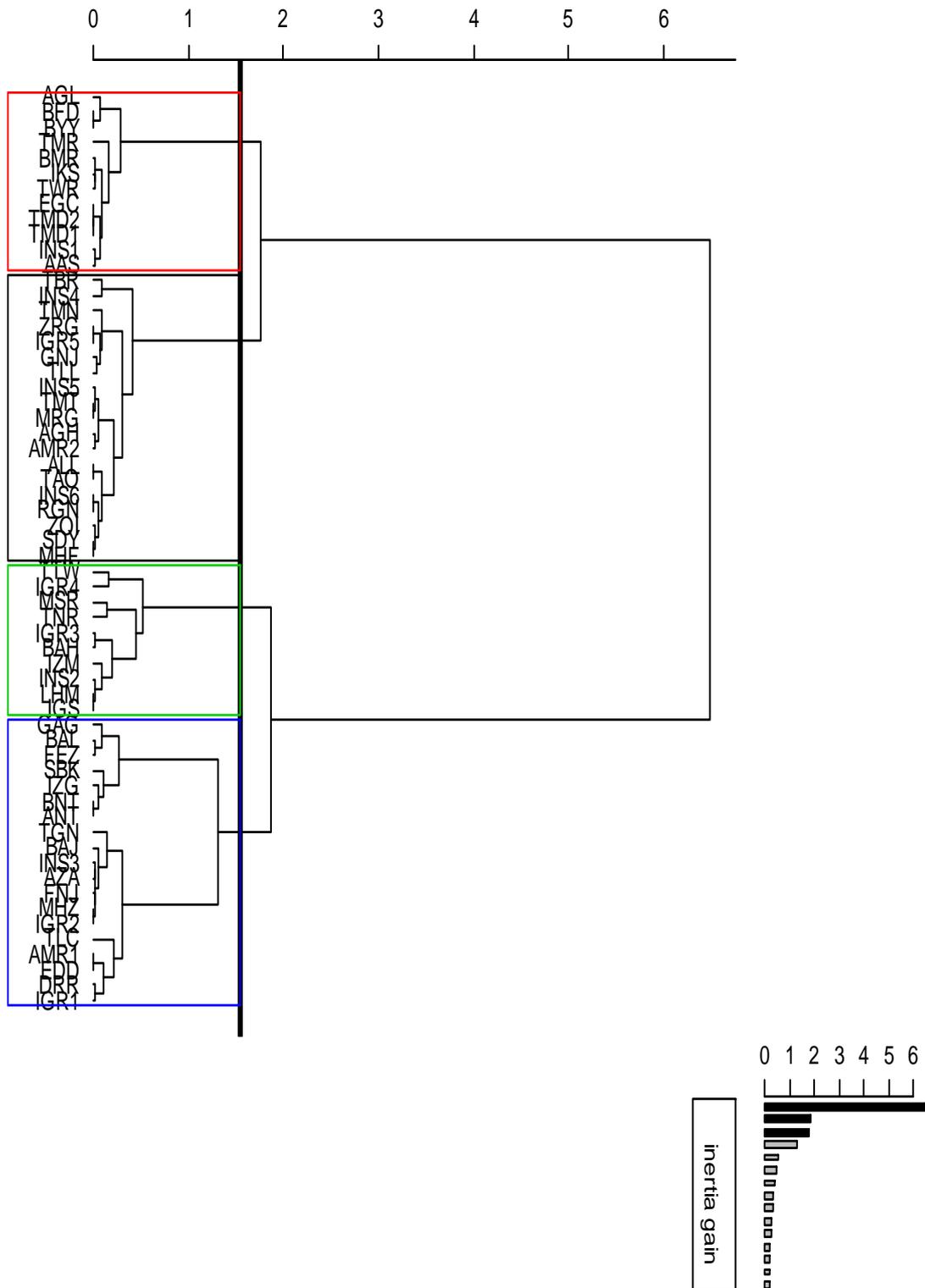


Figure 37 : Classification ascendantes hiérarchique (CAH) des 60 accessions de maïs selon les caractères qualitatifs

I.2. Caractérisation moléculaire

Dans cette partie, nous présentons les résultats de la caractérisation moléculaire des 56 accessions de maïs des Oasis Sahariennes en se basant sur les marqueurs SSR.

I.2.1. Qualité des ADN extraits

L'électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % a révélé la présence de bandes fluorescentes non dégradées (absence de smire), ce qui témoigne la présence d'ADN de bonne qualité. De même, le rapport Do260/Do280, compris entre 1.8 et 2 pour la majorité des accessions, a renseigné sur la pureté des ADN extraits.

I.2.2. Résultats du génotypage

L'analyse des résultats du génotypage à l'aide du logiciel Gene Mapper version 5 (Applied Biosystem) nous a permis de déterminer la taille des allèles constituant chaque bulk. Les programmes "FreqsR" et "F-to-L" ont servi respectivement à l'estimation des fréquences alléliques ainsi que la distinction entre les individus homozygotes et hétérozygotes en connaissant les génotypes des individus de chaque bulk. A partir de ces données, différents paramètres de la variabilité génétiques ont été calculés.

I.2.2.1 Polymorphisme et diversité des SSRs

Tous les marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage des accessions algériennes ont généré des profils polymorphes. Un total de 191 allèles a été amplifié avec une moyenne de 10.61 allèles par locus, allant de 3 allèles pour le locus umc 1265 à 24 pour bnlg 1740 (Tableau 17). Les marqueurs umc1335, phi036, et umc1222 ont également présenté des nombres élevés d'allèles avec 19, 19 et 18 allèles, respectivement.

D'une manière générale, les valeurs PIC calculées pour les 18 loci sont assez élevées avec une moyenne de 0.575 (Tableau 17). Les valeurs élevées sont obtenues pour les locus umc 1335 (0.825) et phi036 (0.775), alors que la valeur la plus faible est enregistrée pour phi127 (0.14). Sur l'ensemble des SSR analysés, 12 marqueurs ont montré des PIC supérieurs à 0.5.

Tableau 17 : Paramètres de la diversité génétique des 18 locus microsatellites utilisés dans l'étude de 56 accessions de maïs.

<i>Locus</i>	<i>Bin</i>	<i>Motif</i>	<i>Taille attendue</i>	<i>N</i>	<i>Ne</i>	<i>He</i>	<i>Ho</i>	<i>I</i>	<i>PIC</i>	<i>Fst</i>	<i>Allèle unique</i>
<i>umc1222</i>	1,01	(AG)20	123-219	18	1,971	0,60888	0,467879	0,834	0,565	0,300	3
<i>umc1403</i>	1,03	(GCA)4	119-150	7	1,962	0,508324	0,454762	0,795	0,481	0,139	1
<i>umc1335</i>	1,06	(AG)24	105-156	19	3,804	0,836405	0,707288	1,510	0,825	0,185	1
<i>umc1165</i>	2,01	(TA)6	135-187	9	2,390	0,73878	0,570238	0,954	0,698	0,272	2
<i>umc1265</i>	2,02	(TCAC)4	108-118	3	2,037	0,62195	0,517576	0,780	0,541	0,241	0
<i>phi127</i>	2,08	AGAC	108-131	4	1,188	0,144801	0,127381	0,230	0,14	0,135	1
<i>bnlg1520</i>	2,09	(AG)22	162-198	14	2,267	0,60129	0,498182	0,932	0,570	0,221	0
<i>phi036</i>	3,04	(AG)n	40-97	19	3,285	0,793641	0,640476	1,369	0,775	0,181	2
<i>umc1963</i>	4,04	(AGC)3	121-132	5	1,858	0,519957	0,443636	0,683	0,434	0,186	1
<i>umc1329</i>	4,06	(GCC)7	75-95	5	1,842	0,552878	0,472727	0,673	0,453	0,230	1
<i>umc1225</i>	5,08	(AG)6	55-128	16	2,194	0,64907	0,485714	0,923	0,608	0,265	2
<i>umc1424</i>	6,06	(TCC)7	90-150	15	2,581	0,688878	0,57619	1,056	0,656	0,187	2
<i>bnlg1740</i>	6,07	(AG)21	110-186	24	2,449	0,750754	0,54303	0,990	0,722	0,315	0
<i>umc1545</i>	7	(AAGA)4	43-90	8	2,793	0,722301	0,647273	1,118	0,676	0,158	1
<i>umc1327</i>	8,01	(GCC)4	47-97	8	3,261	0,747462	0,715152	1,342	0,713	0,109	0
<i>umc1984</i>	8,03	(CAG)3	85-116	5	1,453	0,393903	0,31634	0,508	0,362	0,423	0
<i>phi027</i>	9,03	(GCGCT)n	26-78	7	2,705	0,731295	0,630952	1,102	0,683	0,171	1
<i>phi059</i>	10,02	(ACC)n	131-154	5	1,623	0,513202	0,350617	0,534	0,448	0,373	1
Mean				10,61	2,315	0,617987	0,50919	0,908	0,575	0,227	

N: nombre d'allèles , Ne: nombre efficaces d'allèles ; I : Indice de diversité de Shannon [Lewontin (1972)] ; PIC: indice de polymorphisme des loci (polymorphic Information Content) ; hétérozygotie observée (Ho) et attendue (He) , Fst : coefficient de différenciation génétique.

I.2.2.2. Analyse de la diversité intra-accession

Les fréquences alléliques des 18 microsatellites pour chacune des 56 accessions ont été calculées par le logiciel "Freqs R". D'une manière générale, la distribution des allèles, dont le nombre varie de 3 pour le locus umc1265 à 24 pour le locus bnlg1740 est assez similaire pour un certain nombre de loci où les allèles les plus fréquents étant toujours les mêmes pour la majorité des accessions. C'est notamment le cas des allèles 176,150,108,279,119,123 et 85 qui correspondent respectivement aux locus bnlg1520, phi059, phi127, umc1222, umc1403, umc1963 et umc1984. Après l'analyse détaillée de la répartition des allèles au sein des populations, nous avons constaté que les accessions MHZ, TLC, TTW, ZRG, EGC et IZM sont celles qui possèdent le nombre maximale d'allèles dont la fréquence est supérieure à 0.8 avec 6 allèles chacune. Le nombre d'allèle fixe, dont la fréquence est égale à 1, est relativement faible pour l'ensemble des accessions. Un nombre maximal de 3 allèles fixes est enregistré chez l'accession MHF, deux à un allèle seulement ont été détectés chez 28 accessions, alors que chez les 27 génotypes restants aucun allèle fixe n'a été observé. Parmi les 191 allèles amplifiés au sein des 56 accessions étudiées, 19 sont des allèles uniques ayant été détectés au niveau de 13 loci. Le locus umc 1222 a enregistré le plus grand nombre (3), suivi du marqueur phi 036, umc 1165, umc 1225 et umc 1424 avec deux allèles uniques chacun. Pour le reste des loci, un seul allèle a été révélé. Ces allèles ont été mis en évidence chez 14 accessions qui sont originaires principalement de Reggane (BAH, TNR, GNJ, et IZG) et de In Salah (FEZ, INS4, INS6, et INS3), avec un total de 7 et 4 allèles uniques, respectivement (Tableau 18). C'est l'accession BAH qui détienne le nombre maximal (3) suivie d'AMR1, AGH et TNR avec 2 allèles chacune.

Le nombre d'allèle efficace (N_e) et l'indice de diversité de Shannon (I) présentent des valeurs moyennes de 2.315 et 0.908, respectivement. Leur intervalles sont compris entre 1.18 (phi127) et 3.80 (umc 1335) pour (N_e) et 0.23 (phi 127) et 1.51 (umc 1335) pour l'indice de Shannon (I). Pour l'ensemble des 18 SSR, les accessions algériennes présentent une richesse allélique moyenne (N_a) de 3.87. L'accession AMR1 s'est révélée la plus riche avec une valeur de 5.16, elle est suivie par LHM et TNR avec des valeurs respectives de 4.83 et 4.77. A l'inverse, les accessions possédant le moins d'allèles sont TLC (3.11) et INS3 (3.11), suivie de MSR (3.16) et AZA (3.16).

Le taux d'hétérozygotie espérée (H_e) et observée (H_o) ont été calculés pour chaque population sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg (Tableau 18). Les valeurs maximales de ces deux indices ($H_e = 0.60$, $H_o = 0.62$) ont été enregistrées pour l'accession AMR1, alors que les valeurs minimales ($H_e = 0.37$, $H_o = 0.38$) ont été observée chez TLC. Nous avons constaté également que

l'hétérozygotie observée (H_o) est inférieure à l'hétérozygotie espérée (H_e) pour 27 accessions chez lesquelles les valeurs du coefficient de consanguinité (f_{is}) sont positives. Un constat opposé est observée chez 22 accessions ayant des H_o supérieures à H_e , ce qui s'est traduit par des coefficients de consanguinité négatifs. Par ailleurs, les 7 génotypes restants ont présenté des H_o et H_e presque égaux avec des coefficients F_{is} proche de zéro, indiquant que ces accessions sont en équilibre de Hardy-Weinberg. Les valeurs moyennes de H_o et H_e sont 0.510 et 0.512, respectivement, traduisant un léger déficit en hétérozygotes dans l'ensemble des accessions. Dans la population globale, le taux d'hétérozygotie attendue (H_e) varie de 0.144 pour le locus phi 127 à 0.836 pour le locus umc 1335, avec une moyenne globale de 0.617 (Tableau 17). Concernant l'hétérozygotie observée (H_o), un minimum de 0.127 a été enregistré pour le locus phi 127 et un maximum de 0.715 pour umc 1327, avec une moyenne de 0.509. En comparant ces deux indices, nous constatons que les valeurs de l'hétérozygotie observée sont plus faibles que ceux de l'hétérozygotie espérée au niveau de tous les locus ; ce qui révèle davantage l'existence d'un déficit en individus hétérozygotes dans la population globale.

Tableau 18 : Paramètres de la diversité génétique des accessions Sud Algériennes (Na, He, Ho, Fis et AU).

Accession	Na	He	Ho	Fis	AU	Accession	Na	He	Ho	Fis	AU	Accession	Na	He	Ho	Fis	AU
1-AGH	3,78	0,5246	0,4889	0,0704	2	20-TNG	3,278	0,4632	0,4593	0,0089	1	39-EGC	3,778	0,4729	0,4481	0,0542	0
2-DRR	3,78	0,5074	0,4667	0,0829	0	21-TLC	3,111	0,3754	0,3889	-0,0374	1	40-FEZ	3,222	0,481	0,5074	-0,057	1
3-GAG	3,83	0,4955	0,4889	0,0139	1	22-TLL	4,5	0,5553	0,5778	-0,042	0	41-FNG	4,278	0,5545	0,4963	0,1084	0
4-IGR5	3,56	0,5238	0,5185	0,0104	0	23-TMD2	4,333	0,5467	0,549	-0,0044	0	42-GNJ	3,889	0,5146	0,5222	-0,0154	1
5-IGR3	3,39	0,4513	0,4148	0,0836	0	24-TMN	3,5	0,463	0,4519	0,0248	1	43-IRG2	4	0,5623	0,5259	0,0669	0
6-INS1	3,56	0,5023	0,5222	-0,0411	0	25-TNR	4,778	0,5651	0,5741	-0,0164	2	44-IGR4	4,611	0,5727	0,5815	-0,0159	0
7-INS3	3,11	0,4527	0,4556	-0,0064	1	26-TWR	4,167	0,5372	0,5111	0,0501	0	45-IGR1	4	0,5834	0,5704	0,0231	0
8-INS5	3,5	0,4687	0,4392	0,065	0	27-AZA	3,167	0,471	0,4549	0,0353	0	46-INS2	4,5	0,5743	0,6078	-0,0606	0
9-AMR1	5,17	0,6087	0,6296	-0,0357	2	28-TTW	3,333	0,4028	0,3843	0,0476	0	47-INS4	4,556	0,5446	0,5556	-0,0209	1
10-INS6	4,33	0,5331	0,5185	0,0283	1	29-ZOI	3,556	0,4497	0,463	-0,0306	0	48-IZG	3,944	0,5487	0,5824	-0,0638	1
11-IKS	4,06	0,5498	0,5481	0,0031	0	30-ZRG	3,778	0,4742	0,4704	0,0084	0	49-IZM	3,389	0,4917	0,4778	0,0293	0
12-LHM	4,83	0,5789	0,6222	-0,0777	0	31-AGL	4	0,5045	0,4963	0,0168	0	50-MRG	4,111	0,5327	0,537	-0,0084	0
13-MHF	3,44	0,4427	0,4444	-0,0042	0	32-ALL	3,556	0,4909	0,4588	0,0675	0	51-TMD1	3,333	0,5066	0,4875	0,039	0
14-MHZ	3,61	0,4738	0,4593	0,0318	0	33-ANT	3,778	0,4922	0,4741	0,0381	0	52-TMR	4,333	0,5461	0,5148	0,0592	0
15-MSR	3,17	0,4909	0,4745	0,0345	0	34-BAL	4,111	0,5538	0,5686	-0,0278	0	53-TMT	3,944	0,5235	0,5111	0,0245	0
16-RGN	3,33	0,5024	0,4875	0,0308	0	35-BMR	3,833	0,5153	0,5481	-0,0661	0	54-BAJ	3,778	0,5161	0,5407	-0,0496	0
17-SBK	3,78	0,5594	0,5608	-0,0025	0	36-BNT	4,278	0,5811	0,5741	0,0125	0	55-BFD	4	0,5574	0,5765	-0,0355	0
18-AMR2	4,28	0,4982	0,4926	0,0117	0	37-EDD	3,667	0,4885	0,5	-0,0244	0	56-SBYY	4,222	0,5485	0,5667	-0,0343	0
19-SDY	3,78	0,4545	0,4741	-0,0446	0	38-BAH	4,167	0,5114	0,5444	-0,0672	3	Mean	3,876	0,5123	0,5101	0,0052	

Na : Nombre d'allèle moyen, **He** et **Ho :** hétérozygotie espérée et observée, **Fis :** Coefficients de consanguinité **AU :** allèle unique.

I.2.2.3. Diversité inter-accessions

D'après les résultats des F-statistique de Wright, la valeur du coefficient de différenciation génétique F_{st} est relativement élevée pour le locus umc1984 (0.423), alors qu'elle est faible pour le locus umc1327 (0.109) (Tableau 17). La différenciation moyenne ($F_{st} = 0.22$) indique que 22% de la variabilité totale est expliquée par la variation inter-accession, alors que 78% de cette variabilité est attribuée à la variation intra-accession. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse moléculaire de la variance (AMOVA) qui a révélé une différence significative entre les accessions ($P=0.001$) avec un pourcentage de variation inter-accessions de 20 % (Tableau 19). En outre, la plus grande partie de la variation génétique (79.5%) a été expliquée par les différences au sein des individus des différentes populations ($p=0.001$).

Tableau 19 : Analyse moléculaire de la variance (AMOVA) au sein des 56 accessions de maïs en utilisant 18 marqueurs SSR.

<i>Source de variation</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>Var. Est.</i>	<i>%</i>	<i>F-Statistics</i>	<i>Value</i>	<i>P</i>
<i>Entre accessions</i>	55	2150.823	39.106	1.151	20%	Fst	0.202	0.001
<i>Entre individus/accessions</i>	784	3579.233	4.565	0.020	0.50%	Fis	0.005	0.172
<i>Au sein des individus</i>	840	3800.500	4.524	4.524	79.5%	Fit	0.206	0.001
<i>Total</i>	1679	9530.556		5.696	100%			

df : degré de liberté ; SS : somme des carrés, MS : moyenne des sommes des carrés ; Var.Est : variance estimée ; % : pourcentage de variation.

I.2.2.4. Structure génétique

Méthode de regroupement Bayésien

L'analyse par regroupement bayésien a été conduite à l'aide du programme STRUCTURE. La procédure D'evanno (Evanno et al., 2005), qui permet d'évaluer le nombre probable K de clusters en se basant sur DeltaK, a montré la séparation de nos accessions de maïs en deux groupes ($K=2$) (Figure 38 a) . Les proportions d'appartenance de chaque accession à chacun des deux groupes génétiques sont représentées dans le tableau 20 et la figure 38 b. Parmi les 56 accessions génotypées, 29 avaient un coefficient d'appartenance supérieur ou égale à 0.8 et donc ont pu être assignées à un groupe bien défini. A l'inverse, les 27 accessions restantes, ont présenté des proportions inférieures à 0.8 et donc n'ont pas été affiliées à un groupe particulier ; elles appartiennent au groupe intermédiaire " admixture" .

Le premier groupe (rouge) comprend 10 accessions originaires principalement de Reggane et de Zaouit-Kounta situé à l'est et au centre d'Adrar, respectivement. Le deuxième groupe (vert), quant à lui, rassemble 19 accessions provenant d'In Salah, Zaouit-Kounta et Reggane ainsi que d'autres localités. Le groupe intermédiaire est constitué des 27 accessions restantes qui comprennent toutes les accessions de Fenoughil, certaines accessions d'In Salah ainsi que celles de Zaouit-Kounta (Tableau 20).

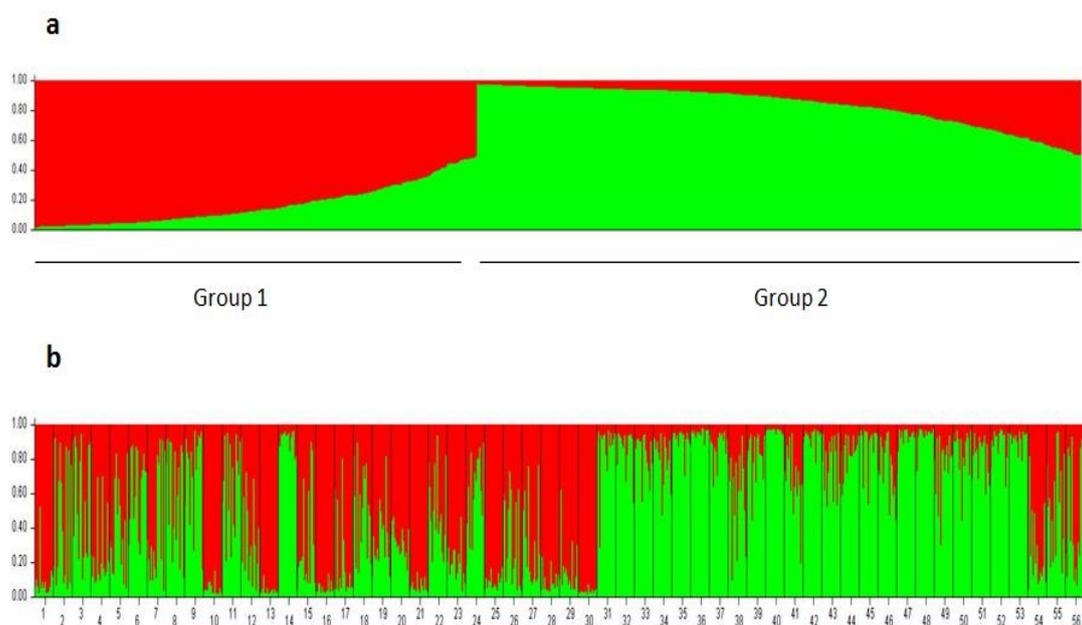


Figure 38 : Structure de la diversité génétique des 56 accessions estimée par une approche bayésienne. (a) : chaque couleur représente un groupe (groupe 1 : rouge ; groupe 2 : vert) ; (b) : la hauteur des segments représente la proportion d'appartenance de chaque population (1 à 56) à chacun des deux groupes.

Tableau 20 : Présentation des proportions d'appartenance des accessions à chacun des deux groupes suite à l'analyse de la Structure.

Accession	Groupe		Q ≥ 80 %	Accession	Groupe		Q ≥ 80 %	Accession	Groupe		Q ≥ 80 %
	1	2			1	2			1	2	
<i>AGH</i>	0,9	0,1	1	<i>TNG</i>	0,68	0,32	Mixture	<i>EGC</i>	0,18	0,82	2
<i>DRR</i>	0,55	0,45	Mixture	<i>TLC</i>	0,94	0,06	1	<i>FEZ</i>	0,03	0,97	2
<i>GAG</i>	0,42	0,58	Mixture	<i>TLL</i>	0,49	0,51	Mixture	<i>FNG</i>	0,31	0,69	Mixture
<i>IGR5</i>	0,75	0,25	Mixture	<i>TMD2</i>	0,8	0,2	1	<i>GNJ</i>	0,07	0,93	2
<i>IGR3</i>	0,6	0,4	Mixture	<i>TMN</i>	0,4	0,61	Mixture	<i>IRG2</i>	0,23	0,77	Mixture
<i>INS1</i>	0,36	0,64	Mixture	<i>TNR</i>	0,91	0,09	1	<i>IGR4</i>	0,17	0,83	2
<i>INS3</i>	0,59	0,41	Mixture	<i>TWR</i>	0,66	0,34	Mixture	<i>IGR1</i>	0,11	0,89	2
<i>INS5</i>	0,4	0,6	Mixture	<i>AZA</i>	0,7	0,3	Mixture	<i>INS2</i>	0,25	0,76	Mixture
<i>AMR1</i>	0,27	0,73	Mixture	<i>TTW</i>	0,91	0,09	1	<i>INS4</i>	0,08	0,92	2
<i>INS6</i>	0,95	0,05	1	<i>ZOI</i>	0,84	0,16	1	<i>IZG</i>	0,06	0,94	2
<i>IKS</i>	0,35	0,66	Mixture	<i>ZRG</i>	0,97	0,04	1	<i>IZM</i>	0,24	0,77	Mixture
<i>LHM</i>	0,64	0,36	Mixture	<i>AGL</i>	0,13	0,87	2	<i>MRG</i>	0,15	0,85	2
<i>MHF</i>	0,96	0,04	1	<i>ALL</i>	0,13	0,87	2	<i>TMD1</i>	0,18	0,82	2
<i>MHZ</i>	0,09	0,91	2	<i>ANT</i>	0,17	0,83	2	<i>TMR</i>	0,11	0,89	2
<i>MSR</i>	0,69	0,31	Mixture	<i>BAL</i>	0,19	0,81	2	<i>TMT</i>	0,08	0,92	2
<i>RGN</i>	0,95	0,05	1	<i>BMR</i>	0,08	0,92	2	<i>BAJ</i>	0,74	0,26	Mixture
<i>SBK</i>	0,79	0,21	Mixture	<i>BNT</i>	0,05	0,95	2	<i>BFD</i>	0,46	0,54	Mixture
<i>AMR2</i>	0,49	0,51	Mixture	<i>EDD</i>	0,12	0,88	2	<i>SBYY</i>	0,56	0,44	Mixture
<i>SDY</i>	0,66	0,34	Mixture	<i>BAH</i>	0,4	0,6	Mixture	<i>Mean</i>			

Classification basée sur les distances génétiques

Les données microsatellites obtenues ont été utilisées pour évaluer les relations génétiques entre les accessions par le biais de l'estimation des distances génétiques de Nei et Li, (1979). Ces distances varient de 0.066 à 0.824, ce qui reflète une large variabilité génétique au sein des accessions sahariennes. Une distance faible entre deux accessions suggère une similarité vis-à-vis des loci étudiés, alors qu'une distance élevée traduit la divergence entre ces accessions. L'analyse détaillée de la matrice des distances génétiques nous a montré que, pour certains couples d'accessions, les distances génétiques augmentent avec les distances géographiques. En effet, les distances génétiques les plus faibles (0.066, 0.098 et 0.193) sont enregistrées pour des couples d'accessions (TMR-TMT, IKS-TMR et BYY-DRR) provenant toutes de la même région (Zaouit-kounta). D'autres couples d'accessions (BFD-BYY, INS3-IGR3 et IGR3-INS5) provenant de régions proches ont également présenté de faibles distances génétiques (0.102, 0.117 et 0.114, respectivement). Par ailleurs, la distance génétique la plus élevée a été enregistrée entre RGN et FEZ qui proviennent respectivement de deux régions bien distinctes ; Reggane (wilaya d'Adrar) et In Salah (wilaya de Tamanrasset). Elle est suivie de celles enregistrées entre RGN-AGL (0.770), RGN-EGC (0.736) et AGH-FEZ (0.662) qui proviennent, deux à deux, de régions éloignées. *A contrario*, il existe des exceptions pour lesquelles il n'y pas de cohérence entre les proximités géographiques et les distances génétiques. C'est notamment le cas entre INS6-INS4 (0.660) et INS6-INS3 (0.523) provenant toutes de In Salah ; MHF-RGN (0.570) et MHZ-RGN (0.586) originaires de Reggane et présentant des distances géographiques relativement élevées. Les couples IGR4-TMT (0.083), ANT-IGR4 (0.094) et BYY-INS5 (0.108) sont génétiquement proches alors qu'elles sont originaires, deux à deux, de localités un peu distantes. Nous avons également constaté que l'accession RGN, originaire de Reggane, présente des distances génétiques relativement élevées avec la majorité des accessions ; la distance la plus faible est de 0.350. Un constat similaire est observé pour ZRG et WTT avec des distances minimales de 0.322 et 0.317, respectivement.

Le dendrogramme généré en utilisant l'algorithme UPGMA a révélé trois clusters (Figure 39). Le premier cluster, qui comprend 44 accessions, est subdivisé en quatre sous-clusters I.a, I.b, I.c et I.d. Le sub-cluster I.a rassemble 12 génotypes dont 5 appartiennent au groupe intermédiaire et 6 génotypes figurent dans le groupe 2 identifiés suite à l'analyse par approche bayésienne. Le sous-cluster I.b comprend également 12 accessions, tandis que le sous-cluster I.c et I.d regroupent 10 accessions chacun. Les clusters II et III rassemblent respectivement 7 et 2 accessions qui occupent principalement le groupe 1. Les trois accessions ZRG, WTT et RGN ont été isolées (out-cluster).

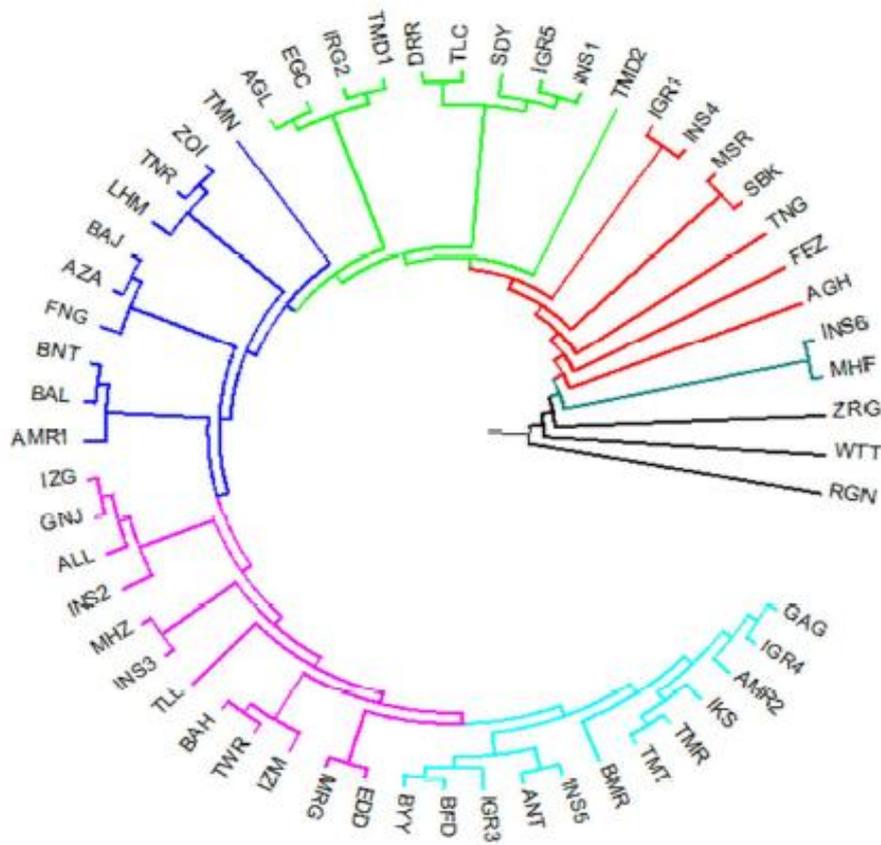


Figure 39 : Dendrogramme UPGMA basé sur les distances génétiques de Nei et Li, (1979) générées des données SSR des 56 accessions Sud Algériennes.

1.3. Corrélation entre les données agro-morphologiques et moléculaires

La relation entre la matrice des distances euclidiennes basées sur les données morphologiques et celle des distances génétiques de Nei et Li a été estimée en utilisant le test de corrélation de Mantel (1967). D'après les résultats du test, une corrélation positive et hautement significative entre les deux matrices a été révélée ($r= 0.166$, $p<0.0001$.)

I. Discussion

II.1. Caractérisation agro-morphologique

Cette partie a porté sur la caractérisation agro- morphologique de 60 accessions de maïs (*Zea mays* L.) collectées dans le sud Algérien dans l'objectif d'évaluer la variabilité et la diversité génétique au sein de ces accessions et de connaître les relations qui existent entre elles. L'utilisation d'un ensemble de 17 caractères quantitatifs et 6 caractères qualitatifs sélectionnés parmi les descripteurs de l'IBPGR a permis une bonne évaluation de la variabilité phénotypique.

II.1.1.variabilité agro-morphologique

L'analyse de l'ensemble des données agro-morphologique a mis en évidence la présence d'une large diversité au sein des accessions étudiées. Cette diversité résulte de l'adaptation de ces accessions aux conditions environnementales extrêmes qui caractérisent leurs régions d'origine. Le plus souvent, ces accessions sont cultivées dans des sols pauvres et exposées à des températures élevées et des précipitations faibles ; un environnement qui conduit à la sélection de traits adaptatifs que l'on trouve dans les environnements extrêmes (Hawtin et *al.*, 1996).

Caractérisation par les descripteurs quantitatifs

Concernant les données quantitatives, les accessions diffèrent significativement pour la précocité de la floraison mâle et femelle (FM et FF), la hauteur du plant (HP), les caractéristiques de l'épi (DR, NLE et NEP), le poids de 100 graines (PCG) ainsi que pour le rendement (RD). Concernant la précocité à la floraison, il est important de signaler que la date de floraison est considérée comme un caractère complexe qui joue un rôle crucial dans l'adaptation du maïs aux diverses conditions environnementales (Chardon et *al.*, 2004 ; Buckler et *al.*, 2009). Cette adaptation est, en effet, possible en impliquant des signaux environnementaux et endogènes qui contrôlent le moment optimal pour la transition de la phase végétative à la phase reproductive (Bouchet et *al.*, 2013)

Les populations de maïs algériennes originaires des régions subtropicales se caractérisent généralement par des cycles de développement courts (Rahal-Bouziane, 2006). Cependant, les accessions étudiées, ayant été caractérisées dans une région tempérées, ont présenté un cycle de développement moyen et une floraison normale (73 et 77 jours pour la floraison mâle et femelle, respectivement). Un tel comportement confirme la capacité d'adaptation des accessions algériennes aux climats tempérés (Djamel et *al.*, 2011) puisque le maïs tropical présente une floraison retardée et une hauteur élevée lorsqu'il est cultivé dans des zones tempérées (Allison et Daynard, 1979 ;

Warrington et Kanemassu, 1983 a, et b). La culture du maïs dans les climats tempérés a, en effet, été rendue possible en sélectionnant des variétés insensibles à la photopériode (Rebourg et *al.*, 2003).

Parmi les accessions étudiées, certaines sont tardives et présentent des hauteurs élevées et des ASI courts, elles se sont aussi révélées les plus productives, ce qui a été déjà constaté par d'autres auteurs (Shi et *al.*, 2008, Khan et *al.*, 2011, Wang et *al.*, 2011 ; Bello et *al.*, 2012). Sur le plan morphologique, la hauteur des plants est fortement associée à la date de floraison du moment que la formation des entre nœuds s'arrête à l'initiation de la floraison, ce qui signifie que les génotypes les plus précoces sont généralement les plus courts (Troyer et Larkins, 1985 ; Nazir et *al.*, 2010 ; Nzuve et *al.*, 2014). Une corrélation similaire a été rapportée entre la hauteur du plant et le rendement (Bello et *al.*, 2010 ; Nazir et *al.*, 2010) suggérant que les plantes hautes possèdent un nombre élevé de feuilles qui accumulent un maximum de matière sèche, ce qui est à l'origine de l'augmentation des rendements (Nzuve et *al.*, 2014).

L'ASI, qui mesure la synchronisation entre la floraison mâle et femelle (Bello et Olaoye , 2009), contribue également à augmenter le rendement d'où son importance dans les programme d'amélioration (Ngugi et *al.*, 2013). En effet, sous conditions normales, la floraison mâle débute 2 à 4 jours avant la floraison femelle (Aslam et *al.*, 2015) ; une réduction de cet intervalle (ASI) augmente la synchronisation entre les deux types de floraison conduisant ainsi à une augmentation des rendements, alors qu'une asynchronie peut entraîner des pertes de rendement (Bolanos et Edmeades ,1996). Selon Dass et *al.*, (2001) ; Ngugi et *al.*, (2013) et Aslam et *al.*, (2015), un court ASI confère un mécanisme de tolérance à la sécheresse associé à une augmentation des rendements, alors qu'un long ASI permet d'échapper à ce type de stress avec une baisse importante des rendements. Parmi les accessions étudiées, près de 25% d'entre elles ont présenté un ASI inférieur ou égale à 2 jours, ce qui constitue une source incontournable de génotypes tolérant à la sécheresse (Dass et *al.*, 2001).

La comparaison des moyennes des données relatives à la plante par le test LSD a révélé une ressemblance entre les accessions IGR2, AAS, IGS, TLC et FEZ qui sont classées en tête des groupes avec les génotypes témoins originaires d'Espagne et des Etats-Unis. A l'opposé, les accessions AGL, SDY, TMD1, AZA et INS1 ont présenté des similitudes pour plusieurs descripteurs, ce qui a conduit à les classer ensemble au niveau des derniers groupes. Pour certaines composantes du rendement, les accessions algériennes étudiées se sont révélées meilleures par rapport aux témoins, comme cela a été le cas pour le nombre d'épi par plant (NEP) et le rendement en grains (RD) où les témoins ont occupé les derniers groupes.

Caractérisation par les descripteurs qualitatifs

Pour les caractères qualitatifs, les accessions ont montré une grande variabilité pour la forme de l'épi ainsi que pour la disposition des rangées des grains. Les épis sont majoritairement de type conique à cylindrique. Les grains sont disposés de différentes manières et à des proportions variables qui coïncide avec celles rapportées par Twumasi et *al.*, (2017) suite à l'évaluation de 60 accessions de l'IPGRI.

Concernant le type et la couleur des grains, les accessions ont présenté une variabilité faible avec la dominance du grain de type corné et de couleur jaune, ce qui est en accord avec la description des 60 accessions de l'IPGRI (Twumasi et *al.*, 2017). Les couleurs orange, blanche et pourpre ont également été observées chez les accessions algériennes, mais également chez les accessions Turques (Okumus, 2007), portugaises (Angelo et *al.*, 2008) et Albanaises (Elezi et *al.*, 2013). En effet, les pigments caroténoïdes et les anthocyanines sont à l'origine des différentes couleurs que peuvent avoir les grains de maïs (Zilic et *al.*, 2012). Les pigments caroténoïdes, lorsqu'elles sont présents à des quantités variables, confèrent les nuances de la couleur jaune jusqu'à l'orange. Les anthocyanines, quant à eux, confèrent la couleur pourpre, violette et noir (Rodriguez et *al.*, 2013) alors que la couleur blanche résulte de l'absence des deux types de pigments (Ford, 2000).

L'évaluation des dégâts sur l'épi causés par les différents agents biotiques et abiotiques a révélé que presque la moitié des accessions sont résistantes. Le reste d'entre elles ont présenté des dégâts faibles, moyens à importants causés principalement par la pourriture et les insectes. Chez le maïs, la pourriture des épis est à l'origine des baisses des rendements (Duarte et *al.*, 2009) causé par la réduction du poids et de la qualité des grains (Matiello et *al.*, 2015).

II.1.2. Corrélations entre les variables

Les corrélations entre les différents caractères agro-morphologiques ont été mises en évidence en utilisant le test de Pearson. Les plus significatives ont été enregistrées entre la floraison mâle et la floraison femelle et entre la hauteur du plant et celle de l'épi ce qui concorde avec les corrélations annoncées par Beyene et *al.*, (2005a). Les résultats obtenus sur les corrélations phénotypiques ont également montré que de nombreux traits étaient significativement et positivement corrélés les uns avec les autres, ce qui avait déjà été constaté par d'autres auteurs (Bolaños et Edmeades, 1996 ; Mijangos-Cortés et *al.*, 2007 ; Cömertpay et *al.*, 2012 ; et Iqbal et *al.*, 2015).

La détermination des corrélations entre les caractères d'intérêt est très utile dans les programmes d'amélioration et devrait être prise en compte par les sélectionneurs. Cependant, la sélection des traits appropriés doit être accomplie et vérifiée dans différentes conditions agro-climatiques, car en dépit des facteurs génétiques, d'autres facteurs probablement environnementaux peuvent influencer les corrélations entre les caractères (Yücel et *al.*, 2009). Selon Falconer et Mackay (1996), les corrélations phénotypiques sont la résultante des corrélations génétiques et des corrélations environnementales entre deux caractères. Si les deux caractères ne sont pas sous fort contrôle génétique, alors les corrélations phénotypiques sont principalement déterminées par les corrélations environnementales. Si l'héritabilité est élevée, les corrélations phénotypiques seront alors déterminées principalement par les corrélations génétiques.

II.1.3. Regroupement des accessions basé sur l'analyse multivariée

Les moyennes ajustées des variables FM, FF, HP, NLE, DRC, NEP, PCG et RD ont servi à classer les accessions en se basant sur les traits les plus discriminants. Les deux premiers axes de l'ACP ont permis de répartir les 60 accessions en trois groupes en se basant sur leur similitude pour les caractères FF, FM, HP, NLE, PCG et RD qui ont fortement contribué à les différencier. Ces variables font partie des traits morphologiques et agronomiques les plus héréditaires et les plus discriminants pour la classification du maïs (Sanchez et *al.*, 1993). Les principaux traits ayant servi à répartir les accessions sahariennes ont contribué également à séparer les populations Ethiopiennes (Beyene et *al.*, 2005 a), Italiennes (Hartings et *al.*, 2008) et Indiennes (Kumari et *al.*, 2017). De même, Mijindos – Cortes et *al.*, (2007) et Jaric et *al.*, (2010) ont indiqué que la hauteur des plants et des épis sont les critères les plus discriminants pour identifier les populations de maïs originaires de Serbie et du Mexique, respectivement.

Le regroupement des accessions suite à une classification ascendante hiérarchique basée sur les huit traits quantitatives a permis d'identifier trois clusters presque identiques aux trois groupes générés par l'ACP. Le premier groupe comprend les accessions les plus tardives et les plus hautes avec des rendements élevés à moyens, contrairement au troisième groupe qui rassemble les accessions les plus précoces et les plus petites de taille avec des rendements moyens à faibles. Le deuxième groupe, quant à lui, regroupe les géotypes les plus productives et présentant majoritairement des épis résistants aux agents pathogènes.

Pour les deux types de descripteur, quantitatifs et qualitatifs, les accessions collectées dans la même région ont été réparties dans des clusters ou groupes différents indiquant que la classification de ces géotypes s'est faite selon leur performance pour les traits évalués et indépendamment de leur

origine géographique. L'absence de relation entre la structuration des accessions et leur origine géographique avait déjà été constaté lors de la classification des populations Italiennes (Harsting et *al.*, 2008) et Indiennes (Sharma et *al.*, 2010). Elle est attribuée aux flux géniques ayant conduit à un mélange extensif du germplasma entre les champs voisins, d'une part, et à l'échange des semences entre agriculteurs de régions distincts, d'autre part (Cömertpay et *al.*, 2012).

En guise de conclusion, la caractérisation de l'ensemble de la collection a révélé une grande variabilité phénotypique au sein des accessions et a fait apparaître celles qui ont des traits d'intérêt agronomique. En effet, le rendement et les critères d'adaptation aux climats (Asare et *al.*, 2016) tels que la date de floraison (Buckler et *al.*, 2009) sont les principaux traits recherchés dans les programmes d'améliorations du maïs. En premier lieu, il est important de citer l'intérêt des accessions du cluster 2 qui se sont révélés les plus productives. En outre, les accessions étudiées ont présenté une grande variabilité pour la date de floraison, ce qui confirme leur potentialité adaptative aux divers conditions environnementales (Djemel et *al.*, 2011). Les accessions les plus précoces, adaptées à des saisons de pluie courte, fourniraient aux sélectionneurs un trait simple pour échapper au stress hydrique (Bello et *al.*, 2012). De même, les génotypes caractérisées par de courts ASI peuvent également servir à la tolérance à la sécheresse. Selon Ngugi et *al.*, (2013) ces deux caractères semblent ne pas être liés génétiquement, et il est donc possible de combiner le mécanisme d'échappement à la sécheresse, conféré par la précocité, à celui de la tolérance lié à de court ASI.

II.2. Caractérisation moléculaire

La connaissance préalable de la diversité génétique constitue une étape clé et primordiale pour tous programmes d'amélioration du maïs (Reif et *al.*, 2004). En effet, l'étude du polymorphisme nucléotidique, par le biais des marqueurs moléculaires, est considérée comme un outil direct et fiable pour une meilleure estimation de cette diversité. Dans ce contexte, un ensemble de 56 accessions de maïs, originaires des Oasis Saharienne du Sud d'Adrar, ont fait l'objet d'un génotypage SSR sur séquenceur en adoptant la stratégie du bulk.

II.2.1. Polymorphisme et diversité allélique

Tous les loci analysés se sont montrés polymorphes, et ont, par conséquent, été retenus pour les analyses de la diversité et la structure génétique. Au total, 191 allèles ont été amplifiés avec une moyenne de 10.61 allèles par locus. Des valeurs similaires de 10.2 et 10.5 ont été annoncées suite au génotypage de 8 et 19 populations de maïs originaires, respectivement, du Nord-ouest (Lia et *al.*, 2009) et Nord-est (Bracco et *al.*, 2012) de l'Argentine. Cependant, un grand nombre d'allèles par locus (21.7) a été rapporté lors de l'analyse de 260 lignées de maïs (Liu et *al.*, 2003) contrairement à ce qui a été annoncé suite à l'analyse du maïs suisse (Freitag et *al.*, 2012) et celui originaire d'Ethiopie (Beyene et *al.*, 2006b) ayant révélé des moyennes de 6.2 et 4.9, respectivement. De même, une moyenne de 5.8 allèles a été rapporté par Aci et *al.*, (2013) lors de l'évaluation d'une quinzaine d'accessions algériennes en utilisant le même jeu de marqueurs SSR révélés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Cette différence perçue au niveau du nombre d'allèles entre les différentes études pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la méthodes utilisée pour la détection du polymorphisme, la taille de l'échantillon analysé et plus particulièrement le panel des SSR employés (Heckenberger et *al.*, 2002 ; Choukan et *al.*, 2006 ; Legesse et *al.*, 2007 ; Adetimirin *al.*, 2008). En effet, les SSR dinucléotidiques génèrent un plus grand nombre d'allèles que leurs homologues tri et tétra nucléotidique (Heckenberger et *al.*, 2002), ce qui s'explique par une corrélation significative entre le motif répété et le nombre d'allèles détectés (Legesse et *al.*, 2007; Abera et *al.*, 2012).

Nos résultats confirment donc l'existence d'une grande variabilité génétique au sein des accessions de maïs sahariennes, mais également l'efficacité des marqueurs SSR choisis qui sont répartis uniformément sur le génome. Le choix des marqueurs microsatellites couvrant l'ensemble du génome semble avoir une grande importance lors de l'estimation des similitudes génétiques (Barbosa-Neto et *al.*, 1997), puisque qu'il permettent une représentation plus fidèle de la diversité

génétique des accessions étudiées. Nous avons également constaté que le génotypage de l'ADN en bulk provenant de 15 individus, en utilisant des SSRs fluorescents et un séquenceur haute résolution, était suffisamment précis et en accord avec la suggestion de Echloholz et *al.*, (2008) et Cömertpay et *al.*, (2012). Liu et *al.*, (2005) ont également préconisé l'usage de 15 individus pour la constitution des bulks afin d'estimer la diversité génétique du maïs.

Pour l'ensemble des 18 loci analysés, le locus umc1335 présente la haute valeur du PIC (0.825) et un nombre élevé d'allèles (19), contrairement au locus phi127 qui a enregistré une faible valeur du PIC (0.14) avec 4 allèles seulement. Ceci pourrait s'expliquer par la dépendance du PIC au nombre et à la distribution des fréquences alléliques (Romeo-Severson et *al.*, 2001). De plus, une valeur PIC faible indique une fréquence élevée d'un ou deux allèles (da Silva et *al.*, 2015) comme c'est notamment le cas du locus phi127. Par ailleurs, un locus avec une valeur élevée peut être utilisé pour discriminer le germplasm dans des études ultérieures (Lopes et *al.*, 2015). Le PIC est, par conséquent, un indice idéal pour mesurer le polymorphisme des marqueurs. Selon Botstein et *al.*, (1980), les valeurs du PIC permettent de classer les loci en trois catégories ; les plus informatifs (PIC > 0.5), les moyennement informatifs (0.5 > PIC > 0.25) et enfin les moins informatifs (PIC < 0.25). Parmi ceux employés dans notre étude, 67% présentent un PIC supérieur à 0.5, ce qui confirme la valeur informative élevée des SSR choisis pour étudier la diversité génétique du maïs. La valeur moyenne (PIC = 0.57) est supérieure à celles annoncées par Oppong et *al.*, (2014) (0.5) et Nyaligwa et *al.*, (2015) (0.51) en utilisant 20 et 30 SSRs, respectivement. Des valeurs plus élevées ont été rapportées suite à l'analyse des landraces originaires d'Inde (0.6) à l'aide de 42 SSRs (Sharma et *al.*, 2010), du Japon (0.69) avec 60 SSRs (Enoki et *al.*, 2002) et les landraces turques (0.72) au niveau de 28 loci (Cömertpay et *al.*, 2012).

II.2.2. Diversité intra-accessions

Suite à l'analyse de la distribution des allèles au sein des génotypes étudiées, nous avons constaté que certains allèles sont très communs et sont présents dans toutes les populations, alors que d'autres sont propres et spécifiques à des populations données permettant ainsi de les distinguer des autres. La présence de ces allèles uniques, qui constitue une source de diversité génétique (Petit et *al.*, 1998), est, par conséquent, un moyen de différenciation génétique entre les accessions. Suite à notre étude, 19 allèles uniques ont été détectés chez 14 accessions qui sont originaires principalement de Reggane (7 allèles) et In Salah (4). Il est intéressant de rappeler que la région de Reggane a fait l'objet d'essais nucléaires par l'armée française en 1960, les radiations émises ont certainement conduit à l'augmentation des taux de mutation qui constitue l'une des principales

cause d'apparition des allèles uniques (Henderson et Pete, 1992). Un nombre plus faible (7) a été révélé après génotypage de 15 accessions de maïs algériennes par les mêmes SSRs utilisés dans notre étude (Aci et *al.*, 2013). Ces allèles lorsqu'ils sont présents à un nombre élevé, comme c'est le cas des études ayant porté sur 48 accessions indiennes (163)(Sharma et *al.*,2010), 48 populations du Nord-Est de l'Himalaya (135)(Singode et Prasanna, 2010) ainsi que 48 accessions indiennes de divers zones agro-écologiques (174)(Wasala et Prasanna, 2012), reflètent non seulement un taux de mutation élevé, mais également une sélection d'allèles spécifiques reliés à la morphologie et à l'aire d'adaptation (Wasala et Prasanna, 2012). C'est notamment le cas de 29 allèles uniques détectés chez les populations éthiopiennes sélectionnées par les agriculteurs pendant plusieurs décennies dans des régions caractérisées par de faibles précipitations et des cycles végétatifs courts (Beyene et *al.*, 2006b).

L'analyse de données moléculaires récoltées au cours de notre étude a permis également de mesurer le nombre d'allèles efficaces (N_e), qui dépend de la proportion de locus polymorphe, du nombre d'allèles par locus et de la distribution uniforme des fréquences alléliques (Sharma et *al.*, 2010). Au sein des 56 accessions, nous avons enregistré une moyenne (2.31) inférieure à celle annoncée par Qi-Lun et *al.*,(2008) (4.03) et Wasala et Prasanna, (2012) (3.81) lors de l'analyse de la diversité génétique des accessions chinoises et indiennes, respectivement. Concernant le nombre moyen d'allèles par accession, la moyenne révélée (3.876) est identique à celle enregistrée pour les populations de maïs Corn Belt nord-américaines (3.87)(Ho et *al.*,2005) , alors qu'elle se trouve supérieure à celles des accessions sud-américaines et plus précisément celles originaires du Paraguay (3.57) (Noldin et *al.*,2016) et du Mexique (3.44) (Reif et *al.*,2006a). La variabilité de nos accessions se trouve également plus élevée par rapport à celle rapportée pour les accessions suisses (Eschholz et *al.*, 2010) et indiennes (Wasala et Prasanna , 2012) avec des valeurs respectives de 2.82 et 2.41.

La variabilité génétique moyenne au sein des accessions algériennes ($H_e=0.512$) est proche de celle obtenue pour les 8 populations originaires du Nord-Ouest de l'Argentine (0.571) (Lia et *al.*, 2009). Cependant, elle se trouve inférieure à la moyenne reportée pour les 25 accessions mexicaines (0.61) (Reif et *al.*, 2006 a) et supérieure à la H_e des 20 accessions paraguayennes faisant partie d'une collection nucléaire du Cymmit d'Amérique du Sud (0.48) (Noldin et *al.*,2016). Afin de nous renseigner sur l'état panmictique des populations ainsi que l'impact des forces évolutives due à l'autofécondation, une comparaison entre H_e et H_o a eu lieu. Il ressort des résultats une concordance entre ces deux indices où les valeurs les plus élevées sont enregistrées chez les accessions AMR1, BNT et INS2 tandis que TLC et TTW ont montré les valeurs les plus faibles. Nous avons constaté également que les moyennes de H_e et H_o ($H_e=0.512$ et $H_o=0.510$) sont très proches,

ce qui nous a conduit à déduire que les accessions algériennes présentent un léger déficit en hétérozygotes. En effet, l'excès d'hétérozygotie, qui peut s'expliquer par l'origine multiparentale, observée chez 26 des accessions étudiées a équilibré le déficit en hétérozygotes révélé chez le reste des accessions. Les valeurs du coefficient de consanguinité (F_{is}) qui sont trop faibles avec une moyenne de 0.0052 confirment davantage le faible déficit en hétérozygotie, estimé à 0.52% en moyenne pour chaque accession, ainsi que le faible taux de consanguinité au sein des accessions.

Dans la population globale, l'hétérozygotie espérée totale (0.617), estimée pour l'ensemble des loci, est proche de celle annoncée pour les populations portugaises (0.622)(Vas Patto et *al.*,2004) mais inférieure à celle reportée pour les accessions chinoises (0.69)(Yao et *al.*,2007), indiennes (0.63)(Sharma et *al.*,2010 ; Wasala et Prasanna, 2012) et suisses (0.78)(Eschholz et *al.*,2010). Cependant, elle est supérieure à la diversité retrouvée pour les accessions algériennes (0.571) (Aci et *al.*, 2013) ainsi que celles originaires d'Argentine (0.571)(Lia et *al.*,2009). Nous avons constaté également que l'hétérozygotie espérée (H_e) totale (0.617) est supérieure à l'hétérozygotie observée (H_o)(0.509), laissant sous-entendre un déficit en individus hétérozygotes dans la population globale par rapport à ce qui serait attendu si la population était en équilibre de Hardy-Weinberg. En tant qu'espèce allogame, les populations de maïs devraient être en équilibre de Hardy-Weinberg (Bracco et *al.*, 2009), cependant plusieurs études, utilisant différents types de marqueurs (Debreuil et Charcosset,1998 ; Presoir et Berthaud, 2004 ; Reif et *al.*, 2004), ont reporté l'écart de cet équilibre. Les croisements non aléatoires ou homogamie, qui se définit comme un croisement entre individus phénotypiquement semblables, est une source potentielle d'excès d'homozygotie (Reif et *al.*, 2004 ; Hinze et *al.*,2005) ; puisque les individus semblables phénotypiquement sont probablement semblables sur le plan génétique, et sont ainsi amenés à produire une génération dotée de deux copies du même allèle et donc une augmentation de la proportion d'homozygotes (Raven et *al.*, 2017). La présence d'allèles nuls est un autre facteur qui peut causer un déficit en hétérozygotes (Lia et *al.*, 2009). Ces allèles sont en réalité présents mais ne peuvent pas être amplifiés (Hedrick, 2000), les individus hétérozygotes sont, par conséquent, considérés comme homozygotes (Hinze et *al.*, 2005). Une autre explication de ce déficit est la fragmentation de la population étudiée en plusieurs sous-populations (Reif et *al.*, 2004) ce qui peut conduire à un effet de Wahlund.

II.2.3. Diversité inter-accessions

Pour décrire la diversité génétique des populations, Wright, (1951) a développé l'indice F_{st} qui est la corrélation entre deux gamètes tirés au hasard et provenant de deux sous populations différentes. Selon Synder et *al.*,(1985) qui considère que les valeurs F_{st} comprises entre 0.25 et 0.5 indiquent une

forte différenciation génétique, nos résultats révèlent que les accessions algériennes détiennent une différenciation génétique importante ($F_{st}=0.22$) ; ce qui laisse supposer qu'elles ont été conservées efficacement par les agriculteurs. Ce résultat est confirmé par le faible taux de consanguinité qui révèle un haut niveau d'identité génétique des accessions étudiées. La différenciation au sein de nos accessions est supérieure à celle trouvée pour les variétés locales chinoises (0.07)(Yao et *al.*,2007) et les accessions Sud-américaines (0.12)(Noldin et *al.*,2016), cependant elle se trouve inférieure à celle annoncée pour les accessions algériennes (Aci et *al.*,2013) et espagnoles (Romay et *al.*,2012) ayant enregistré une valeur de 0.3. Des valeurs F_{st} plus élevées, 0.36 et 0.43 respectivement, ont été révélées pour les accessions indiennes (Wasala et Prasanna, 2012) et suisses (Eschholz et *al.*, 2008).

La hiérarchisation de la diversité génétique globale de l'ensemble des populations de la présente étude a été réalisée par l'analyse de la variance sur les données moléculaire (AMOVA). Les résultats obtenus, en accord avec les informations fournies par le coefficient de différenciation génétique (F_{st}), ont montré que la diversité génétique totale était davantage due à la diversité intra-accessions (79,5%) plutôt qu'à la diversité inter-accessions (20%). Ce résultat, qui va dans le même sens des conclusions de Warburton et *al.*, (2002) et Reif et *al.*, (2004), traduit davantage le mode de reproduction du maïs qui fait partie des espèces allogames ; ces dernières détiennent généralement une variation génétique qui se trouve importante au sein des accessions, mais faible entre elles (da Silva et *al.*, 2015). De plus, le flux de gènes via le pollen ainsi que les échanges de semences entre les agriculteurs sont les principaux facteurs qui affectent la dispersion des gènes au sein et entre les populations (Loveloss et Hamrick, 1984).

Une répartition similaire de la variabilité a été observé chez les populations de maïs tropical où l'AMOVA a révélé que 75% de la variation était retrouvée à l'intérieur des populations et seulement 25% entre eux (Lopes et *al.*, 2015). D'autres résultats analogues ont été rapportés par Singode et Prasanna (2010) et da Silva et *al.*, (2015) en analysant respectivement 48 variétés locales du Nord-Est de l'Himalaya avec 41 SSR et 31 accessions de popcorn américaines au niveau de 30 loci SSR. Par ailleurs, une grande variabilité intra-accessions de 93% contre 7% de variabilité inter-accessions a été également annoncée par Yao et *al.*,(2007) lors du génotypage de 54 landraces chinoises au moyen de 42 SSRs.

II.2.4. Structure génétique

Dans la présente étude, le regroupement bayésien a permis la répartition des accessions sahariennes en deux grands groupes. On considère qu'une accession est assignée à un groupe quand sa probabilité d'appartenance à ce groupe est supérieure à 0.8. Lorsque cette probabilité

d'affectation est plus faible, les accessions sont considérées en " admixture ", le génotype provient alors de la combinaison de plusieurs groupes. Au total, 29 accessions sur 56 sont clairement assignées à un des deux groupes, tandis que les 27 accessions restantes sont en " admixture ". Le premier groupe rassemble 10 accessions originaires principalement de Reggane et Zaouit-Kounta, chez lesquelles 6 allèles uniques ont été détectés. Le deuxième groupe, quant à lui, comprend 19 génotypes de divers origines et ayant présenté 4 allèles uniques. Le reste des accessions (27), y compris toutes celles originaires de Fenoughil, non assignées à un groupe spécifique sont en admixture et ont révélé la présence de 9 allèles uniques. La présence d'une forte proportion d'admixture entre les deux groupes chez les populations originaires de Fenoughil suggère qu'elles ont une constitution génétique fortement mélangée, probablement due aux flux de gènes provenant d'autres populations. A l'inverse, celles originaires de Reggane, ayant présenté une constitution génétique relativement uniforme, semblent ne pas être affectées par le flux génétique vu leur localisation isolée par rapport aux autres accessions.

Les résultats de l'analyse avec STRUCTURE n'ont pas permis le regroupement des accessions en fonction de leur origine géographique, cependant une distinction entre les accessions originaires de Fenoughil ainsi que celles de Reggane a été mise en évidence. Suite à une classification bayésienne, des résultats similaires ont porté sur la séparation de 35 accessions originaires du Côte d'Ivoire en deux groupes distincts indépendamment de leur origine géographique (N'DA et *al.*, 2016). De même, 48 génotypes du nord-Ouest de l'Himalaya ont été réparties en deux groupes en se basant sur les données du génotypage par 29 SSRs. STRUCTURE est, en effet, un des logiciels les plus utilisés pour l'étude de la structure des populations. Cependant, ce logiciel implique que les populations soient à l'équilibre de Hardy-Weinberg et que les loci ne soient pas en équilibre de liaison. Si ces deux conditions ne sont pas respectées, les résultats obtenus dans STRUCTURE pourraient être biaisés d'où la nécessité de réaliser, en parallèle, une autre analyse (Kalinowski, 2011).

Une évaluation des relations génétiques entre les accessions a été réalisée par le biais de l'estimation des distances génétiques de Nei et Li, (1979). Le dendrogramme obtenu par la méthode UPGMA a montré 3 clusters comprenant respectivement 44, 7 et 2 accessions. Les génotypes RGN, TTW et ZRG, ayant présenté des distances génétiques élevées avec la majorité des accessions, ont été isolées (Out groupe ou cluster). De manière générale, la classification conduite à partir des distances génétiques est cohérente avec celle identifiée sous l'approche bayésienne. De plus, ces deux méthodes de regroupement ont réparti les accessions sud algériennes indépendamment de leurs origines géographiques. Cette répartition peut être expliquée par l'existence d'une large base génétique commune entre les différentes populations en dépit de la divergence géographique et

phénotypique (N'DA et *al.*, 2016). En outre, l'absence de relation entre la structuration des accessions et leur provenance est attribuée, d'une part, à la sélection d'allèles favorables qui permettent l'adaptation aux conditions locales (Cömertpay et *al.*, 2012) et d'autre part, au mélange excessif des germplasmés des champs voisins due au flux génétique (Thakur et *al.*, 2016). Une structuration similaire a été annoncée par Cömertpay et *al.*, (2012), Noldin et *al.*, (2016) en analysant 98 landraces turques au moyen de 28 SSRs ainsi que 20 accessions paraguayennes par 30 SSRs. De même, Thakur et *al.*, (2016) ont reporté la structuration des 48 génotypes de maïs Himalayen indépendamment des distances géographiques, contrairement ce qui a été mentionné par Beyene et *al.*, (2006b) et Aci et *al.*, (2013) en analysant 62 accessions éthiopiennes et 15 accessions algériennes, respectivement.

Conclusion générale

La connaissance de la variation génétique dans les collections de cultures est d'une grande importance pour leur utilisation efficace dans les programmes d'amélioration génétique. En d'autre terme, les ressources génétiques sont d'autant mieux utilisées qu'elles sont aussi mieux caractérisées. Bien que la caractérisation morphologique et biochimique aient été largement utilisées, les deux types de marqueurs sont fortement influencés par l'environnement ; par ailleurs, la caractérisation moléculaire permet une mesure directe de la diversité génétique en évitant l'interaction génotype X environnement. Les collections caractérisées conjointement sur le plan phénotypique et moléculaire constituent toujours le meilleur matériel génétique pour tout programme d'amélioration.

La présente étude, qui traite le polymorphisme phénotypique et moléculaire du maïs originaire des Oasis Sahariennes , nous a permis d'évaluer la variabilité et la structure des populations locales permettant ainsi une meilleure gestion, utilisation et conservation de ce patrimoine génétique. Dans un premier temps, et suite à l'évaluation des descripteurs agro-morphologiques, nous avons pu révéler une variabilité significative entre les accessions étudiées tout en identifiant les descripteurs qui les discriminent le mieux. Selon l'importance agro-morphologique de certains traits, nous avons également pu distinguer les accessions présentant des caractères agronomiques intéressants à savoir, le rendement et les critères d'adaptations au climat conférés par la précocité de la floraison ainsi que le court intervalle entre la floraison mâle et la floraison femelle (ASI). Pour certains descripteurs relatifs à la plante, nous avons révélé une ressemblance entre les accessions IGR2, AAS, TLC et FEZ avec les génotypes originaires des Etats-Unis et d'Espagne, alors que pour certains composantes du rendement, les accessions algériennes se sont révélées meilleures.

Dans le deuxième volet de cette étude, le génotypage a été procédé par la mise au point d'un protocole d'extraction d'ADN en bulk et une amplification des marqueurs SSR avec la méthode M13 "Tailing". En utilisant 18 amorces fluorescentes qui se sont révélées toutes polymorphes, 191 allèles dont 19 allèles uniques ont été détectés. L'usage des résultats du génotypage par les marqueurs SSR suivi d'une analyse statistique UPGMA a montré une large diversité génétique et une répartition des accessions en trois groupes distincts, indépendamment de leur origine géographique. De même, l'analyse moléculaire faite par STRUCTURE a révélé l'absence de relation

entre la structuration des accessions et leur origine ; cependant une distinction entre les accessions provenant de Fenoughil et celle originaire de Reggane a eu lieu.

La relation entre les deux niveaux de variabilité, celui des descripteurs agro-morphologiques et celui des marqueurs moléculaire a été révélée par le test de Mantel. Une correspondance significative a été révélée entre les deux types d'analyses, néanmoins le faible niveau de corrélation démontre la complémentarité entre les deux approches pour l'étude de la diversité génétique du maïs. Cette corrélation positive s'est élucidée dans la faculté des deux approches à classer les accessions de maïs algériennes indépendamment de leur origine géographique.

L'étude que nous avons menée a permis l'évaluation de la diversité phénotypique et moléculaire des accessions de maïs Sahariennes qui pourraient constituer une source de gènes d'intérêt conférant la tolérance à différents types de stress abiotique. Ce germplasm se voit donc prometteur avec le changement climatique et les besoins accrues en terres arables pour la production alimentaire qui rend l'adaptation aux conditions défavorables et marginales l'un des principaux enjeux de l'agriculture durable et de la sécurité alimentaire. A la suite des résultats de ce travail, nous souhaitons fournir quelques recommandations :

- L'élargissement de cette collection de maïs en y apportant de nouvelles accessions provenant d'autres régions non prospectées de l'Algérie.
- L'étude des traits d'intérêt, à savoir les composantes du rendement, sur plusieurs années et dans différents sites afin de confirmer la stabilité des performances révélées.
- Approfondir l'étude moléculaire (QTLs) sur les accessions de maïs Sahariennes présentant des capacités d'adaptation afin de faire face aux différents types de stress, notamment la résistance à la sécheresse et les températures élevées qui caractérisent les régions du Sud Algérien ; lieu de provenance des accessions étudiées.
- L'utilisation d'un nombre élevé de marqueurs moléculaires dans l'objectif de rechercher des gènes candidats pour des traits agronomiques et d'adaptations importants.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abera W., Shimelis H., Derera J., Mosisa W., Danson J., Laing MD, 2012.** Genetic interrelationships among medium to late maturing tropical maize inbred lines using selected SSR markers. *Euphytica* 10 : 1-9.
2. **Aci MM., Revilla P., Morsli A., Djemel A., Belalia N., Kadri Y., Khelifi -Saloui, _Ordás B., Khelifi L., 2013.** Genetic diversity in Algerian maize (*Zea mays* L) landraces using SSR markers. *Maydica* 58 : 304 -310.
3. **Acquaah G., 2012.** Principles of Plant Genetics and Breeding. Second Edition, 760 p.
4. **Adetimirin VO., Vroh-BI I., The C., Menkir A., Mitchell SE., Kresovich S., 2008.** Diversity analysis of elite maize inbred lines adapted to west and central Africa using SSR markers. *Maydica* 53: 143-149.
5. **Adeyemi R.A., Gana A.S., Yusuf S.T., 2011.** Biometrical Character Interrelationship And Morphological Variations In Some Upland Rice (*Oryza Sativa* L.) Varieties, *African Journal of Food Agriculture, Nutrition and Development* 11: 4673-4687.
6. **Aguirre, G., Bellon, M.R. and Smale, M., 1998.** A regional analysis of maize biological diversity in Southeastern Guanajuato, Mexico. *CIMMYT Economics Working Paper* : 98-06.
7. **Ajmone-Marsan, P., Castiglioni, P., Fusari, F., Kuiper, M. and Motto, M. 1998.** Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 96:219-227.
8. **Akanvou L., Akanvou R., Kouakou C.K., N'DA H.A., Koffi K.G.C., 2012.** Évaluation de la diversité agro morphologique des accessions de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.), *Journal of Applied Biosciences* 50 : 3468-3477.
9. **Akkaya, M. S., Bhagwat, A. A. And Cregan, P. B., 1992.** "Length Polymorphisms Of Simple Sequence Repeat DNA In Soybean." *Genetics* 132(4): 1131-1139.
10. **Al-Huqail AA. and Abdelhaliem E., 2015.** Evaluation of genetic variations in maize seedlings exposed to electric field based on protein and DNA markers. *Biomed. Res. Int.* 2015: 874906. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/874906>.
11. **Allal M., 2013.** L'Algérie+ se lance dans la production du maïs. L'Eco news, l'info économique et financière en continu, 27 Février 2013. http://www.lecoz.com/fr/actualites/nationale/agriculture/l-algerie-se-lance-dans-la-production-du-mais-27-02-2013-162319_291.php.

12. **Allison, J. C. S., and T.B Daynard, 1979.** Effect of change in time of flowering, induced by altering photoperiod or temperature, on attributes related to yield in maize. *Crop Sci.* 19: 1-4.
13. **Angelo M., Pinheiro de Carvalho A., Ganança JFT., Abreu I., Sousa NF., Marques dos Santos TM., Vieira MRC., Motto M., 2008.** Evaluation of maize (*Zea mays* L.) diversity on the Archipelago of Madeira. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 55:221-223.
14. **Asare, S., A. Y. Tetteh, P. Twumasi, K. B. Adade and R. A. Akromah 2016.** Genetic diversity in lowland, midaltitude and highland African maize landraces by morphological trait evaluation. *African Journal of Plant Science.* 10(11): 246-257.
15. **Aslam M., Maqbool MA., Cengiz R., 2015.** Drought stresses in Maize (*Zea mays* L.) : Resistance Mecanisms, Global Achievement and Biological Strategies for Improvement. *Springer Briefs Agric, Swetzlan*,: 1-74
16. **Australian Gouvernment, 2008.** Biology of *Zea mays* L. ssp *mays* (maize or corn).Office of the gene technology regulator, 80 P.
17. **Avise J.C., 2004.** Molecular Markers, Natural History, and Evolution (Second Edition). Sinauer, Sunderland, MA. 684 pp.
18. **Ayana A., Bekele E., 1999.** Multivariate analysis of morphological variation in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) germplasm from Ethiopia and Eritrea, *Genetic Resources and Crop Evolution* 46 : 273-284.
19. **Azar C., D. E. Mather and R. I. Hamilton, 1997.** Maize landraces of the St. Lawrence– Great Lakes region of North America. *Euphytica* 98: 141-148.
20. **Bänziger M., Araus JL., 2007.** Recent advances in breeding maize for drought and salinity stress tolerance, pp. 587-601. In: Advances in Molecular Breeding toward Drought and Salt Tolerant Crops, Jenks MA, Hasegawa PM, Mohan S ,. (Eds). Springer, Dordretch, The Netherlands, 817p.
21. **Barakat A., Carels N., Bernardi G.,1997.** The distribution of genes in the genomes of Gramineae. *Proc Natl Acad Sci.* 94: 6857-6861.
22. **Barbosa-Neto, J.F., Hernandez, C.M., O'Donoghue, L.S. and Sorrells, M.E. 1997.** Precision of genetic relationship estimates based on molecular markers. *Euphytica* 98: 59-67.
23. **Barcaccia G., Lucchin M., Parrini P., 2003.** Characterization of a flint maize (*Zea mays* var.*indurata*) Italian landrace, II. Genetic diversity and relatedness assessed by SSR and inter-SSR molecular markers. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 50:253-271.
24. **Baucom RS., Estill JC., Chaparro C., Upshaw N., Jogi A., et al. 2009.** Exceptional diversity, non-random distribution, and rapid evolution of retroelements in the B73 maize genome. *PLOS Genet.* 5:e1000732.

25. **Baudoin J-P., Demol J., Louant B-P., Maréchal R., Mergeai G., Otoul E., 2002.** Amélioration des plantes. Application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Ed. Les presses agronomiques de Gembloux. 584p.
26. **Bautista-Salas A. M., 2009.** Caractérisation agro-morphologique et moléculaire d'une collection de landraces péruviennes de pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) pour l'analyse de sa diversité. Thèse de doctorat. Faculté universitaire Notre Dame de la paix. Namur, Belgique, 224p.
27. **Beadle, G. W., 1972.** The mystery of maize. *Field Museum of Natural History Bulletin* 43: 2-11.
28. **Beadle, G. W., 1977.** The origin of *Zea mays*. In C. A. Reed (ed.), *Origins of Agriculture*, 615-635. Mouton Press, The Hague, The Netherlands.
29. **Beadle, G. W., 1980.** The ancestry of corn. *Scientific American* 242 : 112-119.
30. **Bedoya, C. A., Dreisigacker, S., Hearne, S., Franco, J., Mir, C., Prasanna, B. M., et al., 2017.** Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean. *PLoS ONE* 12(4):e 0173488. Doi: 10.1371/journal.pone.0173488
31. **Belaid J., 2016.** La culture du maïs en Algérie. Collection Dossier Agronomique, 34P.
32. **Bello OB and Olaoye G., 2009.** Combining ability for maize grain yield and other agronomic characters in a typical southern guinea savanna ecology of Nigeria. *Afr. J. Biotech.*, 8: 2518-2522.
33. **Bello OB., Abdulmalik SY., Afolabi MS and Ige SA., 2010.** Correlation and path coefficient analysis of yield and agronomic characters among open pollinated maize varieties and their F1 hybrids in a diallel cross. *Afri. J. Biotech.*, 9 : 2633-2639.
34. **Bello O. B., Abdulmalik S. Y., Ige S. A., Mahmood J., Oluleye F., M. A. Azeez M. A., Afolabi M. S. 2012.** Evaluation of early and late/intermediate maize varieties for grain yield potential and adaptation to a southern guinea savanna agro-ecology of Nigeria. *Intern. J. Plant Res.* 2 : 14-21.
35. **Bennetzen, J.L., and Devos, K., 2002.** Plant synteny, colinearity and genome evolution. *Encyclopedia of Life Sciences*. Pp.1-5. Macmillan Publishers Ltd.
36. **Bennetzen J. L., 2009.** "Maize genome structure and evolution, pp. 179–199. In: *Handbook of Maize : Genetics and Genomics*, J. L. Bennetzen and S. Hake, Eds., Springer, Berlin, Germany, 800p.
37. **Berber N., 2015.** Constitution d'une biothèque d'ADN équin. Caractérisation génétique des races équines en Algérie par l'étude des microsatellites. Thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf. 119p.
38. **Berg, E.E., Hamrick, J., 1997.** Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 415-424.

39. **Berthaud J., Charrier A., David J., Dussert S., Engelmann F., Hamon S., Pharm JL., 1999.** Conservation et gestion .Chapitre 2, pp.45-89.In : Ressources Génétique, Biotechnologie Végétales.
40. **Bessad A., 2016.** Mise en place d'un Jardin Botanique méditerranéen au sein de l'ENSA et valorisation des espèces autochtones. Mémoire de Master en agronomie, ENSA, Alger, 83p.
41. **Beyene Y., Botha AM., Myburg AA. 2005 a.** phenotypic diversity for morphological and agronomic traits in traditional Ethiopian highland maize accessions. *South Afr J Plant Soil* 22 : 100-105
42. **Beyene Y., 2005 b.** Genetic analysis of traditional Ethiopian highland maize (*Zea mays* L.) using molecular markers and morphological traits: implication for breeding and conservation. Thèse de doctorat, University of Pretoria, 168p.
43. **Beyene Y., Botha AM., Myburg AA. 2006 a.** Genetic diversity in traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by AFLP markers and morphological traits. *Biodiver. Conserv.* 15: 2655-2671.
44. **Beyene Y., Botha AM., Myburg A., 2006 b.** Genetic diversity among traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by simple sequences repeat (SSR) markers. *Gen. Res. Crop. Evol.* 53: 1579-1588
45. **Bhandari HR., Bhanu AN., Srivastava K., Singh MN., Shreya et al., 2017.** Assessment of Genetic Diversity in Crop Plants - An Overview. *Adv Plants Agric Res* 7: 00255.
46. **Birchler, J.A. & Veitia, R.A., 2007.** The gene balance hypothesis: from classical genetics to modern genomics. *Plant Cell*, 19(2): 395-402.
47. **Biston R., 1998.** Conservation et utilisation des ressources phylogénétiques. *Biotechnol, Agron, Soc. Environ.* 2(1): 5-6.
48. **Bolaños J., Edmeades GO. 1996.** The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. *Field Crop Res* 48: 65-80.
49. **Bonavia D., 2014.** Maize: Origin, Domestication, and Its Role in the Development of Culture *Journal Canadien d'Archéologie* 38:346-348.
50. **Boppenmaier J., Melchinger AE., Seitz G., Geiger HH., Herrmann RG., 1993.** Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds. III. Performance of crosses within versus between heterotic groups for grain traits. *Plant Breed* 111:217-226.
51. **Botstein, D., White R.L., Skolnick, M., Davis R.W., 1980.** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32: 314-331.

52. **Bouchet S., Servin B., Bertin P., Madur D., Combes V., Dumas F., Brunel D., Laborde J., Charcosset A., Nicolas S., 2013.** Adaptation of maize to temperate climates: mid-density genome-wide association genetics and diversity patterns reveal key genomic regions, with a major contribution of the Vgt2 (ZCN8) locus. *PLoS ONE* 8: e71377.
53. **Bouhania B., 2008.** Some remarks on the Topography of the Touat Area. *El-Hakika* 11: 18-28.
54. **Bracco M., Lia VV., Gottlieb AM., Camara Hernandez J and Poggio L., 2009.** Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. *Genetica* 135: 39- 49.
55. **Bracco M., Lia VV., Hernández JC., Poggio L., Gottlieb AM., 2012.** Genetic diversity of maize landraces from lowland and highland agro-ecosystems of Southern South America: Implications for the conservation of native resources. *Ann. Appl. Biol.* 160: 308-321.
56. **Bracco, M., Cascales, J., Hernández, J. C., Poggio, L., Gottlieb, A. M. and Lia, V. V., 2016.** Dissecting maize diversity in lowland South America: genetic structure and geographic distribution models. *BMC Plant Biol.* 16: 186.
57. **Brink, M. & Belay, G., 2006.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas / Backhuys Publishers, Leiden, Pays-Bas / CTA, Wageningen, Pays-Bas. 328 pp.
58. **Brown A. H. D. et Allard D. R. W., 1969.** Inheritance of isozymes differences among the inbred parents of reciproca recurrent selection population of maize. *Crop Sci.*, 9 : 72-75.
59. **Brown A.H.D., 1989 a.** Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31: 818-824.
60. **Brown A.H.D., 1989 b.** The case for core collections, pp.136-155. In: The use of plant genetic resources (Brown, A.H.D. et al. Eds.). Cambridge Univ. Press, Cambridge, England , 382p.
61. **Brunel S., Teulat-Merah B., Wagner MH., Huguet T., Prospero JM., Durr C., 2009.** Using a model-based framework for analysing genetic diversity during germination and heterotrophic growth of *Medicago truncatula*. *Annal of Botany* ,103 : 1103-1117.
62. **Bucheyeki TL. 2012.** Characterization and genetic analysis of maize germplasm for resistance to northern corn leaf blight disease in Tanzania. These de Doctorat - University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa, 183p.
63. **Buckler, E.S., Thornsberry, J.M. and Kresovich, S. 2001.** Molecular diversity, structure and domestication of grasses. *Genet. Res.* 77: 213-218.
64. **Buckler ES, Stevens NM., 2005.** Maize Origins, Domestication, and selection, pp 67–90. In: New Approaches to the Origins, Evolution, and Conservation of Crops , Motley TJ, Zerega N, Cross H (eds) Darwin's harvest. Columbia University Press, New York, 384p.

65. **Buckler, E.S. et al. 2009.** *The genetic architecture of maize flowering time. Science* 325 : 714-718.
66. **Callow J. A., Ford-Lloyd B. V., Newbury HJ., 1997.** *Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and Use. Biotechnology in Agriculture Series N°19; Wallingford: Cab International, 308p.*
67. **Cardle L., Ramsay L., Milbourne D., Macaulay M., Marshall D. and Waugh R., 2000.** Computational and experimental characterization of physically clustered simple sequence repeats in plants. *Genetics*. 156: 847-854.
68. **Carvalho, V.P., Ruas, C.F., Ferreira, J.M., Moreira, R.M.P. & Ruas, P.M., 2004.** Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology* 27(2): 228-236.
69. **Castiglioni, P., Ajmone-Marsan, P., Van. W.R, and Motto, M., 1999.** AFLP markers in a molecular linkage map of maize: codominant scoring and linkage group distribution. *Theories of Applied Genetics* 99 : 425-431.
70. **CDB ,2009.** Quatrième rapport international sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national. 121p.
71. **Chambers GK., MacAvoy ES., 2000.** Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochem. Physiol. (Part B)* 126 : 455-476.
72. **Chardon F., Virlon B., Moreau L., Falque M., Joets J et al., 2004.** Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from QTL meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics* 168: 2169-2185.
73. **Charrier A., 1992.** La conservation des ressources génétiques végétales du domaine tropical, pp. 37-39. In : *Environnement et développement durable : contribution de la recherche française dans les pays en développement* Pochat R. (ed.), Turenne Jean-François (ED.), Serve M. de la (ed.) Paris : MRE, 76p.
74. **Chevalier A.1932.** Les Productions végétales du Sahara et de ses confins Nord et Sud. Passé - Présent - Avenir. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 12^e année, bulletin n°133-134, Septembre-octobre 1932. pp. 669-924; doi : <https://doi.org/10.3406/jatba.1932.5282>.
75. **Cholastova, T., Soldanova, M. and Pokorny, R. 2011.** Random Amplified Polymorphic DNA and Simple Sequence Repeat Marker Efficacy for Maize Hybrid Identification. *African Journal of Biotechnology*, 10: 4794-4801.
76. **Choukan R., Hossinzade A., Ghanadha MR., Warburton ML., Talei A., Mohammadi SA., 2006.** Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines. *Field Crop Res*: 95: 212-222.

77. **CIMMYT, 1988.** Recent advance in the conservation and utilization of genetic resources. Proceeding of the global maize germplasm workshop. Mexico, 1-12 March 1988. 184p
78. **CIMMYT/IBPGR, 1991.** Descriptors for Maize. International Wheat and Maize Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 88p.
79. **Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B. & Pang, E. C. K., 2005.** An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142: 169-196.
80. **Collard BCY., Mackill DJ., 2008.** Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the 21st century. *Phil Trans R Soc B Rev* ,99: 13606-13611.
81. **Cömertpay G., Baloch FS., Kilian B., Ülger AC., Özkan H. 2012.** Inter-primer binding site retrotransposon and inter-simple sequence repeat diversity among wild *Lens* species. *Plant. Mol. Biol. Rep* 30: 261-274.
82. **Da Silva TA., Cantagalli LB., Saavedra J., Lopes AD., Mangolin CA., da Silva Machado M., Scapim CA., 2015** Population structure and genetic diversity of Brazilian popcorn germplasm inferred by microsatellite markers. *Electron J Biotechno* 18: 181-187.
83. **Dass S., Arora P., Kumari M. & Pal D. 2001.** Morphological traits determining drought tolerance in maize (*Zea mays l.*) *Indian. J. Agric. Res.* 35 : 190 -193.
84. **De Souza IRP., Schuelter AR., Guimaraes CT., Schuster I., D'Oliveira E., Redinbaugh M., 2008.** Mapping QTL contributing to SCMV resistance in tropical maize. *Hereditas* 145: 167-173.
85. **Despois J., Raynal R., 1967.** Géographie de l'Afrique du Nord –Ouest. Paris, Payot ,570p.
86. **Djemel A., Revilla P., Hanifi-Mekliche L., Malvar RA., Alvarez A., Khelifi L. 2011.** Maize (*Zea mays L.*) from the Saharan oasis: adaptation to temperate areas and agronomic performance. *Genet Resour Crop Ev* 59: 1493-1504.
87. **Djemel A., Cherchali FZ., Benchikh-Le-Hocine M., Malvar RA., Revilla P., 2018.** Assessment of drought tolerance among Algerian maize populations from oases of the Saharan. *Euphytica* , 214:149.
88. **Dubost D., Moguedet G., 1998.** Un patrimoine menacé : les foggaras de Taout. Numéro spécial Oasis, *Sècheresse* 9(2) : 117-122.
89. **Doebley J. F., Goodman M.M. et Stuber C.W., 1984.** Isozymic variation in *Zea* (gramineae). *Syst. Bot.*, 9 : 203 -218.
90. **Dowswell. C.D., Paliwal, R.I. & Cantrell. R. P. 1996.** Maize in the third world. Boulder, CO, USA. Westview Press, 268p.

91. **Duarte RT., Juliatti FC., Freitas PT., 2009.** Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. *Biosci. J.* 25(4): 101-111.
92. **Dubey L., Prasanna BM., Ramesh B., 2009.** Analysis of drought tolerant and susceptible maize genotypes using SSR markers tagging candidate genes and consensus QTLs for drought tolerance. *Indian J. Genet. Plant Breed*, 69:344-351.
93. **Dubreuil P., Charcosset A., 1998.** Genetic diversity within and among maize populations: a comparison between isozyme and nuclear RFLP loci. *Theor Appl Genet* 96: 577-587.
94. **Dubreuil P., Rebourg C., Merlino M., Charcosset A., 1999.** The DNA-pooled sampling strategy for estimating the RFLP diversity of maize populations. *Plant Mol. Biol. Rep.* 17: 123 -138
95. **Dubreuil P., Rebourg C., Warburton M., Chastanet, M., Gouesnard B., Hoisington D., Charcosset, A.2003.** Use of DNA pooling to assess diversity within and among maize populations. Application to the investigation of maize introduction into Europe. 45th annual Maize Genetic Conference Abstracts, 129.
96. **Dubreuil, P. et al., 2006 a.** The origin of maize (*Zea mays* L.) in Europe as evidenced by microsatellite diversity. *Maydica* (in press).
97. **Dubreuil P., Warburton ML., Chastanet M., Hoisington D and Charcosset A. 2006 b.** More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica* 51 :281-291.
98. **Duminil J., 2006.** Etudes comparatives de la structure genetique des plantes, These de l'université Nancy, 215p.
99. **Duran C., Nikki Appleby, David Edwards and Jacqueline Batley 2009.** Molecular Genetic Markers : Discovery, Applications, Data Storage and Visualisation *Current Bioinformatics*, 4: 16-27
100. **Durant, 2014.** Etude des bases (épi) génétiques de l'adaptation dans une expérience de sélection divergente pour la précocité de floraison chez le maïs. Thèse de Doctorat, Université Paris XI, UFR Scientifique d'Orsay, 231p.
101. **Elezi F., Hajkola K., Iraliu A., 2013.** Morphological characterization of some maize landraces. *Albanian j. agric. sci.* 12 (3): 449-453.
102. **Ellneskog-Staam, P., Henry Loaisiga, C., Merker, A. 2007.** Chromosome C-banding of the teosinte *Zea nicaraguensis* and comparison to other *Zea* species. *Hereditas* 144: 96-101
103. **Empereire L., Gilda SM., Fleury M., Robert T., Mchey D., Pujol B., 2003.** Approche comparative de la diversité génétique et de la diversité morphologique des maniocs en Amazonie (Brésil et Guyanes), *Actes du BRG*, 4 : 247-267.

104. **Engelmann F., 1992.** Les nouvelles méthodes de conservation *ex situ*, pp.435- 445. In : actes du colloque en hommage à Jean Pernès, 643p.
105. **Engelmann, F. 1997.** *In vitro* conservation methods, pp. 119-162. In: Biotechnology and Plant Genetic Resources: Conservation and Use ,Ford-Lloyd, B.V., Newbury J.H. and Callow, J.A. (eds). CAB International, Wallingford, UK,320p.
106. **Engelmann F., Engels J.M., 2002.** Technologies and strategies for ex situ conservation. pp 89-103. In: Managing Plant genetic Diversity, Engels J.M.M ; Rao V.R., Brown A.H.D. and Jackson MT. CABI Publishing ,487p.
107. **Engelmann F., 2010.** Conservation des ressources génétiques du palmier dattier, pp161-174. In : Biotechnologie du palmier dattier. Actes du 3e Séminaire du réseau AUF-BIOVEG Montpellier (France), 18-20 novembre 2008,261p.
108. **Engels J., Visser B., 2003.** Genebank Management Procedures, pp.60-79 In: Guide to effective management of germplasm collections, Engels J.M.M. and Visser L. (editors), 172p.
109. **Enoki H., Sato H., Koinuma K., 2002.** SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan. *Theor Appl Genet* 104:1270-1277
110. **Eschholz TW., Peter R., Stamp P., Hund A., 2008.** Genetic diversity of Swiss maize (*Zea mays L*) assessed with individual and bulks on agarose gel. *Genet Resour Crop Evol* 55: 971-983
111. **Eschholz TW, Stamp P, Peter R, Leipner J, Hund A., 2010.** Genetic structure and history of Swiss maize (*Zea mays L. ssp. mays*) landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57: 71-84.
112. **Esquinas-Alcázar, J., 2005.** Science and society: protecting crop genetic diversity for food security : political, ethical and technical challenges. *Nat Rev Genet*, 6(12) : 946-953.
113. **Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-2620.
114. **Excoffier LL., Smouse PE., Quattro JM., 1992.** Analysis of Molecular Variance Inferred From Metric Distances Among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data. *Genetics* 131: 479-491.
115. **Fady B., Collin E., Ducouso A., Lefèvre F., Musch B., Fargeix JM, Villar M., 2012.** Conservation in situ des ressources génétiques forestières : stratégies, dimensions nationale et pan-européenne. Rendez-vous techniques Rendez-vous techniques ONF, 2, pp. 28 -34.
116. **Falconer DS., Mackay TFC., 1996.** Introduction to quantitative genetics. 4th Ed. Longman Group Limited, London, UK,438p.
117. **FAO, 1989.** Ressources phytogénétiques : leur conservation *in situ* au service des besoins humains, Rome, 38p.

118. **FAO, 1996.** Rapport sur l'état des ressources phylogénétiques dans le monde. Rome, Italy, 72 P.
119. **FAO, 1998.** The State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 540p.
120. **FAOSTAT, 2018.** <http://faostat.fao.org/>
121. **Federer WT. 1956.** Augmented (or *hoonuiaku*) designs. *Hawaiian Plant Records* 55: 191-128.
122. **Ferreira C.A., Pinho E.V. de Von, Alvim P de O, Andrade V de, Silva T.T de A, Cardoso D.L, 2007.** Conservation and determination of the viability of maize pollen grain, *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 6 : 159-173
123. **Flint-Garcia, S.A., ThUILlet, A.C., Yu, J., Pressoir, G., Romero, S.M., S.E., Doebley, J., Kresovich, S., Goodman, M.M., Buckler, E.S., 2005.** Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The Plant Journal*. 44: 1054-1064.
124. **Ford RH., 2000.** Inheritance of kernel color in corn: explanations and investigations. *Am Biol Teach* 6(3):181-188.
125. **Franco J., Crossa J., Ribaut J.M., Betran J., Warburton M.L., Khairallah M. 2001.** A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theor. Appl. Genet* : 103: 944-952.
126. **Frankel, O. H., Brown, A. H. D., 1984.** Current plant genetic resources - a critical appraisal. *In* : Core collections – accomplishments and challenges. Hamonl S., Dussertl S., Nohot M., Anthony E. et Hodgkin T., 1995. *Plant Breeding Abstracts*, 65(8): 1125-1133.
127. **Frankel O. H., Brown A. H. D., Burdon y J. J. 1995.** The Conservation of Plant Biodiversity. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 299p.
128. **Frankham, R., Ballou, J.D. and Briscoe, D.A. 2002.** Introduction to Conservation Genetics, UK, Cambridge University Press, 617p.
129. **Freeland, J.R., 2005.** *Molecular Ecology* John Wiley & Sons, Ltd. (2005) ISBN 978-0-470-09062-6 400p.
130. **Freitag N., Schneider D., Mir C., Stamp P., Hund A., Messmer R., 2012.** Swiss maize (*Zea mays* L) landraces. Their genetic diversity and distinctiveness in a global comparison. *Maydica* 57 : 226 -235.
131. **Gaillermou Y., 1993.** Survie et ordre social au Sahara. Les oasis du Touat-Gourara-Tidikelt en Algérie. *Cah. Sci. Hum.*, 29 : 121-138.

132. **Gallard A., 2010.** Etude de la cryoconservation d'apex en vue d'une conservation à long terme de collections de ressources génétiques végétales : compréhension des phénomènes mis en jeu et évaluation de la qualité du matériel régénère sur le model pélargonium. Thèse de doctorat, université d'Angers, 118 p.
133. **Ganal MW., Durstewitz G., Polley A., Berard A., Buckler ES., Charcosset A., Clarke JD., Graner EM., Hansen M., Joets J., LePaslier MC., McMullen MD., Montalent P., Rose M., Schön CC., Sun Q, Walter H., Martin OC., Falque M.,2011.** A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 Reference genome. *PLoS ONE* 6 e28334 doi:10.1371/journal.pone.0028334
134. **Garcia AAF., Benchimol LL., Barbosa AAM, Geraldi IO., Souza Jr CL., de Souza AP., 2004.** Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genet Mol Biol* 27: 579-588.
135. **Gauthier P., Gouesnard B., Dallard L., Redaelli R., Rebourg C., Charcosset A., Boyat A., 2002.** RFLP diversity and relationships among traditional European maize populations. *Theor Appl Genet* 105:91-99.
136. **George EF., 1993a** .Plant propagation by tissue culture. Part 1. The Technology, Second edition, Edington, Exegetics Ltd, 574p.
137. **George EF., 1993b.** Plant propagation by tissue culture. Part 2. In Practice, Second Edition, Edington, Exegetics Ltd, 675p.
138. **Giancola S., McKhann H., Berard A., Camilleri C., Durand S., Libeau P., Roux F., Reboud X., Gut IG., Brunel D., 2006.** Utilization of the three high-throughout SNP genotyping method, the GOOD assay, Amplifluor and TaqMan, in diploid and polyploidy plants. *Theor Allp Genet* 112 : 1115-1124.
139. **Gillespie, J.H., and K.-I. Kojima. 1968.** The degree of polymorphism in enzyme involved in energy production compared to that in non-specific enzymes in two *Drosophila ananassae* populations. *Proceedings of National Academic of Sciences* 61: 582-601.
140. **Godelle B., Austerlitz F., Brachet S., Colas B. et al ., 1998.** Système génétique, polymorphisme neutre et sélectionné : implications en biologie de la conservation. *Genet Sel Evol.* 30: 15-28.
141. **Gomez K. A., 1972.** Techniques pour des expérimentations au champ pour le riz. IRRI, 56p.
142. **González, C.M., R.N. Palacios, B.A. Espinoza, y S.C. Bedoya. 2013.** Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 329-338.
143. **Goodman MM., Stuber CW., 1983 a.** Maize, pp.1-33. In: Isozymes in plant genetics and breeding, Part B, ed.S.D.Tanksley and T.J. Orton, Amersterdam, 472p.

144. **Goodman M.M. & C.W. Stuber, 1983 b.** Races of maize. IV. Isozyme variation among races of maize in Bolivia. *Maydica*. 28: 169-187.
145. **Gothardo M. et Heidrich–Sobrinho E., 1982.** The use of isozymes as genetic markers for the identification of two Popcorn populations and for relating heterosis to genetic diversity expressed by F1 heterozygosis. *Brasil Genet*, 4: 725-735.
146. **Govindaraj M., Vetriventhan M., Srinivasan M., 2015.** Importance of Genetic Diversity Assessment in Crop Plants and Its Recent Advances: An Overview of Its Analytical Perspectives. *Genetics Research International*, 2015: 431487, 14 p.
147. **Grenier C., Bramel P.J., Dahlberg J.A., El-Ahmadi A., Mahmoud M., Peterson G.C., Rosenow D.T., Ejeta G., 2004.** Sorghums of the Sudan: analysis of regional diversity and distribution, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(5): 489-500.
148. **Grigg DB., 1974 .**The Agricultural Systems of the World: an Evolutionary Approach. Cambridge University Press, FAO, Rome, 358p.
149. **Gupta P. K., Rustgi S., Sharma S., Singh R., Kumar N., and Balyan H. S., 2003.** “Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat,” *Molecular Genetics and Genomics*, 270: 315-323.
150. **Haanstra, J.P.W., Wye, C., Verbakel, H., Meijer-Dekens, F., Van, D.B.P., Odinet, P., van Heusden, A.W., Tanksley, S., Lindhout, P., and Peleman, J.1999.** An integrated high-density RFLP-AFLP map of tomato based on two *Lycopersicon esculentum* 3 L. pennellii F2 populations. *Theories of Applied Genetics* 99: 254-271.
151. **Hafnagel, H.P. 1961.** Agriculture in Ethiopia. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
152. **Hahn V., Blankenhorn K., Schwall M., Melchinger AE., 1995.** Relationships among early European maize inbreds. III. Genetic diversity revealed with RAPD markers and comparison with RFLP and pedigree data. *Maydica*, 40:299-310
153. **Hake, S. & Walbot, V., 1980.**The genome of *Zea mays*, its organization and homology to related grasses. *Chromosoma* 79: 251-270.
154. **Hamblin MT., Warburton ML., Buckler ES., 2007.** Empirical comparison of simple sequence repeats and single nucleotide polymorphisms in assessment of maize diversity and relatedness. *PLoS ONE* 2(12): e1367
155. **Hammer K., Teklu Y., 2008.** Plant Genetic Resources: Selected Issues from Genetic Erosion to Genetic Engineering. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics* 109 (1): 15-50.

156. **Hamoud M. A., El-Shanshory A. R., Al-Sodany Y. M., and El-Karim M. S. G. 2005.** "Genetic diversity among *Ipomoea carnea* Jacq. Populations from different habitats types in Nile-Delta region of Egypt," *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, 1: 1-10.
- . **Hamrick J. L. et Godt J. W., 1997.** Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Sci*, 37: 26-30.
157. **Hartings H., Berardo N., Mazzinelli G.F., Valoti P., Verderio A., Motto M. 2008.** Assessment of genetic diversity and relationship among maize (*Zea mays* L.) Italian landraces by morphological traits and AFLP profiling. *Theor Appl Genet* 117: 831-842.
158. **Hartl D.L., 1988.** Génétique des populations. Médecine–Science Flammarion, Paris, 305p.
159. **Hawtin G., Iwanaga M., Hodgkin T., 1996.** Genetic resources in breeding for adaptation. *Euphytica* 92 : 255-266.
160. **Heckenberger A., Melchinger AE., Ziegler JS., Joe LK., Hauser JD., Hutton M., Bohn M. 2002.** Variation of DNA among accessions within maize inbred lines and implications for identification of essentially derived varieties. I. Genetic and technical sources of variation in SSR data. *Mol Breed* 10: 181-191.
161. **Hedrick PW., 2000.** Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers, 4 editions Inc., Sudbury, MA, 675p.
162. **Helentjaris, T., Weber, D. and Wright, S. 1988.** Identification of genomic locations of duplicate nucleotide sequences in maize by analysis of restriction fragment length polymorphisms. *Genetics* 118: 353-363.
163. **Henderson ST., Petes TD., 1992.** Instability of simple sequence DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 12 : 2749-2757.
164. **Herrmann D., Boller B., Studer B., Widmer F., Kölliker R., 2006.** QTL analysis of seed yield components in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Theor Appl Genet* 112: 536-545.
165. **Hinze L.L., Kresovich S., Nason J.D. et Lamkey K. R., 2005.** Population Genetic Diversity in a Maize Reciprocal Recurrent Selection Program. *Crop Science*, 45: 2435-2443.
166. **Ho J. C., Kresovich S., et Lamkey K. R., 2005.** Extent and Distribution of Genetic Variation in U.S. Maize: Historically Important Lines and Their Open-Pollinated Dent and Flint Progenitors. *Crop Sci*, 45 : 1891-1900.
167. **Holden JHW., 1984.** The second ten years, pp. 177-185. In: Crop genetic resources: conservation and evaluation, J.H.W. Holden et J.T. Williams éd., Londres, Royaume-Uni, George Allen and Unwin, 296 p.
168. **Holliday R. 2006.** Epigénétique: A historical overview. *Epigenetics* 1(2): 76-80.

169. **Hoshino A.A., Bravo J.P., Nobile P.M.N., Morelli K.A., 2012.** Microsatellites as Tools for Genetic Diversity Analysis, pp.149-170. In: *Genetic Diversity in Microorganisms*; Caliskan, M., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 382p.
170. **Hoxha S., Shariflou MP., Sharp P., 2004.** Evaluation of genetic diversity in Albanian maize using SSR markers. *Maydica* 49 : 97-103.
171. **Hoyt, E., 1992.** La conservation des plantes sauvages apparentées aux plantes cultivées. IBPGR, UICN, WWF, 51p.
172. **Hufford MB., Lubinsky P., Pyhajarvi T., Devengenzo MT., Ellstrand NC., Ross-Ibarra J., 2013.** The genomic signature of crop-wild introgression in maize. *PLoS Genet*, 9(5): e1003477.
173. **Hunter R. B. et Kannenberg L. W., 1971.** Isozyme characterisation of corn (*Zea mays* L.) inbreds and its relationship to single cross hybrid performance. *Can. J. Genet. Cytol.*, 3: 649-655.
174. **IBPGR, 1991.** Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 88p.
175. **Ilarslan, R., Kaya, Z., Kandemir, I. & Bretting, P.K. 2002.** Genetic variability among Turkish pop, flint and dent corn (*Zea mays* L. ssp. *mays*) races: Morphological and agronomic traits. *Uphytica* 128: 173-182
176. **Iltis H. H. et Benz B.F., 2000.** *Zea nicaraguensis* (Poaceae), a new teosinte from Pacific Coastal Nicaragua. In : Consensus document on the biology of *Zea mays* L., subsp. *mays* (maize). OECD, 2003. Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, n. 27, 49 P.
177. **Ingram G.B., 1984.** Conservation *in situ* des ressources phylogénétiques : les bases scientifiques et techniques. Division des ressources forestières. FAO. Rome. 47 p.
178. **Ingvarsson PK., Garcia MW., Luquez V., Hall D., Jansson S., 2008.** Nucleotide polymorphism and phenotypic association within and around the phytochrome B2 locus in European Aspen (*Populus tremula* Salicaceae), *Genetics* 178: 2217 - 2226.
179. **Iqbal J., Shinwari ZK., Rabbani MA. 2015.** Maize (*Zea mays* L.) germplasm agromorphological characterization based on descriptive, cluster and principal component analysis. *Pak J Bot.* 47: 255-264.
180. **Jammes H. 2014.** Epigénétique : une lecture du génome via des modifications stable / transitoires et transmissibles. *Bulletin Académie, Vét. France* 167(2): 109-118.
181. **Jaradat, A.A., Shahid M., Al Maskri A.Y., 2004.** Genetic Diversity in the Batini Barley Landrace from Oman: I. Spike and Seed Quantitative and Qualitative Traits. *Crop Science*, 44: 304-315.

182. **Jaric JK., Prodanovic S., Iwarsson M., Minina A. 2010.** Diversity of maize (*Zea mays* L.) landraces in Eastern Serbia: Morphological and storage protein characterization. *Maydica* 55: 231-238.
183. **Jarne P. et Lagoda P.J. L., 1996.** Microsatellites, from molecules to populations and back. *Tree*, 11: 424-429.
184. **Jarvis D. I., Padoch C., Cooper y H. D. 2012.** Gestion de la biodiversité dans les écosystèmes agricoles. Publié par Bioversity International, 504p.
185. **Jebaraj, S., Selvakumar, A. and Shanthi, P. 2010.** Study of Gene Action in Maize Hybrids. *Indian Journal of Agricultural Research*, 44: 136 - 140.
186. **Jeuken, M., Van, W.R., Peleman, J., and Lindhout, P., 2001.** An integrated interspecific AFLP map of lettuce (*Lactuca*) based on two *L. sativa* x *L. saligna* F2 populations. *Theories of Applied Genetics* 103: 638-647.
187. **Jiang, N. et al., 2004.** Pack-MULE transposable elements mediate gene evolution in plants. *Nature*, 431(7008): 569-573.
188. **Jonah PM., Bello LL., Lucky O., Midau A., Moruppa SM., 2011.** Review: the importance of molecular markers in plant breeding programmes. *Global Journal of Science Frontier Research* 11: 0975-5896.
189. **Jones N., Ougham H. & Thomas H., 1997a.** Markers and mapping: We are all geneticists now. *New Phytol* 137: 165-177.
190. **Jones, C.J., Edwards, K.J., Castiglioni, S., Winfield, M.O., Sala, F., Van de Wiel, C., Bredemeijer, G., Vosman, B., Matths, M., Daly, A., Brettschneider, R., Bettini, P., Buitti, M., Maestri, E., Malcevski, A., Marmirdi, N., Aert, R., Volkaert, G., Rueda, J., Linacero, R., Vazquez, A. and Karp, A. 1997b.** Reproducibility testing of RAPD, AFLP, and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Mol. Breed.* 3: 381-389.
191. **Jones ES., Sullivan H., Bhatramakki D., Smith JSC., 2007c.** Comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies for the genotypic analysis of maize (*Zea mays* L.). *Thor Appl Genet* 115: 361-371.
192. **Kabululu MS., Feyissa T., Ndakidemi PA., 2017.** Genetic diversity of maize landraces from Tanzania as compared with commercial improved varieties and elite lines through morphological characterization. *Int.j.Biosci.* 10 (3): 309-322.
193. **Kahler AL., 1985.** Associations between enzyme marker loci and agronomic trait in maize. *Proceeding 40th Annual Corn and Sorghum Research Conference*, American Seed Trade Association 40: 66-89.

194. **Kalinowski, S.T., 2011.** The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: Simulations and implications for human population structure. *Heredity*, 106: 625-632
195. **Karaca M., 2013.** "Isozymes as biochemical markers in plant genetics," *International Journal of Agricultural Sciences*, 3: 851-861.
196. **Karp A., Seberg O., Buiatti M., 1996.** Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. *Ann. Bot.* 78: 143-149.
197. **Karp A., Kresovich S., Bhat KV., Ayad WG and Hodgkin T., 1997.** Molecular tools. In: plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI bulletin 2. 47p.
198. **Kesawat MS., et Das Kumar B., 2009.** Molecular markers: It's application in crop improvement. *J. Crop Sci. Biotechnol.* 12 : 169-181.
199. **Khan K., Sher H., Iqbal M and Al-Qurainy F., 2011.** Development and release of indigenous maize hybrids to enhance maize yield in Khyber-Pakhtoonkhwa province of Pakistan. *Afri. J. Agric. Res.*, 6(16): 3789-3792.
200. **Khan AR., 2014.** Réponse à court terme des populations de blé européen aux conditions agro-climatiques contrastées : analyse génétique et première étape vers le développement de marqueurs épigénétiques dans les gènes précoces. These de doctorat, Université Paris-Sud, 183p.
201. **Kimura M., Crow JF., 1964.** The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-738.
202. **Koffi K.G.C., Akanvou L., Akanvou R., Zoro B.I.A., Kouakou C.K., N'da H.A., 2011.** Diversité Morphologique Du Sorgho (*Sorghum Bicolor* L. Moench) cultivé au Nord de la Côte d'Ivoire, *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 17 : 125-142.
203. **Kostova¹ AR., Todorovska¹ EG., Christov NK., Sevov VA., Genov M.N., Vulchinkov S.V., Atanassov A.I. 2007.** Assessing the genetic diversity of Bulgarian maize germplasm using microsatellite markers. *Maydica* 52: 251-255
204. **Krap A., Isaac P.G., Ingra DS. 1998.** Molecular tools for screening biodiversity. Chapman et Hall, London, UK, 498p.
205. **Kumar L.S. 1999.** DNA markers in plant improvement: An overview. *Biotechnol. Adv.* 17 (2-3): 143-182.
206. **Kumar LS., Dubey DK., 2003.** Genetic diversity among induced mutants of grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Lathyrus Lathyrism Newsletter*, n°3, pp.15-17.
207. **Kumar P., Gupta VK., Misra AK., Modi DR., Pandey BK., 2009.** Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics J* 2: 141-162.

208. Kumar R., Singh M., Meena BS., Ram H., Parihar CM., Kumar S., Yadav MR., Meena RK., Kumar U., Meena VK., 2017. Zinc management effects on quality and nutrient yield of fodder maize (*Zea mays*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* 87 (8): 1013-1017.
209. Kumari J., Kumar A., Singh TP., Bhatt KC., Mishra AK., Semwal DP., Sharma RK., Rana JC. 2017. Collection, evaluation and phenotypic diversity assessment of maize (*Zea mays*) germplasm from North Eastern Himalayan region. *Indian J Agr Sci* 87: 727-733.
210. Lai, J. et al., 2005. Gene movement by Helitron transposons contributes to the haplotype variability of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(25), p.9068
211. Lakhdari F., 2015. Guide des techniques de lutte contre l'ensablement au Sahara Algérien. Edition CRSTRA, 76p.
212. Lankey KR., Hallauer AR and Kahler AL., 1997. Allelic difference at enzyme loci and hybrids performance in maize. *Journal of Heredity* 78: 231-234
213. Laude TP. et Carena M. J., 2015. Genetic diversity and heterotic grouping of tropical and temperate maize populations adapted to the northern U.S. Corn Belt. *Euphytica*, 204:661-677.
214. Lefebvre V., Chèvre A.M. 1995. Tolls for marking plant disease and resistance genes: a review. *Agronomie*. 15: 3-19.
215. Lefort, M., Chauvet, M., Mitteau, M. and Sontot, A., 1998. La gestion des ressources génétiques en France. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2 : 19-26.
216. Legesse BW., Myburg AA., Pixley KV., Botha AM., 2007. Genetic diversity of African maize inbred lines re-vealed by SSR markers. *Hereditas* 144: 10-17
217. Li, X.H., Wang, Z.H., Gao, S.H., Shi, H.L., Zhang, S.H., George, M.L.C., Li, M.S. and Xie, C.X., 2008. Analysis of QTL for resistance to head smut (*Sporisorium reilianum*) in maize. *Field Crops Res.* 106: 148-155.
218. Li H., Peng ZY., Yang XH., Wang WD., Fu JJ., Wang JH., Han YJ., Chai YC., Guo TT., Yang N., Liu J., Warburton ML., Cheng YB., Hao XM., Zhang P., Zhao JY., Liu YJ., Wang GY., Li JS., Yan JB ,2013. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. *Nat Genet*, 45(1): 43-50.
219. Lia VV, Poggio L., Confalonieri VA., 2009. Microsatellite variation in maize landraces from Northwestern Argentina: genetic diversity, population structure and racial affiliations. *Theor Appl Genet.* 119: 1053-1067.
220. Liu, K., Goodman, M., Muse, S., Smith, J.S., Buckler, Doebley, J. 2003. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genetics*, 165 : 2117-2128.

221. Liu X., Li MS., Li XH., Tian QZ., Bai L., Zhang SH. 2005. Sampling method for genetic variation survey in maize populations detected by SSR markers. *Acta Agron Sin*, 31: 858-863.
222. Liu, R., Vitte, C., Ma, J., Mahama, A.A., Dhillon, T., Lee, M., Bennetzen, J.L. 2007. A GeneTrek analysis of the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 11844-11849
223. Liu, Z.H., Xie, H.L. Tian GW ; ChenSJ ; Wang CL ; Hu Y.M. and Tang, J.H., 2008. QTL mapping of nutrient components in maize kernels under low nitrogen conditions. *Plant Breeding* 127: 279-285.
224. Llaca V., Campbell MA., Deschamps S., 2011. Genome diversity in maize. *Journal of Botany*. 10p
- Wendel, J.F. 2000. Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* 42: 225-249.
225. Lopes, A.D., Scapim, C.A., Machado, M.D.F.P.D., Mangolin, C.A., Silva, T.A., Cantagali, L.B., Teixeira, F.F. and Mora, F. 2015. Genetic diversity assessed by microsatellite markers in sweet corn cultivars. *Scientia Agricola.*, 72(6): 513-519.
226. Louette D. 1994. Gestion traditionnelle de variétés de maïs dans la réserve de la biosphère Sierra de Manantlan (RBSM, Etats de Jalisco et Colima, Mexique) et conservation in situ des ressources génétiques de plantes cultivées. Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier. 245p.
227. Loumerem M., Van Damme P., Reheul D., Behaeghe T, 2008. Collection and evaluation of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) germplasm from the arid regions of Tunisia, *Genetic Resources Crop Evolution* 55: 1017-1028.
228. Loveless MD., Hamrick JL. 1984. Ecological determinates of genetic structure in plant populations. *Ann Rev Ecol Syst* 15: 65-95.
229. Lu, G.H., Tang, J.H., Yan, J.-B., Ma, X.-Q., Li, J.-S., Chen, S.- J., Ma, J.-C., Liu, Z.-X., Li-Zhu, E., Zhang, Y.-R. and Dai, J.-R., 2006. Quantitative trait loci mapping of maize yield and its components under different water treatments at flowering time. *J. Integrative Plant Biol.* 48: 1233-1243.
230. Lu Y., Yan J., Guimaraes CT., Taba S., Hao Z., Gao S., Chen S., Li J., Zhang S., Vivek BS., Magorokosho C., Mugo S., Makumbi D., Parentoni SN., Shah T., Rong T., Crouch JH., Xu Y., 2009. Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome-wide single nucleotide polymorphisms. *Theor Appl Genet* 120: 93-115
231. Lubberstedt, T., Melchinger, A.E., Dußle, C., Vuylsteke, M. and Kuiper, M. 2000. Relationships among early European maize inbreds: IV. Genetic diversity revealed with AFLP markers and comparison with RFLP, RAPD, and pedigree data. *Crop Sci.* 40: 783-791

232. **Lucchin, M., Baraccia, G. and Parrini, P. 2003.** Characterization of flint maize (*Zea mays* L. convar. Mays) Italian landraces: Morpho-phenological and agronomic traits. *Genet. Res. Crop Evol.* 50: 315-327.
233. **Mackill, D.J., Zhang, Z., Redona, E., and Colowit, P.M., 1996.** Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome* 39: 969-977.
234. **Malvar, R.A, Bútron, A, Alveres, A, Padilla, G, Cartea, M.E, Revilla, P, Ordás, A.,2007,** Yield performance of the European Union Maize Landraces Core Collection under multiple corn borer infestations. *Crop Protection*, 26 : 775-781.
235. **Mangelsdorf, P. C. and R. G. Reeves. 1938.** The origin of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 24 : 303–312.
236. **Mangelsdorf, P. C. and R. G. Reeves. 1939.** The origin of Indian corn and its relatives. *Texas Agricultural Experiment Station Bulletin* 574: 1-315.
237. **Mangelsdorf, P. C. 1974.** *Corn: Its Origin, Evolution, and Improvement.* Harvard University Press, Cambridge, ma, usa, 288 p.
238. **Mantel N., 1967.** The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27: 209-220.
239. **Marchand JL., Berthaud J, Benoît Clerget B., Dintinger J., Reynaud B., Dzido JL., 1997.** Le maïs. In : Charrier A., Jacquot M., Hamon S., Nicolas D. L'amélioration des plantes tropicales, *Editeurs scientifiques, Repères*, 623p.
240. **Martín I., Ruiz M., 2000.** Spanish landraces collection of durum wheat maintained at the CRF-INIA, In : Durum wheat improvement in the Mediterranean region, (eds), Royo C., Nachit M., Di Fonzo N., Araus J.L., Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, Zaragoza, 40, 601-606.
241. **Matiello, R. R., D. D. P. M. dos Santos, C. J. Coelho, M. D. Pria, and J.R. Gardingo, 2015.** Damage in maize ears associated with methods of inoculation of *Stenocarpella maydis*. *Afr. J. Agric. Res.* 10: 2711-2716.
242. **Matsuoka, Y., Y. Vigouroux, M. M. Goodman, J. Sanchez G., E. S. Buckler, and J. F. Doebley. 2002 a.** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 99: 6080–6084.
243. **Matsuoka Y., S. E. Mitchell, S. Kresovich, M. Goodman and J. Doebley, 2002b.** Microsatellites in *Zea* - variability, patterns of mutations, and use for evolutionary studies. *Theor. Appl. Genet.* 104:436-450.

244. **Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawkes, J.G. 1997.** Complementary conservation strategies, pp. 15-39. In: *Plant Genetic Conservation*. Maxted, N.; Ford-Lloyd, B.V.; Hawkes, J.G. (eds.), Chapman and Hall, London, 383p.
245. **McCann JC., editor. 2005.** Maize and Grace. Africa's Encounter with a New World Crop (1500-2000) Cambridge: Harvard University Press ,283p.
246. **Melchinger AE., Messmer MM., Lee M., Woodman WL., Lamkey KR., 1991.** Diversity and relationships among US maize inbreds revealed by restriction fragment length polymorphisms. *Crop Sci* 31: 669-678
247. **Melchinger, A.E., Gumber, R.K., Leipert, R.B. and Vuysteke, M. 1998.** Predication of testcross means and variance among F3 progenies of F1 crosses from testcross means and genetic distances of their parents in maize. *Theor. Appl. Genet.* 96: 503-512.
248. **Merzaia BA., Zaki A., Moussaoui B., Babker A., Abakhti A., 2016.** Date Palm and Their Different Food Uses in Algeria's South-West Oases: Touat, Gourara and Tidikelt. *Journal of chemistry and chemical engineering*, 10: 180-184.
249. **Messing, J., Dooner, H.K., 2006.** Organization and variability of the maize genome. *Current Opinion in Plant Biology* 9 : 157-163.
250. **Miège E., 1951.** Les Céréales en Afrique du Nord. Le Maïs et le Sorgho. In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 31^e année, bulletin n°341-342, Mars-avril pp. 137-158.
251. **Mienie CMS., Fourie AP., 2013.** Genetic diversity in South African maize (*Zea mays* L.) genotypes as determined with microsatellite markers. *Afr J Biotechnol* 12: 123-133.
252. **Mijangos-Cortés JO., Corona-Torres T., Espinosa- Victoria D., Muñoz-Orozco A., Romero-Peñaloza J., Santacruz-Varela A. 2007.** Differentiation among maize (*Zea mays* L.) landraces from the Tarasca Mountain Chain, Michoacan, Mexico and the Chalqueno complex. *Genet Resour Crop Ev* 54: 309-325.
253. **Mikić, S., Kondić-špika, A., Brbaklić, L., Stanisavljević, D., Čeran, M., Trkulja, D., & Mitrović, B. 2017.** Molecular and phenotypic characterisation of diverse temperate maize inbred lines in Southeast Europe. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104: 31-40.
254. **Mondini L., Noorani A., Pagnotta A. Mario., 2009.** Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity* 1: 19-35.
255. **Morgante, M. And Olivieri, A. M., 1993.** "PCR-Amplified Microsatellites As Markers In Plant Genetics." *The Plant Journal* 3(1): 175-182.
256. **Morgante, M. et al., 2005.** Gene duplication and exon shuffling by helitron-like transposons generate intraspecies diversity in maize. *Nature genetics*, 37(9):997-1002.

257. **Mueller UG., Lipari SE., Milgroom MG., 1996.** Amplified fragment length polymorphism (AFLP) fingerprinting of symbiotic fungi cultured by the fungus-growing ant *Cyphomyrmex minutus*. *Mol. Ecol.* 5:119-122.
258. **Naghavi M.R., Amirian R., 2005.** Morphological characterization of accessions of *Aegilops tauschii*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 7(3) : 392-394.
259. **Najimi B., El Jaafari S., Jlibène M., Jacquemin JM., 2003.** Applications des marqueurs moléculaires dans l'amélioration du blé tendre pour la résistance aux maladies et aux insectes Biotechnology. *Agronomy, Society and Environment*, 7 (1): 17-35.
260. **Nazir H., Zaman Q, Amjad M., and Aziz NA. 2010.** Response of maize varieties under agro-ecological conditions of Dera Ismail Khan. *J. Agric. Res.*, 48(1): 59-63.
261. **N'Da HA., Akanvou L., Pokou ND., Akanza KP., Kouakou CK., Zoro BI IA. 2016.** Genetic diversity and population structure of maize landraces from Cote d'Ivoire. *Afr J Biotech* 15(546): 2507-2516.
262. **Nei M. 1987.** Molecular evolutionary genetics. Colombia University Press, New York. USA. 70: 3321-3323.
263. **Nei M., Li W. 1979.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *P Natl Acad Sci USA* 76: 5269-5273.
264. **Nestory S., Reuben SOWM, 2016.** Diversity of maize landraces collected at farm level in Northern Tanzania. *Int J Agric Sci Res* 5: 19 -26.
265. **Ngugi K., Cheserek J., Muchira C., Chemining'wa G., 2013.** Anthesis to Silking Interval Usefulness in Developing Drought Tolerant Maize. *Journal of Renewable Agriculture*, 1(5): 84-90.
266. **Nicolic N., 2005.** Comparaison de méthodes d'évaluation de la diversité génétique chez un ensemble de populations d'une même espèce (*Sus scrofa*) , Master 2 Recherche , Université Paul Sabatier , 57p.
267. **Nikhou F., Ebrahimi A., Shiri M., 2013.** Genetic diversity assessment among Maize Hybrids with using SSR Markers. *Tech J Engin & App Sci.*, 3 (S): 3831-3834.
268. **Noirot M., Anthony F., Dusset S., Hamon S., 1999.** Une méthode de constitution de core collections .In : Diversité génétique des plantes tropicales cultivées .Hamon P.Edition Quae, 387p.
269. **Noldin O., Revilla P., Ordas B. 2016.** Genetic diversity of the flourey race of maize Avati Moroti from the Guarani tribe in Paraguay. *Span J Agric Res* 14: e0707.
270. **Nyaligwa L., Hussein S., Amelework B., Ghebrehiwot H., 2015.** Genetic diversity analysis of elite maize inbred lines of diverse sources using SSR markers. *Maydica* 60 : 1-8.

271. **Nzuve, F., Githiri, S., Mukunya, M. and Goethi, J. 2014.** Genetic variability and correlation studies of grain yield and related agronomic traits in maize. *Journal of Agricultural Science* 6: (9)166-176.
272. **Obeng-Antwi, K., Craufurd, P. Q., Menkir, A., Ellis, R. H. and Sallah, P. Y. K., 2012.** Phenotypic diversity in maize landraces in Ghana. *International Journal of Science and Advanced Technology* 2 : 39-70.
273. **OCDE : Organisation for Economic Co-operation and Development, 2003.** Consensus document on the biology of *Zea mays* L., subsp. *mays* (maize). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, n. 27, 49p.
274. **Okumus A., 2007.** Genetic Variation and Relationship Between Turkish Flint Maize Landraces by RAPD Markers. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 2 (2): 49-53.
275. **Oliveira, E.J., Padua, J.G., Zucchi, M.I., Vencovsky, R., Vieira, M.L.C., 2006.** Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology* 29: 294-307.
276. **Olmos SE., Lorea R., Eyhétabide GH., 2014.** Genetic variability within accessions of the B73 maize inbred line. *Maydica* 59: 298-305.
277. **Olmos SE., Lia V V, Eyhétabide GH., 2016.** Genetic diversity and linkage disequilibrium in the Argentine public maize inbred line collection. *Plant Genet Resour*, [15](#)(6): 515-526
278. **O.N.M., 2016.** Office National de la météorologie .
279. **Oppong A., Bedoya CA., Ewool MB., Asante MD., Thompson RN., Adu-Dapaah H., Lamptey 556 JNL., Ofori K., Offei SK., Warburton ML. 2014.** Bulk genetic characterization of Ghanaian 557 maize landraces using microsatellite markers. *Maydica* 59 : 1-8.
280. **Otmane T., 2010.** Mise en valeur agricole et dynamiques rurales dans le Touat, le Gourara et le Tidikelt (Sahara Algérien). Thèse de Doctorat en Cotutelle, Université d'Oran, Algérie et Université de Franche-Comté, France.400p.
281. **Otmane T., Kouzmine Y., 2013.** Bilan spatialisé de la mise en valeur agricole au Sahara algérien »,cybergeo : *European journal of geography* ,], Espace, Société, Territoire, document 632.
282. **Otmane T., 2016.** L'eau dans les oasis du Sud-ouest algérien : les systèmes de mobilisation traditionnels entre préservation et décrépitude. pp 197-218.
283. **Paliwal R., 2002.** Le maïs en zone tropicales: amélioration et production. Collection FAO : production végétale et protection des plantes n° 28, 382p.
284. **Park C., Chang L. S. and Shenk T., 1991.** A polymerase chain reaction mediated by simple primer. Cloning of genomic sequences adjacent to a serotonin receptor protein coding region. *Nucl. Acids Res.*19:7155-7160.

285. **Paterson AH., 1996.** Making genetic maps, pp. 23–39. In: *Genome Mapping in Plants*, A. H. Paterson, Ed., R. G. Landes Company, San Diego, Calif, USA, Academic Press, Austin, Tex, USA.
286. **Peakall R., Smouse PE. 2006.** GenAlEx6: genetic analysis in Excel. Population genetic 561 software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6 : 288-295.
287. **Pejic, I., Ajmone-Marson, P., Morgante, M., Kozumplick, V., Castiglioni, P., Tarmino, G. and Motto, M. 1998.** Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred line detected by RFLPs, RAPDs, and AFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 97: 1248-1255.
288. **Pence VC., Sandoval J., Villalobos V., Engelmann F., 2002.** *In Vitro Collecting Techniques for Germplasm Conservation*. IPGRI Technical Bulletin N° 7. Rome, IPGRI, 100p.
289. **Pernes, J. 1984.** Gestion des ressources génétiques des plantes. Tome 1 : Monographies, 212 p, Tome II : Manuel, ACCT, Paris, 346 p.
290. **Peterson, R.G. 1985.** Augmented design for preliminary yield trials (revised). *Rachis*, 4: 27-32.
291. **Petit, R.J., El Mousadik, A., Pons, O., 1998.** Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12 : 844-855.
292. **Phumichai C., Dounghan W., Puddhanon P. et al 2008.** SSR-based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand. *Field Crops Res* 108:157-162.
293. **Picoult-Newberg, L., Ideker, T.E., Pohl, M.G., Taylor, S.L., Donaldson, M.A., Nickerson, D.A. and Boyce-Jacino, M., 1999.** Milling SNPs from EST databases. *Genome Res.* 9: 167–174.
294. **Pineda-Hidalgo KV., Méndez-Marroquín KP., Alvarez EV., Chávez-Ontiveros J., Sánchez-Peña P., Garzón-Tiznado JA., Vega-García MO., López-Valenzuela JA., 2013.** Microsatellite-based genetic diversity among accessions of maize landraces from Sinaloa in Mexico. *Hereditas* 150: 53-59
295. **Portères R., 1955.** L'introduction du maïs en Afrique. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, pp. 221-231.
296. **Powell, W., Machray, G. C. And Provan, J., 1996 a.** "Polymorphism Revealed By Simple Sequence Repeats." *Trends In Plant Science* 1(7): 215-222.
297. **Powell, W. ; Morgante, M. ; Andre, C. ; Hanafey, M. ; Vogel, J. ; Tingey, S. And Rafalski, A. 1996 b.** "The Comparison Of RFLP, RAPD, AFLP And SSR (Microsatellite) Markers For Germplasm Analysis." *Molecular Breeding* 2 (3): 225-238.
298. **Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A., 1996 c.** The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2: 225-238.

299. **Prasanna B M. and Sharma L. 2005.** The landraces of maize (*Zea mays* L.) diversity and utility. *Indian Journal of Plant Genetic Resources* **18**: 155-68.
300. **Prasanna BM., 2012.** Diversity in global maize germplasm: Characterization and utilization. *J.Biosci.* 37(5): 843-855.
301. **Pressoir, G. et Berthaud, J. 2004.** Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95-101.
302. **Pritchard JK., Stephens M., Donnelly P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
303. **Qi-Lun Y., Ping F., Ke-Cheng K., Guang-Tang P. 2008.** Genetic diversity based on SSR 569 markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. *J Genet* 87: 570-287-291.
304. **Quenum FJB., Ahoton LE., Ezin V., Djanta A., 2017.** Agro-morphological Variability of Maize Cultivars in South Benin. *Journal of Experimental Agriculture International*, 15(3): 1-19.
305. **Rabinowicz, P.D., Bennetzen, J.L., 2006.** The maize genome as a model for efficient sequence analysis of large plant genomes. *Current Opinion in Plant Biology* **9**: 149-156
306. **Rafalski JA., Tingey SV., 1993.** Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines", *Trends in Genetics*, 9: 275 -280
307. **Rafalski A. 2002.** Application of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 94-100.
308. **Rahel-Bouziane H., Mossab K., Hamdi S., Kharsi M., 2003.** Situation des fourrages cultivés dans la région d'Adrar. *Recherche agronomique*, n°12, pp 37-49.
309. **Rahel-Bouziane, 2006.** Fourrages cultivés des oasis du Touat, Gourara et Tidikelt: caractéristiques ethnobotaniques, morphologiques et valeur alimentaire. INRAA ,44p.
310. **Ranum, P., Peña-Rosas, J. P. & Garcia-Casal, M. N., 2014.** Global maize production, utilization, and consumption. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1312: 105 -112.
311. **Rao NK. 2004.** Plant genetic resources: advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of biotechnology* 3: 136 -145.
312. **Raven PH., Singer SR. Johnson GB, Mason Ka., Losos JB., 2017.** La biologie, Edition De Boeck Supérieur, 1400p.
313. **Rayburn A. L., D. B. Biradar, D. G. Bullock, and L. M. McMurphy, 1993.** "Nuclear DNA content in F1 hybrids of maize," *Heredity*, 70: 294-300.

314. **Rebourg C., Gousnard B., Charcosset A. 2001.** Large scale molecular analysis of traditional European maize populations: relationships with morphological variation. *Heredity* 86: 574-587.
315. **Rebourg, C., Chastanet, M., Gouesnard, B., Welcker, C., Dubreuil, P. & Charcosset, A, 2003.** Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data. *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 106 (5):895-903.
316. **Reif, J.C., Xia, X.C., Melchinger, A.E., et al., 2004.** Genetic Diversity Determined within and among CYMMIT Maize Populations of Tropical, Subtropical and Temperate Germplasm by SSR Markers, *Crop Sci.*, 44: 326 -334.
317. **Reif Jc., Hamrit S., Heckenberger M., Schipprack W., Bohn M. et Melchinger A. E., 2005.** Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years. *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 838-845.
318. **Reif JC., Warburton ML., Xia XC., Hoisington DA., Crossa J., Taba S., Muminovic J., Bohn M., Frisch M., Melchinger AE., 2006 a.** Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theor Appl Genet* 113: 177-185.
319. **Reif JC., Hamrit S., Melchinger AE., 2006 b.** Genetic diversity trends in Central European heterotic groups. *Acta Agronomica Hungarica* 54(3): 315-320.
320. **Revilla P., and Tracy W.F., 1995.** Morphological characterization and classification of open-pollinated sweet corn varieties. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120: 112–118.
321. **Rhoades, M. M., 1951.** Duplicate genes in maize. *Am. Naturalist.* 85: 105 -110.
322. **Richard C., Osiru DS., Mwala MS., Lubberstedt T., 2016.** Genetic diversity and heterotic grouping of the core set of southern African and temperate maize (*Zea mays* L.) Inbred lines using SNP markers. *Maydica* 61(1):M3.
323. **Roberts EH., 1973.** Predicting the viability of seeds. *Seed Science and Technology*, 1(3): 499-514.
324. **Rodriguez VM., Soengas P., Landa A., Ordas A., Revilla P. 2013.** Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 193: 339-345.
325. **Romero-Severson J., Smith JSC., Ziegler J., Hauser J., Joe L., Hookstra G. 2001.** Pedigree analysis and haplotype sharing within diverse groups of *Zea mays* L. inbreds. *Theor Appl Genet* 103 : 567-574.
326. **Romay MC., Butrón A., Ordás A., Revilla P., Ordás B. 2012.** Effects of recurrent selection on the genetic structure of two broad base Spanish maize synthetics. *Crop Sci* 52 : 1493-1502.
327. **Rousselle Y., 2010.** Rôle de la migration dans la gestion dynamique des ressources génétiques végétales. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Paris Sud 11,185p.

328. **Ruiz de Galarreta JI., Alvarez A., 2001**) Morphological classification of maize landraces from northern Spain. *Genet Resour Crop Evol* 48: 391- 400.
329. **Sabry, A., Jeffers, D., Vasal, S.K., Frederiksen, R. and Magill, C., 2006.** A region of maize chromosome 2 affects response to downy mildew pathogens. *Theor. Appl. Genet.* 113: 321-330.
330. **Sakai A., Engelmann F., 2007.** Vitrification, encapsulation-vitrification and droplet-vitrification: a review. *CryoLetters*, 28: 151-172.
331. **Salami A.E., Adegoke S.A.O., Adegbite O.A. 2007.** Genetic Variability among Maize Cultivars Grown in Ekiti-State, Nigeria, *Middle-East Journal of Scientific Research*, 2 (1): 09-13.
332. **Salami HA., Sina H., Wallis N Z., Padonou W., Aly D., Yallou C., Chabi-Sika k., Noumavo PA., Adjanohoun A., Baba-Moussa L., 2017.** Agro-morphological variability of *Zea mays* (L.) accessions collected in Southern Benin. *J. Plant Breed. Crop Sci.* 9(1): 1-9.
333. **Salmon Schreck, KL., 2015.** "The Domestication and Migration of *Zea mays* L. in Association with Holocene Climatic Variance". *Senior Independent Study Theses*. Paper 6748.
334. **Samanthi K W. and Prasanna B. M., 2012.** Microsatellite markers-based diversity and population genetic analysis of selected lowland and mid-altitude maize landraces accessions of India. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology.* 22(4): 392-400.
335. **Sanchez J. J., M. M. Goodman, and J. O. Rawlings, 1993.** Appropriate characters for racial classification in maize. *Econ. Bot.* 47: 44-59.
336. **Sanni K. A., Fawole I., Ogunbayo A., Tia D., Somado E. A., Futakuchi K., et al., 2012.** Multivariate analysis of diversity of landrace rice germplasm. *Crop Sci.* 52 : 494 -504
337. **Santoni, S., Faivre-Rampant, P., Prado, E. And Prat, D. 2000.** "Marqueurs Moléculaires Pour L'analyse Des Ressources Génétiques Et L'amélioration Des Plantes." *Cahiers D'études Et De Recherches Francophones / Agricultures* 4: 311-27.
338. **Schlotterer, C. et Tautz, D 1992..** Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Res.* 20 : 2211-2215.
339. **Schlötterer, C., 2004.** The evolution of molecular markers -just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics* 5: 63-69.
340. **Schnable P. S., D. Ware, R. S. Fulton et al., 2009.** "The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics," *Science*, 326 (5956): 1112-1115.
341. **Schuelke M., 2000.** Méthode économique pour le marquage fluorescent de fragments de PCR. *Nat Biotechnol* 18: 233-234

342. **Scott, K. D., Egger, P., Seaton, G., Rossetto, M., Ablett, E. M., Lee, L. S. And Henry, R. J., 2000.** "Analysis Of Ssrs Derived From Grape Ests." TAG *Theoretical And Applied Genetics* 100(5): 723-726.
343. **Semagn K., Bjornstad A., Ndjiondjop MN., 2006.** An overview of molecular marker methods for plants. *Afr J Biotechnol.* 5: 2540-68.
344. **Senior, M.L., J.P. Murphy, M.M. Goodman & C.W. Stuber, 1998.** Utility of SSRs for determining genetic similarities and relation-ships in maize using agarose gel system. *Crop Sci* 38 : 1088-1098.
345. **Serratos-Hernandez J. A., 2009.** The origin and diversity of maize in the American continent. Ed. Green Peace, Mexico, 33 P.
346. **Sevilla, R. and Holle, M., 1995.** Recursos Genéticos Vegetales. UNALM, Lima, Peru. Singh, S.P. 1991. Genetic divergence and canonical analysis in hyacinth bean. *Journal of Genetics and Breeding* 45: 7-12.
347. **Sharma L., Prasanna BM., Ramesh B., 2010.** Phenotypic and microsatellite-based diversity and population genetic structure of maize landraces in India, especially from the North East Himalayan region. *Genetica* 138:619-631.
348. **Shi ZS., Zhang SH., Li FH., Wang ZP., Zhang XH., Zhang YI., Zhu M. 2008.** Comparison and analysis on maize yield performance of mid-maturing, mid-late maturing and late maturing varieties in Liaoning areas. *J. Maize Sci.*, 16(6): 6-10.
349. **Shiferaw B., Prasanna BM., Hellin J., Bänziger M., 2011.** Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Sci.* 3: 307-327.
350. **Shin, J.H., Kwon, S.J., Lee, J.K., Min, H.K. and Kim, N.S. 2006.** Genetic Diversity of Maize Kernel Starch-Synthesis Genes with Snaps. *Genome*, 49: 1287-1296.
351. **Shrestha, J. 2013.** Agro-morphological characterization of maize inbred Lines. *Wudpecker Journal of Agricultural Research* 2: 209-211.
352. **Sibov ,2003.** MAIZE GDB.
353. **Singode A., Prasanna B M., 2010.** Analysis of genetic diversity in the North Eastern Himalayan (NEH) maize landraces of India using microsatellite markers. *J. Pl. Biochem. Biotech.*, 19: 33-41.
354. **Smith JSC., Goodman MM., Stuber CW., 1985.** Relationships between maize and teosinte of Mexico and Guatemala : Numerical analysis of allozyme data .*Economic Botany* 39 :12-24.

355. **Smith JSC., Smith OS., 1989.** The description and assessment of distances between inbred lines of maize: The utility of morphological, biochemical, and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica* 34:151-161.
356. **Smith JSC., Smith OS., 1992.** Fingerprinting crop varieties. *Adv Agron* 47: 85-140.
357. **Smith, J., Chin, E., Shu, H., et al. 1997.** An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (Zeamays, L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree, *Theor. Appl. Genet.*, 95 : 163-173.
358. **Snyder LA., Freifelder D., Hartl DL. 1985.** *General Genetics*, pp. 205-208. Jones & Bartlett, Boston.
359. **Steffens DL., Sutter SL., Roemer SC., 1993.** An alternate universal forward primer for improved automated sequencing of M13. *Biotechniques*. 15: 580-582.
360. **Stich B., Maurer HP., Melchinger AE and Frisch M., 2006.** Comparison of linkage disequilibrium in elite European maize inbred lines using AFLP and SSR markers. *Mol. Breed.* 17: 217-226.
361. **Stuber CW., Wendel JF., Goodman MM., Smith JSC., 1988.** Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize. N.C. State Univ Agric Res Serv Bull, 286p.
362. **Şuteu, Dana, Băcilă, I., Haş, Voichiţa, Has, I., Miclăuş, M., 2013.** Romanian maize (*Zea mays*) inbred lines as a source of genetic diversity in SE Europe, and their potential in future breeding efforts. *PLOS ONE Journal*, 8 (12) : e85501.
363. **Synrem GJ., Marker S., Ramteke PW., Charan AA, 2017.** Simple sequence repeat (SSR) markers for molecular diversity and heterozygosity analysis in maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6): 732-737.
364. **Syvänen, 2001.** Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat. Rev. Genet.* 2: 930- 942.
365. **Tautz, D. 1989.** Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463-6471.
366. **Tenaillon, M. I & Charcosset, A., 2011.** A European perspective on maize history. *Comptes Rendus Biologies.* 334 (3): 221-22.
367. **Thakur N., Prakash J., Thakur K., Sharma JK., Kumari R., Rana M., Lata S. 2016.** Genetic diversity and Structure of maize accessions of North Western Himalayas based on morphological and molecular markers. *P Natl A Sci India B* 87: 1385 -1398.

368. **Thormann, I., Dullo, M.E. and Engels, J. 2006.** Techniques for *ex situ* plant conservation, pp7–36. In : *Plant Conservation Genetics* R.J. Henry (ed), Haworth Press, AUS,180p.
369. **Tito, C.M., Poggio, L., Naranjo, C.A., 1991.** Cytogenetic studies in the genus *Zea* - 3. DNA content and heterochromatin in species and hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 58-64.
370. **Troyer, A. F.-Larkins, J. R. 1985.** Selection for early flowering in corn: 10 late synthetics. *Crop Sci.* 25: 695-697.
371. **Twumasi P., Tetteh AY., Adade KB., Asare S., Akromah RA., 2017.** Morphological diversity and relationships among the IPGRI maize (*Zea mays* L) landraces held in IITA. *Maydica*, 62(3).
372. **UNCED, 1992.** *Convention on Biological Diversity*. United Nations Conference on Environment and Development, Genève,351p.
373. **Unterseer S., Bauer E., Haberer G., Seidel M., Knaak C., Ouzunova M., Meitinger T., Strom TM., Fries R., Pausch H., Bertani C., Davassi A., Mayer KFX., Schön CC., 2014.** A powerful tool for genome analysis in maize: development and evaluation of the high density 600 k SNP genotyping array. *BMC Genomics* 15: 823.
374. **Upadhyaya H.D. and Gowda C.L.L., Pundir R.P.S. and Ntare B. R., 2007.** *Use of core and mini core collections in preservation and utilization of genetic resources in crop improvement*. In: Plant genetic resources and food security in West and Central Africa. Regional Conference, 26 -30 April 2004, Ibadan, Nigeria.
375. **UPOV 1999.** Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability; maize. TG/2/6 + Corr. (Revision of TG/2/4). UPOV, Geneva, Switzerland.
376. **UPOV 2009.** Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability; maize. TG/2/6. UPOV, Geneva, Switzerland, 62p.
377. **USDA (United States Department of Agriculture), 2009.** Germplasm resources information network (GRIN) [base de données en ligne].URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl>
378. **Vallance M., Queney G., Soyez D., Ricci JD., 2006.** Mise au point et validation d'un système de marqueurs génétiques pour les perdrix rouges hybrides. *ONCFS Rapport scientifique* ,76-81pp.
379. **Van Den Houwe I. et Swennen R, 1998.** La collection mondiale du bananier (*Musa* spp.) au centre de transit de l'INIBAP à la K.U.Leuven: stratégies de conservation et mode d'opération. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2 : 36-45.
380. **Van Heerwaarden, J. et al., 2010.** Fine scale genetic structure in the wild ancestor of maize (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). *Molecular Ecology*, 19(6):1162-1173.
381. **Van Heerwaarden J., Hufford M. B., AND Ross-Ibarra J., 2012.** Historical genomics of North American maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 12420-12425.

382. **Van Hintum Th.J.L., Brown A.H.D., Spillane C. et Hodgkin T., 2000.** Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical Bulletin No. 3. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 48 p.
383. **Van Inghelandt D., Melchinger AE., Lebreton C., Stich B., 2010.** Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theor Appl Genet* 120: 1289-1299
384. **Vaz Patto M. C., Satovic Z., Pêgo S. et Fevereiro P., 2004.** Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica* 137: 63-72.
385. **Vega-Alvarez I, Santacruz-Varela A, Rocandio-Rodríguez M, Córdova-Téllez L, López-Sánchez H, Muñoz-Orozco A, Hernández-Bautista A, 2017 .** Genetic diversity and structure of native maize races from Northwestern Mexico. *Pesq. Agropec. Bras. Brasília*, (11):1023-1032.
386. **Verheye, W. 2010.** Growth and Production of Maize: Traditional Low-Input Cultivation. In: Verheye, W. (ed.), *Land Use, Land Cover and Soil Sciences*. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), UNESCO-EOLSS Publishers, Oxford, UK. 23p.
387. **Vigouroux, Y. Glaubitz, J.C., Matsuoka, Y., Goodman, M.M., Sánchez, J.G. & Doebley, J. 2008.** Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95(10): 1240-1253.
388. **Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van Da Lee T., Homes M., 1995.** AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, (23): 4407- 4414.
389. **Vuylsteke, M., Mank, R., Antonise, R., Bastiaans, E., Senior, M.L., Stuber, C.W., Melchinger, A.E., Lubberstedt, T., Xia, X.C., Stam, P., Zabeau, M. and Kuiper M. 1999.** Two high-density AFLP linkage maps of *Zea mays* L.: Analysis of distribution of AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 99: 921-935.
390. **Vuylsteke, M., Kuiper, M. and Stam, P. 2000a.** Chromosomal regions involved in hybrid performance and heterosis: Their AFLP-based identification and practical use in prediction models. *Heredity* 85: 208-218.
391. **Vuylsteke, M., Mank, R., Brugmans, B., Stam, P. and Kuiper, M. 2000b.** Further characterization of AFLP data as a tool in genetic diversity assessments among maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Mol. Breed.* 6: 265-276.
392. **Wang X., Chang J., Qin G., Zhang S., Cheng X and Li C., 2011.** Analysis on yield components of elite maize variety Xundan 20 with super high yield potential. *Afr. J. Agric. Res.*, 6(24): 5490-5495.
393. **Warburton M L & Hoisington D., 2001.** Applications of molecular marker techniques to the use of international germplasm collections, . Pp 83-93. In : *Plant Genotyping : The DNA Fingerprinting of Plants*, edited by R J Henry. CABI Publishing, Wallingford, UK, 325p.

394. **Warburton M.L., X. Xianchun, J. Crossa, J. Franco, A. E. Melchinger, M. Frisch, M. Bohn and D. Hoisington, 2002.** Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Sci* 42: 1832-1840.
395. **Warburton ML., Reif JC., Frisch M., Bohn M., Bedoya C., Xia XC., Crossa J., Franco J., Hoisington D., Pixley K., Taba S., Melchinger AE., 2008.** Genetic diversity in CIMMYT nontemperate maize germplasm: landraces, open pollinated varieties and inbred lines. *Crop Sci* 48: 617-624.
396. **Ward, J. H., 1963.** Jr. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, **58**: 236-244.
397. **Warrington, I. J., and E. T. Kanemasu, 1983a.** Corn growth response to temperature and photoperiod I. Seedling emergence, tassel initiation, and anthesis. *Agron. J.* 75 : 749-754.
398. **Warrington, I. J., and E. T. Kanemasu, 1983b.** Corn growth response to temperature and photoperiod. III. Leaf number. *Agron. J.* 75 : 762-766.
399. **Wasala SK., Prasanna B.M. 2012.** Microsatellite markers-based diversity and population genetic analysis of selected lowland and mid-altitude maize landraces accessions of India. *J Plant Biochem Biotech* 22: 392-400.
400. **Wasala S K., Guleria S K., Sekhar J C., Mahajan V., Srinivasan K., Parsad R. and Prasanna B M. 2013.** Analysis of yield performance and genotype × environment effects on selected maize (*Zea mays*) landrace accessions of India. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 83: 287-923.
401. **Wei, F. et al., 2009a.** Detailed Analysis of a Contiguous 22-Mb Region of the Maize Genome. *PLoS Genet*, 5(11): p.e1000728.
402. **Wei K., Zhang H., Xu X., Du H., Huang Y. and Zhang Z.2009b.** Evaluation of phenotype and genetic diversity of maize landraces from Hubei province, South West China. *Frontier Agric. China*, 3(4): 374-382.
403. **Weising, K., Atkinson, R. G. And Gardner, R. C., 1995.** "Genomic Fingerprinting By Microsatellite-Primed PCR: A Critical Evaluation." *Genome Research* 4(5): 249-255.
404. **Welsh, J. et McClelland, M., 1990.** fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18: 7231-7218.
405. **Wendel JF., Goodman MM., Stuber CW., 1985.** Mapping data for 34 isozymic loci currently being studied. *Maize Genetic Cooperation News Letter* 59:90.
406. **Wendel, J. F.2000.** Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* 42: 225-249.

407. **Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
408. **William TJ., 1991.** Plant genetic resources: some new directions. *Advan. Agron* 45: 61-91.
409. **Winter, P. & G. Kahl, 1995.** Molecular marker technology for plant improvement. *World J Microb Biotechnol* 11: 438-448.
410. **Wright S., 1951.** The genetic structure of populations. *Annals of Eugenics*, pp 395-420.
411. **Wright S., 1965.** The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*, 19:395-420.
412. **Wright S., 1978.** Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations. Chicago, IL USA: University of Chicago Press.
413. **Wu Y., Vicente FS., Huang K, Dhliwayo T., Costich DE., Semagn K., Sudha N., Olsen M., Prasanna BM., Zhang X., Babu R., 2016.** Molecular characterization of CIMMYT maize inbred lines with genotyping-by-sequencing SNPs. *Theor Appl Genet* 129:753-765.
414. **Xia XC., Reif JC., Hoisington DA., Melchinger AE., Frisch M., Warburton M. L., 2004.** Genetic diversity among CIMMYT maize inbred lines investigated with SSR markers: I. lowland tropical maize. *Crop Sci.* 44: 2230-2237.
415. **Xiao, Y.N., Li, X.H., George, M.L., Li, M.S., Zhang, S.H. and Zheng, Y.L., 2005.** Quantitative trait loci analysis of drought tolerance and yield in maize in China. *PlantMol. Biol. Reporter* 23: 155-165.
416. **Xu J., Liu L, Xu Y., Chen C., Rong T., Alli F., Zhou S., Wu F., wang LYJ., Cao M., 2013.** Development and characterization of simple sequence repeat markers providing genome- wide coverage and high resolution in maize. *DNA Res* 20: 497-509.
417. **Xu, C., Ren, Y., Jian, Y., Guo, Z., Zhang, Y., Xie, C., Fu, J., Wang, H., Wang, G., Xu, Y., Li, P., & Zou, C., 2017.** Development of a maize 55 K SNP array with improved genome coverage for molecular breeding. *Molecular Breeding*, 37(3) : 20-34.
418. **Yahiaoui S., 2008.** Le patrimoine biologique d'Algérie. Institut technique des élevages, M.A.D.R.P.
419. **Yan J., Shah T., MI Warburton, Buckler ES., McMullen MD., Crouch J., 2009.** Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *PLoS One* 4:e8451.

420. Yan JB., Yang XH., Hector S., Sa´nchez H., Li JS., Warburton M., Zhou Y., Crouch JH., Xu YB., 2010. High-throughput SNP genotyping with the golden gate assay in maize. *Mol Breed* 25: 441-451.
421. Yang X., Xu Y., Shah T., Li H., Han Z., Li J., Yan J., 2011. Comparison of SSRs and SNPs in assessment of genetic relatedness in maize. *Genetica* 139:1045 -1054.
422. Yao Q., Fang P., Kang K., Pan G., 2007. Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L) landraces from Wuling mountain region in China. *J Genet* 87: 287-291.
423. Yücel C., Hizli H., Firincioglu HK., Cil A., Anlarsal AE. 2009. Forage yield stability of common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes in the Cukurova and GAP Regions of Turkey. *Turk J Agric For* 33: 119-125.
424. Zhang, S., Li, X., Yuan, L., Li, M. and Peng, M. 2002. Heterotic Groups and Exploitation of Heterosis-Methodology, Strategy, and Use in Hybrid Maize Breeding in China. Proceedings of the 8th Asian Regional Maize Workshop, Bangkok, Thailand: August 5-8, 2002.
425. Zhou S., F. Wei, J. Nguyen et al., 2009. "A single molecule scaffold for the maize genome," *PLoS Genetics*, vol. 5, no. 11, Article ID e1000711,
426. Zilic S., Serpen A., Akillioglu G., Vural Gokmen V., Vancetovic J. 2012. Phenolic compound, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Agric Food Chem* 60: 1224-1231.

Annexes 1 : Protocole d'extraction de l'ADN génomique avec le kit DNeasy Plant Mini Kit

1. Broyer le matériel végétal frais (100mg) dans de l'azote liquide
2. Ajouter 400µl du tampon AP1 et 4 µl d'ARNase, vortexer puis incuber à 65°C
3. Ajouter 130 µl du tampon P3, mixer et incuber pendant 5min à la glace
4. centrifuger le lysat pendant 5min à 20.000g (14.000rpm)
5. Prélever le surnageant et le déposer sur la colonne QIA Shredder Spin (violette) qui est déjà placée dans un tube de 2ml. Centrifuger pendant 2min à 20.000g
6. Transférer l'éluât dans un nouveau tube sans faire bouger le culot, s'il est présent.
7. Ajouter 1.5 volume du tampon AW1 et mélanger par pipetage
8. Transférer 650 µl du mélange à la colonne DNeasy Mini Spin placée dans un tube de 2ml. Centrifuger pendant 1 min à 6000g
9. Eliminer l'éluât et répéter l'opération avec la quantité du mélange restante
10. Placer la colonne dans un nouveau tube de 2ml, ajouter 500 µl du tampon AW2 puis centrifuger 1 min à 6000g
11. Eliminer le surnageant
12. Ajouter une autre quantité de tampon AW2 (500 µl), centrifuger pendant 2min à 20.000g
13. Prélever la colonne du tube et la transférer dans un nouveau tube de 2ml
14. Ajouter 50 µl de tampon d'éluion AE puis incuber pendant 5min à température ambiante. Centrifuger 1min à 6000g
14. Répéter l'étape de l'éluion avec 50 µl d'AE

Annexes 2 : Résultats de l'analyse en composante principale montrant la proportion de la variation associée aux deux premiers axes ainsi que la contribution des variables à cette variation.

	F1	F2
FF	0,9123	-0,1642
FM	0,9361	-0,1161
HP	0,9347	0,0660
DRC	0,1975	-0,0560
NLE	0,7199	-0,2053
NEP	-0,0844	0,8011
PCG	0,1186	0,7437
RD	0,5756	0,5823

	F1	F2	F3
Valeurs propres	3,4919	1,6240	1,1024
Variabilité (%)	43,6488	20,3002	13,7794
% Cumulé	43,6488	63,9490	77,7284

